

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**“Propriedades citotóxicas de complexos de Cu(I)-Trifenilfosfina
com ligantes aciltioureas ou naftoquinonas”**

Celisnolia Morais Leite*

Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do título de
DOUTORA EM CIÊNCIAS, área de
concentração: QUÍMICA INORGÂNICA.

Orientador(a): Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista

* bolsista CNPq

**São Carlos - SP
2021**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Química

Folha de Aprovação

Defesa de Tese de Doutorado da candidata Celisnolia Morais Leite, realizada em 26/07/2021.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista (UFSCar)

Profa. Dra. Gianella Facchin Muñoz (UDELAR)

Prof. Dr. Fillipe Vieira Rocha (UFSCar)

Profa. Dra. Giselle Cerchiaro (UFABC)

Prof. Dr. Douglas Hideki Nakahata (UFG)

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

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Química.

Agradecimentos

A Deus, por me permitir chegar até aqui.

À minha família e ao Mitchell pelo apoio e incentivo.

Ao Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista pela oportunidade, orientação e ensinamentos.

Ao Departamento de Química da UFSCar e ao Programa de Pós-Graduação em Química, em especial às secretarias Ariane, Cristina e Luciani e aos técnicos Ademir Sartori e Luciana Vizotto pela disponibilidade e ajuda.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química que contribuíram para a minha formação.

À Profa. Dra. Marcia Regina Cominetti (Gerontologia-UFSCar) pela disponibilidade da estrutura do LABEN para a realização dos ensaios biológicos e às Msc. Analu Rocha Costa, Dra. Tamires Donizeth de Oliveira, Dra. Adriana P. Mundim Guedes Macedo, Dra Ana Carolina B. M. Martin e a Dra Angélica Graminha, pela contribuição na realização dos ensaios biológicos.

Ao Dr. João Honorato pela resolução das estruturas de raios X.

Ao Prof. Dr. Rafael Gomes Silveira pela realização dos cálculos teóricos.

Ao Prof. Dr. Otaciro Rangel Nascimento pela realização das análises de EPR (Ressonância paramagnética eletrônica) e ensinamentos.

Aos meus amigos maranhenses pela amizade e momentos de descontração;

Aos meus amigos do LERCI e da UFSCar pela amizade, momentos de descontração e valiosas discussões;

Aos órgãos de fomento CNPq, FAPESP e CAPES pelo apoio financeiro, em especial ao CNPq pela bolsa concedida.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1: Valores de IC ₅₀ (μM) e índice de seletividade (IS) obtidos para diferentes complexos com as naftoquinonas lausona e lapachol na linhagem tumoral de mama (MDA-MB-231) e na linhagem de mama não tumoral (MCF-10A). ^{15,16}	17
TABELA 4.1: Comprimentos de ligação (Å) selecionados das estruturas cristalinas dos complexos 1, 1a, 6 e 6a e seus respectivos ligantes aciltioureas.	42
TABELA 4.2: Atribuição tentativa dos principais modos vibracionais das aciltioureas livres.....	45
TABELA 4.3: Atribuição tentativa das frequências vibracionais (cm ⁻¹) do estiramento ν(C=O) para os ligantes aciltioureas livres e coordenados e os respectivos deslocamentos (Δ) após coordenação.	47
TABELA 4.4: Deslocamento químico para os sinais referentes aos carbonos dos grupos C=S e C=O dos ligantes aciltioureas e dos respectivos complexos, em CDCl ₃ para os complexos de 1-6 e em CD ₃ CN para os complexos de 1a-6a. ...	58
TABELA 4.5: Dados de deslocamento químico de RMN de ¹³ C{ ¹ H} para os carbonos C=S e C=O de complexos, contendo aciltioureas dissustituídas, já reportados na literatura.	60
Tabela 4.6: Deslocamento químico de RMN de ¹³ C{ ¹ H} experimental e teórico para os carbonos C=S e C=O dos complexos de 1-6.	61
TABELA 4.7: Dados de análise elementar e condutividade molar para os complexos. Valores teóricos da composição química dos complexos entre parênteses.	63
Tabela 4.8: Comprimento de onda de absorção máxima (λ, nm), absortividade molar (ε, mol ⁻¹ L cm ⁻¹) e atribuição tentativa das bandas dos ligantes e de seus	

respectivos complexos. Os espectros eletrônicos experimentais foram registrados em soluções dos compostos, em acetonitrila.....	74
TABELA 4.9: Valores de IC ₅₀ obtidos para os complexos 1 - 6, 1a - 6a, ligantes, precursor e cisplatina frente às linhagens celulares tumorais (MCF7, MDA-MB-231 e A549) e não tumorais (MCF-10A e MRC5) após 48 h de incubação com os compostos.....	79
TABELA 4.10: Comprimentos de ligação (Å) selecionados das estruturas cristalinas dos complexos 1b e 2b e seus respectivos ligantes naftoquinonas e ângulos de ligação (°) selecionados para os complexos 1b e 2b.....	101
TABELA 4.11: Atribuição tentativa das frequências vibracionais (cm ⁻¹) dos estiramentos $\nu(\text{C1}=\text{O1})$, $\nu(\text{C2}=\text{O2})$ e $\nu(\text{C4}=\text{O3})$ para os ligantes naftoquinonas livres e após coordenados e os respectivos deslocamentos (Δ) após coordenação.	105
TABELA 4.12: Deslocamentos químicos (δ) exibidos pelos carbonos C1, C2 e C4 para os ligantes naftoquinonas livres e após coordenação.	115
TABELA 4.13: Dados de análise elementar e condutividade molar para os complexos 1b-4b. Valores teóricos da composição química dos complexos entre parênteses.	116
TABELA 4.14: Comprimento de onda de absorção máxima (λ , nm), absortividade molar (ϵ , mol ⁻¹ L cm ⁻¹) e tentativa de atribuição das bandas dos ligantes NQ1-NQ4, e de seus respectivos complexos 1b-4b, em solução de acetonitrila.....	127
TABELA 4.15: Parâmetros de EPR obtidos a partir da simulação dos espectros experimentais dos adutos $\cdot\text{DMPO-OOH}$ e $\cdot\text{DMPO-OH}$	134
TABELA 4.16: Valores de IC ₅₀ obtidos para os complexos 1b-4b, sal de Cu, ligantes, complexo precursor e cisplatina frente às linhagens celulares tumorais	

(MCF7, MDA-MB-231 e A549) e não tumorais (MCF-10A e MRC5) após 48 h de incubação com os compostos. 137

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1: Linha do tempo para o desenvolvimento dos medicamentos à base de platina empregados no tratamento do câncer. *NSCLC = Non-Small-Cell Lung Carcinoma, **SCLC= Small-Cell Lung Carcinoma e ***CML = Chronic Myeloid Leukemia).	5
FIGURA 1.2: Estratégias que utilizam o cobre para a terapia do câncer. COX = citocromo c oxidase, Ctrl = transportador de cobre 1, FGF2 = fator de crescimento de fibroblasto 2, IL-1 α , -6, -8= interleucina-1a, -6, -8, LOX= lisil oxidase, MEK1/ 2= proteína quinase ativada por mitogênio/ ERK (quinase regulada por sinal extracelular) quinase 1/2, NFkB = fator nuclear kappa B, UPR= resposta de proteína não dobrada, VEGF = fator de crescimento endotelial vascular, XIAP = inibidor de apoptose ligado ao X. FONTE: Adaptado de DENOYER et al. 22.....	9
FIGURA 1.3: Estrutura cristalina do complexo [Cu(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina)(acetilacetato)(NO ₃)] que encontra-se em estudo clínico fase I. FONTE: GARCÍA-RAMOS et al. 80. ⁷⁹	11
FIGURA 1.4: Estrutura básica dos ligantes aciltioureas.	13
FIGURA 1.5: Fórmula estrutural, valor de IC ₅₀ nas linhagens MDA-MB-231 e L929 e índice de seletividade (IS) para o complexo [Pd(L)(PPh ₃) ₂]Cl em que L= N,N-dimetil-N'-2-tiofenocarboniltiourea e PPh ₃ = ttrifenilfosfina.	14
FIGURA 1.6: Quinonas utilizadas na clínica médica para o tratamento do câncer.....	15
FIGURA 1.7: Fórmulas estruturais dos complexos [Ru(lau)(dppm) ₂]PF ₆ e [Ru(lap)(dppm) ₂]PF ₆	18
FIGURA 1.8: Fórmulas estruturais dos ligantes aciltioureas e naftoquinonas utilizados para o desenvolvimento dos novos complexos de Cu (I).	20

FIGURA 4.1: Rota de síntese para a obtenção dos complexos da série 1.....	38
FIGURA 4.2: Diferentes modos de coordenação dos ligantes aciltioureas: (1) bidentada (O,S) e neutro, ^{130,131} (2) bidentada (O,S) e monobásica, ¹³⁴ (3) bidentada (O,S) ligado a M e (N) ligado a M e neutro, ¹³² (4) monodentado (S) e neutro, ¹³⁵ (5) bidentado (O,N) e neutro ¹³⁶ e (6) bidentado (N,S) e neutro. ¹³³	39
FIGURA 4.3: Estruturas cristalinas dos complexos 1, 1a, 2, 4a, 5a, 6 e 6a e ângulos de ligação para o complexo 1 e 1a.....	40
FIGURA 4.4: Conformações mais comuns observadas para as aciltioureas disssubstituídas (U) e monosssubstituídas (S).	43
FIGURA 4.5: Ligação de Hidrogênio observada entre o contração nitrato e a ligação central N–H para o complexo 1a.	44
FIGURA 4.6: Espectros de absorção na região do infravermelho e atribuição tentativa dos principais modos vibracionais do ligante L1 e dos complexos 1 e 1a na região de 3400-2700 cm ⁻¹	46
FIGURA 4.7: Espectros de absorção na região do infravermelho e atribuição tentativa dos principais modos vibracionais do ligante L1 e dos complexos 1 e 1a na região de 1800–300 cm ⁻¹	48
FIGURA 4.8: Espectros de RMN de ³¹ P{ ¹ H} para os complexos A) 1–6 em CDCl ₃ , B) 1a–6a em CD ₃ CN, C) PPh ₃ em CDCl ₃ e D) PPh ₃ em CD ₃ CN.....	50
FIGURA 4.9: Espectro de RMN de ¹ H obtido para o complexo 1, em CDCl ₃ , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.	51
FIGURA 4.10: Espectro de RMN de ¹ H obtido para o complexo 1a, em CD ₃ CN, mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.	51
FIGURA 4.11: Mapa de correlação COSY (¹ H- ¹ H) obtido para A) o complexo 1, região aromática, em CDCl ₃ e B) complexo 1a, região aromática, em CD ₃ CN. Em destaque os padrões de acoplamentos exibidos pelos complexos.	53

- FIGURA 4.12: Mapa de correlação HMBC (^1H - ^{13}C) obtido para A) o complexo 1, em CDCl_3 e B) complexo 1a, em CD_3CN . Em destaque os acoplamentos escalares exibidos pelos complexos relativos aos carbonos $\text{C}=\text{O}$ e $\text{C}=\text{S}$ 55
- FIGURA 4.13: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo 1, em CDCl_3 , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo. 57
- FIGURA 4.14: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo 1a, em CD_3CN , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo. 57
- FIGURA 4.15: Espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo 1 e de seu respectivo ligante livre L1 em CDCl_3 59
- FIGURA 4.16: Espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo 1a e de seu respectivo ligante livre L1 em CD_3CN 62
- FIGURA 4.17: Perfil isotópico experimental e teórico para os cátions metálicos dos complexos correspondendo aos íons moleculares ($[\text{M}+\text{H}]^+$). 64
- FIGURA 4.18: Espectros de massas para o complexo 3 e simulação dos sinais referentes aos íons fragmentos ($[\text{M}-\text{PPh}_3]^+$) e ($[\text{M}-\text{L3}]^+$)..... 65
- FIGURA 4.19: Esquema representativo dos níveis de energia e transições eletrônicas com destaque para as transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$. Adaptado de PAVIA et al.¹⁵³ 66
- FIGURA 4.20: Espectro eletrônico dos ligantes L1 e L6, em solução de acetonitrila e respectiva atribuição tentativa das bandas de absorção. 67
- FIGURA 4.21: Deconvolução dos espectros dos ligantes A) L1, B) L5 e C) L6 e atribuição tentativa das bandas e D) esquema representativo de transições eletrônicas sobrepostas às transições vibracionais. Os espectros eletrônicos experimentais foram registrados em soluções dos ligantes, em acetonitrila. 69

- FIGURA 4.22: Deconvolução do espectro do complexo precursor e atribuição tentativa das bandas. O espectro eletrônico experimental foi registrado em solução do complexo precursor, em acetonitrila..... 70
- FIGURA 4.23: Deconvolução dos espectros dos complexos A) 1 e B) 1a e atribuição tentativa das bandas. Os espectros eletrônicos experimentais foram registrados em soluções dos complexos, em acetonitrila..... 72
- FIGURA 4.24 Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos 1, 1a, 4 e 4a de soluções saturadas dos complexos, em uma mistura DMSO (90%)/ Meio de cultura (10%) em diferentes tempos de monitoramento. 76
- FIGURA 4.25: Espectros UV-vis de soluções 10 μM dos complexos 1, 1a, 4 e 4a, em uma mistura DMSO (0,5 %)/ meio de cultura (99,5 %) em diferentes tempos de monitoramento. 77
- FIGURA 4.26: Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ de uma solução saturada do complexo precursor $[\text{Cu}(\text{NO}_3)(\text{PPh}_3)_2]$, em uma mistura DMSO (90%)/ Meio de cultura (10%), em diferentes tempos de monitoramento. 80
- FIGURA 4.27: Curvas de concentração-resposta das células MDA-MB-231 e MCF-10A após tratamento com os complexos 1, 1a, 4 e 4a, adicionados imediatamente após o preparo das soluções e adicionados somente após a decomposição dos complexos. 82
- FIGURA 4.28: Micrografias das células MDA-MB-231 após tratamento com os complexos 1 e 1a em diferentes concentrações e tempos de exposição. 85
- FIGURA 4.29: Micrografias das células MCF-10A após tratamento com os complexos 1 e 1a em diferentes concentrações e tempos de exposição 86
- FIGURA 4.30: Micrografias de fluorescência das células MDA-MB-231 após tratamento com os complexos 1 e 1a por 24 h, em diferentes concentrações e marcadas com Alexa Fluor 488 faloidina (verde) e DAPI (azul). As imagens

foram obtidas com amplificação de 400×. Os experimentos foram realizados em triplicata. O controle positivo (C+) utilizado foi a Camptotecina 20 µM. 87

FIGURA 4.31: Sobrevivência clonogênica das células MDA-MB-231 tratadas com diferentes concentrações do complexo 1 por 48 h. A representação dos poços e limiares para o experimento é mostrada junto com as quantificações gráficas da área e intensidade das colônias. Os dados representam a média ± DP dos ensaios em triplicata. Significância nos níveis * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ usando ANOVA e teste Dunnet's..... 88

FIGURA 4.32: Sobrevivência clonogênica das células MDA-MB-231 tratadas com diferentes concentrações do complexo 1a por 48 h. A representação dos poços e limiares para o experimento é mostrada junto com as quantificações gráficas da área e intensidade das colônias. Os dados representam a média ± DP dos ensaios em triplicata. Significância nos níveis * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ usando ANOVA e teste Dunnet's..... 89

FIGURA 4.33: Representação esquemática da progressão das fases do ciclo celular. Adaptado de: <https://brasilecola.uol.com.br/biologia/mitose.htm> e https://pt.wikipedia.org/wiki/Ciclo_celular..... 90

FIGURA 4.34: A) Histogramas de DNA do ensaio do ciclo celular nas células MDA-MB-231 incubadas com iodeto de propídio (PI) (detectado no canal FL2-A), após tratamento com o complexo 1, em diferentes concentrações, por 24 h. B) gráfico da porcentagem de células em cada fase do ciclo celular após tratamento com o complexo 1, em diferentes concentrações, por 24 h. C) gráfico da porcentagem de células em cada fase do ciclo celular após tratamento com o complexo 1a, em diferentes concentrações, por 24 h. Os dados representam a média ± DP dos ensaios em triplicata. Significância nos níveis de * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ usando ANOVA e teste Tukey's..... 92

FIGURA 4.35: Histogramas de DNA do ensaio do ciclo celular nas células MDA-MB-231 incubadas com iodeto de propídio (PI) (detectado no canal FL2-

A), após tratamento com os complexos 4 e 4a, na concentração de 25 μ M, por 24 h.	93
FIGURA 4.36: Representação esquemática da morfologia de células em apoptose e necrose. Adaptada de https://pt.slideshare.net/tamiris18/2-lesao-reversvel-e-necrose	94
FIGURA 4.37: Representação esquemática de um histograma de dois parâmetros para a distribuição das células em apoptose e necrose.....	95
FIGURA 4.38: Histogramas de dois parâmetros que mostra a distribuição das células MDA-MB-231 após tratamento com diferentes concentrações dos complexos 1 e 1a, incubados por 24 h e, em seguida, marcadas com Anexina V-PE (detectado no canal FL2-A) e 7-AAD (detectado no canal FL3-A) para medir o efeito dos complexos na indução de apoptose nas células tumorais.....	96
FIGURA 4.39: Gráficos da porcentagem de células apoptóticas após tratamento com os complexos 1 e 1a em diferentes concentrações. Os dados representam a média \pm DP dos ensaios em triplicata. Significância nos níveis de * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ usando ANOVA e teste Tukey's.....	96
FIGURA 4.40: Dano nuclear causado pelos complexos 1 e 1a nas células MDA-MB-231. As células foram tratadas com concentrações de $\frac{1}{2}IC_{50}$, IC_{50} e $2 \times IC_{50}$ do complexo 1 e 1a por 24 h e marcadas com DAPI. As imagens foram obtidas com amplificação de 400 \times . As setas brancas indicam observação crescente de condensação de cromatina e aparência de fragmentação nuclear em comparação com células não tratadas (C-). Controle positivo (C+): cisplatina 10 μ M.	98
FIGURA 4.41: Rota de síntese para a obtenção dos complexos da série 2.	99
FIGURA 4.42: Estruturas cristalinas dos complexos 1b e 2b.	100

- FIGURA 4.43: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais dos complexos 1b-4b e de seus respectivos ligantes naftoquinonas, na região de 3800-2600 cm^{-1} 103
- FIGURA 4.44: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais do complexo 1b e de seu respectivo ligante naftoquinona, na região de 1800-400 cm^{-1} 104
- FIGURA 4.45: Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para os complexos A) 1b e 2b em clorofórmio-d e B) 3b e 4b em acetona- d_6 106
- FIGURA 4.46: Espectro de RMN de ^1H obtido para o complexo 1b, em CDCl_3 e atribuição dos sinais referentes ao complexo. 107
- FIGURA 4.47: Espectro de RMN de ^1H obtido para o complexo 4b, em acetona- d_6 e atribuição dos sinais referentes ao complexo. 108
- FIGURA 4.48: Mapa de correlação COSY (^1H - ^1H) obtido para o complexo 1b, região aromática, em CDCl_3 . Em destaque os conjuntos de sinais exibidos pelo complexo. 109
- FIGURA 4.49: Mapa de correlação COSY (^1H - ^1H) obtido para o complexo 2b, regiões, alifática (1,4 – 5,4 ppm) e aromática (7,1 – 8,1 ppm), em CDCl_3 . Em destaque os conjuntos de sinais exibidos pelo complexo. 110
- FIGURA 4.50: Mapa de correlação COSY (^1H - ^1H) obtido para os complexos A) 3b e B) 4b, região aromática, em acetona- d_6 . Em destaque, os conjuntos de sinais exibidos pelo complexo..... 111
- FIGURA 4.51: Mapa de correlação HMBC (^1H - ^{13}C) obtido para o complexo 1b, em CDCl_3 . Em destaque os acoplamentos exibidos pelos complexos relativos aos carbonos C1=O1, C2-O2 e C4=O3..... 112
- FIGURA 4.52: Mapa de correlação HMBC (^1H - ^{13}C) obtido para o complexo 4b, em acetona- d_6 . Em destaque os acoplamentos exibidos pelos complexos relativos aos carbonos C1=O1, C2-O2 e C4=O3..... 113

FIGURA 4.53: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo 1b, em CDCl_3 e atribuição dos sinais referentes ao complexo.	114
FIGURA 4.54: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo 4b, em acetona- d_6 e atribuição dos sinais referentes ao complexo.	114
FIGURA 4.55: Espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ A) do complexo 1b e de seu respectivo ligante livre NQ1 em CDCl_3 e B) do complexo 4b e de seu respectivo ligante NQ4 em acetona- d_6	116
FIGURA 4.56: Espectros absorção UV-visível dos ligantes A) NQ1 e B) NQ2 em solução de acetonitrila e suas respectivas fórmulas estruturais com destaque aos sistemas benzenóide e quinonóide e atribuições das bandas de absorção..	117
FIGURA 4.57: Espectros de absorção UV-visível dos ligantes NQ1 e NQ2 em solução de acetonitrila, antes e após desprotonação com uma solução $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de NaOH.....	118
FIGURA 4.58: Efeito solvatocrômico nas bandas de absorção dos ligantes NQ1 e NQ2.....	118
FIGURA 4.59: Espectros de absorção UV-visível dos ligantes NQ1 e NQ2 desprotonados e de seus respectivos complexos 1b e 2b, em solução de acetonitrila.	119
FIGURA 4.60: Espectros UV-visível dos complexos 1b e 2b, dos ligantes NQ1 e NQ2 livres e do complexo precursor, em solução de acetonitrila, com as respectivas tentativas de atribuições de suas bandas.	120
FIGURA 4.61: Deconvolução dos espectros eletrônicos dos ligantes NQ1 e NQ2 desprotonados e de seus respectivos complexos 1b e 2b na região de $35000\text{-}15000 \text{ cm}^{-1}$	121
FIGURA 4.62: Espectros de absorção UV-visível dos ligantes NQ3 e NQ4 em solução de acetonitrila, antes e após desprotonação com uma solução $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de NaOH.....	122

FIGURA 4.63: Efeito solvatocrômico nas bandas de absorção dos ligantes NQ3 e NQ4.....	123
FIGURA 4.64: Espectros de absorção UV-visível dos ligantes NQ3 e NQ4 desprotonados e dos seus respectivos complexos 3b e 4b, em solução de acetonitrila, com destaque para a região da banda de ICT.....	124
FIGURA 4.65: Espectros UV-visível dos complexos 3b e 4b, dos ligantes NQ3 e NQ4 livres e do complexo precursor, em solução de acetonitrila, com as respectivas tentativas de atribuições de suas bandas.	124
FIGURA 4.66: Deconvolução dos espectros eletrônicos dos ligantes NQ3 e NQ4 desprotonados e de seus respectivos complexos 3b e 4b na região de 36000-12000 cm^{-1}	125
FIGURA 4.67: Deconvolução dos espectros eletrônicos dos complexos 1b, 2b, 3b e 4b na região do ultravioleta	126
FIGURA 4.68: Espectros UV-vis do complexo 4b (20 μM) irradiados com luz LED 375 nm e lâmpada RPR-4190, em DMSO na presença de O_2 (sistema aberto).....	128
FIGURA 4.69: A) Volta térmica do complexo 4b no escuro (20 μM) em DMSO, acompanhada por UV-vis, após 19 h de irradiação com luz LED de 375 nm e B) Fotografias das cubetas no início e após 19 h de irradiação com luz LED de 375 nm.	128
FIGURA 4.70: Espectros UV-vis de uma solução do complexo 4b em DMSO (25 μM) irradiado em diferentes tempos, na ausência de O_2 (solução saturada com Ar).....	129
FIGURA 4.71: A) Espectros de EPR experimental e simulados de uma solução do complexo 4b (10 μM) e DMPO (40 mM) em DMSO, antes da irradiação evidenciando a formação do aduto ($^{\bullet}\text{DMPO-OOH}$) e B) Esquema reacional de formação do aduto ($^{\bullet}\text{DMPO-OOH}$).....	130

- FIGURA 4.72: A) Espectros de EPR de uma solução do complexo 4b (10 μ M) e DMPO (40 mM), em DMSO obtidos ao longo de 60 min de irradiação evidenciando a formação dos adutos \cdot DMPO-OOH e \cdot DMPO-OH e B) Representação gráfica do aumento da intensidade do sinal de EPR em função do tempo de exposição a irradiação, da solução do complexo 4b. 132
- FIGURA 4.73: A) Esquema reacional de formação do aduto \cdot DMPO-OH e B) espectros de EPR experimental e simulados de uma solução do complexo 4b (10 μ M) e DMPO (40 mM), em DMSO, após 60 min da irradiação evidenciando a formação do aduto \cdot DMPO-OH. 133
- FIGURA 4.74: Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ de soluções saturadas dos complexos 1b-4b, em uma mistura DMSO (90%)/ Meio de cultura (10%), em diferentes tempos de monitoramento. 135
- FIGURA 4.75: Espectros UV-vis de soluções 10 μ M dos complexos 1b-4b, em uma mistura DMSO (0,5%)/ Meio de cultura (99,5%), em diferentes tempos de monitoramento..... 136
- FIGURA 4.76: Micrografias das células MDA-MB-231 após tratamento com os complexos 1b e 4b em diferentes concentrações e tempos de exposição. 139
- FIGURA 4.77: Micrografias das células MCF-10A após tratamento com os complexos 1b e 4b em diferentes concentrações e tempos de exposição. 140
- FIGURA 4.78: Sobrevivência clonogênica das células MDA-MB-231 tratadas com diferentes concentrações do complexo 1b por 48 h. A representação dos poços e limiares para o experimento é mostrada junto com as quantificações gráficas da área e intensidade das colônias. Os dados representam a média \pm DP dos ensaios em triplicata. Significância nos níveis * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ usando ANOVA e teste Dunnet's..... 141
- FIGURA 4.79: Sobrevivência clonogênica das células MDA-MB-231 tratadas com diferentes concentrações do complexo 4b por 48 h. A representação dos

poços e limiars para o experimento é mostrada junto com as quantificações gráficas da área e intensidade das colônias. Os dados representam a média \pm DP dos ensaios em triplicata. Significância nos níveis * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ usando ANOVA e teste Dunnet's..... 142

FIGURA 4.80: À esquerda, micrografias das células MDA-MB-231 obtidas no ensaio de *Wound Healing* no qual avaliou-se o efeito na migração celular dos complexos 1b e 4b nas concentrações $\frac{1}{4}IC_{50}$ e $\frac{1}{2}IC_{50}$. A objetiva utilizada no experimento foi a com aumento de 4 \times . À direita, representação gráfica da porcentagem de fechamento da risca após 24 e 48 h de incubação com os complexos. As imagens apresentadas são representativas de cada condição e os dados representam a média \pm DP dos ensaios em triplicata. Significância nos níveis * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ usando ANOVA e teste Dunnet's..... 144

RESUMO

“PROPRIEDADES CITOTÓXICAS DE COMPLEXOS DE Cu(I)-TRIFENILFOSFINA COM LIGANTES ACILTIOUREIAS OU NAFTOQUINONAS”: Neste trabalho são apresentadas a síntese, caracterização e avaliação da atividade citotóxica de dezesseis complexos de Cu(I)/Trifenilfosfina contendo ligantes aciltioureas ou naftoquinonas. Os complexos foram divididos em duas séries baseadas nas classes dos ligantes utilizados. A primeira série é composta pelos complexos neutros de fórmula geral $[Cu(L_n)(PPh_3)_2]$ (**1-6**) e complexos monocatiônicos de fórmula geral $[Cu(L_n)(PPh_3)_2]NO_3$ (**1a-6a**), em que L_n = ligante aciltiourea e PPh_3 = trifenilfosfina. A segunda série é composta pelos complexos neutros de fórmula geral $[Cu(NQ_n)(PPh_3)_2]$ (**1b-4b**), em que NQ_n = ligante naftoquinona e PPh_3 = trifenilfosfina. Os complexos foram caracterizados por diferentes técnicas como análise elementar, condutividade molar, espectroscopia de absorção na região do infravermelho, ressonância magnética nuclear 1D ($^{31}P\{^1H\}$, 1H e $^{13}C\{^1H\}$) e 2D (COSY 1H - 1H , HSQC 1H - ^{13}C e HMBC 1H - ^{13}C), espectrometria de massas e difração de raios X de monocristal. Na caracterização por RMN de $^{13}C\{^1H\}$, os complexos (**1-6**) se destacaram por apresentar um padrão de deslocamento químico incomum, para os carbonos C=O e C=S dos ligantes aciltioureas após a coordenação bidentada (S, O) e aniônica. Os resultados experimentais foram fundamentados por estudos de DFT que sugeriram que efeitos relativísticos influenciaram fortemente as constantes de proteção de RMN dos átomos leves, devido a coordenação ao átomo pesado (Cu(I)). Os complexos tiveram sua estabilidade em meio de cultura celular investigada, sendo que todos se mostraram instáveis influenciando diretamente nos resultados biológicos obtidos. A citotoxicidade *in vitro* dos complexos foi determinada nas linhagens celulares tumorais e não tumorais de mama (MCF7, MDA-MB-231 e MCF-10A) e de pulmão (A549 e MRC-5), e todos os complexos foram ativos exibindo valores de IC_{50} na mesma faixa nas diferentes linhagens celulares. Os

compostos foram mais ativos que os ligantes livres e que o sal precursor dos complexos, demonstrando que mesmo instáveis os compostos são importantes para a ação citotóxica. Os complexos **1** e **1a** da série 1, contendo os ligantes aciltioureas, foram capazes de alterar a morfologia das células MDA-MB-231 (células de câncer de mama triplo negativo), inibir a formação de colônias, mostrando efeitos citotóxico e citostáticos nessa linhagem celular e alterar significativamente o citoesqueleto das células, reduzindo a densidade e promovendo a condensação dos filamentos de F-actina. Além disso, promoveram o aumento das células com DNA fragmentado (sub-G0) e induziram às células a morte por apoptose. Os complexos **1b** e **4b**, da série 2, com os ligantes naftoquinonas, alteraram a morfologia das células MDA-MB-231, inibiram a formação de colônias em concentrações maiores que a do IC₅₀ e foram capazes de inibir a migração celular. Enfim os compostos sintetizados e caracterizados neste trabalho são importantes relatos de complexos de cobre (I) com propriedade citotóxica em diferentes linhagens celulares tumorais com potencial para estudos futuros em modelos *in vivo*.

ABSTRACT

“CYTOTOXIC PROPERTIES OF Cu(I)-TRIPHENYLPHOSPHINE COMPLEXES WITH ACYLTHIOUREA OR NAPHTHOQUINONES LIGANDS”: In this work, the synthesis, characterization, and evaluation of the cytotoxic activity of sixteen Cu(I)/Triphenylphosphine complexes containing the acylthiourea or naphthoquinones ligands are presented. The complexes were divided into two series based on the classes of the ligands used. The first series is composed of the neutral complexes of general formula $[\text{Cu}(\text{L}_n)(\text{PPh}_3)_2]$ (**1-6**) and monocationic complexes of general formula $[\text{Cu}(\text{L}_n)(\text{PPh}_3)_2]\text{NO}_3$ (**1a-6a**), where L_n = acylthiourea and PPh_3 = triphenylphosphine. The second series is composed of the neutral complexes of general formula $[\text{Cu}(\text{NQ}_n)(\text{PPh}_3)_2]$ (**1b-4b**), where NQ_n = naphthoquinone and PPh_3 = triphenylphosphine. All complexes were characterized by different techniques such as elemental analysis, molar conductivity, infrared absorption spectroscopy, 1D and 2D nuclear magnetic resonance ($^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, ^1H and $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$), mass spectrometry, and X-ray diffraction. In the $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR spectra, the complexes (**1-6**) stood out by showing the unusual chemical shift pattern, for the C=O and C=S carbon atoms of the acylthiourea ligand after bidentate (S, O) and anionic coordination. The experimental results were supported by DFT studies that suggested that relativistic effects strongly influenced the NMR protection constants of the light atoms due to coordination to the heavy atom Cu. The stability of the complexes in the cell culture medium was investigated and all the complexes were shown to be unstable, directly influencing the biological results obtained. The *in vitro* cytotoxicity of the complexes was determined in the breast (MCF7 and MDA-MB-231) and lung (A549) tumor cell lines and in the corresponding non-tumor breast (MCF-10A) and lung (MRC-5) cell lines, and all complexes were actives exhibiting IC_{50} values in the same range in different cell lines. The compounds were more active than the free ligands and the precursor salt of the complexes in different cell lines, showing that even unstable complexes are

relevant for the cytotoxic action. In general, the acylthiourea series complexes, **1** and **1a**, were able to change the morphology of MDA-MB-231 cells, inhibit colony formation, showing cytotoxic and cytostatic effects on this cell line, significantly altering the cytoskeleton of cells, reducing the density, and promoting the condensation of the F-actin filaments. They promoted the increase of cells in the fragmented DNA region (sub-G0) and induced cell death by apoptosis. The complexes of the naphthoquinone series, **1b**, and **4b**, altered the morphology of MDA-MB-231 cells, inhibited colony formation at concentrations higher than the IC_{50} , and were able to inhibit cell migration. Finally, the compounds synthesized and characterized in this work are relevant reports of copper (I) complexes with cytotoxic properties in different tumor cell lines with potential for future studies *in vivo* models.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	IV
LISTA DE FIGURAS	VII
RESUMO	XVIII
ABSTRACT	XX
SUMÁRIO.....	XXII
1 - INTRODUÇÃO.....	1
1.1 - Revisão da Literatura	2
1.1.1 - Câncer: incidência e tratamento.....	2
1.1.2 - Compostos de platina no tratamento do câncer	4
1.1.3 - Cobre e sua importância biológica.....	6
1.1.4 - Cobre na terapia do câncer.....	8
1.1.5 - Ligantes aciltioureias e naftoquinonas no desenho de complexos metálicos.....	12
1.2 - Planejamento dos novos complexos de Cu(I)/Trifenilfosfina com os ligantes aciltioureias ou naftoquinonas.....	18
2 - OBJETIVO.....	21
2.1 - Objetivo Geral	21
2.2 - Objetivos Específicos	21
3 - METODOLOGIA.....	23
3.1 - Obtenção de atmosfera inerte	23
3.2 - Solventes e reagentes utilizados nas sínteses	23
3.3 - Sínteses dos complexos.....	23
3.3.1 - Sínteses dos complexos da série 1: 1-6 ($[\text{CuLn}(\text{PPh}_3)_2]$)	23
3.3.2 - Sínteses dos complexos da série 1: 1a-6a ($[\text{CuLn}(\text{PPh}_3)_2]\text{NO}_3$)	24
3.3.3 - Sínteses dos complexos da série 2: 1b-4b ($[\text{CuNQn}(\text{PPh}_3)_2]$)... 25	25

3.4	- Caracterização dos complexos	25
3.4.1	- Condutividade Molar	25
3.4.2	- Análise elementar.....	25
3.4.3	- Espectroscopia vibracional na região do infravermelho.....	26
3.4.4	- Espectroscopia de absorção na região do UV-visível.....	26
3.4.5	- Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN).....	26
3.4.6	- Difração de Raios X.....	27
3.4.7	- Espectrometria de Massas.....	28
3.5	- Cálculos teóricos.....	28
3.6	- Estabilidade dos complexos em meio de cultura.....	29
3.7	- Determinação de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês Reactive Oxygen Species).....	30
3.8	- Ensaio Biológicos	30
3.8.1	- Cultura das células	31
3.8.2	- Ensaio de viabilidade celular	32
3.8.3	- Morfologia celular.....	32
3.8.4	- Morfologia celular (marcação com Faloidina)	33
3.8.5	- Sobrevivência clonogênica	34
3.8.6	- Ensaio de Ciclo celular	34
3.8.7	- Ensaio de apoptose.....	35
3.8.8	- Ensaio de Migração (<i>Wound Healing</i>).....	36
4	- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4.1	- Síntese e Caracterização dos complexos (série 1).....	37
4.2	- Estabilidade e citotoxicidade <i>in vitro</i> dos complexos (série 1)	75
4.2.1	- Análise morfológica das células MDA-MB-231 e MCF-10A ..	84
4.2.2	- Ensaio de formação de colônias.....	87
4.2.3	- Análise de ciclo celular.....	90
4.2.4	- Avaliação da morte celular por apoptose.....	93

4.3 - Síntese e Caracterização dos complexos (série 2).....	99
4.4 Detecção de espécies reativas de oxigênio (ROS)	127
4.5 - Estabilidade e citotoxicidade <i>in vitro</i> dos complexos (série 2)	134
4.5.1 - Análise da Morfologia celular	138
4.5.2 - Ensaio de Formação de colônias.....	140
4.5.3 - Ensaio de inibição da Migração (<i>Wound Healing</i>).....	142
5 - CONCLUSÕES.....	145
REFERÊNCIAS	148
APÊNDICE	173

1 - INTRODUÇÃO

O câncer é um dos principais problemas de saúde de impacto global. Recentemente uma comunicação publicada na revista *Cancer* por pesquisadores da Agência internacional de Pesquisa sobre o câncer mostrou que o câncer figura entre as duas principais causas de morte prematura em 127 países. Segundo os pesquisadores, a tendência é que o câncer supere as doenças cardiovasculares e se torne a principal causa de morte prematura na maioria dos países ao longo deste século.¹ Nesse contexto formas de se combater essa doença incluindo o desenvolvimento de novos fármacos ainda se constitui um grande desafio.

O desenvolvimento de um fármaco é um processo longo e dispendioso que passa pela descoberta de uma nova molécula, testes *in vitro* e testes em modelos animais (*in vivo*), abrangendo estudos iniciais de segurança, farmacologia e toxicologia, até finalmente entrar para os ensaios clínicos de fases I, II, III, aprovação pelas agências reguladoras e fase IV. Vale ressaltar que muitos dos candidatos que chegam aos ensaios clínicos falham devido a problemas, tais como baixa biodisponibilidade, baixa eficácia e efeitos colaterais graves.²⁻⁴ Este trabalho, portanto, se coloca como uma contribuição para o setor, no sentido de identificar novos compostos como potenciais candidatos a fármacos através da síntese e caracterização, além dos estudos iniciais *in vitro* para a identificação dos efeitos dos compostos em células tumorais.

O desenvolvimento dos novos compostos toma como base as limitações que os fármacos possuem como efeitos colaterais e resistência adquirida. Além disso o sucesso do metalofármaco, a cisplatina, na quimioterapia do câncer impulsionou as pesquisas em direção aos compostos de coordenação. Assim, diferentes metais e ligantes têm sido empregados no desenvolvimento de novos compostos que possam ser utilizados para o tratamento desta enfermidade. O cobre é um metal essencial para o desempenho

de várias funções em organismos vivos e que desempenha um papel crucial na progressão de tumores cancerígenos, participando de processos como a proliferação celular e angiogênese e, conseqüentemente, na formação de metástases.^{5,6} Os compostos à base desse metal vêm sendo frequentemente investigados em diversos estudos como potenciais candidatos a metalofármacos, e têm mostrado promissora ação antitumoral, atuando por diversos mecanismos de ação como por exemplo, interação com biomoléculas ou geração de espécies reativas de oxigênio.⁷⁻¹⁰

Os ligantes selecionados para a síntese dos novos complexos à base de cobre foram a classe das aciltioureas e das naftoquinonas, ligantes que já possuem propriedades biológicas, incluindo a antitumoral, além de serem fundamentais para a modulação de propriedades dos complexos, como lipofilicidade, solubilidade e estabilidade. Adicionalmente nosso grupo de pesquisa, o Laboratório de estrutura e reatividade de compostos inorgânicos (LERCI), possui vasta experiência na utilização desses ligantes na síntese de compostos de coordenação, tendo obtido resultados muito promissores na área.¹¹⁻¹⁶ Portanto, este trabalho pretende colaborar com a descoberta de novos compostos com ação citotóxica frente às células tumorais, além de demonstrar aspectos estruturais relevantes dos complexos de cobre através das técnicas de caracterização e estudo teórico.

1.1 - Revisão da Literatura

1.1.1 - Câncer: incidência e tratamento

Câncer é o nome usado para definir um grupo de doenças que possuem em comum a multiplicação descontrolada de células. Este crescimento desordenado é causado por uma mutação genética no DNA da célula, que passa

a receber instruções errôneas para a realização de suas funções, em um processo denominado carcinogênese, que em geral, ocorre de forma lenta e gradual.^{17,18} No estágio mais avançado da doença as células cancerosas já se encontram disseminadas, entrando na corrente sanguínea ou no sistema linfático e se espalhando para uma nova região do corpo, iniciando a formação de um tumor secundário. Este processo é denominado metástase, e é o estágio mais perigoso do câncer, com o pior prognóstico.^{19,20}

A incidência e a mortalidade em decorrência do câncer estão crescendo rapidamente segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) e os fatores relacionados a esse crescimento são complexos. No entanto, o envelhecimento e crescimento populacional estão associados ao impacto global causado pelo câncer.²¹ Em 2020, o câncer representou aproximadamente 10 milhões de mortes em todo o mundo, sendo os cânceres mais incidentes o de mama com 2,3 milhões de casos novos, seguido pelos de pulmão com 2,2 milhões e de próstata com 1,4 milhões.²² No Brasil, para cada ano do triênio 2020-2022, estima-se a ocorrência de 625 mil novos casos de câncer. Os tipos mais incidentes, excetuando-se o câncer de pele não melanoma, serão os cânceres de próstata e cólon e reto no sexo masculino e os cânceres de mama e cólon e reto no feminino.²³

O cenário apresentado acima mostra os desafios para o estabelecimento de medidas para controlar o câncer, o que requer compreensão sobre a doença, diagnóstico, além de esforços na busca de tratamentos cada vez mais eficazes. Atualmente as formas mais comuns de tratar o câncer são a cirurgia, a radioterapia, a imunoterapia e a quimioterapia, sendo que na maioria das vezes é empregado uma combinação desses tratamentos.²⁴ Dentre as intervenções mencionadas, a quimioterapia é a mais utilizada e consiste na administração, em intervalos regulares, de um ou mais medicamentos, que são denominados quimioterápicos ou antineoplásicos, e que visam a inibição, controle e/ou a destruição das células tumorais.^{25,26}

Os quimioterápicos para o tratamento do câncer incluem tanto compostos orgânicos quanto compostos inorgânicos, e um dos mais utilizados é o cisplatina, uma vez que desde que foi introduzido na clínica médica, sua eficácia foi evidenciada em virtude do aumento da taxa de cura de tumores sólidos como por exemplo, o de testículo que atingiu índice próximo de 90% quando detectado precocemente.²⁷

1.1.2 - Compostos de platina no tratamento do câncer

A cisplatina foi o primeiro fármaco à base de metal empregado no tratamento do câncer, sendo aprovado para uso clínico em 1978 pela FDA (Food and Drug Administration). Sua propriedade medicinal foi descoberta acidentalmente em 1965, enquanto Barnett Rosenberg e colaboradores estudavam o efeito de uma corrente elétrica em bactérias *Escherichia coli* em que se verificou que a cisplatina inibia a divisão celular das bactérias. Após esse evento, investigações posteriores permitiram identificar que esse composto também possuía propriedade antitumoral.²⁷⁻²⁹

A cisplatina atua de forma não seletiva, devido sua alta reatividade, e por isso causa lesões tanto nas células tumorais quanto nas normais, o que acarreta diversos efeitos colaterais, como nefrotoxicidade, ototoxicidade, náuseas, vômitos, perda de cabelo, entre outros,³⁰⁻³² o que impulsionou a busca por novos fármacos a base de platina menos reativos, sendo alguns deles aprovados para uso clínico.²⁷ A Figura 1.1 mostra a linha do tempo para o desenvolvimento dos compostos de platina, atualmente utilizados na clínica médica para o tratamento do câncer.

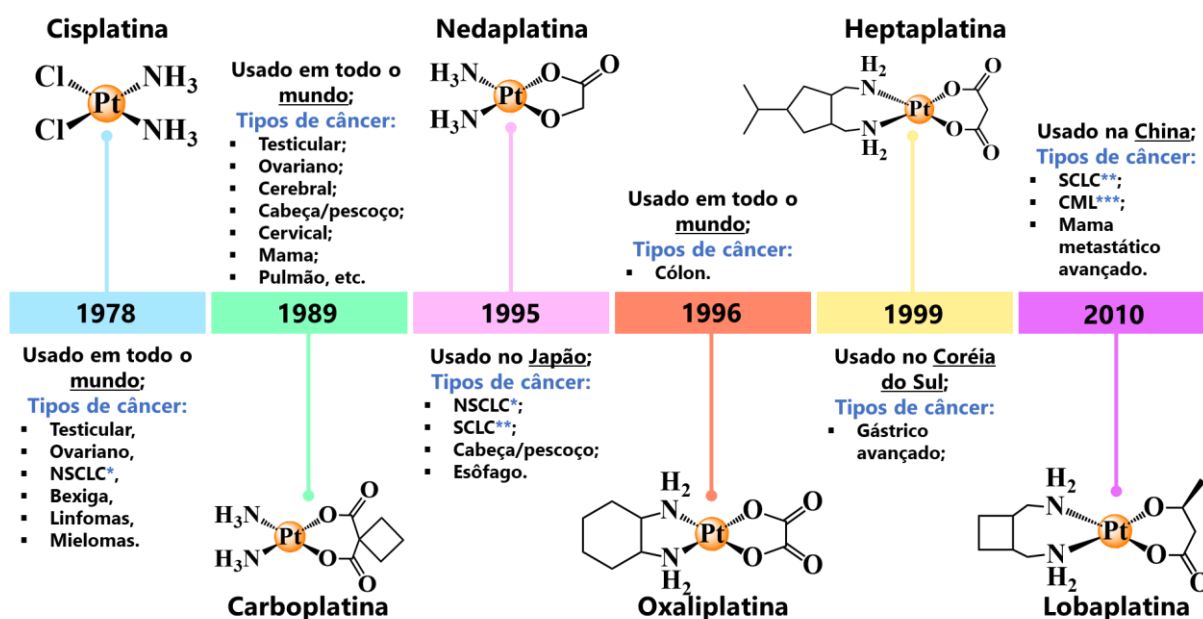


FIGURA 1.1: Linha do tempo para o desenvolvimento dos medicamentos à base de platina empregados no tratamento do câncer. *NSCLC = Non-Small-Cell Lung Carcinoma, **SCLC= Small-Cell Lung Carcinoma e ***CML = Chronic Myeloid Leukemia).

Os compostos à base de platina, são hoje empregados em aproximadamente 50% dos regimes quimioterápicos,³³ sendo eficazes no combate de diferentes tipos de neoplasias, incluindo cabeça, pescoço, testículo, ovário, pulmão, estômago, etc.³⁴ Dentre os mecanismos de ação apontados para esses compostos, o mais clássico deles descreve que os complexos entram na célula via difusão passiva através da membrana celular. No meio intracelular ocorre a labilização dos ligantes cloridos, carboxilatos ou oxalato formando novas espécies em que moléculas de água substituem os ligantes lábeis. Essas novas espécies interagem com as bases nitrogenadas do DNA, mais especificamente com a guanina, formando um aduto com o DNA, levando à danos estruturais e inativação dessa biomolécula. Ao danificar o DNA, os compostos de platina impedem a replicação das células, desencadeando o processo de morte celular.^{33,35}

Um outro problema recorrente relativo aos compostos de platina é a resistência adquirida com o uso sistêmico desses compostos. A resistência

adquirida às drogas de platina pode ocorrer por meio de três mecanismos principais: aumento da degradação e desativação da droga antes de atingir o alvo (DNA); diminuição da absorção das drogas nas células cancerosas e melhorias no processo de reparo do DNA pela célula devido aos danos causados pelos compostos.³⁶⁻³⁸ Vale ressaltar que os efeitos colaterais e resistência adquirida não são limitações restritas a essa classe de compostos, os quimioterápicos de um modo geral provocam esses efeitos indesejáveis.

Adicionalmente ao desenvolvimento dos compostos à base de platina, outros metais ganharam destaque no desenvolvimento de metalofármacos para o tratamento do câncer devido às limitações citadas acima, dentre eles o cobre. Este se apresenta como um forte candidato, uma vez que as células tumorais possuem uma resposta diferenciada ao metabolismo desse metal, já que este é um metal endógeno, importante para o desempenho de diversas funções nos organismos.⁵

1.1.3 - Cobre e sua importância biológica

O cobre é um nutriente essencial para o desempenho de diversas funções nos organismos, ainda que seja necessário em pequena quantidade, sendo útil como cofator catalítico ou como componente estrutural de proteínas.⁶ Possui uma alta capacidade para aceitar e doar elétrons, tornando-o ativo para as reações biológicas de oxidação-redução. Proteínas como a citocromo c oxidase (COX), NADH desidrogenase-2 (ND2), Cu/Zn-superóxido dismutase (SOD1) e tirosinase são alguns exemplos de proteínas que notadamente precisam de cobre para desempenhar suas funções não sendo possível substituí-lo por nenhum outro metal.⁶

A importância do cobre em humanos é ilustrada por dois distúrbios genéticos, as doenças de Menkes e Wilson (WD), que causam deficiência sistêmica de cobre ou excesso, respectivamente.^{39,40} A doença de Menkes é uma

doença recessiva ligada ao cromossomo X e fatal para crianças do sexo masculino. A deficiência de cobre causada pela doença de Menkes provoca uma série de sintomas, como hipotonia, cabelos ressecados e quebradiços, deterioração do sistema nervoso, deficiência intelectual, entre outros.^{41,42} Já a doença de Wilson leva a um acúmulo de cobre em diversos órgãos com consequente toxicidade, o que causa uma série de manifestações clínicas como artrite, cardiomiopatia, disfunção tubular renal, distúrbios do Sistema Nervoso Central (SNC), etc.^{43,44}

Qualquer desequilíbrio na biodisponibilidade do cobre, seja devido a mutações hereditárias ou a condições ambientais alteradas, leva à deficiência ou toxicidade e consequentes resultados patológicos, sendo indispensável a regulação das concentrações de cobre no corpo. Essa regulação é realizada através de mecanismos homeostáticos que controlam sua absorção, excreção e biodisponibilidade.⁴⁵⁻⁴⁷

O cobre dietético é inicialmente absorvido pelo intestino e o fígado é o responsável por controlar a distribuição de cobre ao soro e tecidos, além da excreção do excesso na bile. Estima-se que a quantidade de cobre livre é de menos de 1 átomo por célula, sendo que a maior parte do cobre biodisponível está incorporado em proteínas.^{48,49}

Na circulação, o cobre é transportado pelas proteínas plasmáticas, que incluem a ceruloplasmina, sintetizada e secretada por hepatócitos e que liga aproximadamente 70% do cobre no plasma, a albumina proteína mais abundante do plasma sanguíneo responsável pelo transporte de substâncias e a macroglobulina capaz de inativar uma enorme variedade de proteinases podendo atuar também como uma proteína transportadora.^{6,50,51} Internamente as células também possuem mecanismos reguladores para manter a homeostase do cobre, incluindo transportadores específicos para absorção, distribuição e efluxo de cobre (por exemplo, CTR1 e ATP7A/B) e pequenas moléculas para desintoxicação (por exemplo, glutatona e metalotioneínas).⁶

1.1.4 - Cobre na terapia do câncer

O cobre desempenha importantes funções no desenvolvimento e progressão do câncer, uma vez que pode influenciar na capacidade de células cancerígenas de invadir tecidos circundantes e se espalhar para órgãos distantes (metástase), além de ser um modulador angiogênico (formação de novos vasos), etapa essencial para fornecer oxigênio e nutrientes para tumores.^{52,53}

As funções desempenhadas pelo cobre nesses processos acontecem porque as proteínas que são importantes para a progressão do câncer são dependentes desse metal. Assim, baseado em seu papel na progressão do câncer, pesquisas direcionadas ao desenvolvimento de estratégias que apontam o cobre como alvo foram desenvolvidas.^{54,55} A Figura 1.2 resume essas estratégias, sendo que a primeira delas consiste na quelação de cobre livre para indisponibilizá-lo a processos como angiogênese e metástase, que são processos que dependem de proteínas que precisam deste metal para desempenhar suas funções.^{52,56} Alguns dos trabalhos que utilizaram essa estratégia mostraram que a quelação de cobre pela D-pen (D-penicilamina), trientina ou TM [(NH₄)₂MoS₄] atrasou a propagação de tumores inibindo a vascularização de lesões em modelos animais de alguns tipos de câncer.^{6,56} O composto TM por exemplo, é utilizado com esse fim estratégico encontrando-se em fase I de ensaios clínicos para tumores sólidos metastáticos incluindo mama, pulmão, cólon e próstata.⁵⁶

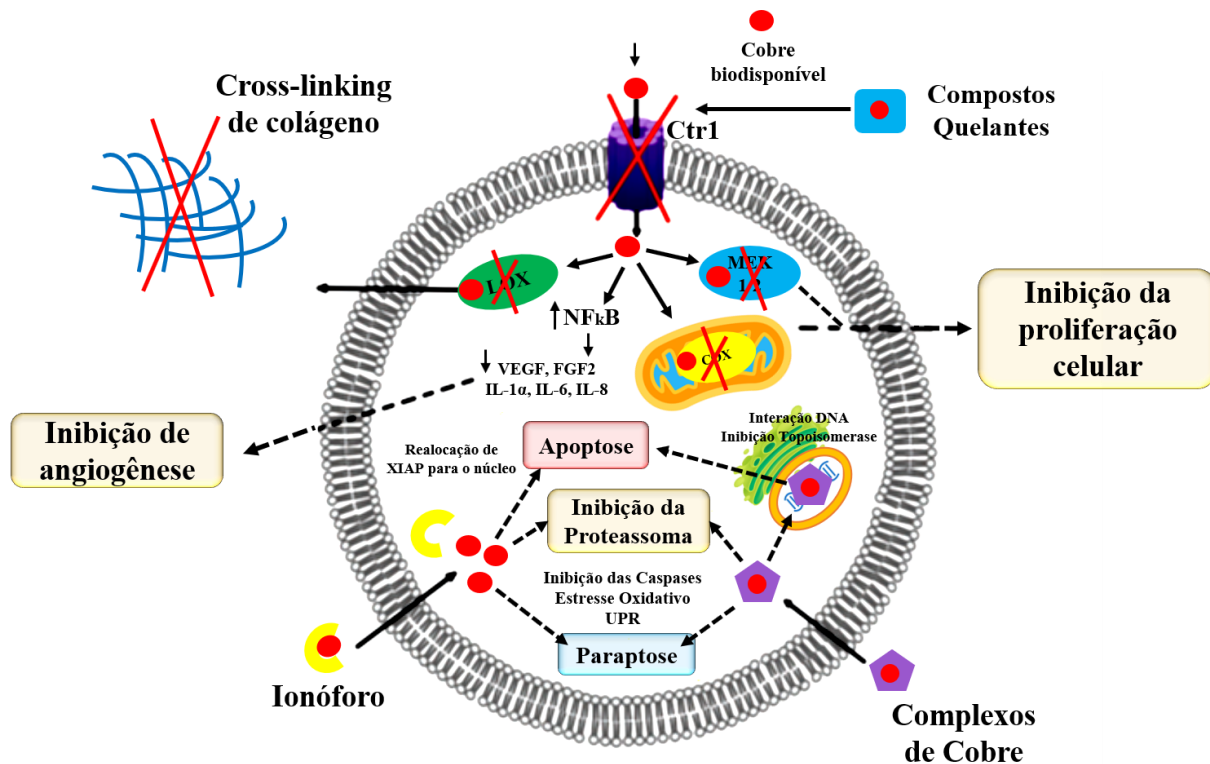


FIGURA 1.2: Estratégias que utilizam o cobre para a terapia do câncer. COX = citocromo c oxidase, Ctr1 = transportador de cobre 1, FGF2 = fator de crescimento de fibroblasto 2, IL-1 α , -6, -8= interleucina-1a, -6, -8, LOX= lisil oxidase, MEK1/ 2= proteína quinase ativada por mitogênio/ ERK (quinase regulada por sinal extracelular) quinase 1/2, NFkB = fator nuclear kappa B, UPR= resposta de proteína não dobrada, VEGF = fator de crescimento endotelial vascular, XIAP = inibidor de apoptose ligado ao X. FONTE: Adaptado de DENOYER et al. 22.

A segunda estratégia terapêutica consiste nos ionóforos de cobre, que são compostos capazes de transportar especificamente esse metal para as células, o biodisponibilizando, gerando um desequilíbrio em sua homeostase, o que pode desencadear a morte celular.⁵⁶ Compostos desse tipo têm internalizado cobre coordenado nas células exibindo atividade anticâncer *in vitro* e em modelos de camundongos e suas eficácias terapêuticas têm sido investigadas em vários ensaios clínicos.^{6,57,58}

Outra estratégia é baseada no sucesso da cisplatina e consiste em complexos de cobre que busquem atingir as células cancerígenas por alvos. Na

literatura inúmeros trabalhos têm relatado a atividade citotóxica e antitumoral de complexos de cobre, incluindo estudos *in vivo*.⁵⁹⁻⁶³ Os mecanismos de ação são os mais variados, envolvendo diferentes alvos moleculares, como a inibição das proteínas topoisomerase^{7,64} e proteassoma^{8,65,66}, desregulação da função mitocondrial,⁶⁷⁻⁷¹ geração de espécies reativas de oxigênio (EROs),^{10,72,73} interação com DNA,^{9,74,75} entre outros.

Uma classe de compostos de cobre que tem se destacado na terapia do câncer é a chamada Casiopeinas, que são complexos catiônicos de C (II), de fórmula geral $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{O-O})]^+$ ou $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{N-O})]^+$, em que N-N indica uma diimina aromática, como a 1,10-fenantrolina ou a 2,2-bipiridina, O-O representa um ligante acetilacetato ou salicilaldeído e N-O denota um aminoácido ou um peptídeo. Dentre esses compostos destaca-se o complexo $[\text{Cu}(4,4'\text{-dimetil-2,2'}\text{-bipiridina})(\text{acetilacetato})(\text{NO}_3)]$ (Figura 1.3) que entrou em fase I de ensaios clínicos. Esses compostos são considerados promissores, dada sua função hepática protetora concomitante a sua atividade antitumoral.⁷⁶⁻

78

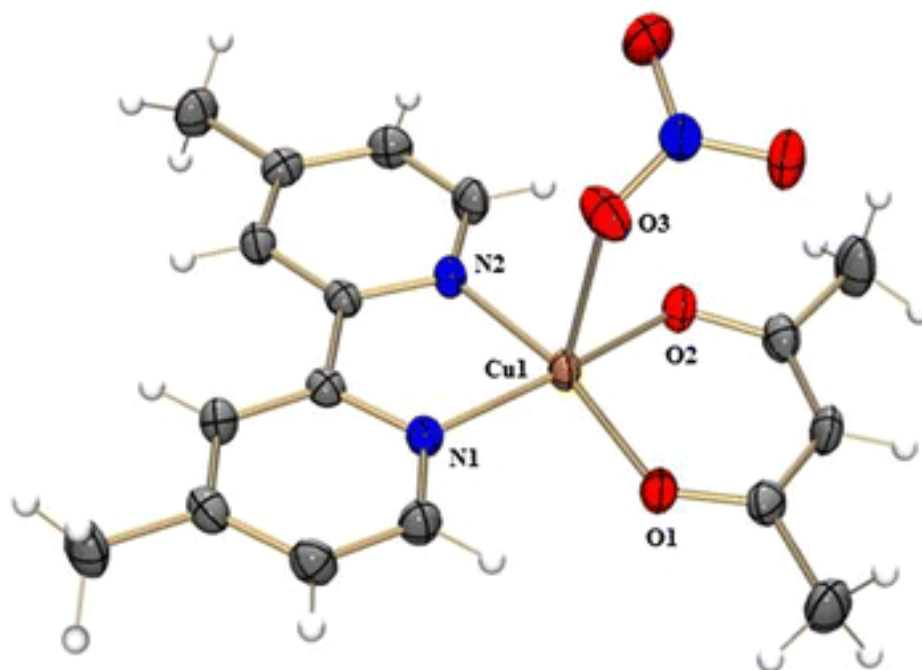


FIGURA 1.3: Estrutura cristalina do complexo $[\text{Cu}(4,4'\text{-dimetil-2,2'-bipiridina})(\text{acetilacetonato})(\text{NO}_3)]$ que encontra-se em estudo clínico fase I. FONTE: GARCÍA-RAMOS et al. 80.⁷⁹

Outros compostos de cobre que também têm atraído atenção são os investigados como nucleases artificiais.⁸⁰⁻⁸² As nucleases são enzimas que operam a níveis de DNA e RNA, sendo capazes de clivar as ligações de fosfodiésteres e assim, desempenham papel fundamental em processos como a síntese de DNA, reparo de DNA, empacotamento de DNA em cromossomos, maturação de RNAs ou maturação de pré-mRNA (RNA precursor).⁸³ Dessa forma compostos que sejam capazes de mimetizar essas enzimas podem hidrolisar o DNA, em uma diversidade de linhagens celulares induzindo as células à morte e, portanto, são potenciais candidatos à terapia do câncer.

Compostos de Cu (II) com os ligantes bases de Schiff, terpiridinas, polipiridil, entre outros, além da classe de compostos citados anteriormente, as Casiopeinas, já foram relatados como miméticos de nucleases.⁸³⁻⁸⁶ A capacidade desses complexos de mimetizar essas enzimas está relacionada ao fato do sítio ativo das nucleases ser ocupado por cátions divalentes como Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} ou Zn^{2+} e também a propriedade redox do cobre. Inclusive, para a maioria dos

complexos de cobre a clivagem do DNA é mediada através da formação de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês Reactive Oxygen Species), o que está intimamente ligado a propriedade redox desse metal.⁸³

1.1.5 - Ligantes aciltioureas e naftoquinonas no desenho de complexos metálicos

As aciltioureas constituem uma classe de ligantes derivados da tiourea em que um grupo carbonila encontra-se ligado à sua estrutura, como mostrado na Figura 1.4. Suas aplicações são vastas e englobam a área da medicina, agricultura, química e ciência dos materiais.⁸⁷⁻⁸⁹ Mais especificamente na medicina, as aciltioureas são promissoras para o tratamento de infecções, possuem atividade antibacteriana, antiviral e antitumoral.^{90,91} Do ponto de vista da química de coordenação são compostos versáteis uma vez que as mesmas possuem grupos doadores de elétrons O, S e N e podem se coordenar aos metais como ligantes neutros, monoaniônicos e bianiônicos. Adicionalmente, uma variedade de grupos R, R₁ e R₂ podem ser usados como substituintes na estrutura principal da aciltiourea, permitindo uma enorme diversidade de compostos, o que permite a modulação de propriedades como solubilidade, lipofilicidade, estabilidade, entre outros.

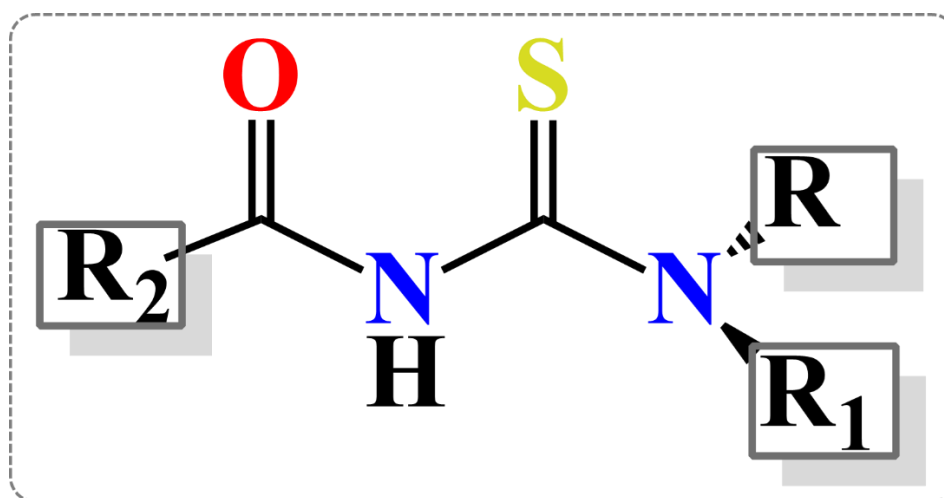


FIGURA 1.4: Estrutura básica dos ligantes aciltioureas.

O nosso grupo de pesquisa, o LERCI, tem trabalhado com essa classe de ligantes incorporando-os a diversos complexos metálicos e obtido resultados promissores no âmbito da química inorgânica medicinal. Por exemplo, complexos fosfínicos de Pd(II) e Pt(II) apresentaram atividade *anti-Mycobacterium* contra tuberculose com valores de concentração inibitória mínima (MIC, do inglês Minimum Inhibitory Concentration) que variaram entre 2,6-23 μM .^{92,93} Compostos de Pd(II) também apresentaram atividade citotóxica contra linhagens de células tumorais, destacando-se o complexo $[\text{Pd}(\text{L})(\text{PPh}_3)_2]\text{Cl}$ em que L= N,N-dimetil-N'-2-tiofenocarbonilthiourea (Figura 1.5), que atingiu um alto índice de seletividade (>322) para as células tumorais MDA-MB-231 quando comparadas as células não tumorais de fibroblasto de camundongo, a L929.⁹⁴

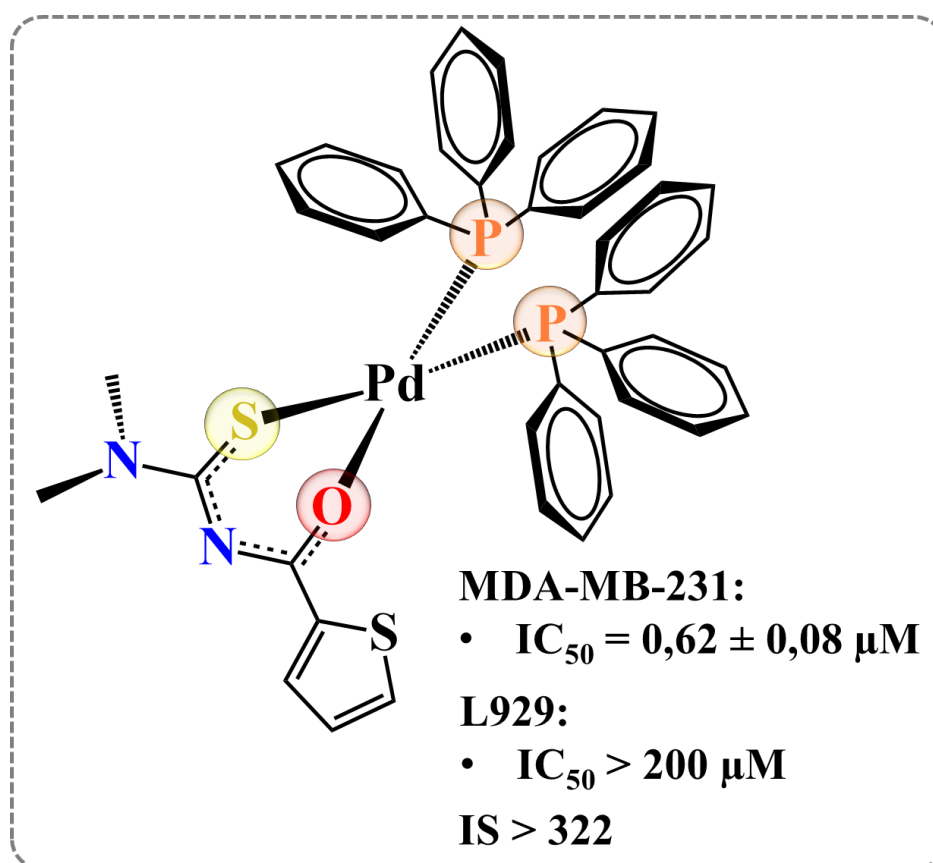


FIGURA 1.5: Fórmula estrutural, valor de IC_{50} nas linhagens MDA-MB-231 e L929 e índice de seletividade (IS) para o complexo $[Pd(L)(PPh_3)_2]Cl$ em que $L = N,N$ -dimetil- N' -2-tiofenocarboniltiourea e $PPh_3 =$ ttrifenilfosfina.

Outros complexos que possuem esses ligantes em seu cerne e que chamam atenção são os complexos de rutênio desenvolvidos recentemente no LERCI, com fórmula geral $[Ru(dppb)(dphppy)(Tu)]PF_6$, em que $dppb =$ 1,2-bis(difenilfosfina)butano, $dphppy =$ difenil-2-piridilfosfina e $Tu =$ aciltioureas dissustituídas. Nos ensaios *in vitro* os compostos mostraram potente citotoxicidade na linhagem celular de câncer de pulmão (A549), com valores de IC_{50} que variaram de 0,08 – 0,36 μM , sendo que o mais ativo deles foi 175× mais potente que o fármaco inorgânico de referência utilizado para comparação, a cisplatina. Esses compostos também chamam atenção pelos altos valores de índice de seletividade (10 – 33) para as células A549, em comparação às células não tumorais de pulmão (MRC-5). Esses resultados ainda não foram publicados.

Uma outra classe de ligantes que também tem sido rotineiramente utilizada para a síntese de novos complexos metálicos são as naftoquinonas. Estes ligantes pertencem ao grupo das quinonas e são classificados como naftoquinonas por apresentarem um anel naftalênico no seu sistema aromático.⁹⁵ As quinonas apresentam uma grande variedade de propriedades biológicas e podem ser encontradas em microorganismos, plantas e animais.⁹⁶ Na clínica médica várias quinonas são utilizadas na quimioterapia do câncer, tais como a daunorrubicina, doxorrubicina, idarrubicina, mitomicina-C, entre outros (Figura 1.6).⁹⁷ Em se tratando das naftoquinonas, o lapachol e a lausona se destacam, e têm sido utilizados individualmente ou incorporados a complexos metálicos para aplicação como agentes antitumorais.

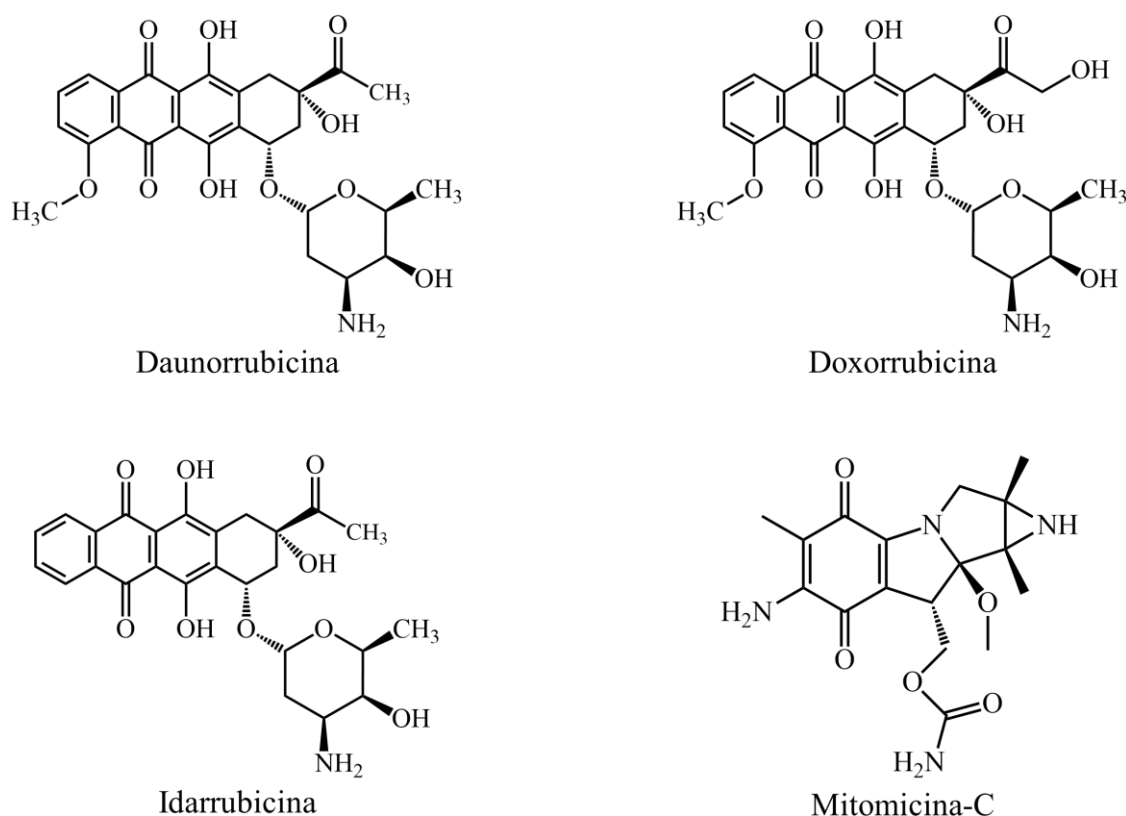


FIGURA 1.6: Quinonas utilizadas na clínica médica para o tratamento do câncer.

O lapachol é um produto natural encontrado principalmente nas plantas da família das Bignoniaceae, do gênero *Tabebuia*, conhecidas como ipês, sendo mais abundante no ipê roxo.⁹⁸ Esta naftoquinona apresenta uma grande diversidade de propriedades biológicas, dentre as quais a antitumoral,^{99–103} tendo entrado para estudos clínicos de fase I. Esses estudos foram conduzidos pela Universidade Federal do Pernambuco na década de 60. Os resultados iniciais mostraram que o lapachol exibiu a capacidade de inibir o crescimento de tumores, no entanto devido ao surgimento de efeitos colaterais diversos, teve seu estudo clínico descontinuado.^{104,105}

A lausona também é de ocorrência natural, extraída das folhas da Henna uma árvore do gênero *Lawsonia Inermis*, comumente encontrada no norte da África e sul da Ásia.⁹⁸ Ela é responsável pela coloração vermelha das tintas de henna, sendo utilizada desde os tempos do antigo Egito nas pinturas de pele, tatuagens e coloração dos cabelos.^{106,107} Na medicina popular, o extrato das folhas da Henna é utilizado para o tratamento de feridas, queimaduras, e diversas doenças tais como artrite, úlceras, e diabetes.¹⁰⁸

Um dos fatores apontados para a propriedade antitumoral das naftoquinonas se deve a capacidade que essas moléculas possuem de induzir o estresse oxidativo pela geração intracelular de espécies reativas de oxigênio (ROS), como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o superóxido ($\bullet O_2^-$) e o radical hidroxila ($HO\bullet$).⁹⁵ Essas espécies são capazes de danificar componentes celulares importantes como fosfolípidos, proteínas e DNA, levando as células a morte por apoptose. Além disso, as naftoquinonas também são capazes de inibir a atividade de enzimas como a topoisomerases, que participam do processo de replicação do DNA interferindo no bom funcionamento das células, novamente induzindo-as à morte por apoptose.^{109–111}

Nosso grupo de pesquisa também tem se aproveitado das propriedades biológicas das naftoquinonas e vêm desenvolvendo ao longo dos anos uma série de compostos de coordenação para aplicação antitumoral, e os

resultados estão entre os mais promissores do grupo,^{16,112,113} estando alguns desses compostos patenteados no Brasil sobre o título “Processo de Obtenção de Compostos de Rutênio, Compostos de Rutênio Obtidos e seu uso” (BR 10 2016 016535 0 A2). Na Tabela 1.1 destacamos os valores de IC₅₀ e os índices de seletividade encontrados para a linhagem tumoral de mama MDA-MB-231 e sua correspondente não tumoral MCF-10A. Podemos notar que todos os compostos foram mais ativos na linhagem tumoral que a cisplatina, além de serem mais seletivos.

TABELA 1.1: Valores de IC₅₀ (μM) e índice de seletividade (IS) obtidos para diferentes complexos com as naftoquinonas lausona e lapachol na linhagem tumoral de mama (MDA-MB-231) e na linhagem de mama não tumoral (MCF-10A).^{15,16}

Citotoxicidade <i>in vitro</i>			
Complexo	MDA-MB-231	MCF-10A	IS
[Ru(lau)(dppm) ₂]PF ₆	0,09±0,02	0,55±0,07	6,1
[Ru(lap)(dppm) ₂]PF ₆	0,13±0,01	2,7±0,5	20,8
[Ru(lau)(dppe)(bipy)]PF ₆	0,11±0,04	0,72±0,01	6,5
[Ru(lap)(dppe)(bipy)]PF ₆	0,15±0,03	2,8±0,3	18,4
[Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆	0,06±0,01	0,58±0,02	9,7
[Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆	0,07±0,03	0,77±0,03	11,0
Lausona/Lapachol	>100	>100	-
Cisplatina	2,4±0,2	29,4±0,9	12,1

lau= lausona; lap= lapachol; dppm= bis(difenilfosfina)metano; dppe= 1,2-bis(difenilfosfina)etano; dppb= 1,4-bis(difenilfosfina)butano; bipy=2,2'-bipiridina; PF₆= hexafluorofosfato, IS: [(IC₅₀(MCF-10A)/ IC₅₀(MDA-MB-231))].

O complexo [Ru(lap)(dppm)₂]PF₆ apresentou também a capacidade de gerar espécies reativas de oxigênio (ROS), alterar o potencial de membrana mitocondrial e levar à morte por apoptose as células MDA-MB-231.¹⁶ Em estudos ainda não publicados, resultados *in vivo* mostram que o composto [Ru(lau)(dppm)₂]PF₆ é eficaz em inibir o crescimento de tumores primários em camundongos, exibindo atividade similar ao do cisplatina, mantendo a massa

corporal do animal, sem causar o efeito colateral nefrotóxico. As fórmulas estruturais desses complexos são apresentadas na Figura 1.7.

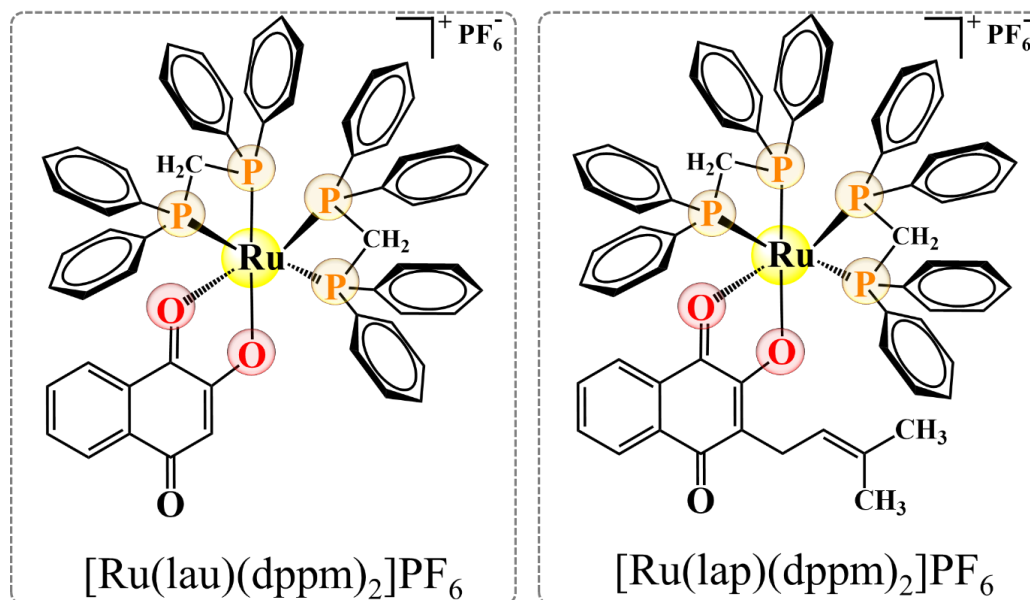


FIGURA 1.7: Fórmulas estruturais dos complexos [Ru(lau)(dppm)₂]PF₆ e [Ru(lap)(dppm)₂]PF₆.

1.2 - Planejamento dos novos complexos de Cu(I)/Trifenilfosfina com os ligantes aciltioureas ou naftoquinonas

No ramo da bioinorgânica o sucesso da cisplatina abriu caminho para o desenvolvimento de novos candidatos a quimioterápicos baseados em metais. Nesse sentido, este trabalho busca contribuir com a descoberta de novos compostos como candidatos potenciais a metalofármacos. Desse modo, nossa estratégia consiste em incorporar os ligantes aciltioureas ou naftoquinonas, que já possuem propriedades biológicas, ao cerne Cu(I)/Trifenilfosfina.

O cobre é um metal endógeno, que participa de processos importantes para o bom funcionamento dos organismos, e a sua resposta diferenciada para as células tumorais, têm permitido o desenvolvimento de

estratégias que permitem o uso de compostos de coordenação à base cobre, como candidatos a metalofármacos para a quimioterapia do câncer.

No aspecto estrutural, o cobre no estado de oxidação 1+ permite a utilização da técnica de RMN (Ressonância Magnética Nuclear) que é uma poderosa ferramenta de caracterização de compostos, além disso, o Cu^+ apresenta a tendência de ser transportado para dentro de células vivas por transportador específico como o Ctr1 (citocromo-c), possui diferentes mecanismos anticâncer, comportamento redox e capacidade de gerar um local por dissociação parcial tornando os complexos de Cu (I) também promissores do ponto de vista biológico.

A trifenilfosfina (PPh_3) constitui-se um ligante importante por estabilizar o cobre no estado de oxidação (+1), além disso, resultados prévios em nosso grupo de pesquisa, mostram que os ligantes fosfínicos contribuem para os baixos valores de IC_{50} nas linhagens tumorais, ao compararmos complexos cuja única diferença foi a ausência ou presença desta classe de ligantes.¹¹⁻¹³ Sugerimos que esses ligantes permitem modular propriedades como por exemplo, a lipofilicidade que possivelmente contribui para uma melhor absorção dos compostos pelas células. A escolha em específico da trifenilfosfina foi de caráter técnico, devido a estabilidade do complexo precursor ($[\text{CuNO}_3(\text{PPh}_3)_2]$) ao ar, o que permitiu a otimização das sínteses dos complexos finais em menor tempo.

As fórmulas estruturais dos ligantes aciltioureas ou naftoquinonas utilizados para o desenvolvimento destes novos compostos de cobre são apresentadas na Figura 1.8. Observemos que os grupos R dos ligantes foram substituídos por diferentes substituintes, com o intuito de correlacionar, se possível, a estrutura e a atividade dos complexos. Desta forma, nosso trabalho criará subsídios sobre a importância da presença dos ligantes trifenilfosfina, aciltioureas ou naftoquinonas no planejamento de novos compostos de coordenação com atividades antitumorais, além da obtenção de dados que

possibilitarão uma maior compreensão sobre os mecanismos de ação de complexos de cobre.

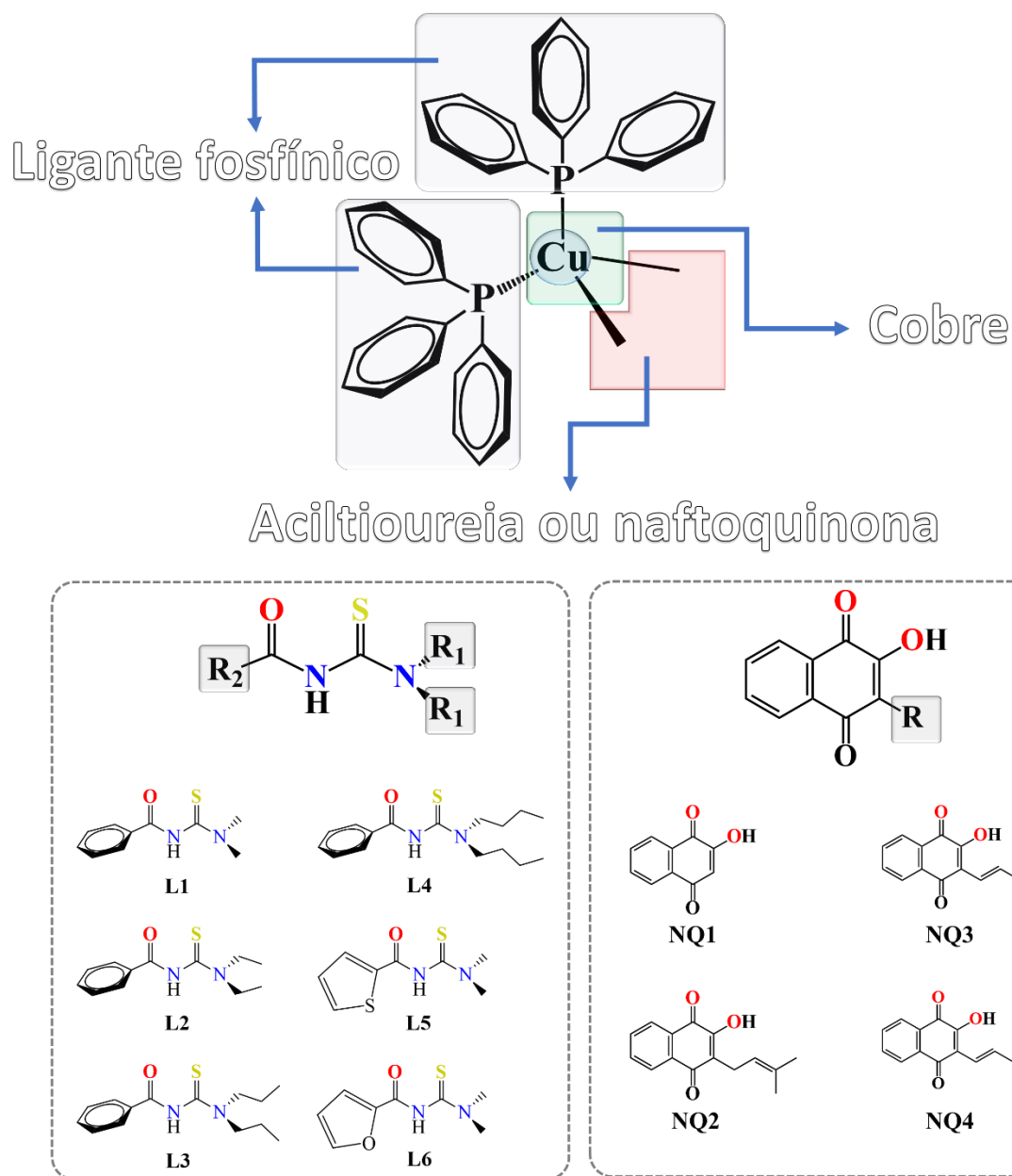


FIGURA 1.8: Fórmulas estruturais dos ligantes aciltioureas e naftoquinonas utilizados para o desenvolvimento dos novos complexos de Cu (I).

2 - OBJETIVO

2.1 - Objetivo Geral

O presente trabalho teve como objetivo geral investigar as propriedades citotóxicas de complexos de Cu (I)/Trifenilfosfina com ligantes aciltioureas ou naftoquinonas em células tumorais humanas, a fim de contribuir com resultados que suportem uma melhor compreensão dos mecanismos de ação de complexos de cobre.

2.2 - Objetivos Específicos

- Sintetizar complexos de Cu(I)/Trifenilfosfina contendo os ligantes aciltioureas ou naftoquinonas, sendo eles agrupados em duas séries:
 - Série 1:** complexos de fórmula geral $[\text{CuL}_n(\text{PPh}_3)_2]$ (**1-6**) e complexos de fórmula geral $[\text{CuL}_n(\text{PPh}_3)_2]$ (**1a-6a**);
 - Série 2:** complexos de fórmula geral $[\text{CuNQ}_n(\text{PPh}_3)_2]$ (**1b-4b**).
- Caracterizar os complexos empregando técnicas espectroscópicas (UV-vis, infravermelho e RMN 1D e 2D), análise elementar, condutividade molar, espectrometria de massas e difração de raios X de monocristal (quando possível a obtenção dos mesmos);
- Investigar a estabilidade estrutural dos complexos nos meios de cultura celular e avaliar sua influência na citotoxicidade *in vitro* dos mesmos;
- Determinar a citotoxicidade dos complexos frente a linhagens celulares humanas tumorais e não tumorais de mama (MCF7, MDA-MB-231 e MCF-10A) e pulmão (A549 e MRC5);

- Propor uma correlação da estrutura e atividade dos complexos, se possível;
- Avaliar por meio dos ensaios de morfologia, sobrevivência clonogênica (formação de colônias), migração, ciclo celular e apoptose a ação citotóxica e/ou citostática dos complexos.

3 - METODOLOGIA

3.1 - Obtenção de atmosfera inerte

Todas as sínteses foram realizadas sob atmosfera de argônio, de procedência da White Martins, que foi desoxigenado e seco pela passagem do fluxo do gás por um sistema de colunas contendo: sílica gel, cloreto de cálcio e catalisador do tipo BTS-R-3-11 (Fluka Chemika, mantido a 60°C para que o catalisador permaneça ativado).

3.2 - Solventes e reagentes utilizados nas sínteses

O solvente utilizado em todas as sínteses foi o metanol de procedência Synth P.A. Os reagentes utilizados nas sínteses, a trifenilfosfina (PPh₃), o nitrato de cobre trihidratado (Cu(NO₃)₂·3H₂O), a lausona (NQ1) e a trietilamina foram todos de procedência Sigma-Aldrich. O lapachol (NQ2) foi cedido pelo Prof. Dr. Diogo Moreira do Instituto Gonzalo Muniz (IGM-FIOCRUZ – Salvador (BA)) e os ligantes NQ3 (3-estiril-lausona) e NQ4 (4-cloroestiril-3-lausona) foram sintetizados pelo grupo do Prof. Dr. Chaquip Daher Netto (UFRJ - Macaé). Os ligantes aciltioureias (L_n) e o complexo precursor ([Cu(NO₃)(PPh₃)₂]) foram sintetizados segundo procedimentos descritos na literatura.^{114,115}

3.3 - Sínteses dos complexos

3.3.1 - Sínteses dos complexos da série 1: 1-6 ([CuL_n(PPh₃)₂])

Em um balão de 25 mL foram adicionados 5 mL de metanol que foi desaerado por 1 h. Em seguida, adicionou-se 0,154 mmol da aciltioureia e 50 μ L de trietilamina para a desprotonação do ligante. Posteriormente acrescentou-se 0,154 mmol do complexo precursor $[\text{Cu}(\text{NO}_3)(\text{PPh}_3)_2]$. A mistura reacional foi mantida sob agitação por 30 min, observando-se a formação de um precipitado amarelo que foi filtrado e lavado com água e metanol gelado. O rendimento obtido nas sínteses dos complexos **1-6** é apresentado na seção de apêndice, no tópico caracterização completa dos complexos da série 1. Esses complexos foram ainda testados quanto à solubilidade em diferentes solventes, sendo solúveis em: DMSO, DMF, diclorometano e clorofórmio e insolúveis em: água, etanol e metanol e ainda pouco solúveis em: acetona e acetonitrila.

3.3.2 - Sínteses dos complexos da série 1: **1a-6a** ($[\text{CuL}_n(\text{PPh}_3)_2]\text{NO}_3$)

Em um balão de 25 mL foram adicionados 5 mL de metanol que foi desaerado por 1h. Em seguida adicionou-se 0,154 mmol da aciltioureia e deixou-se sob agitação até a total solubilização. Foram então acrescentados 0,154 mmol do complexo precursor $[\text{Cu}(\text{NO}_3)(\text{PPh}_3)_2]$. Essa mistura reacional foi mantida sob agitação e aquecimento brando por 30 min. O aquecimento foi então desligado, e deixou-se a mistura atingir temperatura ambiente, sendo posteriormente colocada na geladeira por no mínimo 12 h. Observou-se a formação de um precipitado amarelo que foi filtrado e lavado com metanol gelado. O rendimento obtido nas sínteses dos complexos **1a-6a** é apresentado na seção de apêndice, no tópico caracterização completa dos complexos da série 1. Esses complexos foram ainda testados quanto à solubilidade em diferentes solventes, sendo solúveis em: DMSO, DMF, diclorometano, acetona, acetonitrila e clorofórmio e insolúveis em: água, etanol e metanol.

3.3.3 - Sínteses dos complexos da série 2: **1b-4b** ($[\text{CuNQ}_n(\text{PPh}_3)_2]$)

Em um balão de 25 mL foram adicionados 10 mL de metanol que foi desaerado por 1 h. Em seguida adicionou-se 0,154 mmol da naftoquinona e 50 μL de trietilamina para desprotonação da aciltiourea. Posteriormente acrescentou-se 0,154 mmol do complexo precursor $[\text{Cu}(\text{NO}_3)(\text{PPh}_3)_2]$. A mistura reacional foi mantida sob agitação por 30 min, observando-se a formação de um precipitado com tonalidades que variaram entre roxo (**1b** e **2b**) e azul escuro (**3b** e **4b**). Os precipitados foram filtrados e lavados com água e metanol gelado. O rendimento obtido nas sínteses dos complexos **1b-4b** é apresentado na seção de apêndice, no tópico, caracterização completa dos complexos da série 2. Esses complexos foram ainda testados quanto à solubilidade em diferentes solventes, sendo solúveis em: DMSO, DMF, diclorometano e clorofórmio e insolúveis em: água, etanol e metanol e ainda, os complexos **3b** e **4b** foram solúveis em acetona e acetonitrila.

3.4 - Caracterização dos complexos

3.4.1 - Condutividade Molar

Soluções $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ dos complexos foram preparadas em DMSO e levadas para as medidas de condutividade molar utilizando um condutivímetro Meter Lab, modelo CDM230. Os valores encontrados foram comparados com valores estabelecidos na literatura.¹¹⁶

3.4.2 - Análise elementar

Os teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre dos complexos foram determinados em um analisador CHN modelo EA 1108 da FISIONS, na Central Analítica do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos.

3.4.3 - Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro Bomem-Michelson FT, modelo MB – 102. O método utilizado foi o de pastilhas de KBr, em que as amostras dos complexos foram diluídas no sal de KBr grau espectroscópico. A faixa de varredura utilizada foi de 200-4000 cm^{-1} .

3.4.4 - Espectroscopia de absorção na região do UV-visível

Os espectros de absorção no ultravioleta e visível foram adquiridos em um espectrofotômetro de arranjo de diodo da Hewlett Packard (HP) 8452A utilizando cubetas com caminho óptico de 1 cm. A faixa de varredura utilizada foi de 200 a 800 nm. Utilizou-se o solvente acetonitrila (UV Cutoff de 190 nm) para preparar as soluções de todos os complexos e dos ligantes nas concentrações que variaram entre $1,0 \times 10^{-3}$ e $5,0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Essas soluções foram posteriormente diluídas para a determinação das medidas obedecendo aos critérios da lei de Lambert-Beer. Os espectros experimentais dos complexos e ligantes foram deconvoluídos em um ambiente Matlab.

3.4.5 - Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (100 MHz) e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (162 MHz) foram registrados no equipamento BRUKER 9.4 T, modelo AVANCE III, no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos. Utilizou-se o clorofórmio deuterado para o preparo das soluções dos complexos **1-6**, **1b** e **2b**, a acetonitrila deuterada para os complexos **1a-6a** e a acetona deuterada para os complexos **3b** e **4b**. As análises de RMN para a caracterização dos complexos foram apenas qualitativas. Foram realizados também os experimentos 2D (COSY ^1H - ^1H , HSQC ^1H - ^{13}C e HMBC ^1H - ^{13}C), para a atribuição correta dos sinais de RMN. As sínteses dos complexos foram monitoradas por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ usando-se capilar D_2O (referência externa).

3.4.6 - Difração de Raios X

As medidas de difração de raios X foram realizadas pelo Dr. João Honorato, no Laboratório de Cristalografia do Instituto de Física de São Carlos, na Universidade de São Paulo, coordenado pelo Prof. Dr. Javier Ellena, em um difratômetro Rigaku XtaLAB mini II, radiação $\text{MoK}\alpha$ ($\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$). As estruturas foram resolvidas com o programa SHELXT¹¹⁷ usando métodos diretos, sucessivos mapas de Diferença de Fourier permitiram a localização dos átomos não hidrogênicos. Excetuando-se os átomos de hidrogênio, todos os demais foram refinados anisotropicamente. Os refinamentos foram feitos pelo método dos mínimos quadrados através do programa SHELXL.¹¹⁸ Os cálculos dos parâmetros da célula unitária e as correções por absorção foram realizados usando o software CrysAlisPro. As representações das moléculas e tabelas de dados cristalográficos foram geradas utilizando os programas OLEX2¹¹⁹ e MERCURY.¹²⁰

3.4.7 - Espectrometria de Massas

As análises de espectrometria de massas foram realizadas apenas para os complexos de **1-6**, pela MSc Jéssica Amaral, no laboratório de Produtos Naturais, DQ-UFSCar. As análises foram realizadas utilizando um instrumento Agilent 6545 ESI-QTOF-MS. Os dados de MS/ MS foram produzidos na faixa de massa de 50-1200 Da. As amostras foram dissolvidas em MeOH/ ácido fórmico a 0,1% e analisadas por FIA em uma vazão de 0,35 mL.min⁻¹, injeção de volume de 2,0 µL a 38 °C. A fase móvel consistia em uma mistura H₂O + 0,1% de ácido fórmico e MeOH + 0,1% de ácido fórmico na proporção de 20:80, com 4,0 min de tempo de análise. As condições da fonte ESI foram as seguintes: voltagem capilar 2500 V, voltagem do bico 500V, temperatura do gás 350 °C, gás de secagem 13 L·min, nebulizador 35 psi, gás de feixe 320 °C em fluxo de 10 L·min⁻¹, fragmentador 120 V, skimmer 80 V e tensão de energia de colisão de 0, 20 e 40 V. Os dados foram analisados por meio do software Qualitative Navigator B.08.000.

3.5 - Cálculos teóricos

Os cálculos teóricos foram realizados pelo prof. Dr. Rafael Gomes da Silveira, do Instituto Federal Goiano, Campus Ceres, Ceres-GO. A otimização estrutural dos complexos **1-6**, bem como dos seus respectivos ligantes, foi calculada a partir das coordenadas cristalográficas (quando os dados experimentais estavam disponíveis). Nas otimizações realizadas foram empregados DFT usando a função de densidade híbrida B3LYP com funções de base 6-31G* para os átomos leves, enquanto para o centro metálico foi usado LANL2DZ com potencial de núcleo relativístico (ECP).^{121,122} A fim de analisar os deslocamentos químicos de ¹³C para C = O e C = S, o formalismo DFT-

GIAO usou as funções B3LYP e CAM-B3LYP e os dados foram comparados com os dados experimentais usando a equação:

$$\delta_{\text{iso,calc}} = \sigma_{\text{ref}} - \sigma_{\text{iso}}^{123}$$

Em que $\sigma_{\text{ref}} = 182,4254$ ppm usado para $^{13}\text{C}(\text{TMS})$. A estrutura do cristal TMS (CCDC 678366) foi otimizada no mesmo nível da teoria da molécula complexa. Os espectros e figuras foram criados no software Gabedit.¹²³ O pacote de programa de estrutura eletrônica Gaussian 09, revisão E.01¹²⁴ foi usado para todos os cálculos DFT.

3.6 - Estabilidade dos complexos em meio de cultura

A estabilidade dos complexos de cobre em Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) sem vermelho de fenol, na presença de 10% de soro fetal bovino (FBS do inglês Fetal Bovine Serum)), foi avaliada por espectroscopia de UV-vis e por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. Para as análises por UV-vis, soluções estoque dos complexos foram preparadas em DMSO na concentração de $0,5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ e diluídas com meio de cultura para obter soluções finais de $10 \mu\text{M}$ dos complexos e 0,5% de DMSO (v/v). Para os ensaios espectroscópicos por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, foram preparadas soluções saturadas dos complexos com 90% de DMSO e 10% de meio de cultura. As amostras foram analisadas por UV-vis imediatamente após a preparação e após 2, 18, 24 e 48 h (complexos **1-6**); 2, 4, 24 e 48 h (complexos **1a-6a**) e 2, 4, 24, 48 e 72 h (complexos **1b-4b**). As análises por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ foram realizadas imediatamente após o preparo das amostras e após 24 e 48 h. No monitoramento por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ utilizou-se o capilar D_2O (referência externa).

3.7 - Determinação de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês Reactive Oxygen Species)

Os experimentos de espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR, do inglês Electron Paramagnetic Resonance)) foram realizados junto ao grupo do Prof. Dr. Otaciro Rangel Nascimento no Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo (IFSC/USP). O espectrômetro utilizado foi o Varian E109 operando em banda X (9.5 GHz) à temperatura ambiente. O composto 5,5-dimetil-1-pirrolina-N-óxido (DMPO, 40 mmol·L⁻¹) foi utilizado como armadilha de spin (do inglês *spin trap*) para verificar a formação das Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) pelo complexo **4b** (solução 10 µmol·L⁻¹) em DMSO. A solução do complexo foi irradiada em uma cubeta de quartzo com LED (375 nm) em determinados intervalos de tempo (0, 5, 15, 30 e 60 min). Então alíquotas foram retiradas e transferidas para uma cubeta de quartzo contendo o padrão de Cr (III) fixado no exterior da mesma durante todas as medidas. Uma solução de DMPO 40 mmol L⁻¹, em DMSO foi medida como controle. Os espectros obtidos experimentalmente foram simulados para obtenção dos parâmetros de EPR como largura de linha, área do sinal de absorção, valor das constantes hiperfinas e valor de g, usando o programa EasySpin no ambiente Matlab. As condições experimentais foram: 0,25 G de modulação, 20 mW de potência, constante de tempo de 0,128 s, 10 scans.

3.8 - Ensaio Biológicos

Os ensaios de ciclo celular e apoptose foram realizados pelas Doutoradas Ana Carolina B. M. Martin e Angélica Ellen Graminha, no Laboratório de Biologia do Envelhecimento do Departamento de Gerontologia da UFSCar, coordenado pela Profa. Dra. Márcia Cominetti. Os ensaios de

morfologia celular, sobrevivência clonogênica e migração celular para os complexos **1b** e **4b**, da série das naftoquinonas, foram realizados pela Dra. Adriana Macedo, no laboratório de cultura celular do Departamento de Química da UFSCar, coordenado pelos professores Dr. Alzir Azevedo Batista e Dr. Fillipe Vieira Rocha. As análises de microscopia de fluorescência no ensaio de morfologia celular com marcação Faloidina foi realizado no laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (LBBM) localizado no Departamento de Ciências Fisiológicas, da UFSCar, coordenado pela Profa. Dra. Heloisa S. S. de Araújo.

3.8.1 - Cultura das células

As linhagens de células tumorais humanas, de mama triplo-negativo MDA-MB-231 (ATCC N. HTB-26), de pulmão A549 (ATCC N. CCL-185) e não tumoral humana de pulmão MRC-5 (ATCC N. CCL-171), foram cultivadas em meio de cultura DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) de procedência Vitrocell, suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS). A linhagem de células tumoral humana de mama MCF-7 (ATCC N.HTB-22), foi cultivada em meio de cultura RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute) de procedência Vitrocell, suplementado com 10% de FBS. As células não tumorais de mama MCF-10A (ATCC No. CRL-10317) foram cultivadas em meio DMEM/F12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium: Nutrient Mixture F-12) de procedência Gibco, suplementado com 5% de soro de cavalo (Gibco), fator de crescimento epidermal humano (EGF (Gibco)) ($20 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$), hidrocortisona (Sigma-Aldrich) ($0,5 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), insulina (Sigma-Aldrich) ($10 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) e 1% de penicilina/estreptomicina (Vitrocell). As linhagens celulares foram mantidas em cultura a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ e 5% CO_2 em estufa umidificada, para serem utilizadas nos ensaios descritos a seguir.

3.8.2 - Ensaio de viabilidade celular

Para avaliar a viabilidade das células após tratamento com os complexos utilizou-se o método colorimétrico do MTT (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)2,5-Difenil Brometo de Tetrazolium), descrito por MOSMANN 119.¹²⁵ Para as análises, $1,5 \times 10^4$ células/poço foram semeadas em placas de 96 poços e mantidas em estufa a 37° C e 5% de CO₂ por 24 h para a adesão celular. Após este tempo, adicionou-se os complexos em diferentes concentrações (0,31 - 25 µM) e as células foram novamente incubadas na estufa por 48 horas. Decorridas as 48 h, 50 µL de MTT 1,0 mg.mL⁻¹ (Sigma-Aldrich) em PBS foram adicionados em cada poço e as células foram novamente incubadas em estufa nas mesmas condições citadas anteriormente, por um período de 4 h. Em seguida, o meio de cultura contendo o MTT foi retirado das placas e os cristais de formazan formados foram solubilizados pela adição de 150 µL de isopropanol, e a absorbância dos poços registrada utilizando-se um leitor de microplacas (Synergy/H1-Biotek) em um comprimento de onda de 540 nm. Os valores de IC₅₀ (concentração que inibe 50% da viabilidade celular) foram determinados por meio da curva concentração-resposta utilizando o programa estatístico GraphPad Prism 8.0.2. O experimento foi realizado em triplicata, em três ensaios independentes. As células incubadas com 0,5% de DMSO foram o controle negativo.

3.8.3 - Morfologia celular

As células MDA-MB-231 e MCF-10A foram semeadas na densidade de $0,5 \times 10^5$ células/ poço em uma placa de 24 poços e incubadas em meio suplementado, a 37 °C com 5% de CO₂ por 24 h para adesão celular. Então a morfologia celular foi examinada e as micrografias registradas, antes da adição

dos complexos, 24 e 48 h após o tratamento das células nas concentrações $\frac{1}{2} \times IC_{50}$, IC_{50} e $2 \times IC_{50}$ dos complexos **1**, **1a**, **1b** e **4b**, em um microscópio invertido (Nikon, T5100) com objetiva de 10 \times . As concentrações foram relativas ao IC_{50} obtido para os complexos no tempo de 48 h. O experimento foi realizado em triplicata e as células incubadas com 0,5% de DMSO foram o controle negativo.

3.8.4 - Morfologia celular (marcação com Faloidina)

Para avaliar o dano na organização do citoesqueleto causado pelos complexos (**1** e **1a**), as células foram coradas com Alexa Fluor 488 conjugado com Faloidina (ThermoFisher Scientific). Assim para a realização do experimento, as células MDA-MB-231 na densidade de 2×10^4 células/ poço foram semeadas em uma placa preta de 96 poços com fundo transparente (Corning Incorporated) e após 24 h de incubação a 37 ° C e 5% de CO₂, foram expostas a diferentes concentrações ($\frac{1}{2} \times IC_{50}$, IC_{50} e $2 \times IC_{50}$) dos complexos por 24 h. Após o tratamento, o meio foi removido e as células foram fixadas com paraformaldeído (Sigma-Aldrich) 3,7% em PBS (m/ v) por 30 min. Em seguida, as células foram lavadas 3 \times com PBS e permeabilizadas com triton X-100 (Sigma-aldrich) 0,1% em PBS (v/ v) por 5 min em temperatura ambiente. As células foram então novamente lavadas 3 \times com PBS. A reação foi bloqueada pela adição de albumina de soro bovino (BSA, do inglês Bovine Serum Albumin) 2% em PBS (m/ v) por 45 min. As células foram lavadas 2 \times com PBS e marcadas com Alexa Fluor 488 faloidina por 30 min e coradas com DAPI (1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) (Life Technologies, Carlsbad, CA) para marcação nuclear por 10 min. As imagens foram obtidas em um microscópio automatizado ImageXpress Micro XLS System (Molecular Devices) com aumento de 400 \times . O experimento foi realizado em triplicata. As células incubadas com 0,5% de DMSO foram

utilizadas como o controle negativo e como controle positivo utilizou-se o composto camptotecina ($20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$).

3.8.5 - Sobrevivência clonogênica

As células da linhagem MDA-MB-231 foram semeadas em uma placa de 6 poços na densidade de 300 células/ poço e incubada a 37°C e 5% de CO_2 por 24 h para adesão celular. Em seguida, as células foram tratadas com diferentes concentrações ($\frac{1}{4}\times\text{IC}_{50}$, $\frac{1}{2}\times\text{IC}_{50}$, IC_{50} e $2\times\text{IC}_{50}$) dos complexos **1**, **1a**, **1b** e **4b** pelo período de 48 h. Então o meio foi substituído por um meio fresco sem complexo e as células foram novamente incubadas por 10 dias. Em seguida, as células foram lavadas com PBS, fixadas com metanol e ácido acético (3: 1) por 5 min e coradas com o kit de coloração diferencial rápida em hematologia Instant Prov (Newprov). A sobrevivência relativa foi calculada usando o software ImageJ, usando o plugin “ColonyArea” que mede a área e intensidade de cada colônia na imagem selecionada. O experimento foi realizado em triplicata e as células incubadas com 0,5% de DMSO foram o controle negativo.

3.8.6 - Ensaio de Ciclo celular

As células MDA-MB-231 na densidade de $0,6\times 10^5$ células/ poço foram semeadas em placas de 12 poços. Após 24 h de incubação a 37°C em atmosfera de CO_2 , as células foram tratadas com diferentes concentrações dos complexos **1** e **1a** por 24 h. As concentrações dos complexos ($\frac{1}{4}\times\text{IC}_{50}$, $\frac{1}{2}\times\text{IC}_{50}$, IC_{50} , $2\times\text{IC}_{50}$ e $4\times\text{IC}_{50}$) utilizadas neste ensaio foram relativas à concentração do IC_{50} obtido em 24 h. Em seguida, as células foram coletadas, lavadas com PBS gelado e fixadas por 24 h a -20°C em etanol a 70%. Após a fixação, as células foram centrifugadas a 2.000 rpm por 5 min a 4°C , ressuspensas em 150 μL de

tampão PBS contendo RNase A (Sigma-Aldrich) $0,2 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ e com solução de fluorocromo hipotônico Iodeto de Propídio (PI, Sigma-Aldrich) $5 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ e incubadas por 30 min para análise usando um citômetro de fluxo Accuri C6 (BD Biosciences), registrando 10000 eventos. A distribuição da fase do ciclo celular foi analisada usando o software FlowJo. O experimento foi realizado em triplicata. As células tratadas com 0,5% de DMSO foram o controle negativo.

3.8.7 - Ensaio de apoptose

O ensaio de apoptose induzida pelos complexos nas células MDA-MB-231 foi realizado por citometria de fluxo usando um kit de detecção de apoptose PE-Anexina-V (BD Biosciences). As células na densidade de $0,6\times 10^5$ células/ poço foram semeadas em uma placa de 24 poços e, após 24 h de incubação, foram expostas a concentrações dos complexos **1** e **1a** ($\frac{1}{4}\times\text{IC}_{50}$, $\frac{1}{2}\times\text{IC}_{50}$, IC_{50} e $2\times\text{IC}_{50}$) por 24 h. As concentrações dos complexos **1** e **1a** utilizadas neste ensaio foram relativas ao valor de IC_{50} obtido em 24 h. Após o tratamento, as células foram coletadas, centrifugadas a 2.000 rpm por 5 min a 4°C , lavadas com PBS gelado e ressuspensas em $150 \text{ }\mu\text{L}$ de tampão de ligação. Posteriormente as células foram expostas aos marcadores PE-Anexina V ($2,5 \text{ }\mu\text{L}$) e 7-ADD (7-amino-actinomomicina D) ($2,5 \text{ }\mu\text{L}$) por 20 min, em temperatura ambiente no escuro. Em seguida, as células foram novamente centrifugadas a 2000 rpm por 5 min a 4°C e ressuspensas em $200 \text{ }\mu\text{L}$ de tampão de ligação para análise usando um citômetro de fluxo Accuri C6 (BD Biosciences), registrando 10000 eventos. A fluorescência foi quantificada pelo software Cell Quest (BD Biosciences). O experimento foi realizado em triplicata. As células tratadas com 0,5% de DMSO foram o controle negativo.

3.8.8 - Ensaio de Migração (*Wound Healing*)

As células MDA-MB-231 na densidade de 2×10^5 células/ poço foram semeadas em placas de 12 poços e incubadas em estufa umidificada a 37 °C e 5% de CO₂ até a cultura atingir uma confluência em torno de 90%. Em seguida, com o auxílio de uma ponteira, de volume máximo 200 µL, e uma régua, foi feita uma risca no centro de cada poço. Cuidadosamente, os poços foram lavados com PBS para remoção de fragmentos celulares e células desaderidas da área riscada. As células foram então tratadas com os complexos **1b** e **4b** nas concentrações de $\frac{1}{4} \times IC_{50}$ e $\frac{1}{2} \times IC_{50}$. Após tratamento, imagens da risca de cada poço, foram capturadas em dois campos diferentes, antes do tratamento (0 h), 24 e 48 h após o tratamento, utilizando um microscópio invertido (Nikon, T5100) acoplado a uma câmera fotográfica (Moticam 1000-1.3 Megapixels Live Resolution). A área de fechamento da risca pela migração celular foi medida através do software ImageJ, e a porcentagem de fechamento da risca foi calculada utilizando a equação abaixo:

$$\% \text{ Fechamento da risca} = [(A_{t=0h} - A_{t=\Delta h}) / (A_{t=0h})] \times 100$$

Em que, $A_{t=0h}$ é medida da área riscada no tempo de 0 h e $A_{t=\Delta h}$ é a medida da área riscada no tempo de 24 e 48 h. O experimento foi realizado em triplicata. As células tratadas com 0,5% de DMSO foram o controle negativo.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Síntese e Caracterização dos complexos (série 1)

A síntese dos complexos da série 1 (**1 - 6**) e (**1a - 6a**) foi realizada através da reação do precursor $[\text{Cu}(\text{NO}_3)(\text{PPh}_3)_2]$ com os respectivos ligantes aciltioureas dissustituídas (L_n), em metanol, sendo que na síntese dos complexos de **1-6**, adicionou-se trietilamina (Et_3N), uma base fraca que possibilitou a desprotonação dos ligantes aciltioureas. Assim, a coordenação das aciltioureas ao centro metálico ocorreu segundo rota de síntese mostrada na Figura 4.1: na primeira, após a desprotonação, os ligantes se coordenaram ao cobre de forma aniônica via átomos de S e O, o que promoveu a formação de complexos neutros (**1-6**), na segunda, as aciltioureas se coordenaram de forma neutra também via átomos de S e O, o que possibilitou a formação de complexos catiônicos (+1) (**1a- 6a**). A síntese e caracterização do complexo **2** já foi reportada na literatura, porém a rota sintética utilizada pelos autores é mais dispendiosa do que a apresentada neste trabalho. Além disso o autor não publicou a estrutura de raios X e não aplicou em estudos biológicos como a citotoxicidade frente a células neoplásicas,¹²⁶ o que torna a síntese do complexo **2**, importante a nível de comparação com os outros compostos.

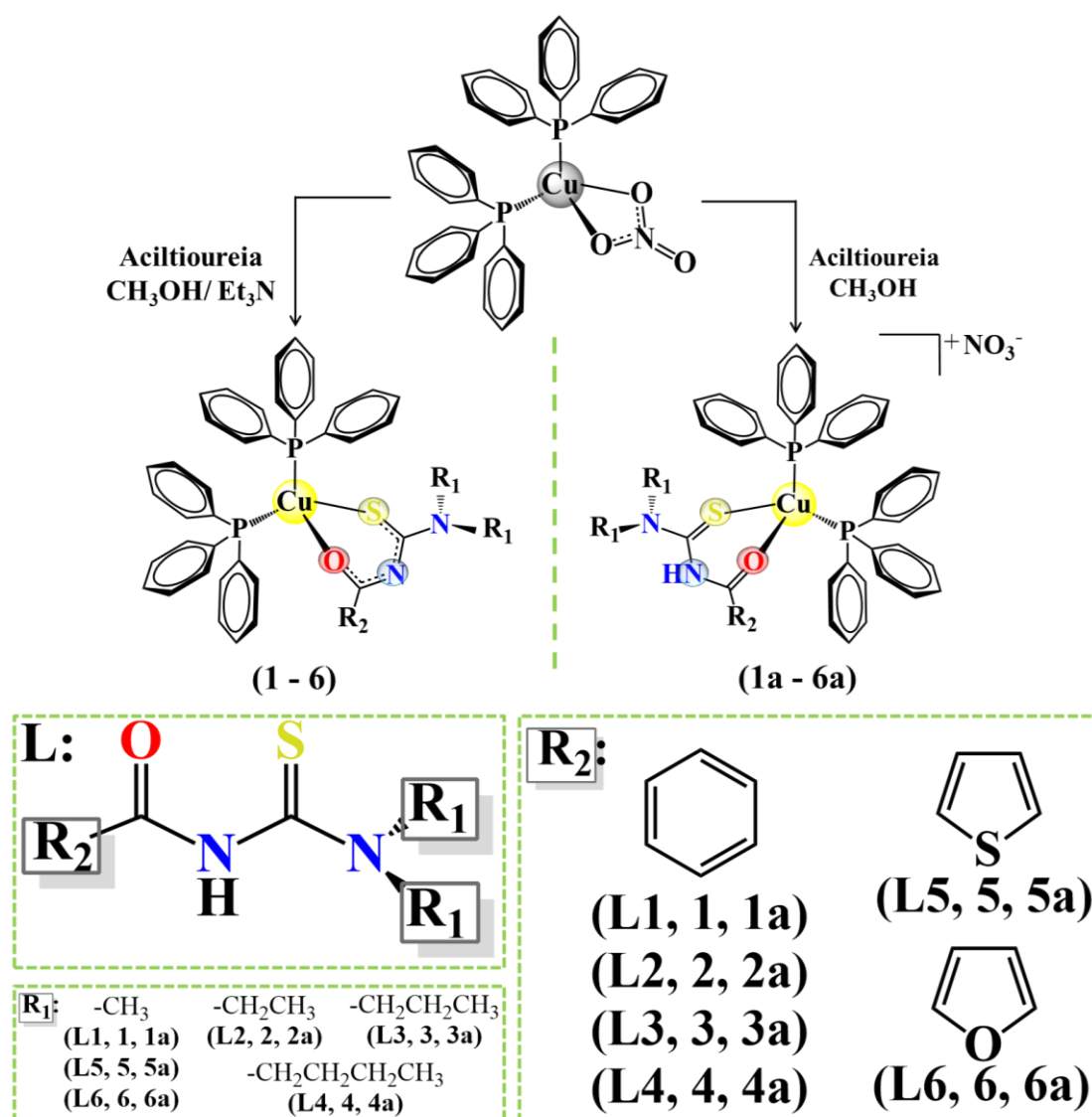


FIGURA 4.1: Rota de síntese para a obtenção dos complexos da série 1.

O primeiro modo de coordenação observado para os complexos é o mais frequente, de forma que existem muitos estudos sobre compostos de coordenação em que as aciltioureas se coordenam de forma bidentada e monobásica.^{127,128,129,14} O segundo modo de coordenação é pouco usual, sendo que o único trabalho encontrado para aciltioureas dissustituídas nas bases de dados Cambridge Crystallographic Data Centre e SciFinder data de 1996¹³⁰ e para aciltioureas monossustituídas, do ano de 2020.¹³¹ Essa limitada literatura torna os compostos **1a–6a** relatos importantes para a construção do conhecimento acerca do modo de coordenação bidentada (S, O) e neutro das

aciltioureas. Na Figura 4.2 são ilustrados os vários modos de coordenação das aciltioureas já reportados.^{132,133}

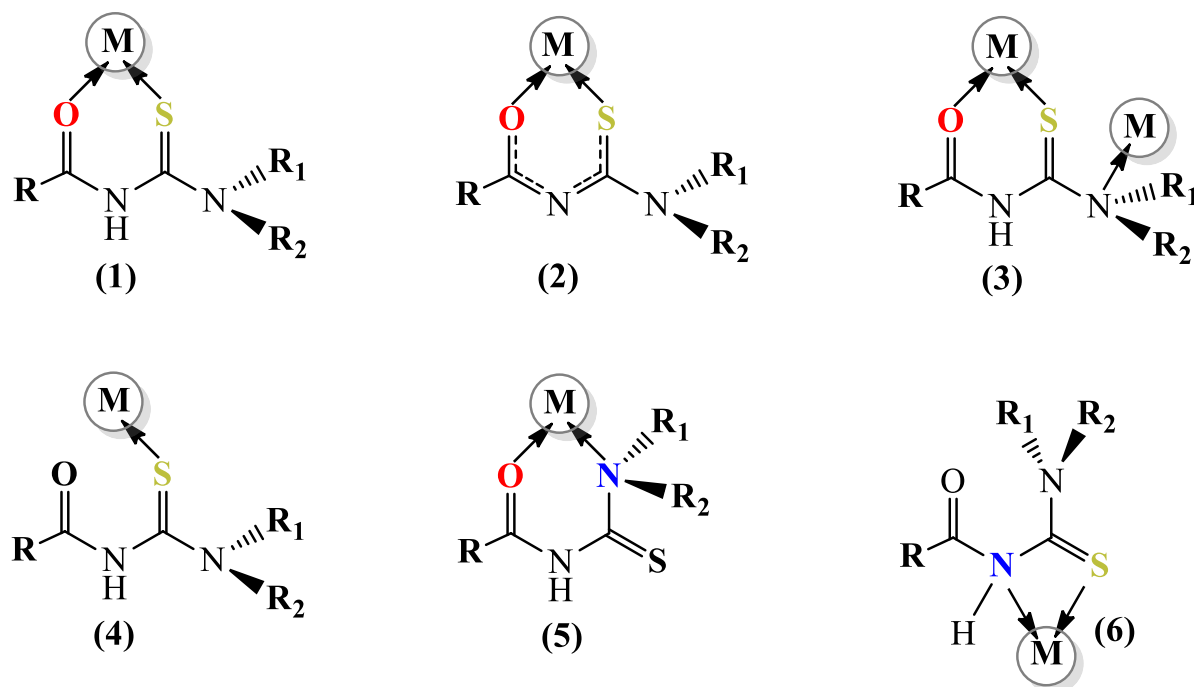


FIGURA 4.2: Diferentes modos de coordenação dos ligantes aciltioureas: (1) bidentada (O,S) e neutro,^{130,131} (2) bidentada (O,S) e monobásica,¹³⁴ (3) bidentada (O,S) ligado a M e (N) ligado a M e neutro,¹³² (4) monodentado (S) e neutro,¹³⁵ (5) bidentado (O,N) e neutro¹³⁶ e (6) bidentado (N,S) e neutro.¹³³

Os modos de coordenação das aciltioureas descritos anteriormente para os complexos sintetizados neste trabalho foram determinados pela técnica de difração de raios X. Foram obtidas 7 estruturas cristalinas dos 12 complexos sintetizados para a série 1, em que a aciltiourea ocupa dois dos sítios de coordenação do Cu (I) enquanto os ligantes trifenílfosfina ocupam os outros dois sítios (Figura 4.3). Constatou-se ainda que os complexos apresentam geometria tetraédrica distorcida, como mostrado pelos parâmetros geométricos dos ângulos de ligação, em que os valores angulares são diferentes das estruturas tetraédricas regulares (109,5°) (observar Figura 4.3 e na seção de Apêndice as Tabelas A1 e

A2). Os dados cristalográficos encontram-se na seção de Apêndice nas Tabelas A3 e A4.

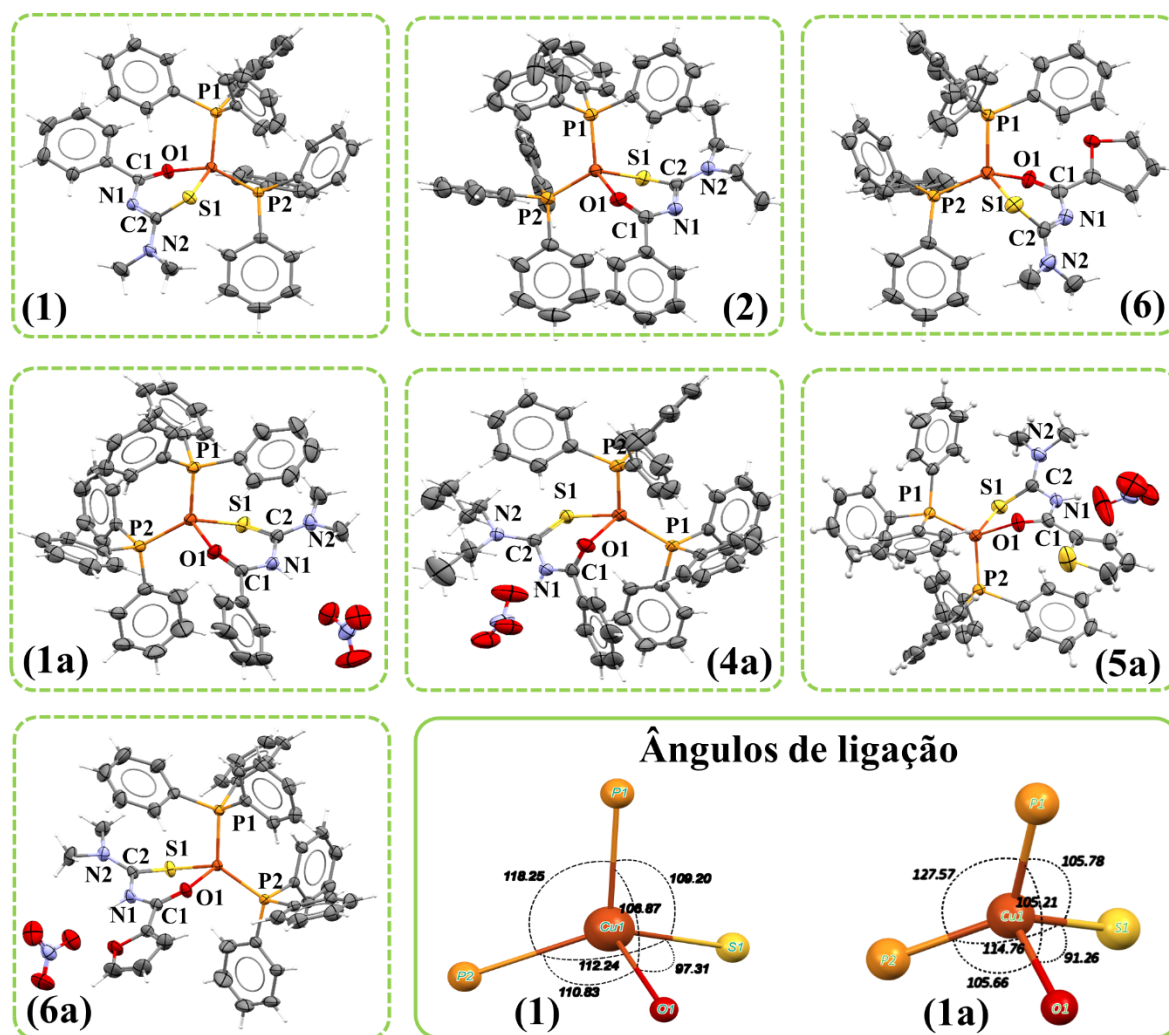


FIGURA 4.3: Estruturas cristalinas dos complexos 1, 1a, 2, 4a, 5a, 6 e 6a e ângulos de ligação para o complexo 1 e 1a.

A abertura dos ângulos P1–Cu–P2 ($117,48(7)$ – $127,90(4)^\circ$) em comparação com o tetraedro regular é acompanhado pelo fechamento dos ângulos de mordida das aciltioureas O1–Cu–S1 ($89,77(7)$ – $97,34(19)^\circ$). Um padrão semelhante foi observado em outros complexos de Cu(I) já reportados contendo trifenilfosfina e aciltioureas coordenadas de forma bidentada, via átomos de O e S.¹²⁶ Um dos fatores que influenciam esses desvios dos ângulos

de ligação são os efeitos estéricos impostos pelos dois ligantes trifenilfosfina que são volumosos, como relata KHAN et al.,¹³⁷ em complexos do tipo $[\text{Cu}(\text{TPP})_2(\text{ATU})\text{X}]$ ($\text{X} = \text{Br}$ e I , $\text{ATU} =$ acetiltioureia, $\text{TPP} =$ trifenilfosfina) e GUNASEKARAN et al.,¹³⁸ em complexos de fórmula geral $[\text{CuCl}(\text{HL})(\text{PPh}_3)_2]$ ($\text{HL} = \text{N},\text{N}$ -di(alquil/aril)- N' -aciltioureia e $\text{PPh}_3 =$ trifenilfosfina) cujos ângulos P1-Cu-P2 estão na faixa de 122 - 127° .

Os comprimentos de ligação selecionados para complexos **1**, **1a**, **6** e **6a**, estão apresentados na Tabela 4.1 (para os demais complexos na seção de Apêndice, na Tabela A5). A faixa das distâncias de ligação referentes às ligações Cu-P , Cu-S e Cu-O é comparável a valores já reportados para outros complexos de Cu(I) .^{126,139,140} Por exemplo, KHALAJI et al.,¹³⁹ reportou em complexos de Cu(I) com trifenilfosfina e tiossemicarbazonas comprimentos de ligação Cu-P na faixa de $2,25$ - $2,27$ Å e XU et al.,¹⁴¹ em compostos do tipo $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{pptz})]\text{BF}_4$ ($\text{pptz} =$ 5-fenil-1,2,3-tritriazolpiridina), na faixa de $2,25$ - $2,26$ Å, mostrando que esses comprimentos da ligação Cu-P são típicos para compostos trifenilfosfínicos de Cu(I) . Com relação às ligações Cu-S e Cu-O , KUCHAR et al.,¹²⁶ observou em complexos estruturalmente semelhantes aos sintetizados neste trabalho, comprimentos na mesma faixa ($2,02$ - $2,39$ Å).

Também se observou para os complexos de **1-6**, que após a coordenação o comprimento das ligações S-C do grupo tiocarbonila (S(1)-C(2)) e O-C do grupo carbonila (O(1)-C(1)) aumentaram em relação aos ligantes livres.^{115,142-144} Já os comprimentos referentes às ligações N(1)-C(1) e N(1)-C(2) diminuíram. Esses valores do fragmento (SCNCO) equivalem a valores intermediários entre as ligações duplas e simples apresentadas pelos ligantes, e essa alteração ocorre em decorrência da deslocalização dos elétrons π no anel de seis membros formado após a coordenação dos ligantes ao cobre, como mostra a literatura para os mais diversos complexos metálicos formados a partir dessa classe de ligantes.^{145,13,146} Para os compostos **1a-6a** o caráter de dupla ligação dos grupos S=C e O=C é mantidos mesmo após a coordenação, do

mesmo modo os comprimentos das ligações N–C sofrem pequenas variações, assim como esperado, uma vez que não ocorre a desprotonação das aciltioureas não havendo portanto, a deslocalização eletrônica.^{130,131} Outra observação com relação aos comprimentos de ligação é que em todos os complexos as distâncias de ligação Cu–O são menores que as distâncias Cu–S (em média 0,22 Å). Isto ocorre devido ao maior tamanho do raio do enxofre, como relatado por ALI et al.,¹⁴⁶ em complexos de Ni, Cu, Co e Zn com aciltioureas dissustituídas.

TABELA 4.1: Comprimentos de ligação (Å) selecionados das estruturas cristalinas dos complexos **1**, **1a**, **6** e **6a** e seus respectivos ligantes aciltioureas.

Comprimento de ligação (Å)	Ligantes		Complexos			
	L1	L6	1	1a	6	6a
Cu1–P1	–	–	2,247(6)	2,261(8)	2,267(2)	2,265(1)
Cu1–P2	–	–	2,268(6)	2,236(8)	2,239(2)	2,247(9)
Cu1–O1	–	–	2,052(2)	2,124(2)	2,066(6)	2,132(2)
Cu1–S1	–	–	2,308(7)	2,311(9)	2,325(2)	2,315(1)
C2–S1	1,676(2)	1,688(2)	1,727(2)	1,684(3)	1,714(8)	1,691(3)
C2–N1	1,396(2)	1,404(2)	1,336(3)	1,401(4)	1,353(1)	1,404(4)
C1–O1	1,213(2)	1,221(2)	1,261(3)	1,217(3)	1,268(1)	1,228(4)
C1–N1	1,390(2)	1,387(2)	1,317(3)	1,363(4)	1,306(1)	1,363(4)

As aciltioureas podem assumir diferentes conformações, dependendo do modo como esses ligantes se coordenam aos metais, sendo a mais comum para as monossustituídas, a conformação em *S* e para as dissustituídas a conformação em *U*.¹³ As letras indicam a posição das ligações C=S e C=O em relação à ligação central N–H,¹⁴⁷ como ilustrado na Figura 4.4.

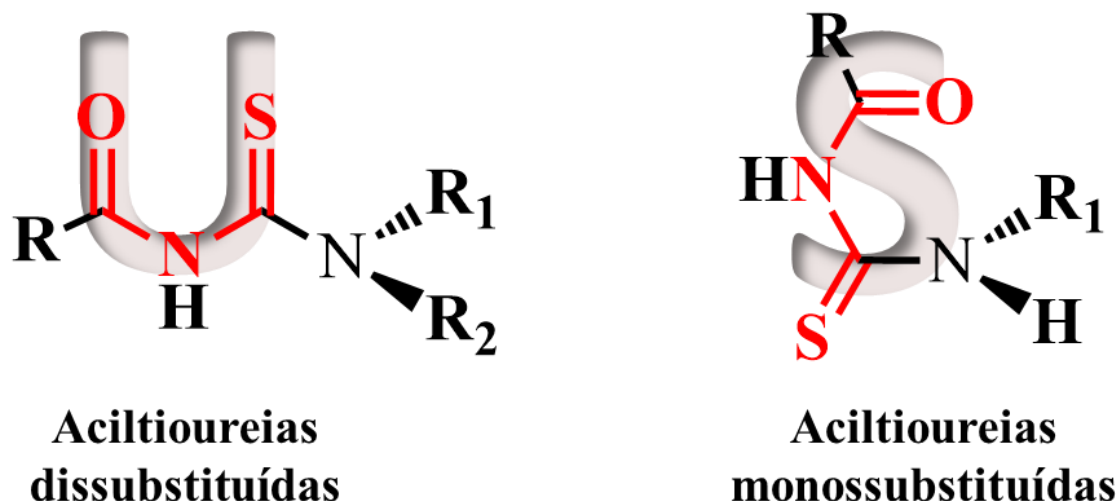


FIGURA 4.4: Conformações mais comuns observadas para as aciltioureias dissubstituídas (U) e monossubstituídas (S).

Os ligantes aciltioureias dissubstituídas assumiram a conformação *U* em todos os complexos como mostrado pelas estruturas cristalinas. No caso dos compostos **1-6** essa conformação é fundamental para a formação do anel de seis membros e para a deslocalização eletrônica, aspectos importantes para a estabilização desse modo de coordenação.¹³ Já para os compostos **1a-6a** o modo de coordenação, bidentado (S,O) e neutro do ligante aciltioureia é estabilizado pela ligação de hidrogênio que ocorre entre o contraíon nitrato e a ligação central N–H. Na Figura 4.5 essa interação é demonstrada para o complexo **1a** como exemplo representativo de todos os complexos carregados. Esse tipo de interação é observado em vários complexos metálicos em que as aciltioureias se coordenam de forma neutra, indicando o importante papel que essas interações desempenham na construção desse tipo de estrutura.^{135,148} GUNASEKARAN et al.,¹⁴⁹ relata por exemplo, que o composto do tipo $[\text{CuCl}(\text{HL1})_2(\text{PPh}_3)]$ em que, HL1 = N,N-difenil-N'-benzoiltioureia e PPh_3 = trifenilfosfina é estabilizado por ligações de hidrogênio intermoleculares e intramoleculares. COLINA-VEGAS et al.,¹⁵⁰ menciona que o modo de coordenação monodentado (S) e neutro das

aciltioureas ao centro metálico podem estar relacionados a estabilidade das ligações de hidrogênios.

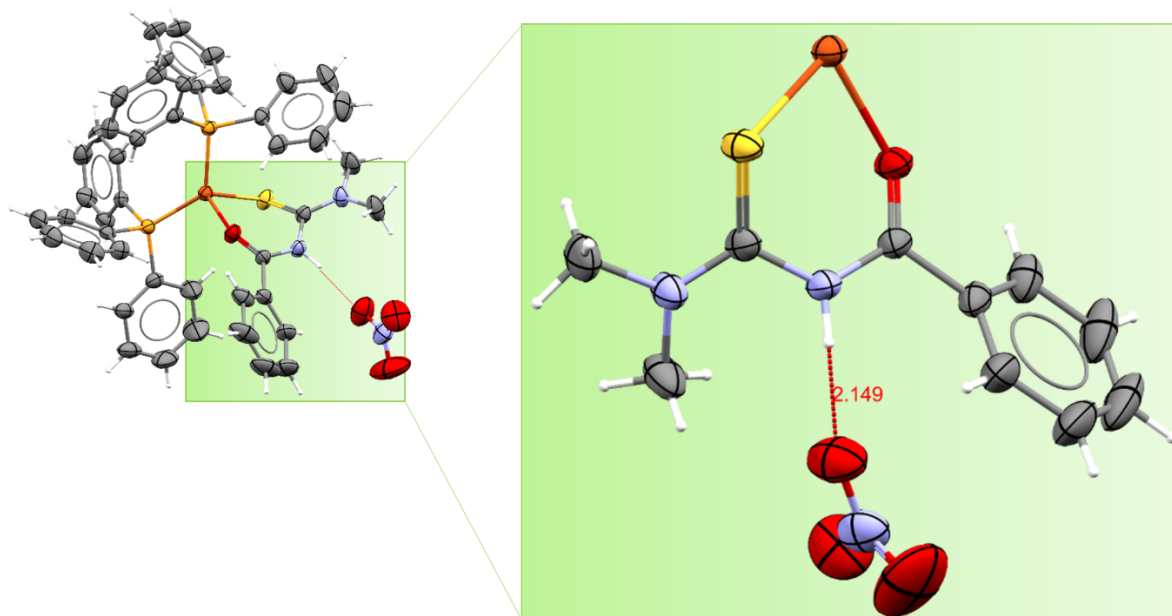


FIGURA 4.5: Ligação de Hidrogênio observada entre o contração nitrato e a ligação central N–H para o complexo **1a**.

Os espectros de absorção na região do infravermelho também foram importantes para a discussão sobre a coordenação das aciltioureas ao Cu(I), uma vez que esses ligantes apresentam os modos vibracionais característicos referentes às ligações N-H e C=O, cujas alterações são indicativos de coordenação das aciltioureas.^{94,12} Assim sendo, a Tabela 4.2 apresenta os principais modos vibracionais das aciltioureas livres dentre os quais se destaca o estiramento referente a ligação N-H, banda de forte intensidade, na região entre 3264–3120 cm^{-1} , que nos espectros dos complexos **1–6** não é observado (Figura 4.6 e Figuras A1-A5) indicando a natureza aniônica dos ligantes quando estes se coordenam ao centro metálico.^{151,152}

TABELA 4.2: Atribuição tentativa dos principais modos vibracionais das aciltioureas livres.

Aciltiourea				
	$\nu(\text{N-H}) \text{ cm}^{-1}$	$\nu(\text{C-H}) \text{ cm}^{-1}$	$\nu(\text{C=O}) \text{ cm}^{-1}$	$\nu(\text{C=S}) \text{ cm}^{-1}$
L1	3192	3026; 3003; 2928	1693	1202
L2	3264	3063; 3024; 2970; 2932; 2870	1651	1288
L3	3155	3058; 3032; 2962; 2932; 2874	1674	1219
L4	3177	3059; 3036; 2961; 2935; 2872; 2864	1690	1230
L5	3180	3115; 3061; 3016; 2924	1682	1236
L6	3120	2930; 2862	1697	1236

Nos espectros dos complexos **1a–6a**, apesar das aciltioureas se coordenarem como ligantes neutros não se observou a banda de estiramento da ligação N–H na região esperada ($3200 - 3100 \text{ cm}^{-1}$). Provavelmente o modo vibracional da ligação N–H foi deslocado para regiões de menores frequências e aparecem sobrepostos à região dos estiramentos das ligações C–H (Figura 4.6 e Figuras A1-A5). Esse deslocamento é causado pela ligação de hidrogênio ($\text{N-H}\cdots\text{ONO}_2^-$) (confirmada pela difração de raios X) que alonga a ligação N–H, resultando na diminuição da frequência de absorção.¹⁵³ PANDEY et al.,¹⁵⁴ em complexos de Cu(I) com aciltioureas monossubstituídas ($[\text{Cu}(\text{aciltiourea})_2\text{Cl}]$), também sugere desvio para o vermelho do modo vibracional referente a ligação N–H, devido ao envolvimento dessa ligação em ligações de hidrogênio intramoleculares do tipo ($\text{O}=\text{C}-\text{N}-\text{H}\cdots\text{Cl}$).

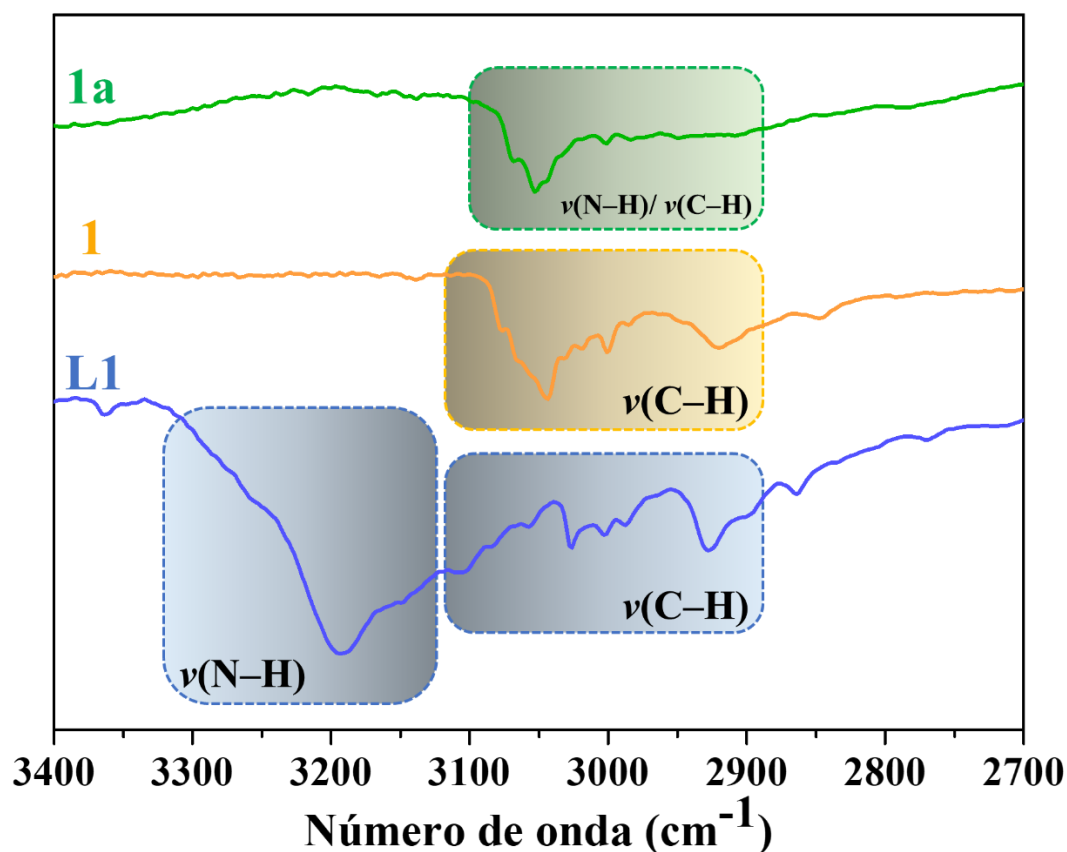


FIGURA 4.6: Espectros de absorção na região do infravermelho e atribuição tentativa dos principais modos vibracionais do ligante **L1** e dos complexos **1** e **1a** na região de 3400-2700 cm^{-1} .

Além do estiramento $\nu(\text{N-H})$ que nos fornece informações acerca do modo aniônico ou neutro das aciltioureas na coordenação, o estiramento do grupo carbonila $\nu(\text{C=O})$, modo vibracional de forte absorção, é bastante elucidativo por ser muito sensível ao ambiente químico, podendo em alguns casos ter a frequência diminuída em até 185 cm^{-1} , após a coordenação.¹⁴ Para os complexos **1-6**, o deslocamento da banda referente a esse grupo foi na faixa de 150–183 cm^{-1} para regiões de menores frequências (Figura 4.7 e Figuras A6-A10), o que corrobora com o enfraquecimento da ligação devido a deslocalização eletrônica após desprotonação do ligante e posterior coordenação ao metal.¹³ Os deslocamentos referentes ao modo vibracional $\nu(\text{C=O})$ para os complexos de **1a-6a** compreenderam valores de 8–66 cm^{-1} (Figura 4.7 e Figuras A6-A10), como esperado, uma vez que não ocorre a deslocalização eletrônica e,

portanto, não se observa um deslocamento significativo desse estiramento. Esse mesmo comportamento é observado nos complexos em que as aciltioureas se coordenam como um ligante neutro e monodentado.^{13,138} Os deslocamentos para o modo vibracional referente à ligação C=O são apresentados na Tabela 4.3, em que é feita a atribuição tentativa dos estiramentos dos ligantes livres e coordenados.

TABELA 4.3: Atribuição tentativa das frequências vibracionais (cm^{-1}) do estiramento $\nu(\text{C}=\text{O})$ para os ligantes aciltioureas livres e coordenados e os respectivos deslocamentos (Δ) após coordenação.

Ligantes livres (Ligantes Coordenados)					
	$\nu(\text{C}=\text{O}) \text{ cm}^{-1}$	$\Delta (\text{cm}^{-1})$		$\nu(\text{C}=\text{O}) \text{ cm}^{-1}$	$\Delta (\text{cm}^{-1})$
1	1693(1510)	183	1a	1693(1651)	42
2	1651(1516)	135	2a	1651(1636)	15
3	1674(1524)	150	3a	1674(1684)	10
4	1690(1508)	182	4a	1690(1624)	66
5	1682(1502)	180	5a	1682(1674)	8
6	1697(1520)	177	6a	1697(1637)	60

Os ligantes e complexos apresentam ainda as bandas referentes ao $\nu(\text{C}-\text{H})$ em torno de 2950 cm^{-1} .^{131,153} Na região entre $1600\text{--}1450 \text{ cm}^{-1}$ ocorre as bandas de estiramento das ligações C=C, e no caso dos ligantes, essas bandas encontram-se sobrepostas à banda de deformação angular da ligação N-H,^{153,155} e nos complexos de **1-6** se sobrepõem à banda C \equiv N.¹²⁷ Em todos os compostos, entre $900\text{--}690 \text{ cm}^{-1}$ observa-se as bandas referente a deformação angular fora do plano da ligação =C-H.¹⁵³ A banda $\nu(\text{C}=\text{S})$ dos ligantes ($1202\text{--}1288 \text{ cm}^{-1}$) foi deslocada para regiões de menores energias após a complexação ao cobre devido ao enfraquecimento da ligação, como esperado principalmente para os complexos **1-6**.⁹⁴ Nos complexos **1a-6a** observou-se também os estiramentos em torno de 1380 cm^{-1} referente ao contração NO_3^- .¹⁵⁶ Em todos os complexos,

na região entre 540–430 cm^{-1} são observados os modos vibracionais referentes às ligações P-C_{Aromático} típicos do ligante trifenilfosfina,^{151,157} bem como às ligações Cu-P^{158,159,160}. Todos esses modos vibracionais podem ser visualizados na Figura 4.7 para os complexos **1** e **1a** e na seção de apêndice nas Figuras A6–A10, encontram-se os espectros para os demais complexos.

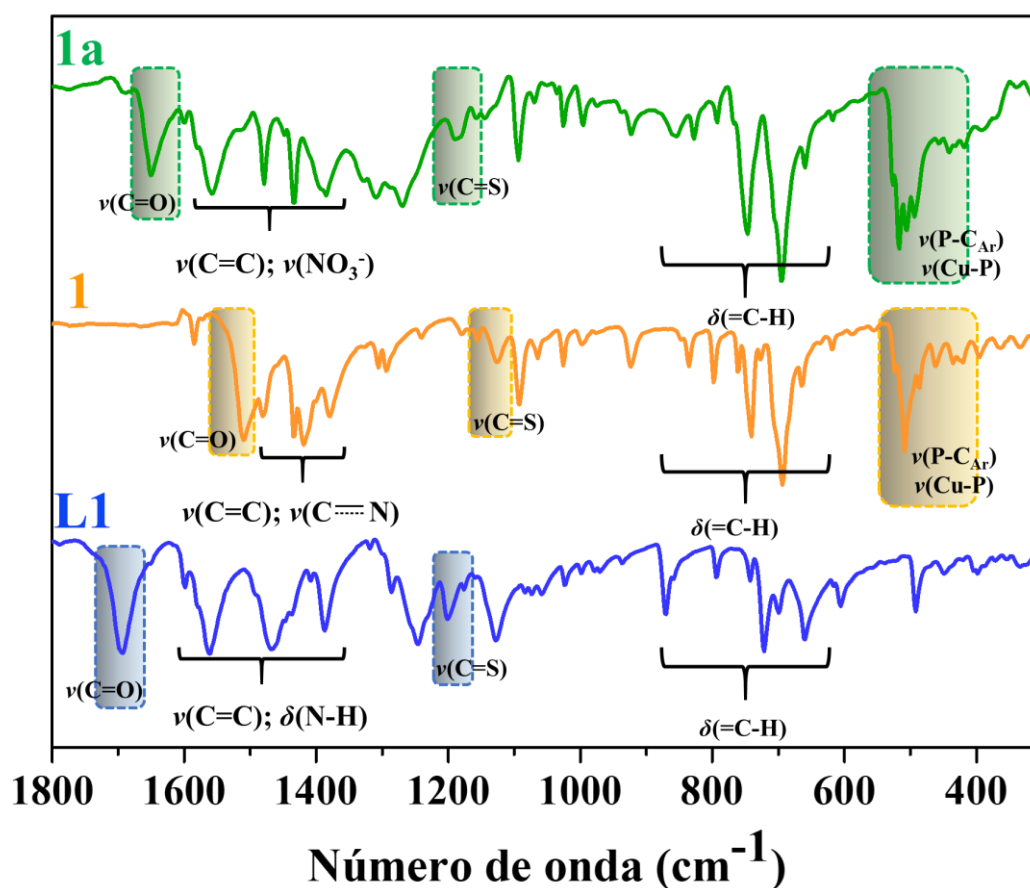


FIGURA 4.7: Espectros de absorção na região do infravermelho e atribuição tentativa dos principais modos vibracionais do ligante **L1** e dos complexos **1** e **1a** na região de 1800–300 cm^{-1} .

Os complexos foram analisados por espectroscopia de RMN empregando técnicas 1D e 2D em diferentes núcleos como fósforo(³¹P), carbono (¹³C) e hidrogênio (¹H). Para os complexos de **1–6** os espectros foram registrados em CDCl_3 enquanto que para os complexos de **1a–6a** o solvente deuterado utilizado foi a acetonitrila- d_3 . Assim sendo, os complexos de **1–6** e de

1a–6a exibiram no espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ somente um sinal, em torno de -3,7 e -1,0 ppm respectivamente, indicando a equivalência dos átomos de fósforo, do ligante trifenilfosfina, por estarem ligados ao centro metálico em um arranjo tetraédrico,^{140,161} confirmado pela difração de raios X. O sinal apresentado pelos complexos é de aspecto alargado, como mostrado na Figura 4.8, e comumente observado em complexos de Cu(I).¹⁶² Essa característica é atribuída a alguns fatores como por exemplo, distorção da geometria tetraédrica e interação quadrupolar com os 2 isótopos de cobre (^{63}Cu e ^{65}Cu , ambos com $I=3/2$).^{162,163} Outra observação importante é que o sinal referente aos átomos de fósforo não apresentou deslocamento pronunciado após a coordenação. No entanto foi observada uma tendência, em que o sinal de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ deslocou-se para regiões mais desblindada do espectro corroborando com a coordenação, uma vez que esse deslocamento indica que o átomo de fósforo se encontra menos protegido devido a doação em σ . O sinal de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para a trifenilfosfina livre é apresentado na Figura 4.8 em diferentes solventes.

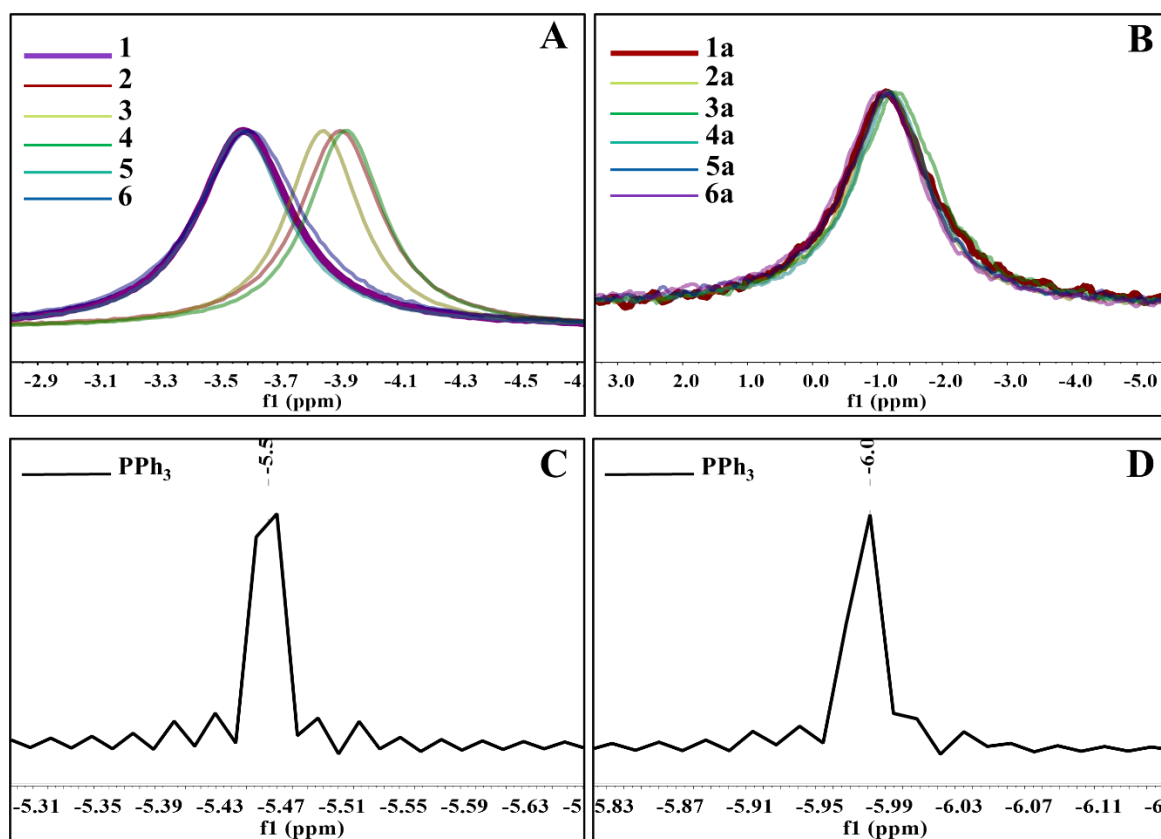


FIGURA 4.8: Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para os complexos A) **1–6** em CDCl_3 , B) **1a–6a** em CD_3CN , C) PPh_3 em CDCl_3 e D) PPh_3 em CD_3CN .

Os resultados de RMN de ^1H foram consistentes com as estruturas propostas. As análises das integrais revelaram que em todos os complexos os ligantes trifenilfosfina e aciltiourea estão presentes na proporção de 2:1 respectivamente, como ilustrado nos espectros de RMN de ^1H dos complexos **1** (Figura 4.9) e **1a** (Figura 4.10). Para o complexo **1** observa-se ainda a ausência do sinal referente ao hidrogênio do grupo NH da aciltiourea, evidenciando a natureza aniônica do ligante^{14,164} ao se coordenar ao cobre, corroborando com os resultados observados na espectroscopia vibracional na região do infravermelho. Para o complexo **1a** esse sinal é observado com deslocamento químico em 9,09 ppm indicando que a aciltiourea se coordenou de forma protonada.

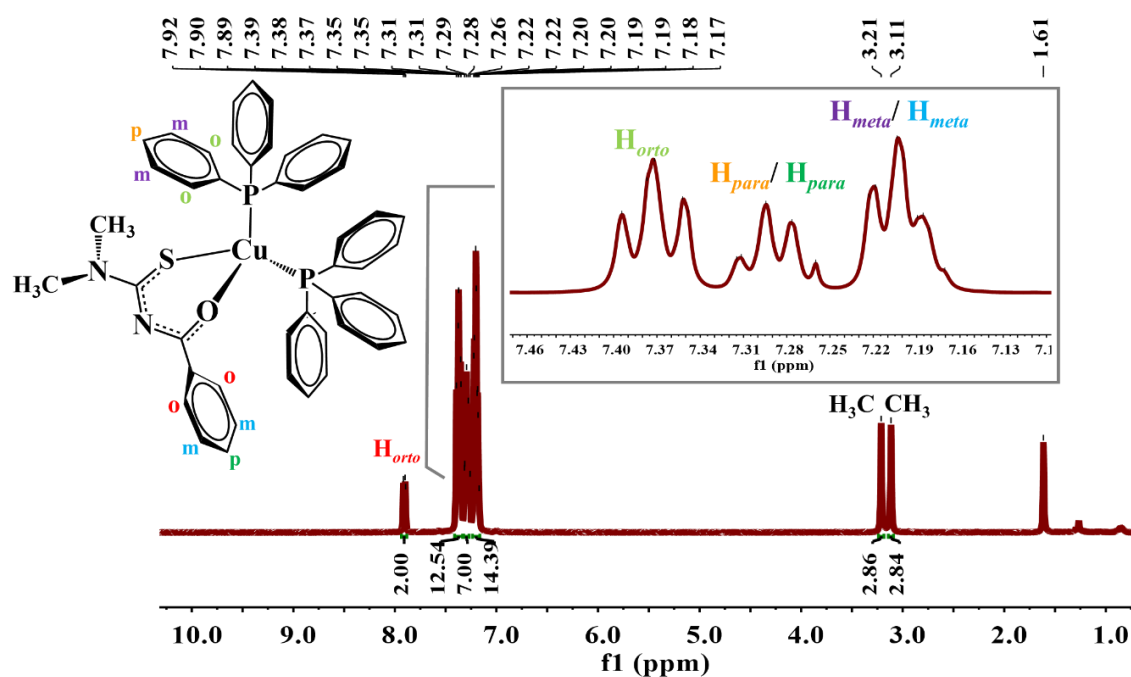


FIGURA 4.9: Espectro de RMN de ^1H obtido para o complexo **1**, em CDCl_3 , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

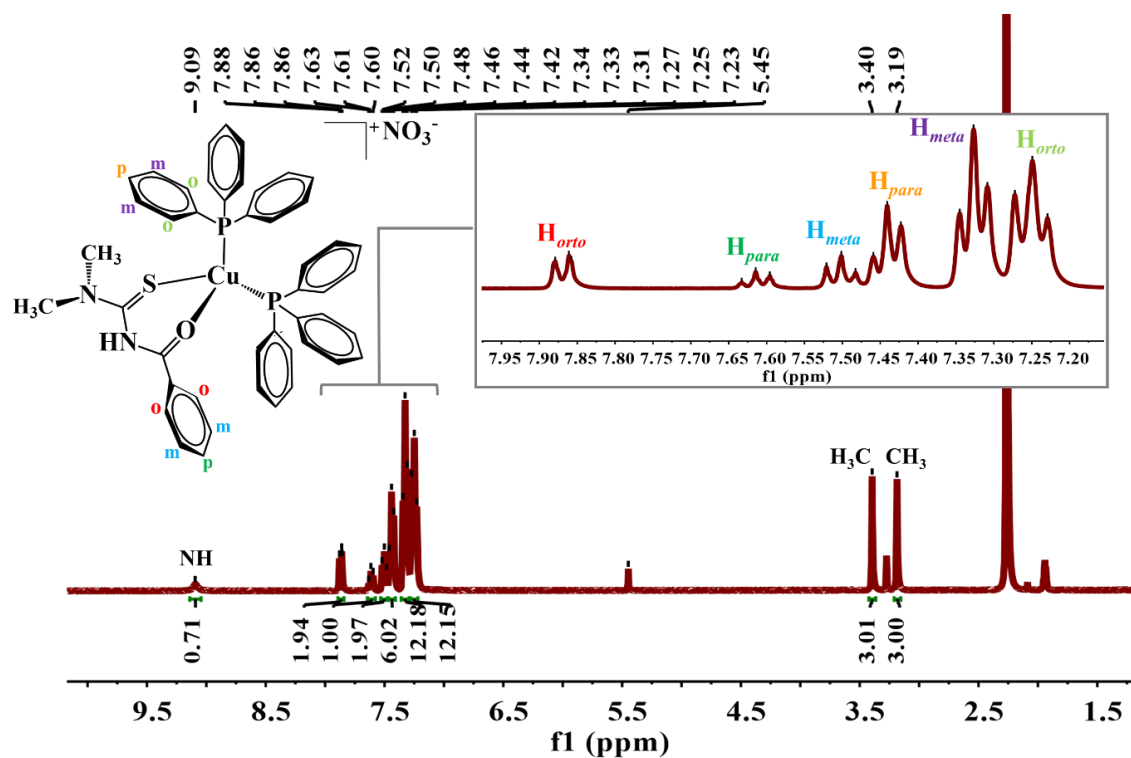


FIGURA 4.10: Espectro de RMN de ^1H obtido para o complexo **1a**, em CD_3CN , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

Nos espectros de RMN de ^1H todos os sinais dos hidrogênios dos ligantes coordenados ao cobre foram atribuídos. Nos complexos de **1–6** dois conjuntos distintos de sinais são observados, o primeiro na região dos hidrogênios alifáticos correspondendo aos grupos CH_2 e CH_3 do ligante aciltioureia (δ 0,82-3,73 ppm) e o segundo na região de δ 6,25-7,92 ppm, referente aos hidrogênios aromáticos dos ligantes trifenilfosfina e aciltioureia (Figura 4.9 e Figuras A11-A15). Nos complexos de **1a–6a**, além dos sinais que correspondem aos hidrogênios alifáticos dos grupos CH_2 e CH_3 do ligante aciltioureia (δ 0,84-3,90 ppm) e dos sinais referentes aos hidrogênios aromáticos dos ligantes trifenilfosfina e aciltioureia (δ 6,61–7,68 ppm), também é observado um outro sinal (δ 8,99–9,21 ppm) que corresponde ao hidrogênio do grupo NH do ligante aciltioureia (Figura 4.10 e Figuras A16–A20).

A atribuição dos hidrogênios foi realizada baseada na análise dos dados das técnicas bidimensionais COSY (^1H - ^1H), HSQC (^1H - ^{13}C) e HMBC (^1H - ^{13}C) e dos parâmetros como constante de acoplamento e integração dos sinais. A técnica de COSY (^1H - ^1H) por exemplo, foi muito elucidativa, principalmente para regiões de sobreposição dos sinais dos hidrogênios aromáticos para os complexos de **1–6**. A Figura 4.11 (A) ilustra uma ampliação da região aromática do mapa de correlação COSY (^1H - ^1H) para o complexo **1**, observando-se os acoplamentos entre os hidrogênios vizinhos da trifenilfosfina e dos hidrogênios vizinhos da aciltioureia. Nos complexos **1a–6a** temos uma melhor separação dos sinais dos hidrogênios aromáticos e assim os padrões de acoplamento são melhor visualizados para os diferentes ligantes, conforme indicado na Figura 4.11 (B) para o complexo **1a**. Os mapas de correlação COSY (^1H - ^1H) para todos os outros complexos estão apresentados na seção de apêndice nas Figuras A21-A28.

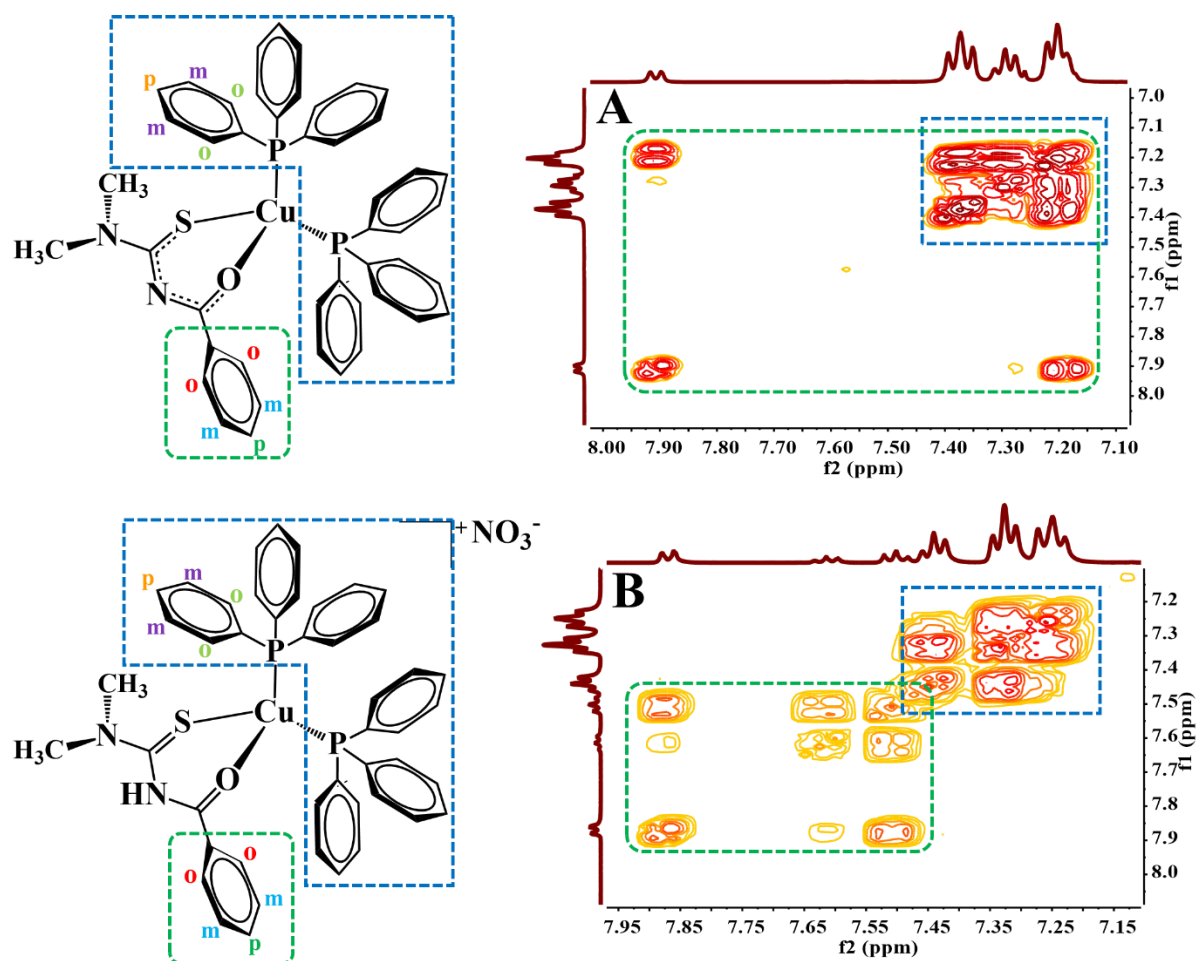


FIGURA 4.11: Mapa de correlação COSY (^1H - ^1H) obtido para A) o complexo **1**, região aromática, em CDCl_3 e B) complexo **1a**, região aromática, em CD_3CN . Em destaque os padrões de acoplamentos exibidos pelos complexos.

Os espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ apresentaram sinais que também corroboraram com as estruturas propostas, sendo mais informativos os que correspondem aos carbonos dos grupos $\text{C}=\text{S}$ e $\text{C}=\text{O}$ do ligante aciltiourea. A atribuição desses carbonos foi realizada mediante análise do mapa de correlação HMBC (^1H - ^{13}C), que corresponde aos acoplamentos entre hidrogênios e carbonos a longas distâncias, visualizado na Figura 4.12 (A) para o complexo **1** e na Figura 4.12 (B) para o complexo **1a**. Portanto, através do acoplamento entre o sinal do carbono na região mais desblindada do mapa de correlação HMBC (^1H - ^{13}C) com o sinal dos hidrogênios referentes ao grupo R_1 da aciltiourea, pode-se confirmar que esse carbono pertence ao grupo $\text{C}=\text{S}$. Esse deslocamento

químico pode ser justificado pelo fato do carbono do grupo C=S encontrar-se ligado a dois átomos de nitrogênio, que por serem mais eletronegativos, desblindam o átomo de carbono com relação ao campo magnético aplicado.¹⁵³ O carbono do grupo carbonila, cujo deslocamento químico é confirmado pelo acoplamento com os hidrogênios na posição *orto* do anel aromático (Figuras 4.12 (A) e 4.12 (B)), mesmo ligado ao nitrogênio e ao oxigênio (ainda mais eletronegativo), provavelmente tem seu deslocamento químico influenciado pelo campo anisotrópico gerado pelo sistema de 6 elétrons π do grupo benzoil da aciltiourea.¹⁵³ Na seção de apêndice são apresentados os mapas de correlação HMBC (^1H - ^{13}C) para todos os outros complexos nas Figuras A29-A33. Vale ressaltar que no caso dos compostos **5** e **5a** o carbono do grupo carbonila acopla com o H_a do grupo tiofenocarbonil, enquanto nos complexos **6** e **6a** o acoplamento do C=O com o H_a do grupo furoil não foi observado.

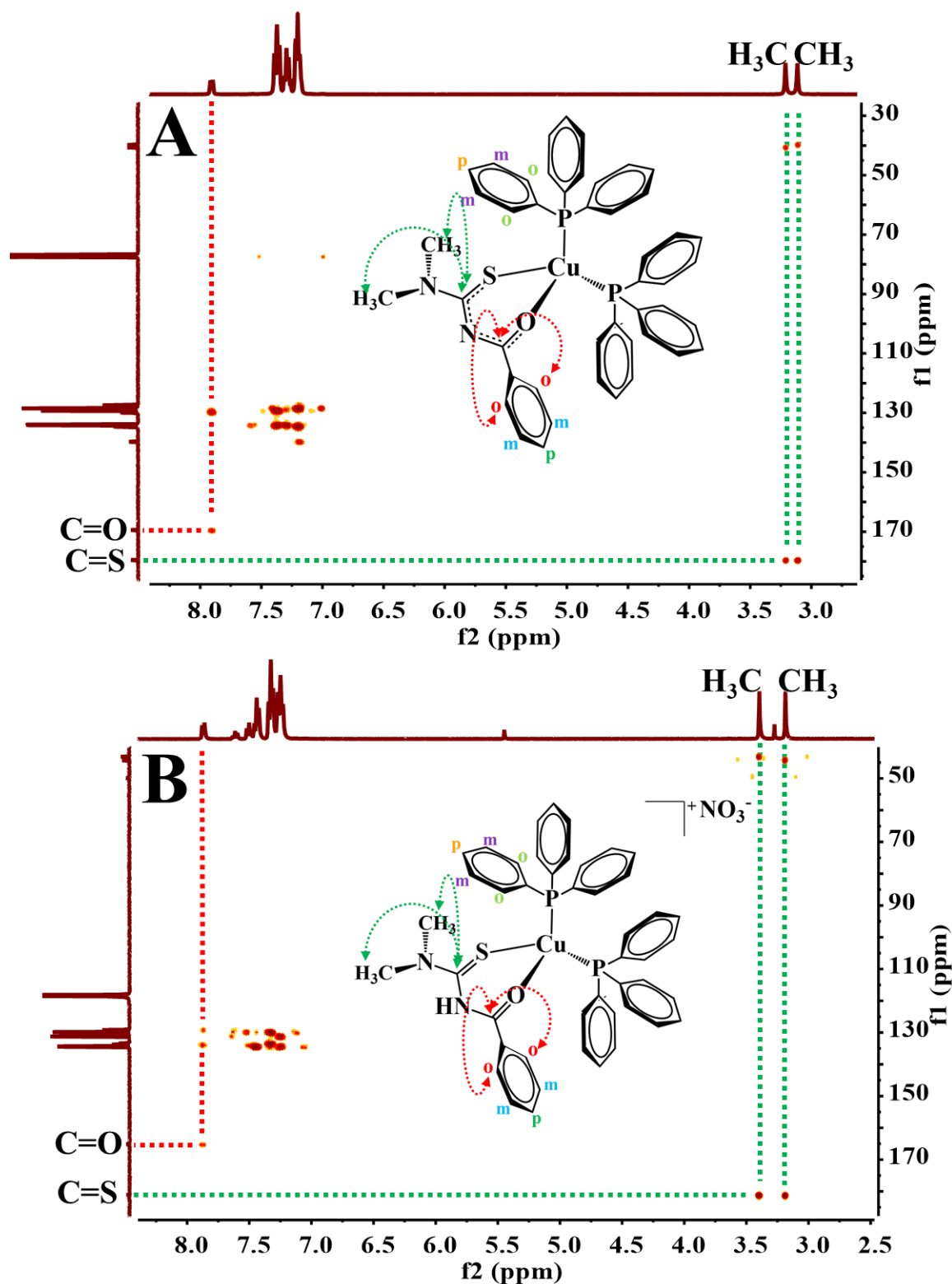


FIGURA 4.12: Mapa de correlação HMBC (^1H - ^{13}C) obtido para A) o complexo **1**, em CDCl_3 e B) complexo **1a**, em CD_3CN . Em destaque os acoplamentos escalares exibidos pelos complexos relativos aos carbonos $\text{C}=\text{O}$ e $\text{C}=\text{S}$.

Nas Figuras 4.13 e 4.14 estão ilustrados os espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ dos complexos **1** e **1a**, nos quais observou-se alguns sinais como dupletos. Esta multiplicidade ocorre em decorrência dos acoplamentos dos átomos de P com os átomos de carbono da trifenilfosfina.¹³⁷ Adicionalmente ao mapa de correlação HSQC (^1H - ^{13}C) (Figuras A34-A39), esses acoplamentos PC são importantes para a atribuição correta dos carbonos da trifenilfosfina, uma vez que as constantes de acoplamento decrescem no seguinte sentido $J_{\text{PCquaternário}} > J_{\text{PCorto}} > J_{\text{PCmeta}} > J_{\text{PCpara}}$. Desse modo, foi constatado nos complexos **1-6** $^1J_{\text{PC}}$ ($\text{C}_{\text{quaternário}}$) em torno de 22 Hz e deslocamento químico na faixa de 134,3-134,7 ppm, $^2J_{\text{PC}}$ (C_{orto}) em torno de 15 Hz e deslocamento químico na faixa de 134,0-134,1 ppm, $^3J_{\text{PC}}$ (C_{meta}) em torno de 8 Hz e deslocamento químico na faixa de 128,4-128,5 ppm, não sendo observado acoplamento PC_{para} e o deslocamento químico para os carbonos na posição *para* aparecem em 129,3 ppm. Nos complexos de **1a-6a** $^1J_{\text{PC}}$ ($\text{C}_{\text{quaternário}}$) em torno de 28 Hz e deslocamento químico na faixa de 133,4-133,5 ppm, $^2J_{\text{PC}}$ (C_{orto}) em torno de 14 Hz e deslocamento químico na faixa de 134,1 -134,3 ppm, $^3J_{\text{PC}}$ (C_{meta}) em torno de 9 Hz e deslocamento químico na faixa de 129,7-129,8 ppm, também não se observando acoplamento PC_{para} e o deslocamento químico para os carbonos na posição *para* aparecem em 131,1 ppm. Os espectros de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para os complexos de **2-6** e de **2a-6a** são apresentados na seção de apêndice nas Figuras de A40-A49.

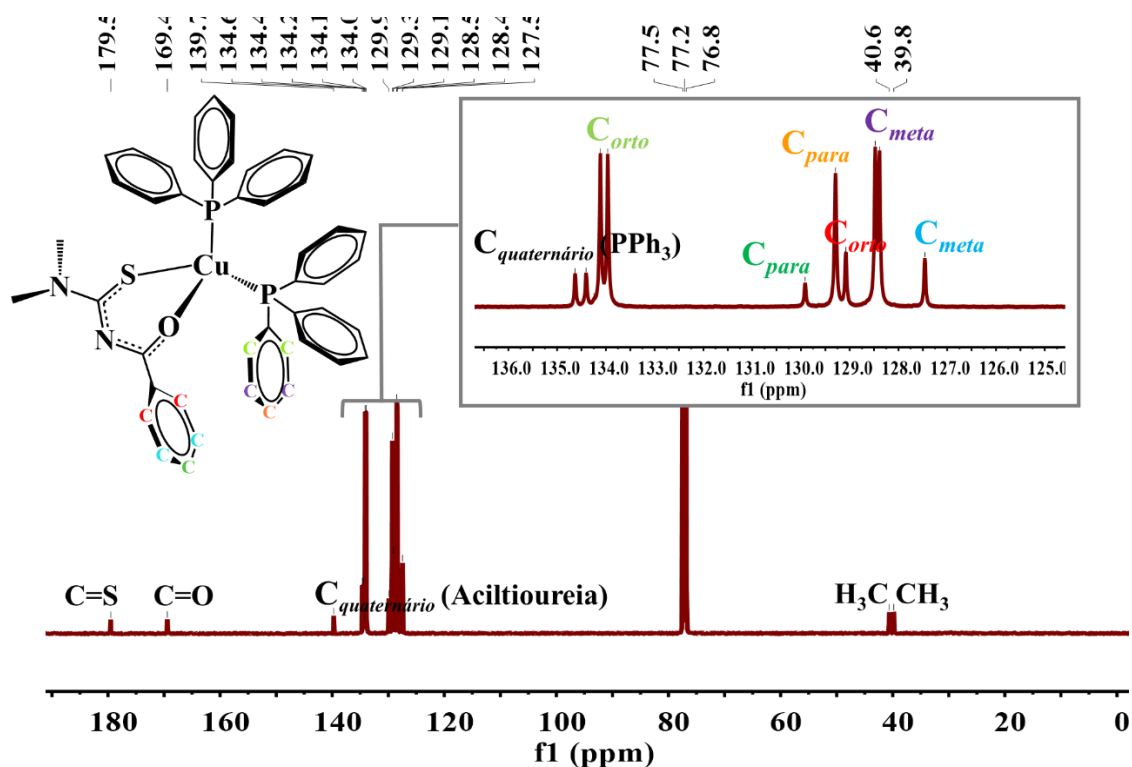


FIGURA 4.13: Espectro de RMN de ¹³C{¹H} obtido para o complexo 1, em CDCl₃, mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

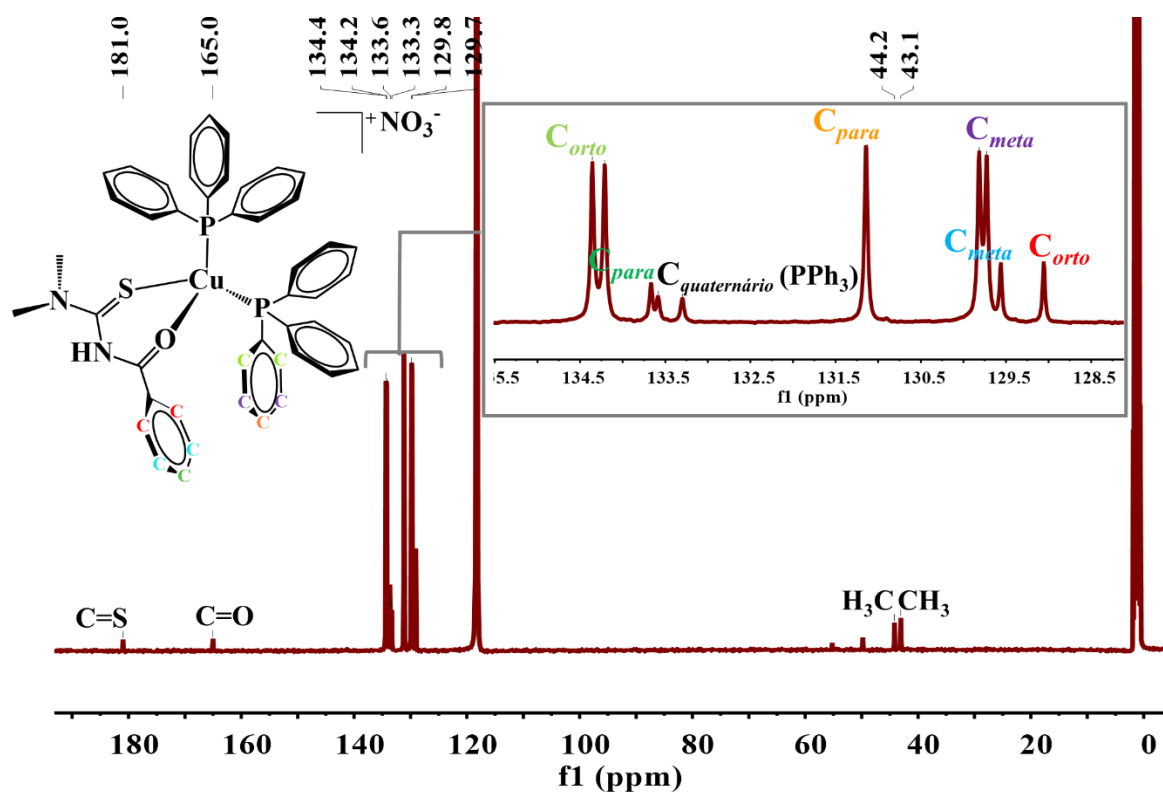


FIGURA 4.14: Espectro de RMN de ¹³C{¹H} obtido para o complexo 1a, em CD₃CN, mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

Após a coordenação das aciltioureas ao cobre, diferentes tendências foram percebidas para os dois modos de coordenação com relação aos deslocamentos dos carbonos dos grupos C=S e C=O, quando comparados aos ligantes livres, como mostrado na Tabela 4.4 para todos os complexos.

TABELA 4.4: Deslocamento químico para os sinais referentes aos carbonos dos grupos C=S e C=O dos ligantes aciltioureas e dos respectivos complexos, em CDCl_3 para os complexos de **1-6** e em CD_3CN para os complexos de **1a-6a**.

	Ligante			Complexo		Δ (ppm)	
	C=S	C=O		C=S	C=O	C=S	C=O
L1	180,2	163,6	1	179,5	169,4	0,7	5,8
L2	179,4	163,9	2	177,8	169,5	1,6	5,6
L3	180,1	163,7	3	178,3	169,4	1,8	5,7
L4	179,8	163,7	4	178,1	169,4	1,7	5,7
L5	179,7	157,9	5	179,0	165,4	0,7	7,5
L6	179,1	153,5	6	179,8	161,5	0,7	8,0
	Ligante			Complexo		Δ (ppm)	
	C=S	C=O		C=S	C=O	C=S	C=O
L1	181,4	165,2	1a	181,1	165,1	0,3	0,1
L2	181,0	165,7	2a	180,5	165,7	0,5	0,5
L3	181,5	165,2	3a	181,1	165,4	0,4	0,2
L4	181,2	165,2	4a	180,8	165,4	0,4	0,2
L5	180,6	159,3	5a	180,6	159,5	0,0	0,2
L6	-	-	6a	179,7	155,1	-	-

Nos complexos em que as aciltioureas se coordenaram de forma bidentada e aniônica (complexos de **1-6**) notou-se que o sinal referente ao carbono do C=S deslocou-se para regiões mais blindadas do espectro, enquanto que o carbono da carbonila deslocou-se para regiões mais desblindadas (Figura 4.15). Ao contrário do esperado, devido a deslocalização eletrônica que ocorre após a coordenação nesse tipo de composto, o deslocamento do C=S foi pouco

acentuado (de aproximadamente 1,3 ppm), enquanto o deslocamento do C=O foi em torno de 6,0 ppm.

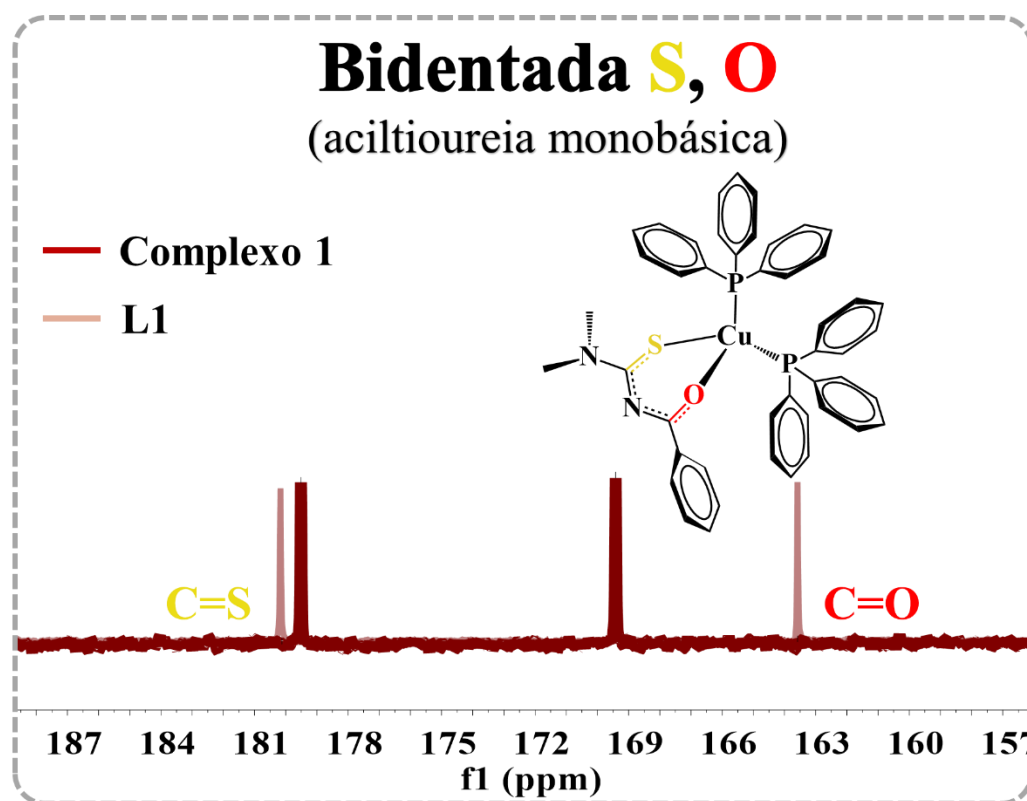


FIGURA 4.15: Espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo **1** e de seu respectivo ligante livre **L1** em CDCl_3 .

CUNHA et al.,¹³ publicaram um importante trabalho discutindo a importância desses deslocamentos para a predição do modo de coordenação das aciltioureias ao metal. Segundo os autores, para o modo de coordenação bidentado O, S e monobásica da aciltioureia, os deslocamentos para ambos os carbonos foram proeminentes. Fazendo uma análise apresentada na Tabela 4.5, de vários complexos já descritos na literatura e sintetizados em nosso grupo de pesquisa, a maioria dos complexos apresenta esse mesmo comportamento. No entanto, os complexos de **1-6**, apesar de seguirem a mesma tendência, apresentam deslocamento do carbono (C=S) pouco pronunciado.

TABELA 4.5: Dados de deslocamento químico de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para os carbonos C=S e C=O de complexos, contendo aciltioureas dissustituídas, já reportados na literatura.

Geometria	Metal	Ligante	Ligante		Complexo		Δ (ppm)		Ref.	
			C=S	C=O	C=S	C=O	C=S	C=O		
Octaédrica	Ru ²⁺	AT1	179,7	157,9	C1	173,2	169,2	6,6	11,3	165
Octaédrica	Ru ²⁺	AT2	179,8	163,7	C2	174,1	170,3	5,7	6,6	165
Octaédrica	Ru ²⁺	AT3	180,2	163,6	C3	174,1	170,3	6,1	6,7	165
Q planar	Pd ²⁺	AT4	179,4	163,9	C5	170,3	169,9	9,1	6,0	127
Q Planar	Pd ²⁺	AT4	179,4	163,9	C7	170,0	169,6	9,4	5,7	151
Q Planar	Pd ²⁺	AT2	179,8	163,7	C8	170,6	168,5	9,2	4,8	151
Q Planar	Pd ²⁺	AT1	179,7	157,9	C9	166,7	164,1	13,0	6,2	151
Q Planar	Pd ²⁺	AT1	179,7	157,9	C10	166,7	164,1	13,0	6,2	94
Q Planar	Pt ²⁺	AT4	179,4	163,9	C12	168,2	166,2	11,2	4,3	155
Q Planar	Pt ²⁺	AT1	179,7	157,9	C13	166,7	164,1	11,5	6,2	155
Octaédrica	Ru ²⁺	AT3	180,2	163,6	C14	174,6	170,2	5,6	6,6	14
Octaédrica	Ru ²⁺	AT1	179,7	157,9	C15	174,1	166,2	5,4	5,0	14
Octaédrica	Ru ²⁺	AT5	179,1	153,5	C16	174,3	162,5	4,8	9,0	14
Octaédrica	Ru ²⁺	AT1	179,7	157,9	C17	173,8	166,3	5,9	8,4	14
Octaédrica	Ru ²⁺	AT5	179,1	153,5	C18	174,1	162,8	5,0	9,3	14
Pseudo-octaédrica	Ru ²⁺	AT1	181,0 [#]	159,0 [#]	C19	173,5 [#]	168,0 [#]	7,5	9	13
Pseudo-octaédrica	Ru ²⁺	AT3	181,6 [#]	164,5 [#]	C20	174,9 [#]	172,4 [#]	6,7	7,9	13
Pseudo-octaédrica	Ru ²⁺	AT5	180,5 [#]	154,9 [#]	C21	174,0 [#]	164,1 [#]	6,5	9,2	13

AT1: N'N'-dimetil-N-2-tiofenocarboniltiourea; AT2: N'N'-dibutil-N-benzoiltiourea; AT3: N'N'-dimetil-N-benzoiltiourea; AT4: N'N'-dietil-N-benzoiltiourea e AT5: N'N'-dimetil-N-furoiltiourea.

Buscando uma explicação para os desvios dos deslocamentos dos carbonos C=O e C=S, um estudo de DFT foi realizado para os complexos de **1-6** e constatou-se o mesmo comportamento observado experimentalmente. Quando os cálculos foram realizados com a função CAM-B3LYP os dados foram mais consistentes com o experimental, com um erro de 4-5% (Tabela 4.6), se compararmos com os resultados obtidos com a função B3LYP que mostraram erros entre 8-10% (Tabela 4.6). Desse modo, efeitos relativísticos contemplados no método utilizando a função CAM-B3LYP podem justificar o comportamento para os deslocamentos dos carbonos C=S e C=O, após a inserção do centro de

Cu(I), uma vez que na espectroscopia de RMN, os átomos pesados influenciam fortemente as constantes de proteção de RMN dos átomos vizinhos leves. Essa contribuição relativística para a constante de blindagem de RMN dos átomos vizinhos leves é tipicamente modulada em termo de acoplamento spin-órbita que se relaciona ao caráter covalente da ligação M-L (metal-ligante), como relatado por NOVOTNÝ et al.¹⁶⁶

Tabela 4.6: Deslocamento químico de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ experimental e teórico para os carbonos C=S e C=O dos complexos de 1-6.

RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ experimental				RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ teórico							
Ligantes		Complexos		Ligantes		Complexos					
C=S	C=O	C=S	C=O	C=S B*/C**	C=O B*/C**	C=S B*/C**	C=O B*/C**				
L1	180,1	163,6	1	179,5	169,4	L1	187,6/ 180,9	166,9/ 169,0	1	166,3/ 170,9	153,5/ 158,2
L2	179,4	163,9	2	177,8	169,5	L2	175,2/ 181,7	154,3/ 155,5	2	166,1/ 170,6	153,7/ 158,4
L3	180,1	163,7	3	178,3	169,4	L3	174,9/ 181,5	154,2/ 155,7	3	166,1/ 170,8	153,4/ 159,1
L4	179,8	163,7	4	178,1	169,4	L4	175,0/ 181,6	154,0/ 155,3	4	167,0/ 171,8	154,0/ 159,8
L5	179,7	157,9	5	179	165,4	L5	174,1/ 183,6	144,8/ 158,2	5	166,9/ 170,5	149,0/ 154,9
L6	179,1	153,5	6	179,8	161,5	L6	189,0/ 180,7	156,4/ 146,4	6	165,8/ 171,6	146,6/ 151,8

*B (dados calculados com o funcional B3LYP/ **C (dados calculados com o funcional CAM-B3LYP).

Na Figura 4.16 estão ilustrados os espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do ligante **L1** e do complexo **1a**, nos quais podemos observar que os deslocamentos dos carbonos C=O e C=S para o complexo **1a** quando comparados ao ligante livre, não foram significativos, uma vez que nos complexos de **1a-6a** não ocorre a deslocalização dos elétrons π . Esse mesmo comportamento é observado nos complexos em que as aciltioureias se coordenam de forma monodentada e neutra.^{11,12}

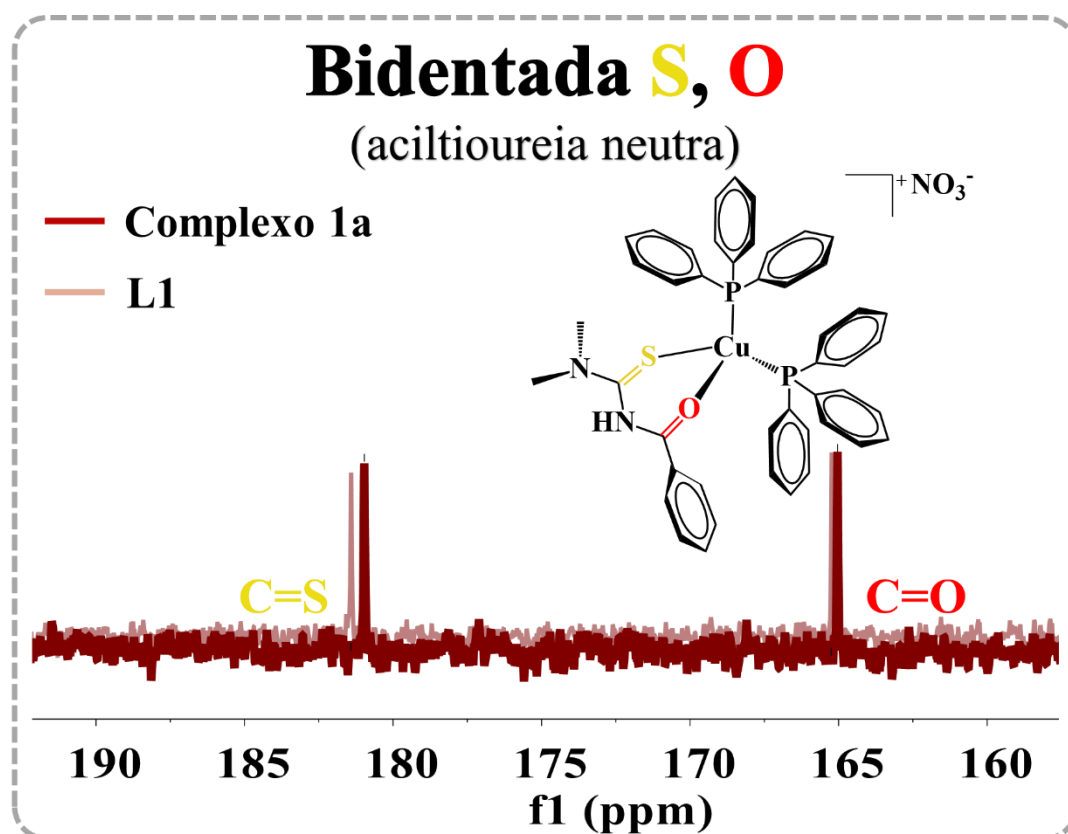


FIGURA 4.16: Espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo **1a** e de seu respectivo ligante livre **L1** em CD_3CN .

Os dados de condutividade molar (Tabela 4.7) corroboraram com as propostas estruturais apresentadas acima, indicando que os complexos de **1** – **6** são neutros e os complexos **1a** – **6a** são eletrólitos 1:1, sendo que a faixa que caracteriza em DMSO, o intervalo para eletrólitos 1:1 é de 20-60 $\text{S cm}^2 \text{mol}^{-1}$.¹¹⁶ Com relação à composição química dos complexos, determinada por análise elementar, que indica os teores de carbono, nitrogênio, hidrogênio e enxofre presentes na amostra, podemos observar que os dados (Tabela 4.7), estão consistentes com as formulações sugeridas.

TABELA 4.7: Dados de análise elementar e condutividade molar para os complexos. Valores teóricos da composição química dos complexos entre parênteses.

Complexo	Análise Elementar (Teor.)				Condutividade Molar (S cm ² mol ⁻¹)	
	% C	% H	% N	% S	Branco	Amostra
1	69,51 (69,46)	5,48 (5,20)	3,88 (3,52)	4,02 (4,03)	0,023	0,986
2	70,19 (70,01)	5,89 (5,51)	3,82 (3,40)	3,98 (3,89)	0,024	0,543
3	70,43 (70,53)	6,18 (5,80)	3,39 (3,29)	4,23 (3,77)	0,027	0,457
4	70,86 (71,01)	6,25 (6,07)	3,16 (3,18)	3,67 (3,64)	0,026	0,379
5	65,71 (65,94)	5,29 (4,91)	3,89 (3,50)	8,02 (8,00)	0,026	0,364
6	67,26 (67,29)	5,16 (5,01)	3,61 (3,57)	4,28 (4,08)	0,025	0,407
1a	64,32 (64,36)	5,25 (4,93)	4,92 (4,90)	3,93 (3,73)	0,023	33,70
2a	64,95 (65,04)	5,62 (5,23)	4,76 (4,74)	3,87 (3,62)	0,025	34,40
3a	65,72 (65,67)	5,71 (5,51)	4,78 (4,59)	3,59 (3,51)	0,023	28,52
4a	66,26 (66,12)	6,03 (5,77)	4,54 (4,46)	3,99 (3,40)	0,026	25,91
5a	60,96 (61,14)	4,76 (4,66)	4,95 (4,86)	8,13 (7,42)	0,024	33,90
6a	62,29 (62,15)	4,75 (4,98)	4,95 (4,94)	4,36 (3,78)	0,026	32,97

Os complexos **1-6** também foram caracterizados por espectrometria de massas através do método de ionização por eletrospray (ESI) no modo positivo MS/MS. Nos espectros de massas encontramos os sinais referentes ao íon molecular dos complexos ($[M+H]^+$), sendo que esses sinais exibiram o padrão isotópico do Cu(I) (Figura 4.17). Os sinais ($[M+H]^+$) resultaram em razões massa/carga (m/z)= 795,1820 (**1**), 823,2088 (**2**), 879,2758 (**4**), 801,1335 (**5**) e 785,1574 (**6**) e estão em acordo com os espectros simulados provenientes das fórmulas mínimas das espécies catiônicas (Figura 4.17). A presença dos íons

moleculares nos espectros de massa confirmou a composição proposta para os complexos.

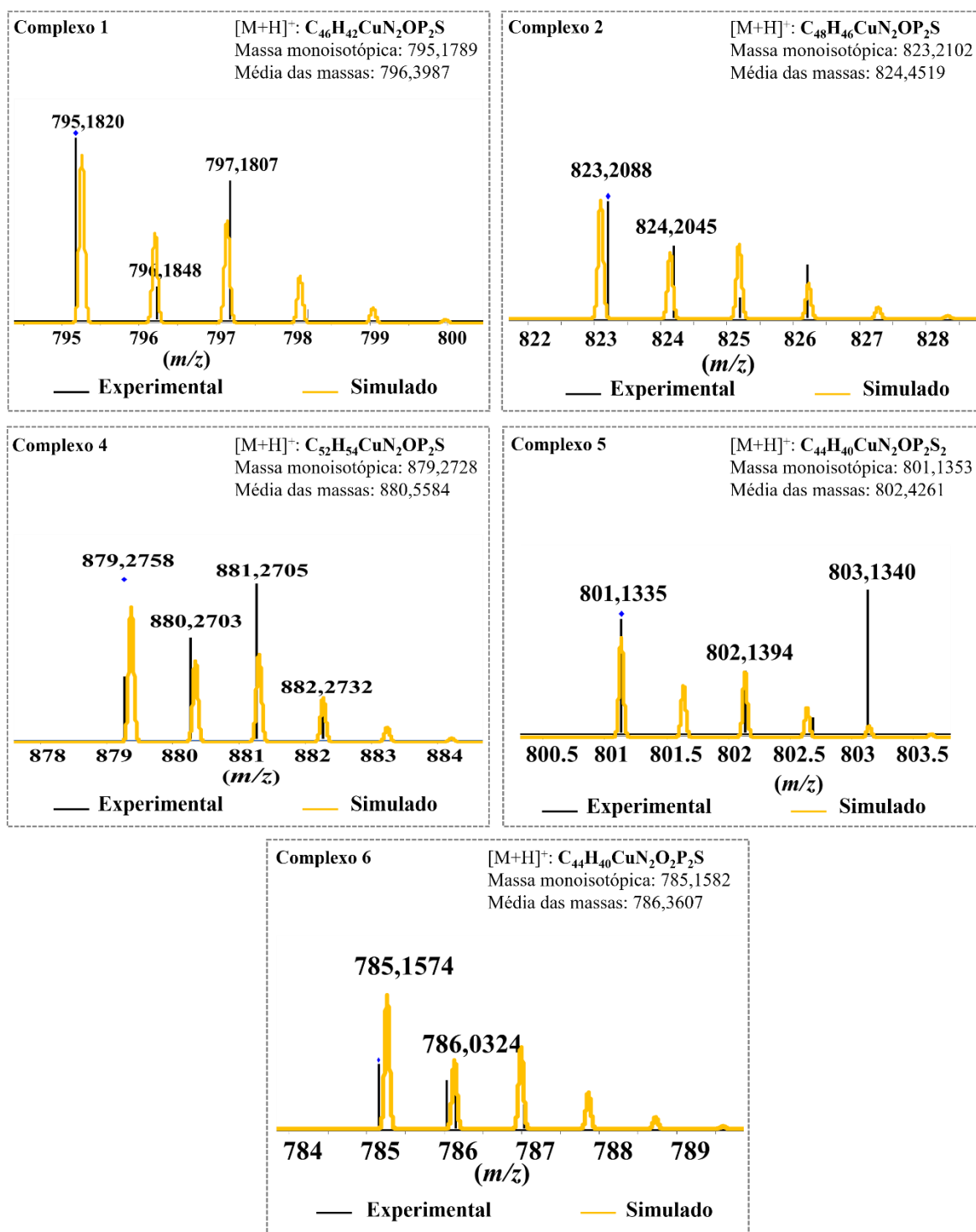


FIGURA 4.17: Perfil isotópico experimental e teórico para os cátions metálicos dos complexos correspondendo aos íons moleculares ($[M+H]^+$).

O complexo **3** não exibiu o sinal referente a razão m/z esperada para o complexo não fragmentado, porém foram identificados os sinais referentes aos fragmentos $[M-PPh_3]^+$ (perda de PPh_3), cuja razão $m/z = 589,1109$ e $[M-L3]^+$ (eliminação do ligante aciltioureia) cuja razão m/z aparece sobreposta aos sinais relativos ao fragmento $[M-PPh_3]^+$ (Figura 4.18).

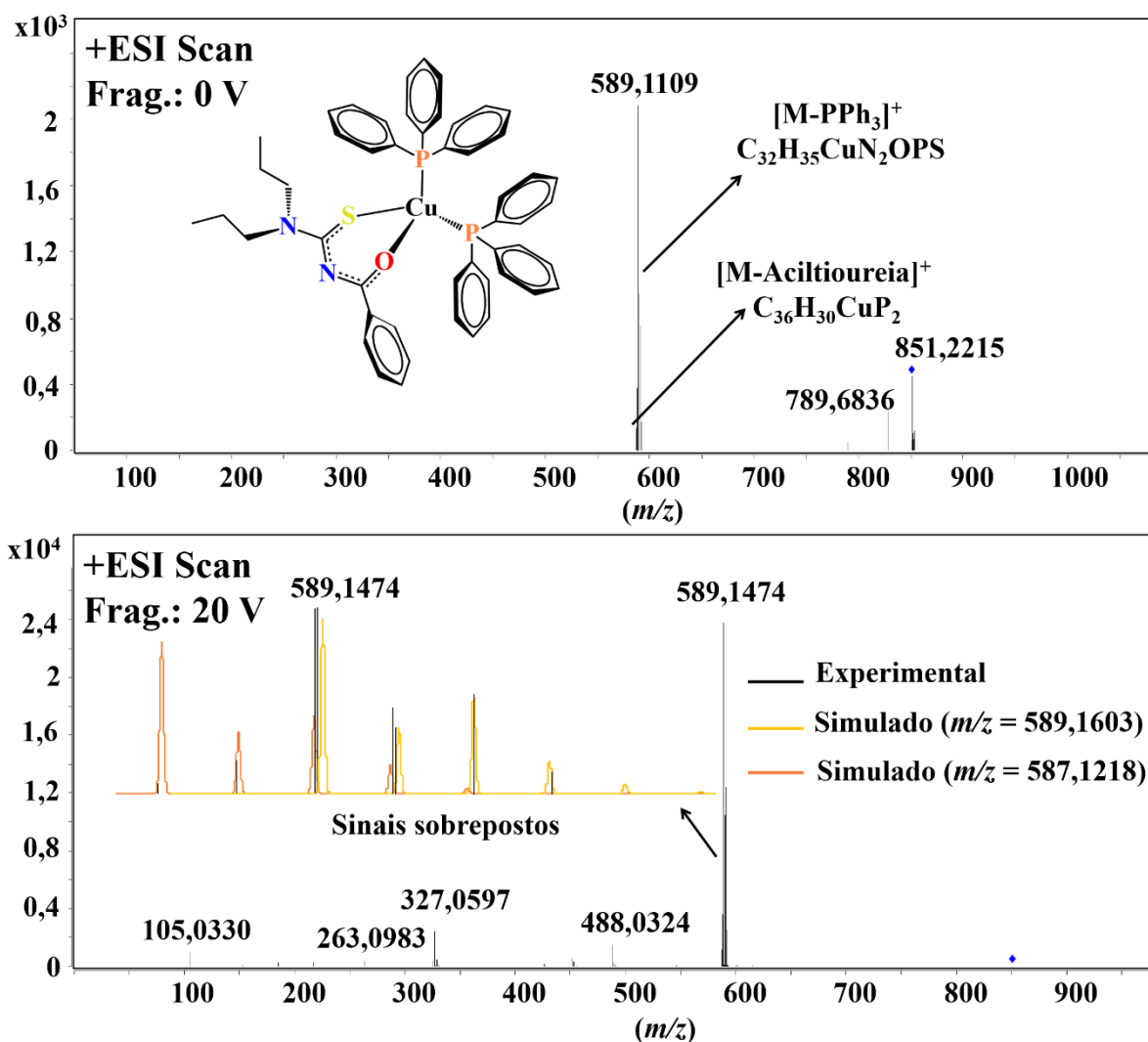


FIGURA 4.18: Espectros de massas para o complexo **3** e simulação dos sinais referentes aos íons fragmentos ($[M-PPh_3]^+$) e ($[M-L3]^+$).

O fragmento referente a saída do ligante PPh_3 ($[M-PPh_3]^+$) é mais abundante para todos os complexos, mostrando que é mais fácil quebrar a ligação cobre-fósforo do que a ligação metal-aciltioureia corroborando com o

fato da aciltioureia ser um ligante bidentado quelato e portanto, mais estável. Assim, o pico que representa a perda do ligante de aciltioureia é menos intenso. No processo de fragmentação de complexos Cobre(I)-Fosfina Polipiridil relatado na literatura, a eliminação do ligante PPh_3 também ocorre mais facilmente que o ligante bidentado,¹⁶⁷ corroborando com os resultados apresentados para os complexos 1-6. Os espectros de massas para os complexos 1, 2 e 4-6 são apresentados na seção de apêndice A50-A54.

Os complexos da série 1, o complexo precursor e os ligantes aciltioureias também foram investigados quanto às suas propriedades ópticas. Na maioria das moléculas orgânicas os níveis energéticos se distribuem como no diagrama apresentado na Figura 4.19 em que os orbitais ocupados de menor energia são os σ e os orbitais de maior energia são aqueles correspondentes aos orbitais desocupados, ou antiligantes (π^* e σ^*).¹⁵³ Os ligantes aciltioureias possuem, orbitais σ -doadores, π -doadores, π^* -aceptores de elétrons e ainda átomos com pares isolados de elétrons, podendo ocorrer transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$,^{168,169} destacadas no diagrama na cor vermelha.

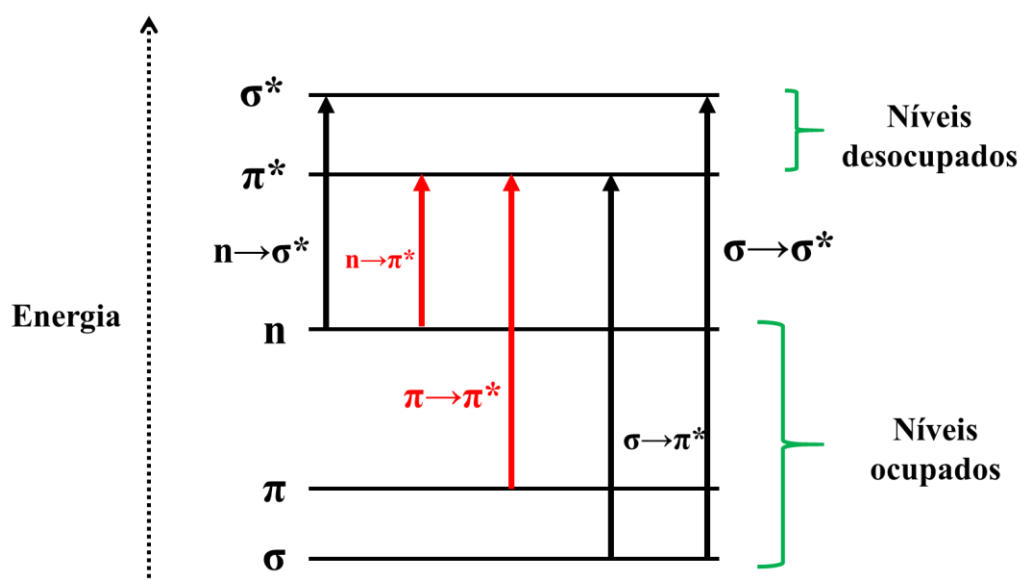


FIGURA 4.19: Esquema representativo dos níveis de energia e transições eletrônicas com destaque para as transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$. Adaptado de PAVIA et al.¹⁵³

Nos espectros de absorção dos ligantes **L1-L5** são observadas três bandas, a primeira atribuída às transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, do grupo benzoil ou tiofeno da aciltioureia, com máximos de absorção que variaram de 240-254 nm, a segunda atribuída às transições também do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, do esqueleto da aciltioureia com máximos que variaram de 276-282 nm e a terceira banda referente às transições $n \rightarrow \pi^*$, de baixa absortividade molar (transição proibida por simetria), com máximos que variam de 342-348 nm., como por exemplo, observado no espectro do ligante **L1** na Figura 4.20. O espectro de absorção do ligante **L6** (Figura 4.20) apresentou perfil diferente e apenas duas bandas foram observadas, uma banda intensa de característica alargada, atribuída a transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, do grupo furoil e do esqueleto da aciltioureia e a segunda banda de baixa intensidade, atribuída às transições $n \rightarrow \pi^*$. A identificação dessas bandas foi feita baseada em evidências como absortividade molar da banda e resultados descritos na literatura.^{91,170} Os espectros de absorção para os demais ligantes são apresentados na seção de apêndice na Figura A55.

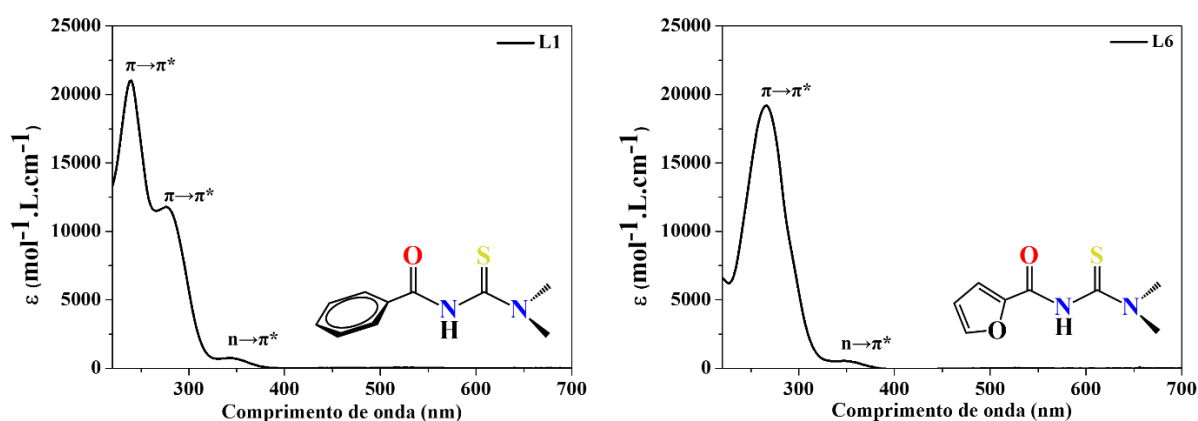


FIGURA 4.20: Espectro eletrônico dos ligantes **L1** e **L6**, em solução de acetonitrila e respectiva atribuição tentativa das bandas de absorção.

Os espectros dos ligantes **L1-L5** foram deconvoluídos em 4 componentes gaussianas. As componentes de mais alta energia foram todas atribuídas a transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, como ilustrado na Figura 4.21A para o

ligante **L1** e na Figura 4.21B para o ligante **L5**. A componente de mais baixa energia corresponde às transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$. O espectro do ligante **L6** (Figura 4.21C) foi deconvoluído em 6 componentes gaussianas, cinco delas atribuídas às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ e a componente de mais baixa energia, assim como nos ligantes de **L1-L5** foi atribuída as transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$. As várias transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ são originadas por excitação $\pi \rightarrow \pi^*$ dentro do grupo benzoil, tiofeno ou furoil e do sistema π do esqueleto da aciltioureia, como demonstrado por estudos anteriores para aciltioureias semelhantes às aqui estudadas.^{91,170,171} As várias componentes deconvoluídas também podem estar relacionadas aos diferentes estados excitados vibrônicos do ligante, uma vez que uma molécula pode passar simultaneamente por excitações eletrônica e vibracional como demonstrado na Figura 4.21D. Os espectros eletrônicos deconvoluídos dos ligantes **L2**, **L3** e **L4** são apresentados na seção de apêndice na Figura A56.

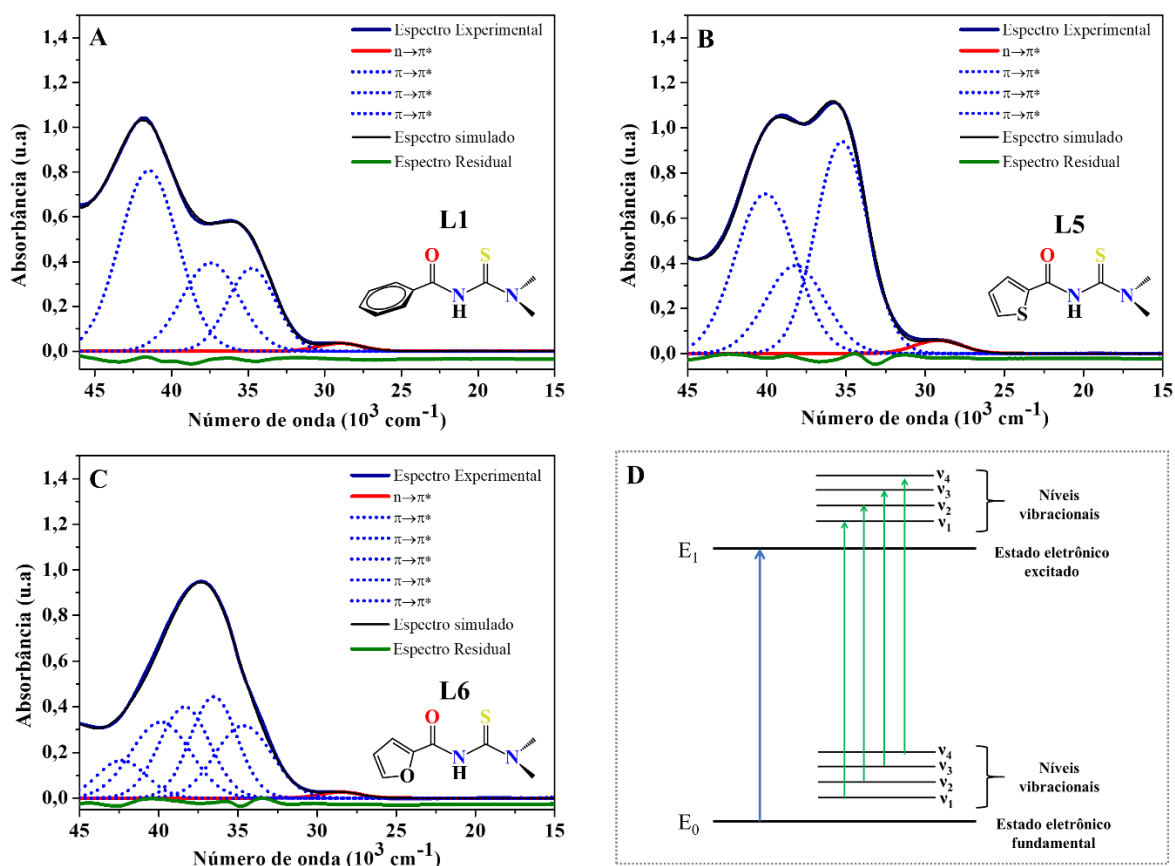


FIGURA 4.21: Deconvolução dos espectros dos ligantes A) L1, B) L5 e C) L6 e atribuição tentativa das bandas e D) esquema representativo de transições eletrônicas sobrepostas às transições vibracionais. Os espectros eletrônicos experimentais foram registrados em soluções dos ligantes, em acetonitrila.

O complexo precursor apresenta em seu espectro de absorção uma banda de característica alargada com máximo em 264 nm (37879 cm^{-1}) e $\epsilon = 26844 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ (Figura 4.22). A deconvolução da banda demonstrou ao invés de uma banda com $\lambda_{(\text{max})}$ em 264 nm, dois valores de máximos, um com $\lambda_{(\text{max})}$ em 260 nm e outro em 280 nm (Figura 4.22). Ambas as bandas foram atribuídas às transições de transferência de carga interna do ligante PPh_3 ((IL) $\pi\rightarrow\pi^*$, PPh_3). As atribuições foram feitas por analogia aquelas já bem descritas na literatura para complexos de Cu(I) com ligantes PPh_3 .^{159,172–174}

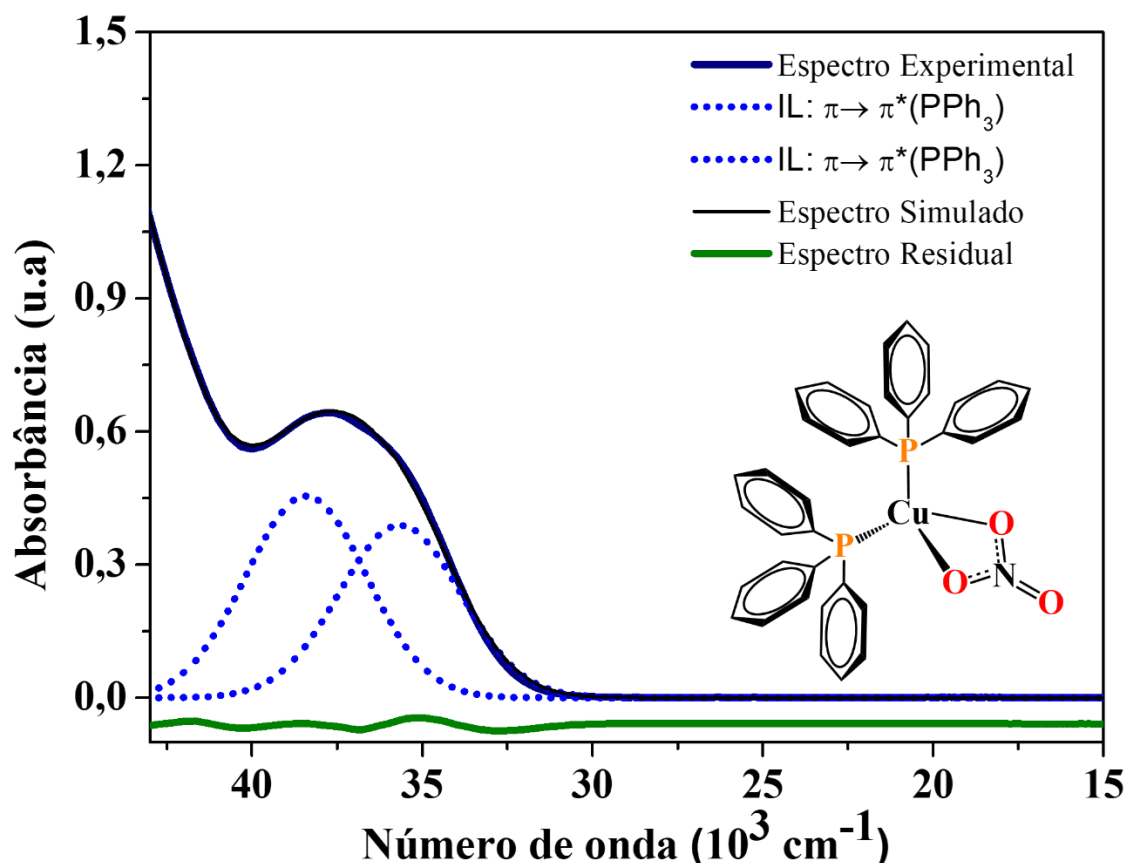


FIGURA 4.22: Deconvolução do espectro do complexo precursor e atribuição tentativa das bandas. O espectro eletrônico experimental foi registrado em solução do complexo precursor, em acetonitrila.

Os espectros dos complexos apresentam uma única banda, também de característica alargada na região entre 240-350 nm ($41667\text{-}28571\text{ cm}^{-1}$), com máximo em torno de 260 nm (38462 cm^{-1}). Essa banda representa o somatório da sobreposição das transições das componentes formadoras dos complexos, os ligantes aciltioureas e o complexo precursor ($[\text{Cu}(\text{NO}_3)(\text{PPh}_3)_2]$). Essa sobreposição de bandas é claramente demonstrada pela deconvolução dos espectros dos complexos, como ilustra a Figura 4.23 para os complexos **1** e **1a**. A deconvolução para os demais complexos é apresentada na seção de apêndice nas Figuras A57-A61. Além das bandas já discutidas anteriormente, uma banda do tipo MLCT ($\text{Cu} \rightarrow \pi^*_{\text{aciltiourea}}$) é sugerida para os complexos de Cu(I)-trifenilfosfina após coordenação da aciltiourea.^{135,175} Estudos teóricos mostram

que o ligante trifenilfosfina desempenha um papel importante (positivo) na estabilização do centro de Cu(I), porém não está envolvido nas transições de natureza MLCT.¹⁷⁶ Para o complexo **1**, a componente gaussiana com máximo em 298 nm, devido a sua característica alargada e região de energia (Figura 4.23A) foi atribuída a transição do tipo MLCT. Para o complexo **1a** a banda MLCT provavelmente ocorre junto à transição IL: $\pi \rightarrow \pi^*$ (Figura 4.23B), como observado para outros compostos de Cu(I)/PPh₃/aciltiourea.¹³⁵

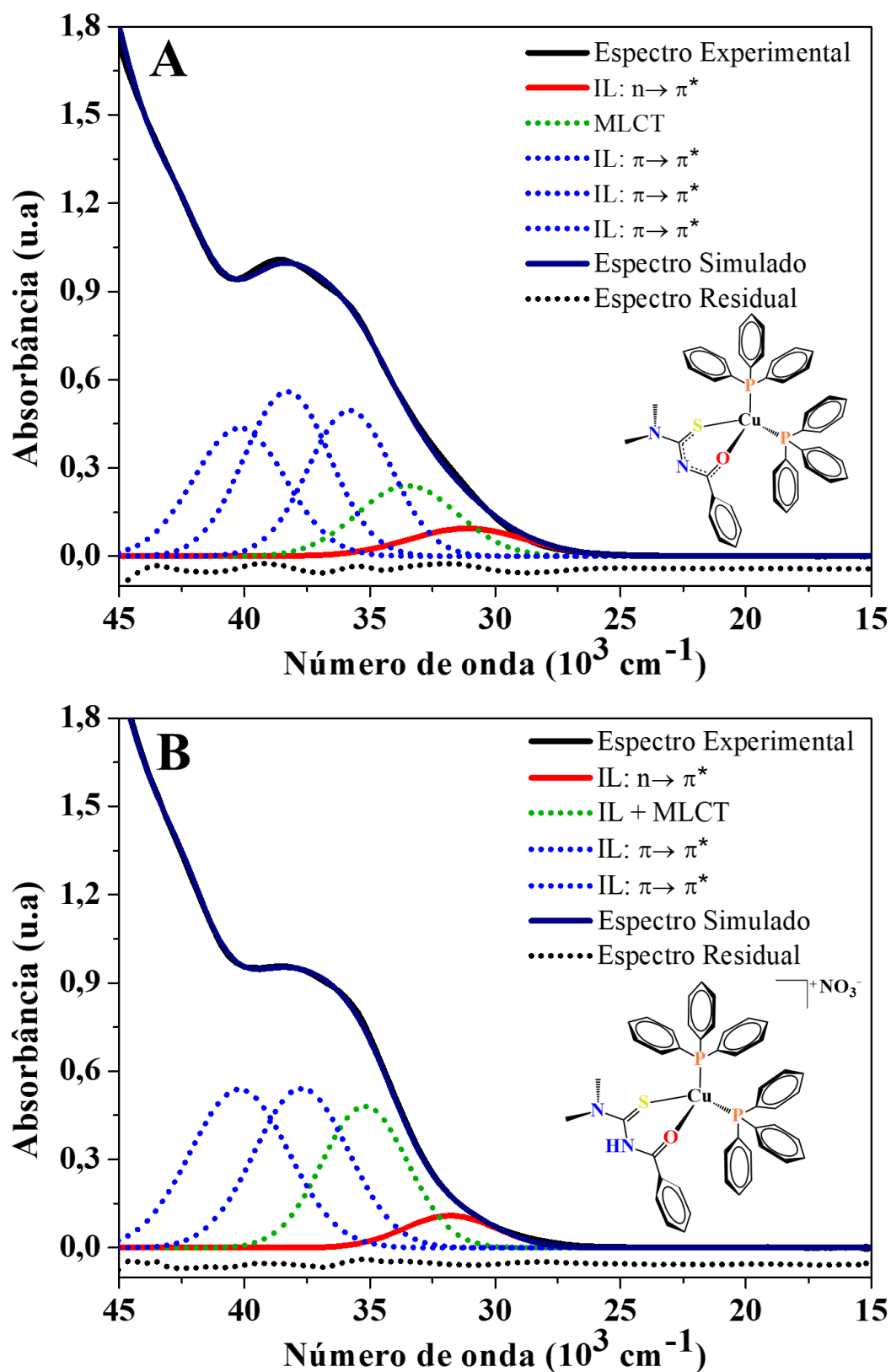


FIGURA 4.23: Deconvolução dos espectros dos complexos A) **1** e B) **1a** e atribuição tentativa das bandas. Os espectros eletrônicos experimentais foram registrados em soluções dos complexos, em acetonitrila.

A Tabela 4.8 mostra os comprimentos de onda máximos das bandas observadas bem como os respectivos valores de absortividade molar (ϵ) de todos os complexos e ligantes, além da atribuição tentativa das bandas. A absortividade molar foi calculada graficamente a partir da relação entre absorbância e concentração do composto, dada pela lei de Lambert-Beer ($A = \epsilon bC$), em que, b e C são o comprimento da célula (1 cm para a cubeta de quartzo usada) e a concentração do cromóforo respectivamente, ϵ é dado pelo coeficiente angular da curva A versus C . As curvas referentes aos complexos e ligantes são apresentadas na seção de apêndice nas Figuras A62-A64.

Tabela 4.8: Comprimento de onda de absorção máxima (λ , nm), absorvidade molar (ϵ , mol⁻¹L cm⁻¹) e atribuição tentativa das bandas dos ligantes e de seus respectivos complexos. Os espectros eletrônicos experimentais foram registrados em soluções dos compostos, em acetonitrila.

Ligantes	λ (nm)	ϵ (mol ⁻¹ Lcm ⁻¹)	Transição	Complexos	λ (nm)	ϵ (mol ⁻¹ Lcm ⁻¹)	Transição	Complexos	λ (nm)	ϵ (mol ⁻¹ Lcm ⁻¹)	Transição
L1	238	23686	$\pi \rightarrow \pi^*$	1	260	41105	ILCT MLCT	1a	260	40824	ILCT MLCT
	274	13213	$\pi \rightarrow \pi^*$								
	340	848	$n \rightarrow \pi^*$								
L2	240	20928	$\pi \rightarrow \pi^*$	2	260	43544	ILCT MLCT	2a	264	36390	ILCT MLCT
	280	14558	$\pi \rightarrow \pi^*$								
	348	698	$n \rightarrow \pi^*$								
L3	240	19449	$\pi \rightarrow \pi^*$	3	260	45784	ILCT MLCT	3a	262	37706	ILCT MLCT
	282	13235	$\pi \rightarrow \pi^*$								
	348	772	$n \rightarrow \pi^*$								
L4	240	21278	$\pi \rightarrow \pi^*$	4	260	46771	ILCT MLCT	4a	260	38680	ILCT MLCT
	282	14295	$\pi \rightarrow \pi^*$								
	348	692	$n \rightarrow \pi^*$								
L5	256	22172	$\pi \rightarrow \pi^*$	5	260	47356	ILCT MLCT	5a	262	47356	ILCT MLCT
	280	23451	$\pi \rightarrow \pi^*$								
	340	1225	$n \rightarrow \pi^*$								
L6	268	30005	$\pi \rightarrow \pi^*$	6	266	48254	ILCT MLCT	6a	266	50672	ILCT MLCT
	350	951	$n \rightarrow \pi^*$								

4.2 - Estabilidade e citotoxicidade *in vitro* dos complexos (série 1)

Para uma melhor interpretação dos resultados dos ensaios biológicos uma importante informação é a estabilidade dos complexos em solução, principalmente no meio de cultura celular. Assim, utilizando as técnicas de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e espectrofotometria UV-vis, a estabilidade dos complexos na mistura DMSO/ meio de cultura foi monitorada. Vale ressaltar que a mistura DMSO/ meio de cultura é utilizada porque os complexos não são solúveis em meio de cultura sendo necessário sua solubilização em DMSO e posterior diluição em meio de cultura celular, sendo que a concentração máxima em que não ocorre a precipitação dos complexos é de $25 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, quando a porcentagem de DMSO é de 0,5% (v/v).

A Figura 4.24 mostra os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ das soluções dos complexos **1**, **1a**, **4** e **4a**, nos quais foi observado um singlete próximo de -4 ppm referente aos complexos e já no início do monitoramento um outro sinal em aproximadamente 27 ppm. Este sinal aumenta em intensidade ao longo do tempo, conforme ilustrado nos espectros. O sinal em 27 ppm foi atribuído à trifenilfosfina oxidada por comparação com o espectro da PPh_3O obtido nas mesmas condições experimentais (Figura A65). Esses resultados mostram que os complexos não são estáveis na mistura DMSO/ meio de cultura ocorrendo a labilização do ligante trifenilfosfina (PPh_3) que em seguida é oxidada. Os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ das soluções dos demais complexos da série são apresentados na seção de apêndice nas Figuras A66 e A67 e apresentam o mesmo comportamento.

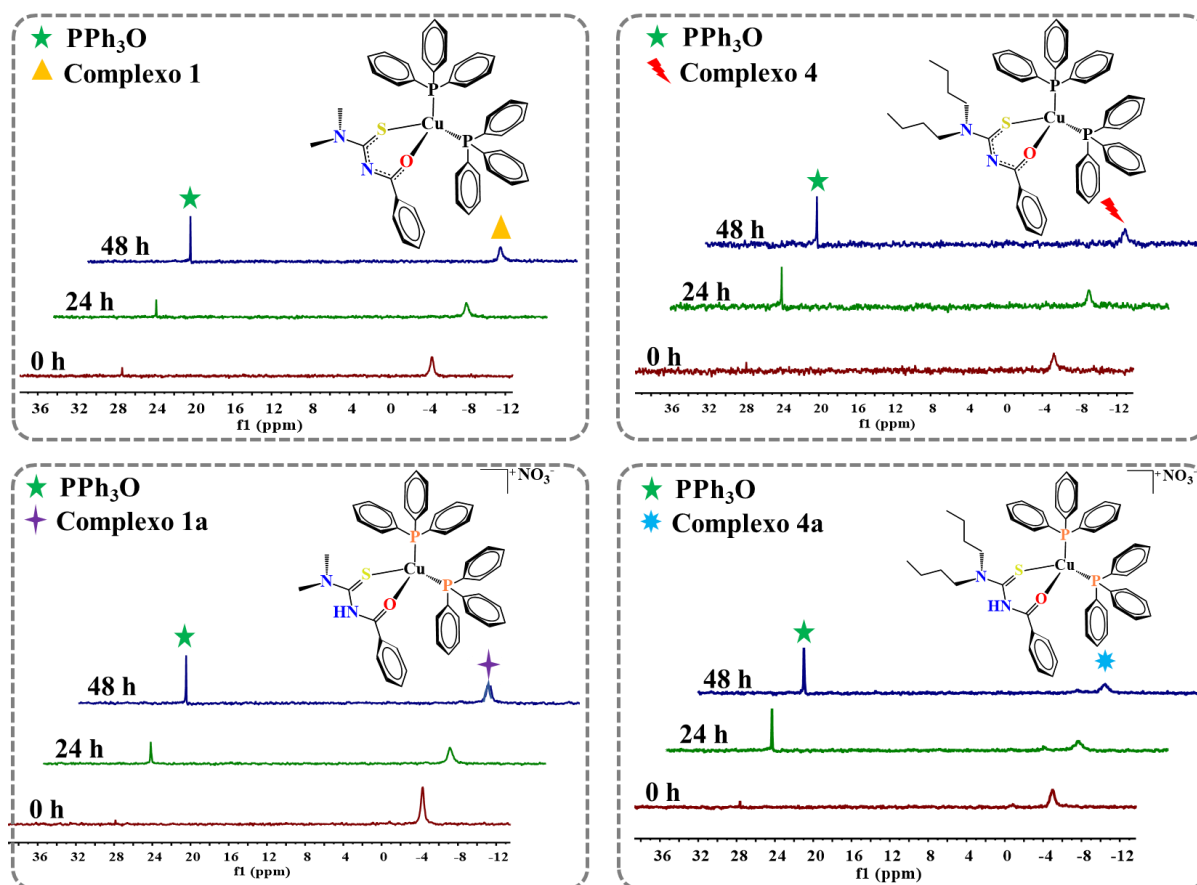


FIGURA 4.24 Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos **1**, **1a**, **4** e **4a** de soluções saturadas dos complexos, em uma mistura DMSO (90%)/ Meio de cultura (10%) em diferentes tempos de monitoramento.

Nos espectros das soluções dos complexos (10 μM) monitoradas por espectrofotometria UV-vis ao longo de 48 h, também foi observado que os complexos quando adicionados ao meio de cultura, sofrem decomposição indicada pela diminuição da intensidade da banda de absorção referente aos complexos (em torno de 300 nm), como mostrado na Figura 4.25 para os complexos **1**, **1a**, **4** e **4a**, demais complexos da série na seção de apêndice nas Figuras A68 e A69. As condições experimentais utilizadas neste experimento foram as mesmas utilizadas nos testes biológicos (0,5% DMSO e 99,5% meio de cultura), e, portanto, o comportamento observado pelos compostos através dessa técnica é mais fidedigno ao comportamento destes nos ensaios biológicos.

Conforme demonstrado pelos espectros de absorção na região do UV-vis, o tempo de decomposição difere para os complexos **1** e **4** e para os complexos **1a** e **4a** (Figura 4.25), mostrando que variação do grupo **R1** do metil ao butil modulou a velocidade com que os complexos sofrem decomposição. Por exemplo, no tempo de 24 h ainda é possível observarmos a banda referente às absorções dos complexos **4** e **4a** originalmente adicionados ao meio de cultura, diferente dos complexos **1** e **1a**, cuja bandas foram praticamente extintas nesse mesmo tempo de monitoramento. Vale ressaltarmos que abaixo de 290 nm não foi possível o monitoramento do espectro UV-vis dos complexos porque as absorções do meio de cultura causam interferências nessa região.

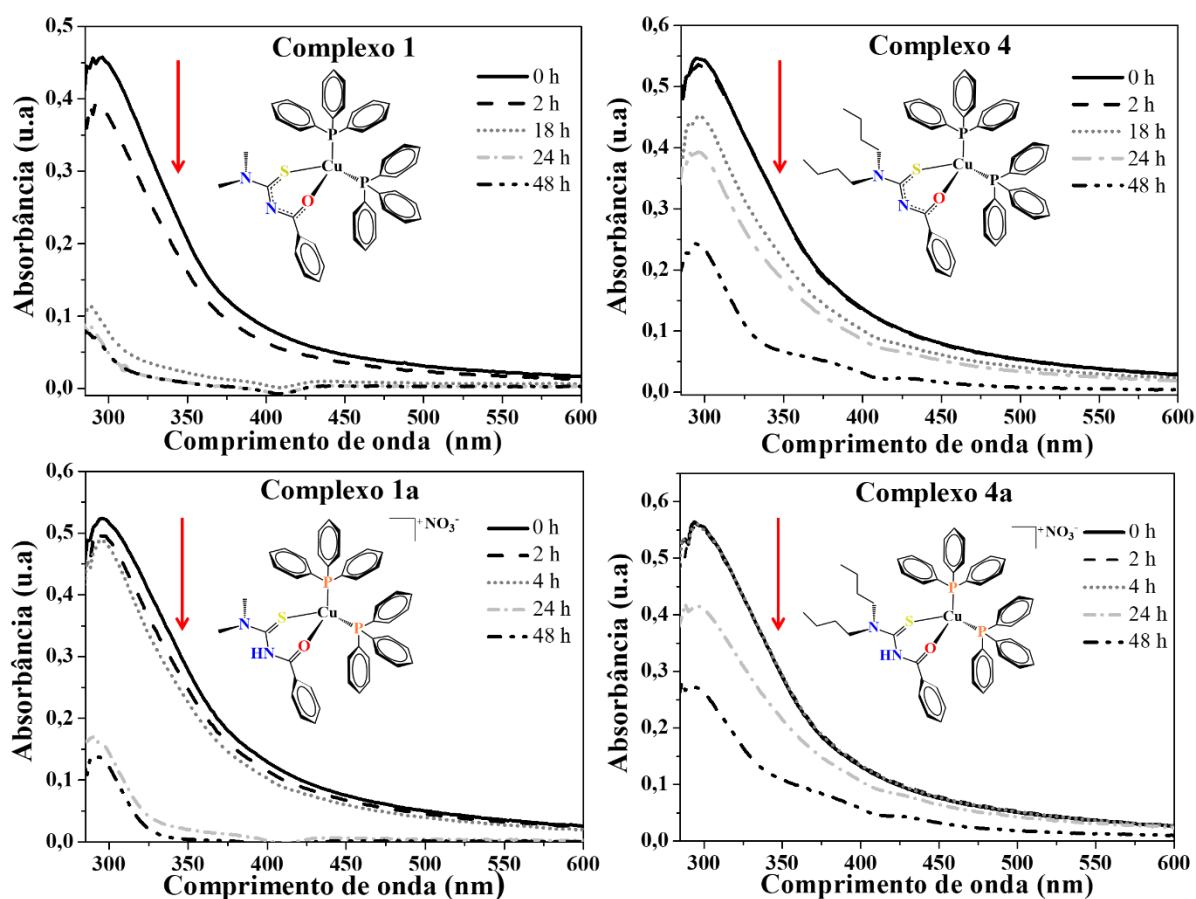


FIGURA 4.25: Espectros UV-vis de soluções 10 μ M dos complexos **1**, **1a**, **4** e **4a**, em uma mistura DMSO (0,5 %)/ meio de cultura (99,5 %) em diferentes tempos de monitoramento.

O efeito citotóxico dos complexos foi diretamente influenciado pela estabilidade de suas ligações, que se mostraram altamente responsivas ao meio de cultura, não permaneceram intactas nessas condições. A citotoxicidade *in vitro* dos complexos contra as linhagens celulares tumorais e não tumorais foi avaliada pelo método de MTT. Os resultados foram expressos como valores de IC₅₀ (concentração inibitória de 50% da viabilidade celular) sendo descritos na Tabela 4.9 e as curvas de concentração-resposta são mostradas nas Figuras A70 e A71, na seção de apêndice.

TABELA 4.9: Valores de IC₅₀ obtidos para os complexos **1 - 6**, **1a - 6a**, ligantes, precursor e cisplatina frente às linhagens celulares tumorais (MCF7, MDA-MB-231 e A549) e não tumorais (MCF-10A e MRC5) após 48 h de incubação com os compostos.

Compostos	IC ₅₀ (μM) 48 h				
	MCF7	MDA-MB-231	MCF-10A	A549	MRC-5
1	4 ± 1	4,7 ± 0,3	3,3 ± 0,3	6,1 ± 0,2	2,2 ± 0,1
2	5,5 ± 0,6	4,44 ± 0,01	3,4 ± 0,1	4,0 ± 0,3	2,4 ± 0,2
3	5,7 ± 0,7	5,1 ± 0,1	3,4 ± 0,2	4,2 ± 0,2	2,0 ± 0,2
4	>25	>25	3,7 ± 0,4	>25	1,45 ± 0,06
5	3,5 ± 0,3	4 ± 1	3,3 ± 0,1	4,6 ± 0,3	2,8 ± 0,2
6	7 ± 1	4,7 ± 0,2	4 ± 1	4,6 ± 0,4	2,4 ± 0,5
1a	7 ± 1	4,7 ± 0,6	3,1 ± 0,4	4,7 ± 0,2	3,5 ± 0,3
2a	7 ± 2	4,3 ± 0,3	3,3 ± 0,1	4,5 ± 0,2	1,96 ± 0,06
3a	6 ± 2	3,81 ± 0,06	3,8 ± 0,1	5,5 ± 0,7	2,0 ± 0,2
4a	>25	>25	3,0 ± 0,1	>25	3,4 ± 0,2
5a	5,6 ± 0,5	3,5 ± 0,2	2,3 ± 0,4	3,07 ± 0,03	3,6 ± 0,1
6a	9,2 ± 0,6	4,4 ± 0,1	3,9 ± 0,2	3,0 ± 0,1	3,2 ± 0,2
Cu(NO₃)₂·3H₂O	>25	>25	>25	>25	>25
Precursor	n.t	3,6 ± 0,2	n.t	n.t	2,4 ± 0,1
PPh₃	>25	>25	>25	>25	>25
Aciltioureias	>25	>25	>25	>25	>25
Cisplatina	9 ± 3	2,4 ± 0,2	23,9 ± 0,7	14 ± 1	29,1 ± 0,8

n.t: não testado

Os resultados mostraram que os complexos exibiram maior citotoxicidade contra as linhagens celulares do que os ligantes livres, conforme observado pelos valores mais baixos de IC₅₀. Os complexos **4** e **4a** mostraram-se pouco citotóxicos nas linhagens de células tumorais, não sendo possível calcular o valor de IC₅₀ até a concentração mais alta testada (25 μM). Os demais complexos apresentaram valores de IC₅₀ similares frente a todas as linhagens

celulares. Comparando com o precursor $[\text{CuNO}_3(\text{PPh}_3)_2]$, nas linhagens MDA-MB-231 e MRC-5, a coordenação dos ligantes aciltioureias não contribuiu para o aumento da capacidade de inibição da viabilidade celular. Esse fato provavelmente se deve a alta reatividade dos complexos, incluindo o complexo precursor que também não é estável quando exposto ao meio de cultura celular (Figura 4.26). É possível que quando em meio de cultura os complexos gerem as mesmas espécies. Porém ainda que a coordenação dos ligantes não aumente o efeito citotóxico e/ou citostáticos dos complexos, os ligantes podem contribuir para diferentes mecanismos de ação, uma vez que esses ligantes podem modular propriedades físico-químicas dos complexos, como exemplificado anteriormente pela diferença na velocidade com que os complexos **1** e **4** ou **1a** e **4a** sofrem decomposição.

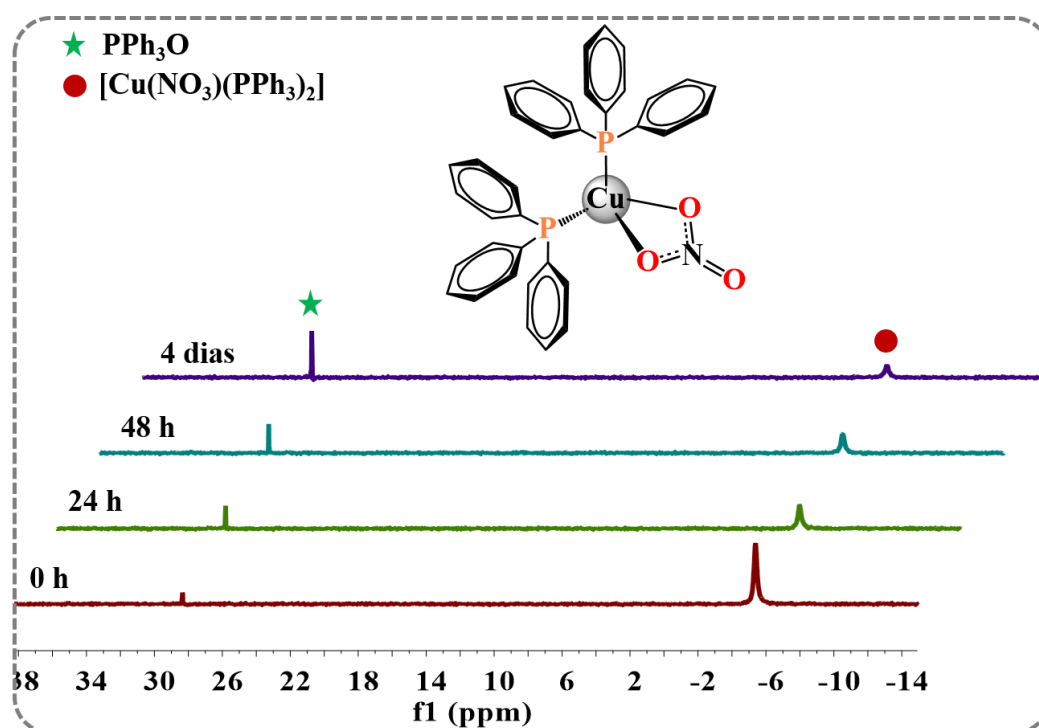


FIGURA 4.26: Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ de uma solução saturada do complexo precursor $[\text{Cu}(\text{NO}_3)(\text{PPh}_3)_2]$, em uma mistura DMSO (90%)/ Meio de cultura (10%), em diferentes tempos de monitoramento.

Para uma maior compreensão da atividade citotóxica dos complexos e sua relação com a estabilidade, a citotoxicidade nas células MDA-MB-231 e MCF-10A também foi determinada após a decomposição dos complexos **1**, **1a**, **4** e **4a**. Os complexos foram expostos ao meio de cultura, mantidos até o completo desaparecimento da banda de absorção (em torno de 300 nm) e só então adicionados às células. Após 48 h de incubação, as células tiveram sua viabilidade celular determinada pelo ensaio MTT. A Figura 4.27 mostra as curvas de concentração-resposta para os complexos **1**, **1a**, **4** e **4a**, nas quais podemos constatar que os compostos **1** e **1a** exibiram menor atividade citotóxica nas células MDA-MB-231 após exposição prévia ao meio de cultura ($IC_{50} = 9,3 \pm 0,5 \mu\text{M}$ (**1**) e $9,0 \pm 0,8 \mu\text{M}$ (**1a**)). Os complexos **4** e **4a** tiveram seu efeito citotóxico potencializado ($IC_{50} = 8,9 \pm 0,5 \mu\text{M}$ (**4**) e $7,8 \pm 0,4 \mu\text{M}$ (**4a**)). Como visto anteriormente, os complexos **4** e **4a** foram pouco citotóxicos nas células MDA-MB-231 quando adicionados às células imediatamente após o preparo das soluções ($IC_{50} > 25 \mu\text{M}$), mostrando que a substituição do grupo **R1** também modulou a forma como os complexos interagem com as células MDA-MB-231, sendo que a atividade citotóxica pode ser consequência da ação tanto da espécie original quanto dos produtos da decomposição dos complexos. Por outro lado, na linhagem MCF-10A os complexos não mostraram efeito citotóxico pronunciado após decomposição resultando em uma maior seletividade para as células MDA-MB-231 e, embora não seja possível atribuir a citotoxicidade dos complexos a uma determinada espécie, as células MCF-10A não foram sensíveis aos produtos da especiação desses complexos, conforme evidenciado pelos resultados de viabilidade celular ($IC_{50} > 25 \mu\text{M}$).

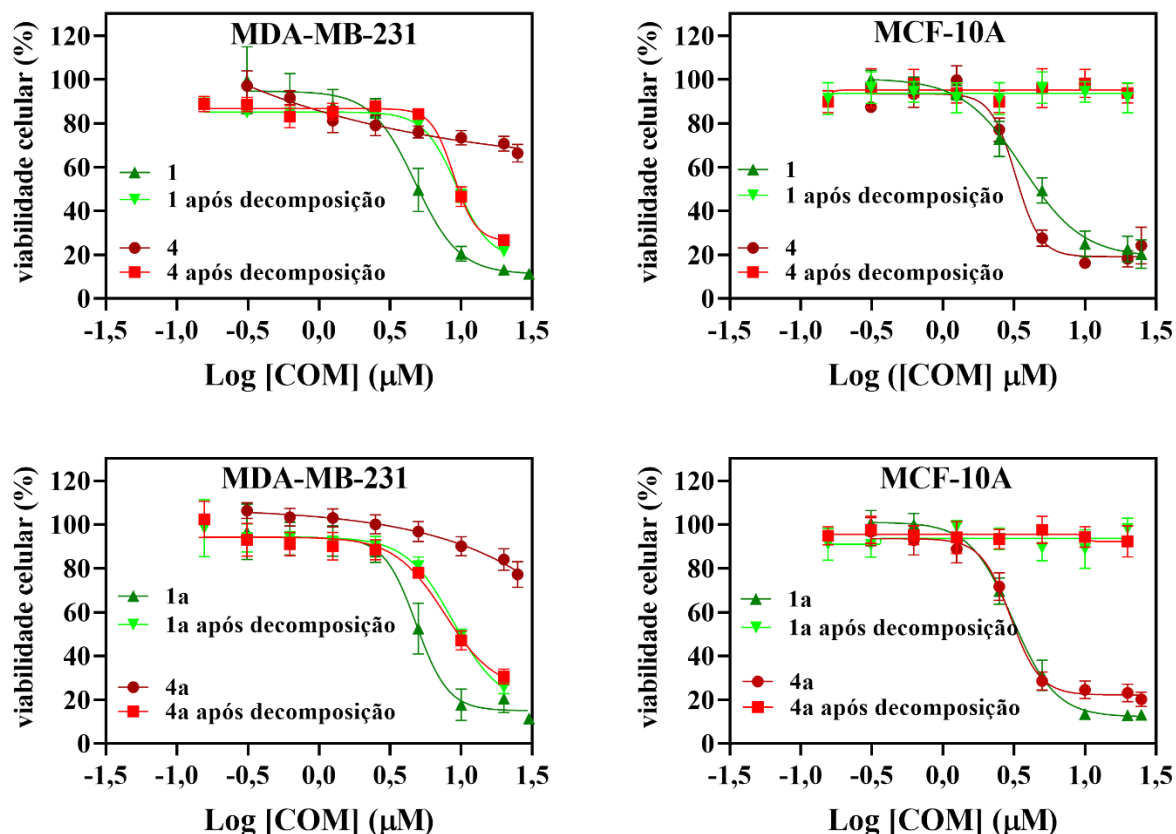


FIGURA 4.27: Curvas de concentração-resposta das células MDA-MB-231 e MCF-10A após tratamento com os complexos **1**, **1a**, **4** e **4a**, adicionados imediatamente após o preparo das soluções e adicionados somente após a decomposição dos complexos.

Os resultados de IC_{50} antes e após a total decomposição dos complexos indicaram que a atividade citotóxica depende dos complexos originais e das espécies formadas ao longo do processo de troca de ligantes, não sendo possível a atribuição direta das espécies ativas. Um estudo recente de NUNES et al.,¹⁷⁷ destacou a especiação de complexos de Cu-fenantrolina no meio de cultura e determinaram que, para baixas concentrações de Cu(II) total, a BSA é o principal ligante das moléculas de Cu(II) e fenantrolina no meio de cultura, sendo que Cu-BSA e Cu-BSA-fenantrolina foram as espécies mais relevantes. Os aminoácidos que são alguns dos principais componentes do meio de cultura, também são compostos que podem substituir os ligantes originais dos complexos da série **1**, como descrito na literatura para complexos do tipo

[Cu(fenantrolina)₂]Cl₂ em que os aminoácidos substituem os ligantes fenantrolina, se esses complexos forem colocados em contato com células tumorais de ascite de Ehrlich em tampão PBS.¹⁷⁸ Portanto, no meio de cultura, espécies de cobre com aminoácidos ou BSA podem se formar devido a especiação dos complexos **1-6** e **1a-6a**. Sugerimos ainda que essas espécies sejam de Cu(II), uma vez que as condições do meio de cultura são aeróbicas e embora íons de Cu(I) se liguem fortemente com a albumina sérica bovina (BSA), o meio de incubação típico usado não contém o suficiente de agentes redutores para manter quantidades significativas de espécies de Cu(I)-BSA.¹⁷⁷ A composição dos meios de cultura utilizados neste trabalho pode ser observada nas Tabelas A6 e A7, na seção de apêndice.

Outro aspecto que chama atenção é que o Cu(NO₃)₂·3H₂O, o sal precursor dos complexos não é ativo em nenhuma das células testadas (IC₅₀ > 25 µM) e considerando que em meio de cultura esse sal também forme espécies com aminoácidos e BSA, sugerimos que as espécies originalmente adicionadas ao meio de cultura, são muito importantes para a atividade citotóxica, uma vez que o processo de decomposição não é instantâneo, mas sim um processo que ocorre ao longo de horas.

De posse dos resultados de citotoxicidade, considerando que os complexos possuem efeitos citotóxicos semelhantes em todas as linhagens de células tumorais, exceto os complexos **4** e **4a** que foram pouco ativos, os complexos **1** e **1a** foram selecionados para estudos biológicos mais detalhados nas células MDA-MB-231 que foram selecionadas porque são células originadas do câncer de mama triplo-negativo, de difícil tratamento por não possuir receptores hormonais necessários para a terapia direcionada.¹⁷⁹ Assim, os complexos **1** e **1a** foram investigados quanto a sua capacidade de alterar a morfologia celular, inibir a formação de colônias, alterar o ciclo celular e induzir morte celular por apoptose. Para a realização dos ensaios de ciclo celular e apoptose, a citotoxicidade dos complexos **1** e **1a** também foi determinada no

tempo de 24 h e os valores de IC_{50} dos complexos nesse tempo foram de $IC_{50} = 8 \pm 1 \mu M$ (**1**) e $IC_{50} = 7,0 \pm 0,5 \mu M$ (**1a**)).

4.2.1 - Análise morfológica das células MDA-MB-231 e MCF-10A

A análise morfológica das células MDA-MB-231 tratadas com os complexos **1** e **1a**, em diferentes concentrações, que corresponderam aos respectivos valores de $\frac{1}{2} \times IC_{50}$, IC_{50} e $2 \times IC_{50}$ dos complexos ao longo de 48 h, mostrou para ambos os complexos comportamento similar, observando-se alterações como diminuição da densidade celular, aparecimento de células redondas e perda de adesão celular, o que é indicativo de morte celular.^{11-13,167,180} Essas alterações são intensificadas com o aumento da concentração e com o tempo de exposição das células aos complexos **1** e **1a** (Figura 4.28).

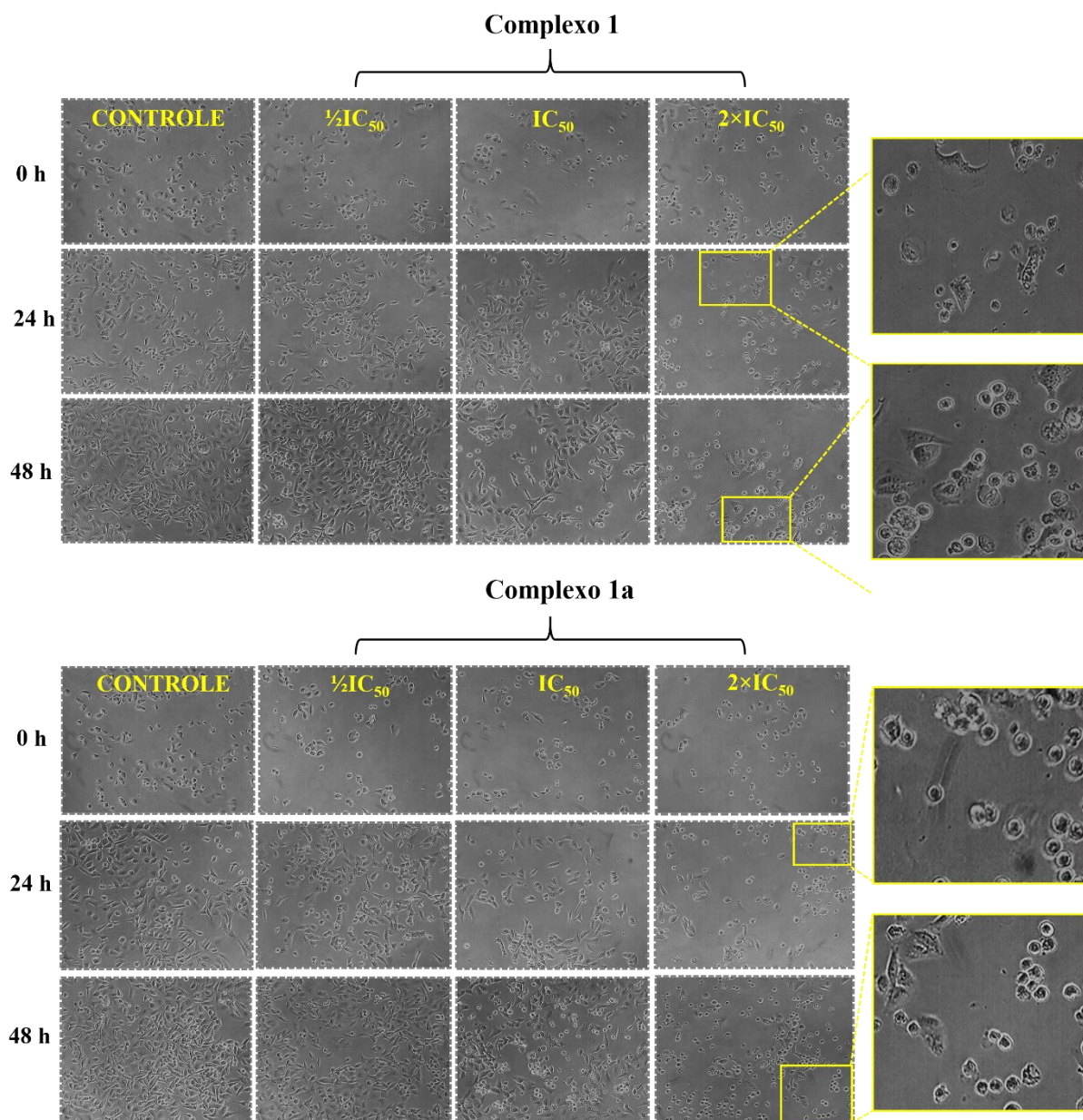


FIGURA 4.28: Micrografias das células MDA-MB-231 após tratamento com os complexos **1** e **1a** em diferentes concentrações e tempos de exposição.

Para comparação, a análise morfológica também foi realizada na linhagem MCF-10A e as alterações foram as mesmas observadas na linhagem MDA-MB-231, evidentes já a partir da concentração do IC₅₀, observando-se também diminuição da densidade celular e aparecimento de células arredondadas (Figura 4.29). Esses resultados são consistentes com os do ensaio

de MTT em que os complexos apresentaram valores similares de IC_{50} em ambas as linhagens.

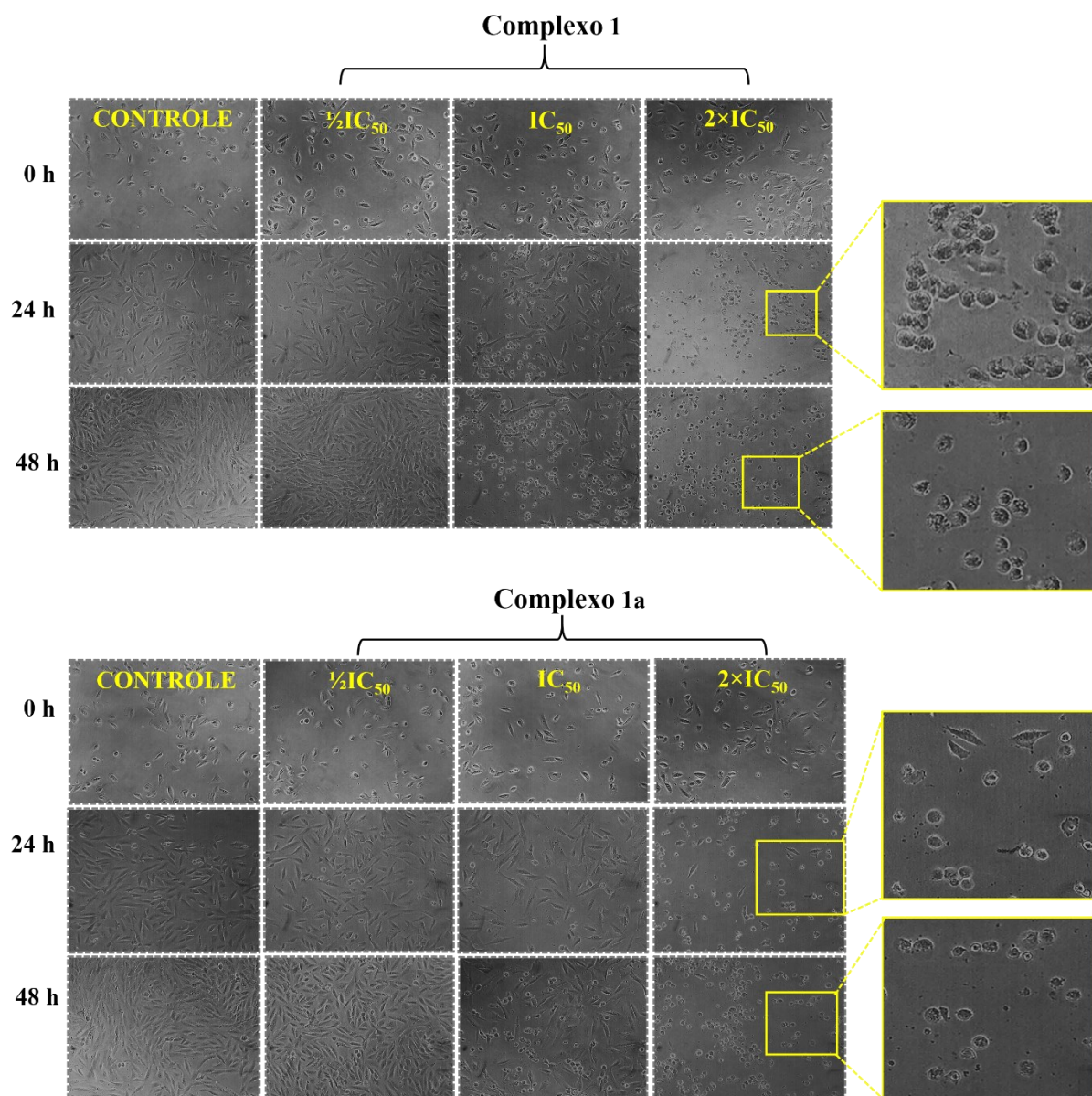


FIGURA 4.29: Micrografias das células MCF-10A após tratamento com os complexos 1 e 1a em diferentes concentrações e tempos de exposição

Foi também realizada uma análise morfológica das células MDA-MB-231 por coloração com faloidina. Os resultados mostraram que os complexos 1 e 1a alteraram significativamente o citoesqueleto das células MDA-MB-231, promovendo condensação dos filamentos de F-actina, mesmo na menor concentração, conforme demonstrado na Figura 4.30. As alterações que

os complexos **1** e **1a** promoveram nas células MDA-MB-231 foram semelhantes às alterações causadas pelo controle positivo (Camptotecina 20 μM). Essas alterações no citoesqueleto das células podem levar à sinalização que induz a apoptose, conforme descrito anteriormente para outros complexos metálicos.^{165,181,182}

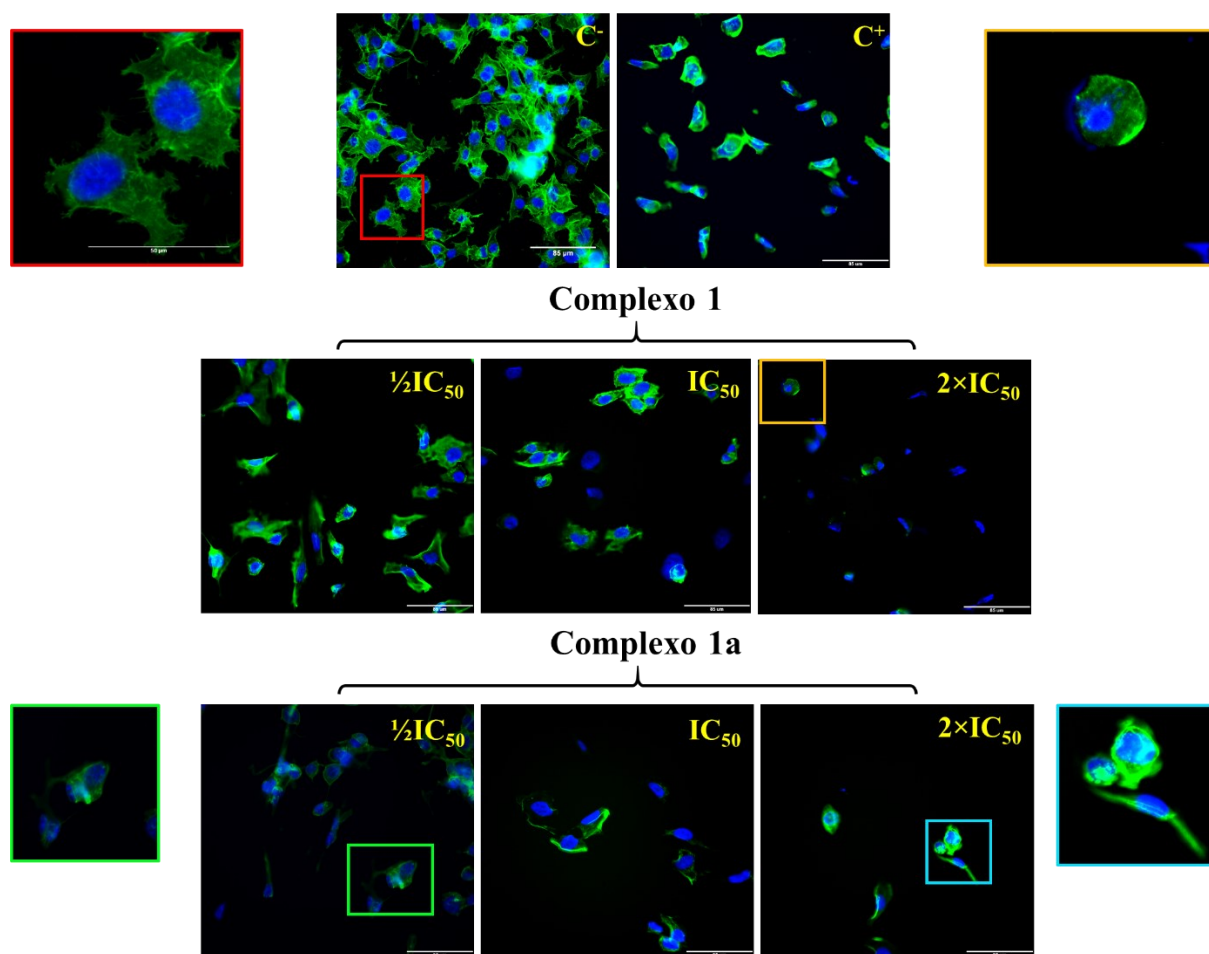


FIGURA 4.30: Micrografias de fluorescência das células MDA-MB-231 após tratamento com os complexos **1** e **1a** por 24 h, em diferentes concentrações e marcadas com Alexa Fluor 488 faloidina (verde) e DAPI (azul). As imagens foram obtidas com amplificação de 400×. Os experimentos foram realizados em triplicata. O controle positivo (C⁺) utilizado foi a Camptotecina 20 μM .

4.2.2 - Ensaio de formação de colônias

O ensaio de formação de colônias avaliou a eficácia citotóxica dos complexos **1** e **1a**, além da capacidade proliferativa das células MDA-MB-231 após o tratamento com os complexos. O ensaio de sobrevivência clonogênica mede a capacidade de uma única célula proliferar indefinidamente, formando uma colônia que é constituída por pelo menos 50 células.¹⁸³ Os resultados mostraram que o complexo **1** inibiu significativamente a área e a intensidade das colônias de uma maneira dependente da concentração após 48 h de tratamento (Figura 4.31), o que é consistente com os resultados do MTT, indicando efeitos citotóxicos e citostáticos, como já observado para outros compostos metálicos, contendo ligantes aciltioureas e PPh₃.¹⁶⁵

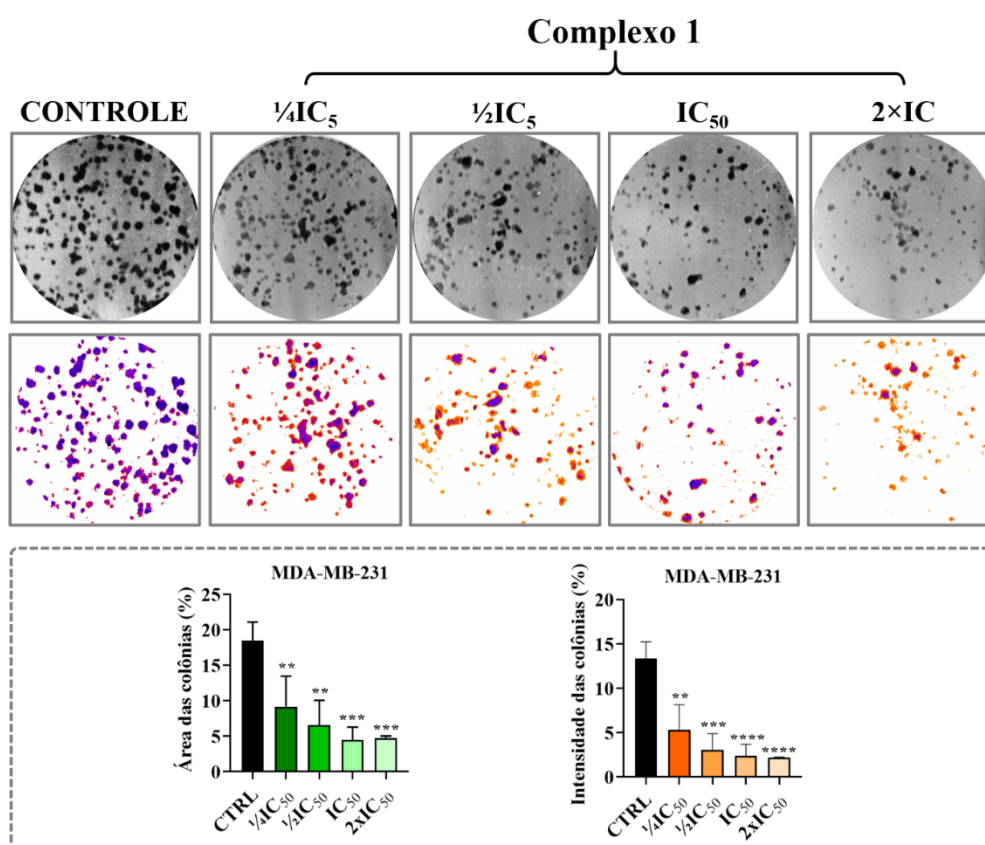


FIGURA 4.31: Sobrevivência clonogênica das células MDA-MB-231 tratadas com diferentes concentrações do complexo **1** por 48 h. A representação dos poços e limiars para o experimento é mostrada junto com as quantificações gráficas da área e intensidade das colônias. Os dados representam a média \pm DP dos ensaios em triplicata. Significância nos níveis * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ usando ANOVA e teste Dunnet's.

O complexo **1a** também inibiu significativamente a área e a intensidade das colônias, porém a inibição da área das colônias somente foi observada a partir da concentração do IC_{50} , enquanto que a diminuição da intensidade das colônias já foi perceptível a partir da concentração da metade do IC_{50} ($\frac{1}{2} \times IC_{50}$) (Figura 4.32). Esses resultados indicam que o efeito citostático do complexo **1a** é mais pronunciado que seu efeito citotóxico. Sendo assim, os complexos **1** e **1a**, são capazes de interferir no crescimento, desenvolvimento e na multiplicação celular e também atuam na morte das células tumorais.

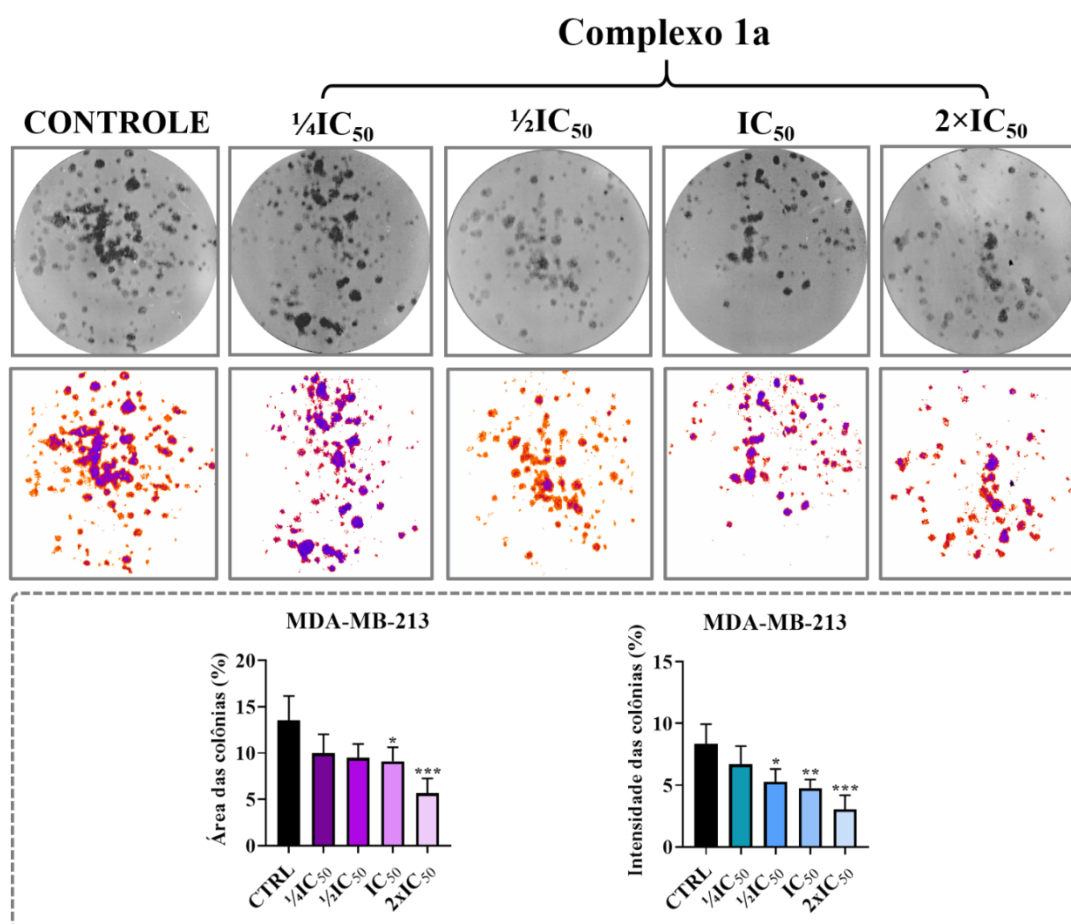


FIGURA 4.32: Sobrevivência clonogênica das células MDA-MB-213 tratadas com diferentes concentrações do complexo **1a** por 48 h. A representação dos poços e limiares para o experimento é mostrada junto com as quantificações gráficas da área e intensidade das colônias. Os dados representam a média \pm DP dos ensaios em triplicata. Significância nos níveis * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ usando ANOVA e teste Dunnet's.

4.2.3 - Análise de ciclo celular

O ciclo celular é composto por duas fases, a mitose (M) e a intérfase, nas quais ocorre uma série de eventos responsáveis pela replicação do DNA e divisão da célula. A intérfase é dividida nas fases G₁, S e G₂.¹⁸⁴ Na fase G₁ ocorre o crescimento celular e a síntese de proteínas necessárias para a próxima etapa, a fase S. Na fase S ocorre a síntese do DNA e na fase G₂ a célula se prepara para a divisão celular que ocorrerá na fase M. As células em fase G₁ podem, antes da replicação do DNA, entrar em um estado de quiescência chamado G₀, na qual não há atividade inerente a replicação¹⁸⁵ (Figura 4.33).



FIGURA 4.33: Representação esquemática da progressão das fases do ciclo celular. Adaptado de: <https://brasilecola.uol.com.br/biologia/mitose.htm> e https://pt.wikipedia.org/wiki/Ciclo_celular.

No ciclo celular existem pontos que garantem a checagem do processo de divisão celular, fazendo com que somente continuem no processo as células sem erros ou as que tiveram seu ciclo celular reparado, caso contrário as células iniciam o processo de morte por apoptose.¹⁸⁶ No caso das células tumorais, devido a mutações, o ciclo celular perde essa regulação e as células permanecem no ciclo se multiplicando de forma irrestrita.¹⁸⁷ Dessa forma, alterações do ciclo celular que sensibilizem as células pela ação de quimioterápicos constituem uma importante implicação clínica para o tratamento do câncer.¹⁸⁸

Neste trabalho investigou-se a capacidade dos complexos **1** e **1a** de alterarem a distribuição do ciclo celular das células tumorais MDA-MB-231. Na Figura 4.34 são apresentados os histogramas e os gráficos da porcentagem de distribuição do ciclo celular em diferentes concentrações dos complexos **1** e **1a**. Ao observar o perfil de distribuição do ciclo celular após tratamento com os complexos, vemos que os compostos alteraram de maneira similar o ciclo, causando principalmente o acúmulo das células com baixo conteúdo nucleico, ou seja, com o DNA fragmentado (Sub-G0), o que é indicativo de indução de morte celular.¹¹²

O acúmulo das células em Sub-G0 ocorreu quando as concentrações dos complexos **1** e **1a** foram aumentadas, somente sendo observadas a partir da concentração do IC₅₀. O complexo **1** aumentou ainda, significativamente, a porcentagem de células na fase G2/ M até a concentração do IC₅₀, em comparação com as células não tratadas, indicando que o complexo de Cu(I) pode influenciar uma série de eventos da divisão celular ao interromper a progressão do ciclo celular nessa fase. Em concentrações maiores que a do IC₅₀, o perfil do ciclo celular é alterado e um acúmulo das células na fase S foi observado. Diferente do complexo **1**, o complexo **1a** não alterou o ciclo celular em concentrações menores que a do IC₅₀, no entanto nas concentrações maiores também houve um acúmulo das células na fase S.

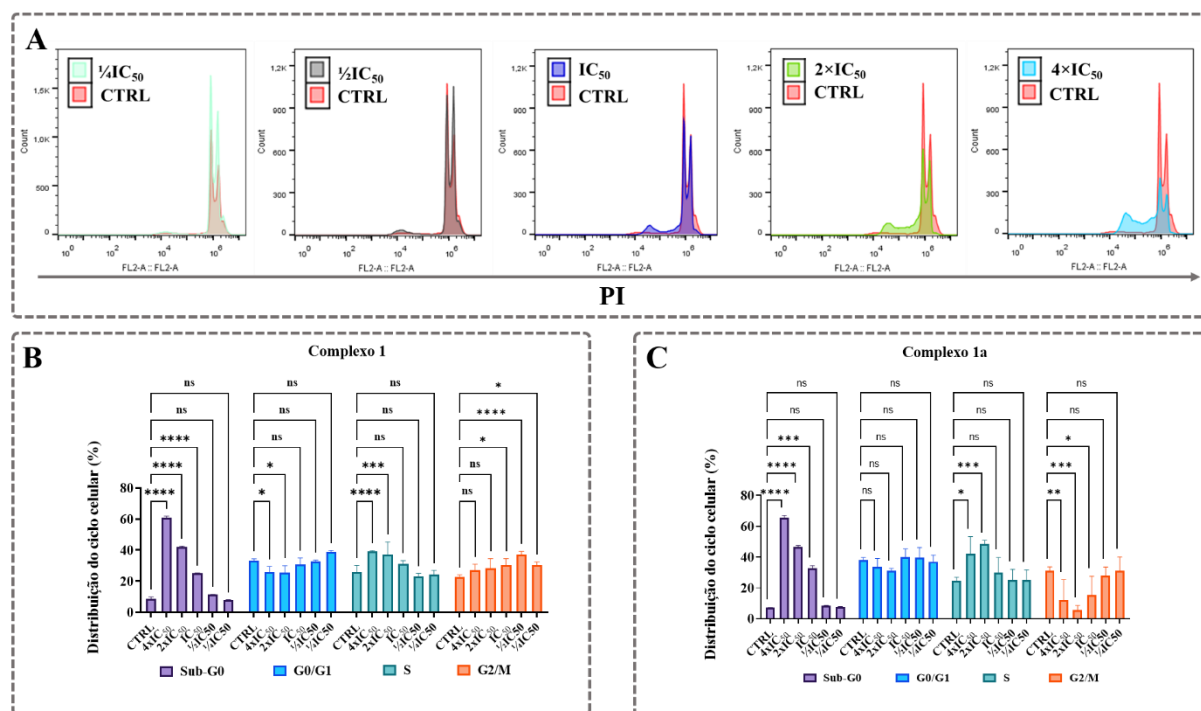


FIGURA 4.34: **A)** Histogramas de DNA do ensaio do ciclo celular nas células MDA-MB-231 incubadas com iodeto de propídio (PI) (detectado no canal FL2-A), após tratamento com o complexo **1**, em diferentes concentrações, por 24 h. **B)** gráfico da porcentagem de células em cada fase do ciclo celular após tratamento com o complexo **1**, em diferentes concentrações, por 24 h. **C)** gráfico da porcentagem de células em cada fase do ciclo celular após tratamento com o complexo **1a**, em diferentes concentrações, por 24 h. Os dados representam a média \pm DP dos ensaios em triplicata. Significância nos níveis de * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ usando ANOVA e teste Tukey's.

Uma possível explicação para as diferentes alterações do ciclo celular com a mudança das concentrações dos complexos pode ser a especiação que esses compostos sofrem em meio de cultura. Quando maiores quantidades dos complexos **1** e **1a** são adicionados ao meio de cultura, as concentrações relativas das espécies $[\text{Cu}(\text{L}1)(\text{PPh}_3)_2]$ ou $[\text{Cu}(\text{L}1)(\text{PPh}_3)_2]\text{NO}_3$ presentes são superiores, sendo que essas espécies podem responder pela mudança do perfil de distribuição do ciclo celular em maiores concentrações.

Os complexos **4** e **4a** também tiveram sua capacidade de alterar o ciclo celular das células MDA-MB-231 avaliada, e nenhuma alteração foi

observada em comparação com as células não tratadas (Figura 4.35), corroborando com os resultados obtidos pelo ensaio de MTT.

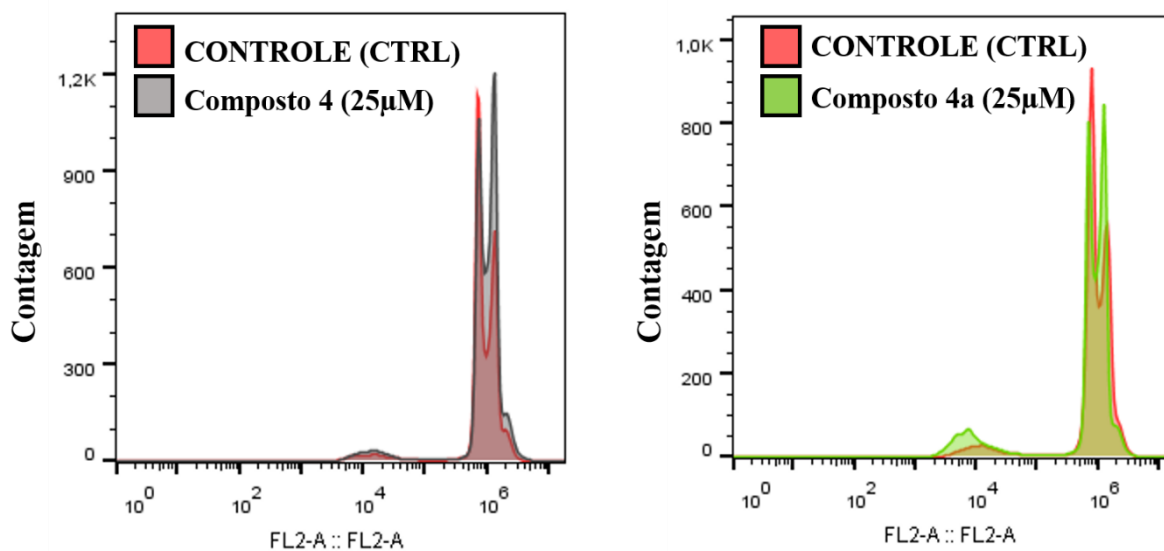


FIGURA 4.35: Histogramas de DNA do ensaio do ciclo celular nas células MDA-MB-231 incubadas com iodeto de propídio (PI) (detectado no canal FL2-A), após tratamento com os complexos **4** e **4a**, na concentração de 25µM, por 24 h.

4.2.4 - Avaliação da morte celular por apoptose

A fim de avaliar o tipo de morte celular causada pelos complexos de cobre, **1** e **1a** realizou-se o ensaio empregando o kit Anexina V-PE, que permite distinguir se os complexos matam as células por via apoptótica ou por via necrótica. Esses dois tipos de morte se diferenciam por meio das vias bioquímicas e da morfologia das células.¹⁸⁹ Na via apoptótica não é desencadeado processo inflamatório, havendo encolhimento celular e formação de corpos apoptóticos que são fagocitados por macrófagos.^{189,190} Na via necrótica ocorre perda da integridade da membrana, exposição ao conteúdo extracelular e aumento do volume celular, gerando uma resposta inflamatória do organismo^{190,191} (Figura 4.36).

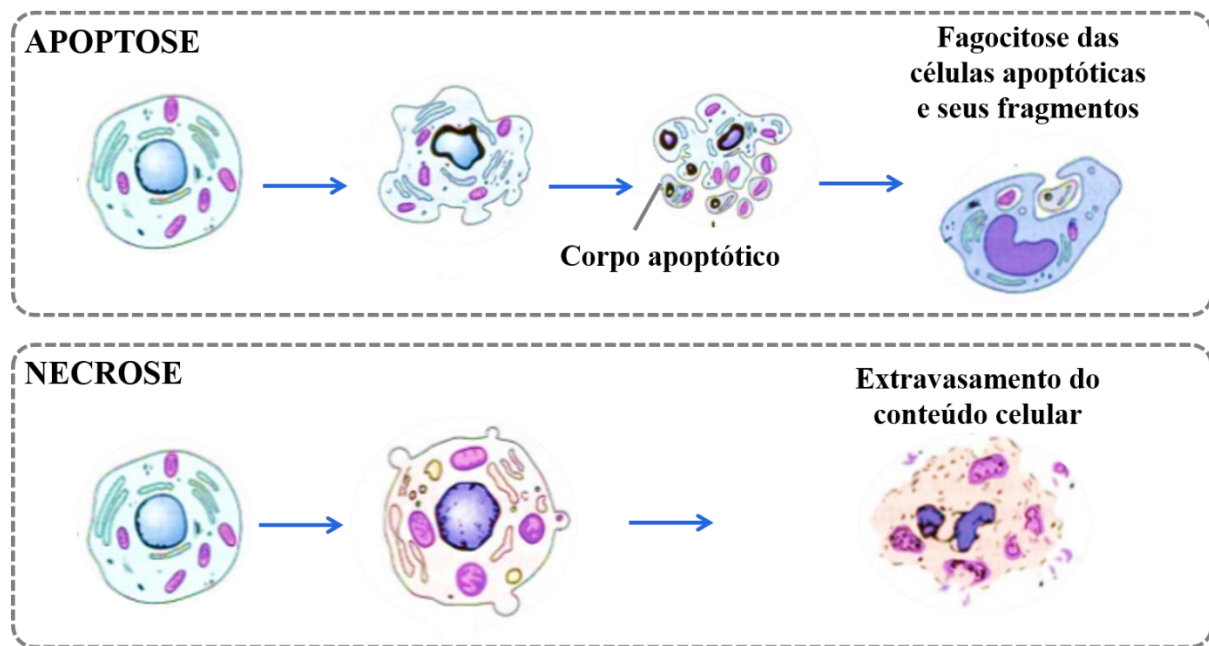


FIGURA 4.36: Representação esquemática da morfologia de células em apoptose e necrose. Adaptada de <https://pt.slideshare.net/tamiris18/2-lesao-reversivel-e-necrose>.

O processo apoptótico é iniciado pela externalização da fosfatidilserina que é um fosfolípido que é mantido na camada interna da membrana plasmática.¹⁹² A anexina V é uma proteína que possui a capacidade de se ligar a fosfatidilserina e, que quando conjugada ao fluoróforo PE (Ficoeritrina) gera um sinal fluorescente que permite a quantificação das células em apoptose por citometria de fluxo.¹⁹³ O 7-AAD (7-amino-actinomomicina D) é um composto que apresenta a capacidade de permear o núcleo celular, intercalando-se ao DNA emitindo fluorescência que também é detectada por citometria de fluxo e indica células em apoptose tardia ou necrose.¹⁹⁴ Os resultados obtidos são distribuídos em um histograma de dois parâmetros como pode ser visto na Figura 4.37.

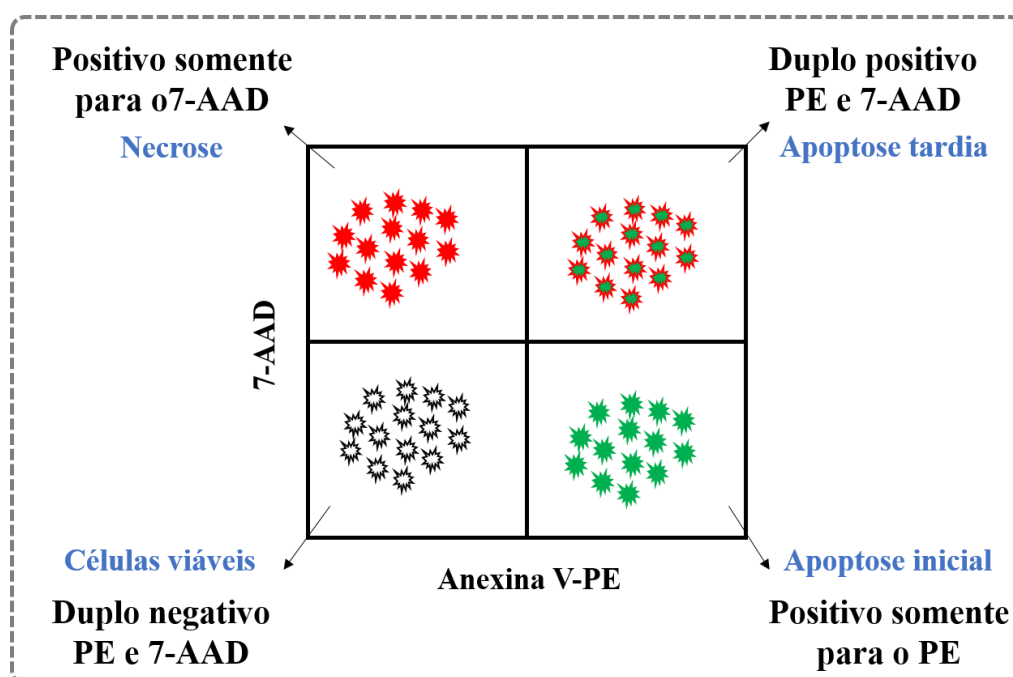


FIGURA 4.37: Representação esquemática de um histograma de dois parâmetros para a distribuição das células em apoptose e necrose.

Dessa forma o potencial dos complexos **1** e **1a** para induzir apoptose foi investigado por citometria de fluxo e os resultados são apresentados nas Figuras 4.38 e 4.39. Os complexos **1** e **1a** induziram apoptose precoce e tardia nas células MDA-MB-231 a partir da concentração do IC_{50} corroborando com os resultados obtidos pela análise do ciclo celular que indicou morte celular somente a partir dessa concentração. Esse mecanismo de morte é apontado como uma estratégia para o desenvolvimento de fármacos anticâncer.^{195,196}

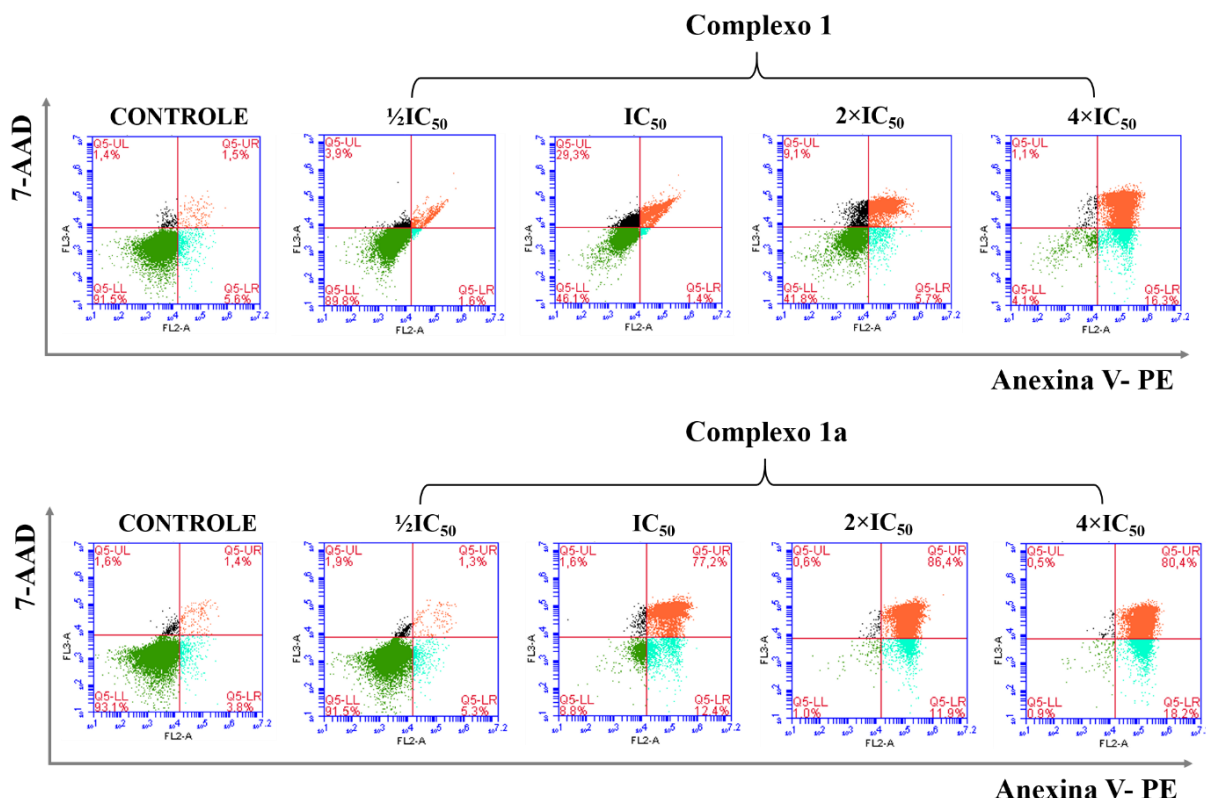


FIGURA 4.38: Histogramas de dois parâmetros que mostra a distribuição das células MDA-MB-231 após tratamento com diferentes concentrações dos complexos 1 e 1a, incubados por 24 h e, em seguida, marcadas com Anexina V-PE (detectado no canal FL2-A) e 7-AAD (detectado no canal FL3-A) para medir o efeito dos complexos na indução de apoptose nas células tumorais.

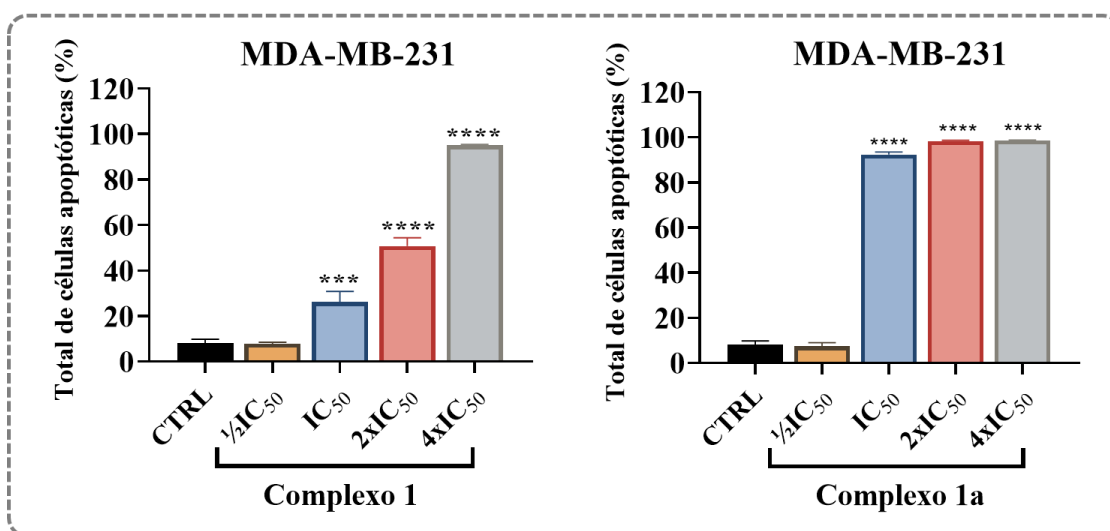


FIGURA 4.39: Gráficos da porcentagem de células apoptóticas após tratamento com os complexos 1 e 1a em diferentes concentrações. Os dados representam a média ± DP dos ensaios em triplicata. Significância nos níveis de * p < 0,05, ** p < 0,01, *** p < 0,001 e **** p < 0,0001 usando ANOVA e teste Tukey's.

A literatura descreve inúmeros compostos de Cu(I) que são capazes de induzir a morte por apoptose em diferentes linhagens celulares. Por exemplo, SEQUEIRA et al.,¹⁹⁷ mostraram que compostos do tipo [Cu(PP)(LL)][BF₄] em que PP = trifenilfosfina ou 1,2-bis(difenilfosfina)etano e LL= 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina e 6,3- (2-piridil) -5,6-difenil-1,2,4-triazina) desencadearam a morte das células do tipo HCT116 (linhagem de células de carcinoma de colón humano) pela indução de espécies reativas de oxigênio (ROS) e subsequente apoptose. PANDEY et al.,¹⁹⁸ também mostraram que complexos de Cu(I)-aciltioureas dissustituídas induziram apoptose em células 2008, C13 (linhagens de células de câncer cervical humano) e IGROV-1 (linhagem de células de câncer de ovário humano), bloqueando a progressão do ciclo celular dessas células na fase G0/ G1. Outros complexos de Cu(I)-fosfina induziram apoptose via mitocondrial em células A549 (linhagem de células de câncer de pulmão humano)¹⁹⁹ e complexos de Cu(I) aciltiourea também induziram células HeLa (linhagem de células de câncer de colo do útero humano) à apoptose.¹⁷⁵

A coloração com DAPI também corroborou com os resultados de citometria de fluxo, demonstrando que os complexos **1** e **1a**, promoveram condensação da cromatina nuclear nas células MDA-MB-231 (Figura 4.40), o que é uma característica apoptótica, indicando que esse foi o mecanismo de morte desencadeado nessas células,^{165,181} quando expostas a ação dos complexos **1** e **1a**.

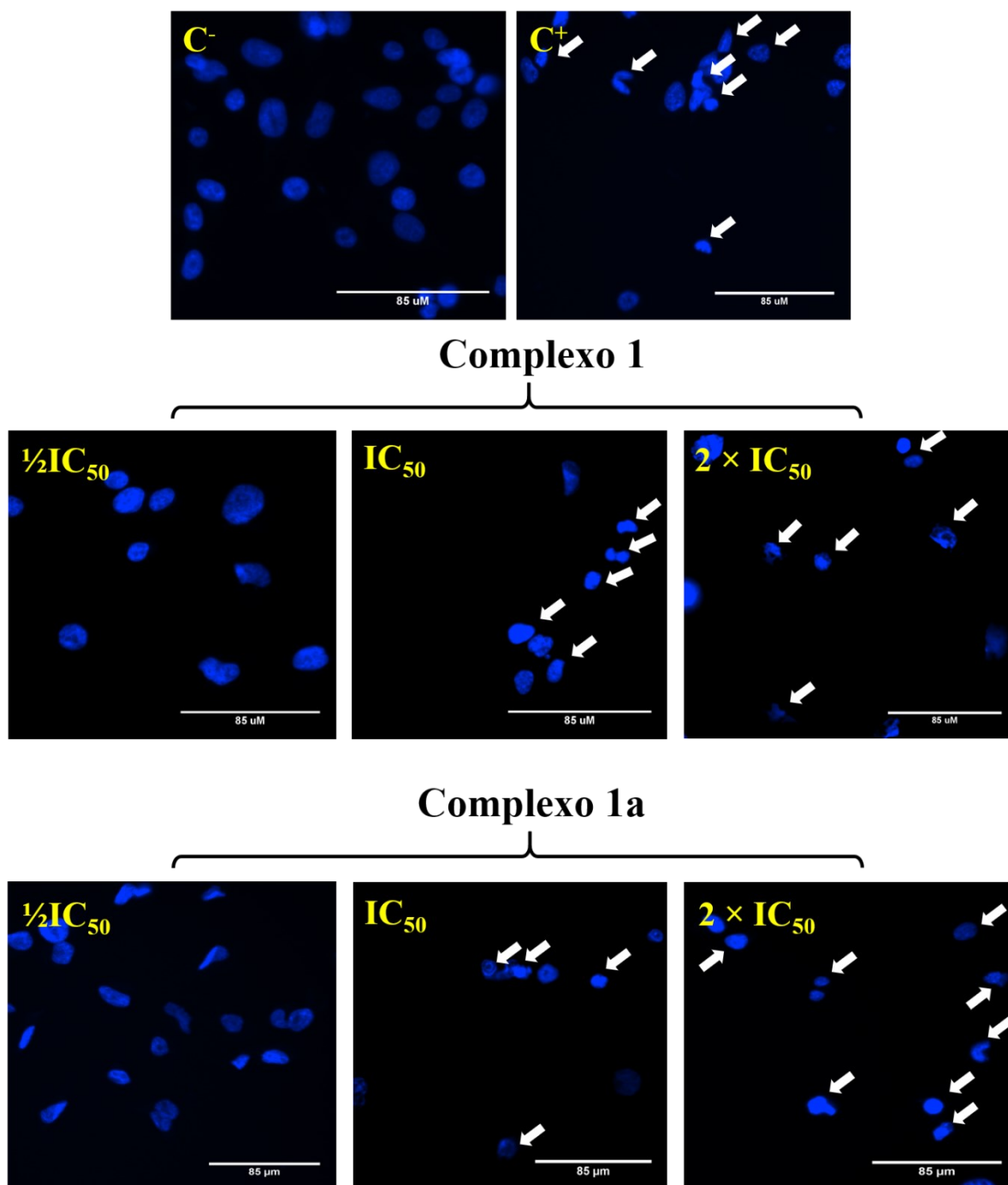


FIGURA 4.40: Dano nuclear causado pelos complexos **1** e **1a** nas células MDA-MB-231. As células foram tratadas com concentrações de $\frac{1}{2}IC_{50}$, IC_{50} e $2 \times IC_{50}$ do complexo **1** e **1a** por 24 h e marcadas com DAPI. As imagens foram obtidas com amplificação de $400 \times$. As setas brancas indicam observação crescente de condensação de cromatina e aparência de fragmentação nuclear em comparação com células não tratadas (C⁻). Controle positivo (C⁺): cisplatina 10 μ M.

4.3 - Síntese e Caracterização dos complexos (série 2)

A síntese dos complexos da série 2 (**1b** – **4b**) foi realizada pela reação do precursor $[\text{Cu}(\text{NO}_3)(\text{PPh}_3)_2]$ com os respectivos ligantes naftoquinonas (NQ), em metanol, na presença de trietilamina (Et_3N), uma base fraca que possibilitou a desprotonação dos ligantes. Assim, a coordenação das naftoquinonas ao centro metálico se deu de forma aniônica via átomos de oxigênio fenólico e carbonílico, o que promoveu a formação de complexos neutros (**1b** – **4b**), cuja rota sintética é mostrada na Figura 4.41.

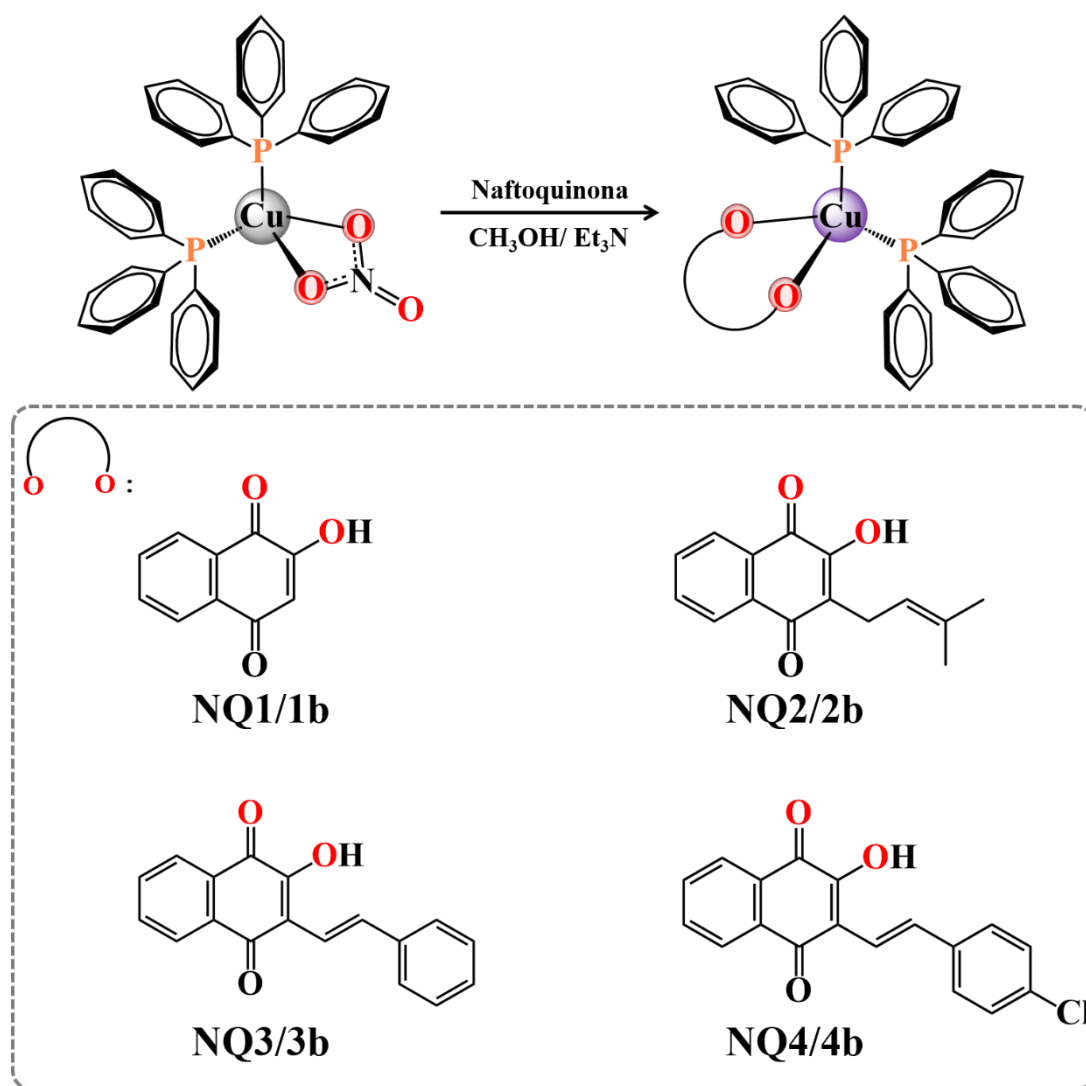


FIGURA 4.41: Rota de síntese para a obtenção dos complexos da série 2.

O modo de coordenação das naftoquinonas para os complexos sintetizados na série 2 foi determinado pela técnica de difração de raios X. As estruturas cristalinas dos complexos **1b** e **2b** foram obtidas. A naftoquinona ocupou dois dos sítios de coordenação do Cu(I) enquanto os ligantes trifenilfosfina ocuparam os outros dois sítios (Figura 4.42). Assim como constatado para os compostos da série 1, os complexos da série 2 apresentam geometria tetraédrica distorcida, como mostrado pelos parâmetros geométricos dos ângulos de ligação, cujos ângulos são maiores ou menores que os ângulos das estruturas tetraédricas regulares ($109,5^\circ$) (Tabela 4.10). Para complexos de Cu(I) a coordenação bidentada (O, O) e aniônica possui literatura limitada,²⁰⁰ tornando os complexos **1b-4b** importantes relatos desse modo de coordenação para complexos com o cobre no estado de oxidação +1. No entanto, para outros centros metálicos, incluindo compostos de Cu(II) a coordenação bidentada (O, O) é comumente descrita.^{112,113,201} As tabelas contendo os parâmetros cristalográficos e de refinamento das estruturas dos complexos são apresentadas na seção de apêndice na Tabela A8.

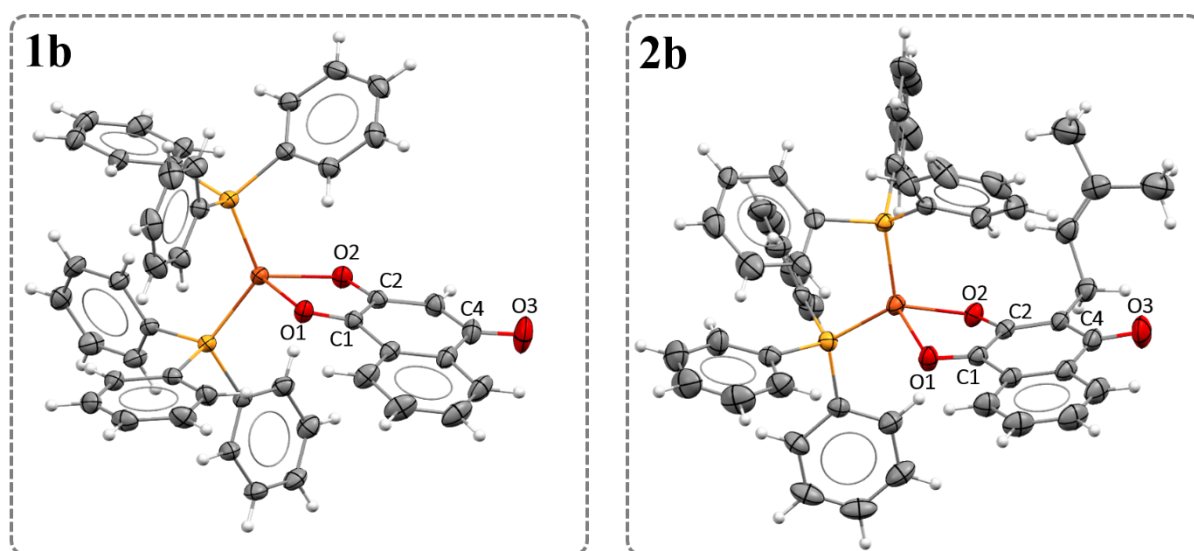


FIGURA 4.42: Estruturas cristalinas dos complexos **1b** e **2b**.

O padrão de fechamento dos ângulos de mordida das naftoquinonas O1-Cu-O2 (76,81(6)–77,14(4)°) foi o mesmo já reportado para o ligante α -cetocarboxilato, em um complexo de Cu(I) cujo ângulo de mordida foi de 79,18°. ²⁰⁰ O ângulo de ligação P1-Cu-P2 para o complexo **1b** é de 127,67(2)° (ângulo mais aberto) e um dos fatores que explica esse desvio do tetraedro regular são os efeitos estéricos impostos pelos dois ligantes trifenilfosfina que tendem a se afastarem por serem volumosos, como relatado anteriormente para os complexos da série 1. Para o complexo **2b** o ângulo é de 118,84(2)°, menor que o ângulo do complexo **1b**. Sugerimos que neste caso, a naftoquinona lapachol exerce efeito estérico maior que a lausona e a estrutura se reorganiza de forma a diminuir o ângulo P1-Cu-P2.

TABELA 4.10: Comprimentos de ligação (Å) selecionados das estruturas cristalinas dos complexos **1b** e **2b** e seus respectivos ligantes naftoquinonas e ângulos de ligação (°) selecionados para os complexos **1b** e **2b**.

Comprimento de ligação (Å)	Ligantes		Complexos	
	NQ1*	NQ2**	1b	2b
Cu1-P1	–	–	2,243(4)	2,208(5)
Cu1-P2	–	–	2,244(4)	2,259(5)
Cu1-O1	–	–	2,227(1)	2,228(2)
Cu1-O2	–	–	2,034(1)	2,015(1)
C1-O1	1,217	1,226	1,224(2)	1,227(2)
C2-O2	1,335	1,346	1,273(2)	1,278(2)
C4-O3	1,226	1,225	1,230(2)	1,237(3)
Ângulos de ligação (°)	Complexos			
	1b		2b	
P1-Cu1-P2	127,67(2)		118,84(2)	
P1-Cu1-O1	102,92(4)		114,28(4)	
O2-Cu1-P2	116,03(4)		109,92(5)	
O2-Cu1-P1	114,65(4)		123,69(5)	
O2-Cu1-O1	77,14(4)		76,81(6)	
O1-Cu1-P2	100,04(4)		103,99(5)	

*CCDC 1268837, **CDCC 1189905

Os comprimentos de ligação selecionados para complexos **1b** e **4b**, estão apresentados na Tabela 4.10. A faixa das distâncias de ligação referentes às ligações Cu–O (2,015(1)-2,228(2) Å) é similar a valores já reportados na literatura, mesmo para compostos de Cu (II) com a coordenação dos ligantes na forma bidentada (O, O).^{200,202,203} AGUIRRECHU-COMERÓN et al.,²⁰¹ em estudos com complexos de Cu(II) com o ligante 2-hidroxi-3-((5-metilfuran-2-il)metil)-1,4-naftoquinona mostra que os comprimentos de ligação Cu–O variaram entre 1,899(2)–2,414(2), valores semelhantes aos apresentados para os complexos **1b** e **2b**. Os comprimentos de ligação Cu–P são semelhantes aos apresentados para os complexos da série **1** e são comprimentos típicos para compostos de Cu (I)-trifenilfosfina.^{141,161,167,204}

Os complexos **1b** e **2b** exibiram as mesmas tendências observadas para os comprimentos de ligação dos ligantes naftoquinonas coordenados de forma bidentada em inúmeros complexos metálicos^{112,113,201} em que a maior alteração no comprimento de ligação corresponde a distância da ligação C2-O2, quando comparado aos ligantes livres. A ligação C2-O2 diminui em 0,06 Å para o complexo **1b** e 0,07 Å para o complexo **2b** (Tabela 4.10). Segundo trabalhos anteriores a diminuição da ligação CO ocorre porque o orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO) desta ligação é predominantemente de caráter antiligante e os elétrons que participam da ligação σ entre o metal e o ligante pertencem a esse orbital, e conseqüentemente o compartilhamento dos mesmos, resulta no aumento da ordem de ligação C2-O2, tornando-a mais forte e mais curta.²⁰⁵

No caso das ligações C1=O1 e C4=O3 as alterações são as mínimas e apesar do O1 participar da coordenação, não há efeito de ressonância entre as ligações C1=O1 e C2-O2 devido a existência da dupla ligação adjacente à ligação C2-O2. Assim o sistema ressonante surge entre C2–O2/C3/C4=O3 e por isso após a coordenação a ligação C4=O3 sofre uma pequena variação.

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho nos forneceu importantes informações sobre a coordenação do ligante naftoquinona ao Cu(I). Na região de alta frequência os ligantes naftoquinonas livres apresentam o estiramento $\nu(\text{O-H})$ em torno de 3200 cm^{-1} , enquanto que nos complexos **1b-4b** esse modo vibracional não foi observado, indicando a desprotonação do grupo OH e, portanto, a natureza aniônica dos ligantes quando ocorre a coordenação dos mesmos ao centro metálico,²⁰⁶ como ilustrado na Figura 4.43 para todos os complexos.

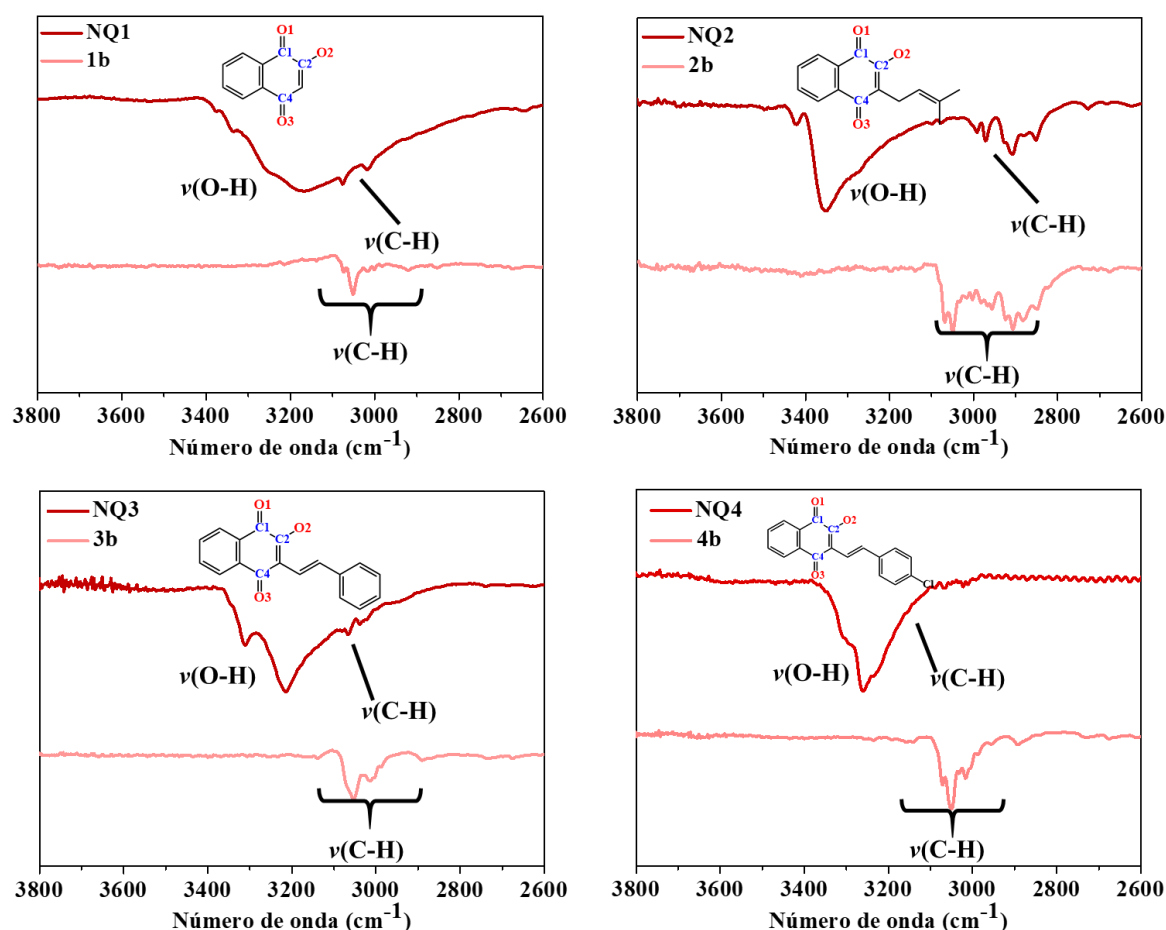


FIGURA 4.43: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais dos complexos **1b-4b** e de seus respectivos ligantes naftoquinonas, na região de $3800\text{-}2600\text{ cm}^{-1}$.

Os ligantes naftoquinonas também apresentam modos vibracionais intensos na região entre $1640\text{ e }1680\text{ cm}^{-1}$ referentes aos estiramentos $\nu(\text{C1=O1})$

e $\nu(\text{C4}=\text{O3})$. Após a complexação foi observado um deslocamento destas bandas para regiões de menores frequências, devido a diminuição da densidade eletrônica. No caso da carbonila $\text{C1}=\text{O1}$, o deslocamento foi mais pronunciado devido à ligação ao cobre. A alteração da frequência dessa ligação pode ser visualizada na Figura 4.44, na qual é mostrado o espectro para o complexo **1b**. Os espectros dos demais complexos encontram-se na seção de apêndice nas Figuras A72-A74. Esses resultados corroboraram com os resultados de difração de raios X, em que os comprimentos dessas ligações sofrem um pequeno alongamento após a coordenação.

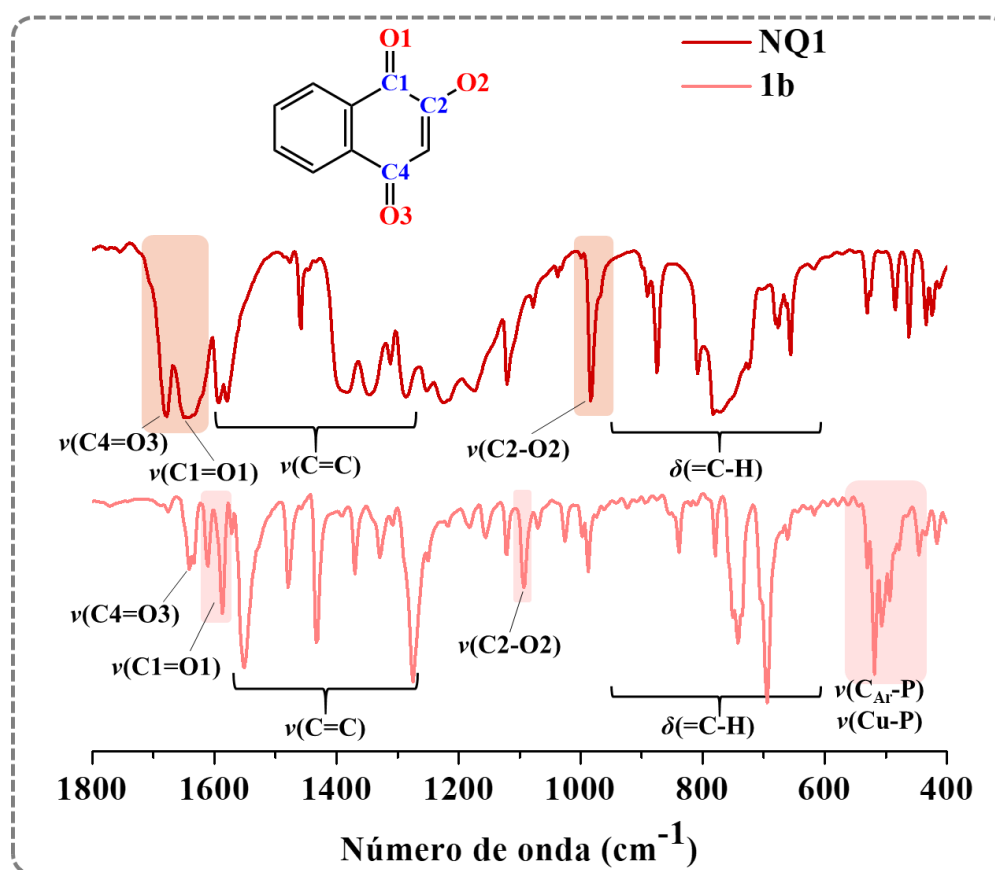


FIGURA 4.44: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais do complexo **1b** e de seu respectivo ligante naftoquinona, na região de 1800-400 cm^{-1} .

Outra informação importante é com relação a ligação $\text{C2}-\text{O2}$, sendo que os espectros dos complexos mostraram deslocamento do modo de vibração

referente ao $\nu(\text{C2-O2})$ para região de maiores frequências devido ao compartilhamento de elétrons do orbital antiligante, que torna a ligação C2-O2 mais forte, corroborando com o observado na difração de raios X. Os deslocamentos para os modos vibracionais referente às ligações C1=O1, C2-O2 e C4=O3 são apresentados na Tabela 4.11, em que é feita a atribuição tentativa dos estiramentos dos ligantes livres e após coordenação ao centro metálico.

TABELA 4.11: Atribuição tentativa das frequências vibracionais (cm^{-1}) dos estiramentos $\nu(\text{C1=O1})$, $\nu(\text{C2-O2})$ e $\nu(\text{C4=O3})$ para os ligantes naftoquinonas livres e após coordenados e os respectivos deslocamentos (Δ) após coordenação.

Ligantes livres (Ligantes Coordenados)						
	$\nu(\text{C1=O1}) \text{ cm}^{-1}$	$\Delta 1 (\text{cm}^{-1})$	$\nu(\text{C2-O2}) \text{ cm}^{-1}$	$\Delta 2 (\text{cm}^{-1})$	$\nu(\text{C4=O3}) \text{ cm}^{-1}$	$\Delta 3 (\text{cm}^{-1})$
1b	1651(1587)	64	984(1094)	110	1680(1641)	39
2b	1639(1583)	56	1047(1095)	48	1663(1628)	35
3b	1641(1584)	56	1057(1094)	37	1663(1628)	35
4b	1645(1582)	63	1051(1093)	42	1665(1626)	39

Como para os complexos da série 1, os ligantes e complexos apresentaram ainda as bandas referentes ao $\nu(\text{C-H})$ em torno de 2950 cm^{-1} .¹⁵³ Na região entre $1600\text{--}1450 \text{ cm}^{-1}$ ocorrem os estiramentos das ligações C=C.¹⁵³ Entre $900\text{--}690 \text{ cm}^{-1}$ observa-se a deformação angular fora do plano da ligação =C-H.¹⁵³ Os compostos **1b-4b**, apresentam na região entre $540\text{--}430 \text{ cm}^{-1}$ os modos vibracionais referentes às ligações P-C_{Aromático} típicos para o ligante trifenilfosfina bem como às ligações Cu-P.¹⁵⁸⁻¹⁶⁰ Todos esses modos vibracionais podem ser visualizados nas Figuras 4.44 e A72-A74.

Os complexos também foram analisados por espectroscopia de RMN 1D e 2D, em diferentes núcleos como fósforo (^{31}P), carbono (^{13}C) e hidrogênio (^1H). Para os complexos **1b** e **2b** os espectros foram registrados em

CDCl_3 , enquanto que para os complexos **3b** e **4b** o solvente utilizado foi a acetona- d_6 . Os complexos da série 2 tiveram o mesmo comportamento que os complexos da série 1, exibindo nos seus espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ somente um sinal, em torno de -1,0 ppm. Esse único sinal indica a equivalência dos átomos de fósforo do ligante trifenilfosfina, por estarem ligados ao centro metálico em um arranjo tetraédrico,^{140,207} confirmado pela difração de raios X. O sinal de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ também é alargado, como para os complexos da série 1, sendo que essa característica é atribuída a fatores como distorção da geometria tetraédrica e interação quadrupolar com os 2 isótopos de cobre (^{63}Cu e ^{65}Cu , ambos com $I=3/2$).^{162,163} Os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos **1b-4b** são apresentados na Figura 4.45. Com relação ao deslocamento do sinal de fósforo quando comparamos a trifenilfosfina antes e após a coordenação, o comportamento é o mesmo apresentado para a série 1, ocorrendo um deslocamento do sinal para região mais desblindada do espectro devido a doação em σ dos átomos de fósforo quando coordenados.

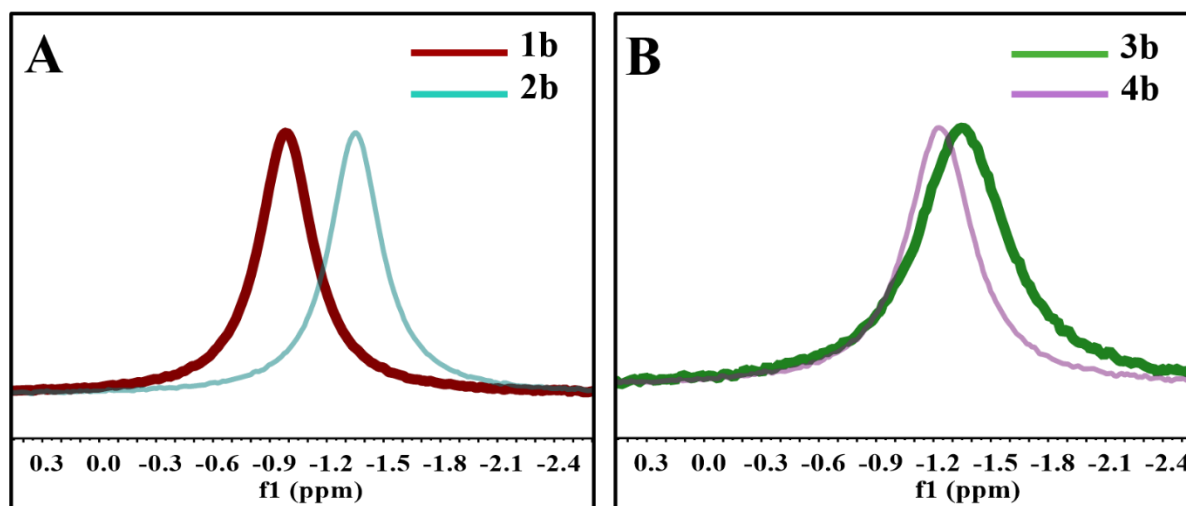


FIGURA 4.45: Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para os complexos A) **1b** e **2b** em clorofórmio- d e B) **3b** e **4b** em acetona- d_6 .

Os espectros de RMN de ^1H foram consistentes com as estruturas propostas. As análises das integrais confirmaram que em todos os complexos, os

ligantes trifenilfosfina estão presentes na proporção de 2:1, com relação ao ligante naftoquinona, como ilustrado nos espectros de RMN de ^1H dos complexos **1b** (Figura 4.46) e **4b** (Figura 4.47). Os espectros dos demais complexos podem ser observados na seção de apêndice (Figuras A75 e A76). Para todos os compostos observou-se a ausência do sinal referente ao hidrogênio do grupo OH das naftoquinonas, evidenciando a natureza aniônica dos ligantes¹⁶ ao se coordenarem ao cobre, corroborando com os resultados observados na espectroscopia vibracional na região do infravermelho.

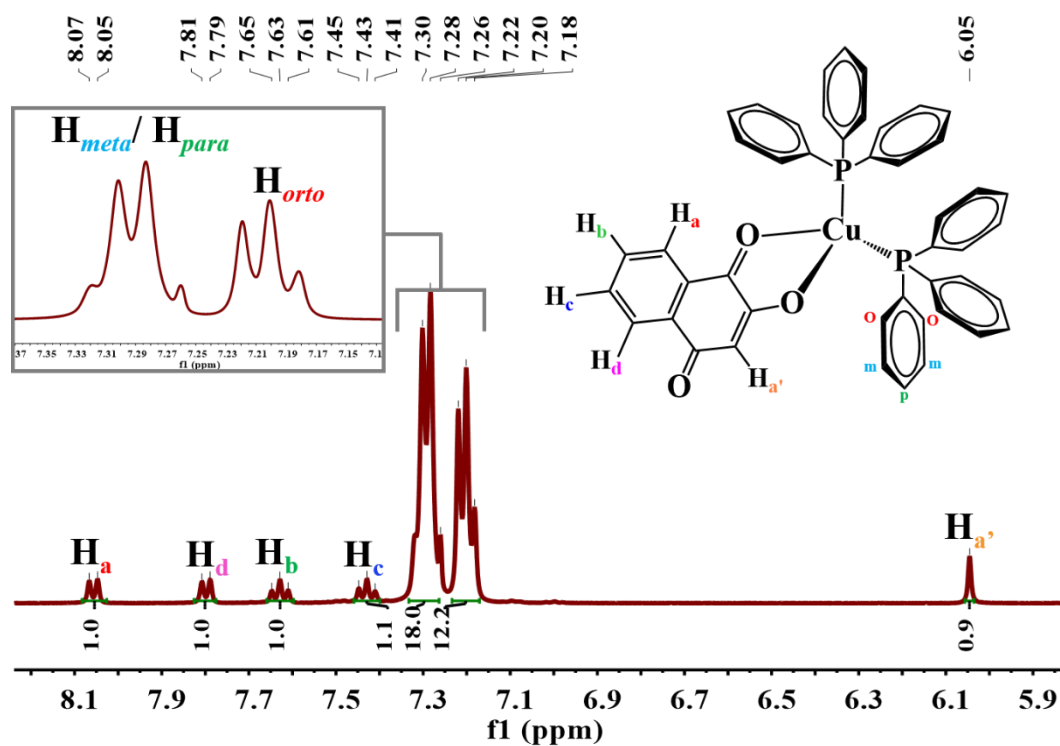


FIGURA 4.46: Espectro de RMN de ^1H obtido para o complexo **1b**, em CDCl_3 e atribuição dos sinais referentes ao complexo.

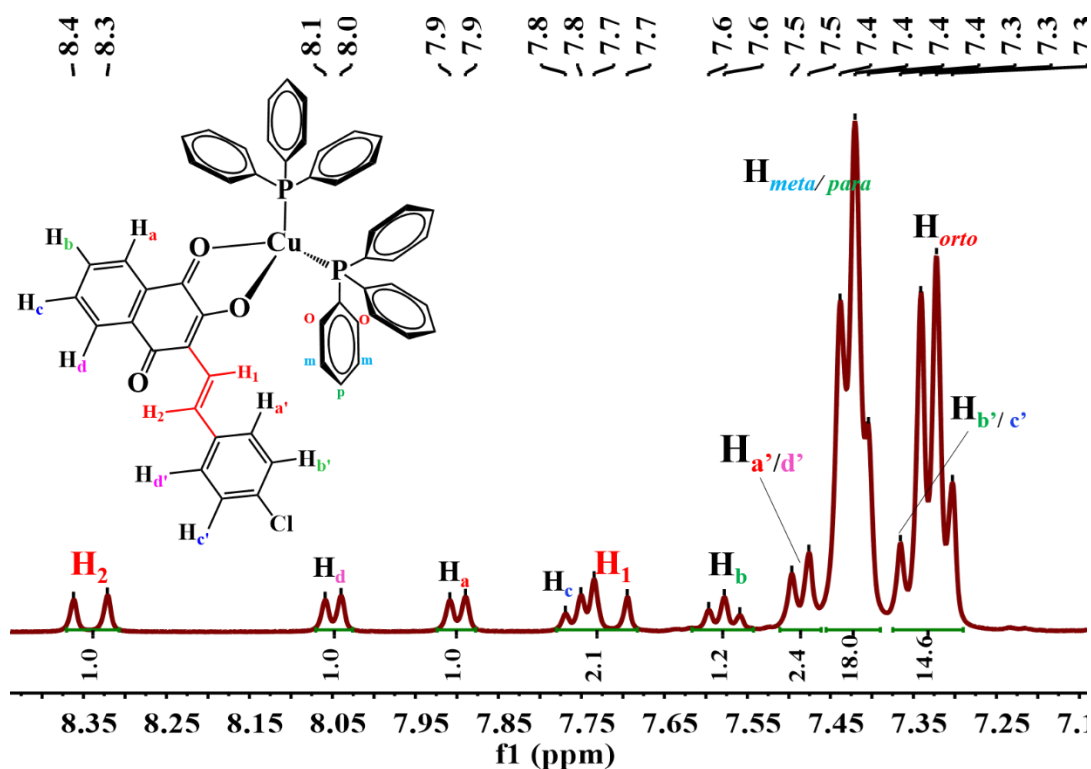


FIGURA 4.47: Espectro de RMN de ^1H obtido para o complexo **4b**, em acetona- d_6 e atribuição dos sinais referentes ao complexo.

Nos espectros de RMN de ^1H os sinais dos hidrogênios dos ligantes coordenados ao cobre foram atribuídos. A atribuição dos hidrogênios foi realizada baseando-se na análise dos dados das técnicas bidimensionais COSY (^1H - ^1H), HSQC (^1H - ^{13}C) e HMBC (^1H - ^{13}C) e dos parâmetros como constante de acoplamento e integração dos sinais. No espectro do complexo **1b** são observados três conjuntos de sinais na região aromática, que são melhor visualizados no mapa de contorno COSY (^1H - ^1H). O sinal em torno de 6 ppm corresponde ao hidrogênio **Ha'** do ligante naftoquinona pois não é observado acoplamento desse hidrogênio com nenhum outro (Figura 4.48). O segundo conjunto de sinais corresponde aos hidrogênios aromáticos dos ligantes trifenilfosfina que acoplam entre si, sendo que os hidrogênios na posição *meta* e *para* aparecem sobrepostos, sendo possível atribuir individualmente apenas os hidrogênios na posição *orto*. O terceiro conjunto de sinais corresponde aos

hidrogênios (**Ha**, **Hb**, **Hc** e **Hd**) do ligante **NQ1** que se encontram na região mais desblindada do espectro (Figura 4.48).

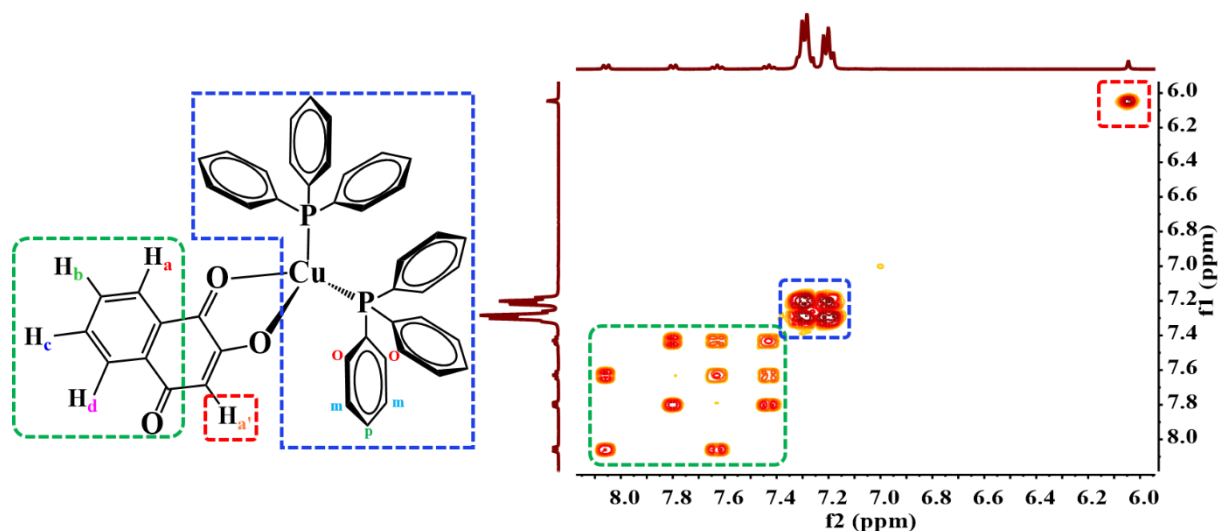


FIGURA 4.48: Mapa de correlação COSY (¹H-¹H) obtido para o complexo **1b**, região aromática, em CDCl₃. Em destaque os conjuntos de sinais exibidos pelo complexo.

No espectro do complexo **2b** além dos sinais da região aromática, um outro conjunto de sinais se destaca na região alifática e correspondem aos hidrogênios CH e CH₃ do ligante **NQ2** (Figura 4.49). Já os espectros dos complexos **3b** e **4b** apresentam 4 conjuntos de sinais. O conjunto na região mais blindada do espectro corresponde aos hidrogênios do grupo estiril (porção benzoil) dos ligantes naftoquinonas **NQ3** e **NQ4**, sendo que alguns dos hidrogênios desse grupo aparecem sobrepostos aos hidrogênios da trifenilfosfina cujos sinais pertencem ao segundo conjunto. No caso dos hidrogênios da trifenilfosfina também só foi possível a atribuição individual dos sinais referentes aos hidrogênios na posição *orto*. Os hidrogênios *meta* e *para* aparecem sobrepostos nos espectros. O terceiro conjunto de sinais corresponde aos hidrogênios da porção quinona dos ligantes **NQ3** e **NQ4**. Já o quarto conjunto de sinais também corresponde aos hidrogênios do grupo estiril. Esses

conjuntos de sinais observados para os complexos **3b** e **4b** são apresentados, na Figura 4.50, nos mapas de correlação COSY (^1H - ^1H).

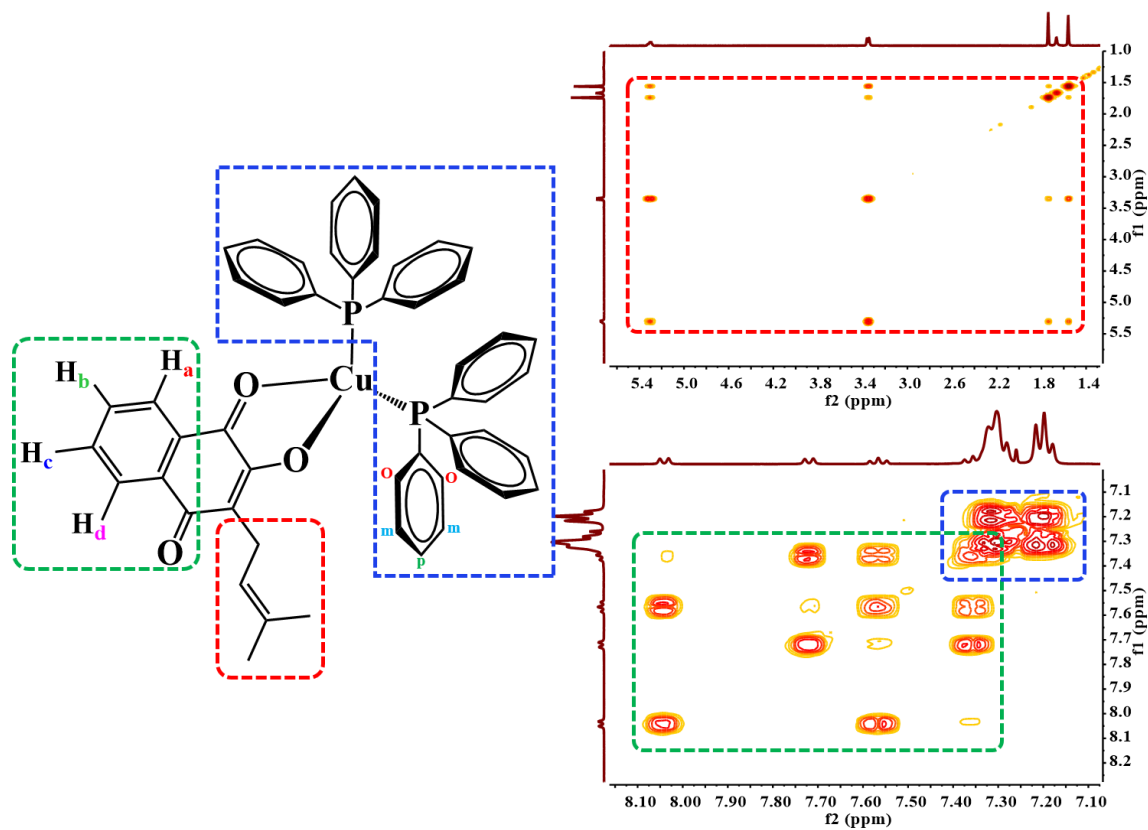


FIGURA 4.49: Mapa de correlação COSY (^1H - ^1H) obtido para o complexo **2b**, regiões, alifática (1,4 – 5,4 ppm) e aromática (7,1 – 8,1 ppm), em CDCl_3 . Em destaque os conjuntos de sinais exibidos pelo complexo.

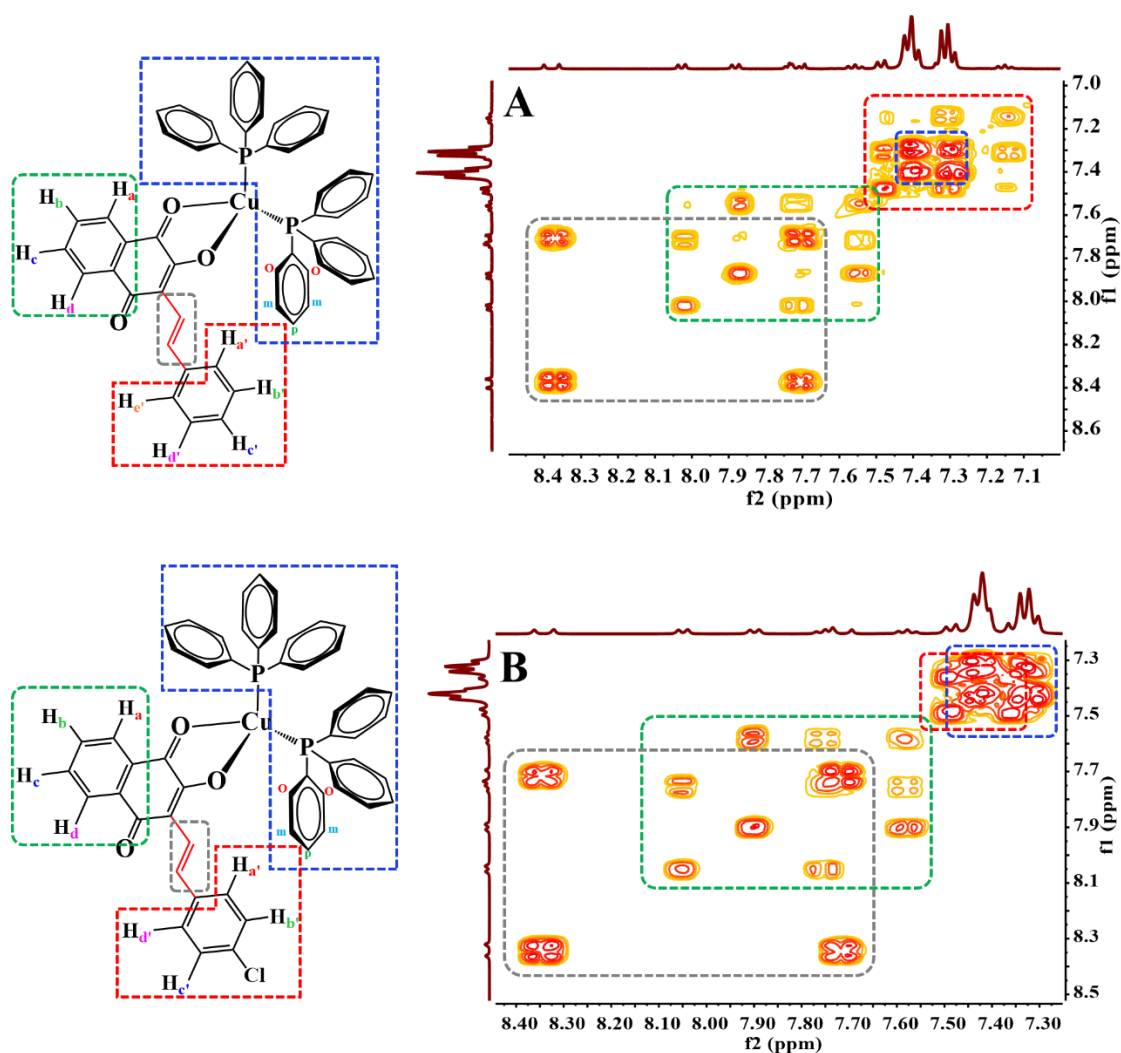


FIGURA 4.50: Mapa de correlação COSY (^1H - ^1H) obtido para os complexos A) **3b** e B) **4b**, região aromática, em acetona- d_6 . Em destaque, os conjuntos de sinais exibidos pelo complexo.

Os espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ apresentaram sinais que também corroboram com as estruturas propostas, sendo que os sinais mais informativos são os que correspondem aos carbonos dos grupos $\text{C1}=\text{O1}$, $\text{C2}=\text{O2}$ e $\text{C4}=\text{O3}$ do ligante naftoquinona. A atribuição desses carbonos foi realizada mediante análise do mapa de correlação HMBC (^1H - ^{13}C), que corresponde aos acoplamentos entre hidrogênios e carbonos a longas distâncias. Por exemplo, no complexo **1b**, para o carbono do grupo $\text{C1}=\text{O1}$ observou-se um acoplamento com o hidrogênio (**Ha**) e um acoplamento pouco intenso com o hidrogênio (**Ha'**), enquanto que para o carbono $\text{C4}=\text{O3}$ observou-se os acoplamentos com

os hidrogênios (**Ha'** e **Hd**). No complexo **4b**, para o carbono do grupo C1=O1 observou-se apenas o acoplamento com o hidrogênio (**Ha**), enquanto que para o carbono C4=O3 observou-se os acoplamentos com os hidrogênios (**Hd** e **Hl** do grupo estiril). Esses acoplamentos possibilitaram, portanto, a diferenciação desses sinais na região mais desblindada do espectro através dessa técnica. As Figuras 4.51 e 4.52 ilustram esses acoplamentos para os complexos **1b** e **4b**. Os mapas de correlação para os demais complexos são apresentados na seção de apêndice nas Figuras A77 e A78.

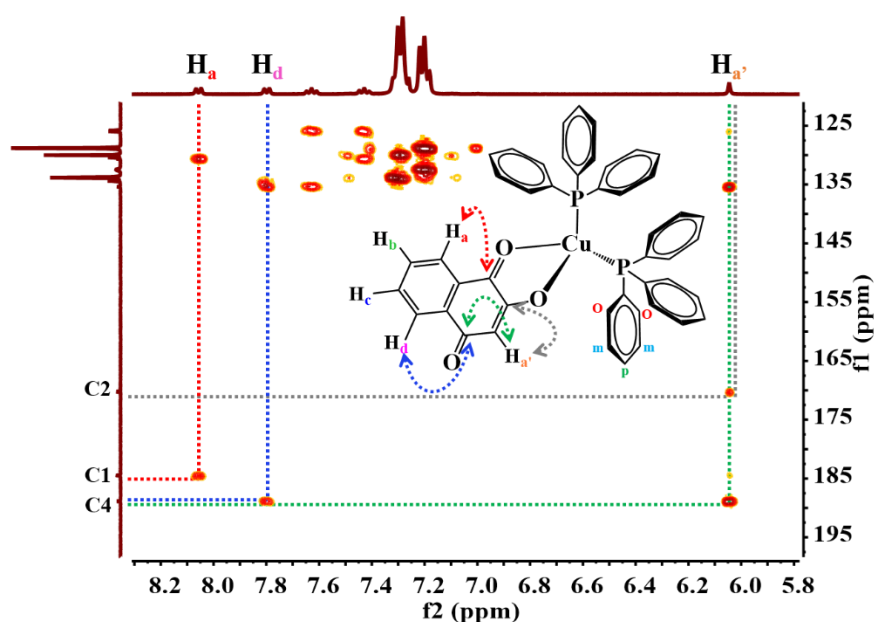


FIGURA 4.51: Mapa de correlação HMBC (^1H - ^{13}C) obtido para o complexo **1b**, em CDCl_3 . Em destaque os acoplamentos exibidos pelos complexos relativos aos carbonos C1=O1, C2-O2 e C4=O3.

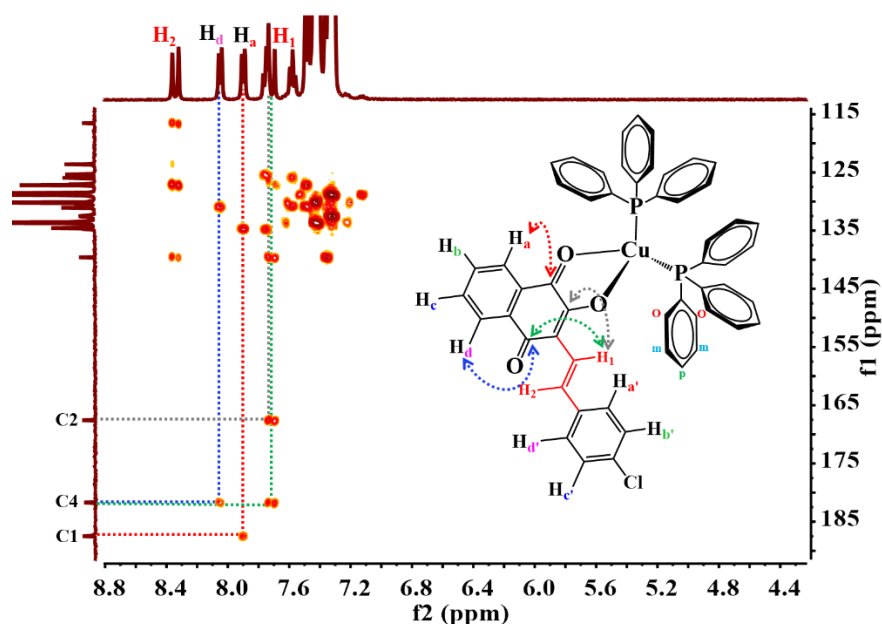


FIGURA 4.52: Mapa de correlação HMBC (^1H - ^{13}C) obtido para o complexo **4b**, em acetona- d_6 . Em destaque os acoplamentos exibidos pelos complexos relativos aos carbonos C1=O1, C2-O2 e C4=O3.

Os sinais referentes aos carbonos da trifenilfosfina, diferente do apresentado para os complexos da série 1, não exibiram duplicação, como esperado devido aos acoplamentos dos átomos de P com os átomos de C, sendo possível atribuir apenas o C_{orto} e o $C_{quaternário}$ da trifenilfosfina com o auxílio das técnicas HMBC (^1H - ^{13}C) e HSQC (^1H - ^{13}C). Os espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ com as respectivas atribuições dos sinais são apresentados nas Figuras 4.53 e 4.54 para os complexos **1b** e **4b**, respectivamente. Os espectros para os complexos **2b** e **3b** são apresentados na seção de apêndice nas Figuras A79 e A80 e os mapas de correlação HSQC (^1H - ^{13}C) são apresentados nas Figuras A81-A84.

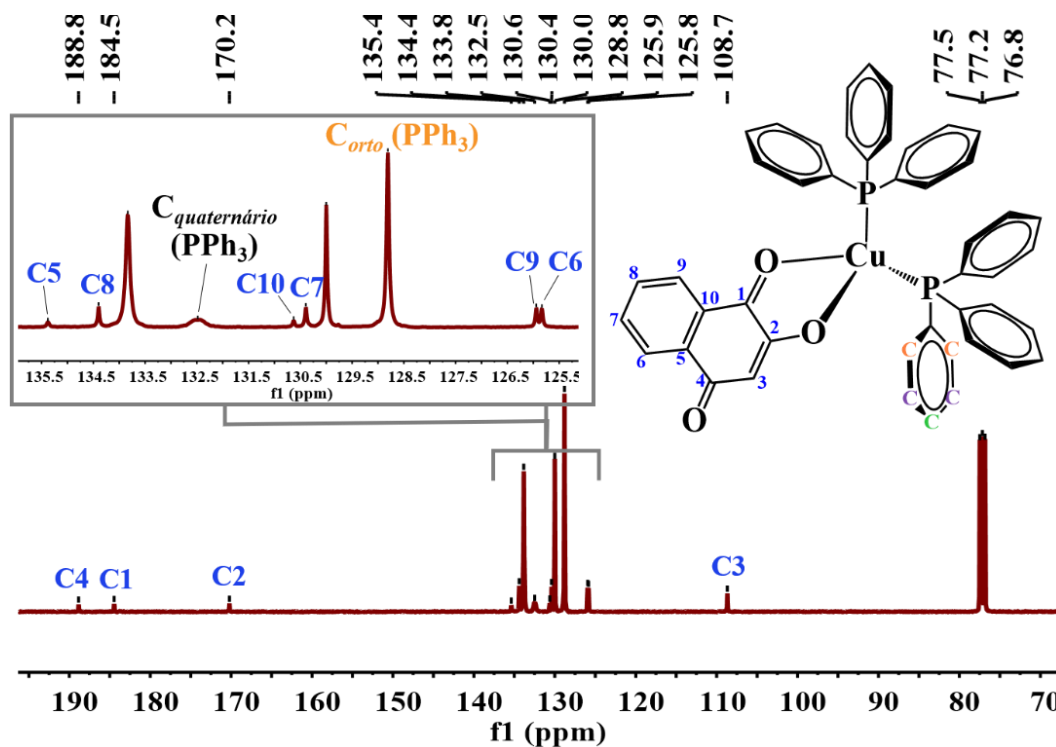


FIGURA 4.53: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo **1b**, em CDCl_3 e atribuição dos sinais referentes ao complexo.

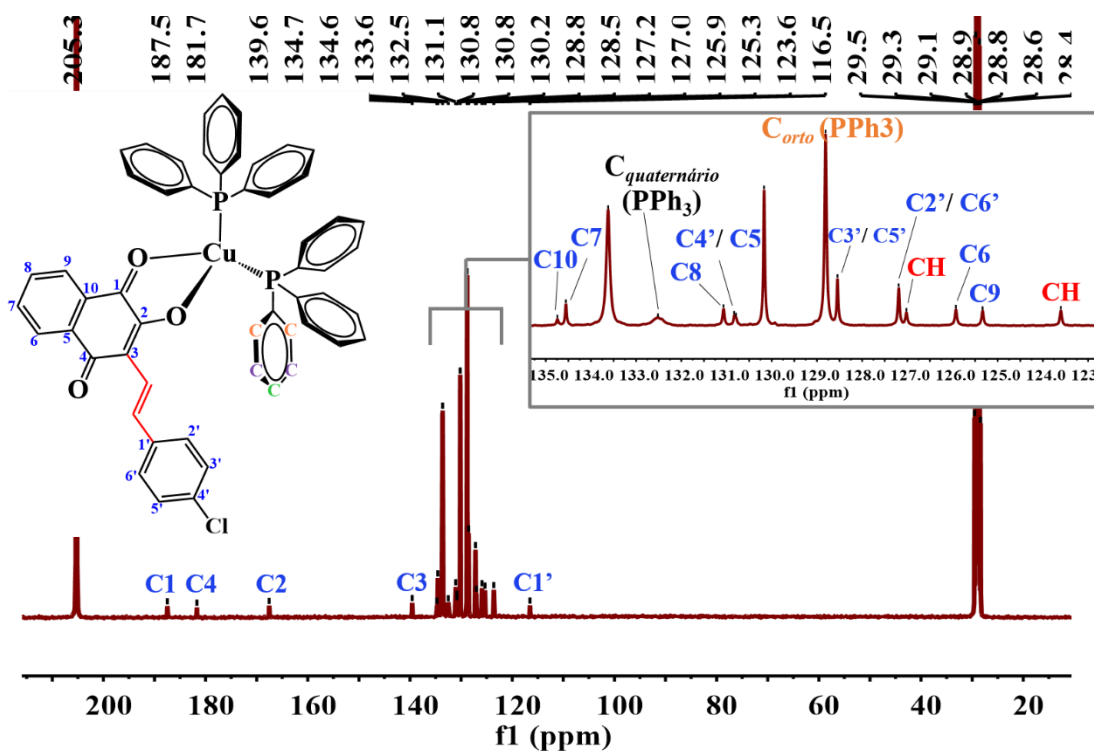


FIGURA 4.54: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo **4b**, em acetone-d_6 e atribuição dos sinais referentes ao complexo.

Após a coordenação das naftoquinonas ao cobre, tendências com relação aos deslocamentos dos carbonos dos grupos C1=O1, C2-O2 e C4=O3, quando comparados aos ligantes livres, foram observados, como mostrado na Tabela 4.12 para todos os complexos e na Figura 4.55 para o complexo **1b** e **4b**. Notamos que os carbonos C1, C2 e C4 sofreram deslocamento para regiões mais desblindada do espectro após a coordenação. Os maiores deslocamentos químicos foram para os carbonos C2 e C4, o que condiz com o esperado, uma vez que esses carbonos estão ligados aos oxigênios que se coordenam ao metal. A desblindagem desses carbonos ocorrem devido a diminuição da densidade eletrônica em decorrência da coordenação. Esses resultados corroboram com o descrito na literatura para outros complexos metálicos envolvendo os ligantes naftoquinonas.^{16,112}

TABELA 4.12: Deslocamentos químicos (δ) exibidos pelos carbonos C1, C2 e C4 para os ligantes naftoquinonas livres e após coordenação.

	Ligante				Complexo			Δ (ppm)		
	C1=O1	C2-O2	C4=O3		C1=O1	C2-O2	C4=O3	C1=O1	C2-O2	C4=O3
NQ1	182,1	156,1	185,1	1b	184,5	170,2	188,8	2,4	14,1	3,7
NQ2	181,8	152,8	184,7	2b	188,3	167,7	182,3	6,5	14,9	2,4
NQ3	181,6	154,6	185,0	3b	188,6	168,2	182,9	7,0	13,6	2,0
NQ4	181,6	154,9	184,9	4b	188,7	168,6	182,7	7,1	13,7	2,2

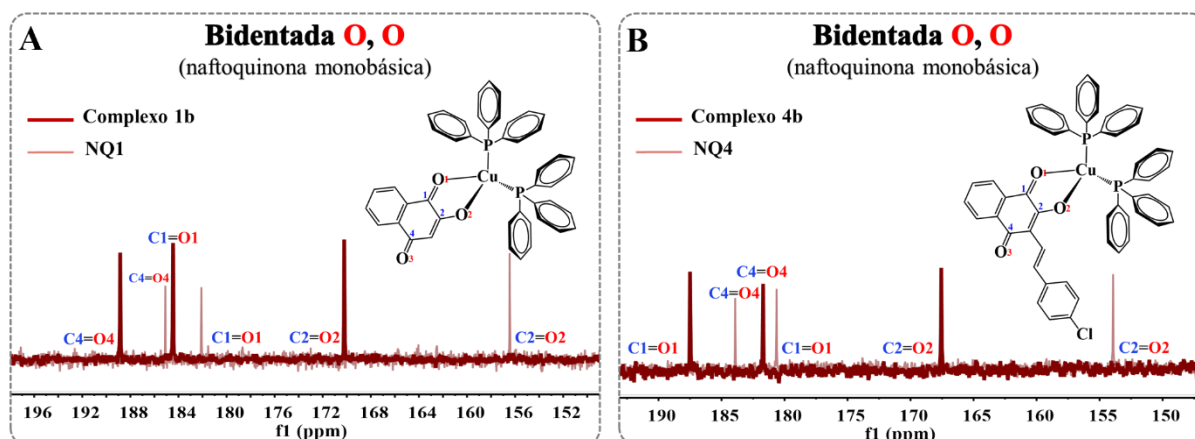


FIGURA 4.55: Espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ A) do complexo **1b** e de seu respectivo ligante livre NQ1 em CDCl_3 e B) do complexo **4b** e de seu respectivo ligante NQ4 em acetona- d_6 .

Os dados de condutividade molar corroboraram com as propostas estruturais apresentadas acima, indicando que os complexos **1b–4b** são neutros. Em diclorometano, compostos neutros apresentam valores menores que $12 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$.¹¹⁶ (Tabela 4.13). A composição química dos complexos, determinada por análise elementar (Tabela 4.13), está consistente com as formulações sugeridas.

TABELA 4.13: Dados de análise elementar e condutividade molar para os complexos **1b–4b**. Valores teóricos da composição química dos complexos entre parênteses.

Complexo	Análise Elementar (Teor.)		Condutividade Molar ($\text{S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$)	
	% C	% H	Branco	Amostra
1b	72,36(72,58)	4,94(4,63)	0,04	0,20
2b	73,72(73,86)	5,51(5,23)	0,04	0,07
3b	75,04(75,12)	5,12(4,79)	0,04	0,12
4b	72,12(72,24)	4,74(4,49)	0,04	0,13

Os complexos da série 2, foram investigados quanto às suas propriedades ópticas. Seus espectros eletrônicos foram comparados aos espectros dos ligantes livres e do complexo precursor, para uma melhor atribuição das bandas.

Os espectros eletrônicos dos ligantes **NQ1** e **NQ2** em solução de acetonitrila, são apresentados na Figura 4.56, nos quais são observadas bandas intensas na região de 230–290 nm. Segundo a literatura as bandas de absorção abaixo de 250 nm são atribuídas às transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ dentro do sistema benzenóide e as bandas entre 250 e 290 nm são atribuídas às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ do núcleo quinonóide.²⁰⁸ Também são observadas nos espectros eletrônicos dos ligantes naftoquinonas bandas de característica alargada na região entre 300-450 nm, que foram atribuídas a sobreposição das transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e de transferência de carga intramolecular (ICT, do inglês *Intramolecular Charge Transfer*) do substituinte para o anel de quinona que é um acceptor de elétrons.²⁰⁹

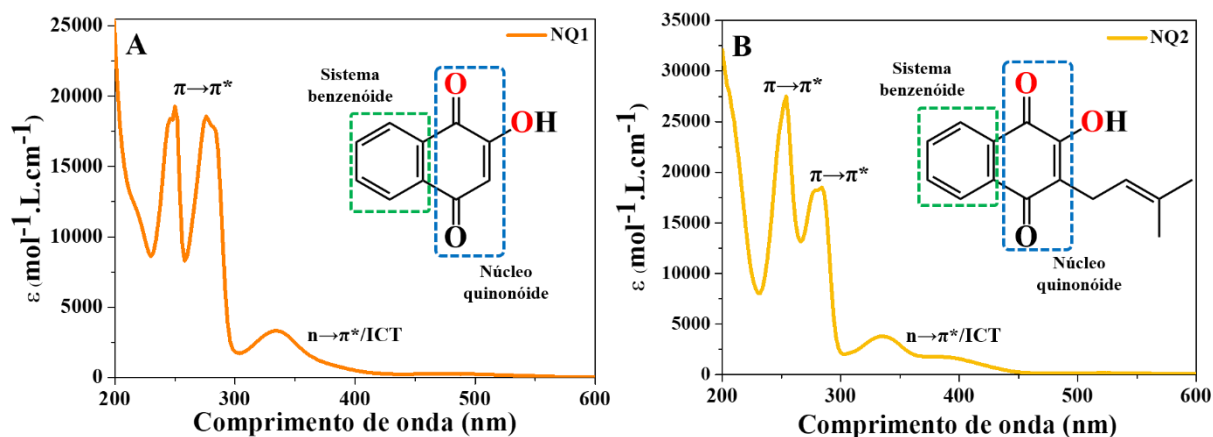


FIGURA 4.56: Espectros absorção UV-visível dos ligantes A) **NQ1** e B) **NQ2** em solução de acetonitrila e suas respectivas fórmulas estruturais com destaque aos sistemas benzenóide e quinonóide e atribuições das bandas de absorção.

A banda ICT é mais intensa quando os ligantes **NQ1** e **NQ2** são desprotonados (Figura 4.57) porque a doação do substituinte para o sistema quinonóide torna-se mais eficiente. Essas transições são as responsáveis pela

coloração intensa, com tonalidade avermelhada (NQ1 e NQ2), das soluções desses ligantes desprotonados. Em um estudo solvatocrômico dos ligantes (Figura 4.58) observamos que em solventes de baixa polaridade a forma neutra da naftoquinona predomina e a banda ICT não é observada. Conforme a capacidade doadora de ligação de hidrogênio aumenta, a absorção da banda ICT aumenta porque o equilíbrio desloca no sentido da forma zwitteriônica da naftoquinona.²⁰⁸ O comportamento eletrônico dos ligantes naftoquinonas já é bem descrito pela literatura.^{208–210}

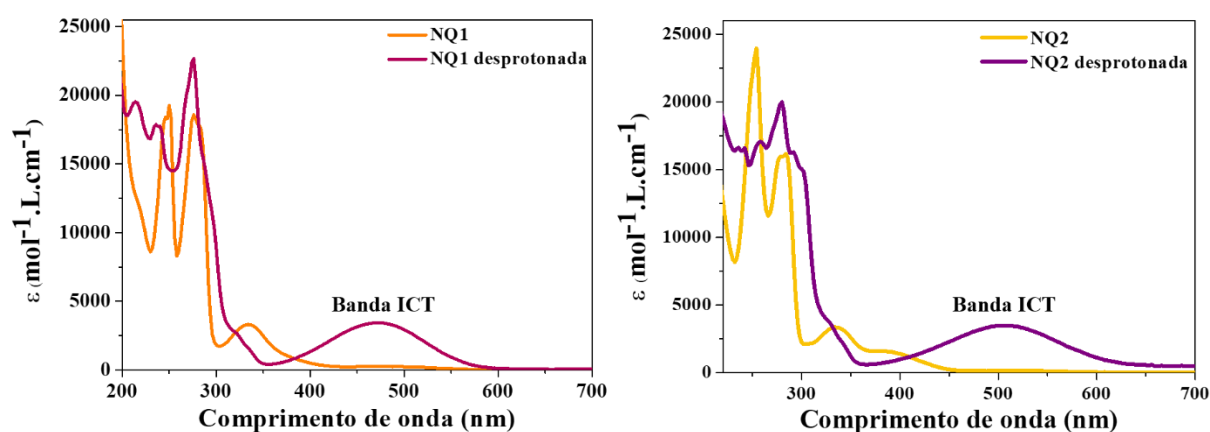


FIGURA 4.57: Espectros de absorção UV-visível dos ligantes NQ1 e NQ2 em solução de acetonitrila, antes e após desprotonação com uma solução 0,1 mol·L⁻¹ de NaOH.

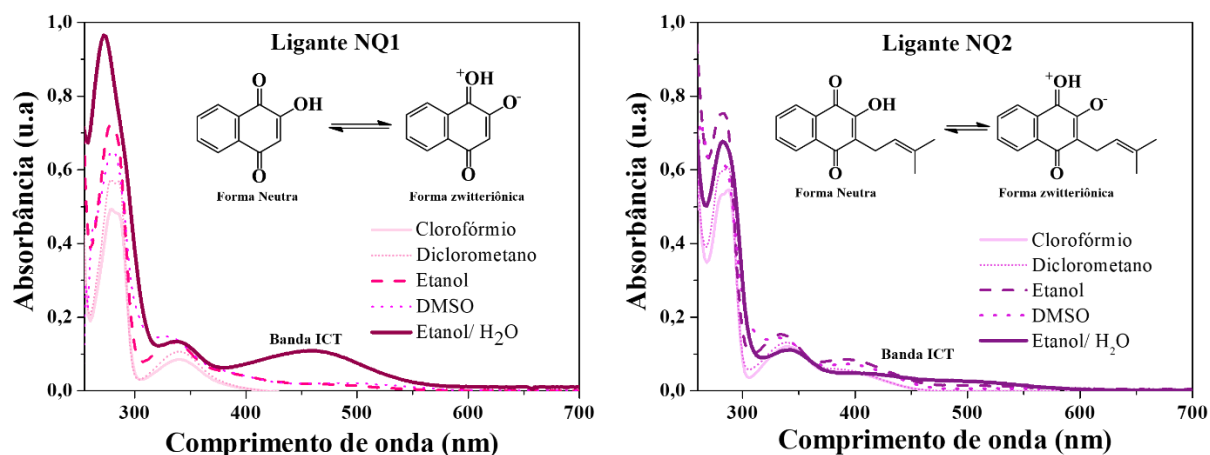


FIGURA 4.58: Efeito solvatocrômico nas bandas de absorção dos ligantes NQ1 e NQ2.

O complexo precursor, como discutido anteriormente para a série **1**, apresenta em seu espectro de absorção uma banda de característica alargada com máximo em 264 nm, referente às transições de transferência de carga interna do ligante PPh₃ ((IL) $\pi \rightarrow \pi^*$, PPh₃).

Os espectros eletrônicos dos complexos **1b** e **2b**, quando comparados aos espectros dos ligantes NQ1 e NQ2 desprotonados mostram que após a coordenação (Figura 4.59), a banda ICT deslocou-se para o vermelho e ainda que esse deslocamento não seja acentuado indica um aumento da densidade eletrônica no grupo doador (substituinte O⁻), o que facilita a transição ICT que ocorrerá em uma região de menor energia.

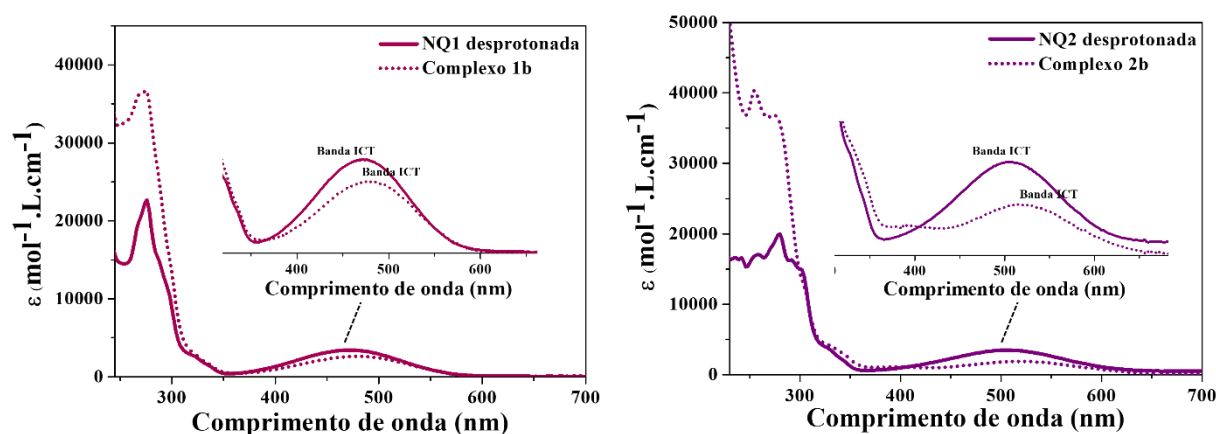


FIGURA 4.59: Espectros de absorção UV-visível dos ligantes NQ1 e NQ2 desprotonados e de seus respectivos complexos **1b** e **2b**, em solução de acetonitrila.

As bandas com $\lambda_{\text{máx}} = 274$ nm (**1b**) e 254 nm (**2b**) são bem mais intensas que nos espectros dos ligantes, pois representam o somatório das transições $\pi \rightarrow \pi^*$ do complexo precursor ($[\text{Cu}(\text{NO}_3)(\text{PPh}_3)_2]$) e dos ligantes naftoquinonas. Também é observado nos espectros dos complexos **1b** e **2b** um ombro em torno de 330 nm que é referente às transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ das naftoquinonas. Os espectros eletrônicos dos complexos **1b** e **2b**, dos ligantes

livres e do complexo precursor, em solução de acetonitrila, com suas respectivas atribuições são visualizados na Figura 4.60.

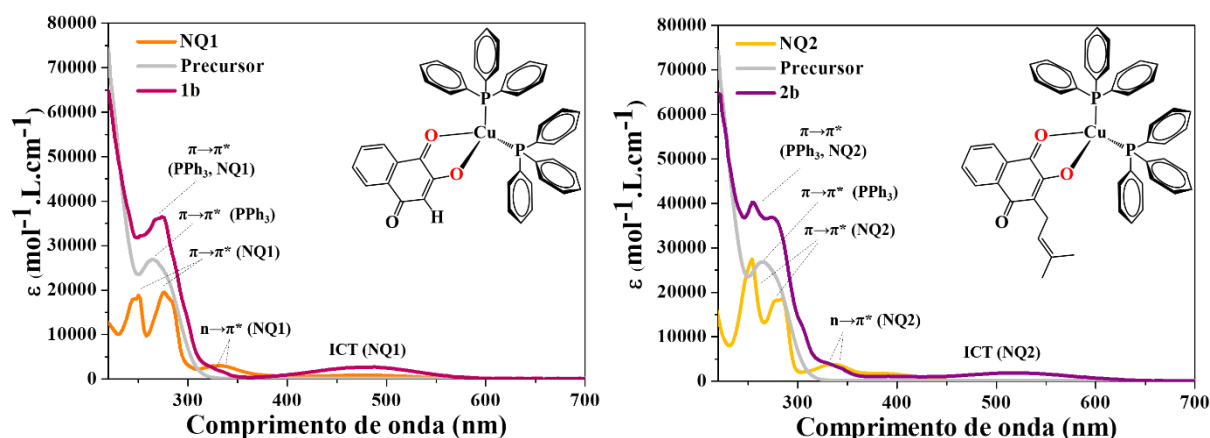


FIGURA 4.60: Espectros UV-visível dos complexos **1b** e **2b**, dos ligantes **NQ1** e **NQ2** livres e do complexo precursor, em solução de acetonitrila, com as respectivas tentativas de atribuições de suas bandas.

A Figura 4.61 mostra os espectros eletrônicos dos ligantes naftoquinonas **NQ1** e **NQ2** desprotonados e dos seus respectivos complexos **1b** e **2b**, na região entre 286-667 nm ($35000-15000\text{ cm}^{-1}$) que foram deconvoluídos em componentes gaussianas individuais. As transições mais intensas são separadas em duas gaussianas e ambas são relativas às transições de ICT. As transições em torno de 30303 cm^{-1} (330 nm), menos intensas, correspondem às transições $n\rightarrow\pi^*$ das naftoquinonas sendo também separadas em duas componentes gaussianas. As transições de ICT e $n\rightarrow\pi^*$ são igualmente deconvoluídas em duas componentes gaussianas tanto nos ligantes quanto nos complexos, no entanto, ocorrem variações na intensidade e na forma das bandas, indicando alterações na estrutura eletrônica das naftoquinonas devido a coordenação.

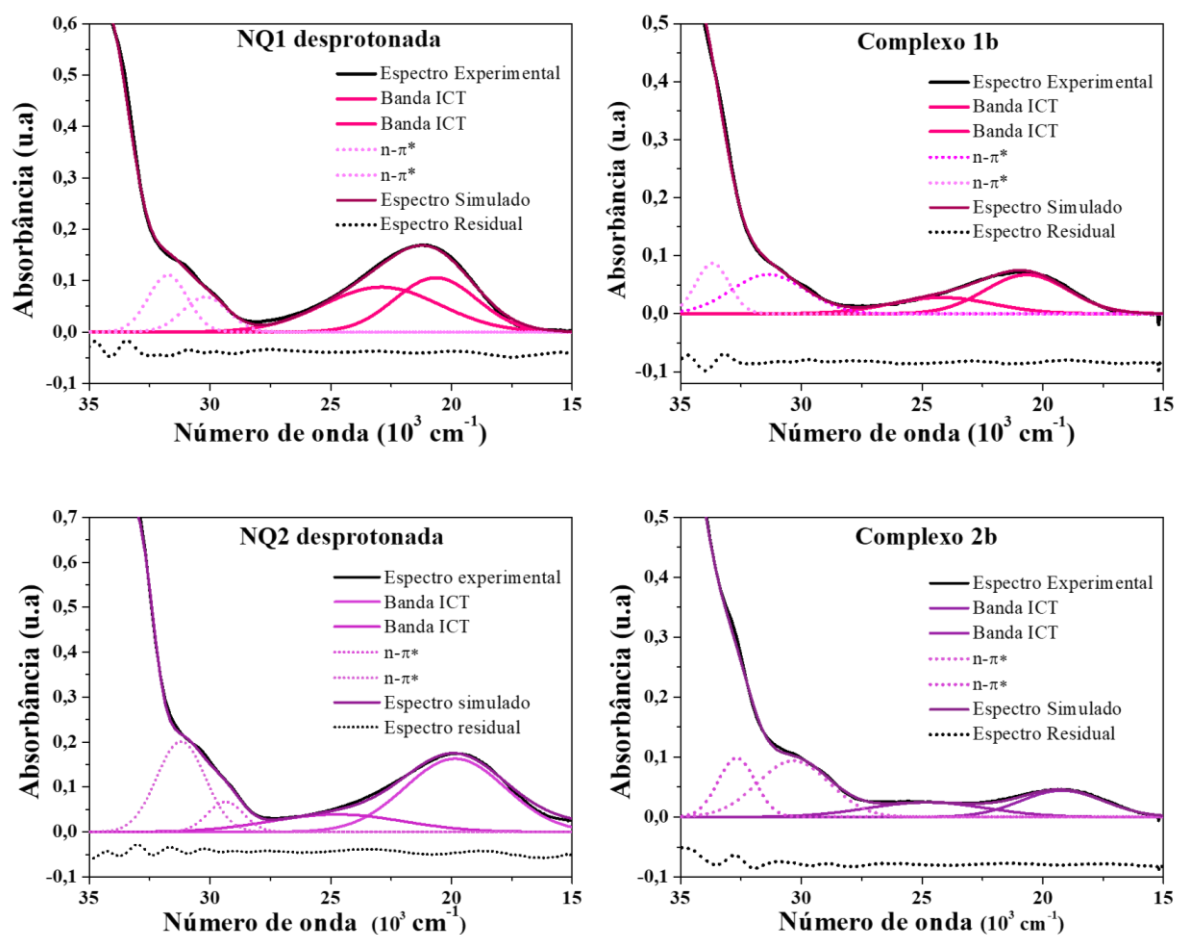


FIGURA 4.61: Deconvolução dos espectros eletrônicos dos ligantes **NQ1** e **NQ2** desprotonados e de seus respectivos complexos **1b** e **2b** na região de 35000-15000 cm⁻¹.

Os espectros dos ligantes **NQ3** e **NQ4** antes da desprotonação, em solução de acetonitrila (Figura 4.62), apresentam uma banda de característica alargada, de alta absorptividade molar, com máximo de absorção em torno de 300 nm que corresponde às transições do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ do grupo estiril,²¹¹ sobrepostas às transições do sistema quinonóide da naftoquinona. Em torno de 370 nm é observada uma banda de baixa absorptividade molar atribuída às transições ICT, a banda de menor energia com máximo em torno de 460 nm foi atribuída às transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$.²¹²⁻²¹⁴ A banda de ICT aparece com baixa absorptividade molar e provavelmente só está presente porque a acetonitrila não está totalmente seca, e conforme vimos anteriormente, como a água está presente na acetonitrila

a capacidade doadora de ligação de hidrogênio aumenta a absorção da banda ICT porque o equilíbrio desloca no sentido da forma zwitteriônica da naftoquinona.

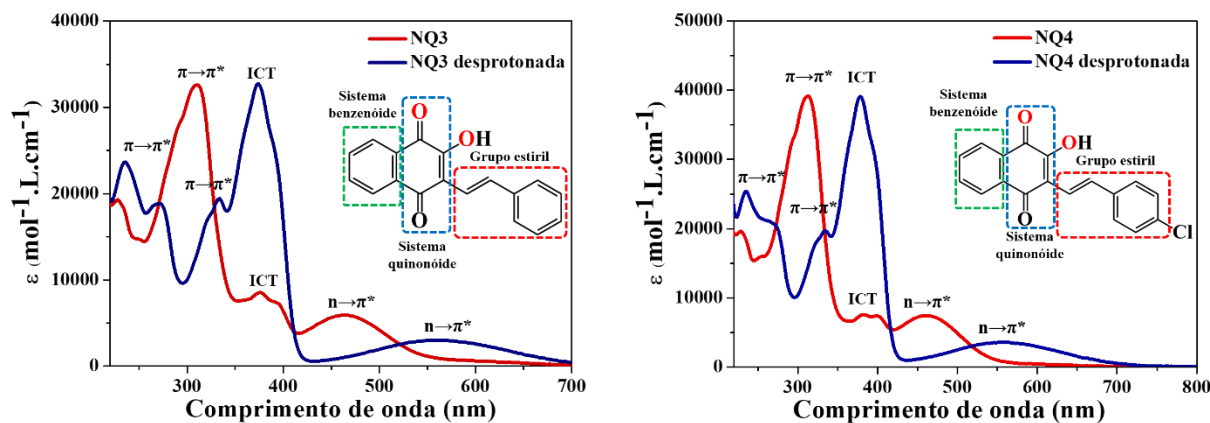


FIGURA 4.62: Espectros de absorção UV-visível dos ligantes **NQ3** e **NQ4** em solução de acetonitrila, antes e após desprotonação com uma solução $0,1 \text{ molL}^{-1}$ de NaOH.

Após a desprotonação, o espectro eletrônico das naftoquinonas sofre alteração significativa (Figura 4.62), e assim, três bandas referentes às transições $\pi \rightarrow \pi^*$, com máximos em torno de 230 nm (sistema benzenóide), 270 nm (sistema quinonóide) e 330 nm (grupo estiril) são observadas. A banda ICT, em torno de 370 nm, após a desprotonação apresenta forte absorvidade molar, uma vez que a forma zwitteriônica da naftoquinona domina. No estudo solvatocrômico observamos o aumento da absorção da banda ICT, à medida que a capacidade doadora de ligação de hidrogênio aumenta, conforme demonstrado nos espectros eletrônicos dos ligantes **NQ3** e **NQ4**, na Figura 4.63.

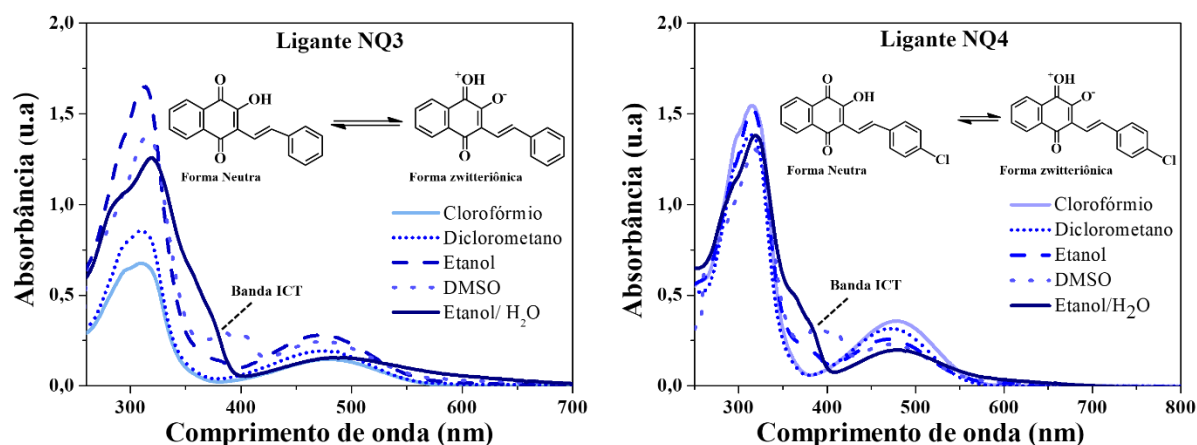


FIGURA 4.63: Efeito solvatocrômico nas bandas de absorção dos ligantes **NQ3** e **NQ4**.

Do mesmo modo que para os complexos **1b** e **2b**, os espectros eletrônicos dos complexos **3b** e **4b**, apresentaram apenas um sutil deslocamento da banda ICT para o vermelho, sem alterações na forma da banda quando comparados aos espectros dos ligantes desprotonados (Figura 4.64). No entanto, as bandas com máximo de absorção em torno de 260 nm são bem mais intensas, pois representam o somatório das transições $\pi \rightarrow \pi^*$ do complexo precursor ($[\text{Cu}(\text{NO}_3)(\text{PPh}_3)_2]$) e dos ligantes naftoquinonas. Os compostos também apresentam uma banda com absorção máxima em torno de 330 nm que correspondem às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ do grupo estiril. As transições de menor energia no espectro dos complexos corresponde às transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ e não foram deslocadas após a coordenação. Os espectros eletrônicos dos complexos **3b** e **4b**, dos ligantes livres e do complexo precursor, em solução de acetonitrila, com suas respectivas atribuições são visualizados na Figura 4.64.

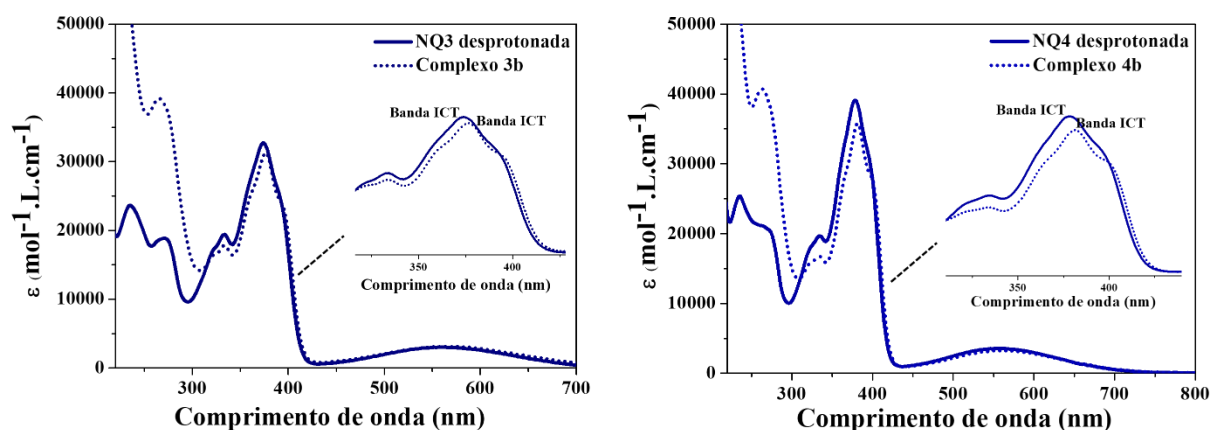


FIGURA 4.64: Espectros de absorção UV-visível dos ligantes **NQ3** e **NQ4** desprotonados e dos seus respectivos complexos **3b** e **4b**, em solução de acetonitrila, com destaque para a região da banda de ICT.

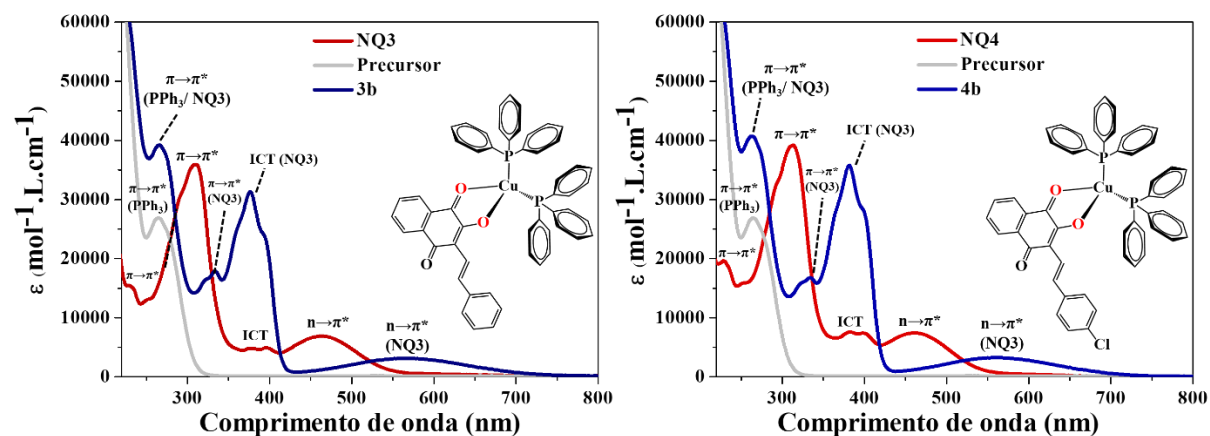


FIGURA 4.65: Espectros UV-visível dos complexos **3b** e **4b**, dos ligantes **NQ3** e **NQ4** livres e do complexo precursor, em solução de acetonitrila, com as respectivas tentativas de atribuições de suas bandas.

A Figura 4.66 mostra a região entre 277-833 nm ($36000-12000\text{ cm}^{-1}$) dos espectros eletrônicos dos ligantes naftoquinonas **NQ3** e **NQ4** desprotonados e dos seus respectivos complexos **3b** e **4b**, que foram deconvoluídos em diferentes componentes gaussianas. Do mesmo modo que para os complexos **1b** e **2b**, a deconvolução mostrou que essa região apresenta o mesmo número de bandas tanto nos ligantes quanto nos complexos, com variações na intensidade dessas bandas, indicando alterações na estrutura eletrônica das naftoquinonas devido à coordenação. Como não surgem novas

bandas sugere-se que nessa região do espectro não ocorrem transições do tipo MLCT ($\text{Cu} \rightarrow \pi^*_{\text{naftoquinona}}$) após a coordenação. O mesmo foi observado nos espectros dos complexos **1b** e **2b**. Portanto, essa banda deve ocorrer em uma região de maior energia, assim como para os complexos da série 1.

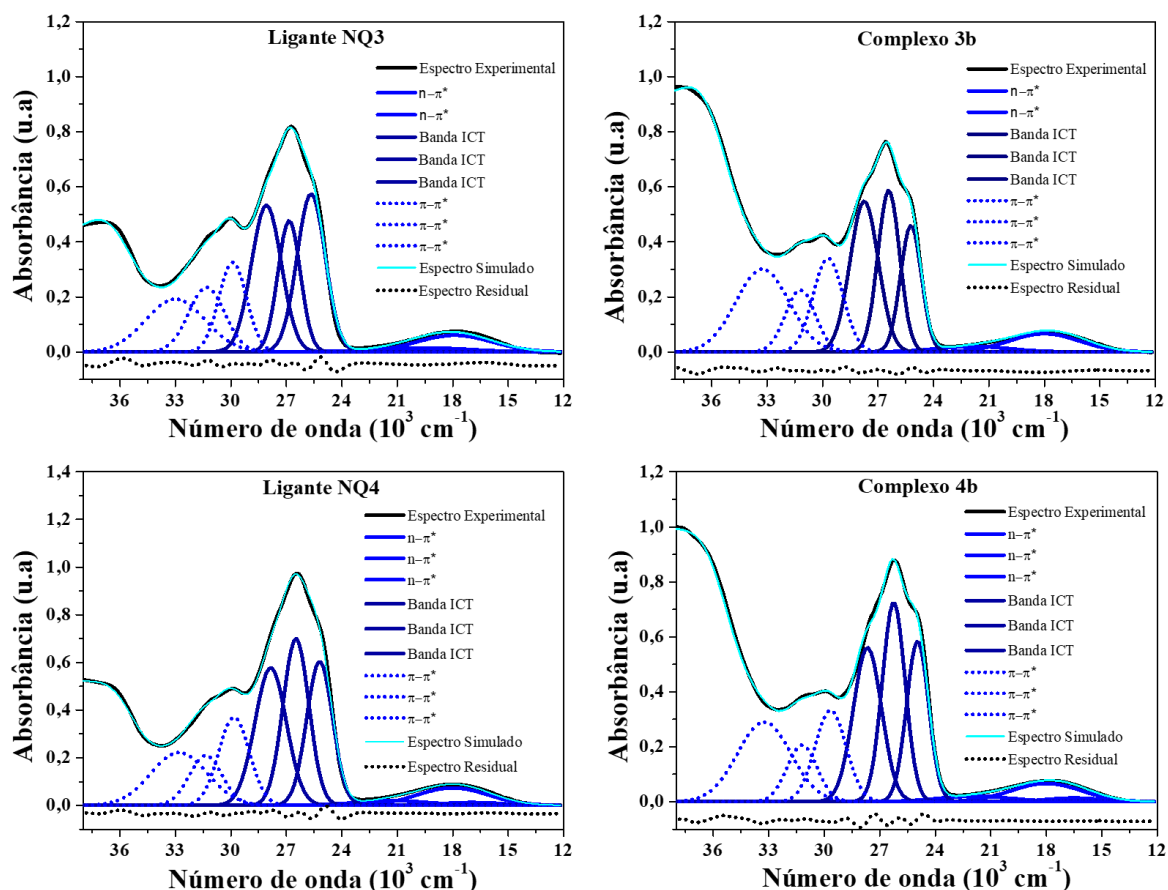


FIGURA 4.66: Deconvolução dos espectros eletrônicos dos ligantes **NQ3** e **NQ4** desprotonados e de seus respectivos complexos **3b** e **4b** na região de $36000\text{-}12000 \text{ cm}^{-1}$.

A deconvolução da banda com absorção máxima em torno 270 nm (37037 cm^{-1}) dos complexos, nos permitiu sugerir que as gaussianas com máximo de absorção em torno de 280 nm (35714 cm^{-1}) são relativas às transições de natureza IL: $\pi \rightarrow \pi^*$ e MLCT, como indicadas na Figura 4.67. Nos complexos de Cu(I) com os ligantes aciltioureias, as bandas MLCT foram atribuídas nessa mesma região do espectro. Observemos que as gaussianas

separadas a partir do espectro experimental são de característica alargada não sendo possível atribuir individualmente a transição de MLCT.

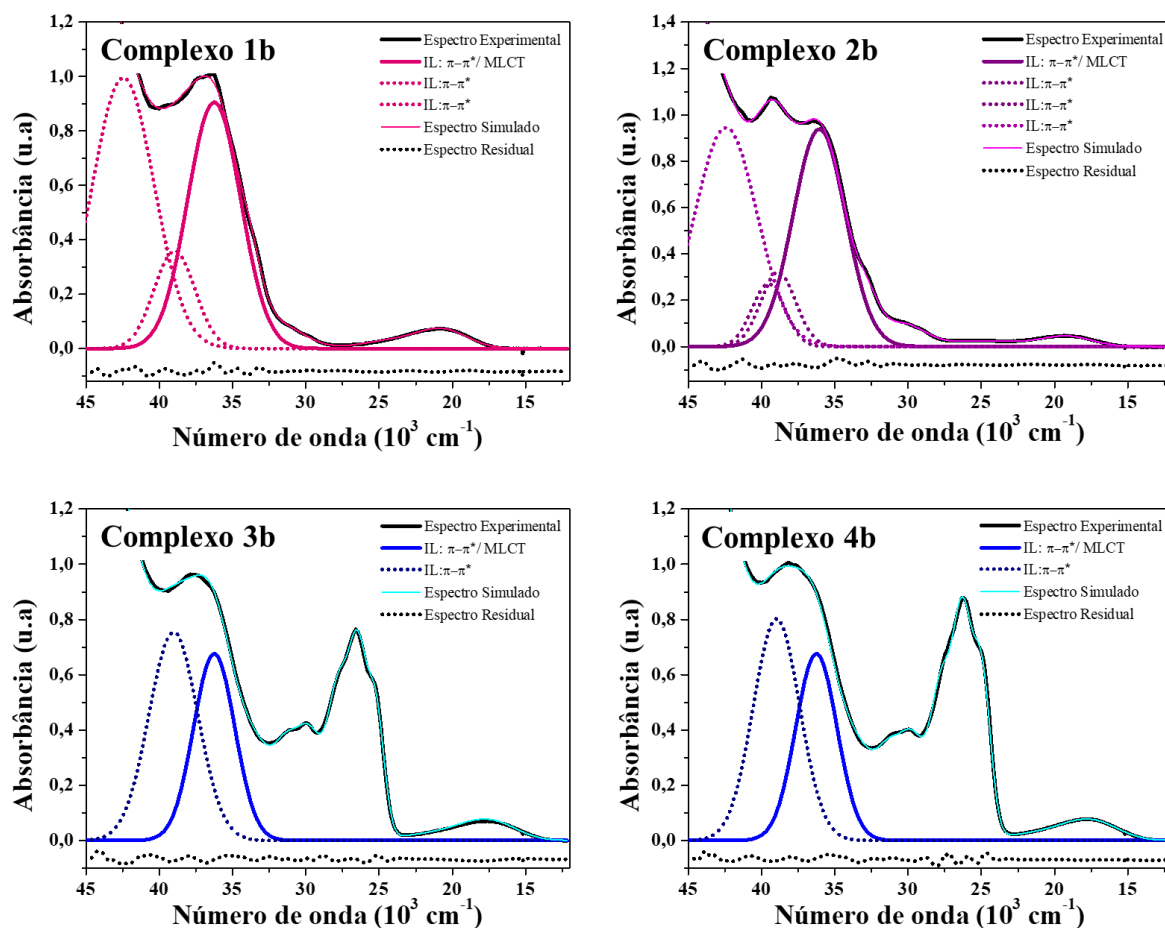


FIGURA 4.67: Deconvolução dos espectros eletrônicos dos complexos **1b**, **2b**, **3b** e **4b** na região do ultravioleta

A Tabela 4.14 mostra os comprimentos de onda máximos das bandas observadas, bem como os respectivos valores de absorvidade molar (ϵ) de todos os complexos e ligantes, além da atribuição tentativa das bandas. A absorvidade molar foi calculada da mesma forma descrita para os complexos da série 1. As curvas referentes aos ligantes e complexos são apresentadas na seção de apêndice nas Figuras A85-A89.

TABELA 4.14: Comprimento de onda de absorção máxima (λ , nm), absorvidade molar (ϵ , mol⁻¹L cm⁻¹) e tentativa de atribuição das bandas dos ligantes **NQ1-NQ4**, e de seus respectivos complexos **1b-4b**, em solução de acetonitrila.

Ligantes	λ (nm)	ϵ (mol ⁻¹ Lcm ⁻¹)	Transição	Complexos	λ (nm)	ϵ (mol ⁻¹ Lcm ⁻¹)	Transição
NQ1	250	19741	$\pi \rightarrow \pi^*$	1b	276	35247	ILCT/ MLCT
	276	18776	$\pi \rightarrow \pi^*$		330	Ombro	ILCT: $n \rightarrow \pi^*$
	332	3362	$n \rightarrow \pi^*/$ ICT		488	3057	ICT
NQ2	254	28331	$\pi \rightarrow \pi^*$	2b	254	42709	ILCT
	284	18886	$\pi \rightarrow \pi^*$		274	37521	ILCT/ MLCT
	334	3937	$n \rightarrow \pi^*/$ ICT		330	Ombro	$n \rightarrow \pi^*$
					540	3856	ICT
NQ3	236	15489	$\pi \rightarrow \pi^*$	3b	266	38150	ILCT/ MLCT
	310	36810	$\pi \rightarrow \pi^*$		334	17200	ILCT
	462	7230	$n \rightarrow \pi^*$		376	30405	ICT
					582	3408	ILCT: $n \rightarrow \pi^*$
NQ4	228	23120	$\pi \rightarrow \pi^*$	4b	264	40408	ILCT/ MLCT
	312	53120	$\pi \rightarrow \pi^*$		334	16505	ILCT
	462	10573	$n \rightarrow \pi^*$		382	35268	ICT
					510	3537	ILCT: $n \rightarrow \pi^*$

4.4 Detecção de espécies reativas de oxigênio (ROS)

Devido a capacidade das naftoquinonas de geração de espécies reativas de oxigênio (ROS),⁹⁵ o composto **4b** foi selecionado para ter essa habilidade investigada em soluções de DMSO por EPR. Adicionalmente a estabilidade fotoquímica do complexo **4b** foi monitorada por UV-vis.

A Figura 4.68 apresenta a estabilidade fotoquímica de uma solução do complexo **4b** após irradiação com luz LED 375 nm e lâmpada RPR-4190 (400-450 nm). Em ambos os casos, a irradiação levou a diminuição da absorção de todas as bandas do complexo e não houve aparecimento de novas bandas. A fotólise exaustiva resultou no desaparecimento das bandas, quase que em sua totalidade (Figura 4.69A). Após a incidência da luz ser interrompida o sistema

não retornou à situação original (Figura 4.66A). A fotólise exaustiva também resultou na mudança de coloração da solução de azul para incolor (Figura 4.68B).

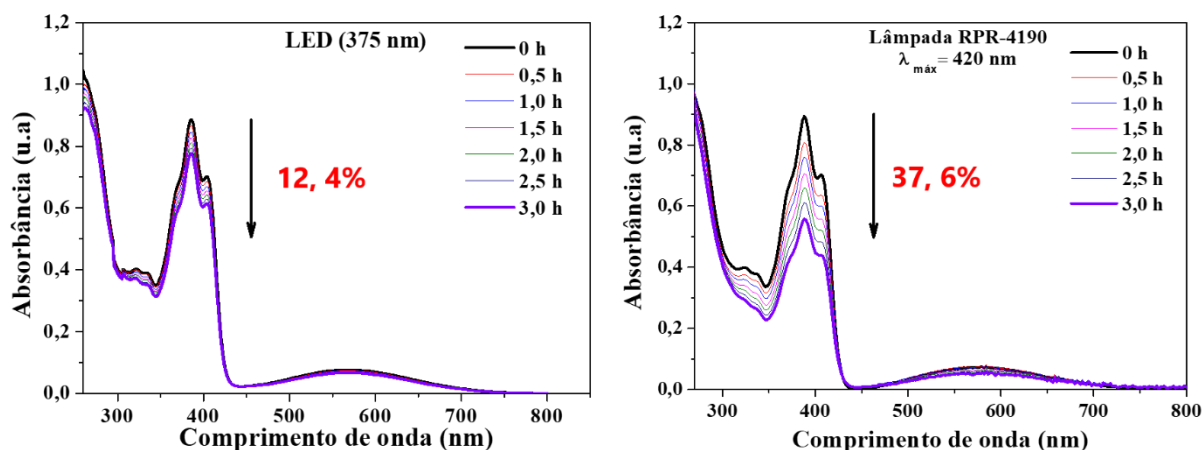


FIGURA 4.68: Espectros UV-vis do complexo **4b** (20 μ M) irradiados com luz LED 375 nm e lâmpada RPR-4190, em DMSO na presença de O_2 (sistema aberto).

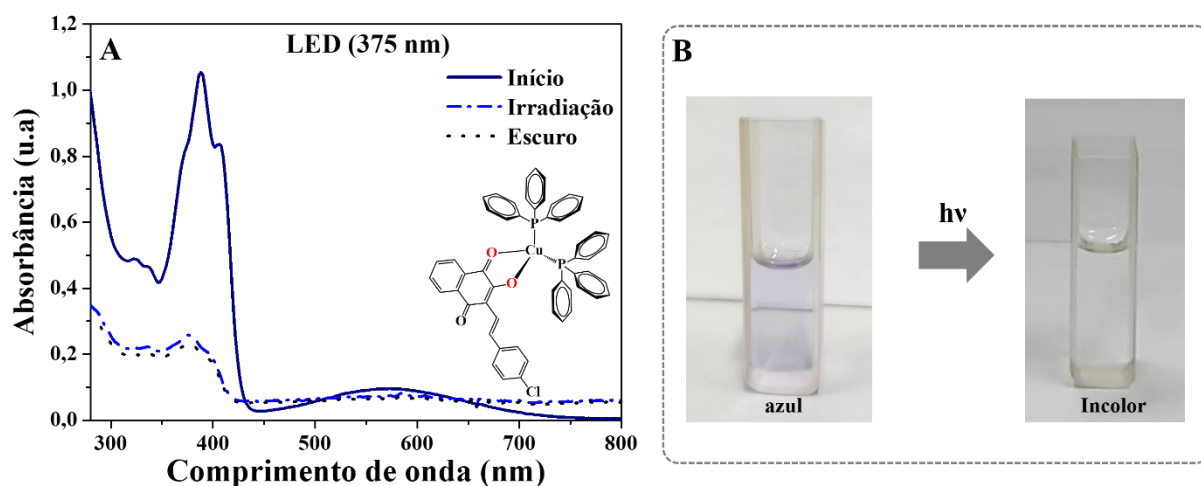


FIGURA 4.69: A) Volta térmica do complexo **4b** no escuro (20 μ M) em DMSO, acompanhada por UV-vis, após 19 h de irradiação com luz LED de 375 nm e B) Fotografias das cubetas no início e após 19 h de irradiação com luz LED de 375 nm.

Os resultados apresentados acima indicaram fotodegradação do complexo **4b**. Também foi observado que esse processo é dependente do

oxigênio, não sendo observada qualquer mudança do espectro do complexo **4b** quando este está ausente (Figura 4.70).

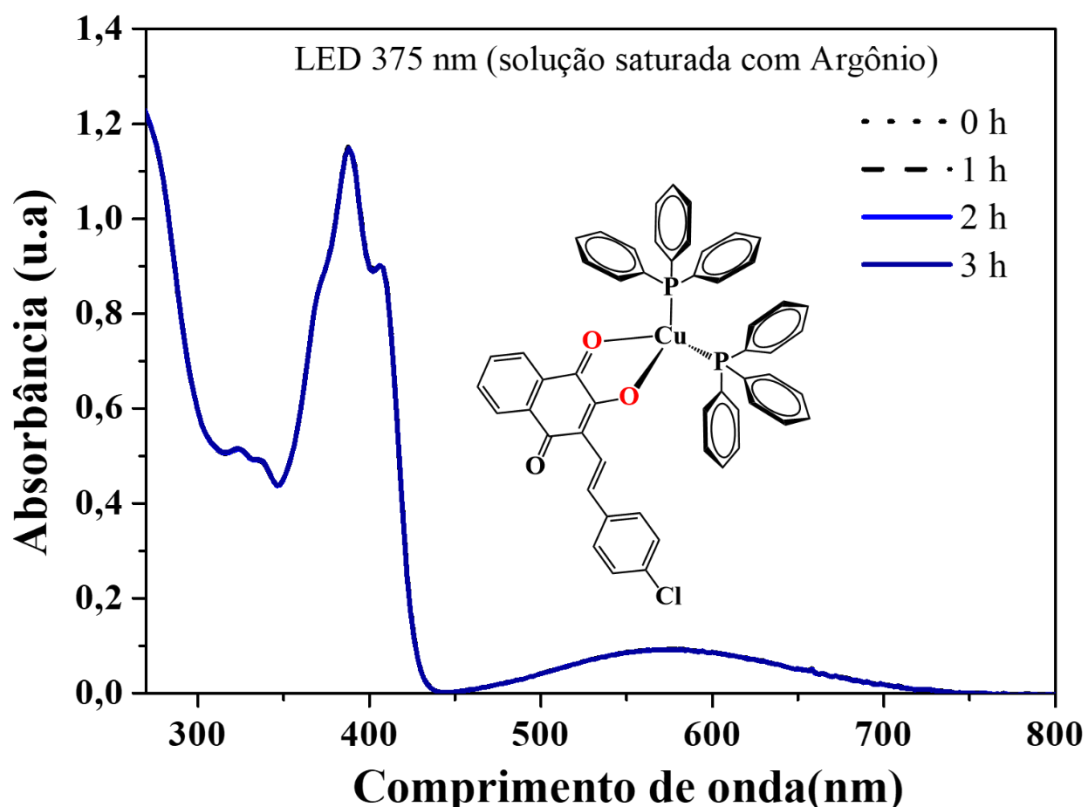


FIGURA 4.70: Espectros UV-vis de uma solução do complexo **4b** em DMSO (25 μ M) irradiado em diferentes tempos, na ausência de O_2 (solução saturada com Ar).

Para a detecção de ROS utilizamos a técnica de EPR “*spin trap*” DMPO.²¹⁵ Espécies reativas de oxigênio não podem ser detectadas diretamente por EPR devido aos seus tempos de vida curtos, entretanto, reagem rapidamente com os sequestradores de spins, como por exemplo, o DMPO formando adutos de spin estáveis que podem ser caracterizados pelo espectro de EPR.²¹⁵⁻²¹⁷ Portanto, uma solução do complexo **4b** foi monitorada por EPR na presença de oxigênio e irradiação (LED 375 nm) em diferentes tempos.

Foi observado que mesmo antes da irradiação, em um ambiente com baixa luminosidade o processo de formação de ROS é inicializado, sendo

identificada a formação do aduto característico da espécie $\cdot\text{OOH}$ (radical hidroperoxila), em DMSO. A identificação do aduto foi realizada através da simulação do espectro obtido experimentalmente (Figura 4.71A) e cujas constantes de acoplamento hiperfinas foram determinadas como $A_{\text{N1}} = 12,97$ G; $A_{\text{H1}} = 10,53$ G e $A_{\text{H2}} = 1,33$ G. Essas constantes correspondem àquelas relatadas na literatura para o aduto $\cdot\text{DMPO-OOH}$.²¹⁷ O esquema reacional da formação do aduto é mostrada na Figura 4.71B

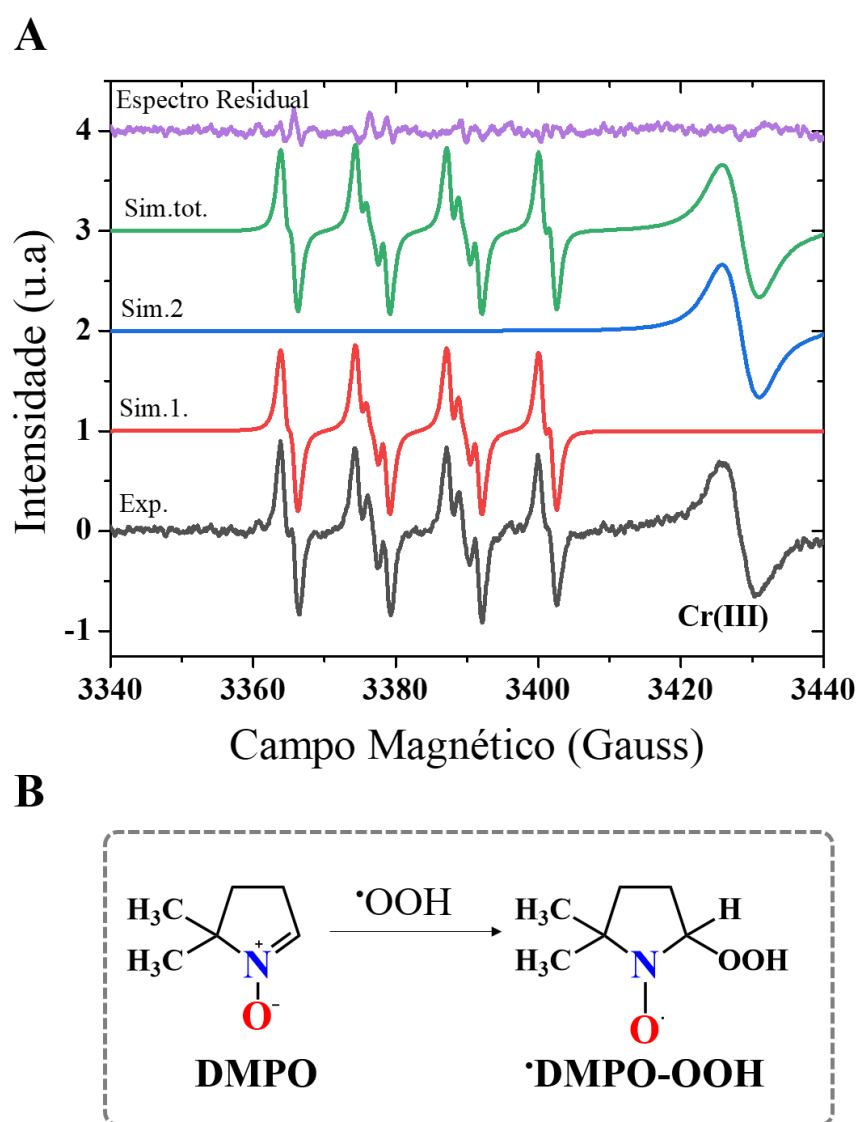


FIGURA 4.71: A) Espectros de EPR experimental e simulados de uma solução do complexo **4b** (10 μM) e DMPO (40 mM) em DMSO, antes da irradiação evidenciando a formação do aduto ($\cdot\text{DMPO-OOH}$) e B) Esquema reacional de formação do aduto ($\cdot\text{DMPO-OOH}$).

O processo de formação de ROS é potencializado à medida que o tempo de exposição da solução do complexo **4b**, à irradiação aumenta, conforme observado nas Figuras 4.72A e 4.72B. Também pode ser observado que o aduto $\cdot\text{DMPO-OOH}$ praticamente desaparece e se forma majoritariamente uma nova espécie que foi atribuído ao aduto $\cdot\text{DMPO-OH}$, formado pela reação do DMPO com o radical $\cdot\text{OH}$ (Figura 4.73A).

O aduto $\cdot\text{DMPO-OH}$ é conhecido por fornecer o sinal de EPR característico com intensidades de linhas 1:2:2:1 devido aos valores aproximadamente iguais de acoplamento hiperfinos $A_N \approx A_H \approx 1,49$ mT em soluções cujo solvente é a água. No entanto as características espectrais do aduto $\cdot\text{DMPO-OH}$ em DMSO apresentou um padrão de EPR completamente diferente, como pode ser observado na Figura 4.73B, com constantes de acoplamento hiperfinas $A_N = 1,395$ mT (13,95 G) e $A_{H1} = 1,181$ mT (11,81 G). Zalibera et al.,²¹⁸ em estudo anterior sobre a geração térmica de adutos de “*spin trap*” estáveis com estrutura super-hiperfina, mostraram que uma amostra contendo o aduto $\cdot\text{DMPO-OH}$ em solução aquosa apresentou o padrão típico de EPR com constantes $A_N = 1,493$ mT e $A_H = 1,474$ mT. Porém ao diluírem essa mesma amostra com o DMSO na proporção 1:1 (v/v), o padrão de EPR foi diferente, apresentando um conjunto de 6 linhas, semelhante ao apresentado para o aduto radicalar observado após a irradiação da amostra contendo o complexo **4b** e o “*spin trap*” DMPO. Segundo os autores a menor permissividade dielétrica da mistura DMSO/ água, quando comparado a água pura influencia significativamente as constantes de acoplamento hiperfinas e os sinais observados desviam-se amplamente do padrão clássico de intensidade de linha 1:2:2:1.²¹⁸

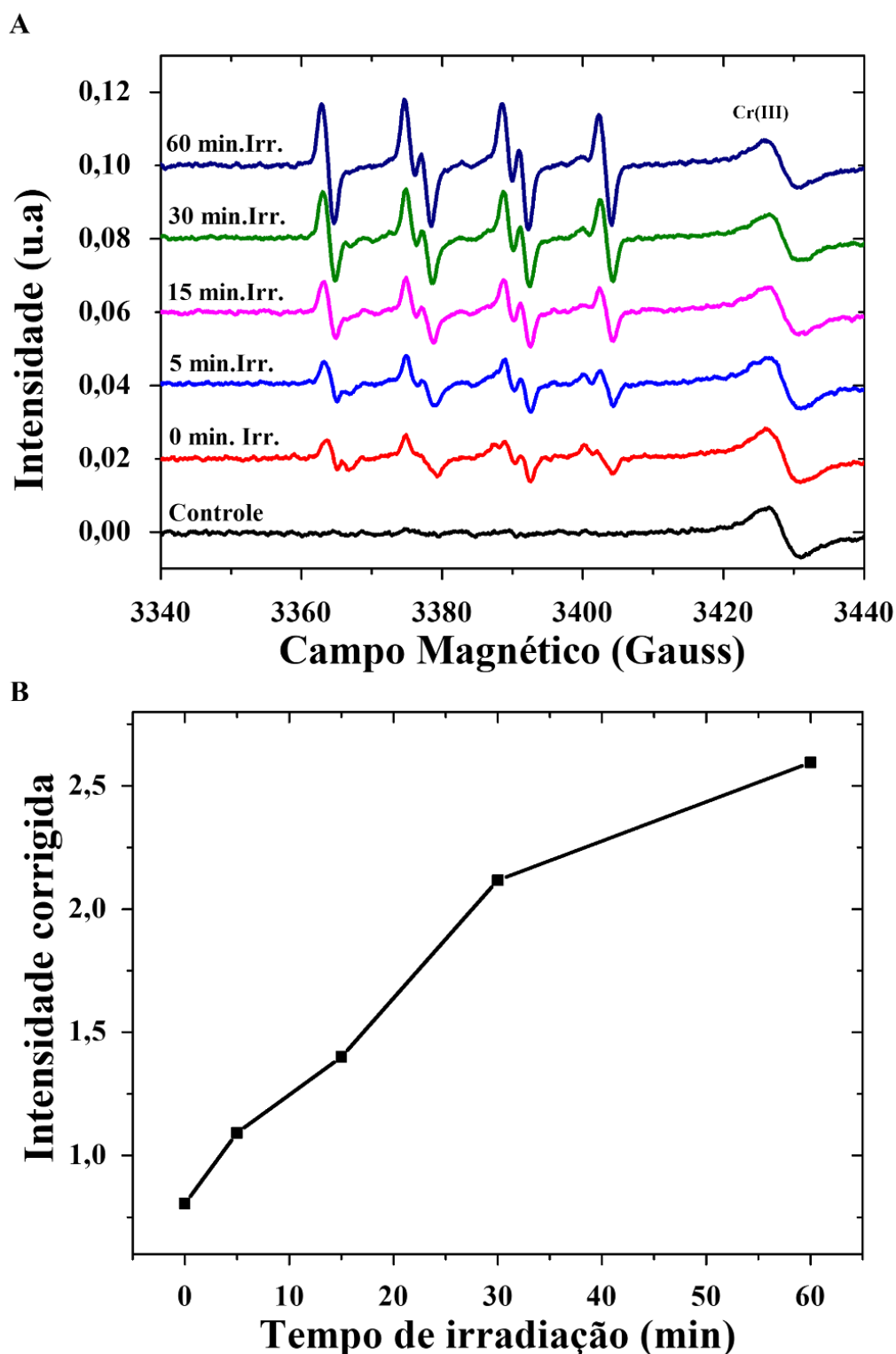


FIGURA 4.72: A) Espectros de EPR de uma solução do complexo **4b** ($10 \mu\text{M}$) e DMPO (40 mM), em DMSO obtidos ao longo de 60 min de irradiação evidenciando a formação dos adutos $\cdot\text{DMPO-OOH}$ e $\cdot\text{DMPO-OH}$ e B) Representação gráfica do aumento da intensidade do sinal de EPR em função do tempo de exposição a irradiação, da solução do complexo **4b**.

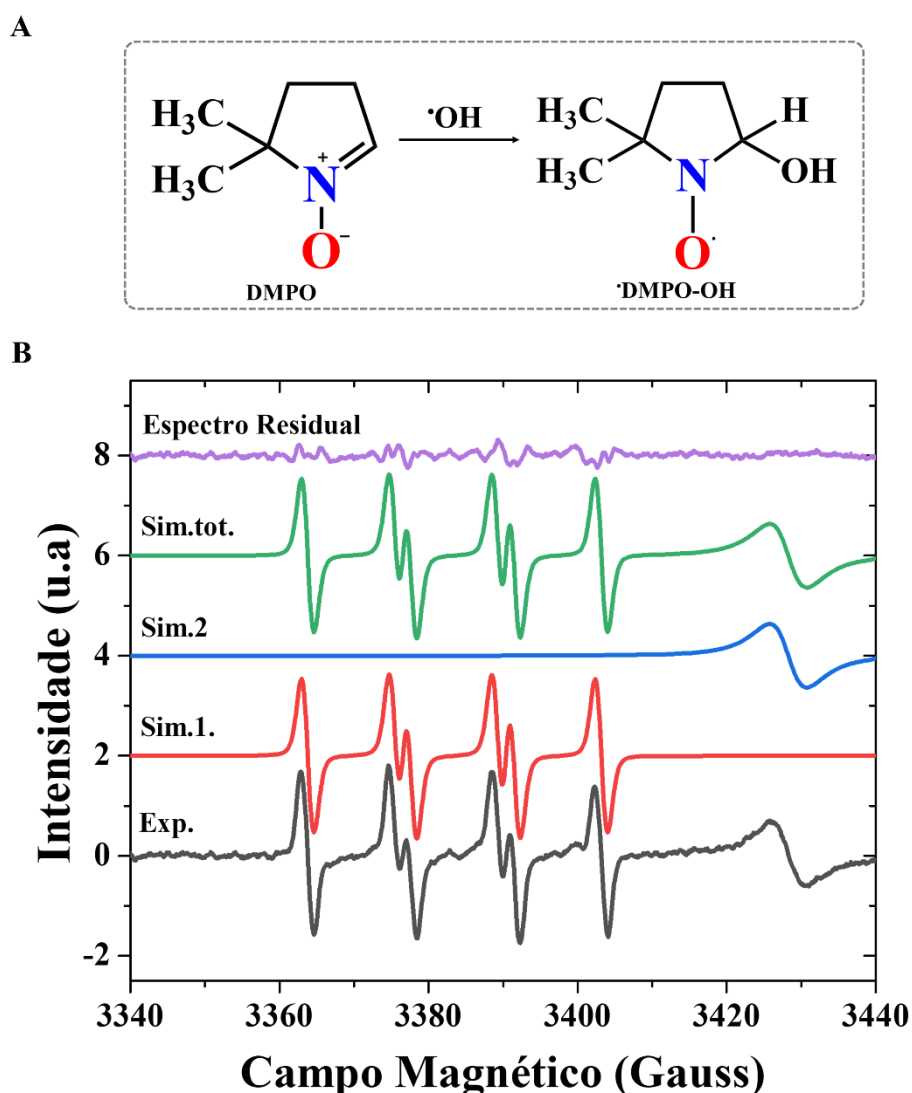


FIGURA 4.73: A) Esquema reacional de formação do aduto \cdot DMPO-OH e B) espectros de EPR experimental e simulados de uma solução do complexo **4b** (10 μ M) e DMPO (40 mM), em DMSO, após 60 min da irradiação evidenciando a formação do aduto \cdot DMPO-OH.

Os resultados obtidos para a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) mostram que os complexos da série 2 são capazes de gerar essas espécies, mesmo antes da irradiação podendo ter sua ação citotóxica nas células tumorais potencializada pela formação dessas espécies. No entanto neste trabalho o ensaio de formação de ROS intracelular não foi possível de ser realizado. Futuramente pretendemos investigar além da formação intracelular de ROS o mecanismo pelo qual essas espécies são formadas em DMSO. Os

parâmetros de EPR obtidos para os adutos radicalares são apresentados na Tabela 4.15.

TABELA 4.15: Parâmetros de EPR obtidos a partir da simulação dos espectros experimentais dos adutos \cdot DMPO-OOH e \cdot DMPO-OH.

Parâmetros de RPE		
	\cdot DMPO-OOH	\cdot DMPO-OH
g1	2,0060	2,0059
g2	1,9797	1,9797
lwpp1	[0,835 0,743] Gauss	[1,387 0,456] Gauss
lwpp2	[2,722 3,728] Gauss	[0,747 4,86] Gauss
A_{N1}	36,16 MHz = 12,97 Gauss	38,89 MHz = 13,95 Gauss
A_{H1}	29,37 MHz = 10,53 Gauss	32,93 MHz = 11,81 Gauss
A_{H2}	3, 71 MHz = 1,33 Gauss	

4.5 - Estabilidade e citotoxicidade *in vitro* dos complexos (série 2)

A estabilidade dos complexos da série **2** em solução de DMSO/meio cultura celular também foi investigada utilizando as técnicas de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e espectrofotometria UV-vis e o comportamento foi o mesmo observado para os complexos da série 1.

A Figura 4.74 mostra os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ das soluções dos complexos **1b-4b**, nos quais foi observado um singlete em torno de -4 ppm referente aos complexos e já no início do monitoramento um outro sinal em aproximadamente 28 ppm, atribuído à trifenilfosfina oxidada. Esse sinal aumenta com o tempo de exposição dos complexos à mistura DMSO (90 %)/meio de cultura (10%), indicando que os complexos não são estáveis nessas

condições, ocorrendo a labilização do ligante trifenilfosfina (PPh_3) e posterior oxidação a PPh_3O .

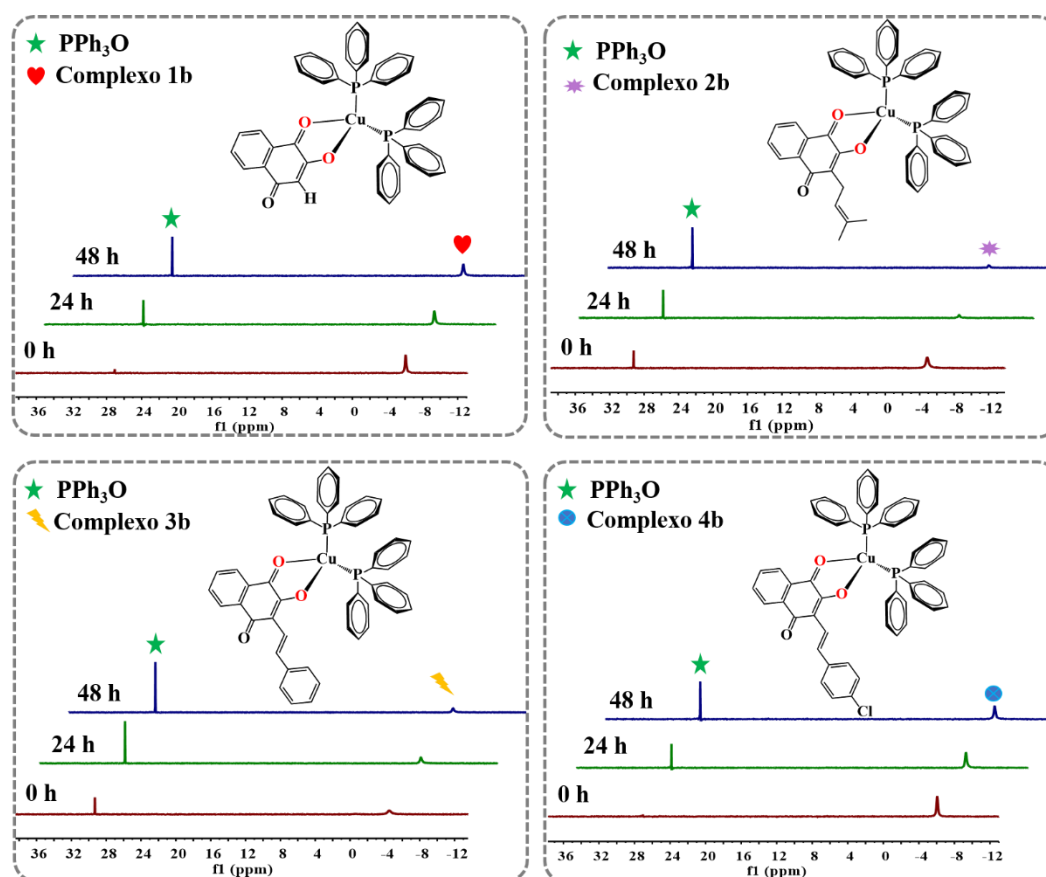


FIGURA 4.74: Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ de soluções saturadas dos complexos **1b-4b**, em uma mistura DMSO (90%)/ Meio de cultura (10%), em diferentes tempos de monitoramento.

Nos espectros das soluções dos complexos ($10\ \mu\text{M}$) monitoradas por espectrofotometria UV-vis ao longo de 48 h, foi observado que os complexos quando adicionados ao meio de cultura, sofrem decomposição indicada pela diminuição da intensidade das bandas de absorção referente aos complexos, corroborando com os resultados de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, assim como ocorreu para os complexos da série das aciltioureias.

Os espectros UV-vis das soluções dos complexos **1b-4b** são apresentados na Figura 4.75. As condições experimentais utilizadas neste

experimento foram as mesmas utilizadas nos testes biológicos (0,5% DMSO e 99,5% meio de cultura). Nos espectros dos complexos **3b** e **4b**, no tempo de 24 h uma banda com deslocamento para o azul em relação a banda do complexo é observada. Essa banda foi atribuída aos ligantes naftoquinonas livres, sugerindo que esse ligante também é labilizado do centro metálico, quando os complexos são expostos ao DMSO (0,5%)/ meio de cultura (99,5%). Essa atribuição baseou-se na comparação dos espectros dos complexos com os espectros dos ligantes livres nas mesmas condições experimentais (Figura A90).

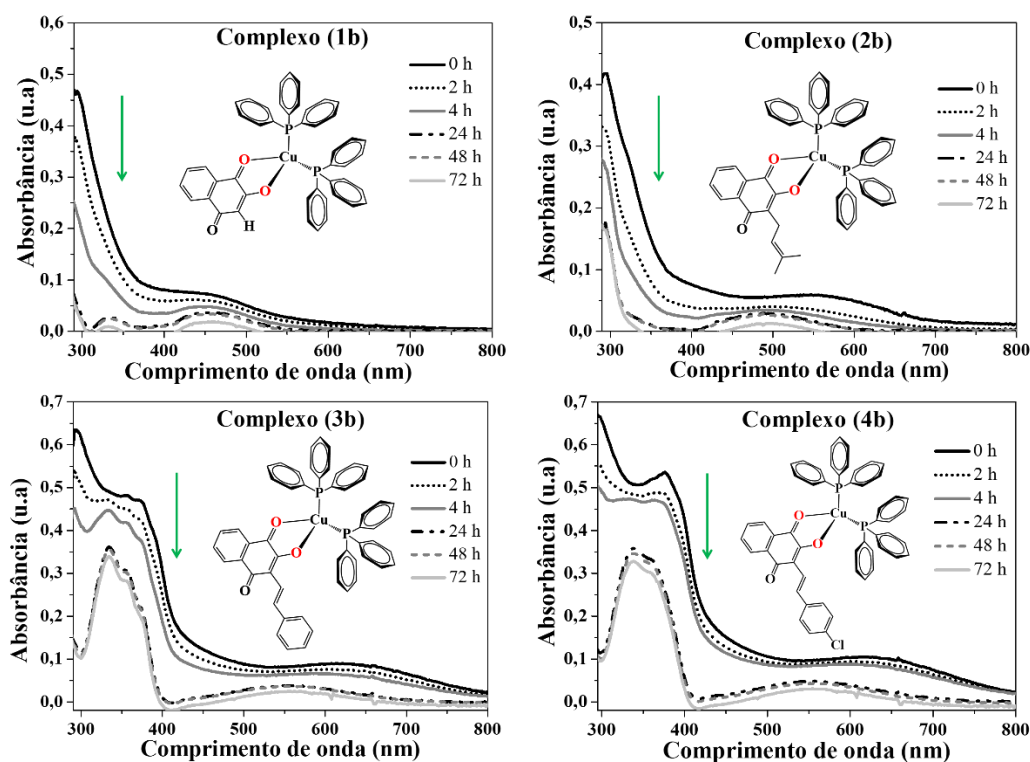


FIGURA 4.75: Espectros UV-vis de soluções 10 μM dos complexos **1b-4b**, em uma mistura DMSO (0,5%)/ Meio de cultura (99,5%), em diferentes tempos de monitoramento.

Os resultados de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e da espectrofotometria UV-vis sugerem que os ligantes são labilizados da esfera de coordenação e os complexos nas suas formas originais, nas mesmas condições experimentais dos ensaios biológicos já não existem no período de 24 h. No entanto, mesmo com a

labilização dos ligantes trifenilfosfina e naftoquinonas, os complexos são citotóxicos, enquanto que o sal de cobre precursor dos complexos e os ligantes livres não são, demonstrando a importância dos complexos **1b-4b** para a ação citotóxica, ainda que essa atividade seja semelhante a do complexo precursor $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2\text{NO}_3]$ conforme mostra os valores de IC_{50} descritos na Tabela 4.16. As curvas de concentração-resposta são mostradas na seção de apêndice na Figura A91. Vale ressaltar que o complexo $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2\text{NO}_3]$ também não é estável quando exposto ao meio de cultura celular, ocorrendo também a labilização do ligante PPh_3 como discutido anteriormente na seção dos complexos da série 1.

TABELA 4.16: Valores de IC_{50} obtidos para os complexos **1b-4b**, sal de Cu, ligantes, complexo precursor e cisplatina frente às linhagens celulares tumorais (MCF7, MDA-MB-231 e A549) e não tumorais (MCF-10A e MRC5) após 48 h de incubação com os compostos.

	Citotoxicidade após 48 h de incubação, IC_{50} (μM)				
	MCF7	MDA-MB-231	MCF-10A	A549	MRC-5
1b	15 ± 3	5,5 ± 0,3	5,9 ± 0,2	3,6 ± 0,3	2,7 ± 0,2
2b	9 ± 1	6,5 ± 0,3	4,4 ± 0,8	6,1 ± 0,4	3,3 ± 0,2
3b	11 ± 3	7,2 ± 0,3	5,4 ± 0,3	4,4 ± 0,1	2,88 ± 0,09
4b	7 ± 2	7,89 ± 0,08	4,0 ± 0,2	4,5 ± 0,1	3,4 ± 0,2
Cu(NO₃)₂·3H₂O	>25	>25	>25	>25	>25
Precursor	n.t	3,6 ± 0,2	n.t	n.t	2,4 ± 0,1
PPh₃	>25	>25	>25	>25	>25
Naftoquinonas	>25	>25	>25	>25	>25
Cisplatina	9 ± 3	2,4 ± 0,2	23,9 ± 0,7	14 ± 1	29,1 ± 0,8

n.t: não testado

De posse dos resultados de citotoxicidade, considerando que os complexos possuem efeitos citotóxicos semelhantes em todas as linhagens de células tumorais, os complexos **1b** e **4b** foram selecionados para estudos

biológicos mais detalhados na linhagem celular MDA-MB-231. Assim os complexos **1b** e **4b** foram investigados quanto a sua capacidade de alterar a morfologia celular, inibir a formação de colônias e inibir a migração celular através do ensaio de *Wound Healing*.

A citotoxicidade dos complexos **1b** e **4b** também foram determinadas no tempo de 24 h na linhagem MDA-MB-231 [$7 \pm 1 \mu\text{M}$ (**1b**) e $6,4 \pm 0,2$ (**4b**)]. Os valores de IC_{50} dos complexos nesse tempo foram similares aos valores obtidos no tempo de 48 h. A adição das naftoquinonas ao centro metálico, embora não tenha melhorado o IC_{50} com relação ao complexo precursor, provavelmente tem influência no mecanismo pelo qual os complexos são ativos. Curiosamente como observado pela espectrofotometria UV-vis, em 24 h todo o ligante naftoquinona já foi labilizado, e após esse tempo os complexos não tiveram sua atividade citotóxica melhorada nas células MDA-MB-231.

4.5.1 - Análise da Morfologia celular

A análise morfológica das células MDA-MB-231 tratadas com os complexos **1b** e **4b**, em diferentes concentrações, que corresponderam aos respectivos valores de $\frac{1}{2} \times \text{IC}_{50}$, IC_{50} e $2 \times \text{IC}_{50}$ dos complexos no tempo de 48 h, mostrou que os complexos apresentaram comportamento similar aos observados para os complexos da série 1 (Figura 4.77). No entanto, as alterações como diminuição da densidade celular, aparecimento de células redondas e perda de adesão celular foram principalmente observadas na concentração maior que a do IC_{50} e se intensificaram com o tempo de exposição das células aos complexos. Essas alterações são indicativos de que os complexos **1b** e **4b** nas concentrações maiores que a do IC_{50} podem induzir mais eficientemente a morte das células MDA-MB-231.

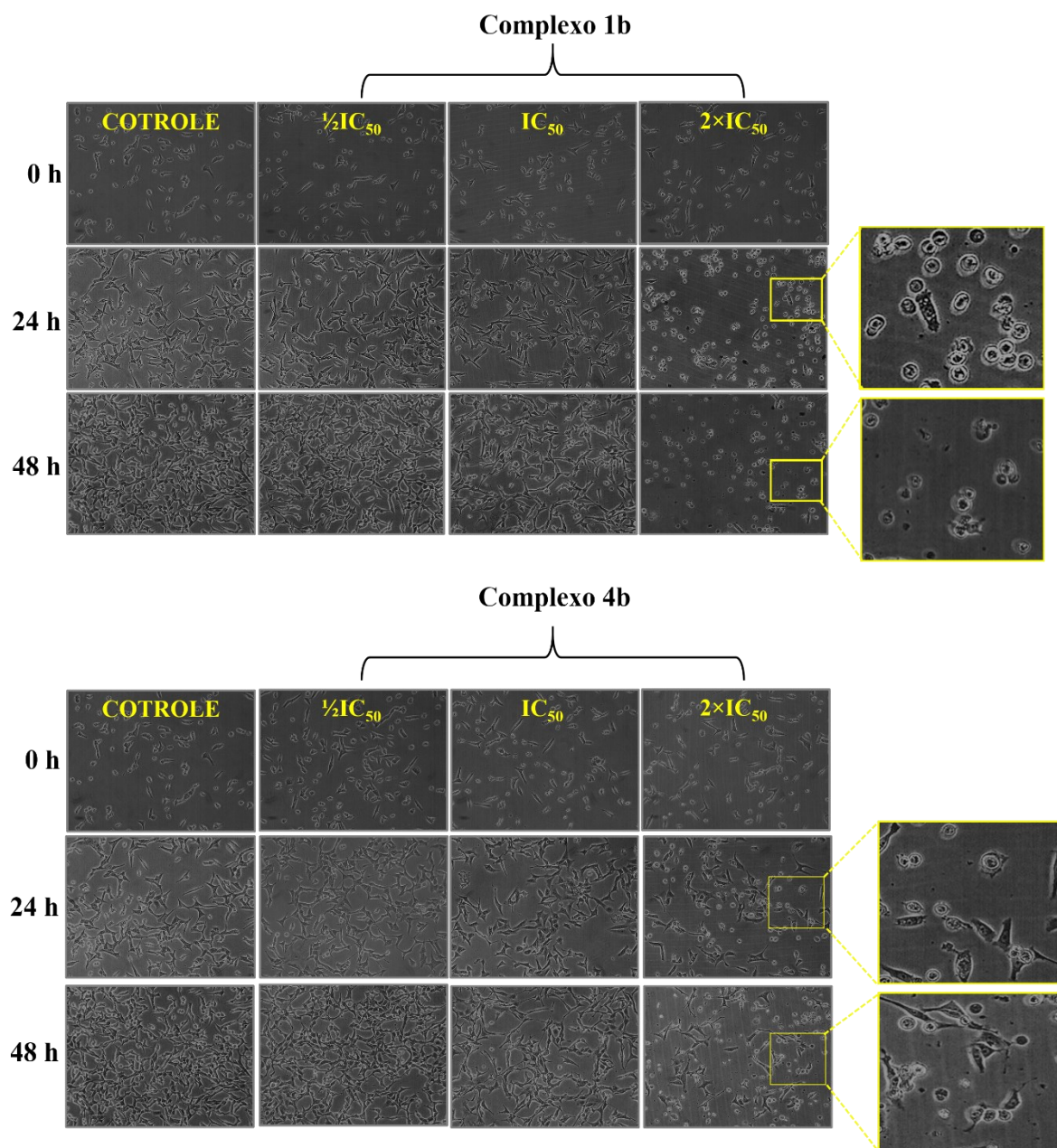


FIGURA 4.76: Micrografias das células MDA-MB-231 após tratamento com os complexos **1b** e **4b** em diferentes concentrações e tempos de exposição.

Na linhagem celular MCF-10A, o efeito na morfologia dos complexos **1b** e **4b** foi o mesmo apresentado para a linhagem MDA-MB-231, embora as alterações já sejam perceptíveis na concentração do IC_{50} (Figura 4.78), corroborando com o ensaio de MTT em que os valores de IC_{50} são similares em ambas as linhagens celulares.

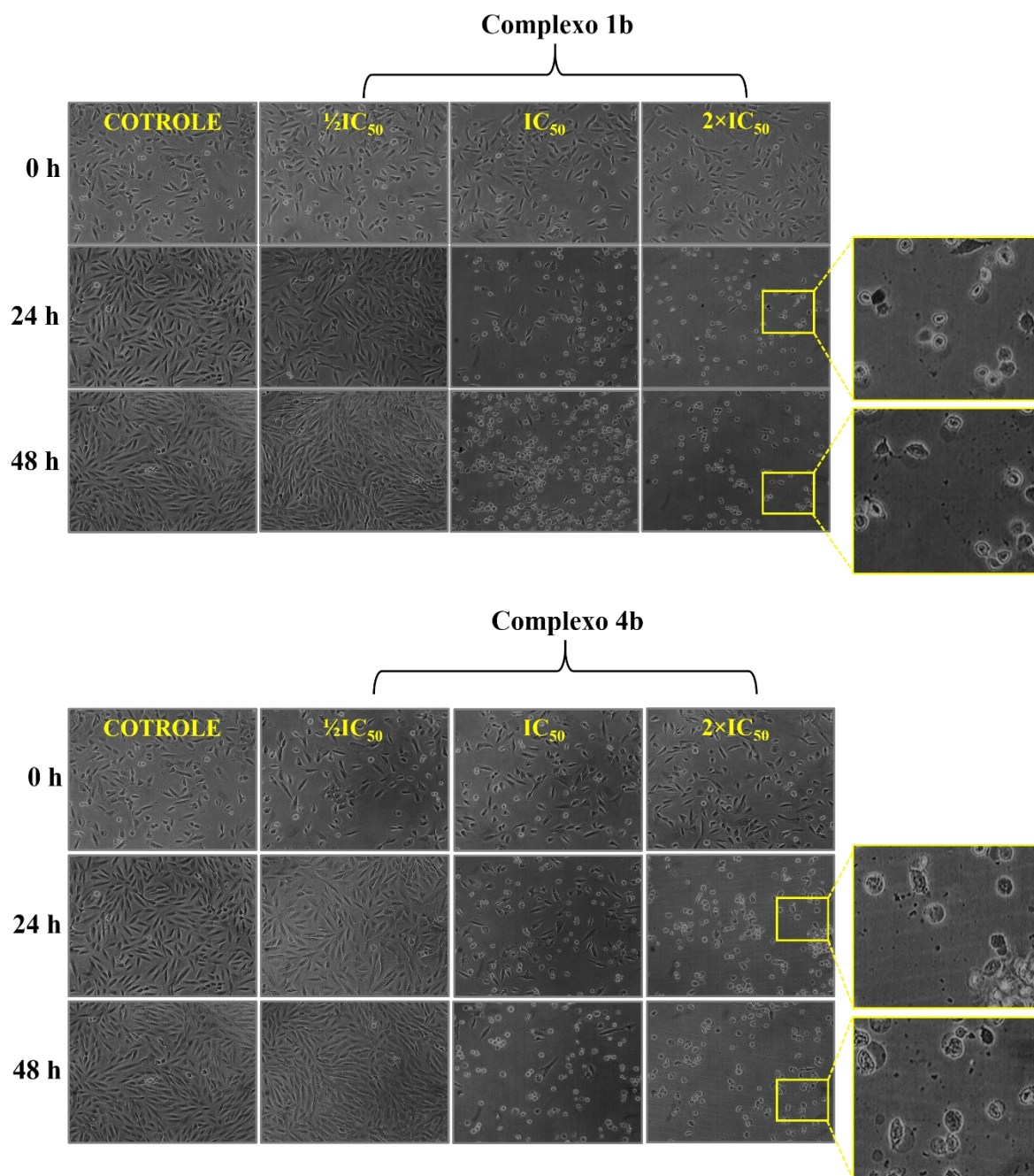


FIGURA 4.77: Micrografias das células MCF-10A após tratamento com os complexos **1b** e **4b** em diferentes concentrações e tempos de exposição.

4.5.2 - Ensaio de Formação de colônias

Os resultados obtidos no ensaio de formação de colônias mostraram que os complexos **1b** e **4b** não inibiram significativamente a área e a intensidade das colônias até a concentração do IC_{50} , sendo observado efeito inibitório apenas

na concentração $2\times IC_{50}$, (Figuras 4.79 e 4.80), diferente do que ocorreu para os complexos da série 1 que inibiram a formação de colônias de uma maneira dependente da concentração. Isto evidencia mais uma vez que a incorporação de diferentes ligantes ao complexo precursor modula os mecanismos pelos quais os compostos são ativos. Os complexos **1b** e **4b** mostraram-se, portanto, ser capazes de interferir nos processos de crescimento, desenvolvimento e multiplicação celular, além de serem citotóxicos apenas nas concentrações superiores à do IC_{50} na linhagem celular tumoral MDA-MB-231.

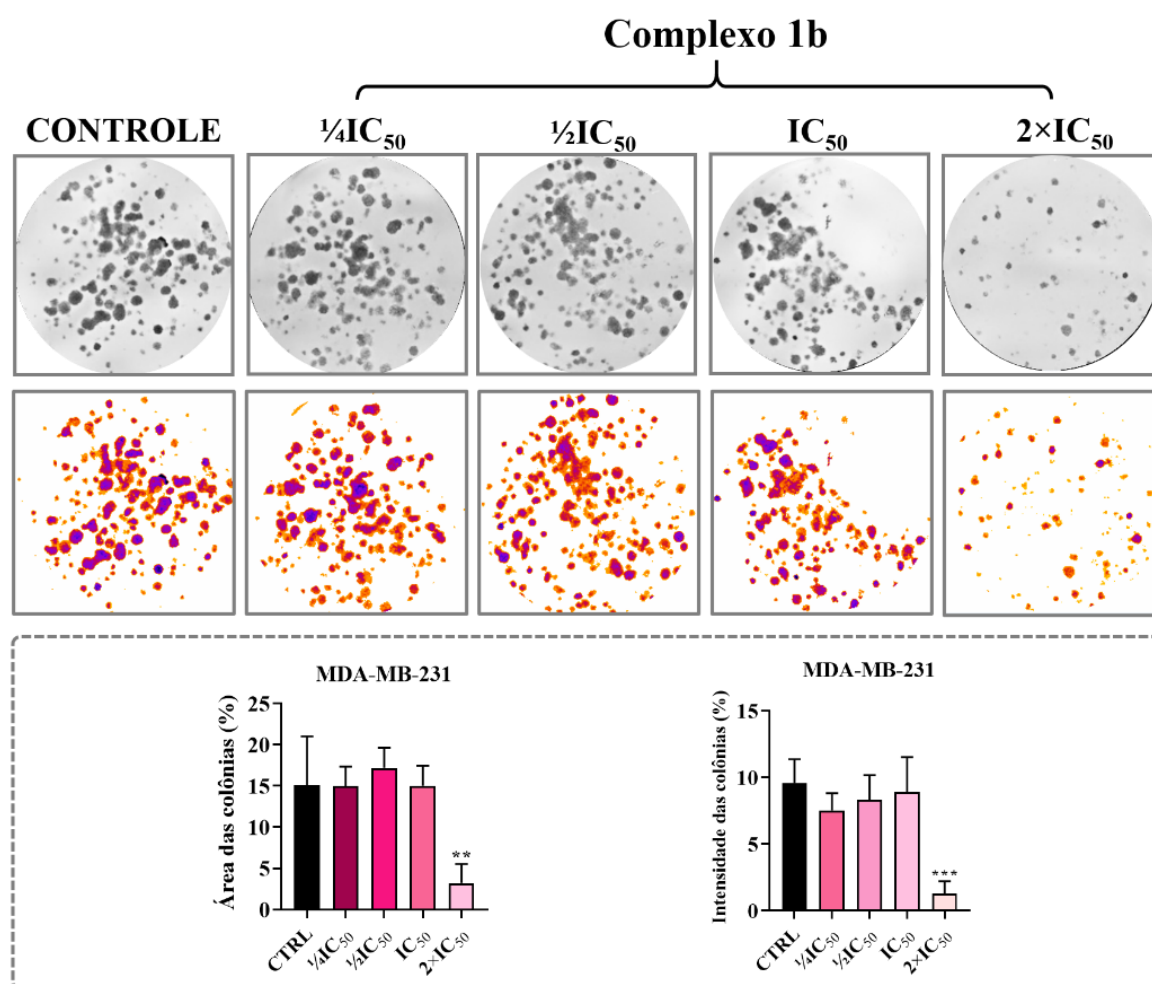


FIGURA 4.78: Sobrevivência clonogênica das células MDA-MB-231 tratadas com diferentes concentrações do complexo **1b** por 48 h. A representação dos poços e limiars para o experimento é mostrada junto com as quantificações gráficas da área e intensidade das colônias. Os dados representam a média \pm DP dos ensaios em triplicata. Significância nos níveis * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ usando ANOVA e teste Dunnet's.

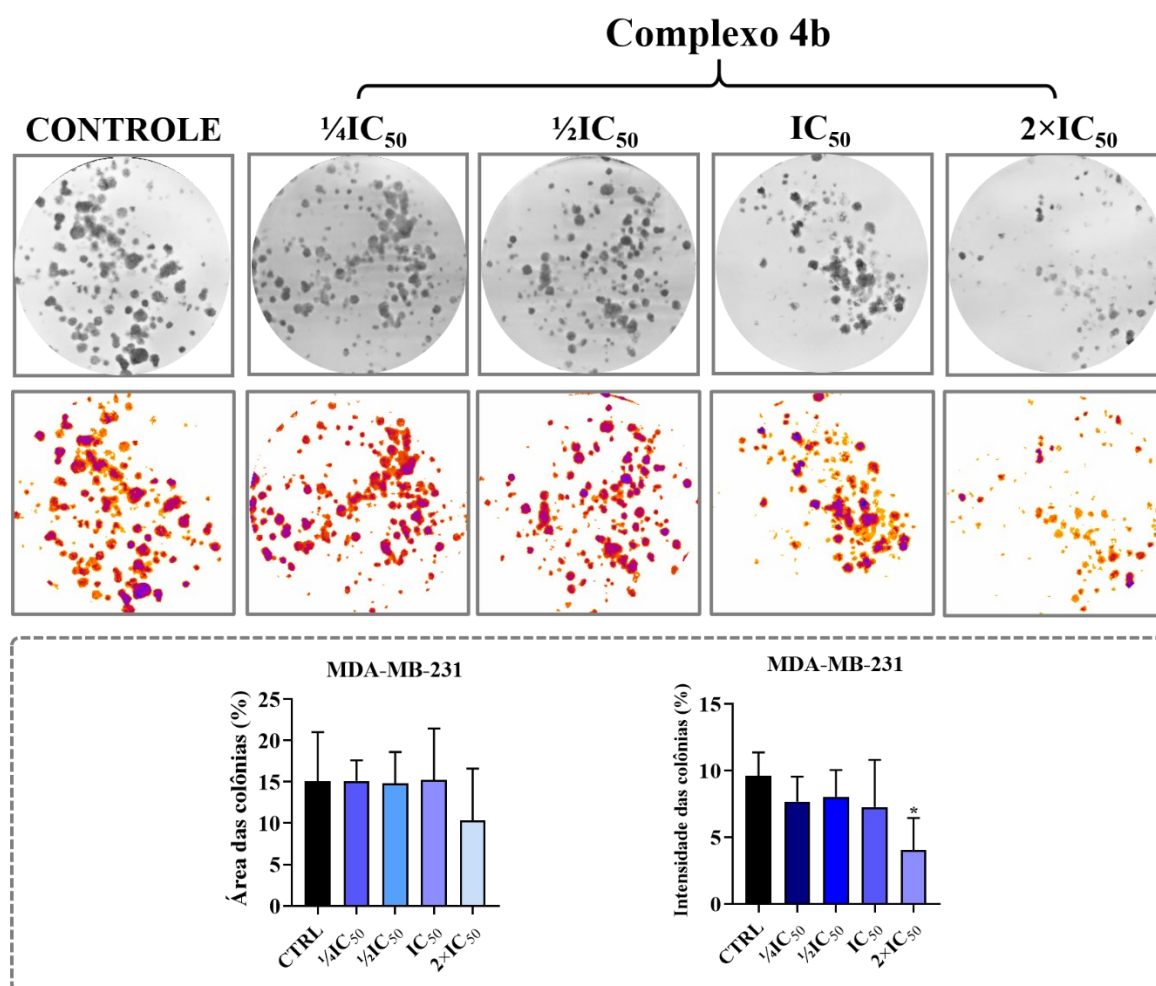


FIGURA 4.79: Sobrevivência clonogênica das células MDA-MB-231 tratadas com diferentes concentrações do complexo **4b** por 48 h. A representação dos poços e limiars para o experimento é mostrada junto com as quantificações gráficas da área e intensidade das colônias. Os dados representam a média \pm DP dos ensaios em triplicata. Significância nos níveis * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ usando ANOVA e teste Dunnet's.

4.5.3 - Ensaio de inibição da Migração (*Wound Healing*)

A migração celular está relacionada à metástase, que é o processo de disseminação das células cancerígenas do tumor primário para tecidos e órgãos distantes, sendo a principal causa de morte em decorrência do câncer,^{20,219-221} tornando o desenvolvimento de compostos capazes de inibir a migração uma importante estratégia para a terapia dessa doença. Dessa forma, os complexos **1b** e **4b** foram investigados quanto à suas capacidades de inibir a

migração celular através do ensaio de cicatrização de feridas (*Wound Healing*). Esse ensaio consiste na realização de um risco sobre a monocamada celular^{222,223} com confluência em torno de 80% e posterior tratamento com as soluções dos complexos.

Após o tratamento com os complexos de cobre, observou-se que o complexo **1b** é capaz de inibir a migração celular nas concentrações utilizadas, somente no tempo de 48 h, uma vez que na presença do complexo não houve fechamento completo da risca quando comparado ao controle, embora a inibição tenha sido apenas próxima de 20 % (Figura 4.81A). Já o complexo **4b** foi mais eficaz inibindo a migração já no tempo de 24 h na concentração $\frac{1}{2} \times IC_{50}$, sendo que em 48 h a inibição foi em torno de 40% (Figura 4.81B). Vale ressaltar que as concentrações utilizadas dos complexos foram abaixo da concentração do IC_{50} , para que o efeito observado fosse apenas de inibição da migração celular e não de efeito citotóxico. Também foi utilizada a Mitomicina C, um agente antiproliferativo²²⁴ para evitarmos a proliferação celular ao avaliarmos o fechamento da risca.

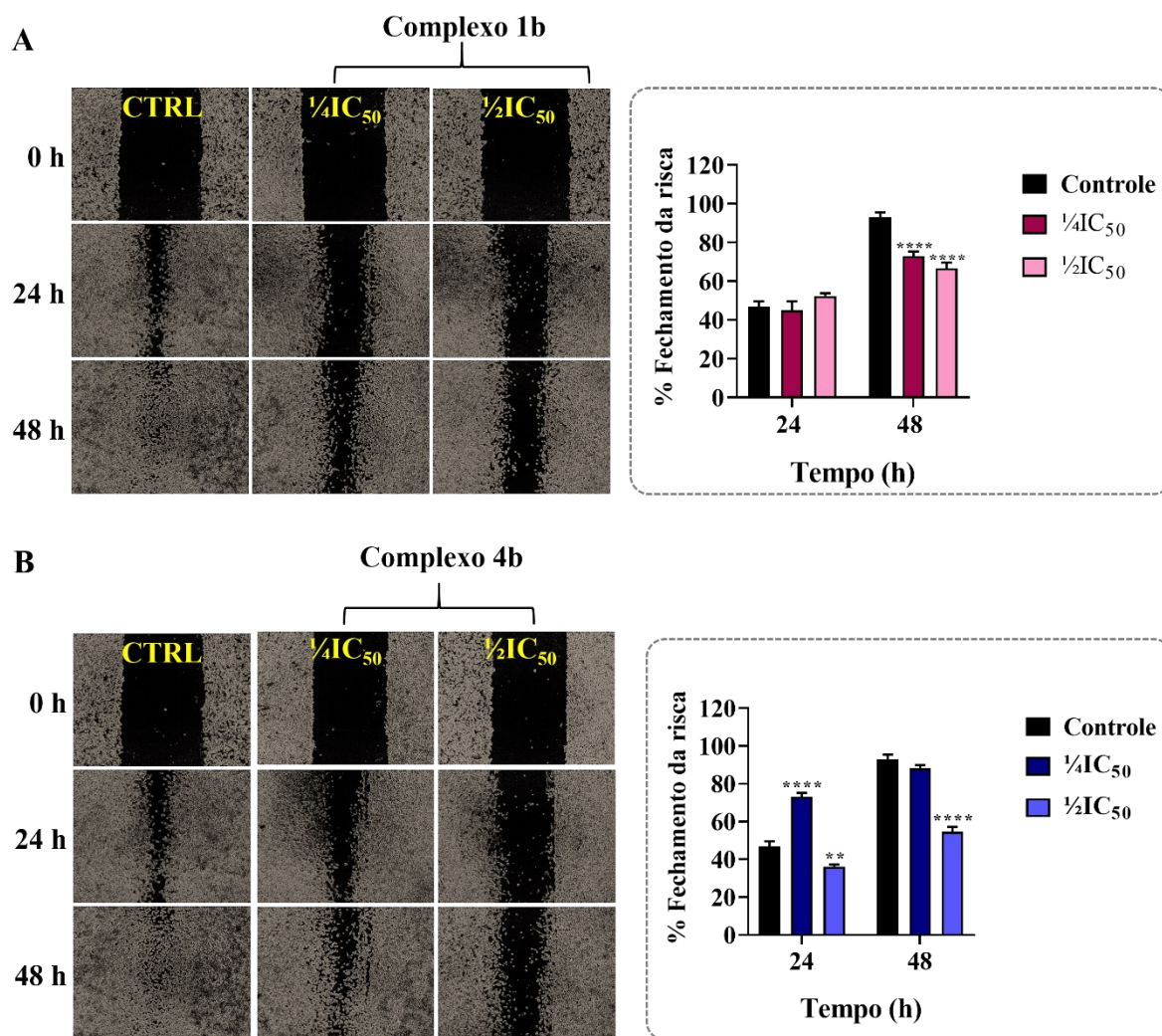


FIGURA 4.80: À esquerda, micrografias das células MDA-MB-231 obtidas no ensaio de *Wound Healing* no qual avaliou-se o efeito na migração celular dos complexos **1b** e **4b** nas concentrações $\frac{1}{4}IC_{50}$ e $\frac{1}{2}IC_{50}$. A objetiva utilizada no experimento foi a com aumento de 4 \times . À direita, representação gráfica da porcentagem de fechamento da risca após 24 e 48 h de incubação com os complexos. As imagens apresentadas são representativas de cada condição e os dados representam a média \pm DP dos ensaios em triplicata. Significância nos níveis * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ usando ANOVA e teste Dunnet's.

5 - CONCLUSÕES

Neste trabalho 12 complexos de Cu (I)/Trifenilfosfina contendo os ligantes aciltioureias e 4 contendo os ligantes naftoquinonas foram sintetizados e caracterizados pelo uso de diversas técnicas espectroscópicas, espectrométricas, análise elementar e difração de raios X. No aspecto estrutural, os complexos **1a-6a** se destacaram por apresentarem o modo de coordenação bidentado (S,O) e neutro para os ligantes aciltioureias, que é pouco usual, tornando esses complexos relatos importantes para esse modo de coordenação. Vimos que as ligações de hidrogênio são importantes para a estabilização desse modo de coordenação dos ligantes aciltioureias.

Na caracterização dos complexos **1-6** a técnica de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ se destacou por apresentar o padrão de deslocamento químico incomum, para os carbonos C=O e C=S do ligante aciltioureia após a coordenação. Vimos que no caso desses carbonos apenas o C=O deslocou-se para região mais desblindada do espectro, enquanto o C=S permaneceu inalterado, mesmo ocorrendo deslocalização eletrônica após a coordenação bidentada (S, O) e aniônica dos ligantes de aciltioureias. Com base nos cálculos DFT sugerimos que esse padrão incomum está associado a efeitos relativísticos que provavelmente interferem na blindagem desses carbonos, que são átomos vizinhos aos átomos diretamente ligados ao centro de Cu(I).

Os complexos **1b-4b** do ponto de vista químico e biológico chamam atenção pela sua capacidade de geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), como comprovado para o complexo **4b** através da técnica de ressonância paramagnética eletrônica (EPR)/ “*spin trap*” DMPO. Vimos que o complexo **4b** é capaz de formar as espécies radicalares $\cdot\text{OOH}$ e $\cdot\text{OH}$ em DMSO. Essas espécies estão envolvidas em processos biológicos importantes como por exemplo, o processo de produção de energia. No entanto quando em excesso podem gerar estresse oxidativo, que para a aplicabilidade dos complexos como

agentes citotóxicos para células tumorais é interessante pois podem sinalizar ou induzir as células à morte e embora não tenhamos investigados a produção de ROS diretamente nas células é totalmente possível que essas espécies ocorram já que os ligantes naftoquinonas são reconhecidamente compostos capazes de gerar ROS.

Os complexos de ambas as séries de ligantes compartilharam a característica de serem instáveis quando expostos ao meio de cultura celular, o que influenciou diretamente na citotoxicidade *in vitro* desses complexos. Os resultados relatados mostraram que os complexos são citotóxicos para todas as linhagens celulares testadas e embora instáveis, os complexos originalmente adicionados são importantes para o dano celular, uma vez que os ligantes livres ou o sal precursor de cobre dos complexos não são ativos. Vimos também que os ligantes aciltioureas e naftoquinonas provavelmente modularam os mecanismos de ação dos complexos, uma vez que em estudos biológicos mais detalhados as duas séries de compostos apresentam diferenças perceptíveis, como por exemplo, o fato dos complexos agirem de diferentes formas no ensaio de formação de colônias. Os complexos da série das aciltioureas inibiram a formação das colônias de uma maneira concentração-dependente, enquanto que o efeito inibitório dos complexos da série das naftoquinonas só foram observados na concentração $2 \times IC_{50}$.

De modo geral os resultados dos ensaios morfológico, formação de colônia, ciclo celular e apoptose evidenciam o comportamento citotóxico e citostáticos dos complexos **1** e **1a**, da série dos ligantes aciltioureas. Os complexos **1** e **1a** alteraram significativamente o citoesqueleto das células MDA-MB-231, reduzindo a densidade e promovendo a condensação dos filamentos de F-actina. Promoveram o aumento das células com DNA fragmentado (sub-G0) e induziram às células a morte por apoptose. Os complexos da série das naftoquinonas **1b** e **4b** alteraram a morfologia das

células MDA-MB-231, inibiram a formação de colônias em concentrações maiores que a do IC₅₀ e foram capazes de inibir a migração celular.

Este trabalho é, portanto, um importante estudo que contribui para o desenvolvimento de trabalhos futuros que visem compreender a potencialidade dos complexos de cobre para uso medicinal. Não menos significativo que as propriedades biológicas dos complexos de cobre (I), suas propriedades química e estrutural trazem grande contribuição para a literatura, uma vez que os complexos apresentaram características singulares, como por exemplo, o padrão de deslocamento de RMN de ¹³C dos carbonos C=S e C=O incomum para complexos **1-6**, ou o modo de coordenação bidentado (S, O) e neutro da aciltiourea, nos complexos **1a-6a**, que é pouco observado em complexos metálicos.

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, 2021.
2. SINGH, S. Preclinical pharmacokinetics: an approach towards safer and efficacious drugs. *Curr. Drug Metab.*, 7 (2): 165, 2006.
3. ANDRADE, E. L.; BENTO, A. F.; CAVALLI, J.; OLIVEIRA, S. K.; SCHWANKE, R. C.; SIQUEIRA, J. M.; FREITAS, C. S.; MARCON, R.; CALIXTO, J. B. Non-clinical studies in the process of new drug development - part ii: good laboratory practice, metabolism, pharmacokinetics, safety and dose translation to clinical studies. *Brazilian J. Med. Biol. Res. = Rev. Bras. Pesqui. medicas e Biol.*, 49 (12): e5646, 2016.
4. FDA (Food and Drug Administration – USA). The Drug Development Process. Acessado em: <https://www.fda.gov/patients/learn-about-drug-and-device-approvals/drug-development-process>.
5. SANTINI, C.; PELLEI, M.; GANDIN, V.; PORCHIA, M.; TISATO, F.; MARZANO, C. Advances in copper complexes as anticancer agents. *Chem. Rev.*, 114 (1): 815, 2014.
6. DENOYER, D.; MASALDAN, S.; LA FONTAINE, S.; CATER, M. A. Targeting copper in cancer therapy: “copper that cancer.” *Metallomics*, 7 (11): 1459, 2015.
7. MOLINARO, C.; MARTORIATI, A.; PELINSKI, L.; CAILLIAU, K. Copper complexes as anticancer agents targeting topoisomerases I and II. *Cancers (Basel)*, 12 (10): 1, 2020.
8. LI, D.-D.; YAGÜE, E.; WANG, L.-Y.; DAI, L.-L.; YANG, Z.-B.; ZHI, S.; ZHANG, N.; ZHAO, X.-M.; HU, Y.-H. Novel copper complexes that inhibit the proteasome and trigger apoptosis in triple-negative breast cancer cells. *ACS Med. Chem. Lett.*, 10 (9): 1328, 2019.
9. KOMARNICKA, U. K.; KOZIEŁ, S.; ZABIEROWSKI, P.; KRUSZYŃSKI, R.; LESIÓW, M. K.; TISATO, F.; PORCHIA, M.; KYZIOŁ, A. Copper(I) complexes with phosphines P(p-OCH₃-Ph)₂CH₂OH and P(p-OCH₃-Ph)₂CH₂SarGly. Synthesis, multimodal dna interactions, and prooxidative and in vitro antiproliferative activity. *J. Inorg. Biochem.*, 203 (I): 110926, 2020.

10. SÎRBU, A.; PALAMARCIUC, O.; BABAK, M. V.; LIM, J. M.; OHUI, K.; ENYEDY, E. A.; SHOVA, S.; DARVASIOVÁ, D.; RAPTA, P.; ANG, W. H.; ARION, V. B. Copper(II) thiosemicarbazone complexes induce marked ROS accumulation and promote Nrf2-mediated antioxidant response in highly resistant breast cancer cells. *Dalt. Trans.*, 46 (12): 3833, 2017.
11. COLINA-VEGAS, L.; LUNA-DULCEY, L.; PLUTÍN, A. M.; CASTELLANO, E. E.; COMINETTI, M. R.; BATISTA, A. A. Half Sandwich Ru(II)-Acylthiourea complexes: DNA/HSA-binding, anti-migration and cell death in a human breast tumor cell line. *Dalt. Trans.*, 46 (38): 12865, 2017.
12. CUNHA, B. N.; COLINA-VEGAS, L.; PLUTÍN, A. M.; SILVEIRA, R. G.; HONORATO, J.; OLIVEIRA, K. M.; COMINETTI, M. R.; FERREIRA, A. G.; CASTELLANO, E. E.; BATISTA, A. A. Hydrolysis reaction promotes changes in coordination mode of Ru(II)/Acylthiourea organometallic complexes with cytotoxicity against human lung tumor cell lines. *J. Inorg. Biochem.*, 186: 147, 2018.
13. CUNHA, B. N.; LUNA-DULCEY, L.; PLUTIN, A. M.; SILVEIRA, R. G.; HONORATO, J.; CAIRO, R. R.; DE OLIVEIRA, T. D.; COMINETTI, M. R.; CASTELLANO, E. E.; BATISTA, A. A. Selective coordination mode of acylthiourea ligands in half-sandwich Ru(II) complexes and their cytotoxic evaluation. *Inorg. Chem.*, 59 (7): 5072, 2020.
14. DE OLIVEIRA, T. D.; PLUTÍN, A. M.; LUNA-DULCEY, L.; CASTELLANO, E. E.; COMINETTI, M. R.; BATISTA, A. A. Cytotoxicity of Ruthenium-N,N-Disubstituted-N'-Acylthioureas complexes. *Mater. Sci. Eng.*, 115: 111106, 2020.
15. OLIVEIRA, K. M.; PETERSON, E. J.; CARROCCIA, M. C.; COMINETTI, M. R.; DEFLON, V. M.; FARRELL, N. P.; BATISTA, A. A.; CORREA, R. S. Ru(II)-Naphthoquinone complexes with high selectivity for triple-negative breast cancer. *Dalt. Trans.*, 49 (45): 16193, 2020.
16. OLIVEIRA, K. M.; HONORATO, J.; DEMIDOFF, F. C.; SCHULTZ, M. S.; NETTO, C. D.; COMINETTI, M. R.; CORREA, R. S.; BATISTA, A. A. Lapachol in the design of a new ruthenium(ii)-diphosphine complex as a promising anticancer metallodrug. *J. Inorg. Biochem.*, 214: 111289, 2021.
17. STRATTON, M. R.; CAMPBELL, P. J.; FUTREAL, P. A. The cancer genome. *Nature*, 458 (7239): 719, 2009.
18. HASSANPOUR, S. H.; DEGHANI, M. Review of Cancer from

Perspective of Molecular. *J. Cancer Res. Pract.*, 4 (4): 127, 2017.

19. GRESS, D. M.; EDGE, S. B.; GREENE, F. L.; WASHINGTON, M. K.; ASARE, E. A.; BRIERLEY, J. D.; BYRD, D. R.; COMPTON, C. C.; JESSUP, J. M.; WINCHESTER, D. P.; AMIN, M. B.; GERSHENWALD, J. E. *AJCC Cancer Staging Manual. AJCC Cancer Staging Man.* 2017.

20. MEHLEN, P.; PUISIEUX, A. Metastasis: A question of life or death. *Nat. Rev. Cancer*, 6 (6): 449, 2006.

21. BRAY, F.; FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; SIEGEL, R. L.; TORRE, L. A.; JEMAL, A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. Cancer J. Clin.*, 68 (6): 394, 2018.

22. SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R. L.; LAVERSANNE, M.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A.; BRAY, F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. Cancer J. Clin.* 2021, 0 (0): 1, 2021.

23. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Estimativa 2020 : incidência de câncer no brasil, Rio de Janeiro, 2019.

24. MILLER, K. D.; NOGUEIRA, L.; MARIOTTO, A. B.; ROWLAND, J. H.; YABROFF, K. R.; ALFANO, C. M.; JEMAL, A.; KRAMER, J. L.; SIEGEL, R. L. Cancer treatment and survivorship statistics, 2019. *CA. Cancer J. Clin.*, 69 (5): 363, 2019.

25. DICKENS, E.; AHMED, S. Principles of cancer treatment by chemotherapy. *Surg.*, 36 (3), 134, 2018.

26. JONES, R.; OCEN, J. Cytotoxic chemotherapy: clinical aspects. *Med. (United Kingdom)*, 48 (2): 97, 2020.

27. NEVES, A. P.; VARGAS, M. D. Platinum(II) complexes in cancer therapy. *Rev. Virtual Quim.*, 3 (3): 196, 2011.

28. MUGGIA, F. M.; BONETTI, A.; HOESCHELE, J. D.; ROZENCWEIG, M.; HOWELL, S. B. Platinum antitumor complexes: 50 years since Barnett Rosenberg's discovery. *J. Clin. Oncol.*, 33 (35): 4219, 2015.

29. FLOREA, A. M.; BÜSSELBERG, D. Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects.

Cancers (Basel). 2011, 3 (1), 1351–1371.

30. OUN, R.; MOUSSA, Y. E.; WHEATE, N. J. The side effects of Platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists. *Dalt. Trans.*, 47 (19): 6645, 2018.

31. MANOHAR, S.; LEUNG, N. Cisplatin nephrotoxicity: a review of the literature. *J. Nephrol.*, 31 (1): 15, 2018.

32. Qi, L.; Luo, Q.; Zhang, Y.; Jia, F.; Zhao, Y.; Wang, F. Advances in Toxicological Research of the Anticancer Drug Cisplatin. *Chem. Res. Toxicol.* 2019, 32 (8), 1469–1486. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.9b00204>.

33. KHOURY, A.; DEO, K. M.; ALDRICH-WRIGHT, J. R. Recent advances in platinum-based chemotherapeutics that exhibit inhibitory and targeted mechanisms of action. *J. Inorg. Biochem.*, 207, 111070, 2020.

34. DASARI, S.; BERNARD TCHOUNWOU, P. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur. J. Pharmacol.*, 740, 364, 2014.

35. DEO, K. M.; ANG, D. L.; MCGHIE, B.; RAJAMANICKAM, A.; DHIMAN, A.; KHOURY, A.; HOLLAND, J.; BJELOSEVIC, A.; PAGES, B.; GORDON, C.; ALDRICH-WRIGHT, J. R. Platinum coordination compounds with potent anticancer activity. *Coord. Chem. Rev.*, 375, 148, 2018.

36. TCHOUNWOU, P. B.; DASARI, S.; NOUBISSI, F. K.; RAY, P.; KUMAR, S. Advances in our understanding of the molecular mechanisms of action of cisplatin in cancer therapy. *J. Exp. Pharmacol.*, 13, 303, 2021.

37. CHEN, S. H.; CHANG, J. Y. New insights into mechanisms of cisplatin resistance: from tumor cell to microenvironment. *Int. J. Mol. Sci.*, 20 (17): 1, 2019.

38. AMABLE, L. Cisplatin resistance and opportunities for precision medicine. *Pharmacol. Res.*, 106, 27, 2016.

39. ZLATIC, S.; COMSTRA, H. S.; GOKHALE, A.; PETRIS, M. J.; FAUNDEZ, V. Molecular basis of neurodegeneration and neurodevelopmental defects in Menkes disease. *Neurobiol. Dis.*, 81, 154, 2015.

40. BANDMANN, O.; WEISS, K. H.; KALER, S. G. Wilson's disease and other neurological copper disorders. *Lancet Neurol.*, 14 (1): 103, 2015.

41. AHUJA, A.; DEV, K.; TANWAR, R. S.; SELWAL, K. K.; TYAGI, P. K. Copper mediated neurological disorder: visions into amyotrophic lateral sclerosis, Alzheimer and Menkes disease. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 29, 11, 2015.
42. PRASAD, A. N.; OJHA, R. Menkes disease: what a multidisciplinary approach can do. *J. Multidiscip. Healthc.*, 9, 371, 2016.
43. WU, F.; WANG, J.; PU, C.; QIAO, L.; JIANG, C. Wilson's disease: a comprehensive review of the molecular mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.*, 16 (12): 6419, 2015.
44. RUSSELL, K.; GILLANDERS, L. K.; ORR, D. W.; PLANK, L. D. Dietary copper restriction in Wilson's disease review-article. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 72 (3): 326, 2018.
45. LUTSENKO, S. Human copper homeostasis: a network of interconnected pathways. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 14 (2): 211, 2010.
46. INESI, G. Molecular Features of Copper Binding Proteins Involved in Copper Homeostasis. *IUBMB Life*, 69 (4): 211, 2017.
47. TOKUDA, E.; FURUKAWA, Y. Copper homeostasis as a therapeutic target in amyotrophic lateral sclerosis with SOD1 mutations. *Int. J. Mol. Sci.*, 17 (5): 1, 2016.
48. ANGELOVA, M.; ASENOVA, S.; NEDKOVA, V.; KOLEVA-KOLAROVA, R. Copper in the human organism. *Trakia J. Sci.*, 9 (1): 88, 2011.
49. KIDANE, T. Z.; FARHAD, R.; LEE, K. J.; SANTOS, A.; RUSSO, E.; LINDER, M. C. Uptake of Copper from Plasma Proteins in Cells Where Expression of CTR1 Has Been Modulated. *BioMetals*, 25 (4): 697, 2012.
50. Puchkova, L.; Babich, P.; Zatulovskaia, Y.; Ilyechova, E.; Di Sole, F. Copper Metabolism of Newborns Is Adapted to Milk Ceruloplasmin as a Nutritive Source of Copper: Overview of the Current Data. *Nutrients*, 10 (11): 1591, 2018.
51. WANG, B.; WANG, X.-P. Does ceruloplasmin defend against neurodegenerative diseases? *Curr. Neuropharmacol.*, 17 (6): 539, 2018.
52. NASULEWICZ, A.; MAZUR, A.; OPOLSKI, A. Role of copper in tumour angiogenesis—clinical implications. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 18 (1): 1, 2004.

53. FOUANI, L.; MENEZES, S. V.; PAULSON, M.; RICHARDSON, D. R.; KOVACEVIC, Z. Metals and metastasis: exploiting the role of metals in cancer metastasis to develop novel anti-metastatic agents. *Pharmacol. Res.*, 115, 275, 2017.
54. DE LUCA, A.; BARILE, A.; ARCIELLO, M.; ROSSI, L. Copper homeostasis as target of both consolidated and innovative strategies of anti-tumor therapy. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 55, 204, 2019.
55. LI, Y. Copper homeostasis: emerging target for cancer treatment. *IUBMB Life*, 72 (9): 1900, 2020.
56. OLIVERI, V. Biomedical Applications of Copper Ionophores. *Coord. Chem. Rev.*, 422, 213474, 2020.
57. CATER, M. A.; PEARSON, H. B.; WOLYNIEC, K.; KLAVER, P.; BILANDZIC, M.; PATERSON, B. M.; BUSH, A. I.; HUMBERT, P. O.; LA FONTAINE, S.; DONNELLY, P. S.; HAUPT, Y. Increasing intracellular bioavailable copper selectively targets prostate cancer cells. *ACS Chem. Biol.*, 8 (7): 1621, 2013.
58. PALANIMUTHU, D.; SHINDE, S. V.; SOMASUNDARAM, K.; SAMUELSON, A. G. In vitro and in vivo anticancer activity of copper bis(thiosemicarbazone) complexes. *J. Med. Chem.*, 56 (3): 722, 2013.
59. MAHENDIRAN, D.; AMUTHAKALA, S.; BHUVANESH, N. S. P.; KUMAR, R. S.; RAHIMAN, A. K. Copper complexes as prospective anticancer agents: in vitro and in vivo evaluation, selective targeting of cancer cells by DNA damage and S phase arrest. *RSC Adv.*, 8 (30): 16973, 2018.
60. MAHENDIRAN, D.; PRAVIN, N.; BHUVANESH, N. S. P.; KUMAR, R. S.; VISWANATHAN, V.; VELMURUGAN, D.; RAHIMAN, A. K. Bis(Thiosemicarbazone)Copper(I) complexes as prospective therapeutic agents: interaction with DNA/BSA molecules, and in vitro and in vivo anti-proliferative activities. *ChemistrySelect*, 3 (25): 7100, 2018.
61. XIE, F.; CAI, H.; PENG, F. Anti-Prostate cancer activity of 8-hydroxyquinoline-2-carboxaldehyde-thiosemicarbazide copper complexes in vivo by bioluminescence imaging. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 23 (6): 949, 2018.
62. LU, X.; LIU, Y. C.; ORVIG, C.; LIANG, H.; CHEN, Z. F. Discovery of β -carboline copper(II) complexes as Mcl-1 inhibitor and *in vitro* and *in vivo* activity in cancer models. *Eur. J. Med. Chem.*, 181, 111567, 2019.

63. CARCELLI, M.; TEGONI, M.; BARTOLI, J.; MARZANO, C.; PELOSI, G.; SALVALAIO, M.; ROGOLINO, D.; GANDIN, V. *In vitro* and *in vivo* anticancer activity of tridentate thiosemicarbazone copper complexes: unravelling an unexplored pharmacological target. *Eur. J. Med. Chem.*, 194, 112266, 2020.
64. KECK, J. M.; CONNER, J. D.; WILSON, J. T.; JIANG, X.; LISIC, E. C.; DEWEESE, J. E. Clarifying the mechanism of Copper(II) α -(N)-Heterocyclic thiosemicarbazone complexes on DNA topoisomerase II α and II β . *Chem. Res. Toxicol.*, 32 (10): 2135, 2019.
65. CHEN, X.; DOU, Q. P.; LIU, J.; TANG, D. Targeting ubiquitin–proteasome system with copper complexes for cancer therapy. *Front. Mol. Biosci.*, 8, 1, 2021.
66. ZHANG, Z.; WANG, H.; YAN, M.; WANG, H.; ZHANG, C. Novel copper complexes as potential proteasome inhibitors for cancer treatment (review). *Mol. Med. Rep.*, 15 (1), 3, 2017.
67. LI, X.; HAO, S.; HAN, A.; YANG, Y.; FANG, G.; LIU, J.; WANG, S. Intracellular Fenton Reaction based on mitochondria-targeted copper(II)–peptide complex for induced apoptosis. *J. Mater. Chem. B*, 7 (25): 4008, 2019.
68. Qin, Q.-P.; Zou, B.-Q.; Tan, M.-X.; Wang, S.-L.; Liu, Y.-C.; Liang, H. Tryptanthrin derivative copper(II) complexes with high antitumor activity by inhibiting telomerase activity, and inducing mitochondria-mediated apoptosis and S-phase arrest in BEL-7402. *New J. Chem.*, 42 (18), 15479, 2018.
69. BHATTACHARYYA, A.; JAMEEI, A.; GARAI, A.; SAHA, R.; KARANDE, A. A.; CHAKRAVARTY, A. R. Mitochondria-localizing BODIPY–Copper(II) conjugates for cellular imaging and photo-activated cytotoxicity forming singlet oxygen. *Dalt. Trans.*, 47 (14): 5019, 2018.
70. DEKA, B.; SARKAR, T.; BANERJEE, S.; KUMAR, A.; MUKHERJEE, S.; DEKA, S.; SAIKIA, K. K.; HUSSAIN, A. Novel mitochondria targeted copper(II) complexes of ferrocenyl terpyridine and anticancer active 8-hydroxyquinolines showing remarkable cytotoxicity, DNA and protein binding affinity. *Dalt. Trans.*, 46 (2): 396, 2017.
71. GU, S. S.; YU, P.; HU, J. N.; LIU, Y.; LI, Z. W.; QIAN, Y.; WANG, Y.; GOU, Y.; YANG, F. Mitochondria-localizing N-Heterocyclic thiosemicarbazone copper complexes with good cytotoxicity and high antimetastatic activity. *Eur. J. Med. Chem.*, 164, 654, 2019.

72. LIU, M.; SONG, X. Q.; WU, Y. DI; QIAN, J.; XU, J. Y. Cu(II)-TACN complexes selectively induce antitumor activity in HepG-2 cells via DNA damage and mitochondrial-ROS-mediated apoptosis. *Dalt. Trans.*, 49 (1): 114, 2019.
73. USMAN, M.; ZAKI, M.; KHAN, R. A.; ALSALME, A.; AHMAD, M.; TABASSUM, S. Coumarin Centered Copper(II) complex with appended-imidazole as cancer chemotherapeutic agents against lung cancer: molecular insight via DFT-based vibrational analysis. *RSC Adv.*, 7 (57): 36056, 2017.
74. BARRETT, S.; DE FRANCO, M.; KELLETT, A.; DEMPSEY, E.; MARZANO, C.; ERXLEBEN, A.; GANDIN, V.; MONTAGNER, D. Anticancer activity, DNA binding and cell mechanistic studies of estrogen-functionalised Cu(II) complexes. *J. Biol. Inorg. Chem.*, 25 (1): 49, 2020.
75. GUL, N. S.; KHAN, T. M.; CHEN, M.; HUANG, K. BIN; HOU, C.; CHOUDHARY, M. I.; LIANG, H.; CHEN, Z. F. New copper complexes inducing bimodal death through apoptosis and autophagy in A549 cancer cells. *J. Inorg. Biochem.*, 213, 111260, 2020.
76. TOVAR-TOVAR, A.; RUIZ-RAMÍREZ, L.; CAMPERO, A.; ROMEROSA, A.; MORENO-ESPARZA, R.; ROSALES-HOZ, M. J. Structural and reactivity studies on 4,4'-dimethyl-2,2'- bipyridine acetylacetonate copper(II) nitrate (CASIOPEINA III-Ia®) with methionine, by UV-Visible and EPR techniques. *J. Inorg. Biochem.*, 98 (6): 1045, 2004.
77. ESPINAL-ENRÍQUEZ, J.; HERNÁNDEZ-LEMUS, E.; MEJÍA, C.; RUIZ-AZUARA, L. Network analysis shows novel molecular mechanisms of action for copper-based chemotherapy. *Front. Physiol.*, 6, 1, 2016.
78. SILVA-PLATAS, C.; VILLEGAS, C. A.; OROPEZA-ALMAZÁN, Y.; CARRANCÁ, M.; TORRES-QUINTANILLA, A.; LOZANO, O.; VALERO-ELIZONDO, J.; CASTILLO, E. C.; BERNAL-RAMÍREZ, J.; FERNÁNDEZ-SADA, E.; VEGA, L. F.; TREVIÑO-SALDAÑA, N.; CHAPOY-VILLANUEVA, H.; RUIZ-AZUARA, L.; HERNÁNDEZ-BRENES, C.; ELIZONDO-MONTEMAYOR, L.; GUERRERO-BELTRÁN, C. E.; CARVAJAL, K.; BRAVO-GÓMEZ, M. E.; GARCÍA-RIVAS, G. *Ex vivo* cardiotoxicity of antineoplastic casiopeinas is mediated through energetic dysfunction and triggered mitochondrial-dependent apoptosis. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2018, 1, 2018.
79. GARCÍA-RAMOS, J. C.; GUTIÉRREZ, A. G.; VÁZQUEZ-AGUIRRE, A.; TOLEDANO-MAGAÑA, Y.; ALONSO-SÁENZ, A. L.; GÓMEZ-VIDALES,

- V.; FLORES-ALAMO, M.; MEJÍA, C.; RUIZ-AZUARA, L. The mitochondrial apoptotic pathway is induced by Cu(II) antineoplastic compounds (Casiopeínas®) in SK-N-SH neuroblastoma cells after short exposure times. *BioMetals*, 30 (1): 43, 2017.
80. PRISECARU, A.; MCKEE, V.; HOWE, O.; ROCHFORD, G.; MCCANN, M.; COLLERAN, J.; POUR, M.; BARRON, N.; GATHERGOOD, N.; KELLETT, A. Regulating bioactivity of Cu²⁺ Bis-1,10-Phenanthroline artificial metallonucleases with sterically functionalized pendant carboxylates. *J. Med. Chem.*, 56 (21): 8599, 2013.
81. ZHANG, Y.-P.; MA, Z.-Y.; QIAO, P.-P.; GAO, C.-Y.; TIAN, J.-L.; ZHAO, J.-Z.; DU, W.-J.; XU, J.-Y.; YAN, S.-P. Design and biological evaluations of mono- and di-nuclear copper(II) complexes: nuclease activity, cytotoxicity and apoptosis. *Polyhedron*, 193, 114880, 2021.
82. RAJARAJESWARI, C.; LOGANATHAN, R.; PALANIANDAVAR, M.; SURESH, E.; RIYASDEEN, A.; AKBARSHA, M. A. Copper(II) complexes with 2NO and 3N donor ligands: synthesis, structures and chemical nuclease and anticancer activities. *Dalt. Trans.*, 42 (23): 8347, 2013.
83. MCGIVERN, T. J. P.; AFSHARPOUR, S.; MARMION, C. J. Copper complexes as artificial DNA metallonucleases: from sigman's reagent to next generation anti-cancer agent? *Inorganica Chim. Acta*, 472, 12, 2018.
84. RAMAN, N.; PRAVIN, N. Lasing the DNA fragments through β -diketimine framed knoevenagel condensed Cu(II) and Zn(II) complexes - an in vitro and in vivo approach. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 118, 867, 2014.
85. MOLPHY, Z.; PRISECARU, A.; SLATOR, C.; BARRON, N.; MCCANN, M.; COLLERAN, J.; CHANDRAN, D.; GATHERGOOD, N.; KELLETT, A. Copper Phenanthrene Oxidative Chemical Nucleases. *Inorg. Chem.* 2014, 53 (10): 5392, 2014.
86. SALIMI, M.; ABDI, K.; KANDELOUS, H. M.; HADADZADEH, H.; AZADMANESH, K.; AMANZADEH, A.; SANATI, H. Antiproliferative Effects of Copper(II)-Polypyridyl Complexes in Breast Cancer Cells through Inducing Apoptosis. *BioMetals*, 28 (2): 267, 2015.
87. SAEED, A.; FLÖRKE, U.; ERBEN, M. F. A Review on the chemistry, coordination, structure and biological properties of 1-(Acyl/Aroyl)-3-(substituted) thioureas. *J. Sulfur Chem.*, 35 (3): 318, 2014.

88. SHAKEEL, A. Thiourea derivatives in drug design and medicinal chemistry: a short review. *J. Drug Des. Med. Chem.*, 2 (1): 10, 2016.
89. ALY, A. A.; AHMED, E. K.; EL-MOKADEM, K. M.; HEGAZY, M. E. A. F. Update survey on aroyl substituted thioureas and their applications. *J. Sulfur Chem.*, 28 (1), 73, 2007.
90. SAEED, A.; MUSTAFA, M. N.; ZAIN-UL-ABIDEEN, M.; SHABIR, G.; ERBEN, M. F.; FLÖRKE, U. Current developments in chemistry, coordination, structure and biological aspects of 1-(Acyl/Aroyl)-3- (substituted)thioureas: Advances Continue *J. Sulfur Chem.*, 40 (3): 312, 2019.
91. CONTRERAS AGUILAR, E.; ECHEVERRÍA, G. A.; PIRO, O. E.; ULIC, S. E.; JIOS, J. L.; TUTTOLOMONDO, M. E.; MOLINA, R. D. I.; ARENA, M. E. Acyl thiourea derivatives: a study of crystallographic, bonding, biological and spectral properties. *Chem. Phys. Lett.*, 715 (1465): 64, 2019.
92. PLUTÍN, A. M.; ALVAREZ, A.; MOCELO, R.; RAMOS, R.; CASTELLANO, E. E.; DA SILVA, M. M.; VILLARREAL, W.; PAVAN, F. R.; MEIRA, C. S.; FILHO, J. S. R.; MOREIRA, D. R. M.; SOARES, M. B. P.; BATISTA, A. A. Palladium(II)/ N,N -disubstituted-N'-Acylthioureas complexes as anti-*Mycobacterium tuberculosis* and anti-*Trypanosoma cruzi* Agents. *Polyhedron*, 132, 70, 2017.
93. PLUTÍN, A. M.; ALVAREZ, A.; MOCELO, R.; RAMOS, R.; CASTELLANO, E. E.; DA SILVA, M. M.; COLINA-VEGAS, L.; PAVAN, F. R.; BATISTA, A. A. Anti- *Mycobacterium Tuberculosis* activity of Platinum(II)/ N,N-disubstituted-N'-Acyl thiourea complexes. *Inorg. Chem. Commun.*, 63, 74, 2016.
94. PLUTÍN, A. M.; RAMOS, R.; MOCELO, R.; ALVAREZ, A.; CASTELLANO, E. E.; COMINETTI, M. R.; OLIVEIRA, K. M.; DONIZETH DE OLIVEIRA, T.; SILVA, T. E. M.; S. CORREA, R.; BATISTA, A. A. Antitumor Activity of Pd(II) complexes with N,S or O,S coordination modes of acylthiourea ligands. *Polyhedron*, 184, 114543, 2020.
95. LUCAS, N. C. DE; FERREIRA, A. B. B.; NETTO-FERREIRA, J. C. Photochemistry of Naphthoquinones. *Rev. Virtual Química*, 7 (1): 403, 2015.
96. THOMSON, R. H. *Naturally Occurring Quinones IV*; 1996.
97. WELLINGTON, K. W. Understanding cancer and the anticancer activities of naphthoquinones-a review. *RSC Adv.*, 5 (26): 20309, 2015.

98. HUSSAIN, H.; KROHN, K.; AHMAD, U.; MIANA, A. Lapachol : An Overview., 2007 (II), 145, 2007.
99. EPIFANO, F.; GENOVESE, S.; FIORITO, S.; MATHIEU, V.; KISS, R. Lapachol and its congeners as anticancer agents: a review. *Phytochem. Rev.*, 13 (1): 37, 2014.
100. MAEDA, M.; MURAKAMI, M.; TAKEGAMI, T.; OTA, T. Promotion or suppression of experimental metastasis of B16 melanoma cells after oral administration of lapachol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 229 (2): 232, 2008.
101. BABU, M. S.; MAHANTA, S.; LAKHTER, A. J.; HATO, T.; PAUL, S.; NAIDU, S. R. Lapachol inhibits glycolysis in cancer cells by targeting pyruvate kinase M2. *PLoS One*, 13 (2): 1, 2018.
102. MENDES MIRANDA, S. E.; ALCÂNTARA LEMOS, J. DE; FERNANDES, R. S.; SILVA, J. DE O.; OTTONI, F. M.; TOWNSEND, D. M.; RUBELLO, D.; ALVES, R. J.; CASSALI, G. D.; FERREIRA, L. A. M.; DE BARROS, A. L. B. Enhanced antitumor efficacy of lapachol-loaded nanoemulsion in breast cancer tumor model. *Biomed. Pharmacother.*, 133, 110936, 2021.
103. ATOLANI, O.; OLATUNJI, G. A.; ADEYEMI, O. S. Cytotoxicity of lapachol and derivatized analogues from *Kigelia africana* (Lam.) Benth. on cancer cell lines. *Arab. J. Sci. Eng.*, 46 (6): 5307, 2021.
104. ARAÚJO, E. L.; ALENCAR, J. R. B.; NETO, P. J. R. Lapachol : Segurança e Eficácia Na Terapêutica. *Rev. bras. farmacogn.*, 12, 57, 2002.
105. ALMEIDA, E. R. DE. Preclinical and clinical studies of lapachol and beta-lapachone. *Open Nat. Prod. J.*, 2 (1): 42, 2009.
106. MCMILLAN, D. C.; SARVETE, S. D.; OATIS, J. E.; JOLLOW, D. J. Role of oxidant stress in lawsone-induced hemolytic anemia. *Toxicol. Sci.*, 82 (2): 647, 2004.
107. XAVIER, M. R.; SANTOS, M. M. S.; QUEIROZ, M. G.; DE LIMA SILVA, M. S.; GOES, A. J. S.; DE MORAIS, M. A. Lawsone, a 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone from *Lawsonia inermis* (Henna), produces mitochondrial dysfunctions and triggers mitophagy in *saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Biol. Rep.*, 47 (2): 1173, 2020.
108. SOLTANIAN, S.; FERREIDOUNI, M. S. Effect of Henna (*Lawsonia*

inermis) extract on the immunity and survival of common carp, cyprinus carpio infected with aeromonas hydrophila. *Int. Aquat. Res.*, 8 (3): 247, 2016.

109. QIU, H. Y.; WANG, P. F.; LIN, H. Y.; TANG, C. Y.; ZHU, H. L.; YANG, Y. H. Naphthoquinones: a continuing source for discovery of therapeutic antineoplastic agents. *Chem. Biol. Drug Des.*, 91 (3): 681, 2018.

110. PEREYRA, C. E.; DANTAS, R. F.; FERREIRA, S. B.; GOMES, L. P.; SILVA, F. P. The diverse mechanisms and anticancer potential of naphthoquinones. *Cancer Cell Int.*, 19 (1): 1, 2019.

111. BYRNE, F. L.; OLZOMER, E. M.; MARRIOTT, G. R.; QUEK, L.-E.; KATEN, A.; SU, J.; NELSON, M. E.; HART-SMITH, G.; LARANCE, M.; SEBESFI, V. F.; CUFF, J.; MARTYN, G. E.; CHILDRESS, E.; ALEXOPOULOS, S. J.; POON, I. K.; FAUX, M. C.; BURGESS, A. W.; REID, G.; MCCARROLL, J. A.; SANTOS, W. L.; QUINLAN, K. G.; TURNER, N.; FAZAKERLEY, D. J.; KUMAR, N.; HOEHN, K. L. Phenotypic screen for oxygen consumption rate identifies an anti-cancer naphthoquinone that induces mitochondrial oxidative stress. *Redox Biol.*, 28, 101374, 2020.

112. OLIVEIRA, K. M.; PETERSON, E. J.; CARROCCIA, M. C.; COMINETTI, M. R.; DEFLON, V. M.; FARRELL, N. P.; BATISTA, A. A.; CORREA, R. S. Ru(II)-Naphthoquinone complexes with high selectivity for triple-negative breast cancer . *Dalt. Trans.*, 49, 16193, 2020.

113. OLIVEIRA, K. M.; LIANY, L. D.; CORRÊA, R. S.; DEFLON, V. M.; COMINETTI, M. R.; BATISTA, A. A. Selective Ru(II)/Lawsone complexes inhibiting tumor cell growth by apoptosis. *J. Inorg. Biochem.*, 176, 66, 2017.

114. JARDINE, F. H.; VOHRA, A. G.; YOUNG, F. J. Copper(I) Nitrate and Nitrate Complexes. *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 33 (9): 2941, 1971.

115. CAIRO, R. R.; STEVENS, A. M. P.; DE OLIVEIRA, T. D.; BATISTA, A. A.; CASTELLANO, E. E.; DUQUE, J.; SORIA, D. B.; FANTONI, A. C.; CORRÊA, R. S.; ERBEN, M. F. Understanding the conformational changes and molecular structure of furoyl thioureas upon substitution. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 176, 8, 2017.

116. GARCIA VELHO, R. Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico. Programa Pós-Graduação em Química - UF 2006, 170.

117. SHELDRIK, G. M. SHELXT-Integrated space-group and

crystal-structure determination. *Acta Crystallogr. Sect. A Found. Crystallogr.*, 71 (1): 3, 2015.

118. SHELDRIK, G. M. Crystal structure refinement with SHELXL. *Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.*, 71, 3, 2015.

119. DOLOMANOV, O. V.; BOURHIS, L. J.; GILDEA, R. J.; HOWARD, J. A. K.; PUSCHMANN, H. OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program. *J. Appl. Crystallogr.*, 42 (2): 339, 2009.

120. MACRAE, C. F.; BRUNO, I. J.; CHISHOLM, J. A.; EDGINGTON, P. R.; MCCABE, P.; PIDCOCK, E.; RODRIGUEZ-MONGE, L.; TAYLOR, R.; VAN DE STREEK, J.; WOOD, P. A. Mercury CSD 2.0 - new features for the visualization and investigation of crystal structures. *J. Appl. Crystallogr.*, 41 (2): 466, 2008.

121. LV, X.; WU, Y. B.; LU, G. Computational exploration of ligand effects in copper-catalyzed boracarboxylation of styrene with CO₂. *Catal. Sci. Technol.*, 7 (21): 5049, 2017.

122. CHOUDHARY, V. K.; BHATT, A. K.; DASH, D.; SHARMA, N. DFT calculations on molecular structures, HOMO–LUMO study, reactivity descriptors and spectral analyses of newly synthesized Diorganotin(IV) 2-Chloridophenylacetohydroxamate complexes. *J. Comput. Chem.*, 40 (27): 2354, 2019.

123. ALLOUCHE, A.-R. Gabedit - A graphical user interface for computational chemistry softwares. *J. Comput. Chem.*, 32 (1): 174, 2011.

124. M. J. FRISCH, G. W. TRUCKS, H. B. SCHLEGEL, G. E. SCUSERIA, M. A. ROBB, J. R. CHEESEMAN, G. SCALMANI, V. BARONE, B. MENNUCCI, G. A. PETERSSON, H. NAKATSUJI, M. CARICATO, X. LI, H. P. HRATCHIAN, A. F. IZMAYLOV, J. BLOINO, G. ZHENG, J. L. SONNENBERG, M. H.; FOX, D. J.; FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E.; ROBB, M. A.; CHEESEMAN, J. R.; SCALMANI, G.; BARONE, V.; PETERSSON, G. A.; NAKATSUJI, H.; LI, X.; CARICATO, M.; MARENICH, A. V.; BLOINO, J.; JANESKO, B. G.; GOMPERS, R.; MENNUCCI, B.; HRATCHIAN, H. P.; ORTIZ, J. V.; IZMAYLOV, A. F.; SONNENBERG, J. L.; WILLIAMS; DING, F.; LIPPARINI, F.; EGIDI, F.; GOINGS, J.; PENG, B.; PETRONE, A.; HENDERSON, T.; RANASINGHE, D.; ZAKRZEWSKI, V. G.; GAO, J.; REGA, N.; ZHENG, G.; LIANG, W.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.;

- KITAO, O.; NAKAI, H.; VREVEN, T.; THROSSELL, K.; MONTGOMERY JR., J. A.; PERALTA, J. E.; OGLIARO, F.; BEARPARK, M. J.; HEYD, J. J.; BROTHERS, E. N.; KUDIN, K. N.; STAROVEROV, V. N.; KEITH, T. A.; KOBAYASHI, R.; NORMAND, J.; RAGHAVACHARI, K.; RENDELL, A. P.; BURANT, J. C.; IYENGAR, S. S.; TOMASI, J.; COSSI, M.; MILLAM, J. M.; KLENE, M.; ADAMO, C.; CAMMI, R.; OCHTERSKI, J. W.; MARTIN, R. L.; MOROKUMA, K.; FARKAS, O.; FORESMAN, J. B.; FOX, D. J. Gaussian 09. Gaussian, Inc.: Wallingford CT 2009.
125. MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods*, 65 (1–2): 55, 1983.
126. KUCHAR, J.; RUST, J.; LEHMANN, C. W.; MOHR, F. Copper(I) complexes with anionic acylthio- or acylselenourea ligands and N-heterocyclic carbenes or phosphanes. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 48, 5215, 2018.
127. PLUTÍN, A. M.; MOCELO, R.; ALVAREZ, A.; RAMOS, R.; CASTELLANO, E. E.; COMINETTI, M. R.; GRAMINHA, A. E.; FERREIRA, A. G.; BATISTA, A. A. On the cytotoxic activity of Pd (II) complexes of N, N-disubstituted-N'-acylthioureas . *J. Inorg. Biochem.*, 134, 76, 2014.
128. CORREA, R. S.; DE OLIVEIRA, K. M.; DELOLO, F. G.; ALVAREZ, A.; MOCELO, R.; PLUTIN, A. M.; COMINETTI, M. R.; CASTELLANO, E. E.; BATISTA, A. A. Ru(II)-Based complexes with N-(acyl)-N',N'-(disubstituted)thiourea ligands: synthesis, characterization, BSA and DNA-binding studies of new cytotoxic agents against lung and prostate tumour cells. *J. Inorg. Biochem.*, 150, 63, 2015.
129. GHAZAL, K.; SHOAIIB, S.; KHAN, M.; KHAN, S.; RAUF, M. K.; KHAN, N.; BADSHAH, A.; TAHIR, M. N.; ALI, I.; REHMAN, A. Synthesis, characterization, X-ray diffraction study, *in vitro* cytotoxicity, antibacterial and antifungal activities of nickel(II) and copper(II) complexes with acylthiourea ligand. *J. Mol. Struct.*, 1177, 124, 2019.
130. ABRAM, U.; ABRAM, S.; ALBERTO, R.; SCHIBLI, R. Ligand exchange reactions starting from $[\text{Re}(\text{CO})_3\text{Br}_3]^{2-}$. Synthesis, characterization and structures of rhenium(I) tricarbonyl complexes with thiourea and thiourea derivatives. *Inorganica Chim. Acta*, 248 (2): 193, 1996.
131. KHAN, U. A.; BADSHAH, A.; TAHIR, M. N.; KHAN, E. Gold(I), silver(I) and copper(I) complexes of 2,4,6-trimethylphenyl-3-benzoylthiourea; synthesis and biological applications. *Polyhedron*, 181, 114485, 2020.

132. SHEEBA, M. M.; MUTHU TAMIZH, M.; FARRUGIA, L. J.; ENDO, A.; KARVEMBU, R. Chiral (η^6 -p-Cymene)Ruthenium(II) complexes containing monodentate acylthiourea ligands for efficient asymmetric transfer hydrogenation of ketones. *Organometallics*, 33 (2): 540, 2014.
133. GANDHAVEETI, R.; KONAKANCHI, R.; JYOTHI, P.; BHUVANESH, N. S. P.; ANANDARAM, S. Unusual coordination mode of aroyl/acyl thiourea ligands and their Π -arene Ruthenium (II) piano-stool complexes: synthesis, molecular geometry, theoretical studies and biological applications. *Appl. Organomet. Chem.*, 33 (5): e4899, 2019.
134. SUMRRA, S. H.; HANIF, M.; CHOCHAN, Z. H.; AKRAM, M. S.; AKHTAR, J.; AL-SHEHRI, S. M. Metal based drugs: design, synthesis and in-vitro antimicrobial screening of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes with some new carboxamide derived compounds: crystal structures of N-[Ethyl(Propan-2-Yl)Carbamothioyl]Thiophene-2-Carboxamide. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, 31 (4): 590, 2016.
135. GUNASEKARAN, N.; BHUVANESH, N. S. P.; KARVEMBU, R. Synthesis, characterization and catalytic oxidation property of copper(I) complexes containing monodentate acylthiourea ligands and triphenylphosphine. *Polyhedron*, 122, 39, 2017.
136. CHE, D. J.; LI, G.; YAO, X. L.; WU, Q. J.; WANG, W. L.; ZHU, Y. Photochemical generation of a novel (O, N', N'') coordinated Iron(II) complex [Fe(FT-Py)₂] from a ferrocenoyl-functionalized thiourea ligand: N-Ferrocenylcarbonyl-N'-(2-Pyridyl)Thiourea (HFT-Py): crystal and molecular structures of HFT-Py and [Fe(FT-Py)₂]. *J. Organomet. Chem.*, 584 (1): 190, 1999.
137. KHAN, S. I.; AHMAD, S.; ALTAF, A. A.; RAUF, M. K.; BADSHAH, A.; AZAM, S. S.; TAHIR, M. N. Heteroleptic copper(I) halides with triphenylphosphine and acetylthiourea: synthesis, characterization and biological studies (experimental and molecular docking). *New J. Chem.*, 43 (48): 19318, 2019.
138. GUNASEKARAN, N.; NG, S. W.; TIEKINK, E. R. T.; KARVEMBU, R. Hypodentate coordination of N,N-di(alkyl/aryl)-N'-acylthiourea derivatives in Cu(I) complexes. *Polyhedron*, 34 (1): 41, 2012.
139. DEHNO KHALAJI, A.; SHAHSAVANI, E.; FEIZI, N.; KUČERÁKOVÁ, M.; DUŠEK, M.; MAZANDARANI, R.; AMIRI, A. Ultrasonic-bath-assisted preparation of mononuclear copper(I) thiosemicarbazone complex particles:

crystal structure, characterization and antimicrobial activity. *Comptes Rendus Chim.*, 20 (2): 125, 2017.

140. MOHD ZUBIR, M. Z.; JAMALUDIN, N. S.; ABDUL HALIM, S. N. Hirshfeld surface analysis of some new heteroleptic copper(I) complexes. *J. Mol. Struct.*, 1193, 141, 2019.

141. XU, H.; YANG, T.; WANG, F.; ZHANG, J.; ZHANG, X.; WANG, H.; XU, B. Thermally activated delayed fluorescence of copper(I) complexes using N,N'-Heteroaromatic of 2-(5-phenyl-1,2,3- triazole)pyridine as ligand. *J. Lumin.*, 205, 82, 2019.

142. PÉREZ, H.; CORRÊA, R. S.; PLUTÍN, A. M.; ÁLVAREZ, A.; MASCARENHAS, Y. N-Benzoyl-N',N'-Dimethylthiourea. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online*, 67 (3): 647, 2011.

143. GOMES, L. R.; SANTOS, L. M. N. B. F.; COUTINHO, J. A. P.; SCHRÖDER, B.; LOW, J. N. N'-Benzoyl-N,N-Diethylthiourea: a monoclinic polymorph. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online*, 66 (4): 870, 2010.

144. GUNASEKARAN, N.; KARVEMBU, R.; NG, S. W.; TIEKINK, E. R. T. 1-Benzoyl-3,3-Dibutylthiourea. *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Reports Online*, 66 (10): 2601, 2010.

145. CORREA, R. S.; OLIVEIRA, K. M.; PÉREZ, H.; PLUTÍN, A. M.; RAMOS, R.; MOCELO, R.; CASTELLANO, E. E.; BATISTA, A. A. cis-bis(N-Benzoyl-N',N'-Dibenzylthioureido)Platinum(II): synthesis, molecular structure and its interaction with human and bovine serum albumin. *Arab. J. Chem.*, 12 (8): 3454, 2019.

146. ALI, Z.; RICHEY, N. E.; BOCK, D. C.; ABOUD, K. A.; AKHTAR, J.; SHER, M.; MCELWEE-WHITE, L. N,N-disubstituted-N'-acylthioureas as modular ligands for deposition of transition metal sulfides. *Dalt. Trans.*, 47 (8): 2719, 2018.

147. SAEED, A.; KHURSHID, A.; JASINSKI, J. P.; POZZI, C. G.; FANTONI, A. C.; ERBEN, M. F. Competing intramolecular NH \cdots OC hydrogen bonds and extended intermolecular network in 1-(4-Chlorobenzoyl)-3-(2-Methyl-4-Oxopentan- 2-Yl) thiourea analyzed by experimental and theoretical methods. *Chem. Phys.*, 431–432, 39, 2014.

148. SWAMINATHAN, S.; HARIBABU, J.; KALAGATUR, N. K.; KONAKANCHI, R.; BALAKRISHNAN, N.; BHUVANESH, N.;

KARVEMBU, R. Synthesis and anticancer activity of [RuCl₂(η⁶-Arene)(Aroylthiourea)] complexes—high activity against the human neuroblastoma (IMR-32) cancer cell line. *ACS Omega*, 4 (4): 6245, 2019.

149. GUNASEKARAN, N.; RAMESH, P.; PONNUSWAMY, M. N. G.; KARVEMBU, R. Monodentate coordination of N-[di(phenyl/ethyl)carbamothioyl]benzamide ligands: synthesis, crystal structure and catalytic oxidation property of Cu(I) complexes. *Dalt. Trans.*, 40 (46): 12519, 2011.

150. Colina-Vegas, L.; Luna-Dulcey, L.; Plutín, A. M.; Castellano, E. E.; Cominetti, M. R.; Batista, A. A. Half sandwich Ru(II)-Acylthiourea complexes: DNA/HSA-binding, anti-migration and cell death in a human breast tumor cell line. *Dalt. Trans.*, 46 (38): 12865, 2017.

151. N, P. I. I.; MYCOBAC-, N. N.; PLUTÍN, A. M.; ALVAREZ, A.; MOCELO, R.; RAMOS, R.; EDUARDO, E.; SILVA, M. M.; VILLARREAL, W.; PAVAN, F. R.; MEIRA, S.; SIMÃO, J.; FILHO, R.; MOREIRA, D. R. M.; SOARES, B. P.; BATISTA, A. A. Palladium (II)/ N,N-disubstituted-N'-acylthioureas complexes as *Anti-mycobacterium tuberculosis* and *Anti-trypanosoma cruzi* agents. *Polyhedron*, 132 (II): 70, 2017.

152. BINZET, G.; TURUNC, E.; FLÖRKE, U.; KÜLCÜ, N.; ARSLAN, H. Crystal structure and cyclic voltammetric studies on the metal complexes of N-(Dimethylcarbamothioyl)-4-Fluorobenzamide. *J. Chem.*, 2018, 1, 2018.

153. PAVIA, DONALD L., LAMPMAN, GARY M., KRIZ, GEORGE S., VYVYAN, J. R. *Introdução à Espectroscopia*, 4^a.; 2015.

154. PANDEY, S. K.; PRATAP, S.; POKHARIA, S.; MISHRA, H.; MARVERTI, G.; KAUR, M.; JASINSKI, J. P. Copper (I) complexes based on novel N,N'-Disubstituted Thiocarbamides: synthesis, spectroscopic, in vitro cytotoxicity, DNA damage and G0/G1 cell cycle arrest studies. *Inorganica Chim. Acta*, 491, 105, 2019.

155. PLUTÍN, A. M.; ALVAREZ, A.; MOCELO, R.; RAMOS, R.; CASTELLANO, E. E.; DA SILVA, M. M.; COLINA-VEGAS, L.; PAVAN, F. R.; BATISTA, A. A. Anti-Mycobacterium Tuberculosis activity of Platinum(II)/ N,N-disubstituted-N'-Acylthiourea complexes. *Inorg. Chem. Commun.*, 63, 74, 2016.

156. GOEBBERT, D. J.; GARAND, E.; WENDE, T.; BERGMANN, R.; MEIJER, G.; ASMIS, K. R.; NEUMARK, D. M. Infrared spectroscopy of the

microhydrated nitrate ions $\text{NO}_3\text{-(H}_2\text{O)}$. *J. Phys. Chem. A*, 113 (26): 7584, 2009.

157. CHAVAN, S. S.; SAWANT, S. K.; SAWANT, V. A.; LAHIRI, G. K. Mixed-Ligand complexes of Copper(I) with schiff base and triphenylphosphine: effective catalysts for the amination of aryl halide. *Inorg. Chem. Commun.*, 14 (9): 1373, 2011.

158. WU, Y.; HAN, X.; QU, Y.; ZHAO, K.; WANG, C.; HUANG, G.; WU, H. Two Cu(I) complexes constructed by different N-Heterocyclic benzoxazole ligands: syntheses, structures and fluorescent properties. *J. Mol. Struct.*, 1191, 95, 2019.

159. OLADIPO, S. D.; MOCKTAR, C.; OMONDI, B. *In Vitro* biological studies of heteroleptic Ag(I) and Cu(I) unsymmetrical N,N'-Diarylformamidine dithiocarbamate phosphine complexes; the effect of the metal center. *Arab. J. Chem.*, 13 (8): 6379, 2020.

160. QIU, Q.; LIU, M.; LI, Z.; JIN, Q.; HUANG, X.; ZHANG, Z.; ZHANG, C.-L.; MENG, Q.-X. Synthesis, structure, terahertz spectroscopy and luminescent properties of copper(I) complexes with mercaptan ligands and triphenylphosphine. *J. Mol. Struct.*, 1062, 125, 2014.

161. CABRERA, A. R.; GONZALEZ, I. A.; CORTÉS-ARRIAGADA, D.; NATALI, M.; BERKE, H.; DANILIUC, C. G.; CAMARADA, M. B.; TORO-LABBÉ, A.; ROJAS, R. S.; SALAS, C. O. Synthesis of new phosphorescent imidoyl-indazol and phosphine mixed ligand Cu(I) complexes-structural characterization and photophysical properties. *RSC Adv.*, 6 (7): 5141, 2016.

162. KAESER, A.; MOHANKUMAR, M.; MOHANRAJ, J.; MONTI, F.; HOLLER, M.; CID, J.-J.; MOUDAM, O.; NIERENGARTEN, I.; KARMAZIN-BRELOT, L.; DUHAYON, C.; DELAVAUUX-NICOT, B.; ARMAROLI, N.; NIERENGARTEN, J.-F. Heteroleptic copper(I) complexes prepared from phenanthroline and bis-phosphine ligands. *Inorg. Chem.*, 52 (20): 12140, 2013.

163. LOPES, J.; ALVES, D.; MORAIS, T. S.; COSTA, P. J.; PIEDADE, M. F. M.; MARQUES, F.; VILLA DE BRITO, M. J.; HELENA GARCIA, M. New copper(I) and heteronuclear copper(I)-ruthenium(II) complexes: synthesis, structural characterization and cytotoxicity. *J. Inorg. Biochem.*, 169, 68, 2017.

164. PLUTÍN, A.; ALVAREZ, A.; MOCELO, R.; RAMOS, R.; SÁNCHEZ, O.; CASTELLANO, E.; DA SILVA, M.; VILLARREAL, W.; COLINA-VEGAS, L.; PAVAN, F.; BATISTA, A. Structure/activity of

- PtII/N,N-Disubstituted-N'-Acylthiourea complexes: anti-tumor and anti-mycobacterium tuberculosis activities. *J. Braz. Chem. Soc.*, 00 (00): 1, 2017.
165. BECCENERI, A. B.; POPOLIN, C. P.; PLUTIN, A. M.; MAISTRO, E. L.; CASTELLANO, E. E.; BATISTA, A. A.; COMINETTI, M. R. The *trans*-[Ru(PPh₃)₂(N,N-Dimethyl-N'-Thiophenylthioureato-k² O,S)(Bipy)]PF₆ complex has pro-apoptotic effects on triple negative breast cancer cells and presents low toxicity *in vivo*. *J. Inorg. Biochem.*, 186, 70, 2018.
166. NOVOTNÝ, J.; VÍCHA, J.; BORA, P. L.; REPISKY, M.; STRAKA, M.; KOMOROVSKY, S.; MAREK, R. Linking the character of the metal-ligand bond to the ligand NMR shielding in transition-metal complexes: NMR contributions from spin-orbit coupling. *J. Chem. Theory Comput.*, 13 (8): 3586, 2017.
167. VILLARREAL, W.; COLINA-VEGAS, L.; VISBAL, G.; CORONA, O.; CORRÊA, R. S.; ELLENA, J.; COMINETTI, M. R.; BATISTA, A. A.; NAVARRO, M. Copper(I)-phosphine polypyridyl complexes: synthesis, characterization, DNA/HSA binding study, and antiproliferative activity. *Inorg. Chem.*, 56 (7): 3781, 2017.
168. SAEED, A.; ASHRAF, S.; WHITE, J. M.; SORIA, D. B.; FRANCA, C. A.; ERBEN, M. F. Synthesis, X-Ray crystal structure, thermal behavior and spectroscopic analysis of 1-(1-Naphthoyl)-3-(Halo-Phenyl)-thioureas complemented with quantum chemical calculations. *Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 150, 409, 2015.
169. HARIBABU, J.; SUBHASHREE, G. R.; SARANYA, S.; GOMATHI, K.; KARVEMBU, R.; GAYATHRI, D. Synthesis, crystal structure, and *in vitro* and *in silico* molecular docking of novel acylthiourea derivatives. *J. Mol. Struct.*, 1094, 281, 2015.
170. ABOSADIYA, H. M.; ANOUAR, E. H.; YAMIN, B. M. Synthesis, X-Ray, spectroscopic characterization (FT-IR, NMR, UV-Vis) and quantum chemical calculations of some substituted benzoylthiourea derivatives. *J. Mol. Struct.*, 1194, 48, 2019.
171. ESTÉVEZ-HERNÁNDEZ, O.; SALOMÓN, F. F.; DUQUE, J.; RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ, J.; GIL, D. M. Synthesis, structural and spectroscopic studies of 1-(2-FUROYL)-3-Phenylthiourea: A Theoretical and Experimental Approach. *J. Sulfur Chem.*, 37 (5): 555, 2016.
172. MASHAT, K. H.; BABGI, B. A.; HUSSIEN, M. A.; NADEEM ARSHAD,

- M.; ABDELLATTIF, M. H. Synthesis, structures, DNA-Binding and anticancer activities of some copper(I)-phosphine complexes. *Polyhedron*, 158, 164, 2019.
173. FAVARIN, L. R. V.; ROSA, P. P.; PIZZUTI, L.; MACHULEK, A.; CAIRES, A. R. L.; BEZERRA, L. S.; PINTO, L. M. C.; MAIA, G.; GATTO, C. C.; BACK, D. F.; DOS ANJOS, A.; CASAGRANDE, G. A. Synthesis and structural characterization of new heteroleptic copper(I) complexes based on mixed phosphine/thiocarbamoyl-pyrazoline ligands. *Polyhedron*, 121, 185, 2017.
174. JADHAV, A. N.; PAWAL, S. B.; CHAVAN, S. S. Synthesis, crystal structure and conjugation properties of iminopyridine copper(I) phosphine complexes. *Inorganica Chim. Acta*, 440, 77, 2016.
175. JEYALAKSHMI, K.; HARIBABU, J.; BALACHANDRAN, C.; NARMATHA, E.; BHUVANESH, N. S. P.; AOKI, S.; AWALE, S.; KARVEMBU, R. Highly active copper(I) complexes of aroylthiourea ligands against cancer cells—synthetic and biological studies. *New J. Chem.*, 43 (7): 3188, 2019.
176. MCCORMICK, T.; JIA, W. L.; WANG, S. Phosphorescent Cu(I) complexes of 2-(2'-Pyridylbenzimidazolyl) Benzene: impact of phosphine ancillary ligands on electronic and photophysical properties of the Cu(I) complexes. *Inorg. Chem.*, 45 (1): 147, 2006.
177. NUNES, P.; CORREIA, I.; MARQUES, F.; MATOS, A. P.; DOS SANTOS, M. M. C.; AZEVEDO, C. G.; CAPELO, J. L.; SANTOS, H. M.; GAMA, S.; PINHEIRO, T.; CAVACO, I.; PESSOA, J. C. Copper complexes with 1,10-phenanthroline derivatives: underlying factors affecting their cytotoxicity. *Inorg. Chem.*, 59 (13): 9116, 2020.
178. BYRNES, R. W.; ANTHOLINE, W. E.; PETERING, D. H. Interactions of 1,10-phenanthroline and its copper complex with Ehrlich cells. *Free Radic. Biol. Med.*, 12 (6): 457, 1992.
179. ENGBRAATEN, O.; VOLLAN, H. K. M.; BØRRESEN-DALE, A. L. Triple-negative breast cancer and the need for new therapeutic targets. *Am. J. Pathol.*, 183 (4): 1064, 2013.
180. RIBEIRO, G. H.; BATISTA, A. A.; GUEDES, A. P. M.; DE OLIVEIRA, T. D.; DE CORREIA, C. R. S. T. B.; COLINA-VEGAS, L.; LIMA, M. A.; NÓBREGA, J. A.; COMINETTI, M. R.; ROCHA, F. V.; FERREIRA, A. G.; CASTELLANO, E. E.; TEIXEIRA, F. R. Ruthenium(II) phosphine/mercapto

- complexes: their *in vitro* cytotoxicity evaluation and actions as inhibitors of topoisomerase and proteasome acting as possible triggers of cell death induction. *Inorg. Chem.*, 59 (20): 15004, 2020.
181. NAVES, M. A.; GRAMINHA, A. E.; VEGAS, L. C.; LUNA-DULCEY, L.; HONORATO, J.; MENEZES, A. C. S.; BATISTA, A. A.; COMINETTI, M. R. Transport of the ruthenium complex [Ru(GA)(Dppe)₂]PF₆ into Triple-negative breast cancer cells is facilitated by transferrin receptors. *Mol. Pharm.*, 16 (3): 1167, 2019.
182. TELES, R. H. G.; GRAMINHA, A. E.; RIVERA-CRUZ, C. M.; NAKAHATA, D. H.; FORMIGA, A. L. B.; CORBI, P. P.; FIGUEIREDO, M. L.; COMINETTI, M. R. Copper transporter 1 affinity as a delivery strategy to improve the cytotoxic profile of rationally designed copper(II) complexes for cancer treatment. *Toxicol. Vitro.*, 67, 1, 2020.
183. FRANKEN, N. A. P.; RODERMOND, H. M.; STAP, J.; HAVEMAN, J.; VAN BREE, C. Clonogenic assay of cells *in vitro*. *Nat. Protoc.*, 1 (5): 2315, 2006.
184. LEAL-ESTEBAN, L. C.; FAJAS, L. Cell cycle regulators in cancer cell metabolism. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.*, 1866, 165715, 2020.
185. JINGWEN, B.; YAOCHEN, L.; GUOJUN, Z. Cell cycle regulation and anticancer drug discovery. *Cancer Biol. Med.*, 14 (4): 348, 2017.
186. ZHOU, B. S.; ELLEDGE, S. J. Checkpoints in perspective. *Nature*, 408, 433, 2000.
187. WILLIAMS, G. H.; STOEBER, K. The cell cycle and cancer. *J. Pathol.*, 226 (2): 352, 2012.
188. ALMEIDA, V. L. DE; LEITÃO, A.; REINA, L. DEL C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L.; LOPES, M. T. P. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: Uma Introdução. *Quim. Nova*, 28 (1): 118, 2005.
189. OBENG, E. Apoptosis (programmed cell death) and its signals - a review. *Brazilian J. Biol.*, 81 (4): 1133, 2021.
190. SCHWABE, R. F.; LUEDDE, T. Apoptosis and necroptosis in the liver: a matter of life and death. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 15 (12): 738, 2018.

191. D'ARCY, M. S. Cell death: A review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol. Int.*, 43 (6): 582, 2019.
192. ZAKHAROV, I. I.; SAVITSKAYA, M. A.; ONISHCHENKO, G. E. The problem of apoptotic processes reversibility. *Biochem.*, 85 (10): 1145, 2020.
193. VERMES, I.; HAANEN, C.; STEFFENS-NAKKEN, H.; REUTELLINGSPERGER, C. A novel assay for apoptosis flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescein labelled annexin V. *J. Immunol. Methods*, 184 (1): 39, 1995.
194. ZEMBRUSKI, N. C. L.; STACHE, V.; HAEFELI, W. E.; WEISS, J. 7-Aminoactinomycin D for apoptosis staining in flow cytometry. *Anal. Biochem.*, 429 (1): 79, 2012.
195. BAIG, S.; SEEVASANT, I.; MOHAMAD, J.; MUKHEEM, A.; HURI, H. Z.; KAMARUL, T. Potential of apoptotic pathway-targeted cancer therapeutic research: where do we stand. *Cell Death Dis.*, 7, e2058, 2016.
196. CARNEIRO, B. A.; EL-DEIRY, W. S. Targeting apoptosis in cancer therapy. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 17 (7): 395, 2020.
197. SEQUEIRA, D.; BAPTISTA, P. V.; VALENTE, R.; PIEDADE, M. F. M.; GARCIA, M. H.; MORAIS, T. S.; FERNANDES, A. R. Cu(I) complexes as new antiproliferative agents against sensitive and doxorubicin resistant colorectal cancer cells: synthesis, characterization, and mechanisms of action. *Dalt. Trans.*, 50 (5): 1845, 2021.
198. PANDEY, S. K.; PRATAP, S.; POKHARIA, S.; MISHRA, H.; MARVERTI, G.; KAUR, M.; JASINSKI, J. P. Copper (I) Complexes based on novel N, N'-Disubstituted thiocarbamides: synthesis, spectroscopic, in vitro cytotoxicity, DNA damage and G0/G1 cell cycle arrest studies. *Inorganica Chim. Acta*, 491, 105, 2019.
199. KYZIOŁ, A.; CIERNIAK, A.; GUBERNATOR, J.; MARKOWSKI, A.; JEZOWSKA-BOJCZUK, M.; KOMARNICKA, U. K. Copper(I) complexes with phosphine derived from sparfloxacin. part iii: multifaceted cell death and preliminary study of liposomal formulation of selected copper(I) complexes. *Dalt. Trans.*, 47 (6): 1981, 2018.
200. HONG, S.; HUBER, S. M.; GAGLIARDI, L.; CRAMER, C. C.; TOLMAN, W. B. Copper(I)- α -ketocarboxylate complexes: characterization and O₂ reactions that yield copper-oxygen intermediates capable of hydroxylating

arenes. *J. Am. Chem. Soc.*, 129 (46): 14190, 2007.

201. AGUIRRECHU-COMERÓN, A.; ORAMAS-ROYO, S.; PÉREZ-ACOSTA, R.; HERNÁNDEZ-MOLINA, R.; GONZALEZ-PLATAS, J.; ESTÉVEZ-BRAUN, A. Preparation of new metallic complexes from 2-Hydroxy-3-((5-Methylfuran-2-Yl)Methyl)-1,4-Naphthoquinone. *Polyhedron*, 177, 114280, 2020.

202. MEZA-MORALES, W.; MACHADO-RODRIGUEZ, J.; ALVAREZ-RICARDO, Y.; OBREGÓN-MENDOZA, M.; NIETO-CAMACHO, A.; TOSCANO, R.; SORIANO-GARCÍA, M.; CASSANI, J.; ENRÍQUEZ, R. A new family of homoleptic copper complexes of curcuminoids: synthesis, characterization and biological properties. *Molecules*, 24 (5): 910, 2019.

203. ALIAGA-ALCALDE, N.; MARQUÉS-GALLEGO, P.; KRAAIJKAMP, M.; HERRANZ-LANCHO, C.; DEN DULK, H.; GÖRNER, H.; ROUBEAU, O.; TEAT, S. J.; WEYHERMÜLLER, T.; REEDIJK, J. Copper curcuminoids containing anthracene groups: fluorescent molecules with cytotoxic activity. *Inorg. Chem.*, 49 (20): 9655, 2010.

204. MAŁECKI, J. G.; MAROŃ, A.; PALION, J.; NYCZ, J. E.; SZALA, M. A copper(I) phosphine complex with 5,7-Dinitro-2-Methylquinolin-8-Ol as co-ligand. *Transit. Met. Chem.*, 39 (7): 755, 2014.

205. CHAQUIN, P.; CANAC, Y.; LEPETIT, C.; ZARGARIAN, D.; CHAUVIN, R. Estimating local bonding/antibonding character of canonical molecular orbitals from their energy derivatives. the case of coordinating lone pair orbitals. *Int. J. Quantum Chem.*, 116 (17): 1285, 2016.

206. SALUNKE-GAWALI, S.; PEREIRA, E.; DAR, U. A.; BHAND, S. Metal complexes of hydroxynaphthoquinones: lawsone, bis-lawsone, lapachol, plumbagin and juglone. *J. Mol. Struct.*, 1148, 435, 2017.

207. CABRERA, A. R.; GONZALEZ, I. A.; CORTÉS-ARRIAGADA, D.; NATALI, M.; BERKE, H.; DANILIUC, C. G.; CAMARADA, M. B.; TORO-LABBÉ, A.; ROJAS, R. S.; SALAS, C. O. Synthesis of new phosphorescent imidoyl-indazol and phosphine mixed ligand Cu(I) complexes – structural characterization and photophysical properties. *RSC Adv.*, 6 (7): 5141, 2016.

208. IDRIS, K. A.; SEDAIRA, H.; HASHEM, E. Y.; SALEH, M. S.; SOLIMAN, S. A. The visible absorbance maximum of 2-Hydroxy-1,4-naphthoquinone as a novel probe for the hydrogen bond donor abilities of solvents and solvent mixtures. *Monatshefte fur Chemie*, 127 (1): 29,

1996.

209. IBIS, C.; SAHINLER AYLAK, S.; BABAYEVA, E. Reactions of quinones with some amino alcohols, thiols and a UV-Vis study. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.*, 195 (6): 474, 2020.
210. KOSIHA, A.; PARTHIBAN, C.; ELANGO, K. P. Metal(II) complexes of bioactive aminonaphthoquinone-based ligand: synthesis, characterization and BSA binding, DNA binding/cleavage, and cytotoxicity studies. *J. Coord. Chem.*, 71 (10): 1560, 2018.
211. SØRENSEN, T. J.; NIELSEN, M. F. Synthesis, UV/Vis spectra and electrochemical characterisation of arylthio and styryl substituted ferrocenes. *Cent. Eur. J. Chem.*, 9 (4): 610, 2011.
212. ZÁLIŠ, S.; FIEDLER, J.; POSPÍŠIL, L.; FANELLI, N.; LANZA, C.; LAMPUGNANI, L. Electron transfer in donor-acceptor molecules of substituted naphthoquinones: spectral and redox properties of internal charge transfer complexes. *Microchem. J.*, 54 (4): 478, 1996.
213. VERMA, S. K.; SINGH, V. K. Synthesis, electrochemical, fluorescence and antimicrobial studies of 2-chloro-3-amino-1,4-naphthoquinone bearing mononuclear transition metal dithiocarbamate complexes $[M\{\kappa^2S,S-S_2C\text{-Piperazine-C}_2\text{H}_4\text{N(H)CINQ}\}_n]$. *RSC Adv.*, 5 (65): 53036, 2015.
214. WIN, T.; BITTNER, S. Novel 2-amino-3-(2,4-dinitrophenylamino) derivatives of 1,4-naphthoquinone. *Tetrahedron Lett.*, 46 (18): 3229, 2005.
215. ZHANG, Y.; DAI, M.; YUAN, Z. Methods for the detection of reactive oxygen species. *Anal. Methods*, 10 (38): 4625, 2018.
216. CLÉMENT, J.-L.; FERRÉ, N.; SIRI, D.; KAROUI, H.; ROCKENBAUER, A.; TORDO, P. Assignment of the EPR spectrum of 5,5-dimethyl-1-pyrroline N-oxide (DMPO) superoxide spin adduct. *J. Org. Chem.*, 70 (4): 1198, 2005.
217. PIETA, P.; PETR, A.; KUTNER, W.; DUNSCH, L. In Situ ESR Spectroscopic evidence of the spin-trapped superoxide radical, $O_2\{\text{radical Dot}\}^-$, electrochemically generated in DMSO at room temperature. *Electrochim. Acta*, 53 (8): 3412, 2008.
218. ZALIBERA, M.; RAPTA, P.; STAŠKO, A.; BRINDZOVÁ, L.; BREZOVÁ, V. Thermal generation of stable $SO_4^{\cdot-}$ spin trap adducts with super-hyperfine structure in their EPR spectra: an alternative EPR spin trapping assay

for radical scavenging capacity determination in dimethylsulphoxide. *Free Radic. Res.*, 43 (5): 457, 2009.

219. HOFBAUER, L. C.; BOZEC, A.; RAUNER, M.; JAKOB, F.; PERNER, S.; PANTEL, K. Novel approaches to target the microenvironment of bone metastasis. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 18, 488, 2021.

220. PITRODA, S. P.; WEICHSELBAUM, R. R. Integrated molecular and clinical staging defines the spectrum of metastatic cancer. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 16 (9): 581, 2019.

221. BERGERS, G.; FENDT, S. M. The metabolism of cancer cells during metastasis. *Nat. Rev. Cancer*, 21 (3): 162, 2021.

222. STAMM, A.; REIMERS, K.; STRAUß, S.; VOGT, P.; SCHEPER, T.; PEPELANOVA, I. *In Vitro* Wound Healing assays - state of the art. *BioNanoMaterials*, 17 (1–2), 79, 2016.

223. JONKMAN, J. E. N.; CATHCART, J. A.; XU, F.; BARTOLINI, M. E.; AMON, J. E.; STEVENS, K. M.; COLARUSSO, P. An introduction to the Wound Healing assay using live-cell microscopy. *Cell Adhes. Migr.*, 8 (5): 440, 2014.

224. MAHAR, P. S. Use of Mitomycin C in ocular surgery; a narrative review. *Pakistan J. Ophthalmol.*, 35 (3): 267, 2019.

APÊNDICE

Caracterização completa dos complexos da série 1:

[Cu(N,N-dimetil-N'-benzoiltiourea)(PPh₃)₂] (1): Sólido amarelo. Rendimento (78 %). Análise elementar experimental (teórica) (%): C, 70,94 (69,46); H, 5,48 (5,20); N, 3,88 (3,52); S 4,02 (4,03). Condutividade molar (DMSO): 0,986 S cm² mol⁻¹. ESI(+)-MS/MS (*m/z*): 795,1820 [M + H]⁺, 533,0885 [M-PPh₃]⁺ e 587,1122 [M-Aciltiourea]⁺. IV (KBr, cm⁻¹): (ν(C-H)_{ligantes}) 3045, 3001, 2922; (ν(C=O)) 1510; (ν(C=S)) 1240; (ν(C-P)) 1092. RMN de ³¹P{¹H} (162 MHz, CDCl₃, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: -3,6 (s). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, *J* (Hz), atribuição)]: 3,11 (s, 3H, CH₃ da aciltiourea); 3,21 (s, 3H, CH₃ of aciltiourea); 7,16 – 7,23 (m, 2H, H_{meta} da aciltiourea/ 12H, H_{meta} da trifenilfosfina); 7,27 – 7,32 (m, 1H, H_{para} da aciltiourea/ 6H, H_{para} da trifenilfosfina); 7,33 – 7,41 (m, 12H, H_{orto} da trifenilfosfina); 7,89 – 7,93 (m, 2H, H_{orto} da aciltiourea). RMN de ¹³C{¹H} (100 MHz, CDCl₃, 298 K) [ppm, (multiplicidade, *J* (Hz), atribuição)]: 39,8 (CH₃ da aciltiourea); 40,6 (CH₃ da aciltiourea); 127,5 (C_{meta} da aciltiourea); 128,4 (d, ³J_{CP}= 8,7 Hz, C_{meta} da trifenilfosfina); 129,08 (C_{orto} da aciltiourea); 129,3 (C_{para} da trifenilfosfina); 129,9 (C_{para} da aciltiourea); 134,0 (d, ²J_{CP}= 15,3 Hz, C_{orto} da trifenilfosfina); 134,5 (d, ¹J_{CP}= 22,7 Hz, C_{quaternário} da trifenilfosfina); 139,7 (C_{quaternário} da aciltiourea); 169,4 (C=O of aciltiourea); 179,5 (C=S da aciltiourea).

[Cu(N,N-dietil-N'-benzoiltiourea)(PPh₃)₂] (2): Sólido amarelo. Rendimento (80 %). Análise elementar experimental (teórica) (%): C, 70,19 (70,01); H, 5,89 (5,51); N, 3,82 (3,40); S 3,98 (3,89). Condutividade molar (DMSO): 0,543 S cm² mol⁻¹. ESI(+)-MS/MS (*m/z*): 823,2088 [M + H]⁺, 561,1189 [M-PPh₃]⁺ e

587,1113 [M-Aciltioureia]⁺. IV (KBr, cm⁻¹): (ν(C-H)_{ligantes}) 3054, 2966, 2926; (ν(C=O)) 1518; (ν(C=S)) 1130; ((ν(C-P/Cu-P)) 515, 505. RMN de ³¹P{¹H} (162 MHz, CDCl₃, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: -3,9 (s). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, *J* (Hz), atribuição)]: 1,03 (t, 3H, CH₃ da aciltioureia); 1,23 (t, 3H, CH₃ of aciltioureia); 7,17 – 7,23 (m, 2H, H_{meta} da aciltioureia/ 12H, H_{meta} da trifenilfosfina); 7,26 – 7,32 (m, 1H, H_{para} da aciltioureia/ 6H, H_{para} da trifenilfosfina); 7,33 – 7,40 (m, 12H, H_{orto} da trifenilfosfina); 7,90 – 7,93 (m, 2H, H_{orto} da aciltioureia). RMN de ¹³C{¹H} (100 MHz, CDCl₃, 298 K) [ppm, (multiplicidade, *J* (Hz), atribuição)]: 12,9 (CH₃ da aciltioureia); 13,4 (CH₃ da aciltioureia); 44,9 (CH₂ da aciltioureia); 45,3 (CH₂ da aciltioureia); 127,4 (C_{meta} da aciltioureia); 128,4 (d, ³J_{CP}= 8,9 Hz, C_{meta} da trifenilfosfina); 129,1 (C_{orto} da aciltioureia); 129,3 (C_{para} da trifenilfosfina); 129,8 (C_{para} da aciltioureia); 134,0 (d, ²J_{CP}= 15,6 Hz, C_{orto} da trifenilfosfina); 134,6 (d, ¹J_{CP}= 21,7 Hz, C_{quaternário} da trifenilfosfina); 140,0 (C_{quaternário} da aciltioureia); 169,5 (C=O of aciltioureia); 177,8 (C=S da aciltioureia).

[Cu(N,N-dipropil-N'-benzoiltioureia)(PPh₃)₂] (3): Sólido amarelo. Rendimento (76 %). Análise elementar experimental (teórica.) (%): C, 70,87 (70,53); H, 5,91 (5,80); N, 3,53 (3,29); S 3,99 (3,77). Condutividade molar (DMSO): 0,457 S cm² mol⁻¹. ESI(+)-MS/MS (*m/z*): 589,1109 [M-PPh₃]. IV (KBr, cm⁻¹): (ν(C-H)_{ligantes}) 3055, 3003, 2966, 2926, 2868; (ν(C=O)) 1522; (ν(C=S)) 1225; (ν(C-P)) 1094. RMN de ³¹P{¹H} (162 MHz, CDCl₃, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: -3,9 (s). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, *J* (Hz), atribuição)]: 0,82 (t, ³J= 7,4 Hz, 3H, CH₃ da aciltioureia); 0,90 (t, ³J= 7,4 Hz, 3H, CH₃ da aciltioureia); 1,43 – 1,56 (m, 2H, CH₂ da aciltioureia); 1,59 – 1,74 (m, 2H, CH₂ da aciltioureia); 3,58 – 3,66 (m, 4H, CH₂ da aciltioureia); 7,15 – 7,24 (m, 2H, H_{meta} da aciltioureia/ 12H, H_{meta} da trifenilfosfina); 7,26 – 7,32 (m, 1H, H_{para} da aciltioureia/ 6H, H_{para} da trifenilfosfina); 7,33 – 7,42 (m, 12H, H_{orto} da trifenilfosfina); 7,87 – 7,93 (m, 2H,

H_{orto} da aciltiourea). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (100 MHz, CDCl_3 , 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 11,6 (CH_3 da aciltiourea); 11,8 (CH_3 da aciltiourea); 20,9 (CH_2 da aciltiourea); 21,6 (CH_2 da aciltiourea); 52,7 (CH_2 da aciltiourea); 53,0 (CH_2 da aciltiourea); 127,5 (C_{meta} da aciltiourea); 128,4 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8,6$ Hz, C_{meta} da trifenilfosfina); 129,1 (C_{orto} da aciltiourea); 129,3 (C_{para} da trifenilfosfina); 129,8 (C_{para} da aciltiourea); 134,1 (d, $^2J_{\text{CP}} = 15,5$ Hz, C_{orto} da trifenilfosfina); 134,6 (d, $^1J_{\text{CP}} = 21,4$ Hz, $\text{C}_{\text{quaternário}}$ da trifenilfosfina); 140,1 ($\text{C}_{\text{quaternário}}$ da aciltiourea); 169,4 ($\text{C}=\text{O}$ of aciltiourea); 178,3 ($\text{C}=\text{S}$ of aciltiourea).

[Cu(N,N-dibutil-N'-benzoiltiourea)(PPh₃)₂] (4): Sólido amarelo. Rendimento (81 %). Análise elementar experimental (teórica) (%): C, 70,86 (71,01); H, 6,25 (6,07); N, 3,16 (3,18); S 3,67 (3,65). Condutividade molar (DMSO): 0,379 S $\text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$. ESI(+)-MS/MS (m/z): 881,2705 [$\text{M} + \text{H}$]⁺, 617,1816 [$\text{M}-\text{PPh}_3$]⁺ e 587,1060 [$\text{M}-\text{Aciltiourea}$]⁺. IV (KBr, cm^{-1}): ($\nu(\text{C}-\text{H})_{\text{ligantes}}$) 3055, 3001, 2957, 2928, 2868, 2854; ($\nu(\text{C}=\text{O})$) 1508; ($\nu(\text{C}=\text{S})$) 1240; ($\nu(\text{C}-\text{P})$) 1094. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (162 MHz, CDCl_3 , 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: -3,9 (s). RMN de ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 0,83 (t, $^3J = 7,3$ Hz, 3H, CH_3 da aciltiourea); 0,93 (t, $^3J = 7,4$ Hz, 3H, CH_3 da aciltiourea); 1,19 – 1,46 (sinais sobrepostos, 6H, CH_2 da aciltiourea); 1,57 – 1,68 (sinais sobrepostos, solvente e 2H, CH_2 da aciltiourea); 3,61 – 3,70 (m, 4H, CH_2 da aciltiourea); 7,16 – 7,24 (m, 2H, H_{meta} da aciltiourea/ 12H, H_{meta} da trifenilfosfina); 7,27 – 7,32 (m, 1H, H_{para} da aciltiourea/ 6H, H_{para} da trifenilfosfina); 7,33 – 7,43 (m, 12H, H_{orto} da trifenilfosfina); 7,87 – 7,91 (m, 2H, H_{orto} da aciltiourea). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (100 MHz, CDCl_3 , 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 14,0 (CH_3 da aciltiourea); 14,2 (CH_3 da aciltiourea); 20,4 (CH_2 da aciltiourea); 20,6 (CH_2 da aciltiourea); 29,7 (CH_2 da aciltiourea); 30,4 (CH_2 da aciltiourea); 50,7 (CH_2 da aciltiourea); 51,1 (CH_2 da aciltiourea); 127,4 (C_{meta} da aciltiourea); 128,5 (d,

$^3J_{CP} = 8,7$ Hz, C_{meta} da trifenilfosfina); 129,1 (C_{orto} da aciltiourea); 129,3 (C_{para} da trifenilfosfina); 129,8 (C_{para} da aciltiourea); 134,1 (d, $^2J_{CP} = 15,6$ Hz, C_{orto} da trifenilfosfina); 134,7 (d, $^1J_{CP} = 21,2$ Hz, $C_{quaternário}$ da trifenilfosfina); 140,1 ($C_{quaternário}$ da aciltiourea); 169,4 (C=O da aciltiourea); 178,1 (C=S da aciltiourea).

[Cu(N,N-dimetil-N'-(2-tiofenocarboniltiourea)(PPh₃)₂)] (5): Sólido amarelo. Rendimento (65 %). Análise elementar experimental (teórica) (%): C, 65,71 (65,94); H, 5,29 (4,91); N, 3,89 (3,50); S 8,02 (8,00). Condutividade molar (DMSO): 0,364 S cm² mol⁻¹. ESI(+)-MS/MS (*m/z*): 803,1340 [M + H]⁺, 539,0447 [M-PPh₃]⁺ e 587,1119 [M-Aciltiourea]⁺. IV (KBr, cm⁻¹): ($\nu(C-H)_{ligantes}$) 3065, 3045, 2920, 2851; ($\nu(C=O)$) 1502; ($\nu(C=S)$) 1236; ($\nu(C-P)$) 1094. RMN de ³¹P{¹H} (162 MHz, CDCl₃, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: -3,6 (s). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, *J* (Hz), atribuição)]: 3,10 (s, 3H, CH₃ da aciltiourea); 3,20 (s, 3H, CH₃ da aciltiourea); 6,86 (dd, $^{3,4}J = 5,0, 3,6$ Hz, 1H, H_c da aciltiourea); 7,17 – 7,24 (m, 1H, H_b da aciltiourea/ 12H, H_{meta} da trifenilfosfina); 7,27 – 7,32 (m, 6H, H_{para} da trifenilfosfina); 7,33 – 7,41 (m, 1H, H_a da aciltiourea/ 12H, H_{orto} da trifenilfosfina). RMN de ¹³C{¹H} (100 MHz, CDCl₃, 298 K) [ppm, (multiplicidade, *J* (Hz), atribuição)]: 39,9 (CH₃ da aciltiourea); 40,6 (CH₃ da aciltiourea); 127,1 (C_c da aciltiourea); 128,4 (d, $^3J_{CP} = 8,7$ Hz, C_{meta} da trifenilfosfina); 128,8 (C_b da aciltiourea); 129,2 (C_a da aciltiourea); 129,3 (C_{para} da trifenilfosfina); 134,1 (d, $^2J_{CP} = 15,4$ Hz, C_{orto} da trifenilfosfina); 134,5 (d, $^1J_{CP} = 22,6$ Hz, $C_{quaternário}$ da trifenilfosfina); 146,6 ($C_{quaternário}$ da aciltiourea); 165,4 (C=O of aciltiourea); 179,0 (C=O da aciltiourea).

[Cu(N,N-dimetil-N'-(2-furoiltiourea)(PPh₃)₂)] (6): Sólido amarelo. Rendimento (63 %). Análise elementar experimental (teórica) (%): C, 67,26 (67,29); H, 5,16 (5,01); N, 3,61 (3,57); S 4,28 (4,08). Condutividade molar

(DMSO): $0,407 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. ESI(+)-MS/MS (m/z): 785,1574 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 523,0674 $[\text{M}-\text{PPh}_3]^+$ e 587,1125 $[\text{M}-\text{Aciltiourea}]^+$. IV (KBr, cm^{-1}): ($\nu(\text{C}-\text{H})_{\text{ligantes}}$) 3051, 3003, 2920, 2851; ($\nu(\text{C}=\text{O})$) 1520; ($\nu(\text{C}=\text{S})$) 1221; ($\nu(\text{C}-\text{P})$) 1095. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (162 MHz, CDCl_3 , 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: -3,6 (s). RMN de ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 3,04 (s, 3H, CH_3 da aciltiourea); 3,19 (s, 3H, CH_3 da aciltiourea); 6,25 (dd, $^{3,4}J = 3,3, 1,7$ Hz, 1H, H_a da aciltiourea); 6,68 – 6,71 (m, 1H, H_b da aciltiourea); 7,17 – 7,23 (m, 12H, H_{meta} da trifenilfosfina); 7,27 – 7,33 (m, 1H, H_c da aciltiourea/ 6H, H_{para} da trifenilfosfina); 7,34 – 7,40 (m, 12H, H_{orto} da trifenilfosfina). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (100 MHz, CDCl_3 , 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 39,9 (CH_3 da aciltiourea); 40,6 (CH_3 da aciltiourea); 111,2 (C_a da aciltiourea); 113,3 (C_b da aciltiourea); 128,4 (d, $^3J_{\text{CP}} = 8,6$ Hz, C_{meta} da trifenilfosfina); 128,3 (C_{para} da trifenilfosfina); 134,1 (d, $^2J_{\text{CP}} = 15,3$ Hz, C_{orto} da trifenilfosfina); 134,5 (d, $^1J_{\text{CP}} = 23,0$ Hz, $\text{C}_{\text{quaternário}}$ da trifenilfosfina); 143,5 (C_c da aciltiourea); 153,5 ($\text{C}_{\text{quaternário}}$ da aciltiourea); 161,5 ($\text{C}=\text{O}$ da aciltiourea); 179,8 ($\text{C}=\text{S}$ of aciltiourea).

[Cu(N,N-dimetil-N'-benzoiltiourea)(PPh₃)₂]₂NO₃ (1a): Sólido amarelo. Rendimento (75 %). Análise elementar experimental (teórica) (%): C, 64,32 (64,36); H, 5,25 (4,93); N, 4,92 (4,90); S 3,93 (3,73). Condutividade molar (DMSO): $33,70 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. IV (KBr, cm^{-1}): ($\nu(\text{C}-\text{H})_{\text{ligantes}}$) 3053, ($\nu(\text{C}=\text{O})$) 1651; ($\nu(\text{C}=\text{S})$) 1190; ($\nu(\text{C}-\text{P})/(\text{Cu}-\text{P})$) 516, 503, 494. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (162 MHz, CD_3CN , 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: -1,2 (s). RMN de ^1H (400 MHz, CD_3CN , 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 3,19 (s, 3H, CH_3 da aciltiourea); 3,40 (s, 3H, CH_3 da aciltiourea); 7,20 – 7,29 (m, 12H, H_{orto} da trifenilfosfina); 7,30 – 7,39 (m, 12H, H_{meta} da trifenilfosfina); 7,40 – 7,47 (m, 6H, H_{para} da trifenilfosfina); 7,48 – 7,53 (m, 2H, H_{meta} da aciltiourea); 7,59 – 7,64 (m, 1H, H_{para} da aciltiourea); 7,84 – 7,89 (m, 2H, H_{orto} da aciltiourea); 9,09 (s, 1H, N-H da aciltiourea). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (100 MHz, CD_3CN , 298 K)

[ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 43,1 (CH₃ da aciltiourea); 44,2 (CH₃ da aciltiourea); 129,1 (C_{orto} da aciltiourea); 129,6 (C_{meta} da aciltiourea); 129,8 (d, $^3J_{CP}$ = 8,8 Hz, C_{meta} da trifenilfosfina); 131,1 (C_{para} da trifenilfosfina); 133,4 (d, $^1J_{PC}$ = 28,7 Hz, C_{quaternário} da trifenilfosfina); 133,7 (Sobreposição dos sinais: C_{para} e C_{quaternário} da aciltiourea); 134,3 (d, $^2J_{CP}$ = 14,6 Hz, C_{orto} da trifenilfosfina); 165,0 (C=O of aciltiourea); 181,0 (C=S da aciltiourea).

[Cu(N,N-dietil-N'-benzoiltiourea)(PPh₃)₂]NO₃ (2a): Sólido amarelo. Rendimento (77 %). Análise elementar experimental (teórica) (%): C, 64,95 (65,04); H, 5,62 (5,23); N, 4,76 (4,74); S 3,87 (3,62). Condutividade molar (DMSO): 34,40 S cm² mol⁻¹. IV (KBr, cm⁻¹): (ν(C-H)/(N-H)_{ligantes}) 3053, 2974, 2931; (ν(C=O)) 1636; (ν(C=S)) 1227; (ν(C-P)/(Cu-P)) 516, 503. RMN de ³¹P{¹H} (162 MHz, CD₃CN, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: -1,2 (s). RMN de ¹H (400 MHz, CD₃CN, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 1,19 – 1,29 (m, 6H, CH₃ da aciltiourea); 3,54 – 3,62 (m, 2H, CH₂ da aciltiourea); 3,89 – 3,98 (m, 2H, CH₂ da aciltiourea); 7,21 – 7,28 (m, 12H, H_{orto} da trifenilfosfina); 7,29 – 7,35 (m, 12H, H_{meta} da trifenilfosfina); 7,40 – 7,46 (m, 6H, H_{para} da trifenilfosfina); 7,48 – 7,51 (m, 2H, H_{meta} da aciltiourea); 7,57 – 7,62 (m, 1H, H_{para} da aciltiourea); 7,83 – 7,88 (m, 2H, H_{orto} da aciltiourea); 9,02 (s, 1H, N-H da aciltiourea). RMN de ¹³C{¹H} (100 MHz, CD₃CN, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 11,5 (CH₃ da aciltiourea); 13,5 (CH₃ da aciltiourea); 48,2 (CH₂ da aciltiourea); 48,6 (CH₂ da aciltiourea); 128,9 (C_{orto} da aciltiourea); 129,6 (C_{meta} da aciltiourea); 129,8 (d, $^3J_{CP}$ = 8,8 Hz, C_{meta} da trifenilfosfina); 131,1 (C_{para} da trifenilfosfina); 133,4 (d, $^1J_{PC}$ = 28,6 Hz, C_{quaternário} da trifenilfosfina); 133,5 (C_{para} da aciltiourea); 134,0 (C_{quaternário} da aciltiourea); 134,3 (d, $^2J_{CP}$ = 14,4 Hz, C_{orto} da trifenilfosfina); 165,6 (C=O of aciltiourea); 180,4 (C=S da aciltiourea).

[Cu(N,N-dipropril-N'-benzoiltiourea)(PPh₃)₂NO₃ (3a): Sólido amarelo. Rendimento (80 %). Análise elementar experimental (teórica) (%): C, 65,72 (65,67); H, 5,71 (5,51); N, 4,78 (4,59); S 3,59 (3,51). Condutividade molar (DMSO): 28,52 S cm² mol⁻¹. IV (KBr, cm⁻¹): (ν(C-H)/(N-H)_{ligantes}) 3049, 2964, 2931, 2874; (ν(C=O)) 1684; (ν(C=S)) 1209; (ν(C-P)/(Cu-P)) 514, 490. RMN de ³¹P{¹H} (162 MHz, CD₃CN, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: -1,3 (s). RMN de ¹H (400 MHz, CD₃CN, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, *J* (Hz), atribuição)]: 0,87 (t, *J*= 7,4 Hz, 3H, CH₃ da aciltiourea); 0,98 (t, *J*= 7,4 Hz, 3H, CH₃ da aciltiourea); 1,64 – 1,85 (m, 4H, CH₂ da aciltiourea); 3,46 – 3,54 (m, 2H, CH₂ da aciltiourea); 3,86 – 3,93 (m, 2H, CH₂ da aciltiourea); 7,23 – 7,31 (m, 12H, H_{orto} da trifenilfosfina); 7,32 – 7,38 (m, 12H, H_{meta} da trifenilfosfina); 7,42 – 7,49 (m, 6H, H_{para} da trifenilfosfina); 7,50 – 7,54 (m, 2H, H_{meta} da aciltiourea); 7,59 – 7,65 (m, 1H, H_{para} da aciltiourea); 7,86 – 7,91 (m, 2H, H_{orto} da aciltiourea); 9,03 (s, 1H, N-H da aciltiourea). RMN de ¹³C{¹H} (100 MHz, CD₃CN, 298 K) [ppm, (multiplicidade, *J* (Hz), atribuição)]: 11,4 (CH₃ da aciltiourea); 11,5 (CH₃ da aciltiourea); 20,2 (CH₂ da aciltiourea); 22,1 (CH₂ da aciltiourea); 55,3 (CH₂ da aciltiourea); 55,5 (CH₂ da aciltiourea); 128,9 (C_{orto} da aciltiourea); 129,5 (C_{meta} da aciltiourea); 129,8 (d, ³*J*_{CP}= 8,7 Hz, C_{meta} da trifenilfosfina); 131,1 (C_{para} da trifenilfosfina); 133,3 (d, ¹*J*_{PC}= 28,6 Hz, C_{quaternário} da trifenilfosfina); 133,5 (C_{para} da aciltiourea); 134,1 (C_{quaternário} da aciltiourea); 134,3 (d, ²*J*_{CP}= 14,6 Hz, C_{orto} da trifenilfosfina); 165,4 (C=O of aciltiourea); 181,1 (C=S da aciltiourea).

[Cu(N,N-dibutil-N'-benzoiltiourea)(PPh₃)₂NO₃ (4a): Sólido amarelo. Rendimento (81 %). Análise elementar experimental (teórica) (%): C, 66,26 (66,12); H, 6,03 (5,77); N, 4,54 (4,46); S 3,99 (3,40). Condutividade molar (DMSO): 25,91 S cm² mol⁻¹. IV (KBr, cm⁻¹): (ν(C-H)/(N-H)_{ligantes}) 3053, 2959, 2932, 2874, 2858; (ν(C=O)) 1624; (ν(C=S)) 1202; (ν(C-P)/(Cu-P)) 517, 507, 490. RMN de ³¹P{¹H} (162 MHz, CD₃CN, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: -1,2

(s). RMN de ^1H (400 MHz, CD_3CN , 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 0,86 (t, $J= 7,3$ Hz, 3H, CH_3 da aciltiourea); 0,93 (t, $J= 7,4$ Hz, 3H, CH_3 da aciltiourea); 1,25 (h, $J= 7,3$ Hz, 2H, CH_2 da aciltiourea); 1,38 (h, $J= 7,3$ Hz, 2H, CH_2 da aciltiourea); 1,59 – 1,76 (m, 4H, CH_2 da aciltiourea); 3,47 – 3,54 (m, 2H, CH_2 da aciltiourea); 3,85 – 3,93 (m, 2H, CH_2 da aciltiourea); 7,21 – 7,28 (m, 12H, H_{orto} da trifenilfosfina); 7,29 – 7,36 (m, 12H, H_{meta} da trifenilfosfina); 7,39 – 7,48 (m, 6H, H_{para} da trifenilfosfina); 7,46 – 7,51 (m, 2H, H_{meta} da aciltiourea); 7,57 – 7,62 (m, 1H, H_{para} da aciltiourea); 7,79 – 7,90 (m, 2H, H_{orto} da aciltiourea); 9,02 (s, 1H, N-H da aciltiourea). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (100 MHz, CD_3CN , 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 13,9 (CH_3 da aciltiourea); 14,0 (CH_3 da aciltiourea); 20,5 (CH_2 da aciltiourea); 20,6 (CH_2 da aciltiourea); 28,9 (CH_2 da aciltiourea); 30,7 (CH_2 da aciltiourea); 53,5 (CH_2 da aciltiourea); 53,8 (CH_2 da aciltiourea); 128,9 (C_{orto} da aciltiourea); 129,6 (C_{meta} da aciltiourea); 129,8 (d, $^3J_{\text{CP}}= 9,0$ Hz, C_{meta} da trifenilfosfina); 131,1 (C_{para} da trifenilfosfina); 133,4 (d, $^1J_{\text{PC}}= 29,1$ Hz, $\text{C}_{\text{quaternário}}$ da trifenilfosfina); 133,6 (C_{para} da aciltiourea); 134,0 ($\text{C}_{\text{quaternário}}$ da aciltiourea); 134,3 (d, $^2J_{\text{CP}}= 14,7$ Hz, C_{orto} da trifenilfosfina); 165,4 (C=O of aciltiourea); 180,8 (C=S da aciltiourea).

[Cu(N,N-dimetil-N'-(2-tiofenocarboniltiourea)PPh₃)₂]NO₃ (5a): Sólido amarelo. Rendimento (79 %). Análise elementar experimental (teórica) (%): C, 60,96 (61,14); H, 4,76 (4,66); N, 4,95 (4,86); S 8,13 (7,42). Condutividade molar (DMSO): 33,90 S cm² mol⁻¹. IV (KBr, cm⁻¹): ($\nu(\text{C-H})/(\text{N-H})_{\text{ligantes}}$) 3047, ($\nu(\text{C=O})$) 1674; ($\nu(\text{C=S})$) 1205; ($\nu(\text{C-P})/(\text{Cu-P})$) 513, 503. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (162 MHz, CD_3CN , 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: -1,1 (s). RMN de ^1H (400 MHz, CD_3CN , 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 3,17 (s, 3H, CH_3 da aciltiourea); 3,36 (s, 3H, CH_3 da aciltiourea); 7,16 (dd, $J= 5,0$, 3,8 Hz, 1H, H_b da aciltiourea); 7,21 – 7,28 (m, 12H, H_{orto} da trifenilfosfina); 7,29 – 7,36 (m, 12H, H_{meta} da trifenilfosfina); 7,40 – 7,46 (m, 6H, H_{para} da

trifenilfosfina); 7,73 (dd, $J= 5,0, 1,1$ Hz, 1H, H_c da aciltioureia); 7,78 (dd, $J= 3,8, 1,2$ Hz, H_a da aciltioureia); 9,21 (s, 1H, N-H da aciltioureia). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (100 MHz, CD_3CN , 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 43,0 (CH_3 da aciltioureia); 44,1 (CH_3 da aciltioureia); 129,2 (C_b da aciltioureia); 129,7 (d, $^3J_{\text{CP}}= 8,9$ Hz, C_{meta} da trifenilfosfina); 131,1 (C_{para} da trifenilfosfina); 131,7 (C_a da aciltioureia); 133,4 (d, $^1J_{\text{PC}}= 28,6$ Hz, $C_{\text{quaternário}}$ da trifenilfosfina); 134,0 (C_c da aciltioureia); 134,3 (d, $^2J_{\text{CP}}= 14,5$ Hz, C_{orto} da trifenilfosfina); 138,5 ($C_{\text{quaternário}}$ da aciltioureia); 159,5 (C=O of aciltioureia); 180,3 (C=S da aciltioureia).

[Cu(N,N-dimetil-N'-(2-furoiltioureia))PPh₃]₂]NO₃ (6a): Sólido amarelo. Rendimento (75 %). Análise elementar experimental (teórica) (%): C, 62,29 (62,15); H, 4,75 (4,98); N, 4,95 (4,94); S 4,36 (3,78). Condutividade molar (DMSO): 32,97 S cm² mol⁻¹. IV (KBr, cm⁻¹): ($\nu(\text{C-H})/(\text{N-H})_{\text{ligantes}}$) 3115, 3053 ($\nu(\text{C=O})$) 1639; ($\nu(\text{C=S})$) 1205; ($\nu(\text{C-P})/(\text{Cu-P})$) 517, 507. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (162 MHz, CD_3CN , 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: -1,1 (s). RMN de ^1H (400 MHz, CD_3CN , 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 3,18 (s, 3H, CH_3 da aciltioureia); 3,37 (s, 3H, CH_3 da aciltioureia); 6,61 (dd, $J= 3,6, 1,8$ Hz, 1H, H_a da aciltioureia); 7,21 – 7,28 (m, sinais sobrepostos, 1H, H_b da aciltioureia/ 12H, H_{orto} da trifenilfosfina); 7,29 – 7,35 (m, 12H, H_{meta} da trifenilfosfina); 7,40 – 7,47 (m, 6H, H_{para} da trifenilfosfina); 7,68 (dd, $J= 1,8, 0,8$ Hz, 1H, H_c da aciltioureia); 8,99 (s, 1H, N-H da aciltioureia). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (100 MHz, CD_3CN , 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 43,3 (CH_3 da aciltioureia); 44,2 (CH_3 da aciltioureia); 113,4 (C_a da aciltioureia); 117,7 (C_b da aciltioureia); 129,7 (d, $^3J_{\text{CP}}= 8,8$ Hz, C_{meta} da trifenilfosfina); 131,1 (C_{para} da trifenilfosfina); 133,4 (d, $^1J_{\text{PC}}= 29,1$ Hz, $C_{\text{quaternário}}$ da trifenilfosfina); 134,3 (d, $^2J_{\text{CP}}= 14,4$ Hz, C_{orto} da trifenilfosfina); 147,1 ($C_{\text{quaternário}}$ da aciltioureia); 147,4 (C_c da aciltioureia); 155,1 (C=O of aciltioureia); 179,7 (C=S da aciltioureia).

Caracterização completa dos complexos da série 2:

[Cu(NQ1)PPh₃]₂ (1b): Sólido roxo. Rendimento (78 %). Análise elementar experimental (teórica) (%): C, 72,36 (72,58); H, 4,94 (4,63). Condutividade molar (diclorometano): 0,20 S cm² mol⁻¹. IV (KBr, cm⁻¹): (ν(C-H)_{ligantes}) 3053, (ν(C4=O3)) 1641, (ν(C1=O1)) 1587, (ν(C2-O2)) 1094, (ν(C-P)/(Cu-P)) 519, 507, 494. RMN de ³¹P{¹H} (162 MHz, CDCl₃, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: -1,0 (s). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, *J* (Hz), atribuição)]: 6,05 (s, 1H, Ha' da NQ1); 7,16 – 7,24 (m, 12H, H_{orto} da trifenilfosfina); 7,25 – 7,34 (m, sinais sobrepostos: 12H, H_{meta} da trifenilfosfina e 6H, H_{para} da trifenilfosfina); 7,43 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H, Hc da NQ1); 7,63 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H, Hb da NQ1); 7,80 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, Hd da NQ1); 8,06 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H, Ha da NQ1). RMN de ¹³C{¹H} (100 MHz, CDCl₃, 298 K) [ppm, (multiplicidade, *J* (Hz), atribuição)]: 108,7 (C3 da NQ1); 125,8 (C6 da NQ1); 125,9 (C9 da NQ1); 128,8 (C_{orto} da trifenilfosfina); 130,0 (CH da trifenilfosfina); 130,4 (C7 da NQ1); 130,6 (C10 da NQ1); 132,5 (C_{quaternário} da trifenilfosfina); 133,8 (CH da trifenilfosfina); 134,4 (C8 da NQ1); 135,4 (C5 da NQ1); 170,2 (C2 da NQ1); 184,5 (C1 da NQ1); 188,8 (C4 da NQ1).

[Cu(NQ2)PPh₃]₂ (2b): Sólido roxo. Rendimento (80 %). Análise elementar experimental (teórica) (%): C, 73,72 (73,86); H, 5,51 (5,23). Condutividade molar (diclorometano): 0,07 S cm² mol⁻¹. IV (KBr, cm⁻¹): (ν(C-H)_{ligantes}) 3049, 2907; (ν(C4=O3)) 1628; (ν(C1=O1)) 1583; (ν(C2-O2)) 1095; (ν(C-P)/(Cu-P)) 514, 505, 490. RMN de ³¹P{¹H} (162 MHz, CDCl₃, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: -1,4 (s). RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, *J* (Hz), atribuição)]: 1,56 (s, 3H, CH₃ da NQ2); 1,74 (s, 3H, CH₃ da NQ2); 3,35 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H, CH₂ da NQ2); 5,25 – 5,33 (m, 1H, CH da NQ2); 7,16 – 7,24 (m, 12H, H_{orto} da trifenilfosfina); 7,27 – 7,39 (m, sinais sobrepostos: 12H, H_{meta} da trifenilfosfina, 6H, H_{para} da trifenilfosfina e 1H,

Hb da NQ2); 7,57 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H, Hc da NQ2); 7,72 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ha da NQ2); 8,04 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Hd da NQ2). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (100 MHz, CDCl_3 , 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 18,1 (CH_3 da NQ2); 23,1 (CH_2 da NQ2); 26,0 (CH_3 da NQ2); 120,9 (C3 da NQ2); 123,9 (CH da NQ2); 125,3 (C9 da NQ2); 125,9 (C6 da NQ2); 128,7 (C_{orto} da trifenilfosfina); 129,9 (CH da trifenilfosfina); 130,3 ($\text{C}_{\text{quaternário}}$ da NQ2); 130,6 (C5 da NQ2); 132,7 (C8 da NQ2); 132,9 ($\text{C}_{\text{quaternário}}$ da NQ2); 133,9 (CH da trifenilfosfina); 134,0 (C7 da NQ2); 135,5 (C10 da NQ2); 167,7 (C2 da NQ2); 182,5 (C4 da NQ2); 188,3 (C1 da NQ2).

[Cu(NQ3)PPh₃]₂ (3b): Sólido azul. Rendimento (79 %). Análise elementar experimental (teórica) (%): C, 75,04 (75,12); H, 5,12 (4,79). Condutividade molar (diclorometano): 0,12 S $\text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$. IV (KBr, cm^{-1}): ($\nu(\text{C-H})_{\text{ligantes}}$) 3051, 3017; ($\nu(\text{C4=O3})$) 1628; ($\nu(\text{C1=O1})$) 1584; ($\nu(\text{C2-O2})$) 1094; ($\nu(\text{C-P})/(\text{Cu-P})$) 513, 490. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (162 MHz, acetona- d_6 , 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: -1,4 (s). RMN de ^1H (400 MHz, acetone- d_6 , 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 7,15 (t, 1H, Hc' da NQ3); 7,27 – 7,35 (m, sinais sobrepostos: 2H, Hb'/d' da NQ3 e 12H, H_{orto} da trifenilfosfina); 7,37 – 7,45 (m, sinais sobrepostos: 18H, $\text{H}_{\text{meta/para}}$ da trifenilfosfina); 7,49 (t, $J = 7,7$ Hz, 2H, Ha'/e' da NQ3); 7,56 (t, $J = 7,5$ Hz, 1H, Hb da NQ3); 7,68 – 7,75 (m, sinais sobrepostos: 2H, H₁ e Hc da NQ3); 7,88 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, Ha da NQ3); 8,03 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H, Hd da NQ3); 8,38 (d, $J = 16,2$ Hz, 1H, H₂ da NQ3). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (100 MHz, acetone- d_6 , 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 117,8 (C1' da NQ3); 123,7 (CH da NQ3); 126,2 (C9 da NQ3); 126,8 (C2'/C6' da NQ3); 126,9 (C6 da NQ3); 127,0 (C4' da NQ3); 129,5 (C3'/C5' da NQ3); 129,8 (sinais sobrepostos: CH da NQ3 e C_{orto} da trifenilfosfina); 131,1 (CH da trifenilfosfina); 131,8 (C5 da NQ3); 132,0 (C8 da NQ3); 133,5 ($\text{C}_{\text{quaternário}}$ da trifenilfosfina); 134,6 (CH da trifenilfosfina); 135,4

(C7 da NQ3); 135,7 (C10 da NQ3); 141,7 (C3 da NQ3); 168,3 (C2 da NQ3); 182,8 (C4 da NQ3); 188,5 (C1 da NQ3).

[Cu(NQ4)PPh₃]₂ (4b): Sólido azul. Rendimento (80 %). Análise elementar experimental (teórica) (%): C, 72,12 (72,24); H, 4,74 (4,49). Condutividade molar (diclorometano): 0,13 S cm² mol⁻¹. IV (KBr, cm⁻¹): (ν(C-H)_{ligantes}) 3049, 3013; (ν(C4=O3)) 1626; (ν(C1=O1)) 1582; (ν(C2-O2)) 1093; (ν(C-P)/(Cu-P)) 515, 507. RMN de ³¹P{¹H} (162 MHz, acetona-d₆, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: -1,2 (s). RMN de ¹H (400 MHz, acetone-d₆, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, *J* (Hz), atribuição)]: 7,27 – 7,36 (m, sinais sobrepostos: 2H, H_b'/c' da NQ4 e 12H, H_{orto} da trifenilfosfina); 7,36 – 7,44 (m, sinais sobrepostos: 18H, H_{meta/para} da trifenilfosfina); 7,47 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H, H_a'/d' da NQ4); 7,56 (d, 21H, H_b da NQ4); 7,67 – 7,76 (m, 2H, H₁/H_c da NQ4); 7,88 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H, H_a da NQ4); 8,03 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H, H_d da NQ4); 8,33 (d, *J* = 16,3 Hz, 1H, H₂ da NQ4). RMN de ¹³C{¹H} (100 MHz, acetone-d₆, 298 K) [ppm, (multiplicidade, *J* (Hz), atribuição)]: 117,5 (C1' da NQ4); 124,6 (CH da NQ4); 126,3 (C9 da NQ4); 126,9 (C6 da NQ4); 128,0 (CH da NQ4); 128,2 (C2'/C6' da NQ4); 129,5 (C3'/C5' da NQ4); 129,8 (C_{orto} da trifenilfosfina); 131,2 (CH da trifenilfosfina); 131,8 (C5 da NQ4); 131,9 (C4' da NQ4); 132,1 (C8 da NQ4); 133,5 (C_{quaternário} da trifenilfosfina); 134,6 (CH da trifenilfosfina); 135,6 (C7 da NQ4); 135,7 (C10 da NQ4); 140,6 (C3 da NQ4); 168,6 (C2 da NQ4); 182,7 (C4 da NQ4); 188,5 (C1 da NQ4).

Figuras

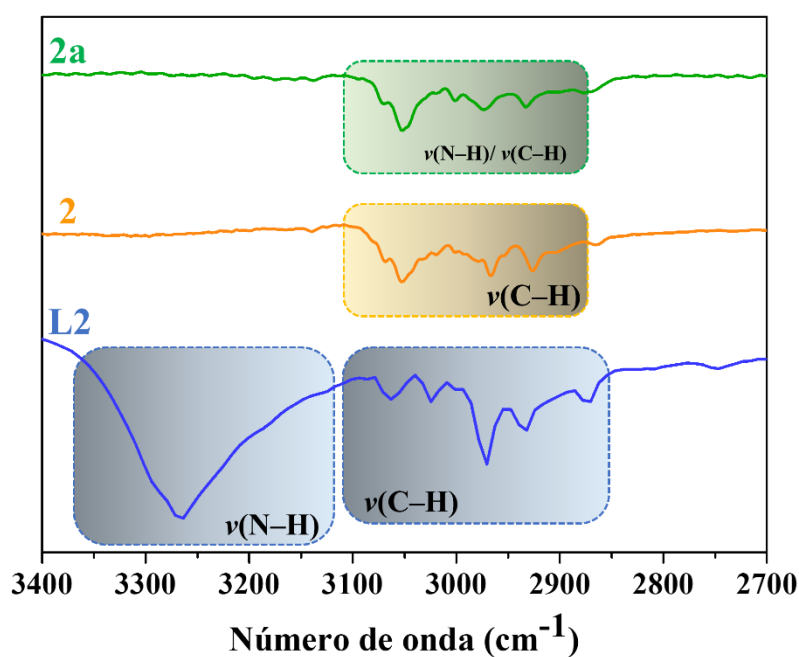


FIGURA A1: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais do ligante **L2** e dos complexos **2** e **2a** na região de 3400-2700 cm^{-1} .

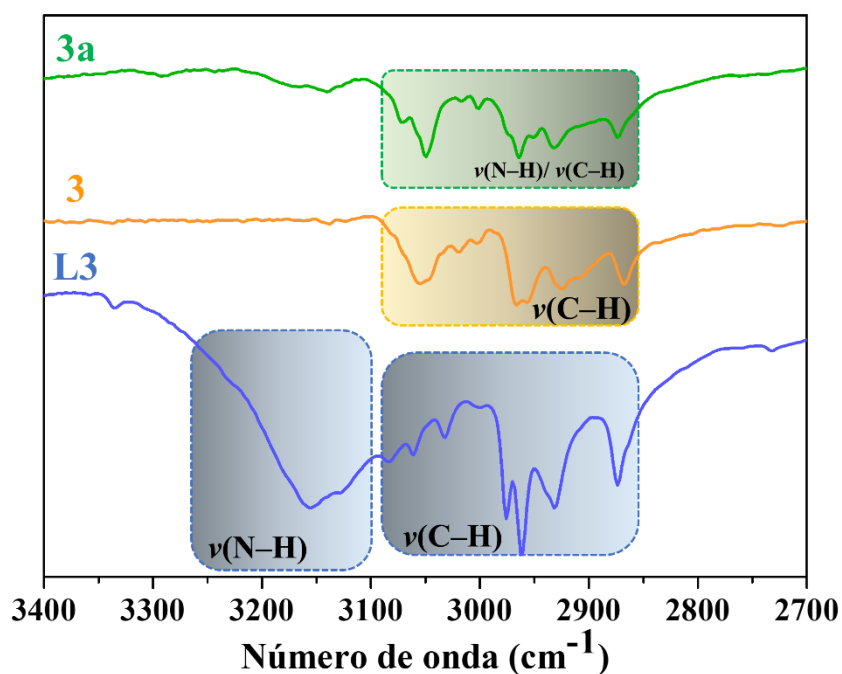


FIGURA A2: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais do ligante **L3** e dos complexos **3** e **3a** na região de 3400-2700 cm^{-1} .

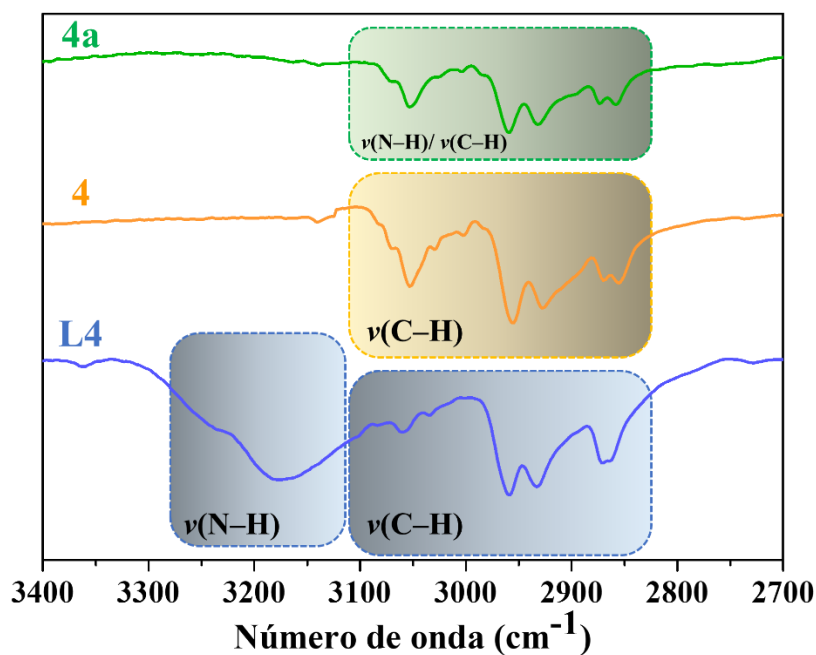


FIGURA A3: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais do ligante **L4** e dos complexos **4** e **4a** na região de 3400-2700 cm⁻¹.

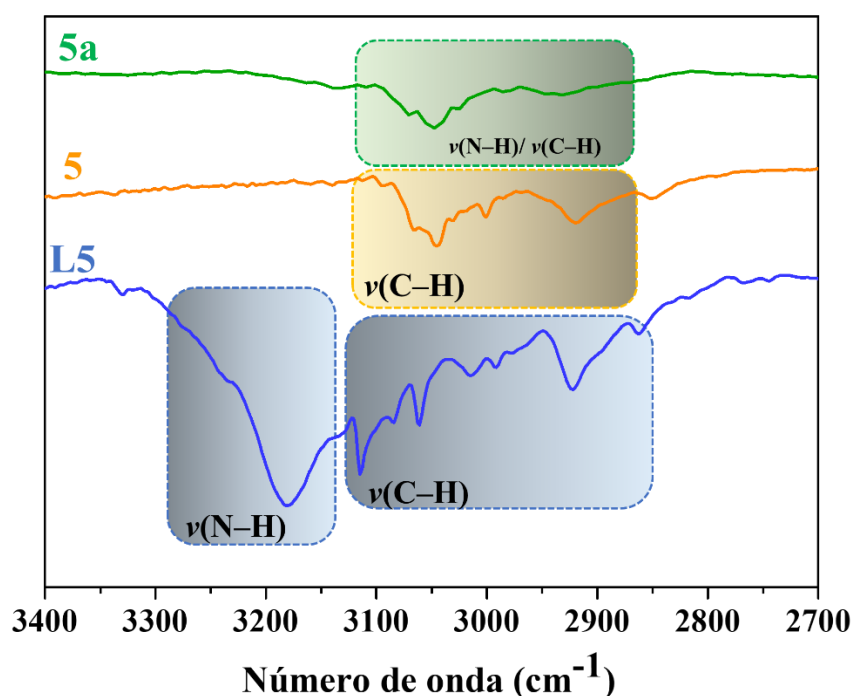


FIGURA A4: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais do ligante **L5** e dos complexos **5** e **5a** na região de 3400-2700 cm⁻¹.

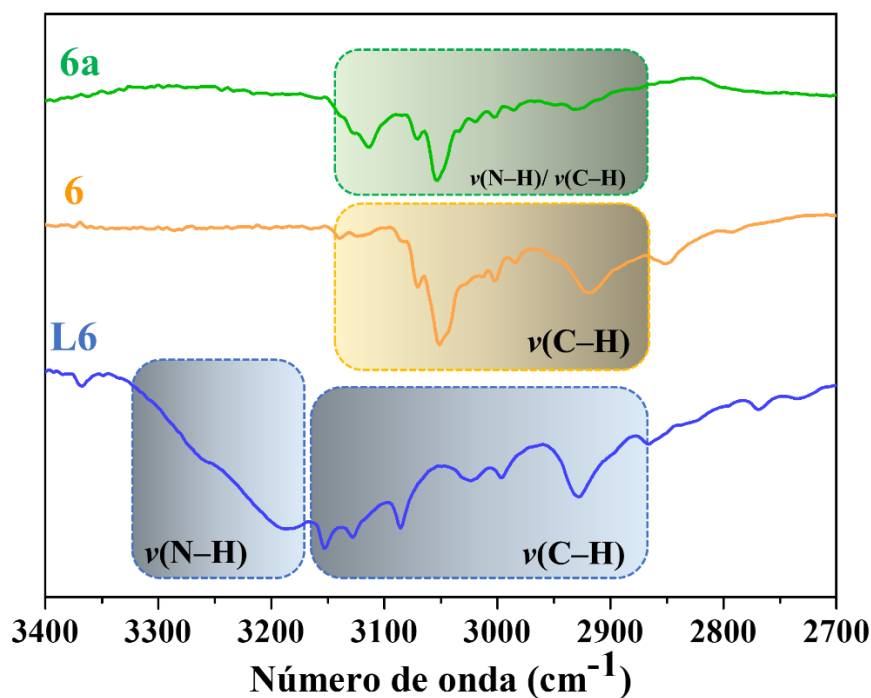


FIGURA A5: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais do ligante **L6** e dos complexos **6** e **6a** na região de 3400-2700 cm^{-1} .

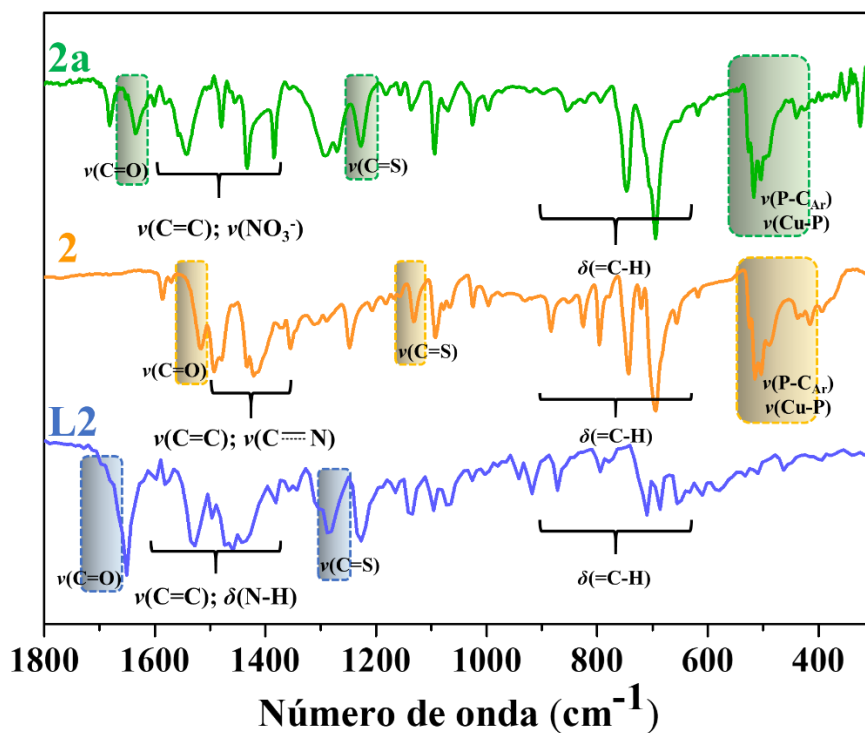


FIGURA A6: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais do ligante **L2** e dos complexos **2** e **2a** na região de 1800-300 cm^{-1} .

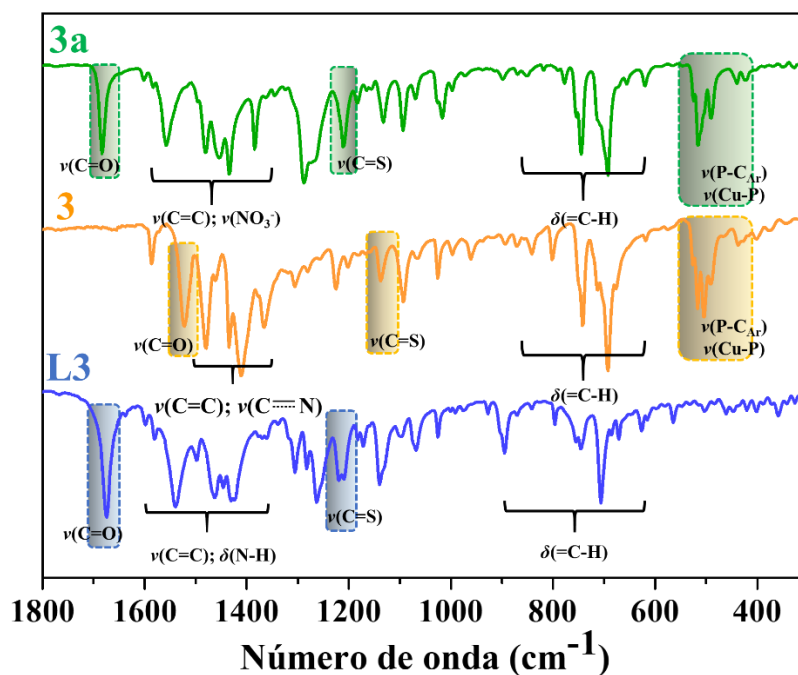


FIGURA A7: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais do ligante **L3** e dos complexos **3** e **3a** na região de 1800-300 cm⁻¹.

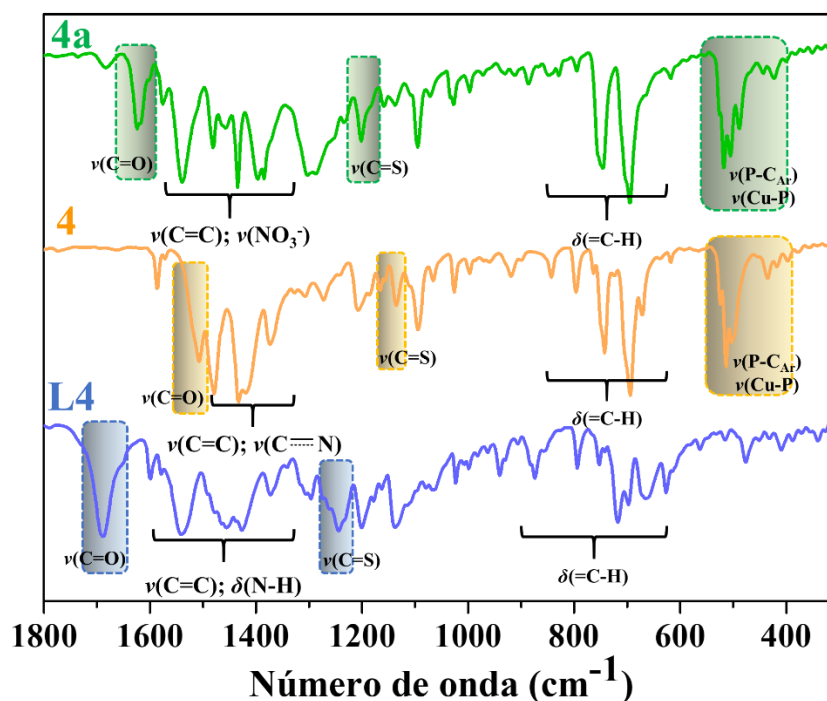


FIGURA A8: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais do ligante **L4** e dos complexos **4** e **4a** na região de 1800-300 cm⁻¹.

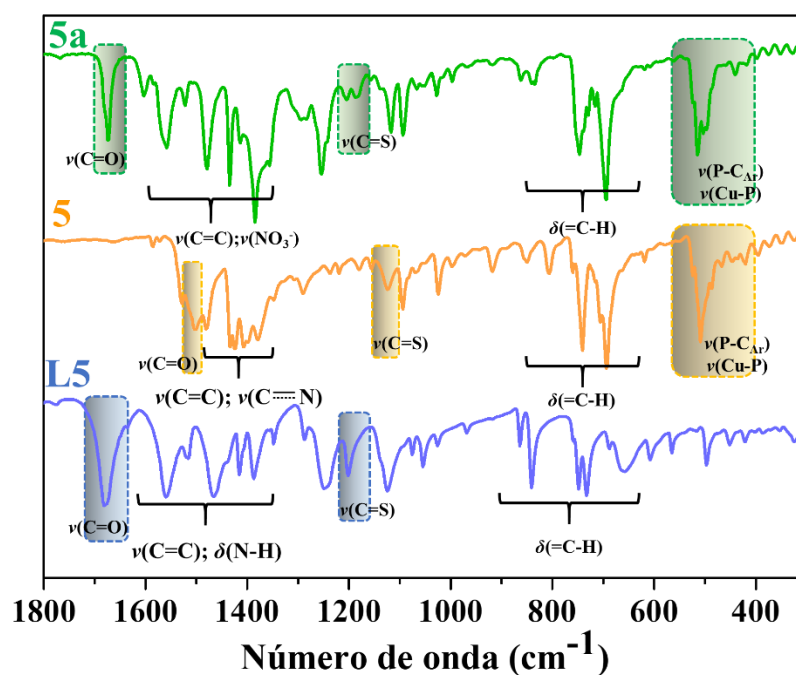


FIGURA A9: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais do ligante **L5** e dos complexos **5** e **5a** na região de 1800-300 cm^{-1} .

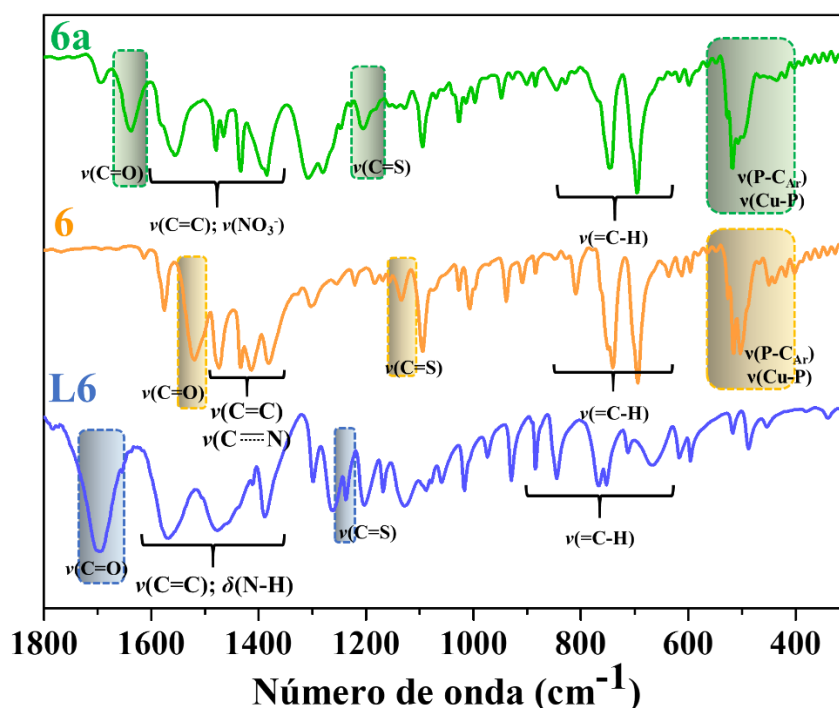


FIGURA A10: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais do ligante **L6** e dos complexos **6** e **6a** na região de 1800-300 cm^{-1} .

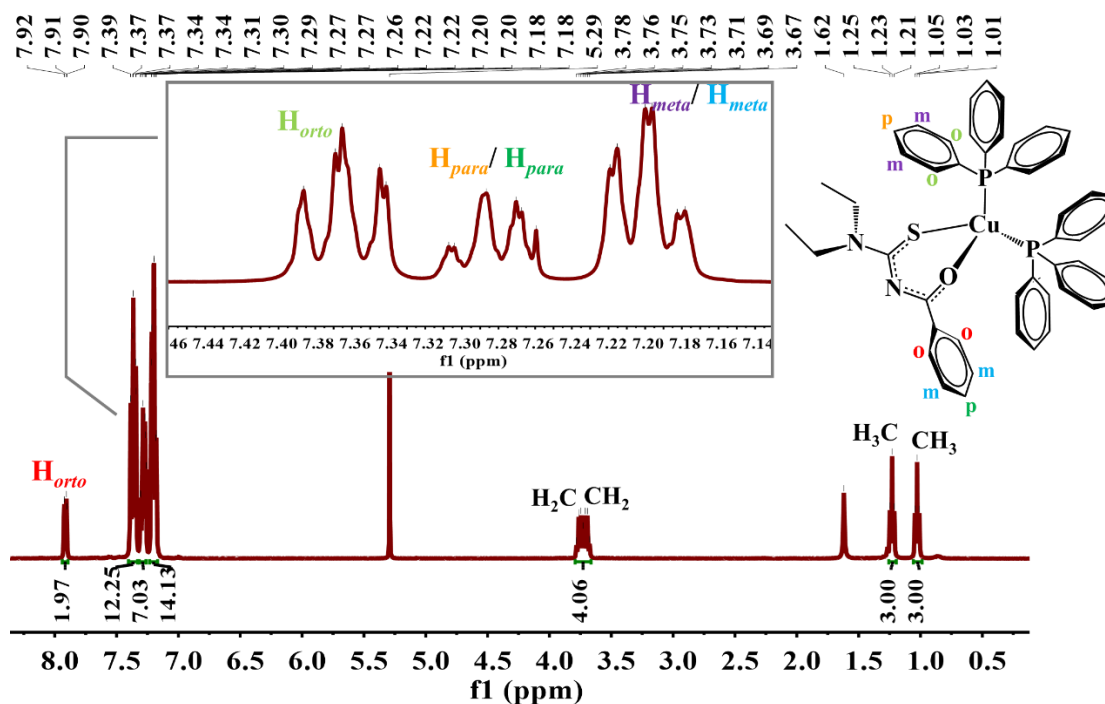


FIGURA A11: Espectro de RMN de ^1H obtido para o complexo **2**, em CDCl_3 , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

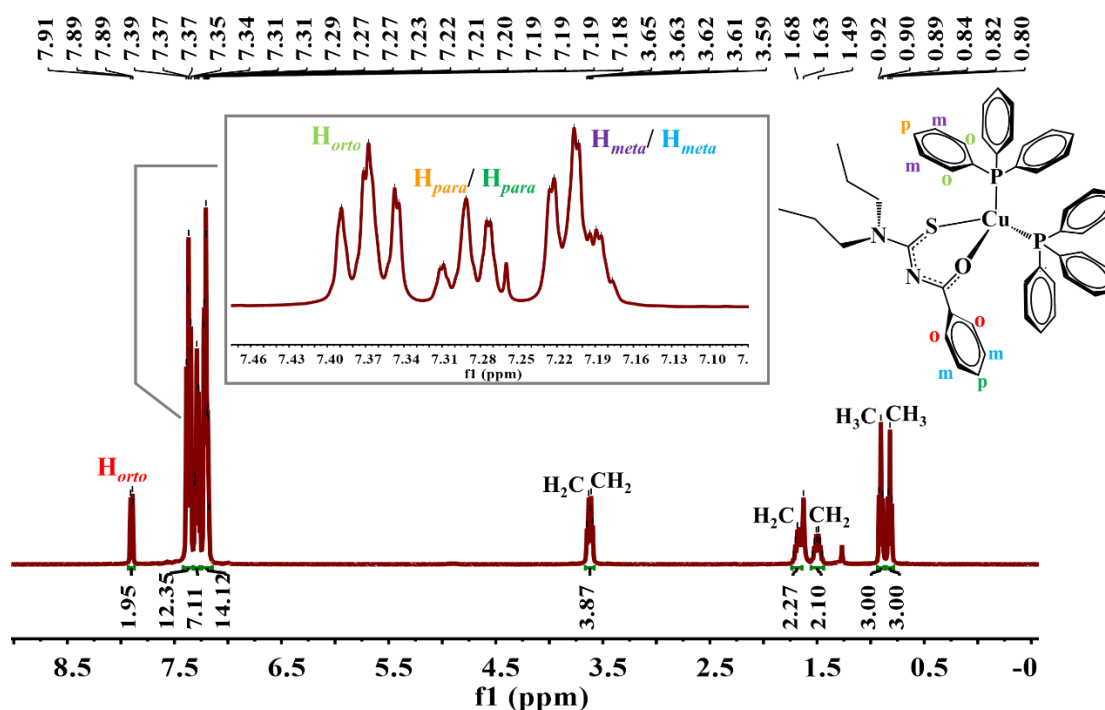


FIGURA A12: Espectro de RMN de ^1H obtido para o complexo **3**, em CDCl_3 , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

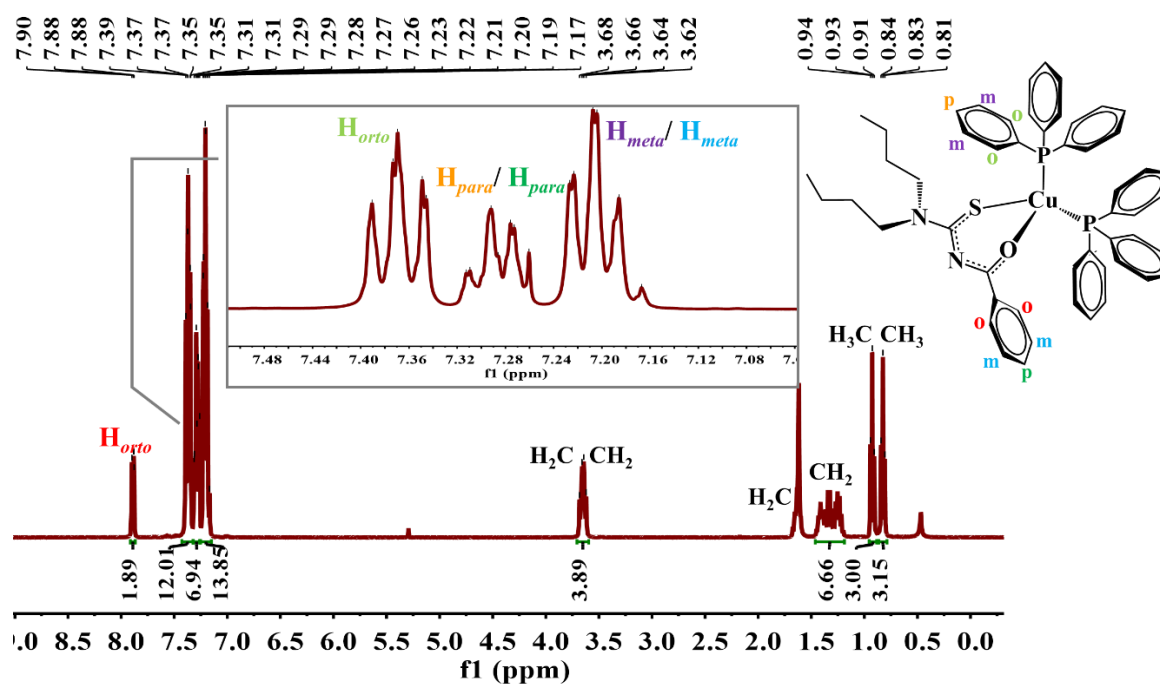


FIGURA A13: Espectro de RMN de 1H obtido para o complexo **4**, em $CDCl_3$, mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

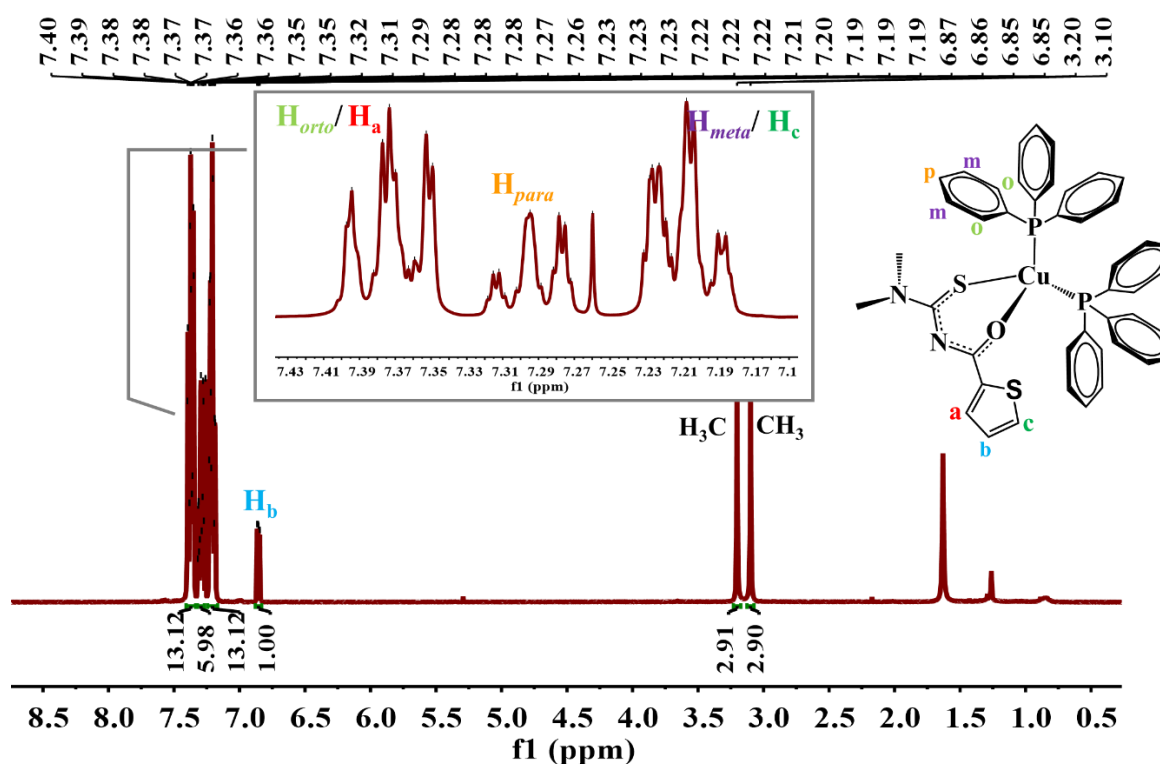


FIGURA A14: Espectro de RMN de 1H obtido para o complexo **5**, em $CDCl_3$, mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

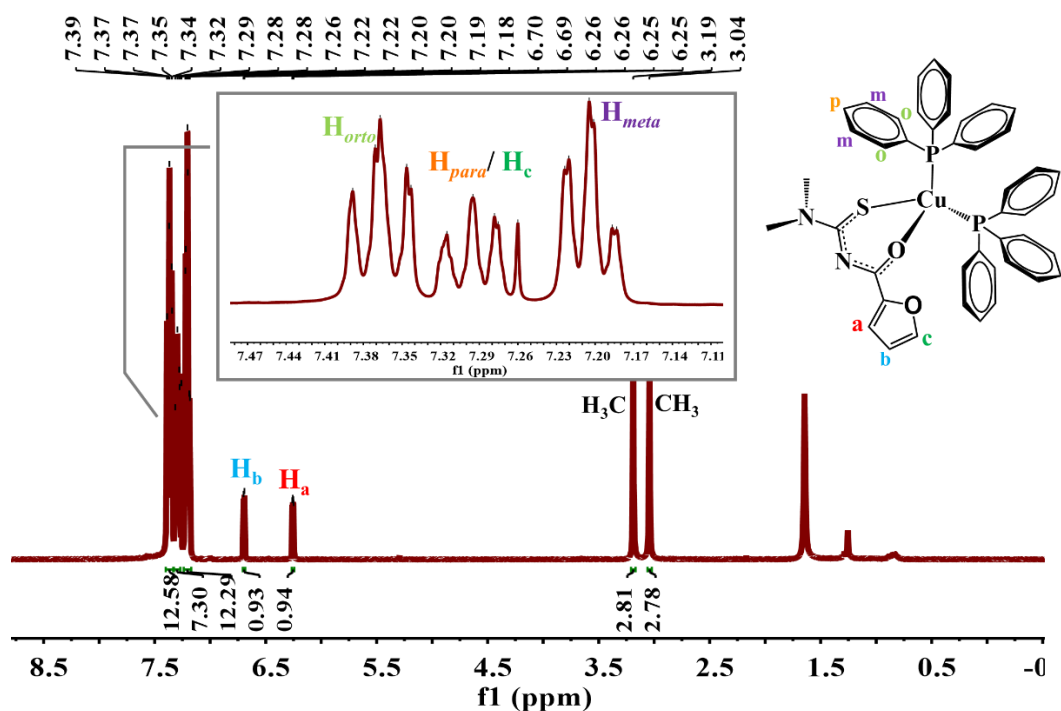


FIGURA A15: Espectro de RMN de ^1H obtido para o complexo **6**, em CDCl_3 , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

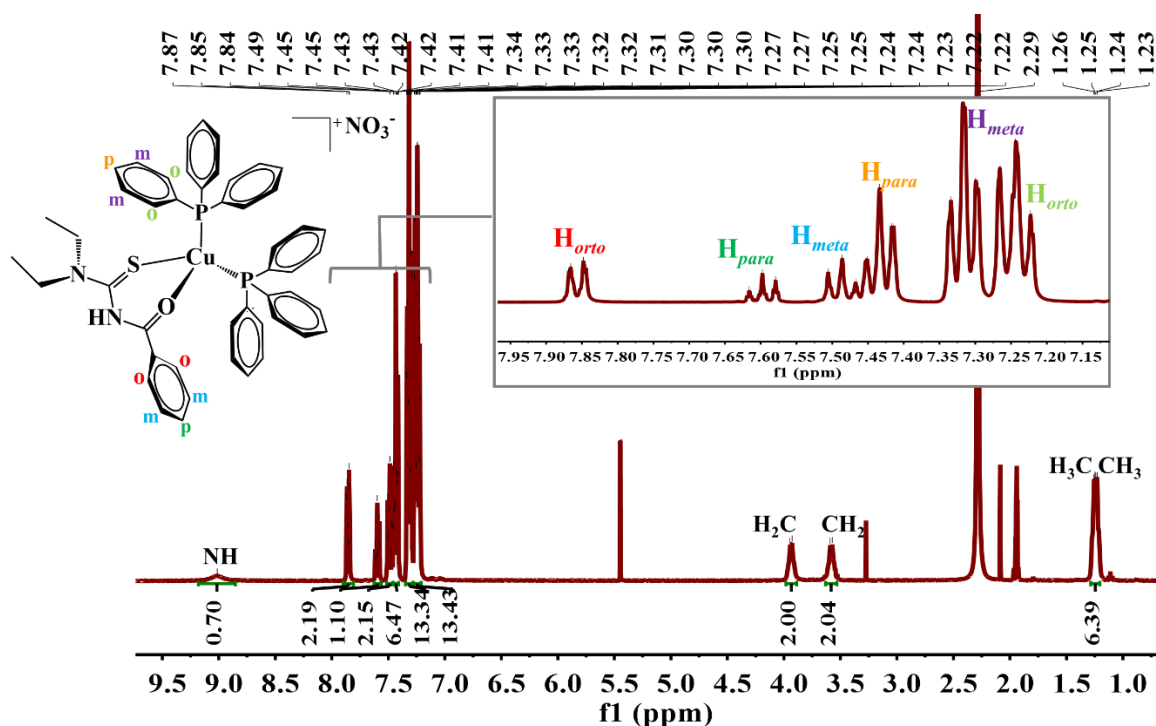


FIGURA A16: Espectro de RMN de ^1H obtido para o complexo **2a**, em CD_3CN , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

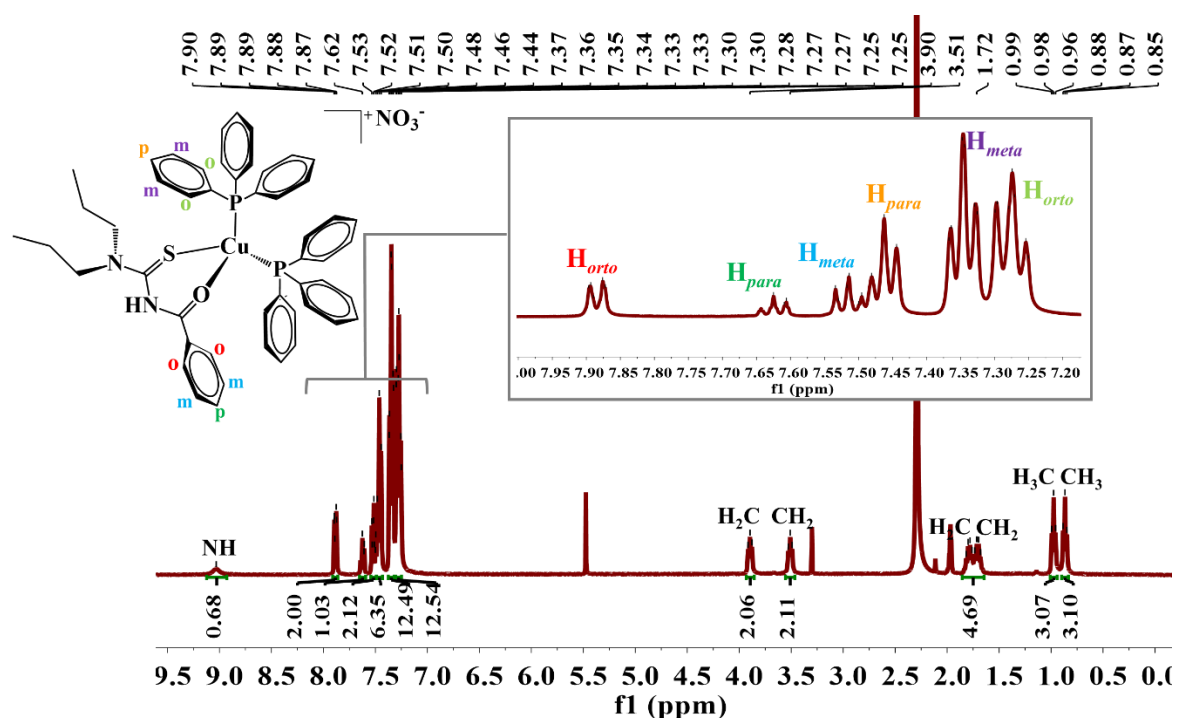


FIGURA A17: Espectro de RMN de ¹H obtido para o complexo **3a**, em CD₃CN, mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

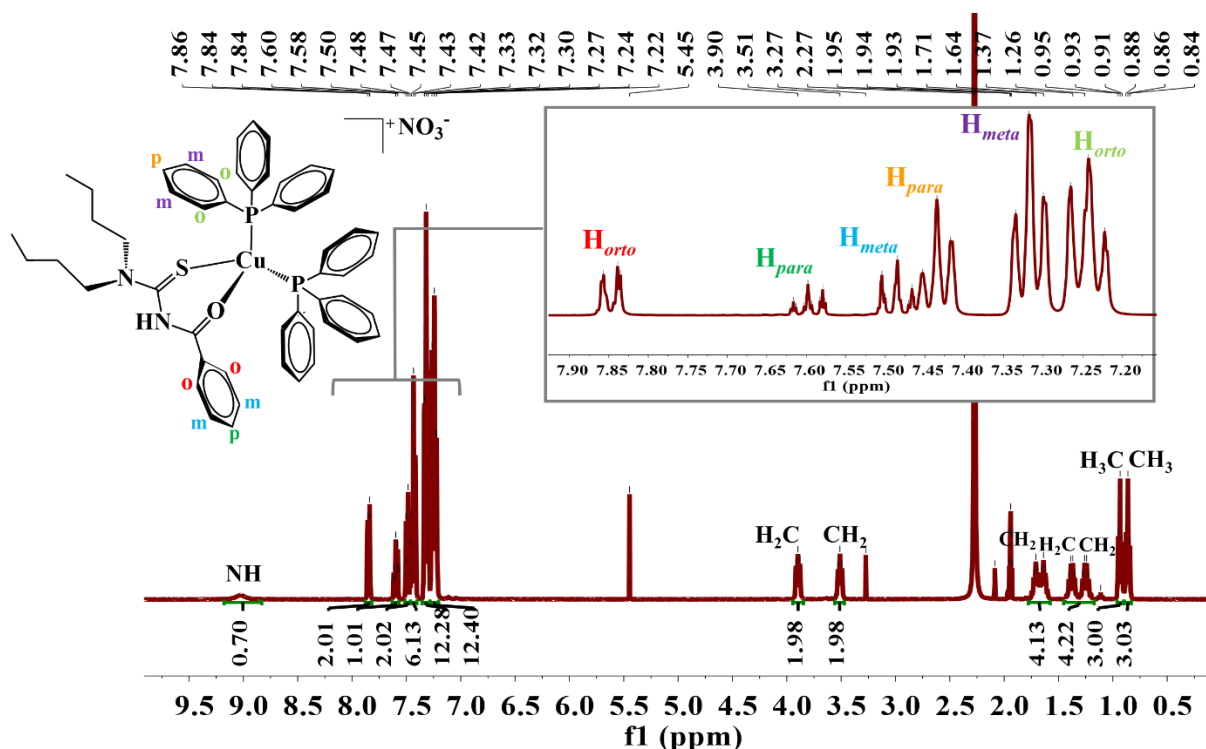


FIGURA A18: Espectro de RMN de ¹H obtido para o complexo **4a**, em CD₃CN, mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

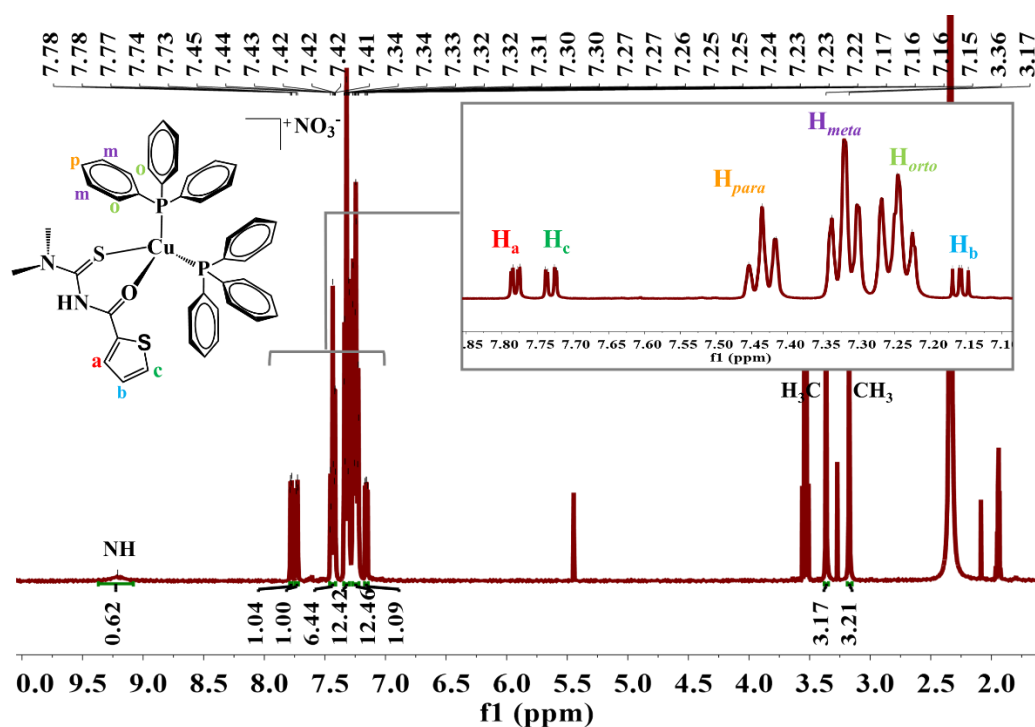


FIGURA A19: Espectro de RMN de 1H obtido para o complexo **5a**, em CD_3CN , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

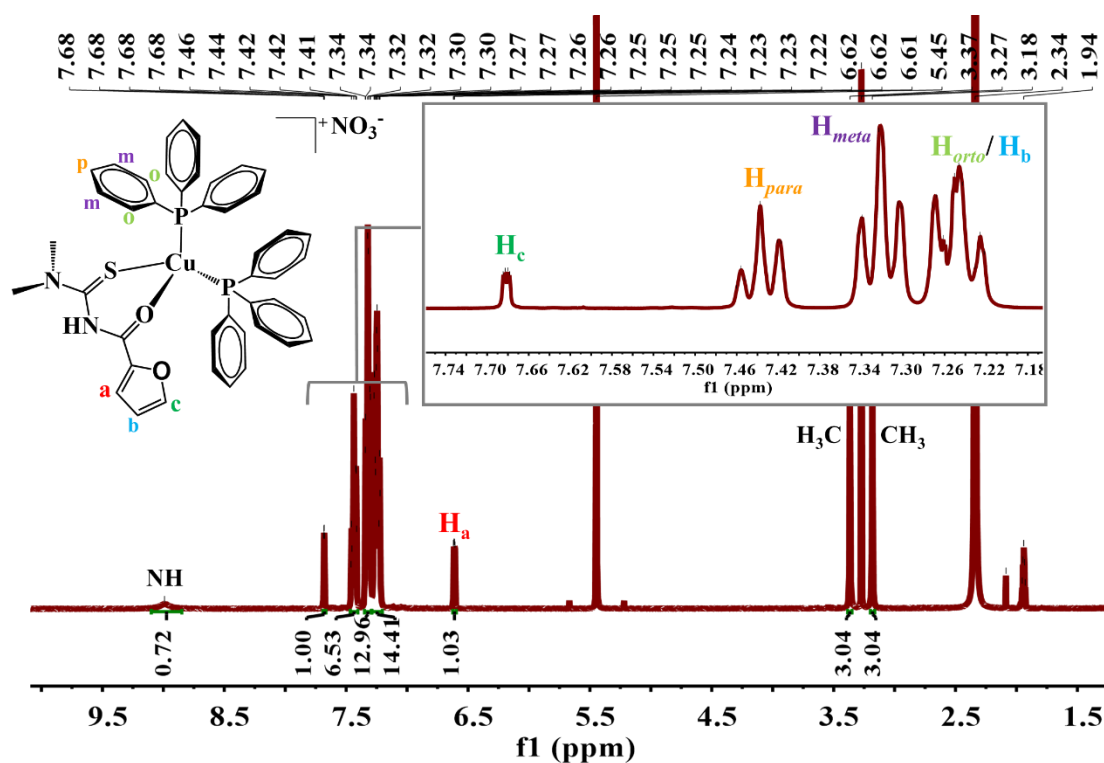


FIGURA A20: Espectro de RMN de 1H obtido para o complexo **6a**, em CD_3CN , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

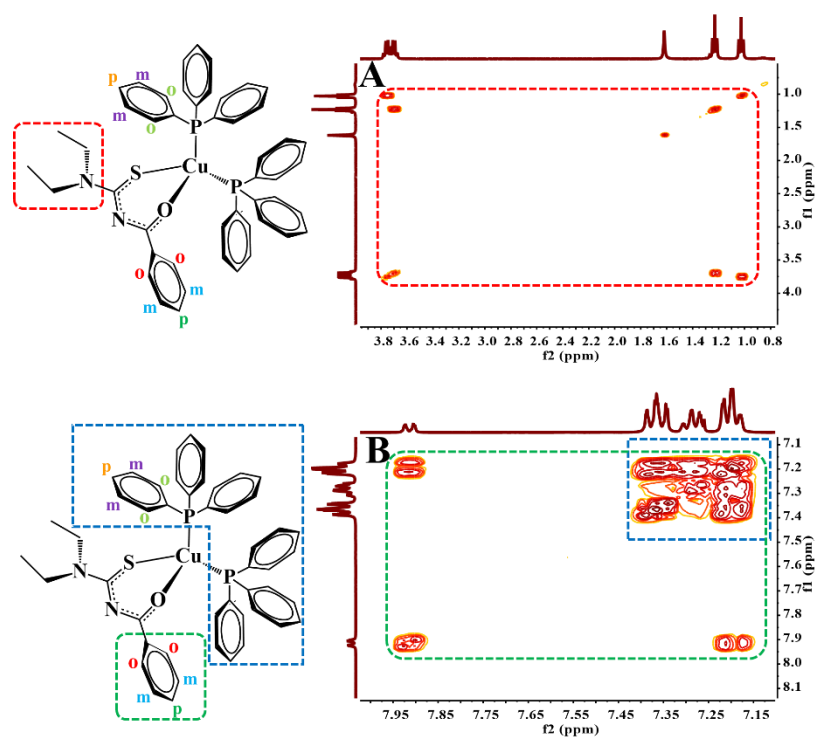


FIGURA A21: Mapa de correlação COSY (^1H - ^1H) obtido para A) o complexo **2**, região alifática, em CDCl_3 e B) o complexo **2**, região aromática, em CDCl_3 . Em destaque os padrões de acoplamentos exibidos pelo complexo.

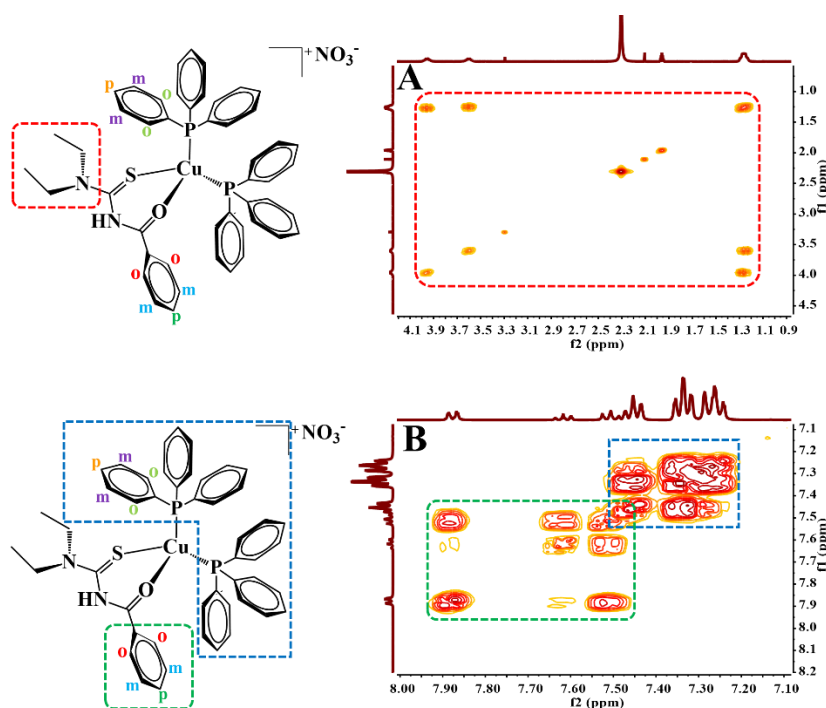


FIGURA A22: Mapa de correlação COSY (^1H - ^1H) obtido para A) o complexo **2a**, região alifática, em CD_3CN e B) o complexo **2a**, região aromática, em CD_3CN . Em destaque os padrões de acoplamentos exibidos pelo complexo.

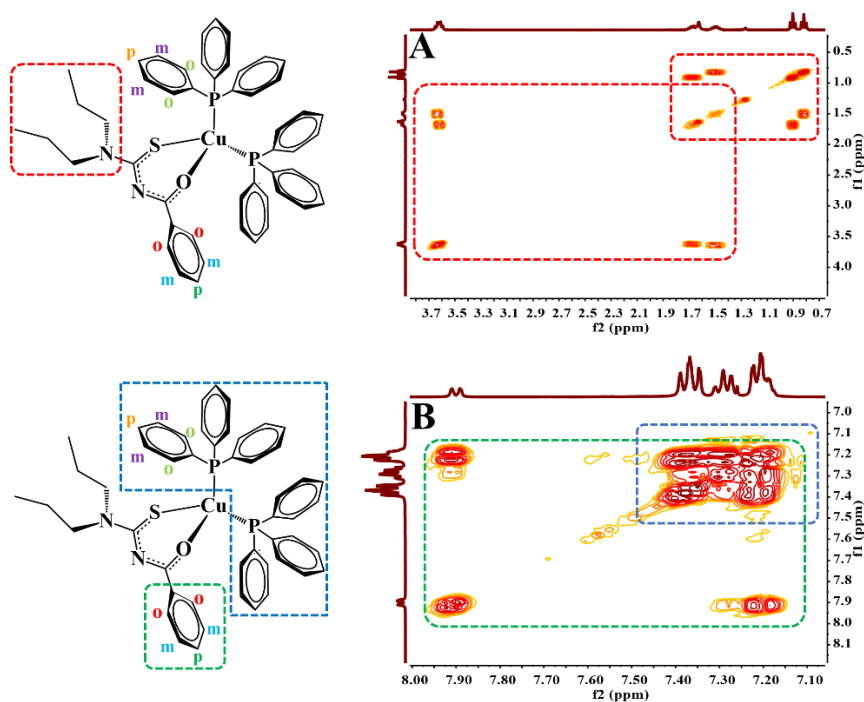


FIGURA A23: Mapa de correlação COSY (^1H - ^1H) obtido para A) o complexo **3**, região alifática, em CDCl_3 e B) o complexo **3**, região aromática, em CDCl_3 . Em destaque os padrões de acoplamentos exibidos pelo complexo.

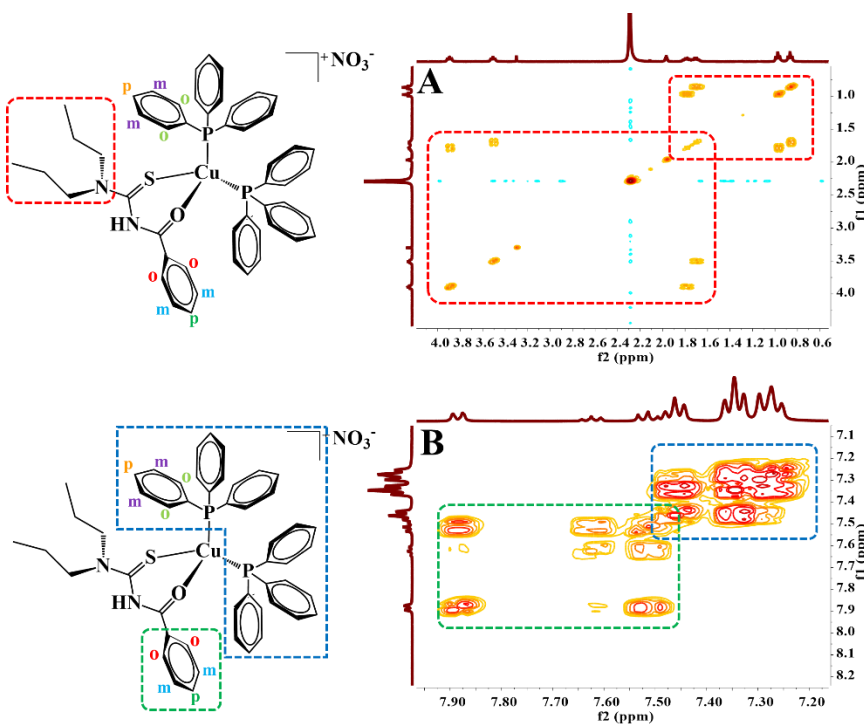


FIGURA A24: Mapa de correlação COSY (^1H - ^1H) obtido para A) o complexo **3a**, região alifática, em CD_3CN e B) o complexo **3a**, região aromática, em CD_3CN . Em destaque os padrões de acoplamentos exibidos pelo complexo.

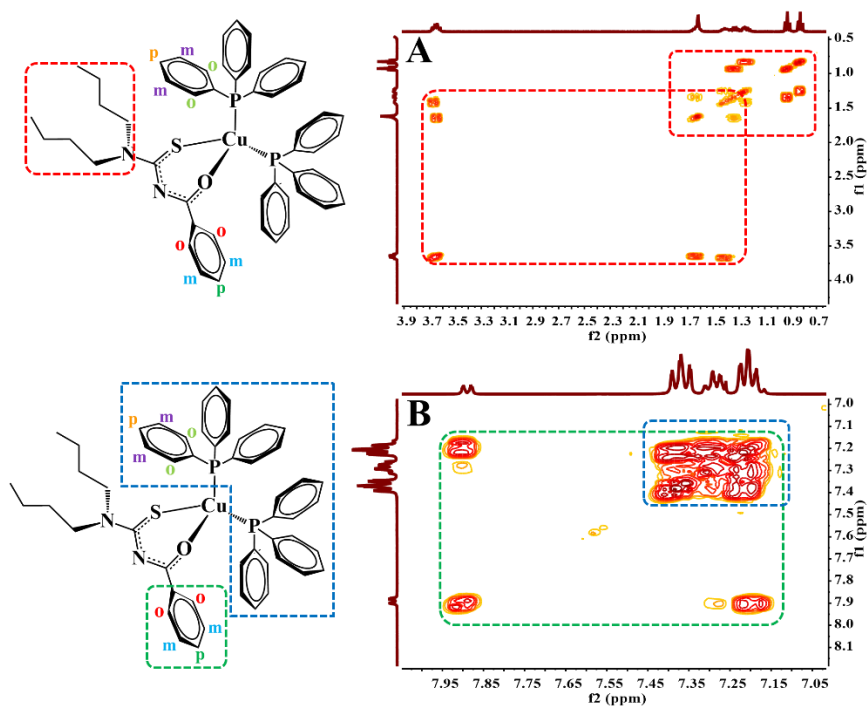


FIGURA A25: Mapa de correlação COSY (^1H - ^1H) obtido para A) o complexo **4**, região alifática, em CDCl_3 e B) o complexo **4**, região aromática, em CDCl_3 . Em destaque os padrões de acoplamentos exibidos pelo complexo.

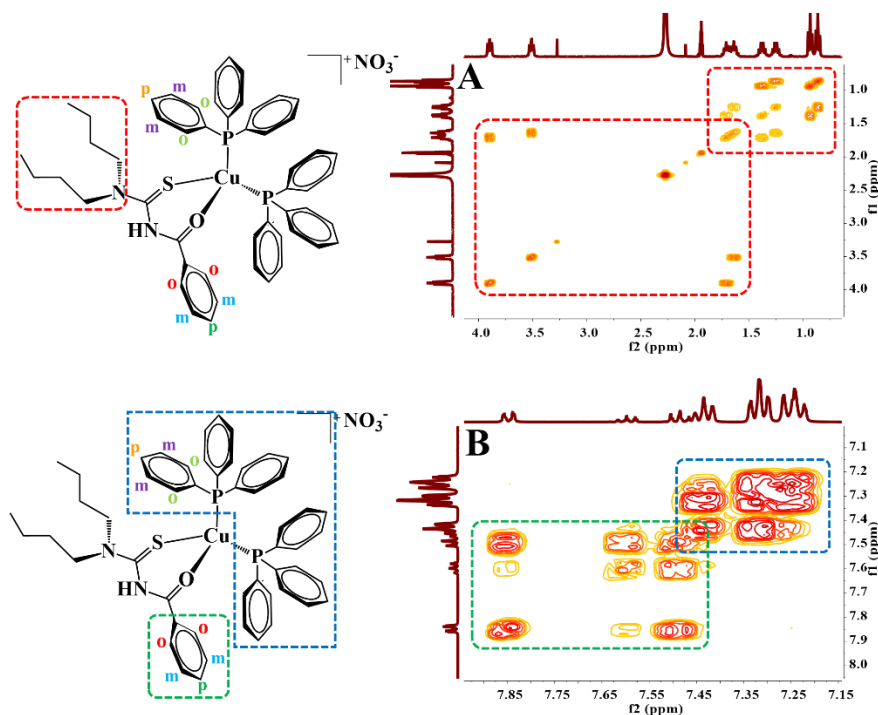


FIGURA A26: Mapa de correlação COSY (^1H - ^1H) obtido para A) o complexo **4a**, região alifática, em CD_3CN e B) o complexo **4a**, região aromática, em CD_3CN . Em destaque os padrões de acoplamentos exibidos pelo complexo.

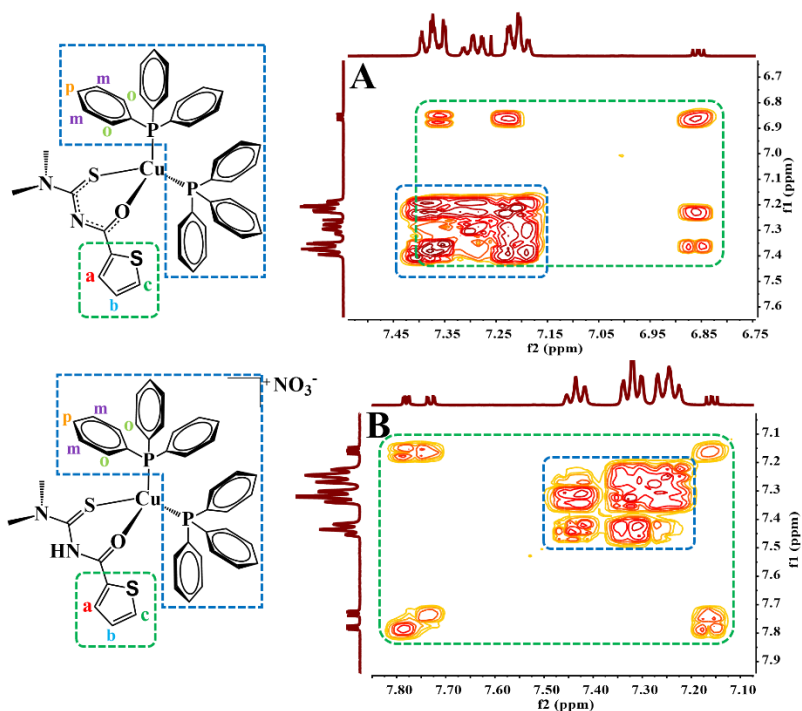


FIGURA A27: Mapa de correlação COSY (^1H - ^1H) obtido para A) o complexo **5**, região aromática, em CDCl_3 e B) o complexo **5a**, região aromática, em CD_3CN . Em destaque os padrões de acoplamentos exibidos pelos complexos.

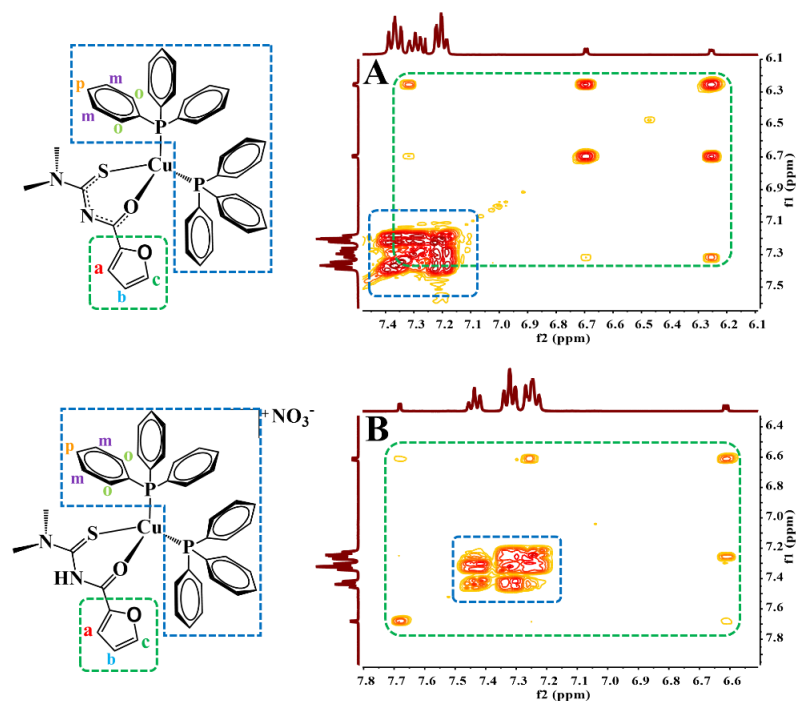


FIGURA A28: Mapa de correlação COSY (^1H - ^1H) obtido para A) o complexo **6**, região aromática, em CDCl_3 e B) o complexo **6a**, região aromática, em CD_3CN . Em destaque os padrões de acoplamentos exibidos pelos complexos.

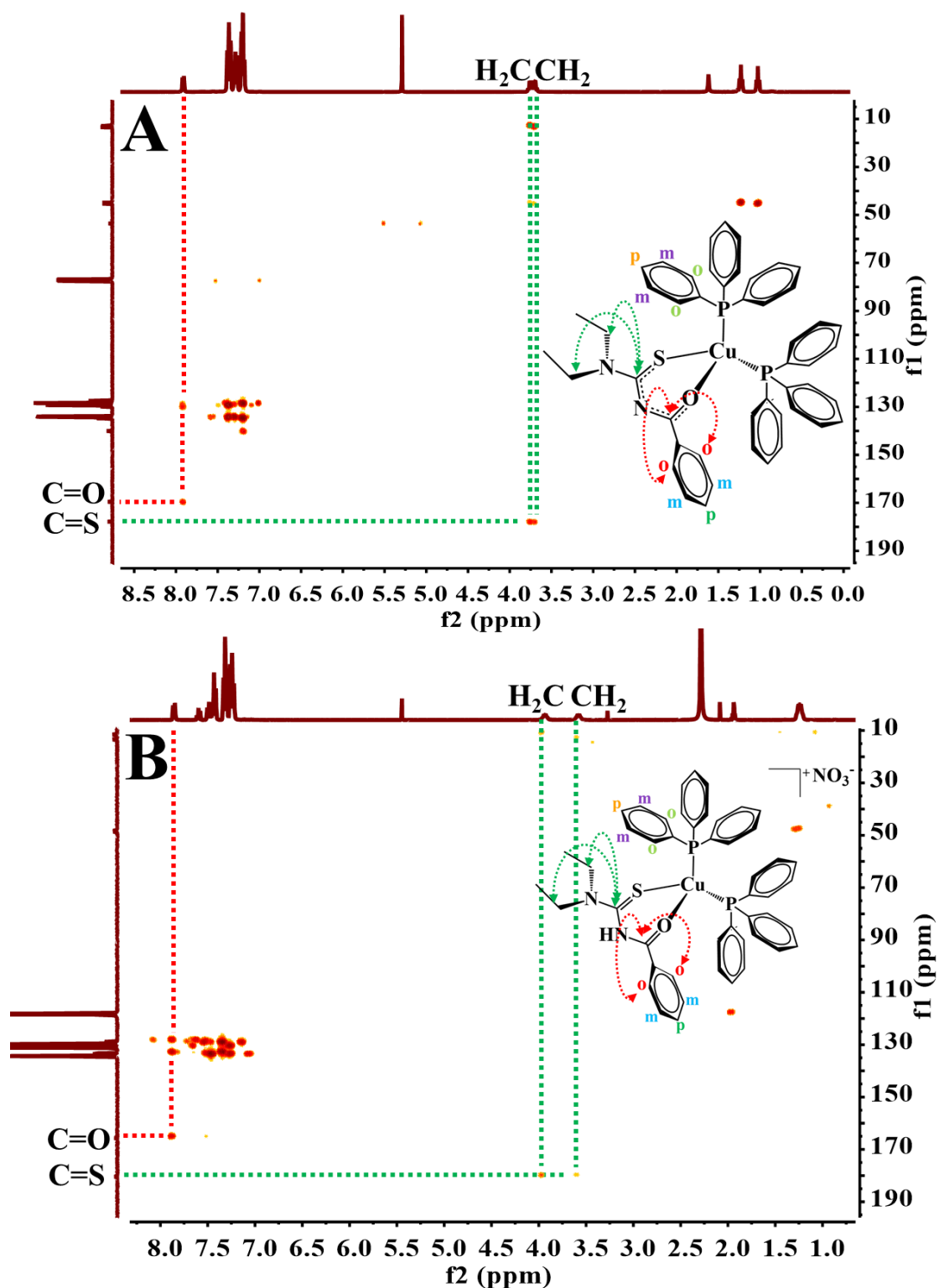


FIGURA A29: Mapa de correlação HMBC (1H - ^{13}C) obtido para A) o complexo **2**, em $CDCl_3$ e B) complexo **2a**, em CD_3CN . Em destaque os acoplamentos exibidos pelos complexos relativos aos carbonos $C=O$ e $C=S$.

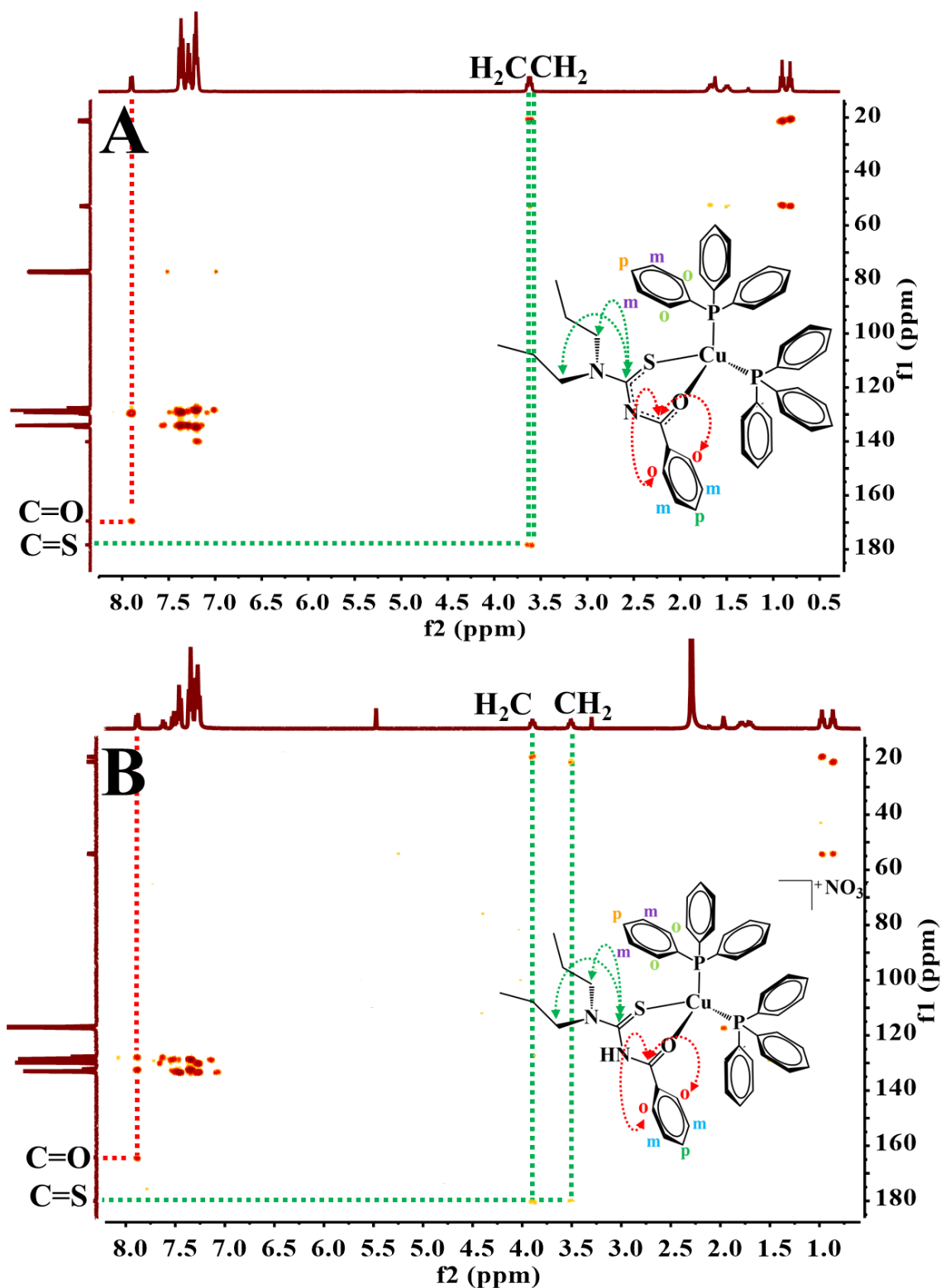


FIGURA A30: Mapa de correlação HMBC (^1H - ^{13}C) obtido para A) o complexo **3**, em CDCl_3 e B) complexo **3a**, em CD_3CN . Em destaque os acoplamentos exibidos pelos complexos relativos aos carbonos $\text{C}=\text{O}$ e $\text{C}=\text{S}$.

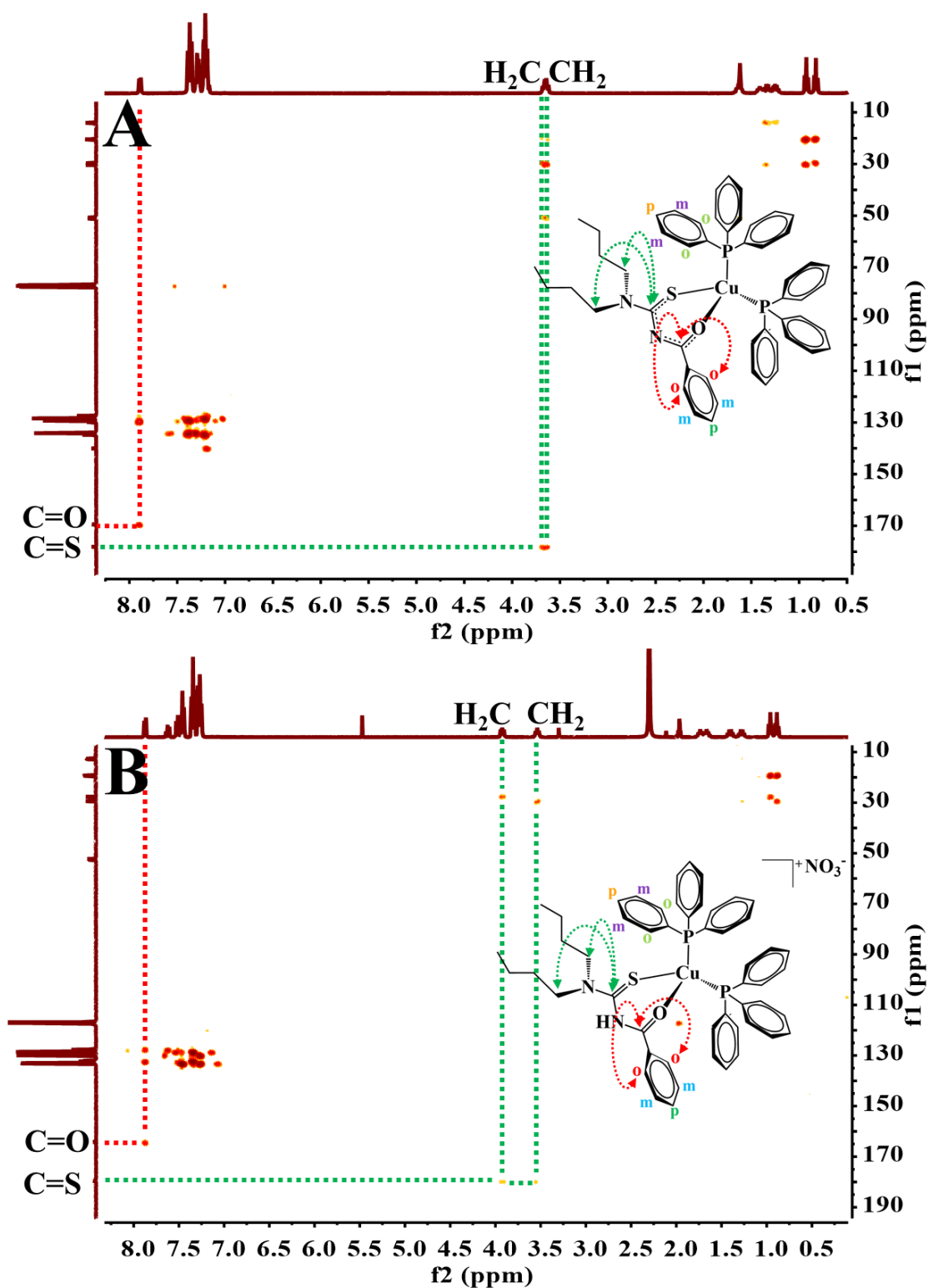


FIGURA A31: Mapa de correlação HMBC (^1H - ^{13}C) obtido para A) o complexo **4**, em CDCl_3 e B) complexo **4a**, em CD_3CN . Em destaque os acoplamentos exibidos pelos complexos relativos aos carbonos C=O e C=S.

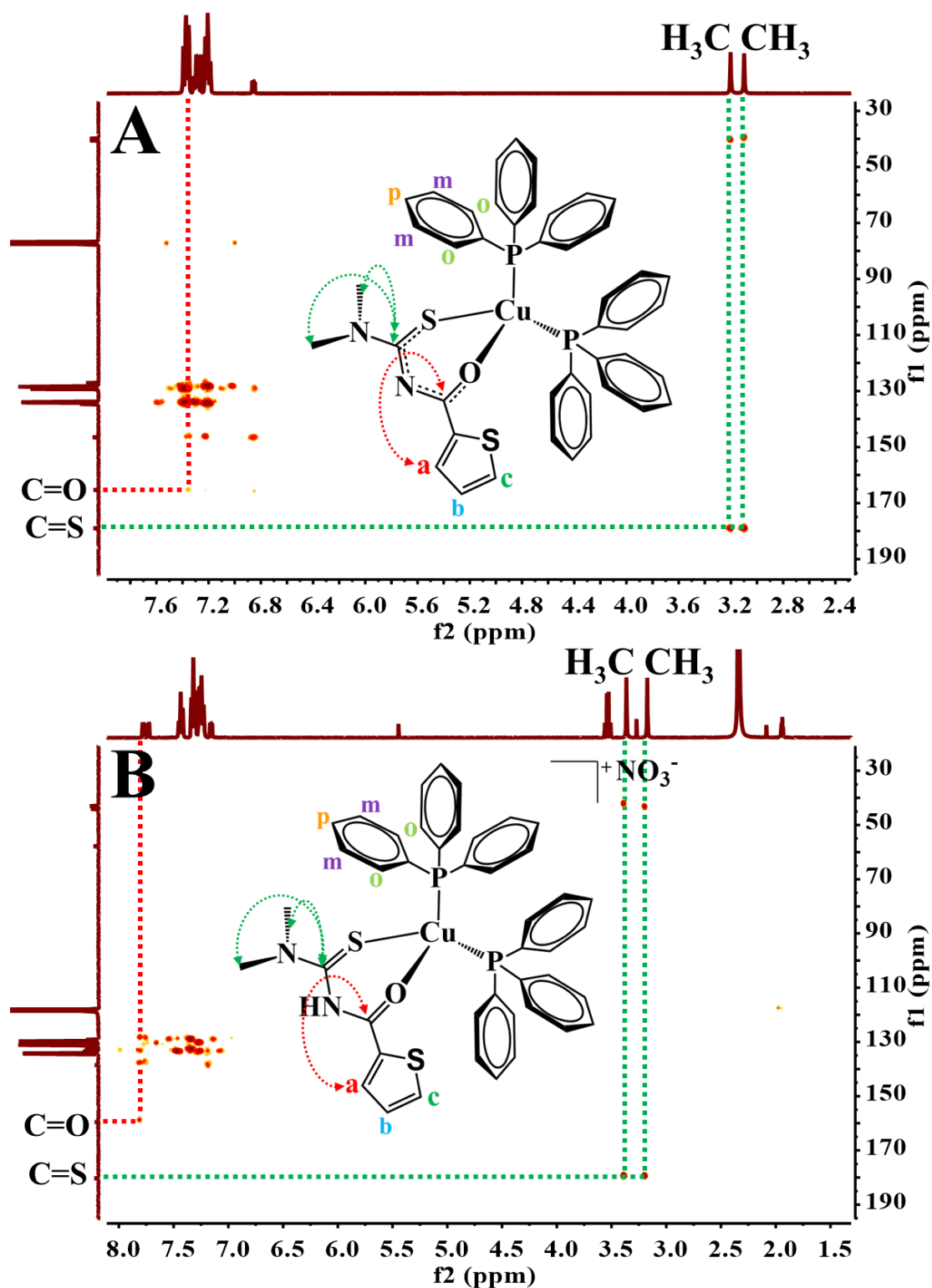


FIGURA A32: Mapa de correlação HMBC (^1H - ^{13}C) obtido para A) o complexo **5**, em CDCl_3 e B) complexo **5a**, em CD_3CN . Em destaque os acoplamentos exibidos pelos complexos relativos aos carbonos $\text{C}=\text{O}$ e $\text{C}=\text{S}$.

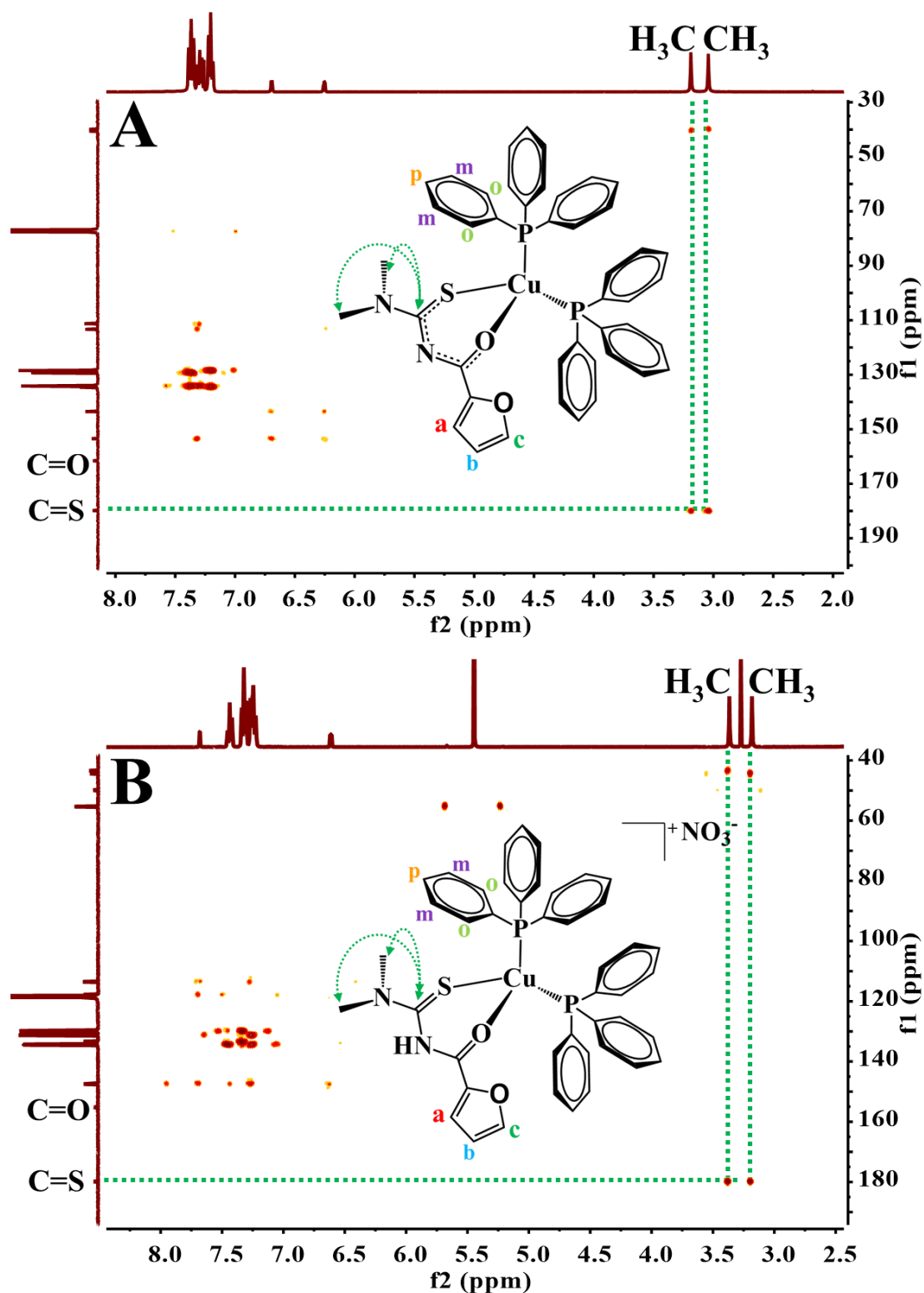


FIGURA A33: Mapa de correlação HMBC (¹H-¹³C) obtido para A) o complexo 6, em CDCl₃ e B) complexo 6a, em CD₃CN. Em destaque os acoplamentos exibidos pelos complexos relativos aos carbonos C=S.

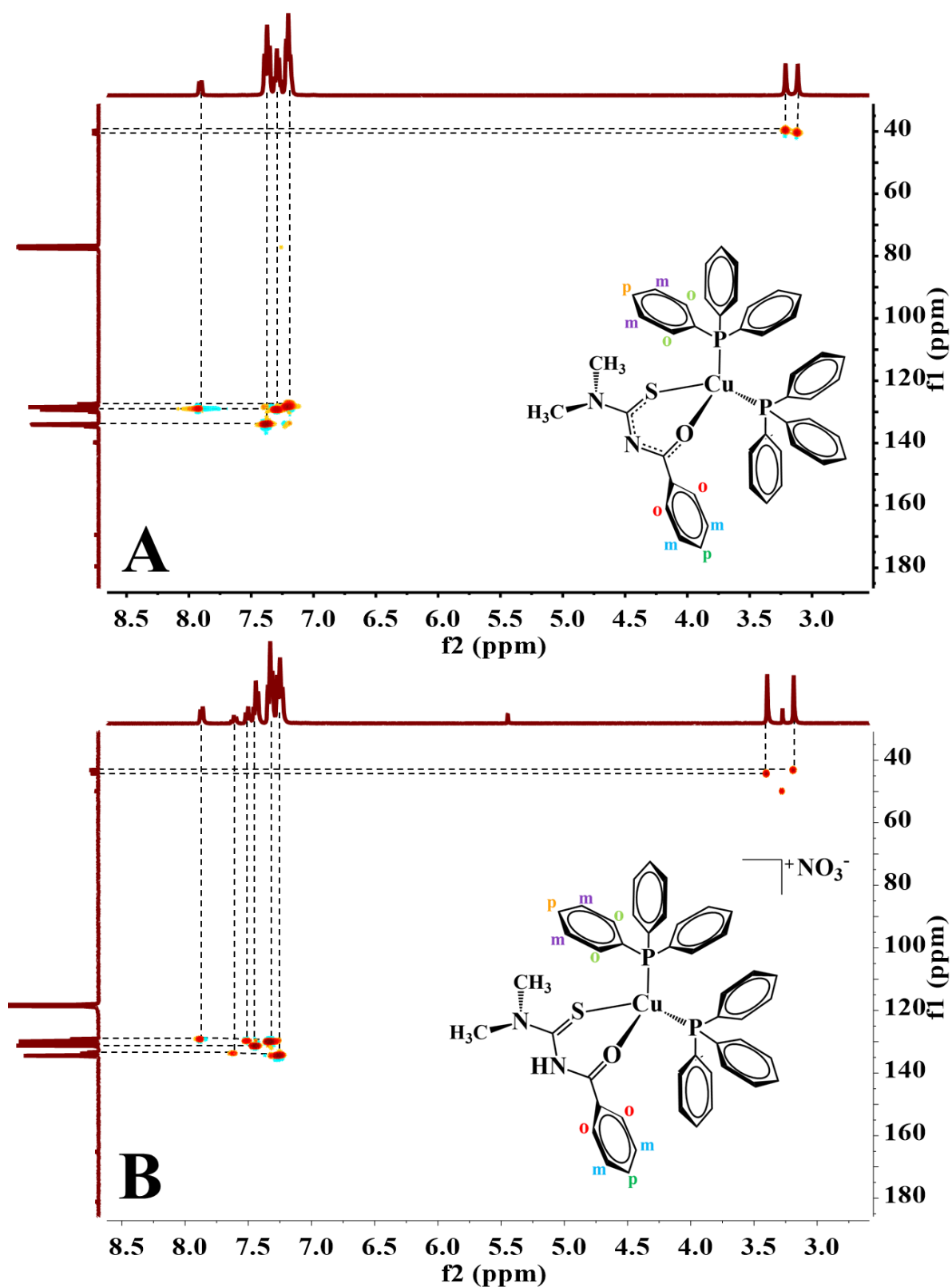


FIGURA A34: Mapa de correlação HSQC (^1H - ^{13}C) obtido para A) o complexo **1**, em CDCl_3 e B) complexo **1a**, em CD_3CN .

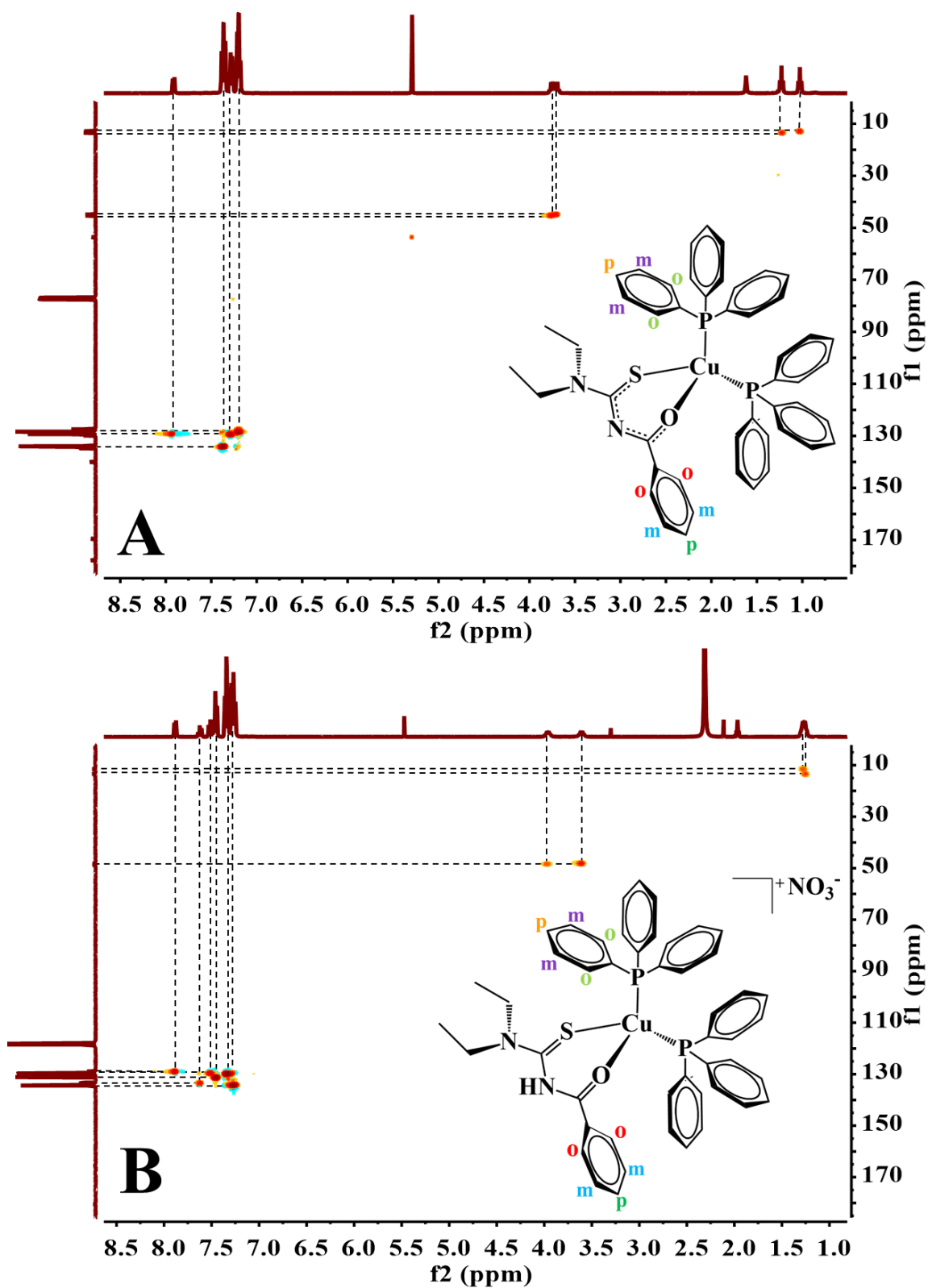


FIGURA A35: Mapa de correlação HSQC (^1H - ^{13}C) obtido para A) o complexo **2**, em CDCl_3 e B) complexo **2a**, em CD_3CN .

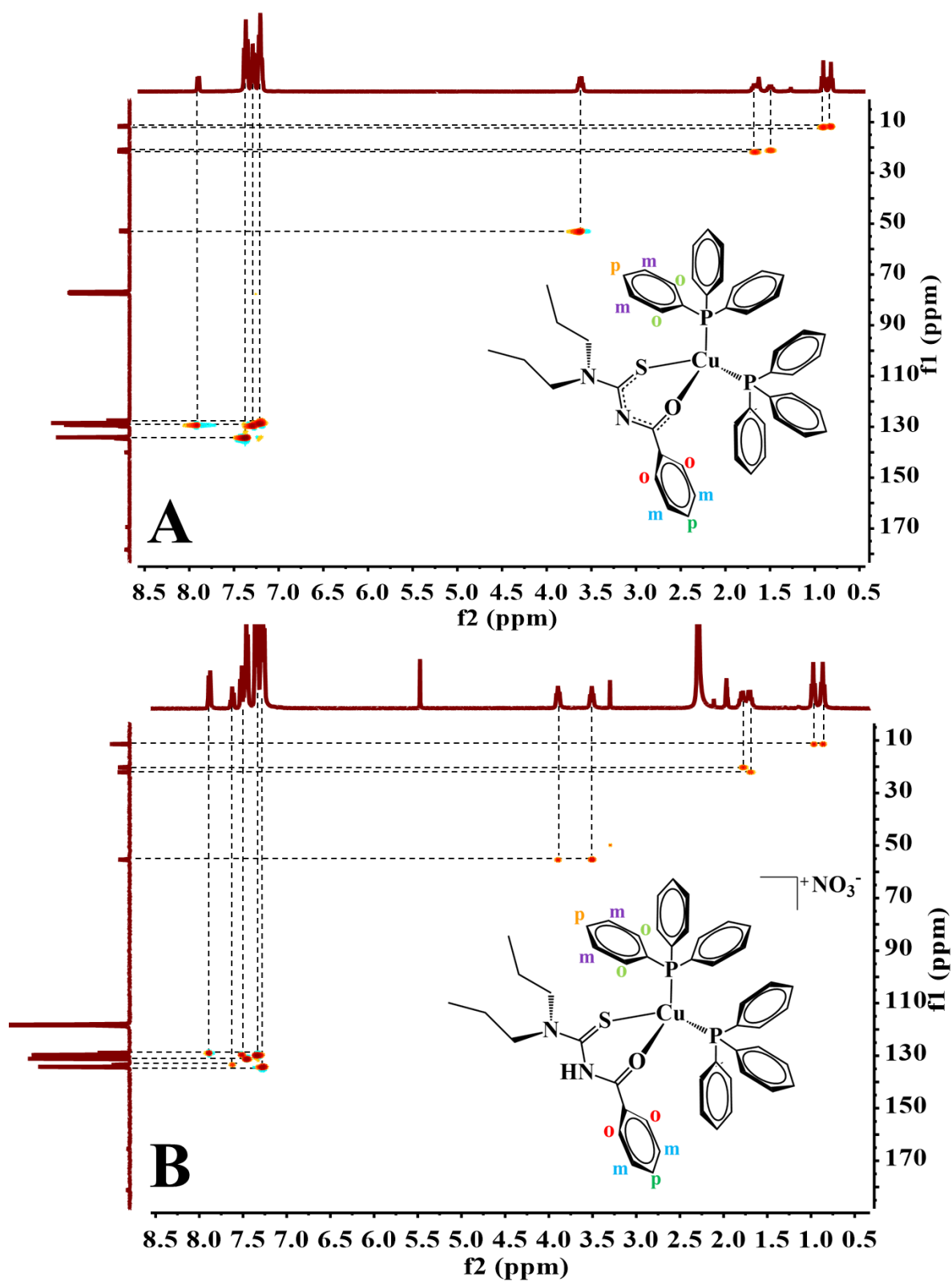


FIGURA A36: Mapa de correlação HSQC (1H - ^{13}C) obtido para A) o complexo **3**, em $CDCl_3$ e B) complexo **3a**, em CD_3CN .

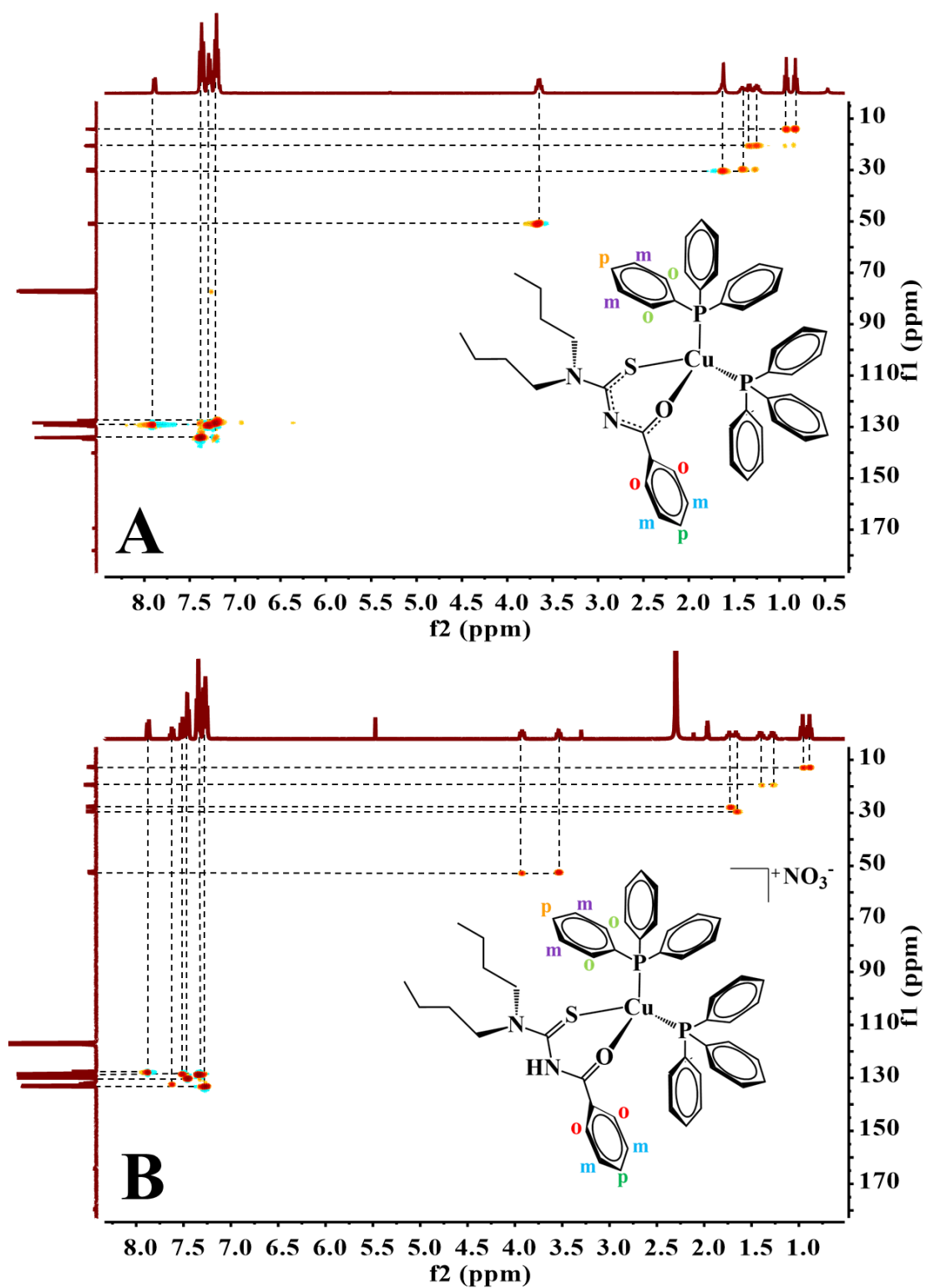


FIGURA A37: Mapa de correlação HSQC (^1H - ^{13}C) obtido para A) o complexo 4, em CDCl_3 e B) complexo 4a, em CD_3CN .

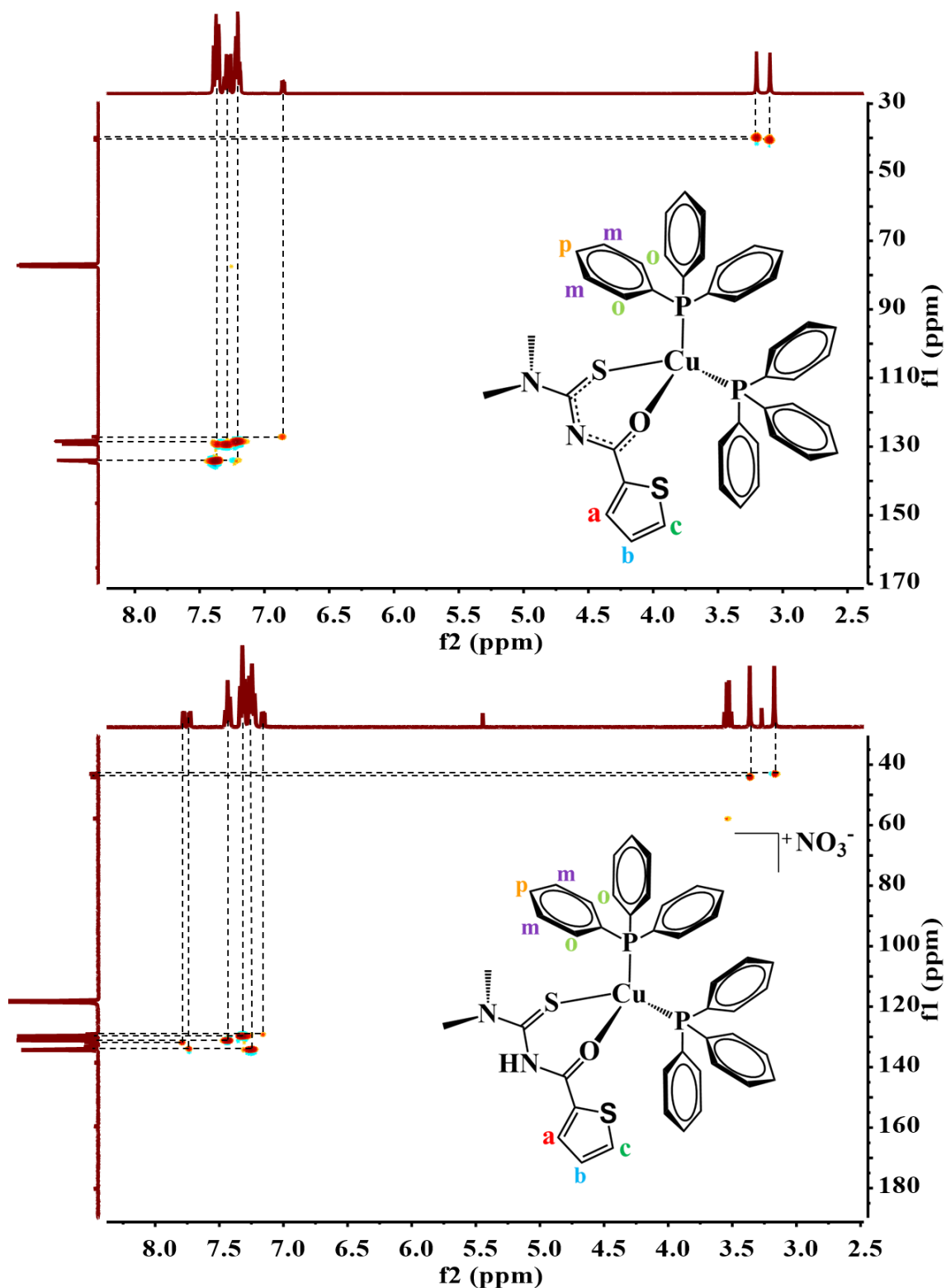


FIGURA A38: Mapa de correlação HSQC (^1H - ^{13}C) obtido para A) o complexo **5**, em CDCl_3 e B) o complexo **5a**, em CD_3CN .

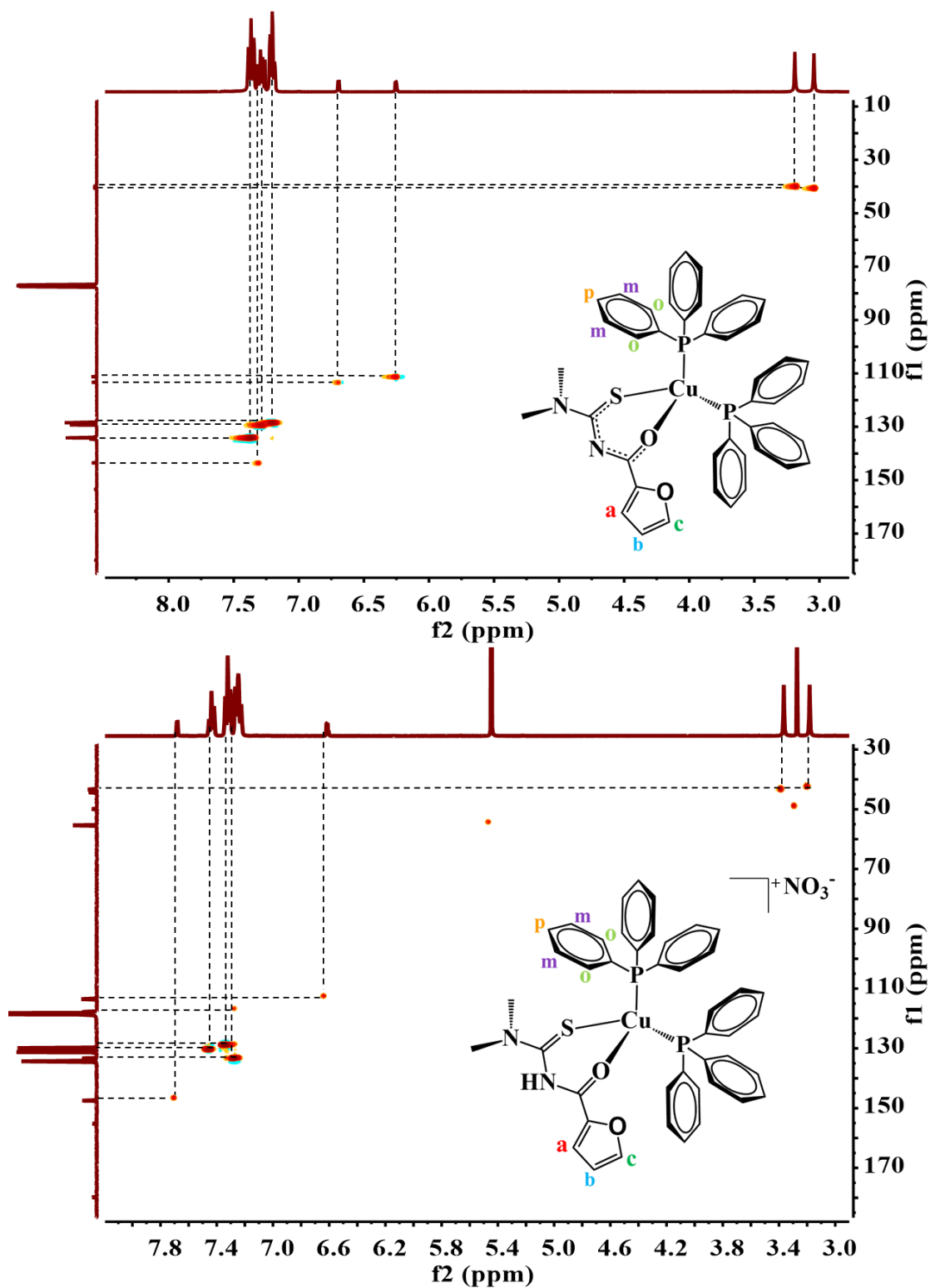


FIGURA A39: Mapa de correlação HSQC (^1H - ^{13}C) obtido para A) o complexo **6**, em CDCl_3 e B) o complexo **6a**, em CD_3CN .

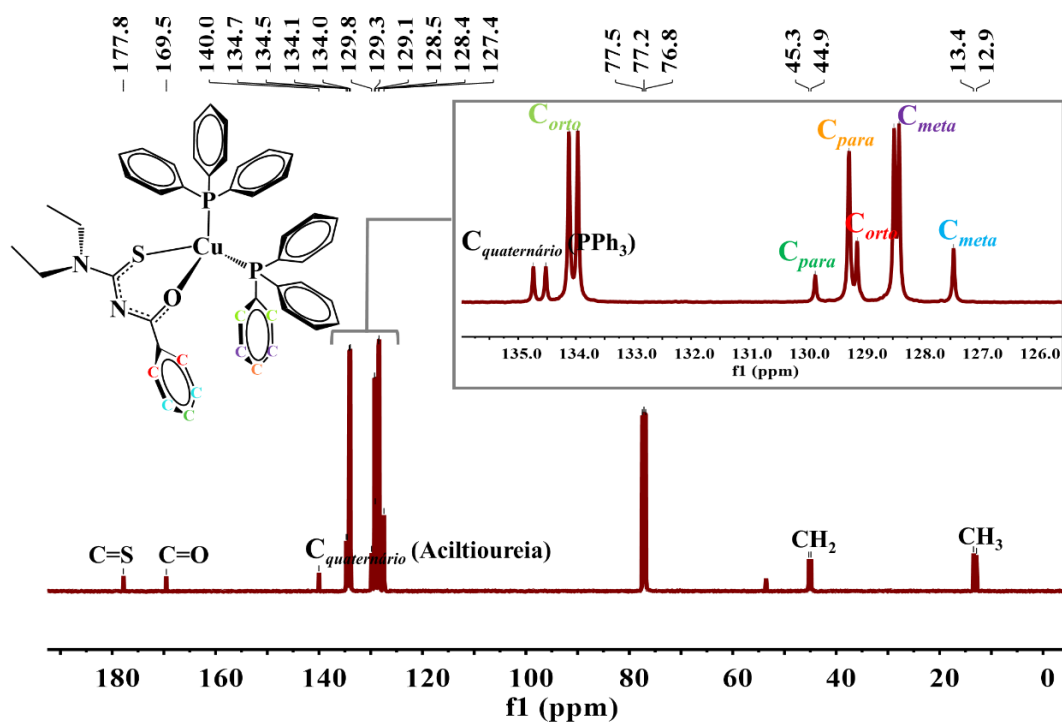


FIGURA A40: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo **2**, em CDCl_3 , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

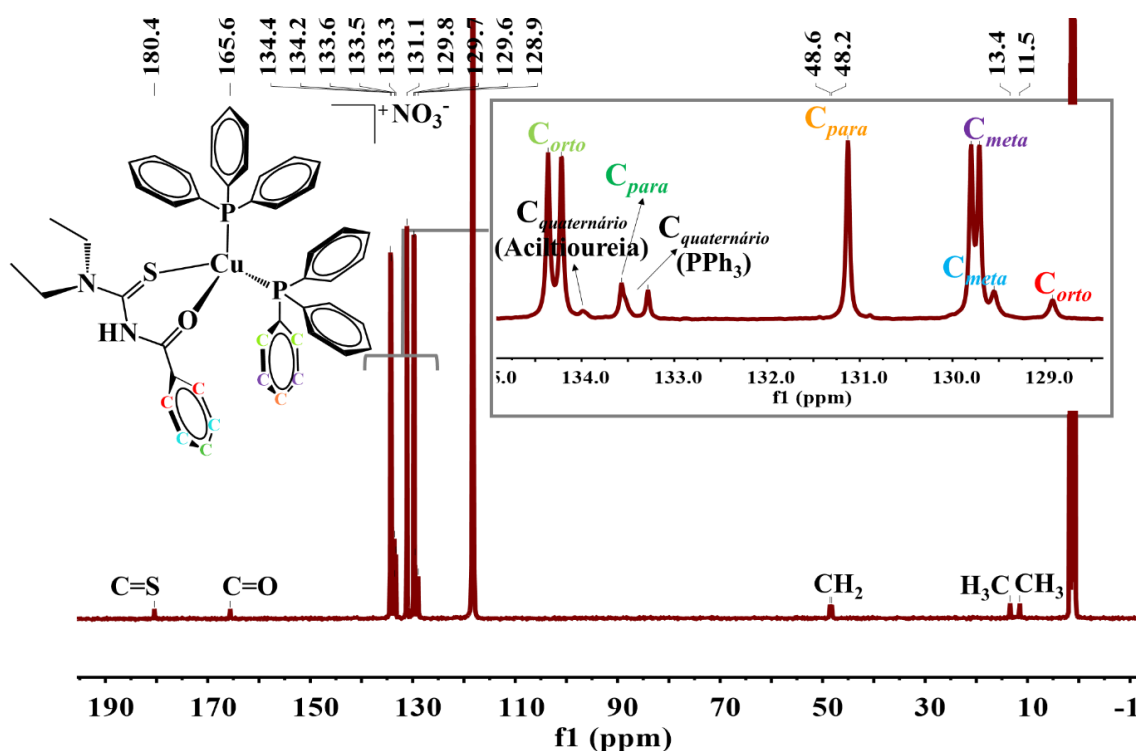


FIGURA A41: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo **2a**, em CD_3CN , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

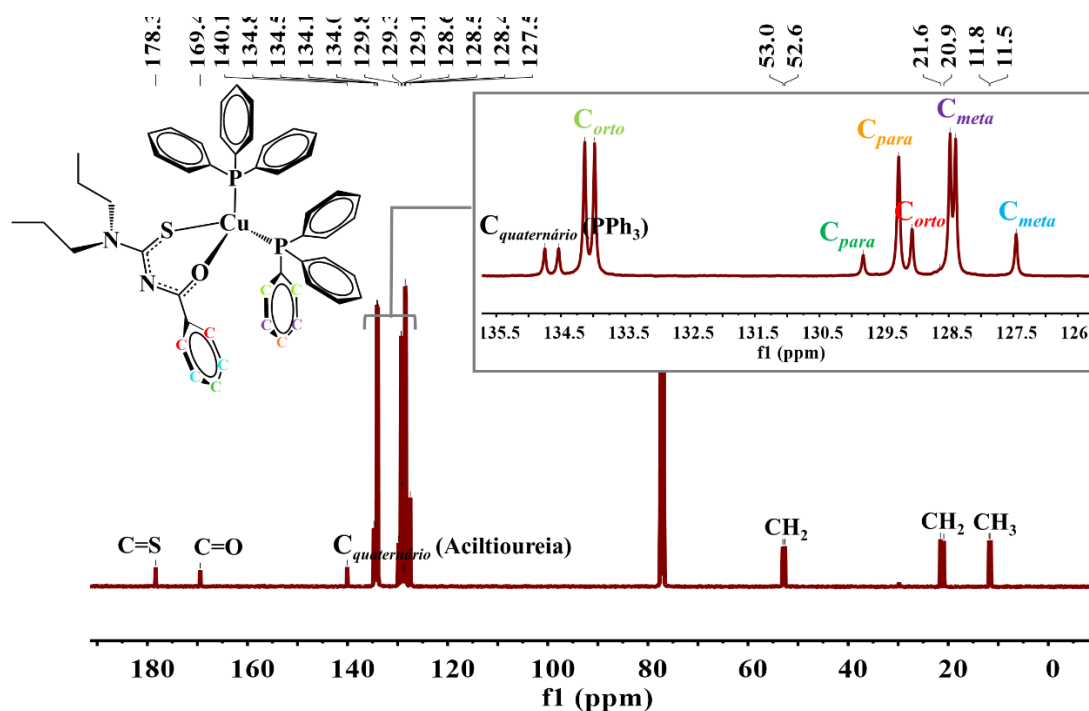


FIGURA A 42: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo **3**, em CDCl_3 , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

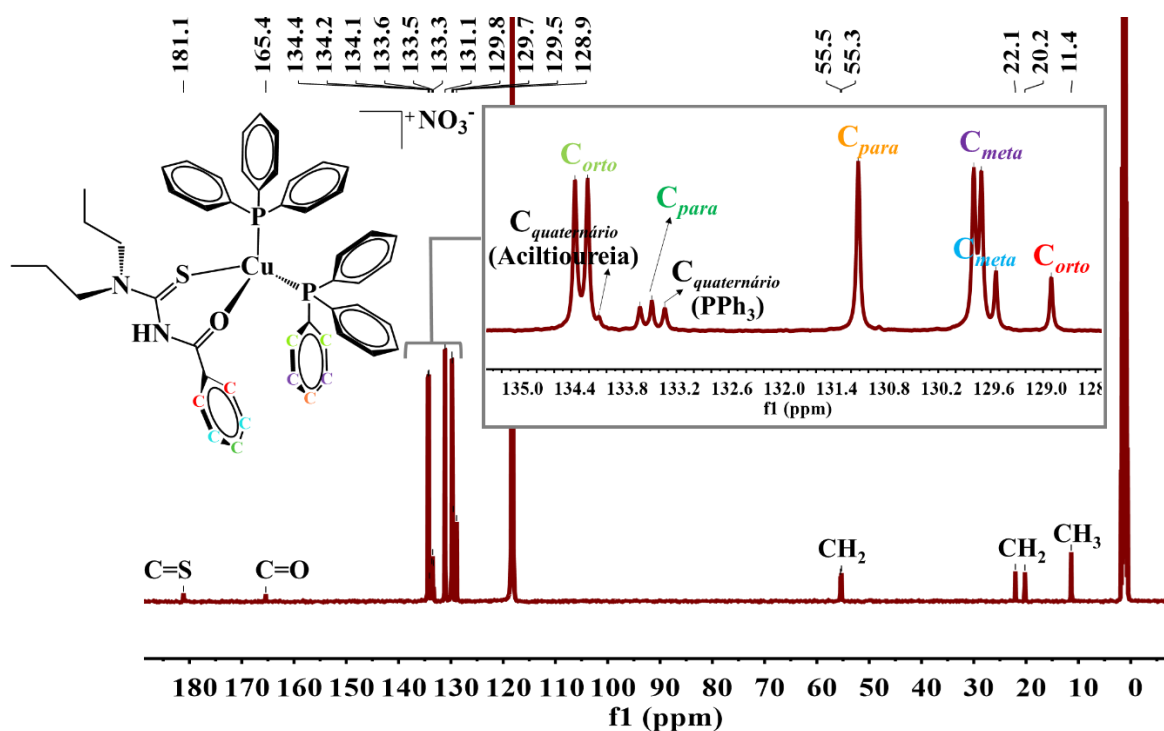


FIGURA A43: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo **3a**, em CD_3CN , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

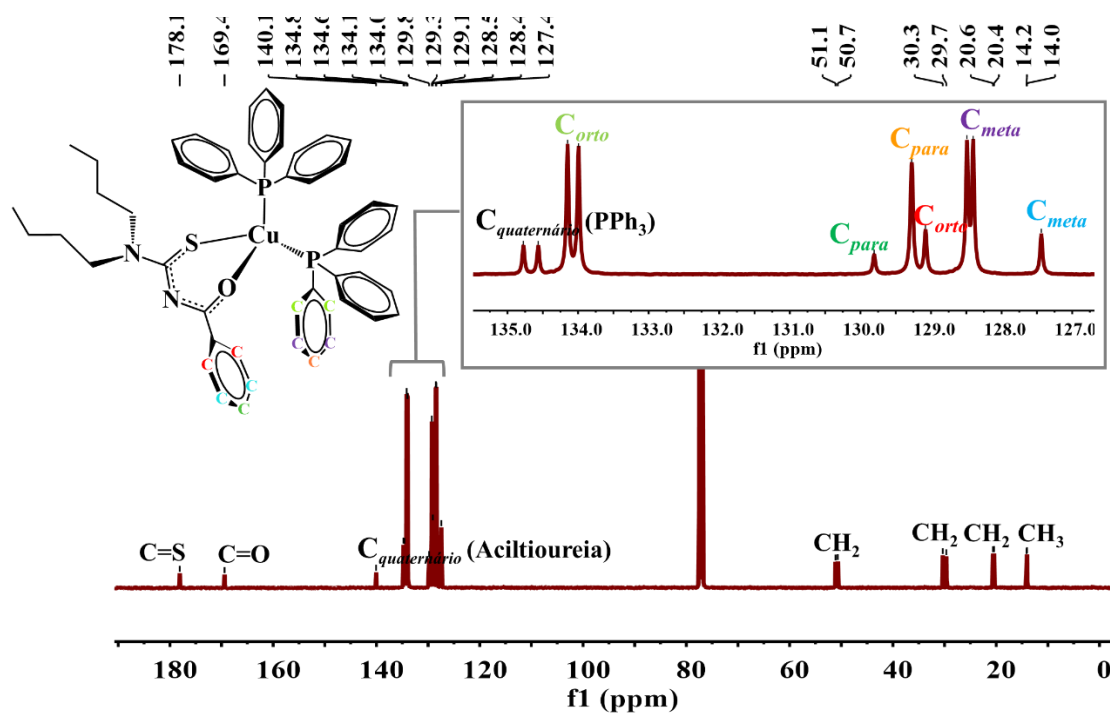


FIGURA A44: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo 4, em CDCl_3 , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

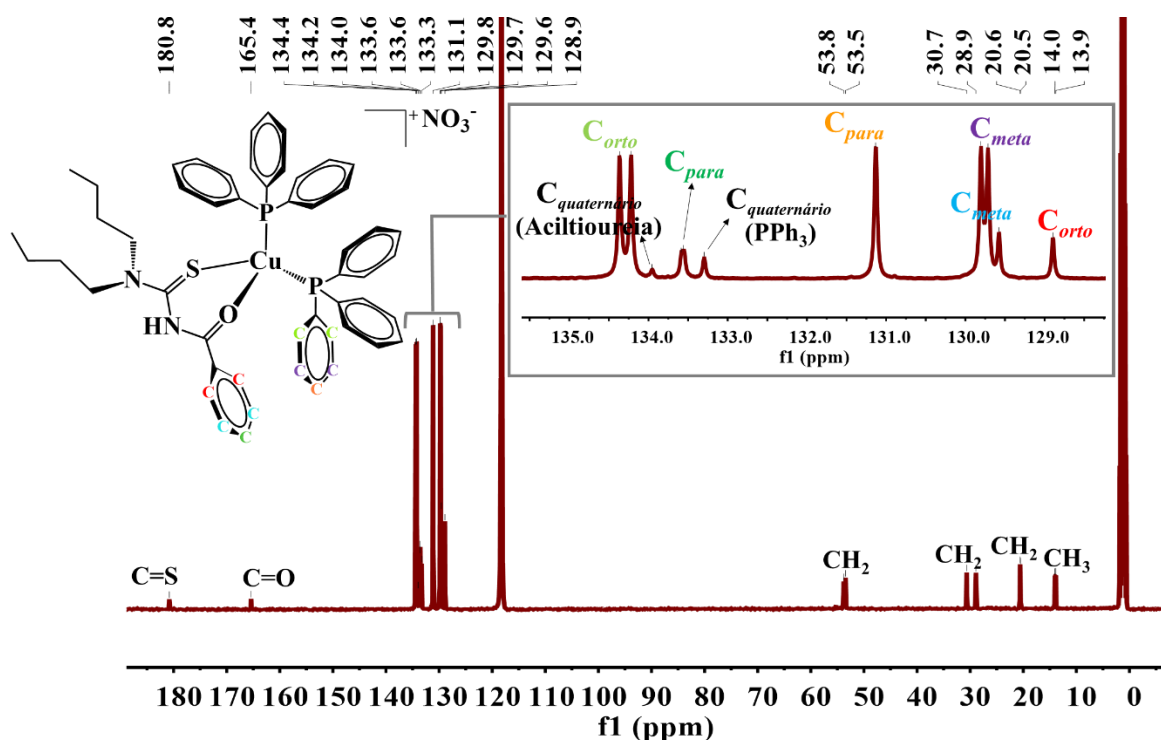


FIGURA A45: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo 4a, em CD_3CN , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

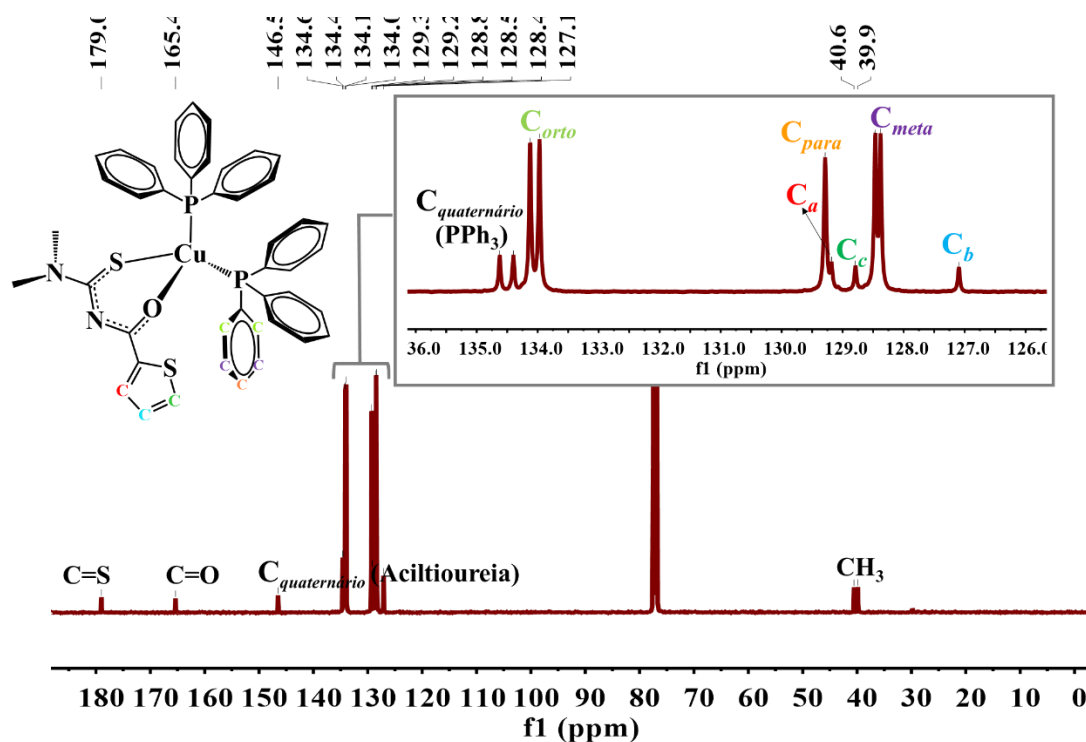


FIGURA A46: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo **5**, em CDCl_3 , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

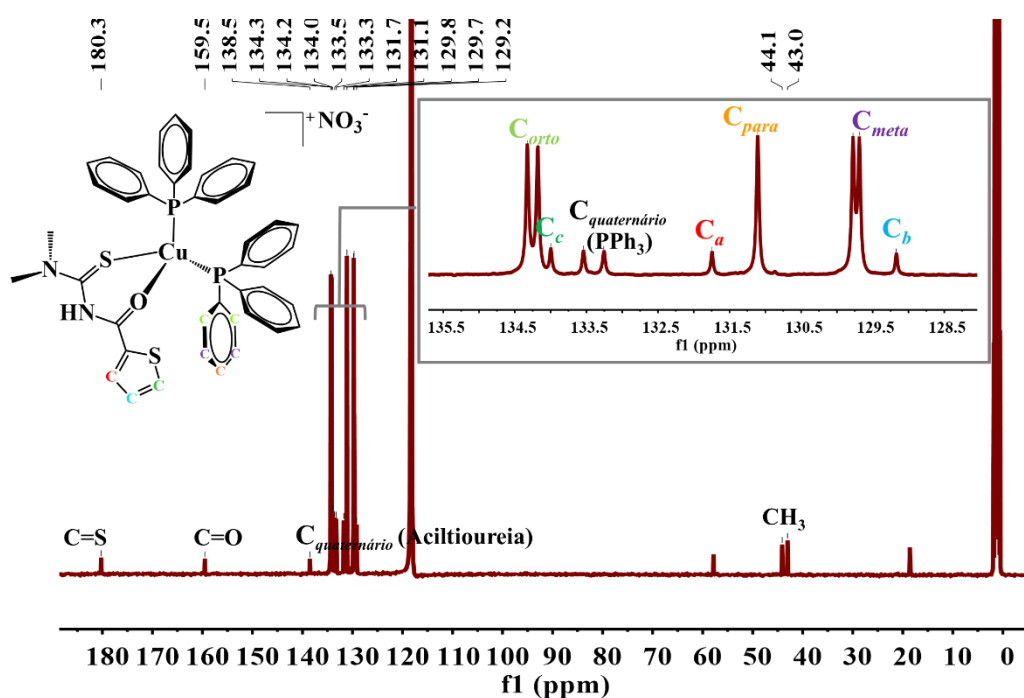


FIGURA A47: Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ obtido para o complexo **5a**, em CD_3CN , mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

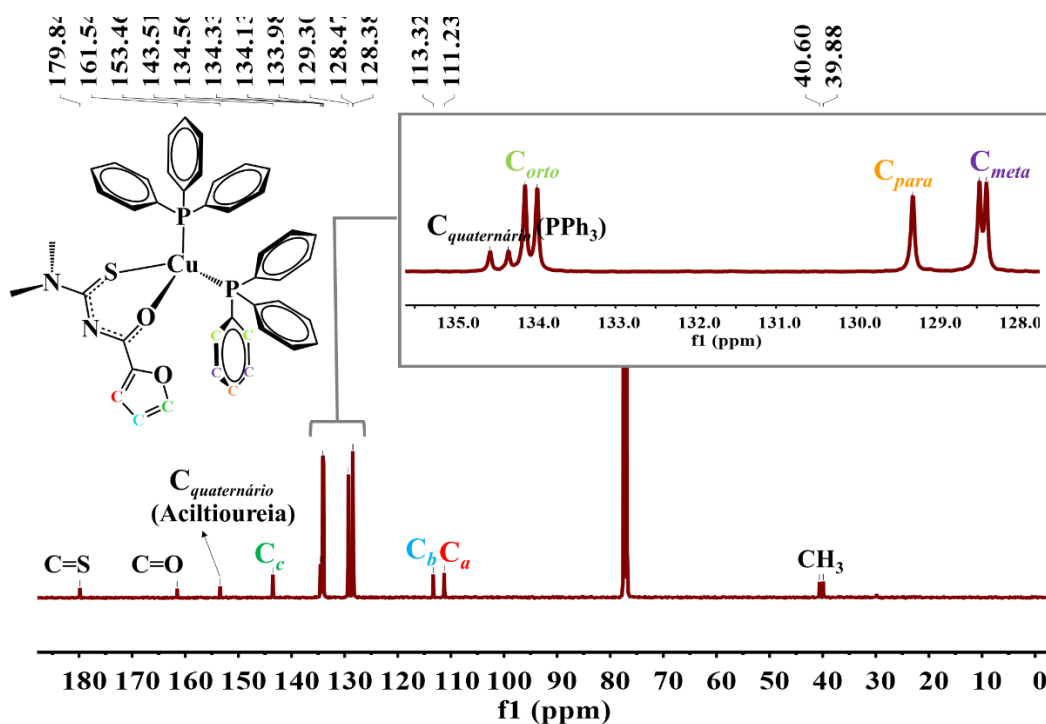


FIGURA A48: Espectro de RMN de ¹³C{¹H} obtido para o complexo 6, em CDCl₃, mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

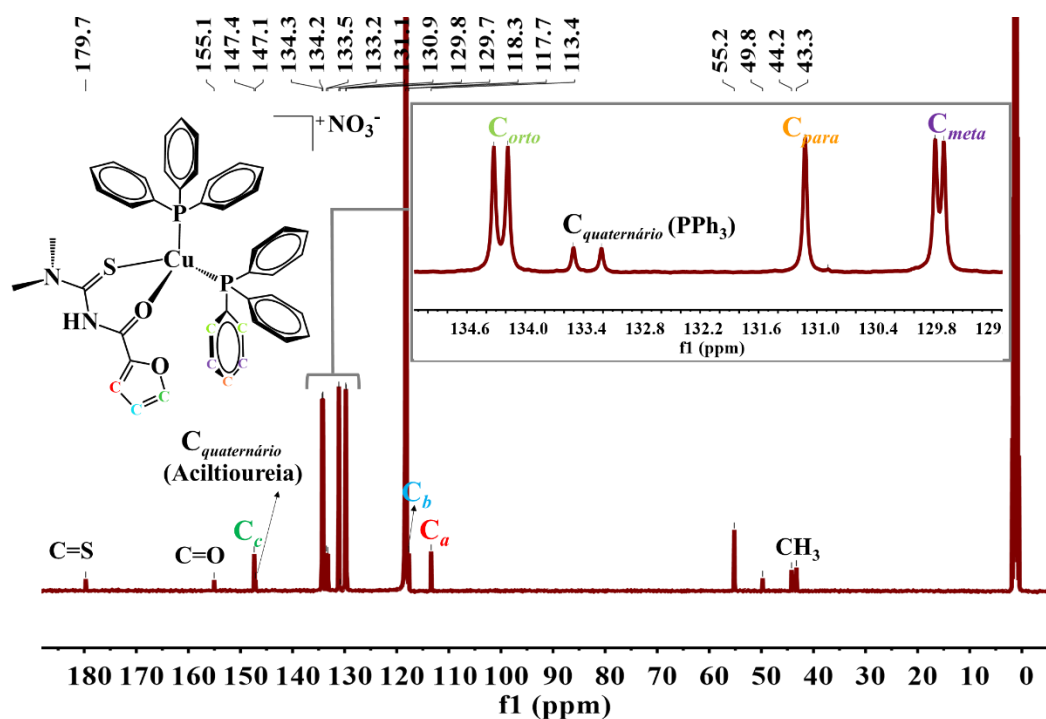


FIGURA A49: Espectro de RMN de ¹³C{¹H} obtido para o complexo 6a, em CD₃CN, mostrando a atribuição dos sinais referentes ao complexo.

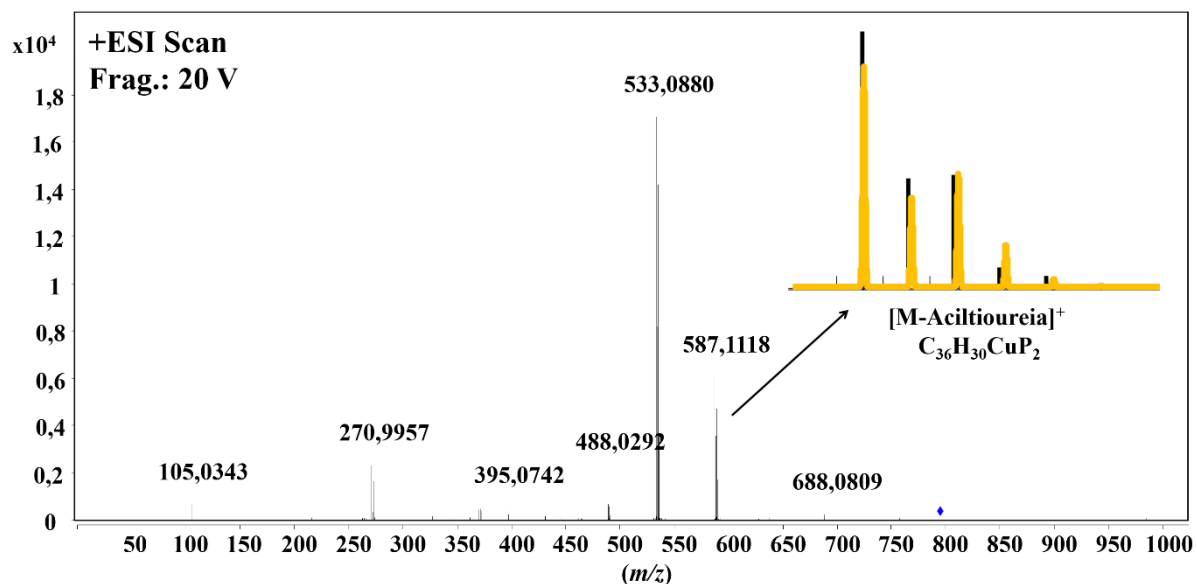
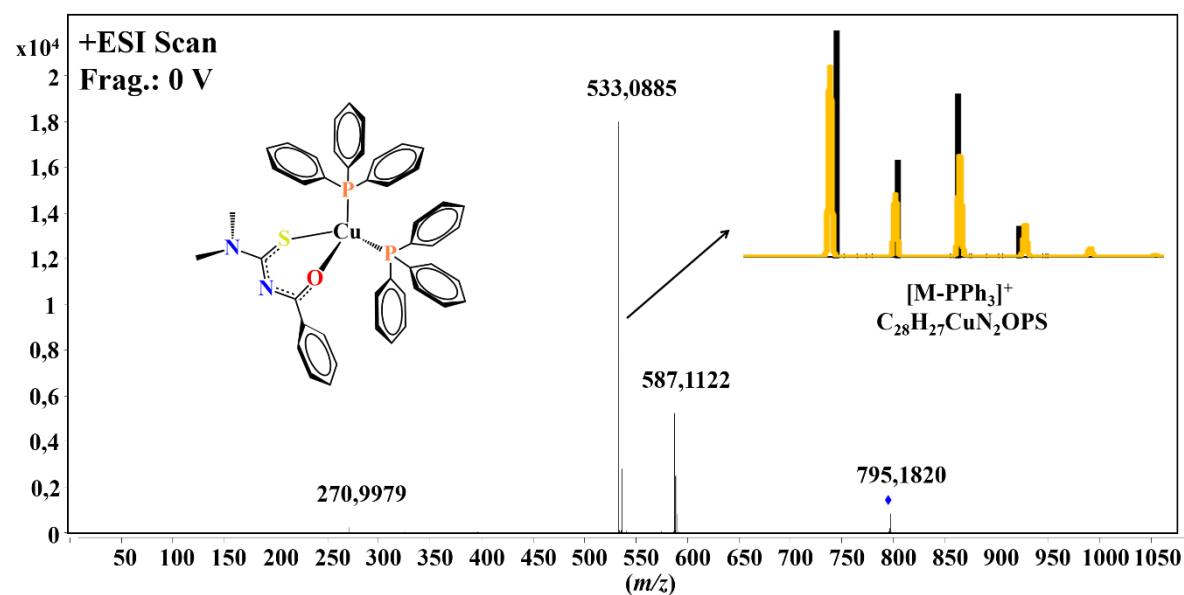


FIGURA A50: Espectros de massas para o complexo **1** e simulação dos sinais referentes aos íons fragmentos ($[M-PPh_3]^+$) e ($[M-L1]^+$).

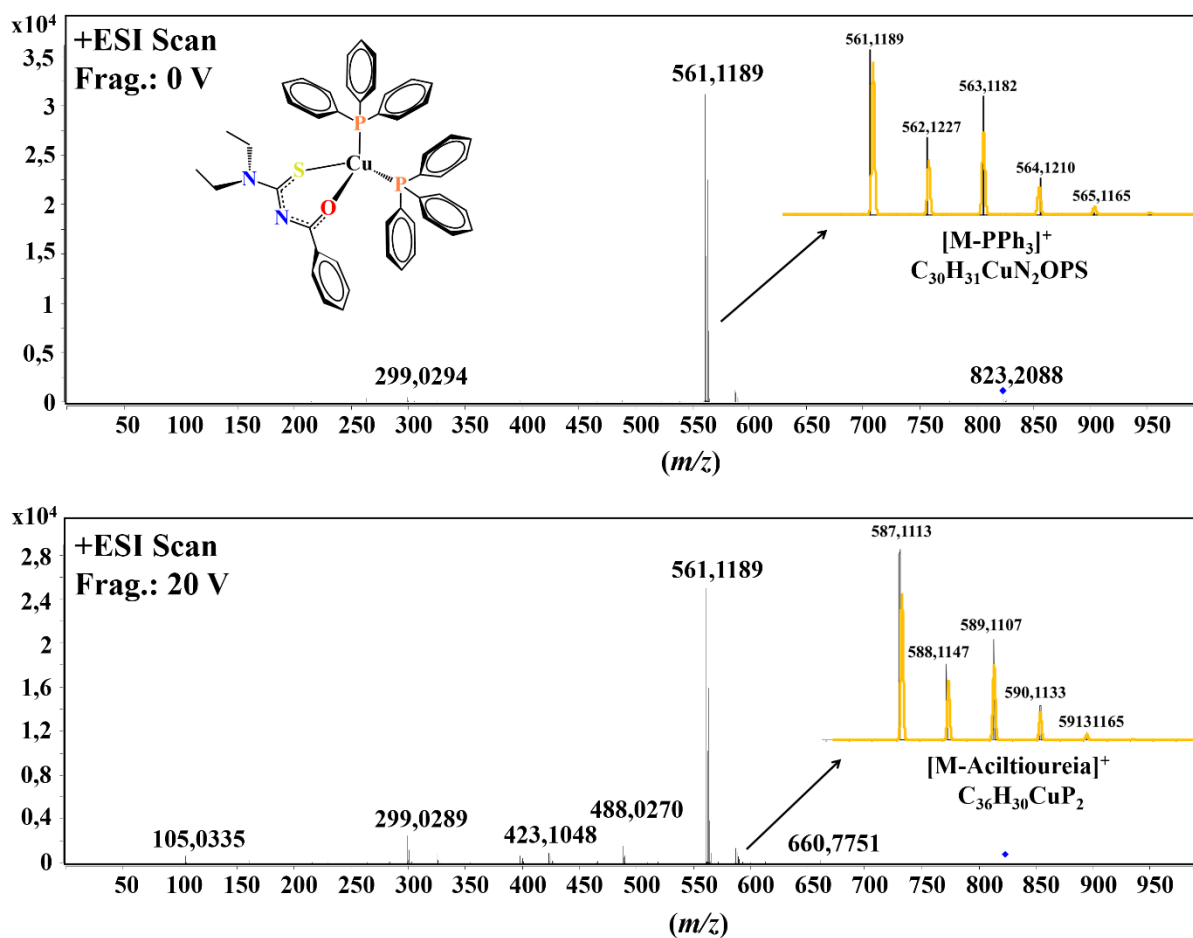


FIGURA A51: Espectros de massas para o complexo **2** e simulação dos sinais referentes aos íons fragmentos ($[M-PPh_3]^+$) e ($[M-L2]^+$).

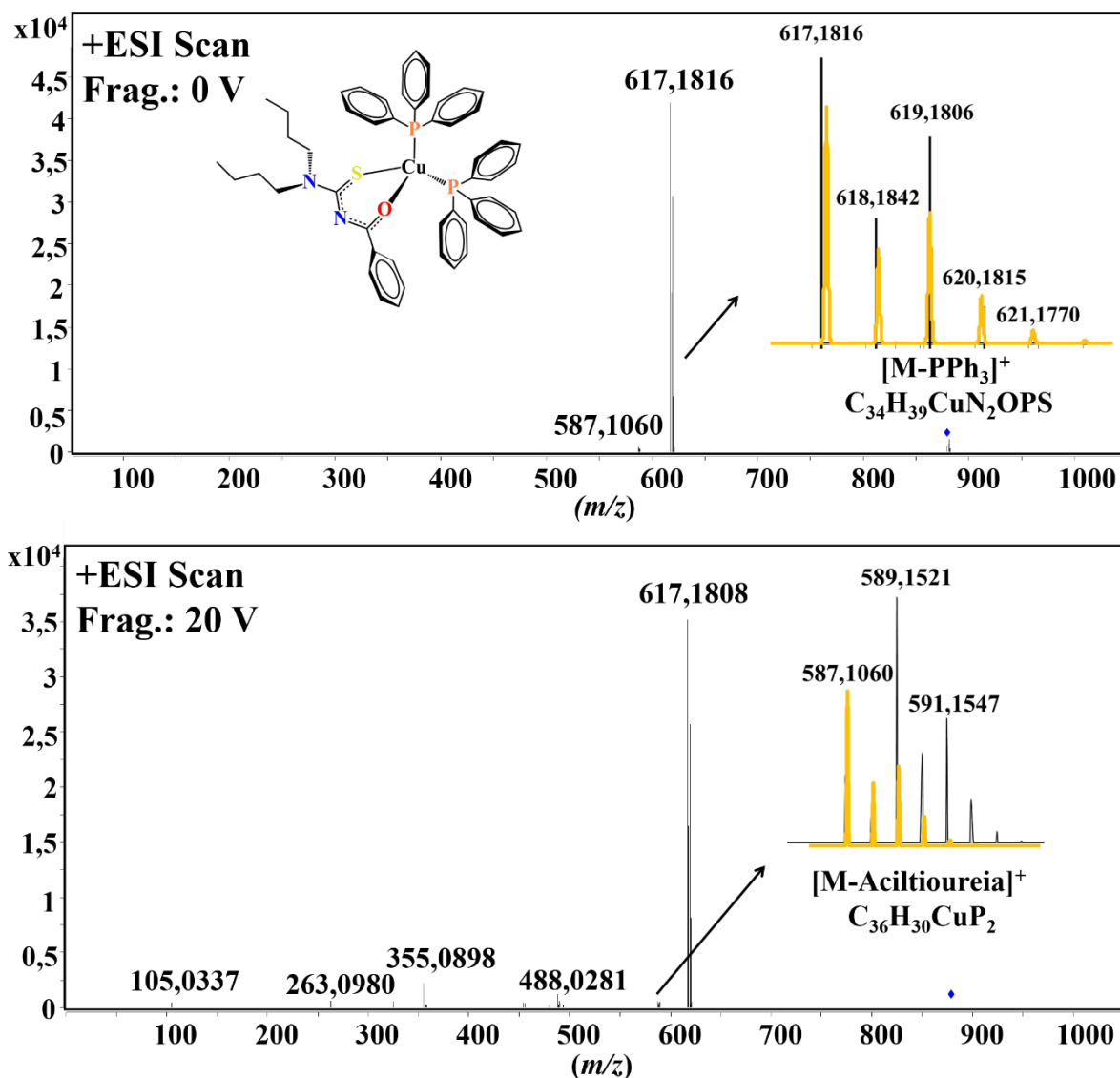


FIGURA A52: Espectros de massas para o complexo 4 e simulação dos sinais referentes aos íons fragmentos ([M-PPh₃]⁺) e ([M-L4]⁺).

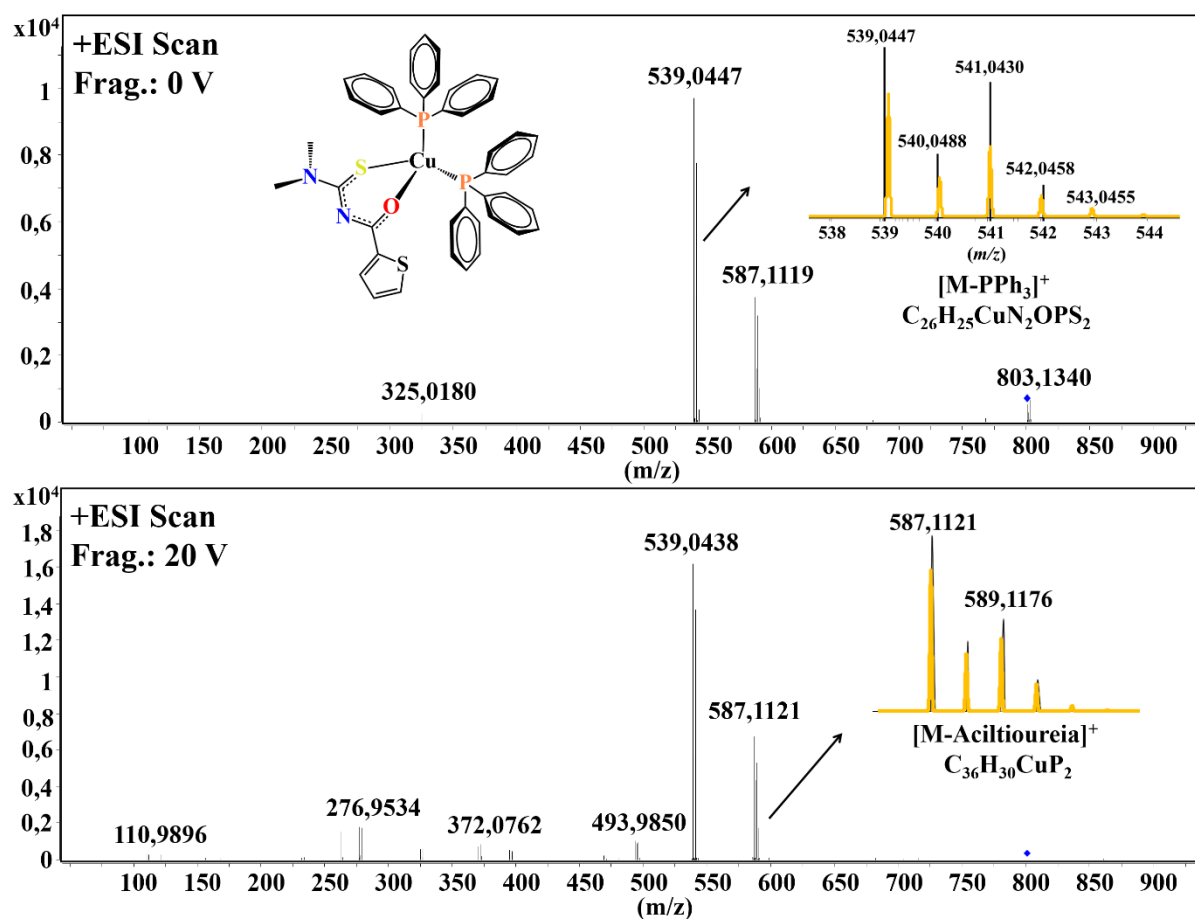


FIGURA A53: Espectros de massas para o complexo **5** e simulação dos sinais referentes aos íons fragmentos ([M-PPH₃]⁺) e ([M-L5]⁺).

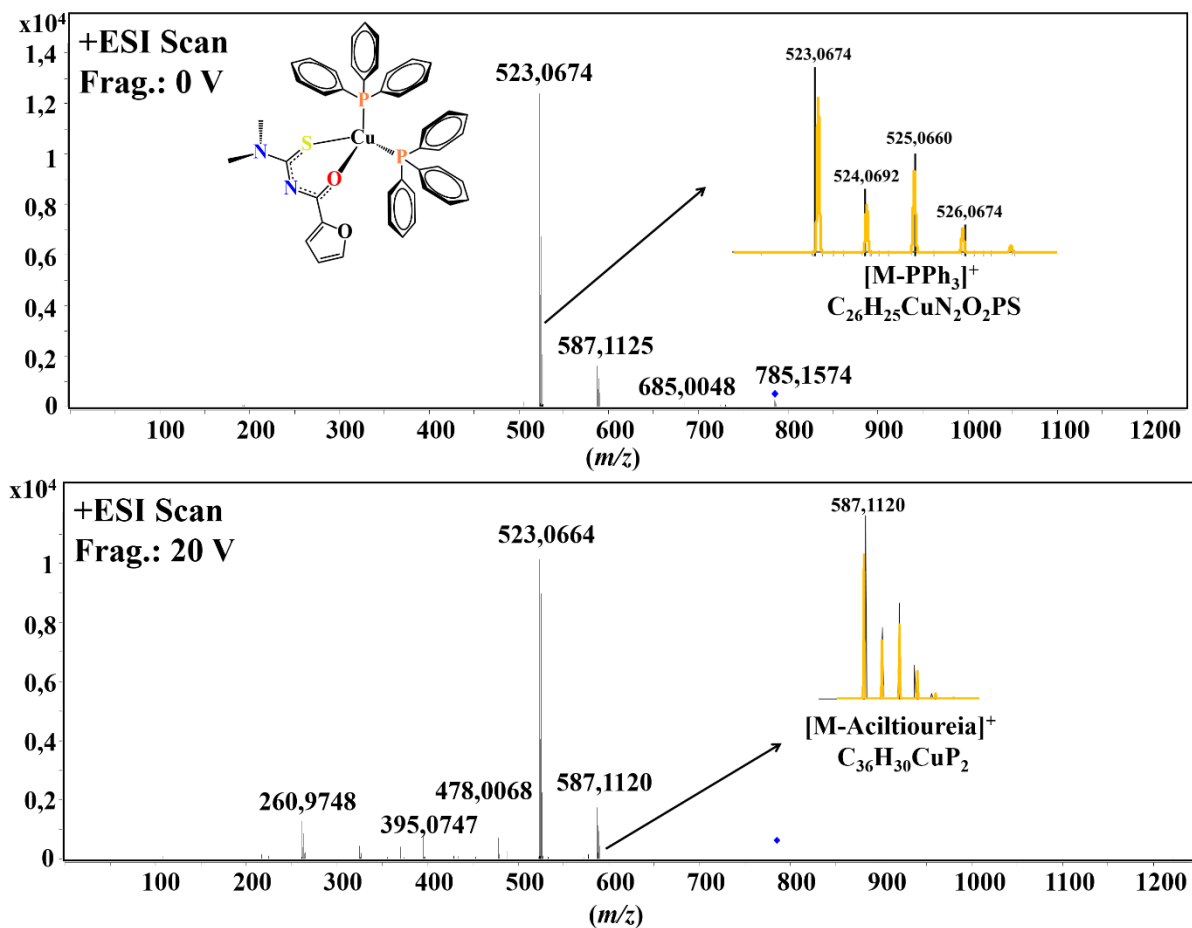


FIGURA A54: Espectros de massas para o complexo **6** e simulação dos sinais referentes aos íons fragmentos ([M-PPH₃]⁺) e ([M-L5]⁺).

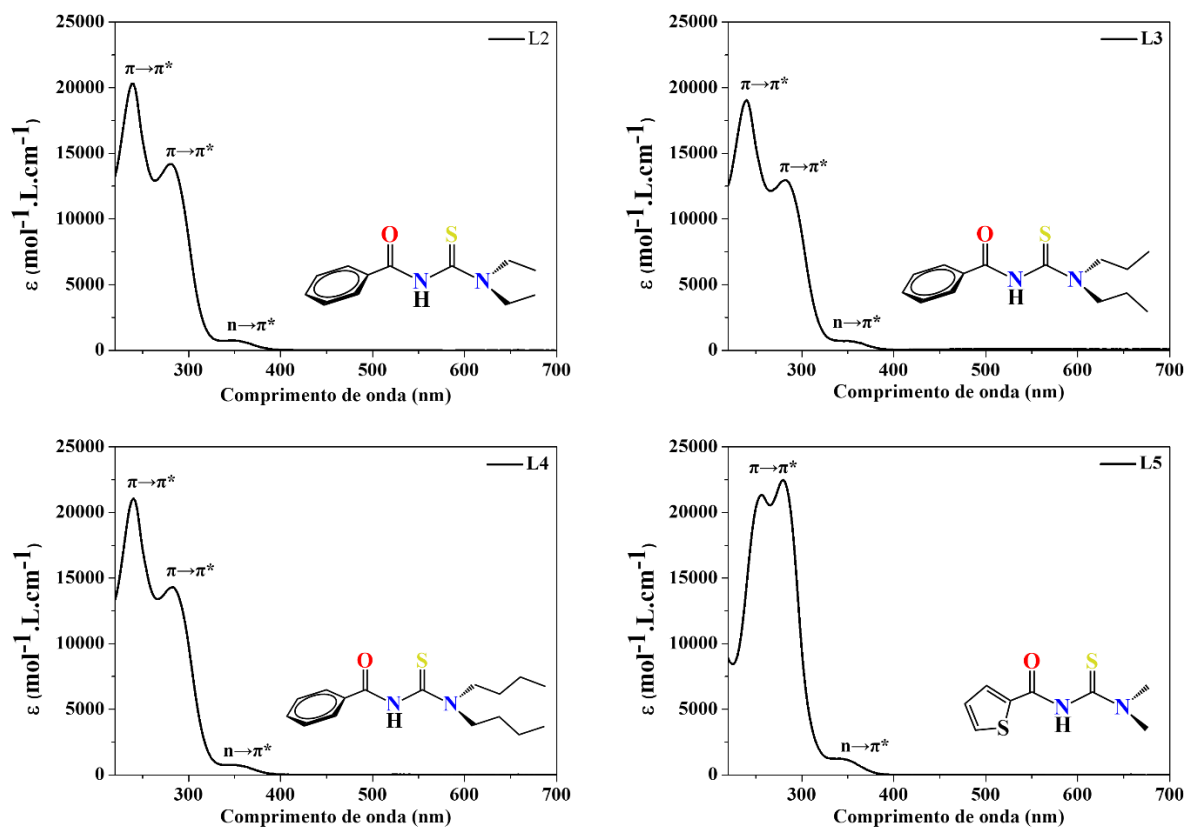


FIGURA A55: Espectros eletrônicos dos ligantes L2, L3, L4 e L5, em solução de acetonitrila e respectiva atribuição tentativa das bandas de absorção.

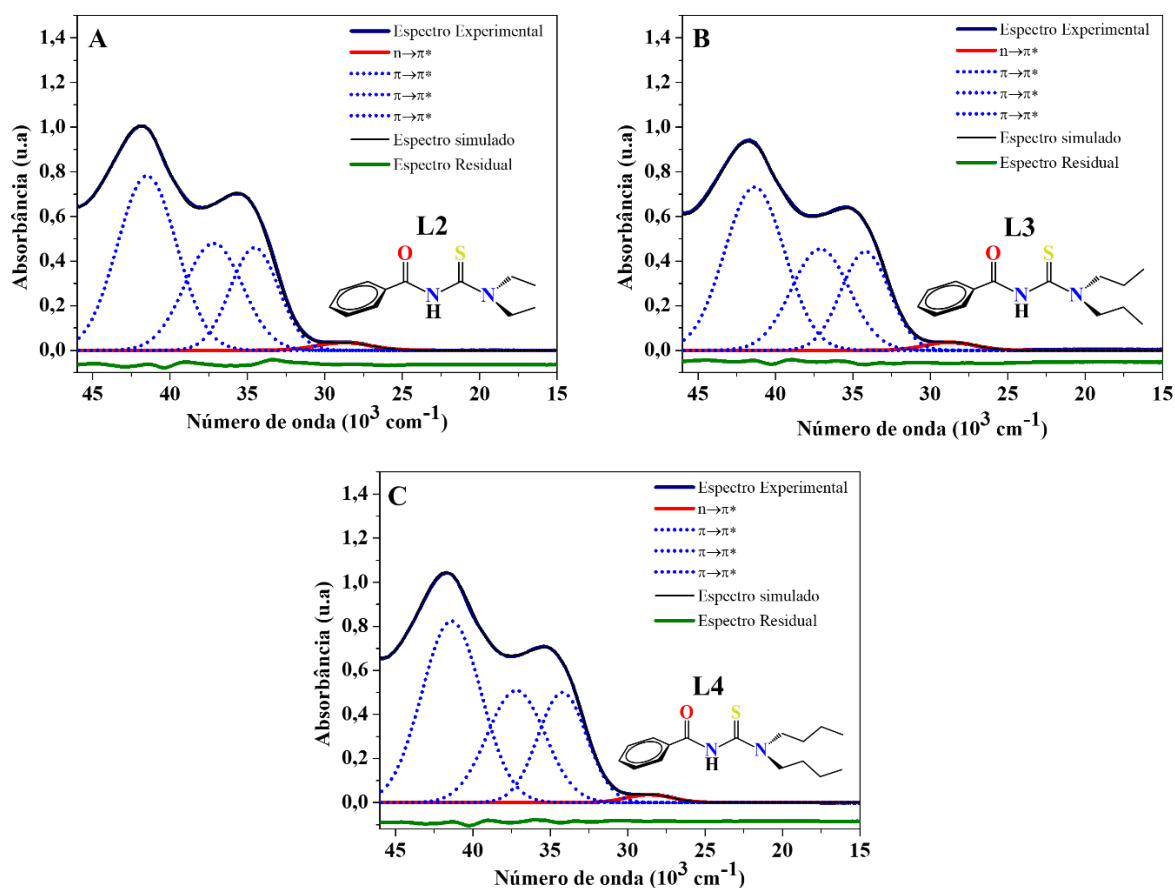


FIGURA A56: Deconvolução dos espectros dos ligantes A) L2, B) L3 e C) L4 e tentativa de atribuição das bandas. Os espectros eletrônicos experimentais foram registrados em soluções dos ligantes, em acetonitrila.

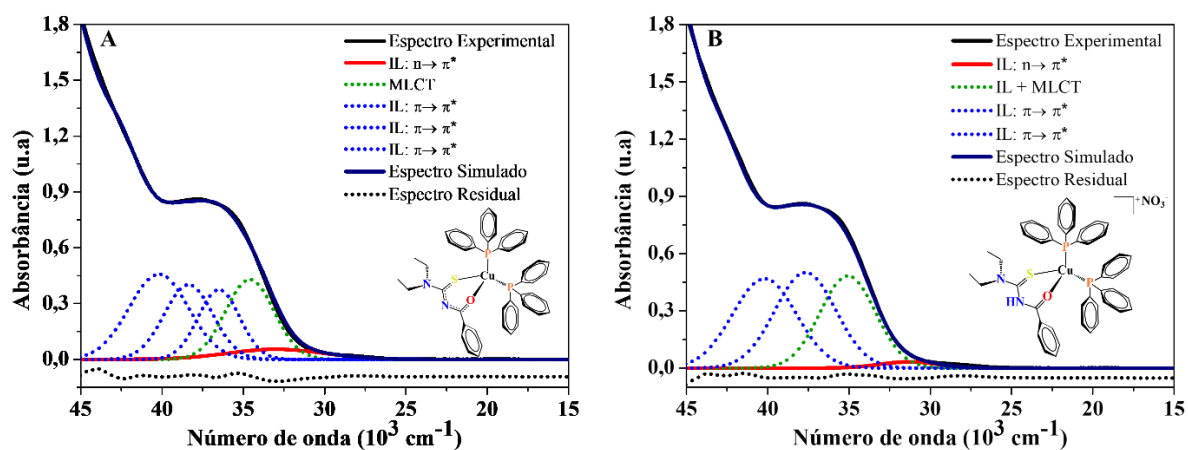


FIGURA A57: Deconvolução dos espectros dos complexos A) 2 e B) 2a e atribuição tentativa das bandas. Os espectros eletrônicos experimentais foram registrados em soluções dos complexos, em acetonitrila.

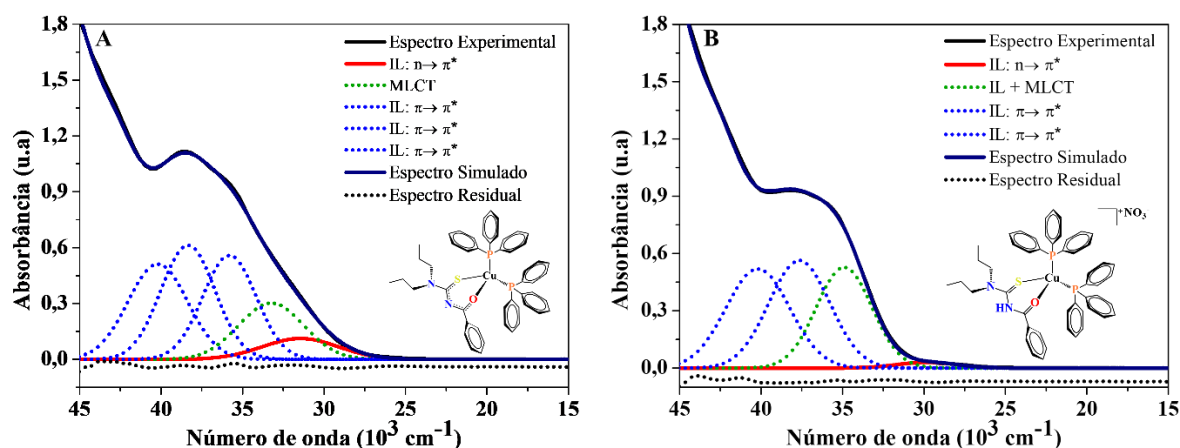


FIGURA A58: Deconvolução dos espectros dos complexos A) **3** e B) **3a** e tentativa de atribuição das bandas. Os espectros eletrônicos experimentais foram registrados em soluções dos complexos, em acetonitrila.

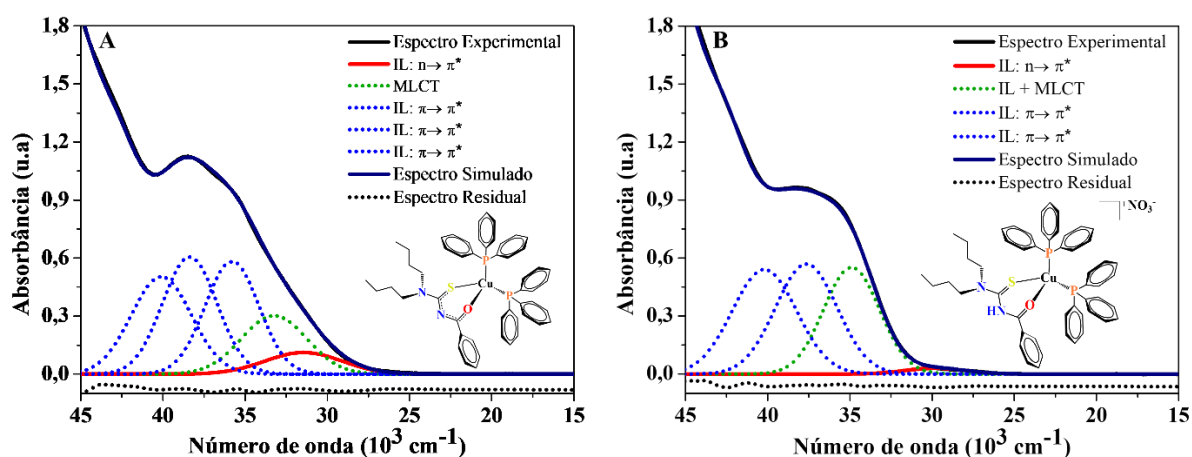


FIGURA A59: Deconvolução dos espectros dos complexos A) **4** e B) **4a** e tentativa de atribuição das bandas. Os espectros eletrônicos experimentais foram registrados em soluções dos complexos, em acetonitrila.

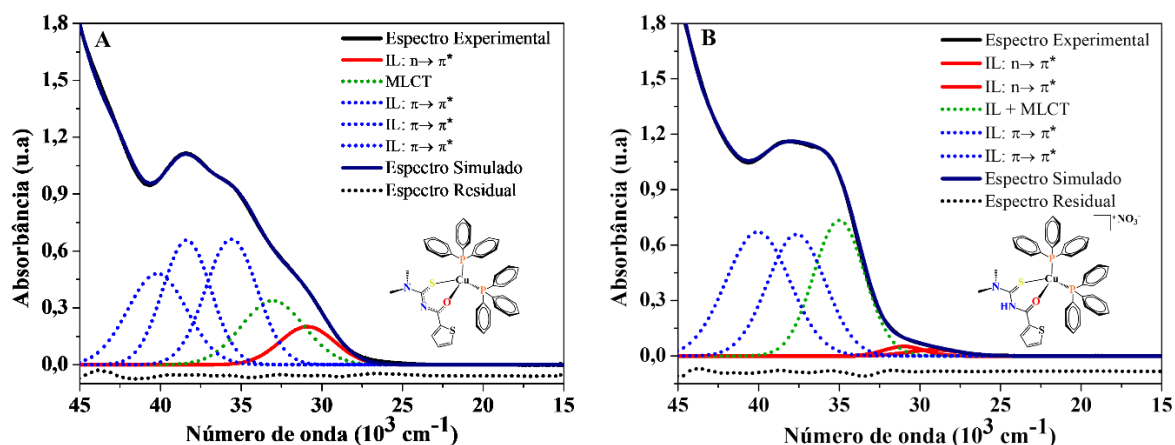


FIGURA A60: Deconvolução dos espectros dos complexos A) **5** e B) **5a** e tentativa de atribuição das bandas. Os espectros eletrônicos experimentais foram registrados em soluções dos complexos, em acetonitrila.

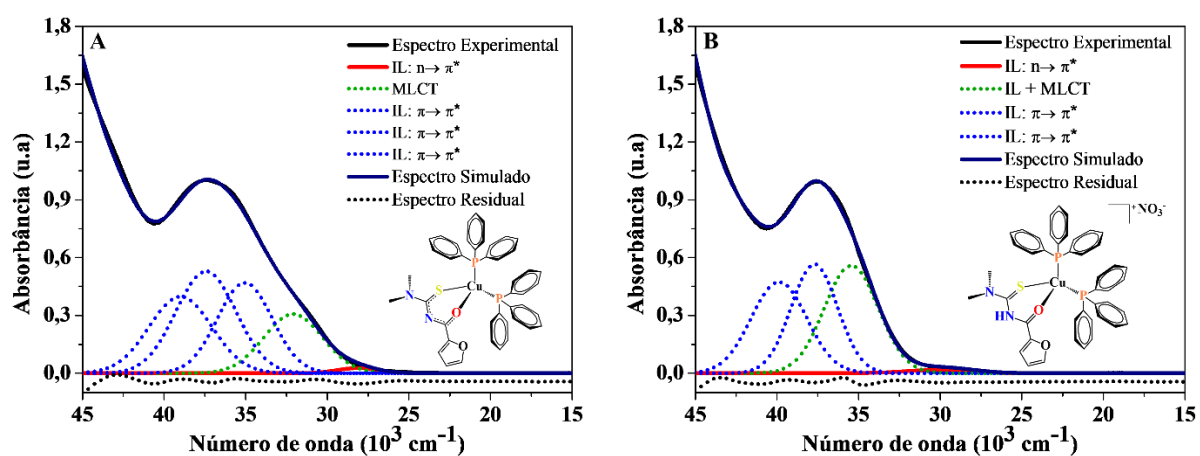


FIGURA A61: Deconvolução dos espectros dos complexos A) **6** e B) **6a** e tentativa de atribuição das bandas. Os espectros eletrônicos experimentais foram registrados em soluções dos complexos, em acetonitrila.

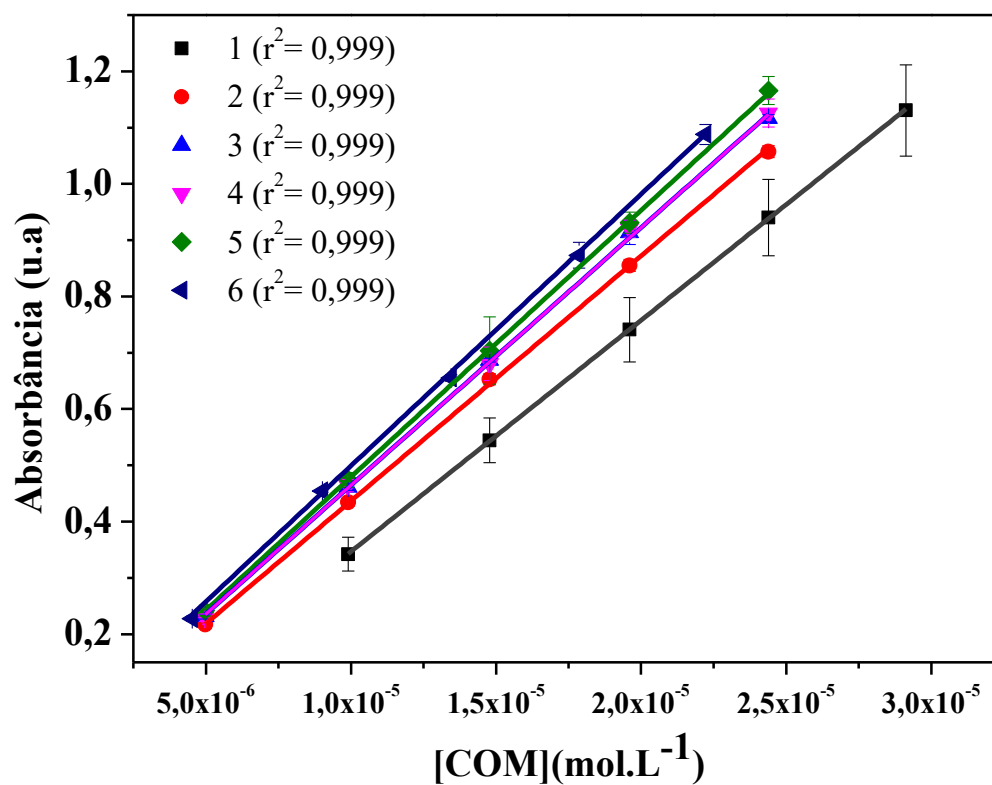


FIGURA A62: Curvas A versus C referentes aos complexos 1 - 6.

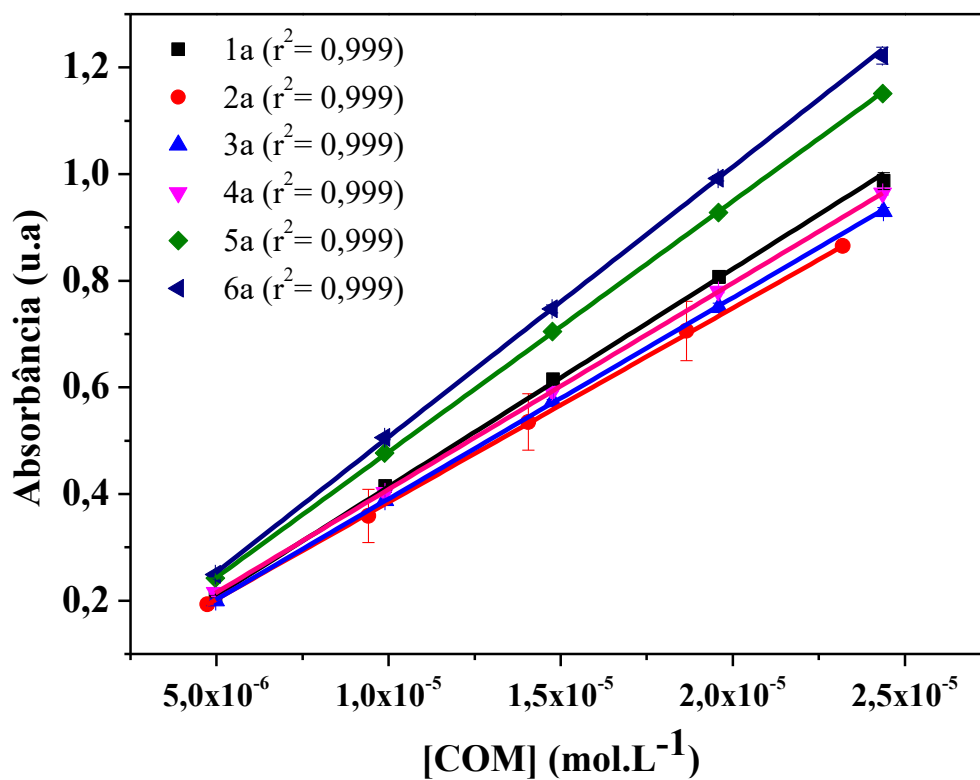


FIGURA A63: Curvas A versus C referentes aos complexos 1a – 6a.

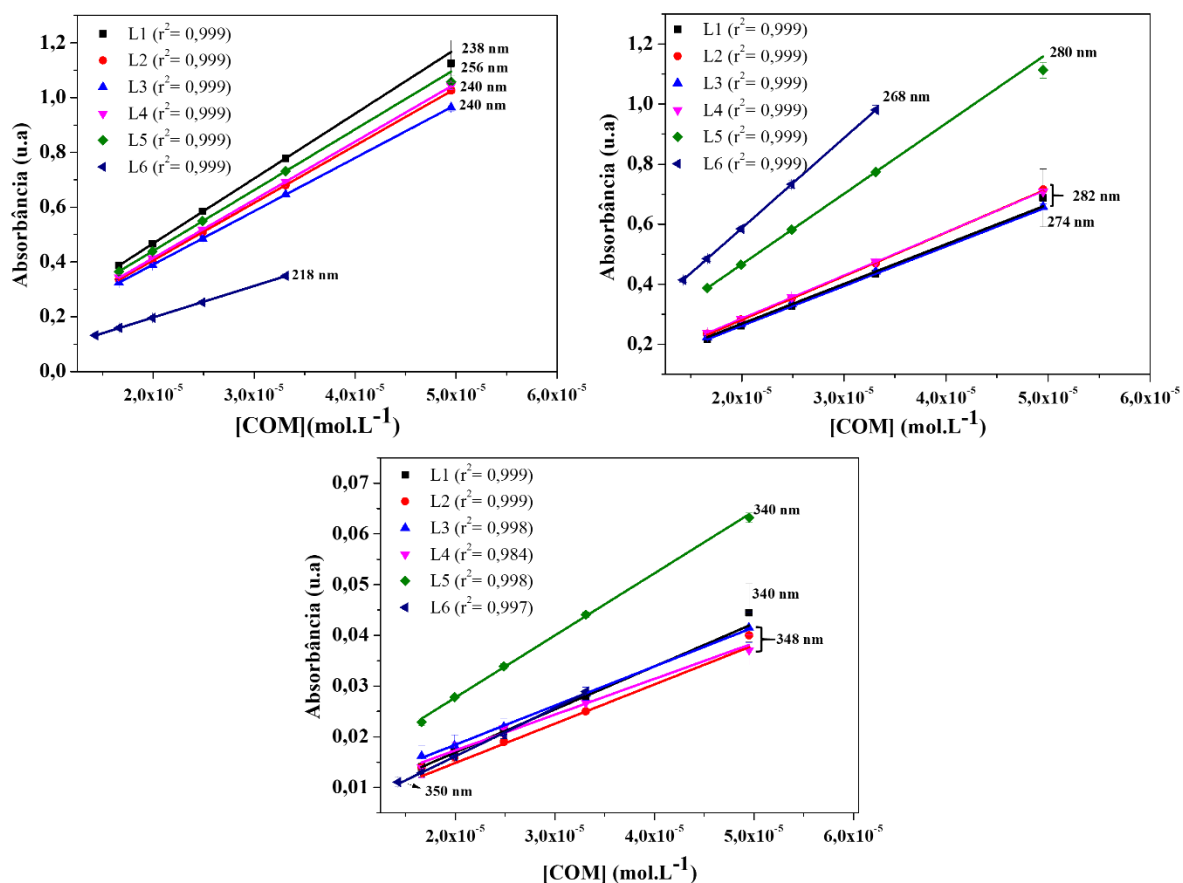


FIGURA A64: Curvas A versus C referentes aos ligantes L1 - L6.

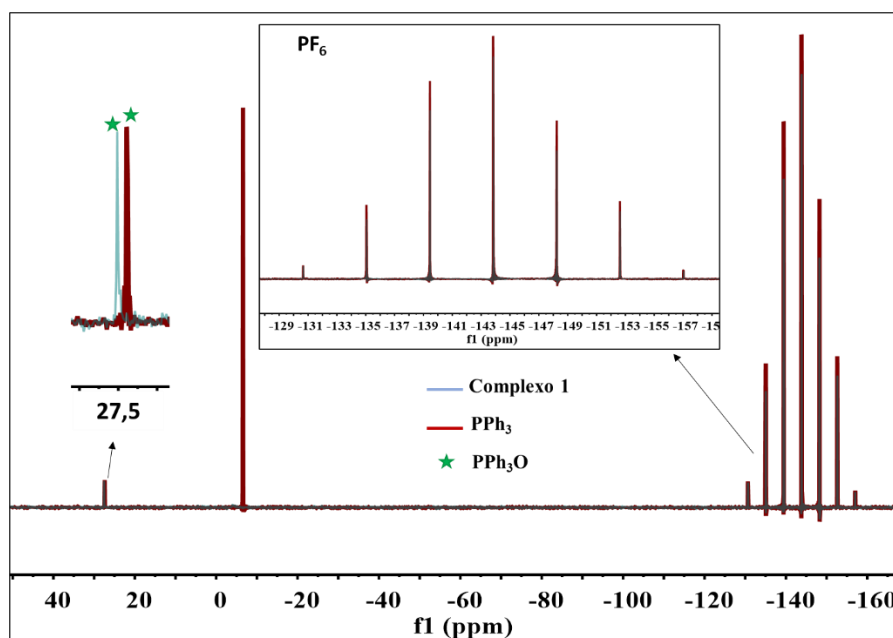


FIGURA A65: Espectros de RMN de ³¹P{¹H} para o complexo 1 e para a PPh₃ em soluções saturadas dos compostos, em uma mistura DMSO (90%)/ Meio de cultura (10%).

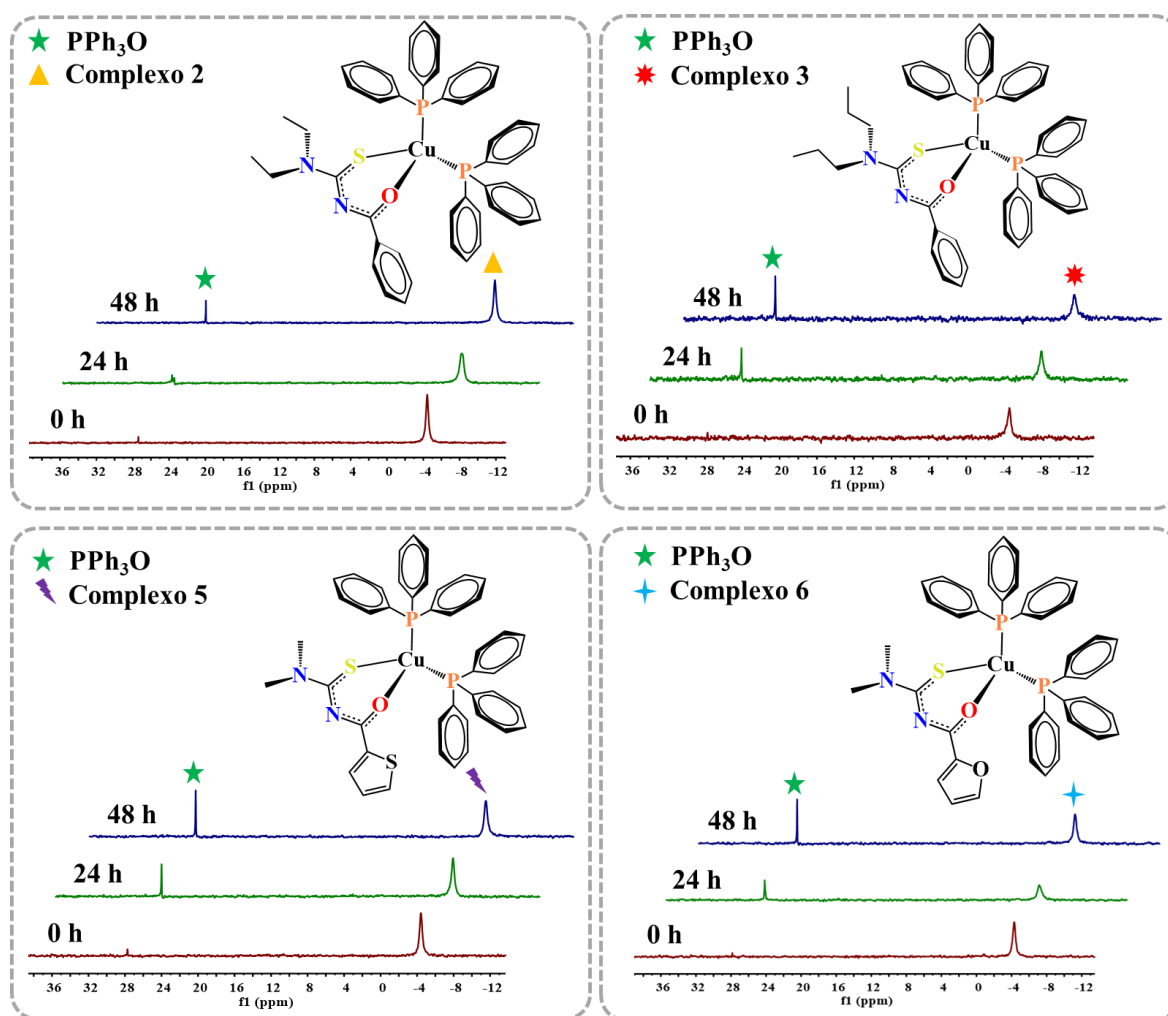


FIGURA A66: Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos **2**, **3**, **5** e **6** de soluções saturadas dos complexos, em uma mistura DMSO (90%)/ Meio de cultura (10%) em diferentes tempos de monitoramento.

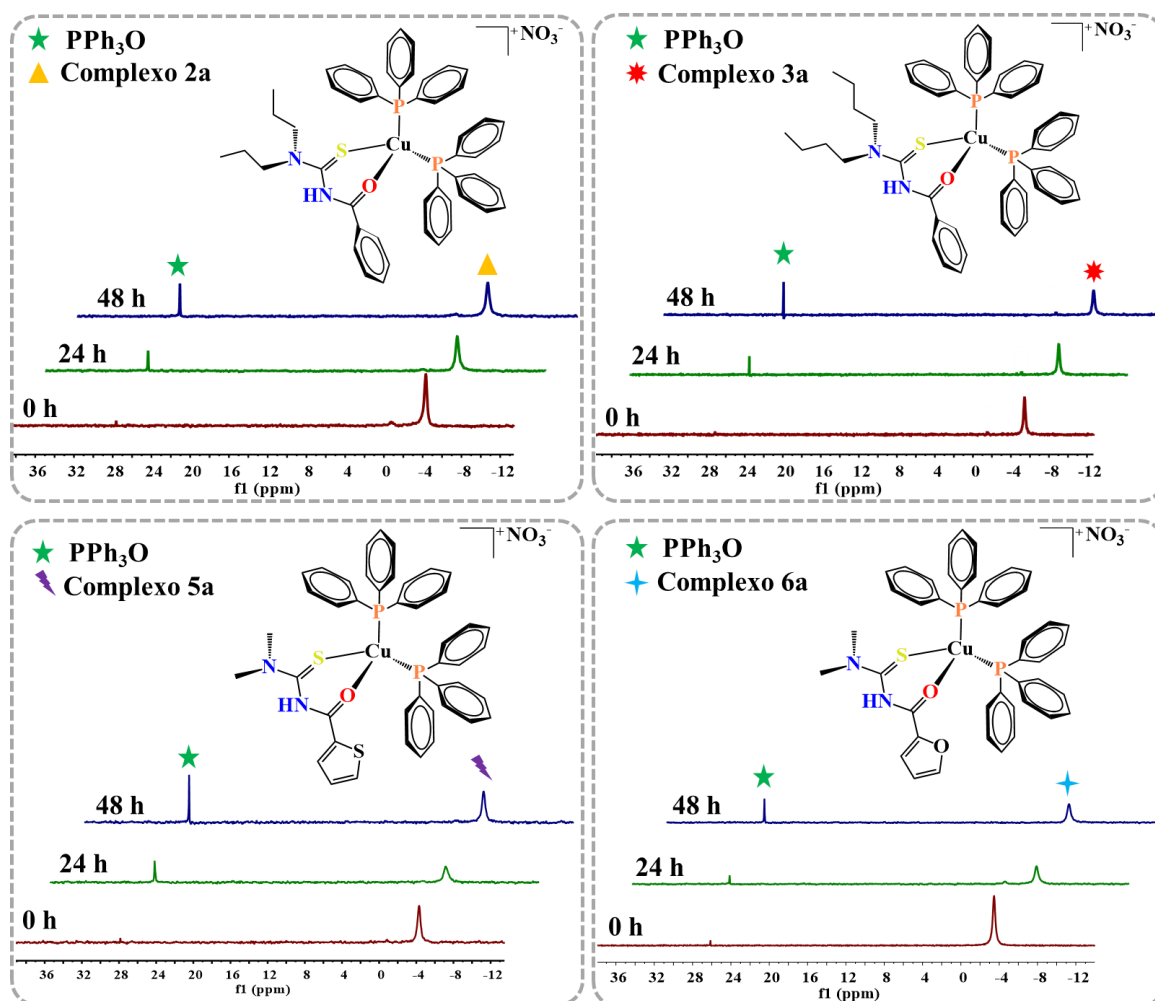


FIGURA A67: Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos **2a**, **3a**, **5a** e **6a** de soluções saturadas dos complexos, em uma mistura DMSO (90%)/ Meio de cultura (10%) em diferentes tempos de monitoramento.

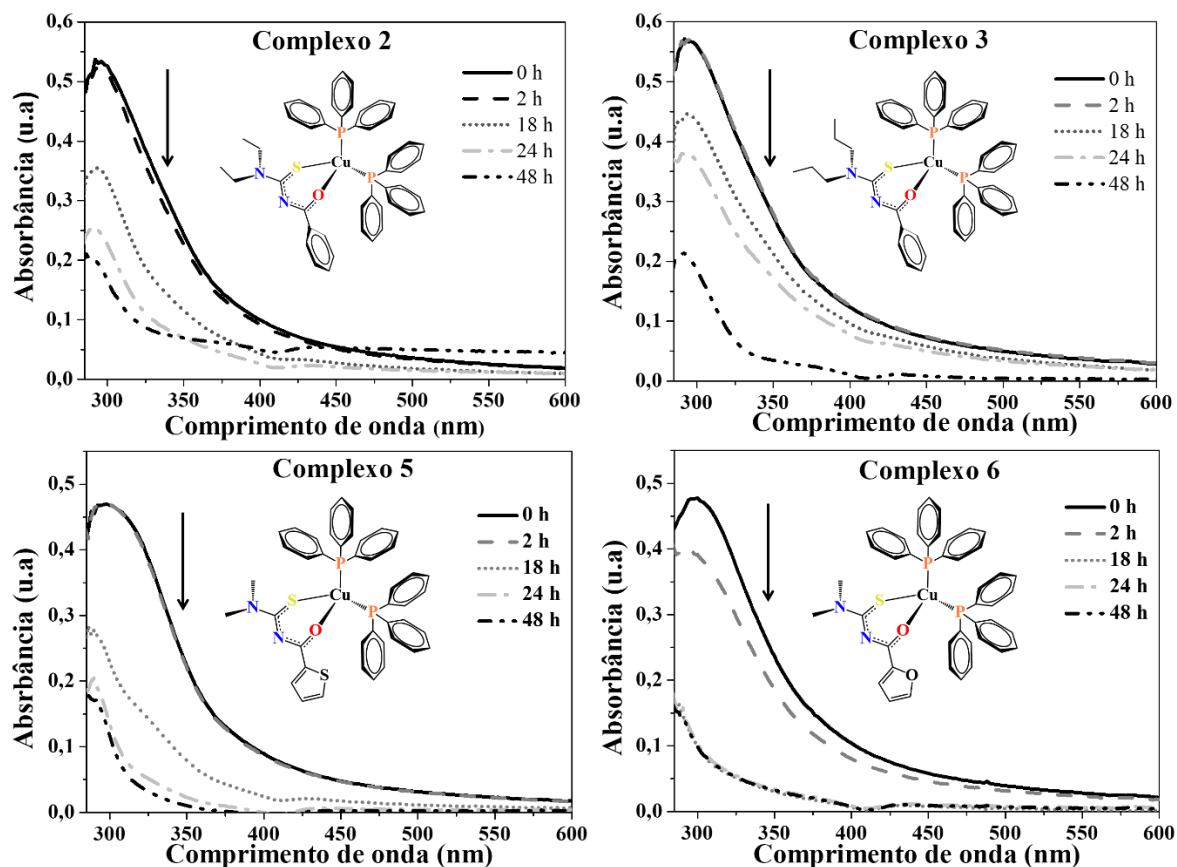


FIGURA A68: Espectros UV-vis de soluções 10 μM dos complexos 2, 3, 5 e 6, em uma mistura DMSO (0,5 %)/ meio de cultura (99,5 %) em diferentes tempos de monitoramento.

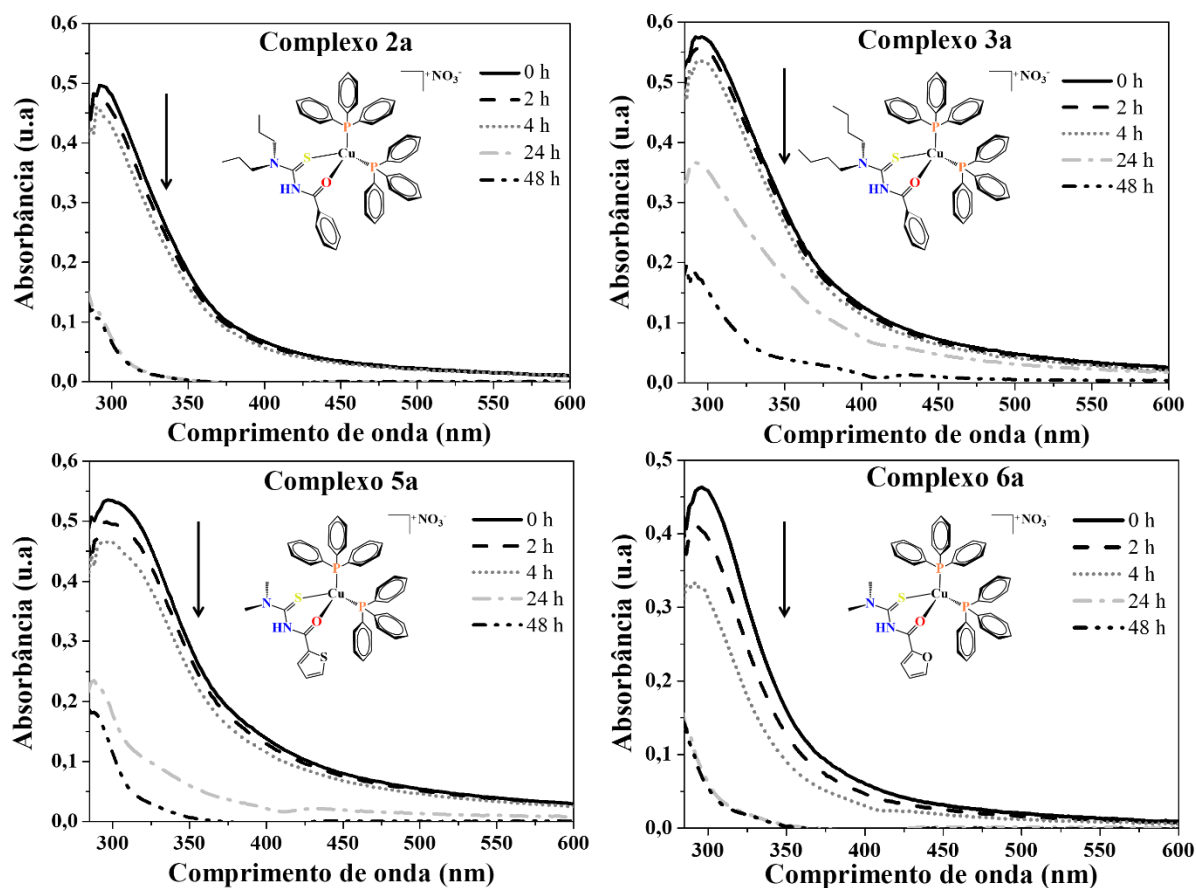


FIGURA A69: Espectros UV-vis de soluções 10 μM dos complexos **2a**, **3a**, **5a** e **6a**, em uma mistura DMSO (0,5 %)/ meio de cultura (99,5 %) em diferentes tempos de monitoramento.

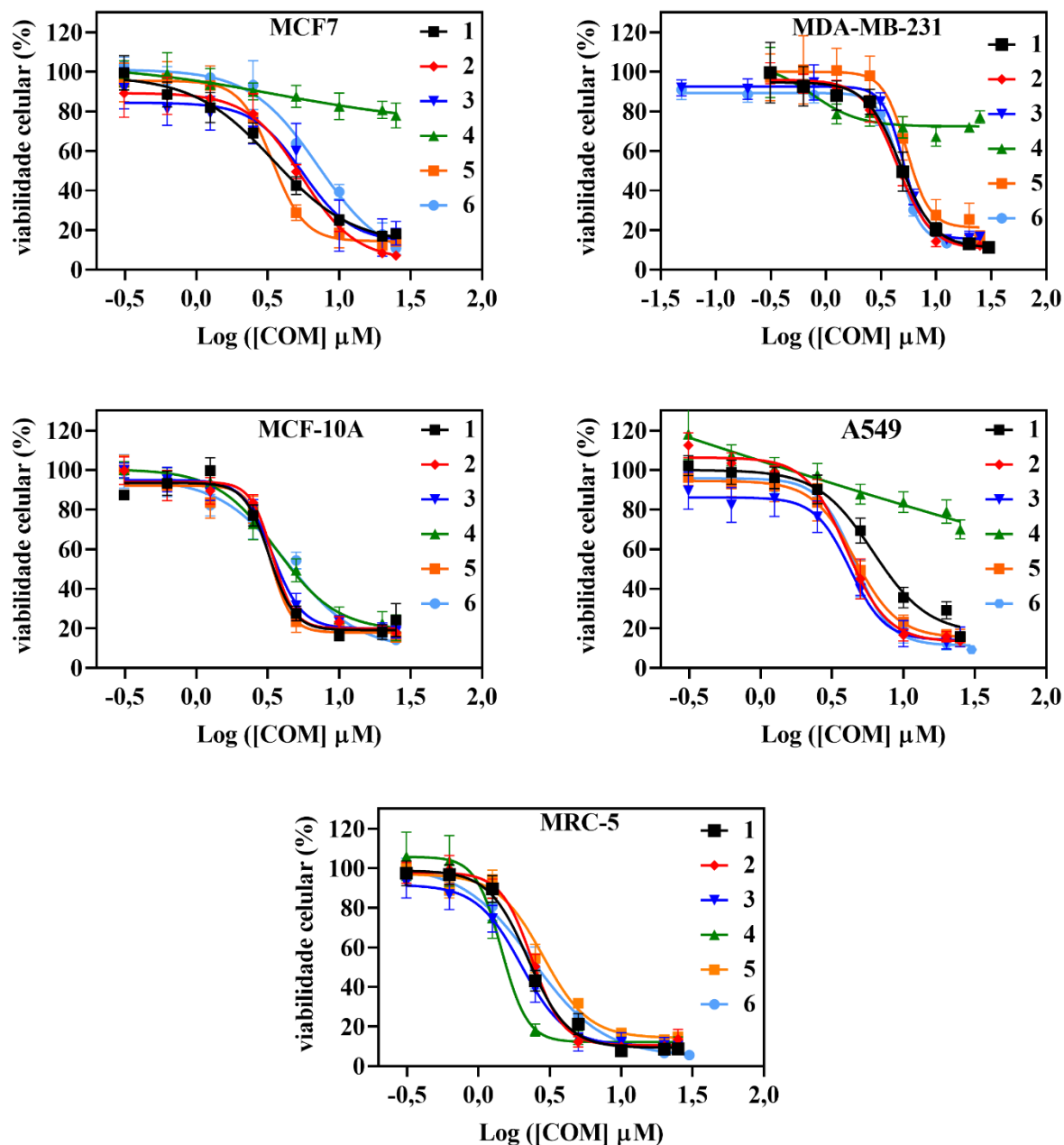


FIGURA A70: Curvas de concentração-resposta das células tumorais (MDA-MB-231, MCF7 e A549) e das células não tumorais (MCF-10A e MRC5) após tratamento com os complexos 1-6, adicionados imediatamente após o preparo das soluções.

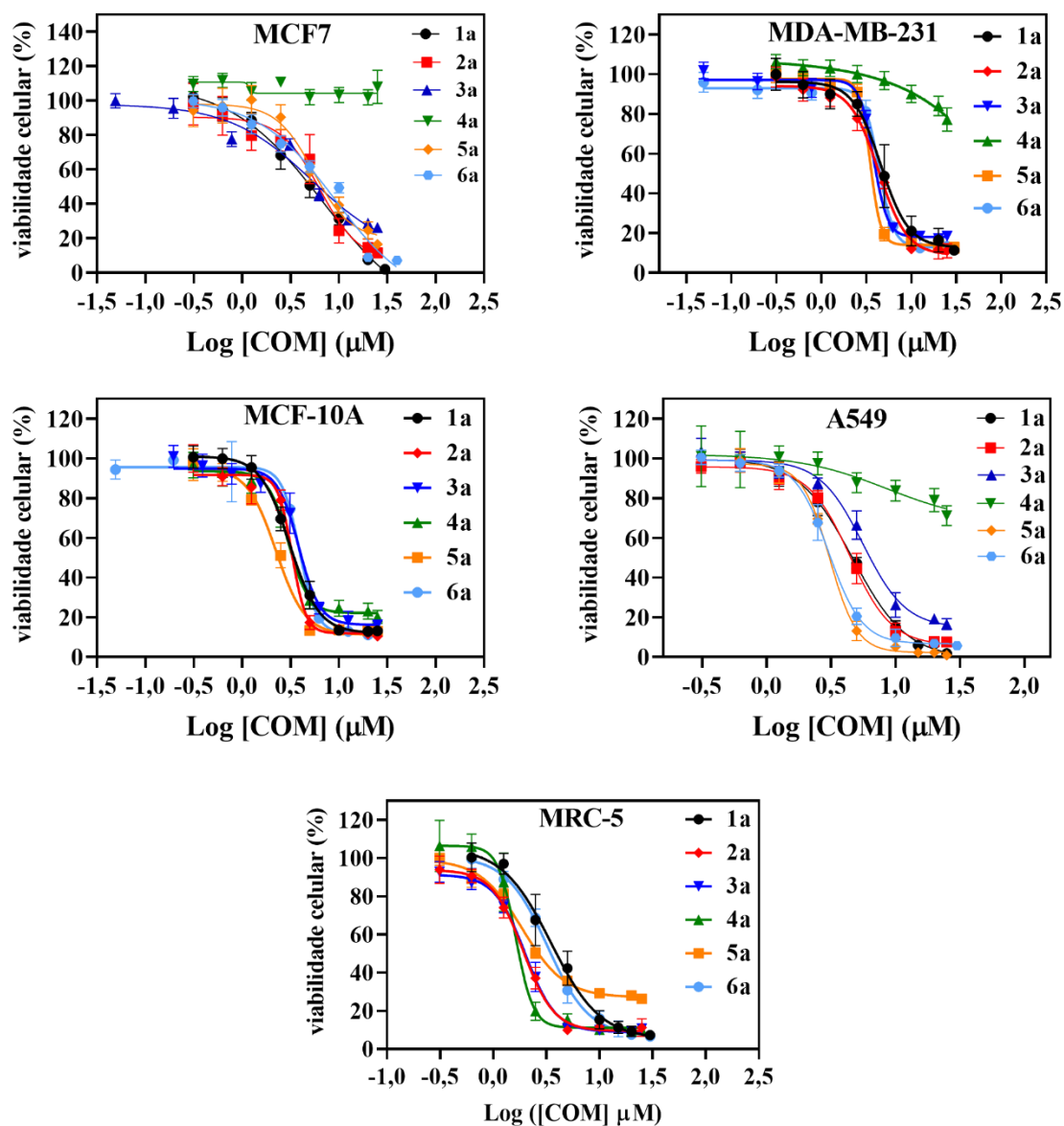


FIGURA A71: Curvas de concentração-resposta das células tumorais (MDA-MB-231, MCF7 e A549) e das células não tumorais (MCF-10A e MRC5) após tratamento com os complexos 1a-6a, adicionados imediatamente após o preparo das soluções.

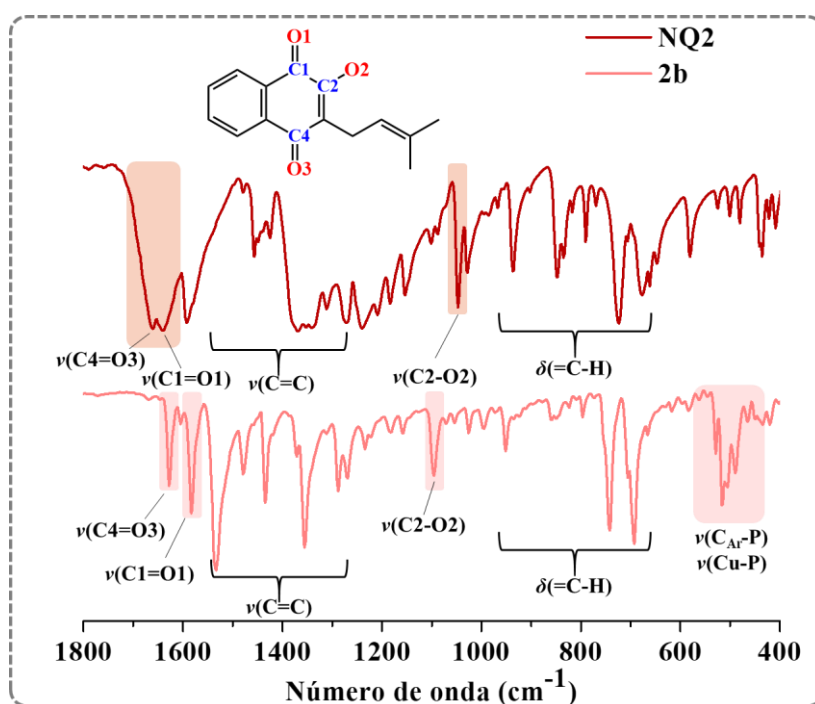


FIGURA A72: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais do complexo **2b** e de seu respectivo ligante naftoquinona, na região de 1800-400 cm^{-1} .

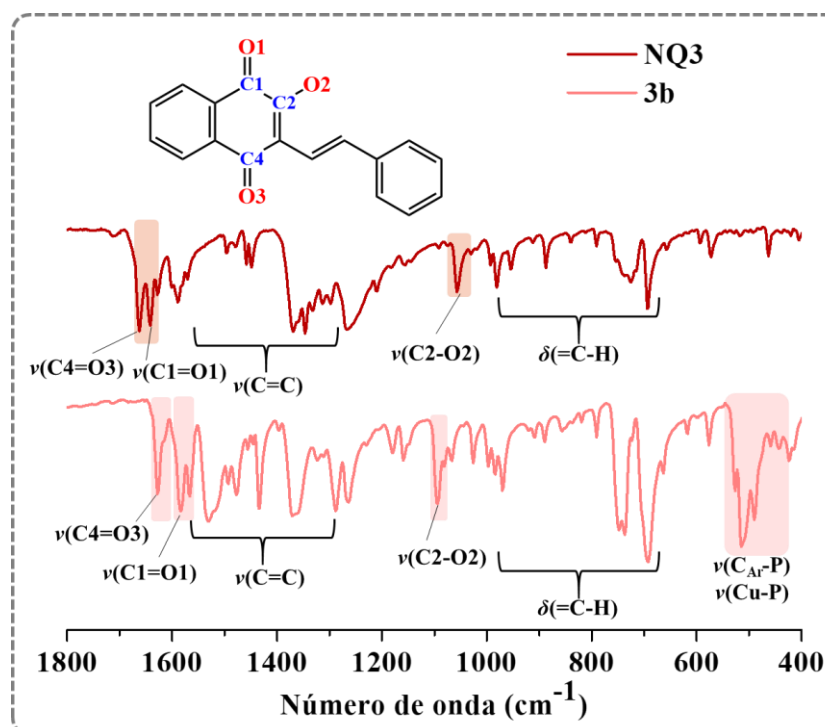


FIGURA A73: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais do complexo **3b** e de seu respectivo ligante naftoquinona, na região de 1800-400 cm^{-1} .

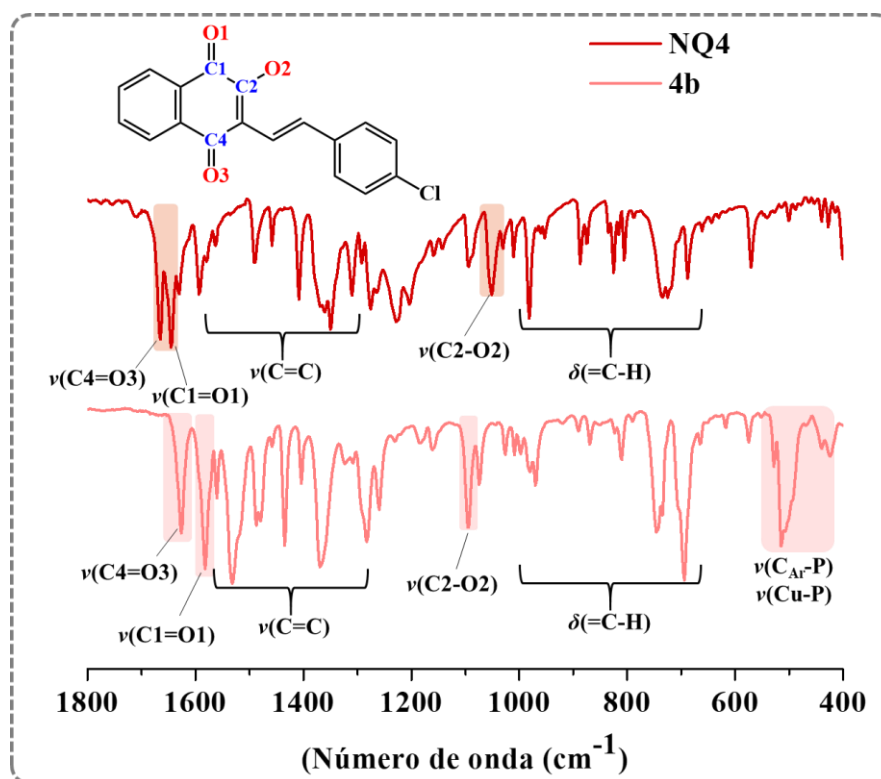


FIGURA A74: Espectros de absorção na região do infravermelho e tentativa de atribuição dos principais modos vibracionais do complexo **4b** e de seu respectivo ligante naftoquinona, na região de 1800-400 cm⁻¹.

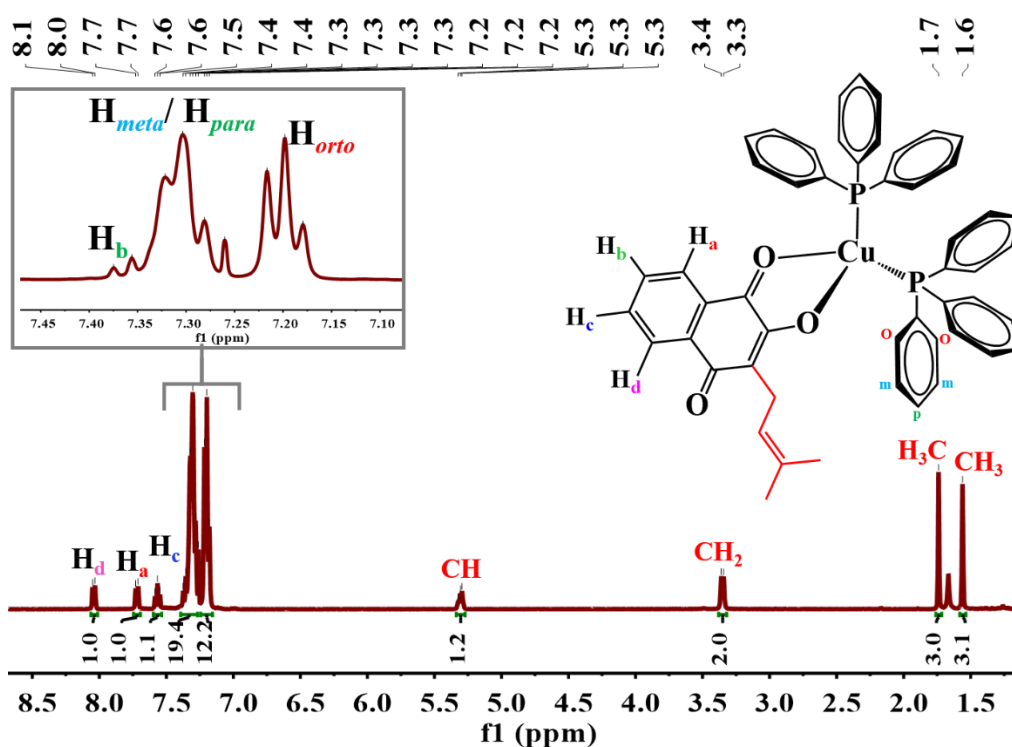


FIGURA A75: Espectro de RMN de 1H obtido para o complexo **2b**, em $CDCl_3$ e atribuição dos sinais referentes ao complexo.

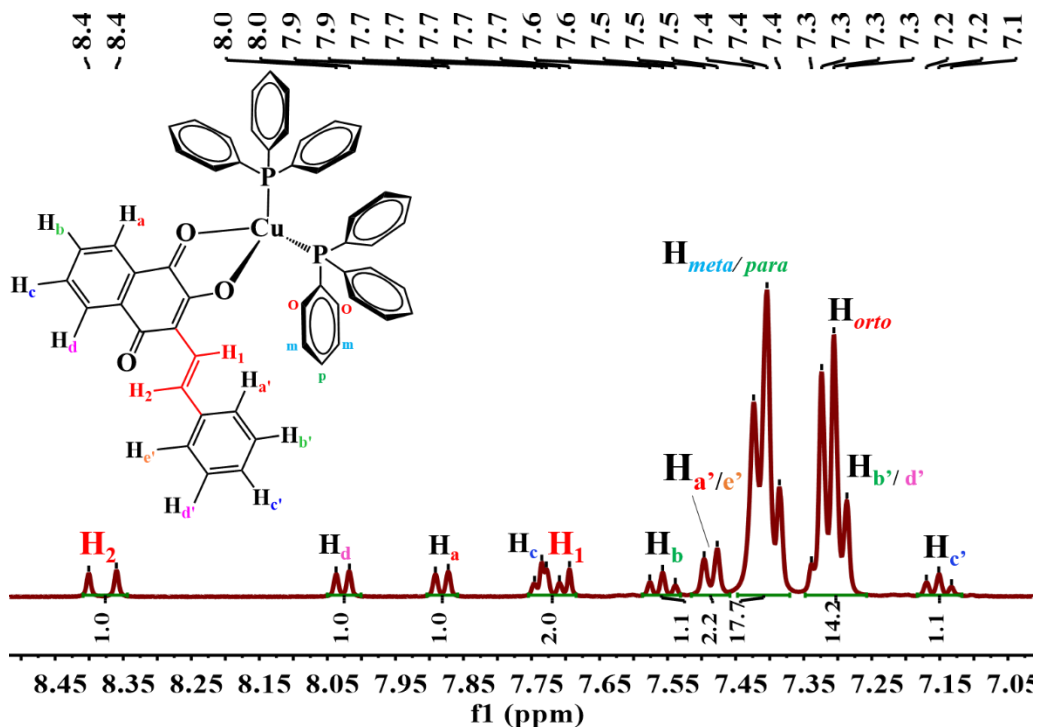


FIGURA A76: Espectro de RMN de 1H obtido para o complexo **3b**, em acetona- d_6 e atribuição dos sinais referentes ao complexo.

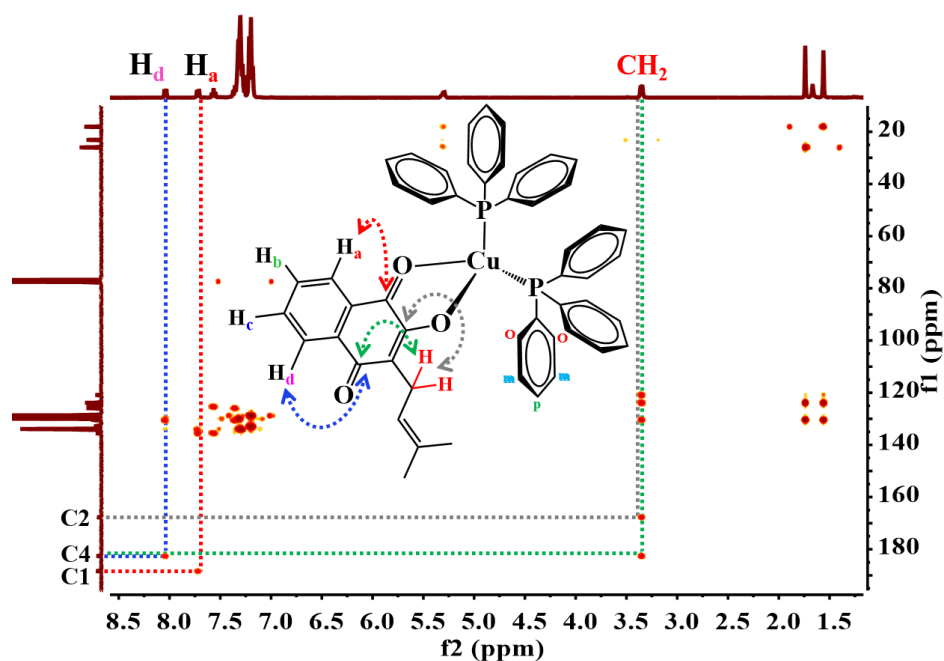


FIGURA A77: Mapa de correlação HMBC (¹H-¹³C) obtido para o complexo **2b**, em CDCl₃. Em destaque os acoplamentos exibidos pelos complexos relativos aos carbonos C1=O1, C2=O2 e C4=O3.

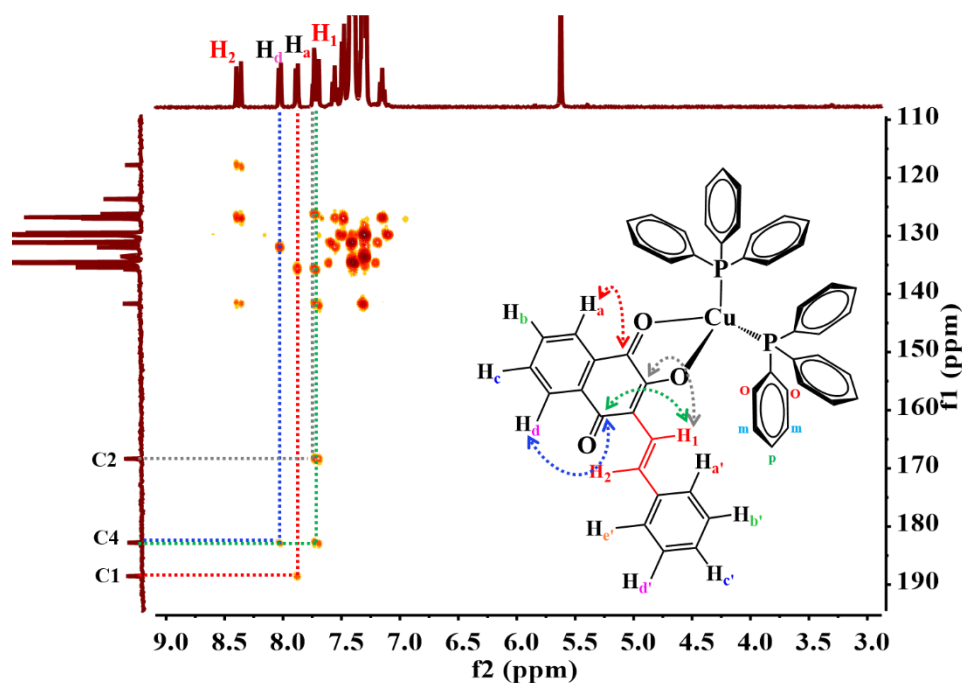


FIGURA A78: Mapa de correlação HMBC (¹H-¹³C) obtido para o complexo **3b**, em acetona-d₆. Em destaque os acoplamentos exibidos pelos complexos relativos aos carbonos C1=O1, C2=O2 e C4=O3.

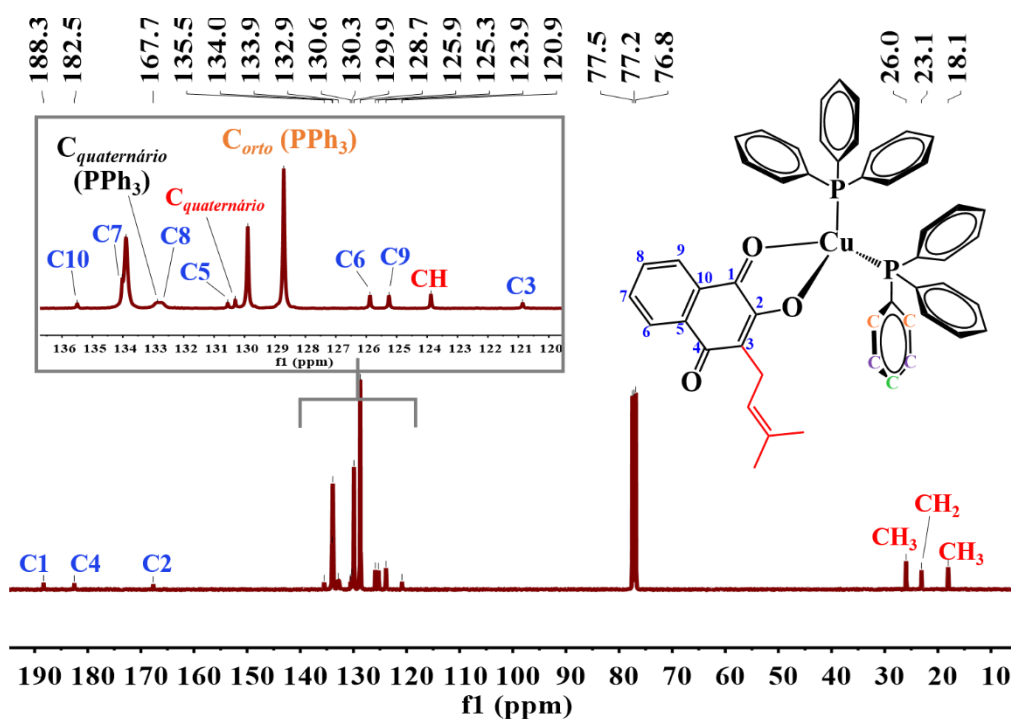


FIGURA A79: Espectro de RMN de ¹³C{¹H} obtido para o complexo **2b**, em CDCl₃ e atribuição dos sinais referentes ao complexo.

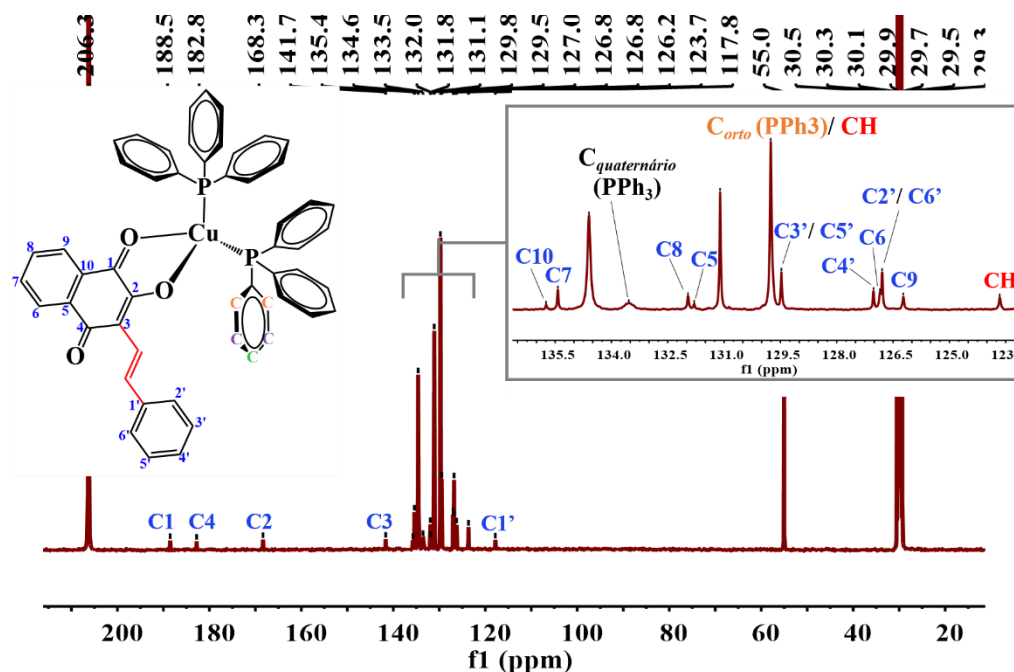


FIGURA A80: Espectro de RMN de ¹³C{¹H} obtido para o complexo **3b**, em acetona-d₆ e atribuição dos sinais referentes ao complexo.

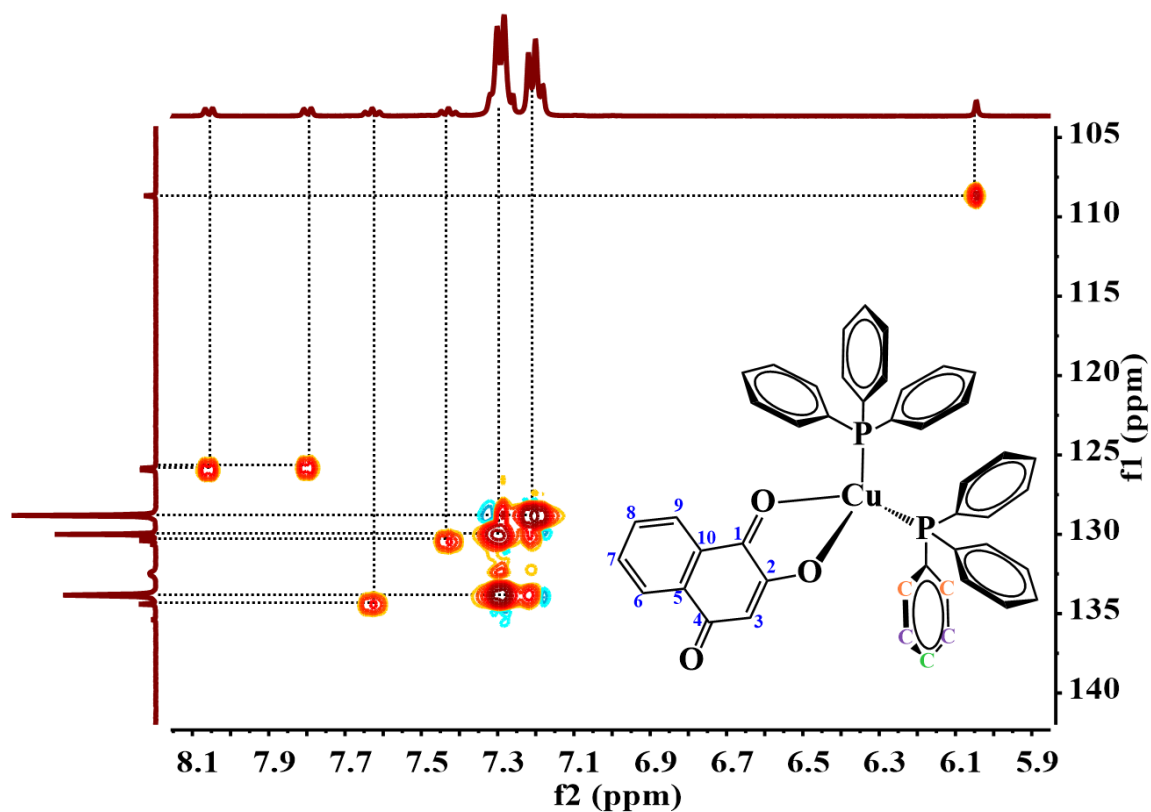


FIGURA A81: Mapa de correlação HSQC (^1H - ^{13}C) obtido para o complexo **1b**, em CDCl_3 .

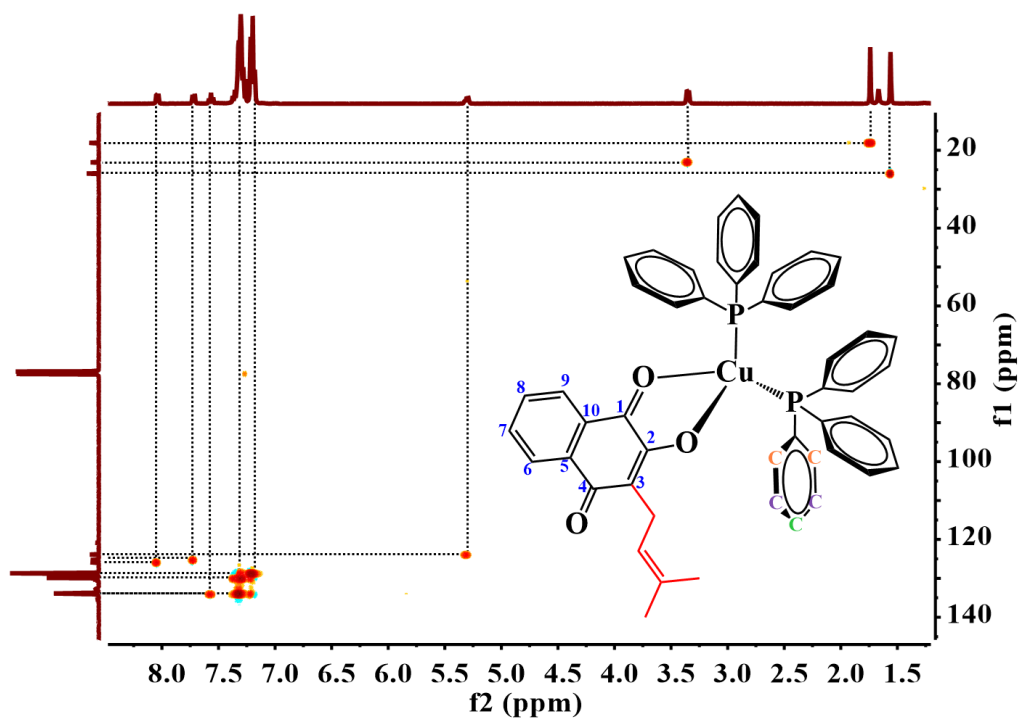


FIGURA A82: Mapa de correlação HSQC (^1H - ^{13}C) obtido para o complexo **2b**, em CDCl_3 .

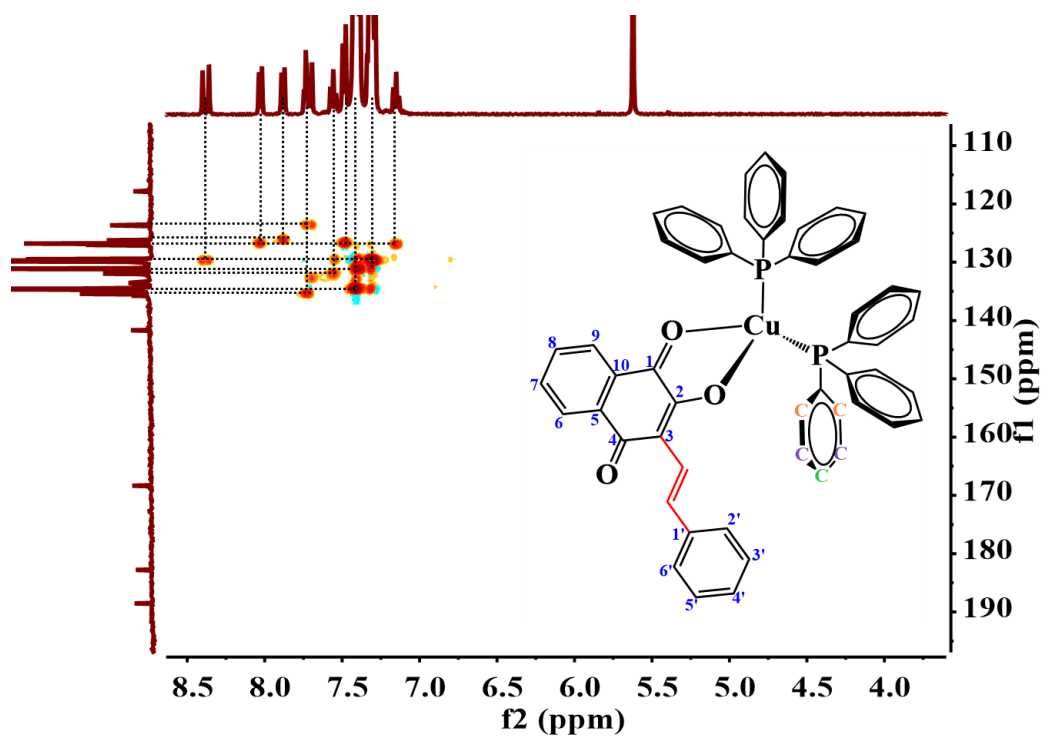


FIGURA A83: Mapa de correlação HSQC (^1H - ^{13}C) obtido para o complexo **3b**, em acetona- d_6 .

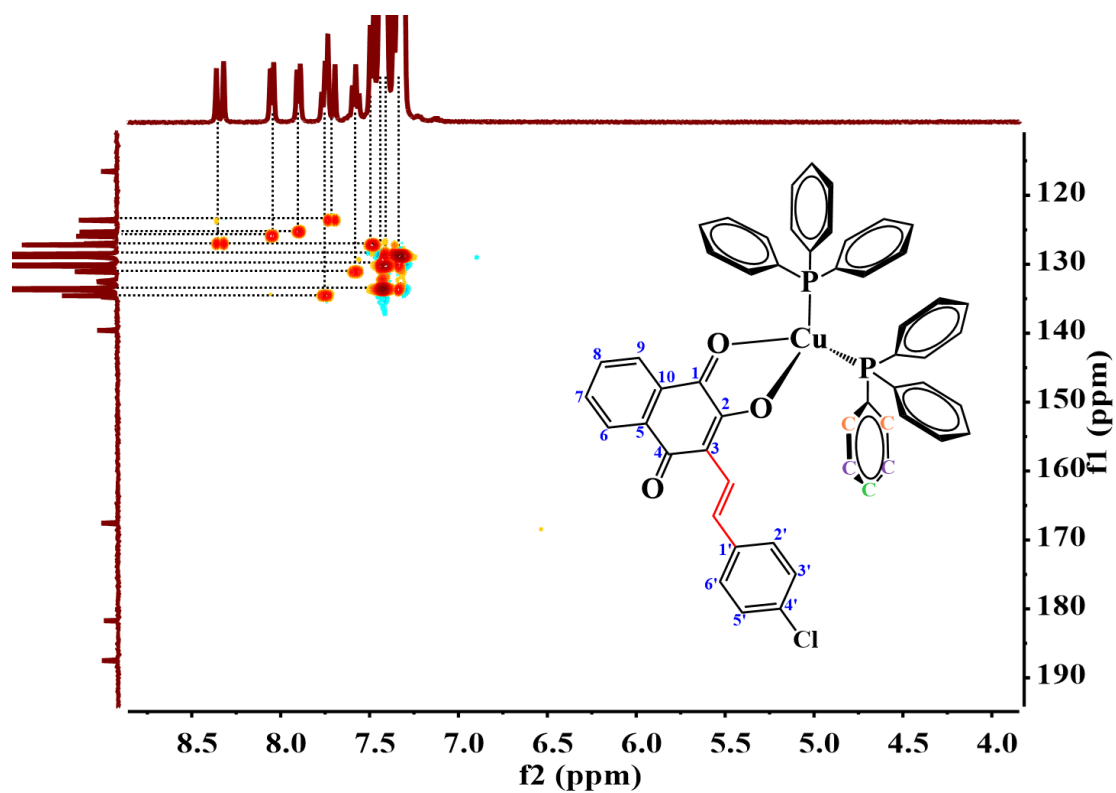


FIGURA A84: Mapa de correlação HSQC (^1H - ^{13}C) obtido para o complexo **4b**, em acetona- d_6 .

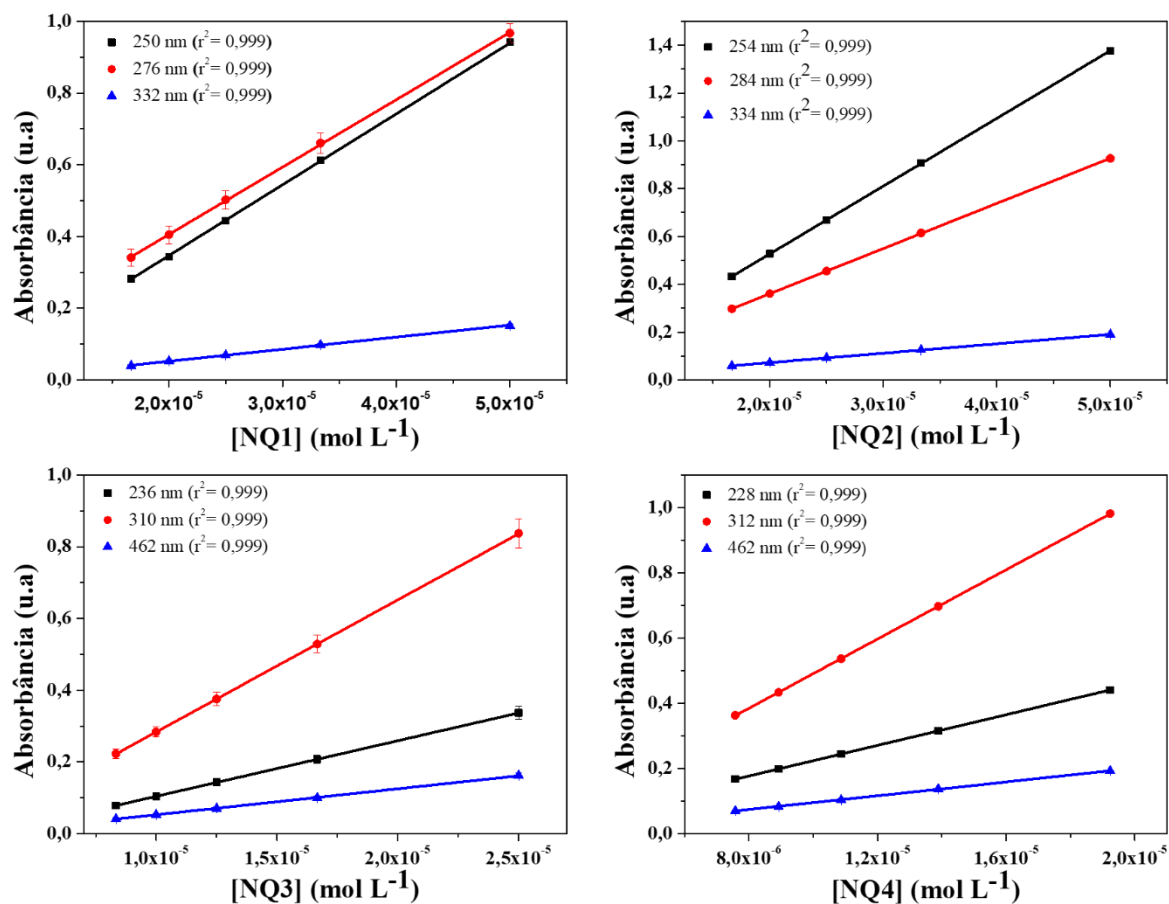


FIGURA A85: Curvas A versus C referentes aos ligantes NQ1 – NQ4, em solução de acetonitrila.

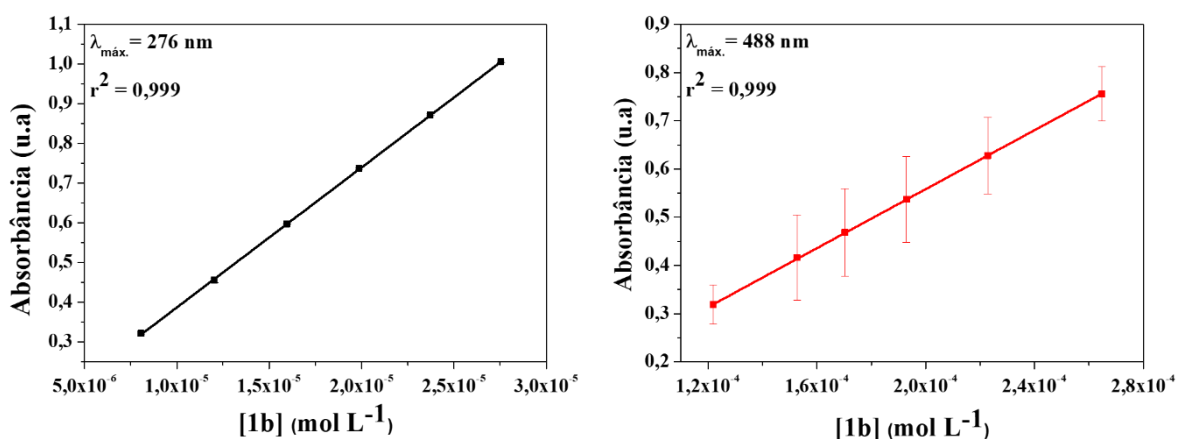


FIGURA A86: Curvas A versus C referentes ao complexo **1b**, em solução de acetonitrila.

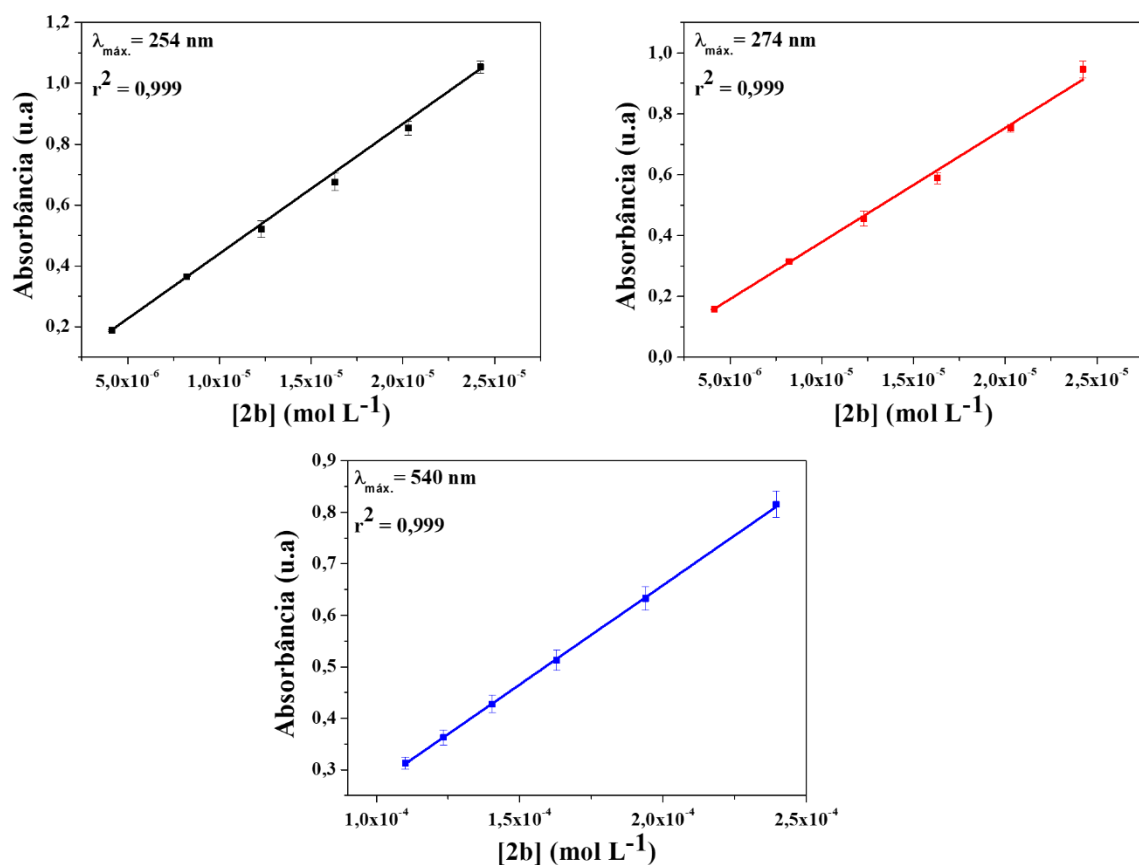


FIGURA A87: Curvas A versus C referentes ao complexo **2b**, em solução de acetonitrila.

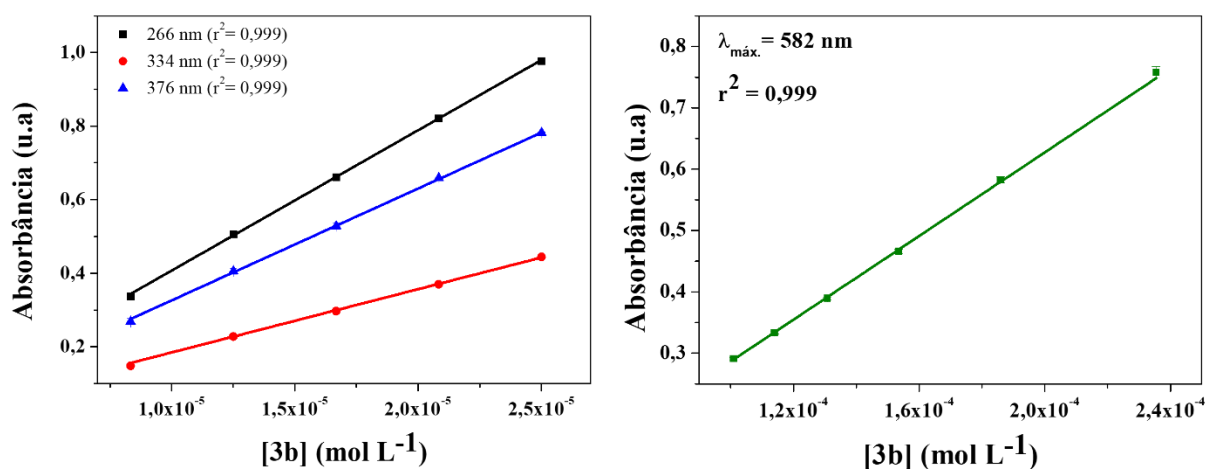


FIGURA A88: Curvas A versus C referentes ao complexo **3b**, em solução de acetonitrila.

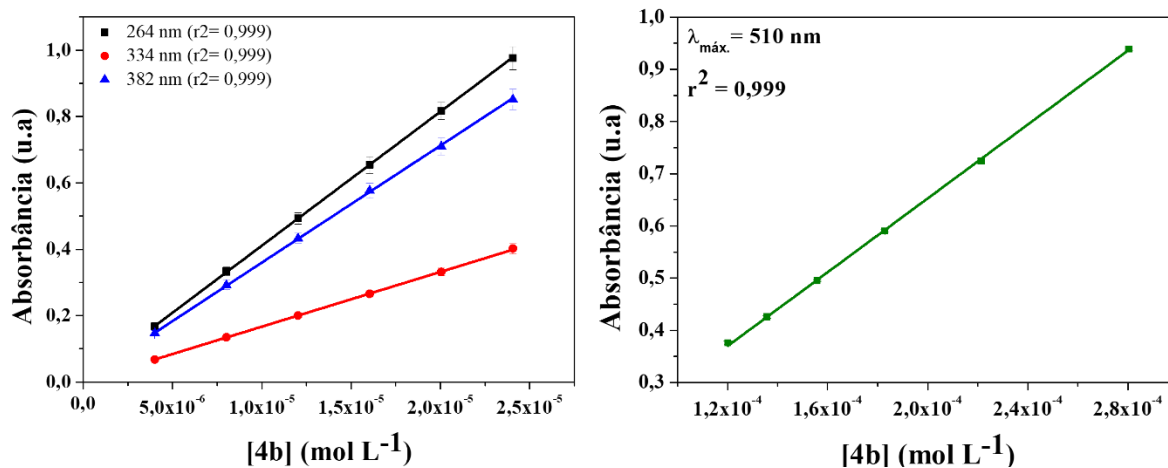


FIGURA A89: Curvas A versus C referentes ao complexo **4b**, em solução de acetonitrila.

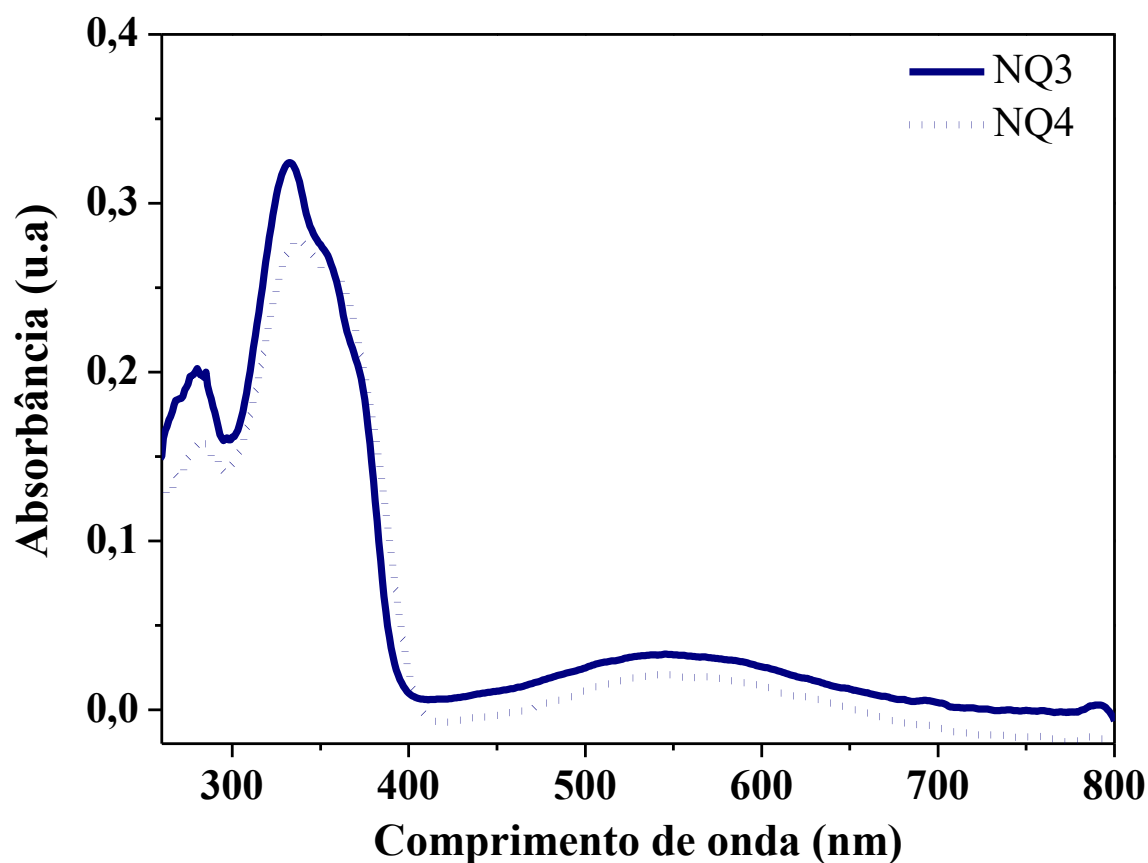


FIGURA A90: Espectros UV-vis de soluções dos ligantes NQ3 e NQ4, em uma mistura DMSO (0,5%) / Meio de cultura (99,5%).

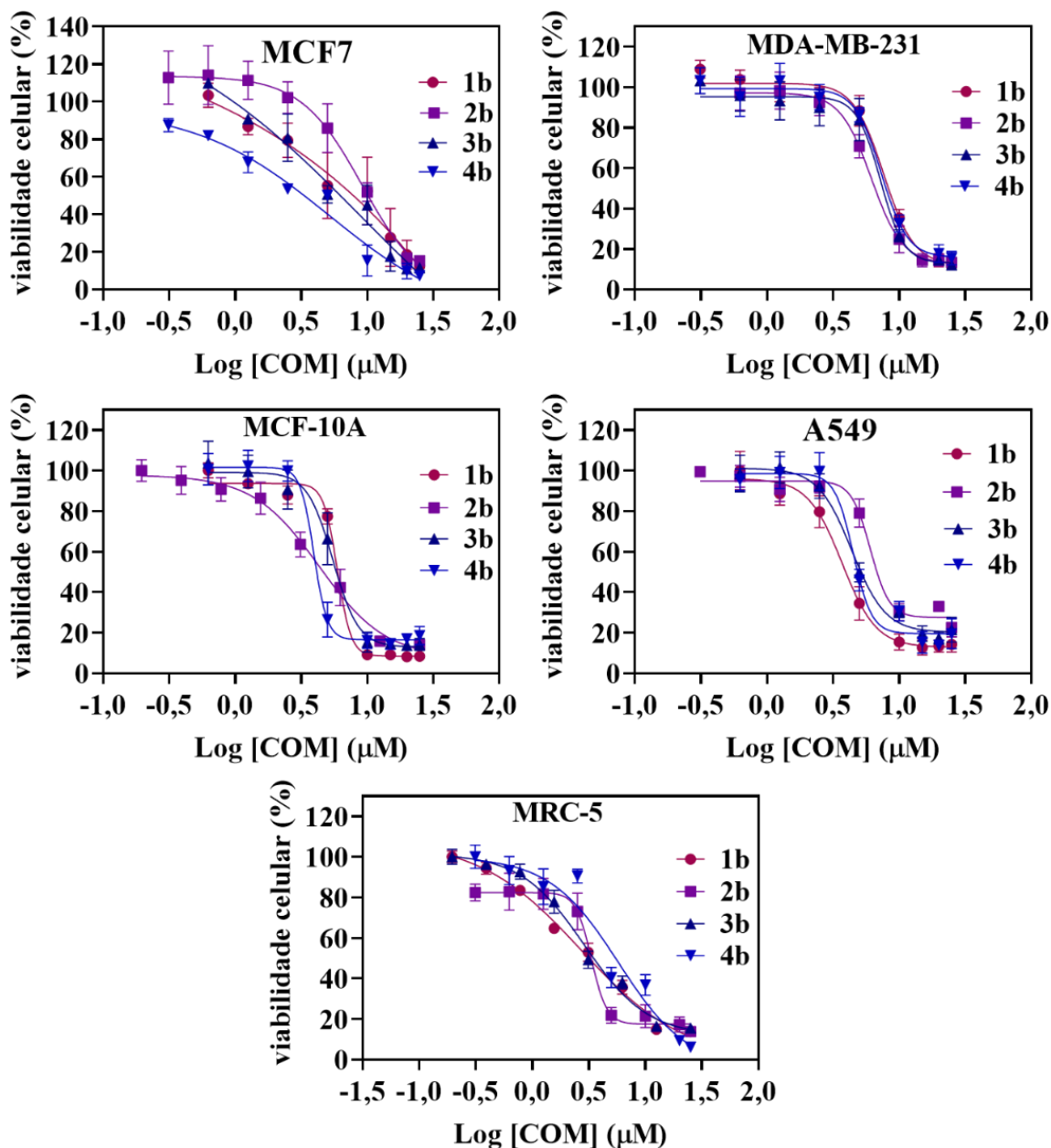


FIGURA A91: Curvas de concentração-resposta das células tumorais (MDA-MB-231, MCF7 e A549) e das células não tumorais (MCF-10A e MRC5) após tratamento com os complexos **1b-4b**, adicionados imediatamente após o preparo das soluções.

Tabelas

TABELA A1: Ângulos de ligação [deg] dos complexos **1**, **2** e **6**.

Ângulos de ligação	Complexos		
	1	2	6
P1–Cu–S1	112,24(3)	110,56(4)	109,68(8)
P1–Cu–P2	118,25(2)	120,00(4)	117,48(7)
P2–Cu–S1	109,20(3)	107,44(4)	111,74(9)
O1–Cu–S1	97,31(5)	95,12(8)	97,34(19)
O1–Cu–P1	110,83(5)	111,52(9)	105,7(2)
O1–Cu–P2	106,87(6)	109,29(9)	112,94(17)

TABELA A2: Ângulos de ligação [deg] dos complexos **1a**, **4a**, **5a** e **6a**.

Ângulos de ligação	Complexos			
	1a	4a	5a	6a
P1–Cu–S1	105,77(3)	118,14(4)	117,84(5)	105,49(3)
P1–Cu–P2	127,58(3)	127,90(4)	123,15(4)	127,16(3)
P2–Cu–S1	114,76(3)	107,02(4)	106,25(4)	114,58(3)
O1–Cu–S1	91,26(6)	89,77(7)	91,63(9)	91,90(6)
O1–Cu–P1	105,21(7)	104,36(7)	103,58(9)	103,87(7)
O1–Cu–P2	105,66(7)	100,24(7)	109,40(10)	107,60(7)

TABELA A3: Dados cristalográficos dos complexos **1**, **2** e **6**.

DADOS	1	2	6
Fórmula Empírica	C ₄₆ H ₄₁ CuN ₂ OP ₂ S	C ₄₈ H ₄₅ CuN ₂ OP ₂ S	C ₄₄ H ₃₉ CuN ₂ O ₂ P ₂ S
Peso Molecular	795,35 g/ mol	823,40 g/ mol	785,31 g/ mol
Temperatura	296,15 K	293 (2) K	293 (2) K
Sistema cristalino	Monoclínico	Triclínico	Monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /n	P-1	P2 ₁ /n
Dimensões da cela unitária	a = 18,1521(3) Å α = 90° b = 10,4320(2) Å β = 94,7520° (5) c = 21,4911(4) Å γ = 90°	a = 12,9075(5) Å α = 82,583° (3) b = 15,0633(6) Å β = 84,832° (3) c = 22,8615(9) Å γ = 76,209° (3)	a = 18,1293(9) Å α = 90° b = 10,4534(7) Å β = 95,210° (5) c = 21,2936(12) Å γ = 90°
Volume	4055,62(13) Å ³	4272,6(3) Å ³	4018,7(4) Å ³
Z	4	4	4
Densidade calculada (ρ_{calc})	1,303 g/cm ³	1,280 g/cm ³	1,298 g/cm ³
Coefficiente de absorção (μ)	0,706 mm ⁻¹	0,673 mm ⁻¹	0,713 mm ⁻¹
F (000)	1656,0	1720,0	1632,0
Tamanho do cristal	0,349 × 0,285 × 0,036 mm ³	0,39 × 0,249 × 0,189 mm ³	0,546 × 0,369 × 0,251 mm ³
Alcance de 2θ para coleta	2,824 a 51,998°	5 a 54,206°	5,472 a 51,494°
Alcance dos índices	-20 ≤ h ≤ 22, -12 ≤ k ≤ 12, -26 ≤ l ≤ 24	-16 ≤ h ≤ 16, -19 ≤ k ≤ 19, -29 ≤ l ≤ 29	-22 ≤ h ≤ 22, -12 ≤ k ≤ 12, -26 ≤ l ≤ 26
Reflexões coletadas	30047	94106	38969
Reflexões independentes	7937[R _{int} = 0,0338, R _{sigma} = 0,0352]	18859[R _{int} = 0,0854, R _{sigma} = 0,0797]	7672[R _{int} = 0,0636, R _{sigma} = 0,0464]
Dados/restrições/parâmetros	7937/0/480	18859/0/995	7672/0/459
Matriz dos mínimos quadrado em F²	1,034	1,037	1,055
Índices R final [I ≥ 2σ (I)]	R ₁ = 0,0389, wR ₂ = 0,0947	R ₁ = 0,0617 wR ₂ = 0,1183	R ₁ = 0,1063, wR ₂ = 0,2714
Índices R final [todos]	R ₁ = 0,0545, wR ₂ = 0,1030	R ₁ = 0,1259, wR ₂ = 0,1544	R ₁ = 0,1368, wR ₂ = 0,3079
Residual máx. e min	0,69 e -0,47 e.Å ⁻³	0,51 e -0,49 e.Å ⁻³	3,54 e -1,55 e.Å ⁻³

TABELA A4: Dados cristalográficos dos complexos **1a**, **4a**, **5a** e **6a**.

DADOS	1a	4a	5a	6a
Fórmula Empírica	C ₄₆ H ₄₂ CuN ₃ O ₄ P ₂ S	C ₅₂ H ₅₄ CuN ₃ O ₄ P ₂ S	C ₄₄ H ₄₀ CuN ₃ O ₄ P ₂ S ₂	C ₄₅ H ₄₄ CuN ₃ O ₆ P ₂ S
Peso Molecular	858,36 g/ mol	942,52 g/ mol	864,39 g/ mol	880,37 g/ mol
Temperatura	293 (2) K	293 (2) K	293 (2) K	296,15 K
Sistema cristalino	Triclínico	Monoclinico	Ortorrômico	Triclínico
Grupo espacial	P-1	C2/c	Pna2 ₁	P-1
Dimensões da cela unitária	a = 13,2775(5) Å α = 64,958° (5) b = 13,9447(7) Å β = 78,704° (4) c = 14,1457(7) Å γ = 69,444° (4)	a = 22,8829(13) Å α = 90° b = 12,9587(6) Å β = 92,507° (4) c = 34,5489(14) Å γ = 90°	a = 16,5412(3) Å α = 90° b = 19,8446(4) Å β = 90° c = 12,8818(4) Å γ = 90°	a = 13,153(4) Å α = 65,422° (11) b = 13,993(4) Å β = 75,882° (11) c = 14,065(4) Å γ = 69,397° (10)
Volume	2218,4(2) Å ³	10235,1(9) Å ³	4228,50(17) Å ³	2189,0(11) Å ³
Z	2	8	4	2
Densidade calculada (ρ_{calc})	1,285 g/cm ³	1,223 g/cm ³	1,358 g/cm ³	1,336 g/cm ³
Coefficiente de absorção (μ)	0,656 mm ⁻¹	0,575 mm ⁻¹	0,736 mm ⁻¹	0,670 mm ⁻¹
F (000)	892,0	3952,0	1792,0	916,0
Tamanho do cristal	0,461 × 0,168 × 0,128 mm ³	0,881 × 0,429 × 0,31 mm ³	0,154 × 0,098 × 0,077 mm ³	0,221 × 0,2 × 0,199 mm ³
Alcance de 2θ para coleta	5,376 a 51,362°	5,114 a 54,202°	5,738 a 51,5°	3,206 a 51,498°
Alcance dos índices	-16 ≤ h ≤ 16, -16 ≤ k ≤ 16, -17 ≤ l ≤ 1	-25 ≤ h ≤ 29, -16 ≤ k ≤ 16, -44 ≤ l ≤ 44	-19 ≤ h ≤ 20, -24 ≤ k ≤ 23, -15 ≤ l ≤ 15	-14 ≤ h ≤ 16, -17 ≤ k ≤ 17, -17 ≤ l ≤ 17
Reflexões coletadas	31441	62514	35649	30544
Reflexões independentes	8413[R _{int} = 0,0351, R _{sigma} = 0,0329]	11271[R _{int} = 0,0487, R _{sigma} = 0,0367]	8036[R _{int} = 0,0452, R _{sigma} = 0,0411]	8154[R _{int} = 0,0498, R _{sigma} = 0,0410]
Dados/restrições/parâmetros	8413/0/543	11271/0/570	8036/1/516	8154/0/527
Matriz dos mínimos quadrado em F²	1,051	1,100	1,033	1,109
Índices R final [I ≥ 2σ (I)]	R ₁ = 0,0437, wR ₂ = 0,1137	R ₁ = 0,0580, wR ₂ = 0,1059	R ₁ = 0,0330, wR ₂ = 0,0738	R ₁ = 0,0436, wR ₂ = 0,1323
Índices R final [todos]	R ₁ = 0,0664, wR ₂ = 0,1321	R ₁ = 0,0974, wR ₂ = 0,1287	R ₁ = 0,0515, wR ₂ = 0,0819	R ₁ = 0,0549, wR ₂ = 0,1534
Residual máx. e min	0,76 e -0,20 e.Å ⁻³	0,46 e -0,35 e.Å ⁻³	0,25 e -0,23 e.Å ⁻³	0,56 e -0,45 e.Å ⁻³

TABELA A5: Comprimentos de ligação (Å) selecionados das estruturas cristalinas dos complexos **2**, **4a**, **5a** e seus respectivos ligantes aciltioureias.

Comprimento de ligação (Å)	Ligantes			Complexos		
	L2	L4	L5	2	4a	5a
Cu(1)–P(1)	–	–	–	2,26429(11)	2,2758(9)	2,2536(12)
Cu(1)–P(2)	–	–	–	2,2500(12)	2,2704(10)	2,2572(10)
Cu(1)–O(1)	–	–	–	2,064(3)	2,243(2)	2,129(3)
Cu(1)–S(1)	–	–	–	2,3303(12)	2,3388(10)	2,3403(12)
C(2)–S(1)	1,6767(12)	1,6843(13)	1,6765(19)	1,720(4)	1,690(3)	1,679(5)
C(2)–N(1)	1,4183(15)	1,4102(16)	1,404(2)	1,346(5)	1,406(4)	1,404(6)
C(1)–O(1)	1,2188(15)	1,2144(15)	1,214(2)	1,256(5)	1,237(4)	1,235(5)
C(1)–N(1)	1,3869(15)	1,3955(16)	1,394(2)	1,317(5)	1,345(4)	1,367(6)

TABELA A6: Composição química do meio de cultura (DMEM) utilizado neste trabalho para o cultivo das células MDA-MB-231, A549 e MRC5.

COMPOSIÇÃO DO MEIO DE CULTURA DMEM VITROCELL			
SAIS INORGÂNICOS	mg/L	L-fenilalanina	32,00
CaCl ₂ ·H ₂ O	264,87	L-prolina	11,50
KCl	400,00	L-serina	10,50
MgSO ₄ ·7H ₂ O	200,00	L-treonina	48,00
NaCl	6.800,00	L-triptofano	10,00
NaHCO ₃	2.200,00	L-tirosina	52,10
NaH ₂ PO ₄ ·H ₂ O	140,00	L-valina	46,00
AMINOÁCIDOS	mg/ L	VITAMINAS	mg/ L
L-alanina	8,90	Pantotenato de cálcio	1,00
L-arginina.HCl	126,00	Cloreto de colina	1,00
L-asparígina	15,00	Ácido fólico	1,00
L-ácido aspártico	13,30	Inositol	2,00
L-cistina	31,29	Nicotinamida	1,00
L-ácido glutâmico	14,70	Piridoxal.HCl	1,00
L-glutamina	292,00	Riboflavina	0,10
Glicina	7,50	Tiamina.HCl	1,00
L-histidina.HCl.H ₂ O	42,00	OUTROS COMPONENTES	mg/ L
L-isoleucina	52,00	Glicose	1.000,00
L-leucina	52,00	Vermelho de fenol	10,00
L-lisina.HCl	72,00	Sulfato de Gentamicina	50,00
L-metionina	15,00	Anfotericina B	25,00

FONTE: Adaptada de http://www.vitrocell.com.br/vitrocell_bulamem.html

TABELA A7: Composição química do meio de cultura (RPMI) utilizado neste trabalho para o cultivo das células MCF7.

COMPOSIÇÃO DO MEIO DE CULTURA RPMI VITROCELL			
SAIS INORGÂNICOS	mg/L	L-prolina	20,00
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	100,00	L-tirosina	28,00
KCl	400,00	L-serina	30,00
MgSO ₄ ·7H ₂ O	100,00	L-valina	20,00
NaCl	6.000,00	L-treonina	20,00
NaHCO ₃	2.000,00	VITAMINAS	mg/ L
Na ₂ HPO ₄	800,00	Biotina	0,200
AMINOÁCIDOS	mg/ L	Pantotenato de cálcio	0,250
L-arginina.HCl	200,00	Cloreto de colina	3,000
L-asparágina.H ₂ O	50,00	Ácido fólico	1,000
L-ácido aspártico	20,00	Inositol	35,000
L-cistina	50,00	Nicotinamida	1,000
L-ácido glutâmico	20,00	Ácido p-aminobenzóico	1,000
L-glutamina	300,00	Piridoxina.HCl	1,000
Glicina	10,00	Riboflavina	0,200
L-histidina.HCl.H ₂ O	15,00	Tiamina.HCl	1,000
L-hidroxiprolina	20,00	Vitamina B12	0,005
L-isoleucina	50,00	OUTROS COMPONENTES	mg/ L
L-leucina	50,00	Glicose	2.000,00
L-lisina.HCl	40,00	Vermelho de fenol	5,00
L-metionina	15,00	Sulfato de Gentamicina	50,00
L-fenilalanina	15,00	Anfotericina B	25,00
L-triptofano	5,00	Glutationa	1,00

FONTE: Adaptada de http://www.vitrocell.com.br/vitrocell_bularpmi.html

TABELA A8: Dados cristalográficos dos complexos **1b** e **2b**.

DADOS	1b	2b		
Fórmula Empírica	C ₄₆ H ₃₅ CuO ₃ P ₂	C ₅₁ H ₄₃ CuO ₃ P ₂		
Peso Molecular	761.22 g/ mol	829.33 g/ mol		
Temperatura	293(2)K	293 (2) K		
Sistema cristalino	Triclínico	Monoclínico		
Grupo espacial	P-1	C2/c		
Dimensões da cela unitária	a = 11,0338(3) Å	α = 81,615(2) °	a = 33,7146(7) Å	α = 90°
	b = 13,0129(4) Å	β = 81,377(2) °	b = 10,3104(2) Å	β = 93,374(2)°
	c = 13,0135(4) Å	γ = 86,994(2) °	c = 24,1716(5) Å	γ = 90°
Volume	1826,74(9) Å ³	8387.8(3) Å ³		
Z	2	8		
Densidade calculada (ρ _{calc})	1,384 g/cm ³	1.313 g/cm ³		
Coefficiente de absorção (μ)	0,728 mm ⁻¹	0.640 mm ⁻¹		
F (000)	788,0	3456.0		
Tamanho do cristal	0,18 × 0,08 × 0,08 mm ³	0,28 × 0,16 × 0,14 mm ³		
Alcance de 2θ para coleta	5,256 a 61,014 °	5,29 a 55,752°		
Alcance dos índices	-15 ≤ h ≤ 15, -18 ≤ k ≤ 18, -18 ≤ l ≤ 18	-44 ≤ h ≤ 44, -13 ≤ k ≤ 13, -31 ≤ l ≤ 31		
Reflexões coletadas	51556	82100		
Reflexões independentes	11133 [R _{int} = 0,0328, R _{sigma} = 0,0261]	10004 [R _{int} = 0,0408, R _{sigma} = 0,0254]		
Dados/restrições/parâmetros	11133/0/469	10004/4/566		
Matriz dos mínimos quadrado em F ²	1,044	1,060		
Índices R final [I >= 2σ (I)]	R ₁ = 0,0348, wR ₂ = 0,0821	R ₁ = 0,0386, wR ₂ = 0,0891		
Índices R final [todos]	R ₁ = 0,0571, wR ₂ = 0,0951	R ₁ = 0,0605, wR ₂ = 0,1031		
Residual máx. e min	0,33/-0,32e.Å ⁻³	0,36/-0,34e.Å ⁻³		