# 5 Resultados e discussão – parte 2: Caracterização dos complexos de Cu(II) com H*L1* e H*L2*

# 5.1 Métodos de caracterização dos complexos de cobre(II)



Figura 36. Complexos de cobre(II) com os ligantes HL1 (1, esquerda) e HL2 (2, direita).

Os complexos  $[Cu_2(\mu-L1)_2(HL1)(ClO_4)_2(OH_2)]\cdot 2H_2O$  (1) e  $[CuCl_2(L2)_2]$  (2) foram caracterizados por meio de técnicas como análise elementar de CHN, espectroscopia vibracional nas regiões do infravermelho médio e afastado e ressonância paramagnética eletrônica, aliadas a ensaios de condutividade, testes de solubilidade e, para o complexo 2, também análise termogravimétrica, o que não foi possível para o complexo 1 dado o caráter fortemente oxidante do perclorato. O composto 1 teve ainda a sua estrutura determinada por difração de raios X em monocristal. Os resultados obtidos são discutidos na sequência, com exceção dos dados de CHN, já reportados na parte experimental deste trabalho.

Testes biológicos com as linhagens tumorais leucêmicas U937 e THP-1 e também em células sadias do tipo PBMC foram realizados a fim de verificar uma possível atividade antitumoral.

O complexo **1** mostrou-se solúvel em metanol, a quente, e dimetilsulfóxido e dimetilformamida, à temperatura ambiente. O complexo **2**, por sua vez, apresentou gama de solubilidade ainda mais restrita, sendo apenas solúvel em dimetilsulfóxido e dimetilformamida, também à temperatura ambiente.

Para síntese do complexo **1**, foi utilizado perclorato de cobre(II) hexaidratado como sal de partida, tendo sido isolado um monocristal. Já o ligante H*L2* mostrou-se inerte frente a este sal de cobre, de modo que o mesmo foi substituído por cloreto de cobre(II) diidratado, dando origem a um sólido policristalino.

# 5.1.1 Estrutura cristalina de $[Cu_2(\mu-L1)_2(HL1)(CIO_4)_2(OH_2)]\cdot 2H_2O$

Na Figura 37, é apresentada a estrutura cristalina do complexo de cobre(II) do ligante H*L*1,  $[Cu_2(\mu - L1)_2(HL1)(ClO_4)_2(OH_2)]\cdot 2H_2O$  (1). Em seguida, são apresentados, na Tabela 7, alguns dados do cristal utilizado e outros relacionados com a coleta e o refinamento da estrutura. Algumas distâncias e ângulos de ligação selecionados são descritos nas Tabelas 8 e 9.



**Figura 37.** ORTEP do complexo binuclear de cobre  $[Cu_2(\mu - L1)_2(HL1)(ClO_4)_2(OH_2)]\cdot 2H_2O$ (1). Todos os átomos de hidrogênio foram omitidos por motivos de simplificação.

Fórmula empírica	$C_{27} \ H_{28} \ O_{14} \ N_{12} \ Cl_2 \ Cu_2$	
Massa fórmula	942,59 g mol⁻¹	
Temperatura de coleta	173(2) K	
Sistema cristalino	Monoclínico	
Grupo espacial	P 2 <sub>1</sub> /n	
	a = 15,6216(6) Å	α=90°
Dimensões de cela unitária	b = 12,4812(5) Å	β= 102,732(2)°
	c = 19,3780(8) Å	$\gamma = 90^{\circ}$
Volume da cela	3685,3(3) Å <sup>3</sup>	
Ζ	4	
Densidade (calculada)	1,699 g cm <sup>3</sup>	
Tamanho do cristal utilizado	0,24 x 0,16 x 0,04 mm <sup>3</sup>	
Coeficiente de absorção	1,382 mm <sup>-1</sup>	
F(000)	1.912	
Reflexões coletadas	44.460	
Reflexões independentes	11.722 [R(int) = 0,0515]	
Dados/ restrições / parâmetros	11.722 / 0 / 514	
"Goodness-of-fit on F <sup>2</sup> "	1,059	
"Theta range"	1,96 a 31,00°	
Variação dos índices	-22<=h<=18, -15<=k<=18,	
	-23<=l<=28	
'Completeness to theta = 31,00°"	99,9%	
Transmissões máx. e mín.	0,9468 e 0,7327	
Índices R finais [I> $2\sigma$ (I)]	R1 = 0,0634, wR2 = 0,1410	
Índices R (todos os dados)	R1 = 0,1249, wR2 = 0,1667	

 Tabela 7. Dados do cristal e refinamento da estrutura para o complexo binuclear de cobre(II), 1

A estrutura cristalina de **1** mostra um complexo binuclear, neutro, com os dois centros cúpricos exibindo ambientes de coordenação completamente distintos, e três moléculas do ligante, dentre as quais duas na forma desprotonada  $L1^{-}$ . Os ligantes exibem modos de coordenação diversos, sendo que aqueles que perderam o próton se comportam como pontes entre os metais.

Um dos núcleos metálicos (Cu1) exibe NC=5 e está coordenado por dois íons *L1*<sup>-</sup>, que atuam como ligantes bidentados, ocupando as posições equatoriais de uma pirâmide de base quadrada, geometria que foi proposta de acordo com a definição de Addison *et al.*, [114] descrita para compostos pentacoordenados

( $\tau$ =0,17). O modo de coordenação destes ligantes, porém, é diferente: enquanto um deles liga-se ao metal através de um sistema N,N constituído pelo nitrogênio triazólico N23 e o nitrogênio da oxima N27, o outro o faz através do sistema N,O constituído pelo nitrogênio triazólico N3 e o oxigênio da oxima, O8. No primeiro caso, um anel quelato de cinco membros é formado; já no segundo, o anel formado é menos rígido, possuindo seis membros. Uma molécula de água, através do oxigênio O1W, cuja distância de ligação ao centro metálico é mais alongada que as demais (Cu1–O1W = 2,212 Å), ocupa a posição apical.

O segundo centro metálico (Cu2) é hexacoordenado e interage covalentemente com todos os três ligantes. Os dois ligantes desprotonados ligam-se a Cu2 de maneira monodentada, através dos seus respectivos oxigênios oxímicos, O8 e O28. O plano equatorial é completado pelo terceiro ligante, protonado, que complexa o metal de forma bidentada pelos nitrogênios N43 (triazólico) e N47 (da oxima). As distâncias e ângulos de ligação apontam para uma geometria tetragonal distorcida, em que dois íons perclorato fecham a esfera de coordenação do cobre e conferem neutralidade elétrica à estrutura.

Compõem ainda o arranjo cristalino duas moléculas de água de cristalização (não mostradas na Figura 37).

/ Å \

<b>Tabela 4</b> <i>L1</i> ) <sub>2</sub> (H <i>L1</i> )(0	B. Cio	Comprimentos <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (OH <sub>2</sub> )]·2H <sub>2</sub> O	de	ligação	selecionados	(Å)	para	[Cu <sub>2</sub> (μ
		Cu1–N	3		1,92	25(3)		
		Cu1–O	8		1,90	65(2)		
		Cu1–N2	27		1,99	93(3)		
		Cu1–N2	23		2,01	11(3)		
		Cu1–O1	W		2,2	12(3)		
		Cu2-02	28		1,92	24(3)		
		Cu2–C	8		1,94	41(3)		
		Cu2–N4	43		2,00	02(3)		
		Cu2–N4	47		2,0	51(3)		
		Cu2–O	1P		2,44	47(3)		
		Cu1–Cu	J2		2,44	47(3)		

N3–Cu1–O8	91,58(11)
N3-Cu1-N27	171,59(14)
O8–Cu1–N27	86,55(11)
N3-Cu1-N23	99,00(13)
O8–Cu1–N23	161,55(13)
N27-Cu1-N23	80,78(13)
N3–Cu1–O1W	96,03(13)
O8–Cu1–O1W	97,59(11)
N27-Cu1-O1W	92,34(12)
N23-Cu1-O1W	96,29(12)
O28–Cu2–O8	92,28(11)
O28–Cu2–N43	88,91(12)
O8–Cu2–N43	177,15(13)
O28–Cu2–N47	166,77(13)
O8–Cu2–N47	100,05(12)
N43-Cu2-N47	78,99(12)
O28-Cu2-O1P	92,86(12)
08-Cu2-01P	88,45(12)
N43-Cu2-O1P	88,90(12)
N47-Cu2-O1P	92,25(12)
O28-Cu2-O5P	96,85(14)
08–Cu2–O5P	92,69(15)
N43-Cu2-O5P	89,74(16)
N47-Cu2-O5P	77,93(14)
01P-Cu2-05P	170,17(12)
Cu2–O8–Cu1	117,89(12)

**Tabela 9.** Ângulos (°) de ligação selecionados para [Cu<sub>2</sub>(*μ*-*L*1)<sub>2</sub>(H*L*1)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)]·2H<sub>2</sub>O

Cada cela unitária é composta por quatro unidades idênticas do complexo. O empacotamento cristalino estabilizado por ligações de hidrogênio intra e intermoleculares está representado na Figura 38. A Tabela 10 enumera todas as interações desse tipo presentes na estrutura.



**Figura 38.** Empacotamento cristalino de  $[Cu_2(\mu - L1)_2(HL1)(CIO_4)_2(OH_2)]\cdot 2H_2O$ , mostrando as interações de hidrogênio intra e intermoleculares.

D–H…A	d(D–H)	d(H…A) [Å]	d(D…A)	<(DHA) [°]
O1W–H(1WA)…O2W	0,74	1,97	2,677(4)	159
O1W–H(1WB)····O4P	0,78	2,19	2,923(4)	157
O48–H(48)…N7	0,85	1,83	2,627(4)	155
O2W–H(2WA)····O(7P) <sup>#1</sup>	0,91	2,06	2,971(6)	176
O2W–H(2WB)····O3W	0,90	1,99	2,762(5)	143
O3W–H(3WA)····O(28) <sup>#2</sup>	0,91	2,14	3,029(5)	165
O3W–H(3WB)…O(6P) <sup>#2</sup>	0,88	2,34	2,998(5)	132

Tabela 10. Ligações de H presentes no cristal de [Cu<sub>2</sub>(µ-L1)<sub>2</sub>(HL1)(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(OH<sub>2</sub>)]·2H<sub>2</sub>O

Transformações de simetria usadas para gerar átomos equivalentes:

#1 x+1/2,-y+3/2,z+1/2 #2 -x+1,-y+2,-z

# 5.1.2 Espectroscopia vibracional

Os espectros vibracionais obtidos na região do infravermelho médio dos compostos 1 e 2 encontram-se representados nas Figuras 39 e 40. Um comparativo entre os espectros vibracionais dos dois compostos e seus respectivos ligantes livres, na região do infravermelho afastado, pode ser observado nas Figuras 41 e 42. As características espectrais dos complexos são similares àquelas observadas para os respectivos ligantes livres, indicando a presença destes nos compostos. Entretanto, algumas bandas desapareceram ou foram deslocadas em função da coordenação ao metal. No caso de 1, também podem ser observadas absorções características do íon perclorato coordenado. As bandas associadas aos modos vibracionais da esfera de coordenação do cobre podem ser observadas na região do infravermelho afastado. Na sequência, é apresentada a lista completa de todas as absorções referentes a esses compostos de coordenação. As Tabelas 11 e 12 trazem um comparativo entre as principais bandas observadas no espectro dos complexos 1 e 2 do seus respectivos ligantes livres, seguidas por uma breve discussão sobre as principais mudanças espectrais observadas.

(F) banda forte; (m) banda média; (f) banda fraca; (o) ombro

#### Infravermelho médio

**Complexo 1 (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 3427 (m), 3280 (o), 3123 (m), 3068 (m), 2918 (o), 1616 (o), 1596 (m), 1523 (m), 1498 (m), 1468 (m), 1421 (f), 1345 (f), 1275 (m), 1223 (f), 1196 (m), 1142 (F), 1110 (F), 1090 (F), 992 (m), 919 (f), 880 (m), 845 (m), 764 (m), 730 (f), 688 (m), 627 (m), 557 (m), 508 (f), 465 (f).

**Complexo 2 (KBr, cm<sup>-1</sup>):** 3206 (F), 3160 (F), 3096 (m), 3051 (m), 2995 (o), 2924 (f), 2849 (m), 2768 (f), 1667 (m), 1595 (m), 1491 (F), 1465 (m), 1436 (F), 1419 (f), 1373 (m), 1339 (m), 1290 (m), 1233 (m), 1203 (f), 1070 (m), 1037 (F), 985 (F), 974 (F), 910 (m), 885 (m), 847 (F), 808 (o), 753 (F), 712 (m), 696 (m), 672 (F), 628 (o), 583 (m), 531 (m), 507 (m), 485 (m), 459 (f), 434 (f), 409 (f).



Figura 39. Espectro na região do IV médio do complexo 1 (amostragem: pastilha de KBr).

**Tabela 11.** Comparação entre as bandas do espectro de HL1 livre e seu respectivo complexo 1

Atribuição	H <i>L1</i> (cm <sup>-1</sup> )	Complexo <b>1</b> (cm <sup>-1</sup> )
ν(O–H) <sub>água</sub>	-	3427
ν(O–H) <sub>oxima</sub>	3215	3280
v(C=N) <sub>oxima</sub>	1650	1616
$v(C=C)_{triazol} + v(N=C-C)$	1542	1523
v(C-N) + v(N=N)	1426	1421
ν( <b>N=</b> N)	1251	1223
v(CI–O) <sub>perclorato</sub>	-	1110, 1090
δ(C-N=N)	1053	-

Observa-se o deslocamento, para maiores frequências, da banda referente ao modo de estiramento  $v(O-H)_{oxima}$ , o qual aparece, no espectro do

complexo, como um ombro centrado em 3280 cm<sup>-1</sup>. Esta banda se refere à hidroxila do único ligante que permanece protonado após a complexação. Ao lado deste ombro, aparece uma nova absorção de média intensidade em 3427 cm<sup>-1</sup>, referente aos estiramentos O–H das moléculas de água de coordenação e hidratação presentes na estrutura de **1**.

O modo relacionado ao estiramento v(C=N) das oximas também encontra-se deslocado; neste caso, para menores frequências, o que sugere o envolvimento deste nitrogênio na coordenação. A banda correspondente ao estiramento v(N=N) do triazol é igualmente afetada, sendo observada, no espectro do complexo, em 1223 cm<sup>-1</sup>, o que indica que a coordenação também envolve o anel triazólico.

Uma banda intensa é observada na região próxima a 1100 cm<sup>-1</sup>, a qual está relacionada à vibração de estiramento v(Cl–O) do grupo perclorato. O desdobramento desta banda em duas absorções, em 1110 e 1090 cm<sup>-1</sup>, é característico do modo de coordenação monodentado ao cobre observado na estrutura cristalina. A presença de uma banda média em 627 cm<sup>-1</sup> é um claro indicativo da interação entre o oxigênio do perclorato e o cátion metálico. [115]



Figura 40. Espectro na região do IV médio do complexo 2 (amostragem: pastilha de KBr).

Atribuição	H <i>L2</i> (cm <sup>-1</sup> )	Complexo <b>2</b> (cm <sup>-1</sup> )
ν(O–H)	3265	3206
v(C=N) <sub>oxima</sub>	1663	1667
v(C=N) <sub>triazol</sub>	1446	1436
ν <b>(N–N–N)</b>	1231	1233
ν(N–O)	968	910

**Tabela 12.** Comparação entre as bandas do espectro de HL2 livre e seu respectivo complexo 2

A ligação C=N do grupamento oxima parece não ser afetada pela presença do íon metálico em 2, visto que não houve deslocamento da absorção correspondente ao modo v(C=N)<sub>oxima</sub>. Contudo, a banda de estiramento v(N–O) é deslocada de ~60 cm<sup>-1</sup> para região de menores frequências, o que é um indício de que, neste caso, o oxigênio do grupo é o átomo doador. Por outro lado, apesar de não ter sido observado um deslocamento da absorção de estiramento v(N–N), os demais modos vibracionais associados ao anel triazólico são deslocados para região de menores frequências, sugerindo que o cobre também está complexado pelo nitrogênio do heterociclo.

#### Infravermelho afastado

**Complexo 1 (polietileno, cm<sup>-1</sup>):** 687 (m), 624 (F), 559 (F), 505 (F), 473 (o), 422 (f), 401 (o), 325 (f), 216 (m) 120 (f), 95 (f), 77 (f) 51 (f).

**Complexo 2 (polietileno, cm<sup>-1</sup>):** 698 (m), 671 (F), 584 (F), 531 (m), 507 (m), 484 (m), 394 (m), 322 (f), 270 (F), 233 (F), 191 (f), 177 (o), 154 (m), 89 (F), 43 (f).



**Figura 41.** Comparativo entre os espectros de H*L1* e do complexo **1** na região do IV afastado (amostragem: polietileno).



**Figura 42.** Comparativo entre os espectros de H*L*2 e do complexo **2** na região do IV afastado (amostragem: polietileno).

No espectro IV afastado de **1**, há o surgimento de novas absorções associadas aos modos vibracionais envolvendo a esfera de coordenação do metal. Em 624 cm<sup>-1</sup>, é observada uma banda intensa atribuída ao estiramento  $v(Cu-O)_{perclorato}$ . Devido a diferenças químicas entre os nitrogênios triazólico e da oxima, a vibração v(Cu-N) dá origem a duas bandas bastante afastadas, em 559 e 505 cm<sup>-1</sup>, associadas aos modos  $v(Cu-N)_{oxima}$  e  $v(Cu-N)_{triazol}$ , respectivamente.

No espectro do complexo **2** o estiramento v(Cu–Cl) dá origem a um par de bandas observadas em 270 e 233 cm<sup>-1</sup>, associadas, respectivamente, aos seus modos assimétrico e simétrico. Este padrão de absorção é um indicativo de que os cloretos estão coordenados em uma configuração relativa *cis*. Em 89 cm<sup>-1</sup>, é observada outra banda relacionada aos cloretos. Absorção em posição semelhante foi descrita por Goldstein e colaboradores, sendo atribuída a um modo Cu-halogênio de deformação angular fora do plano. [116] O modo de estiramento v(Cu–N)<sub>triazol</sub>, por sua vez, dá origem a uma única absorção, presente em 484 cm<sup>-1</sup>, sugerindo que os nitrogênios estão em posições relativas *trans*. A banda v(Cu–O), centrada em 584 cm<sup>-1</sup>, tem a sua base bastante alargada, o que sugere a sobreposição de mais de uma absorção. Isto pode indicar que os oxigênios do ligante H*L*2, assim como os cloretos, orientam-se em uma configuração relativa *cis* na esfera de coordenação do centro metálico.

#### 5.1.3 Análise termogravimétrica

A curva termogravimétrica do complexo **2** pode ser vista na Figura 43 abaixo, a partir da qual é possível afirmar que o complexo não possui solvente de hidratação em sua estrutura.



**Figura 43.** Curva termogravimétrica (TG, vermelho) e primeira derivada (DTG, azul) do complexo **2** em atmosfera de nitrogênio, sob taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup>.

O complexo 2 conserva o mesmo número de etapas do ligante livre, porém os fragmentos gerados são menores, devido a coordenação que faz com que o ligante fique mais preso, que se decompõem rapidamente, de modo que nenhum fragmento estável foi formado. O início da primeira etapa de perda, correspondente a 59,5% da massa total, é verificado próximo a 19°C, com máximo em 220°C, e se estende até 290°C, onde já tem início a segunda e última etapa de decomposição, esta prossegue até o fim da faixa de temperatura considerada, sendo correspondente a 24,0% de sua massa. Não foi verificada estabilização da curva dentro do intervalo de temperatura estudado. Não foram feitas atribuições para os fragmentos formados, fazendo-se necessário técnicas complementares.

Observação: Não foi possível obter a curva TG do complexo de Cu(II) com HL1 devido ao caráter potencialmente explosivo do íon perclorato.

# 5.1.4 Medida da condutividade

A condutividade molar dos compostos em estudo foi medida a partir de uma solução 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> em dimetilformamida (DMF). A dimetilformamida é um solvente com constante dielétrica intermediária e com grande capacidade doadora de elétrons, de modo que este pode vir a deslocar ligantes da esfera de coordenação do metal.

Os parâmetros de condutividade molar encontrados para os complexos **1** e **2** foram iguais 97 e 30 ohm<sup>-1</sup> cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>, respectivamente, o que, com base em revisão bibliográfica recente, na qual também foi feito um comparativo com a revisão realizada por Geary, 1971, [117, 118] sugere que o complexo **1** é um eletrólito do tipo 2:1, o que provavelmente se deve à solvólise dos percloratos coordenados, visto que estes são ligantes fracos. O complexo **2**, por sua vez, comporta-se como um não-eletrólito.

A fim de proceder com estudos de cinética de substituição dos ligantes, nova medida da condutividade foi realizada após uma semana em DMF. Os novos valores encontrados, 70 e 92,5 ohm<sup>-1</sup> cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup> para os complexos **1** e **2**, respectivamente, permitem supor que os complexos não são estáveis em solução do referido solvente. O complexo **1** passa a se comportar como eletrólito do tipo 1:1, já o complexo **2** passa a exibir condutividade compatível a um eletrólito do tipo 2:1, possivelmente devido à gradual substituição dos cloretos coordenados por moléculas de DMF.

# 5.1.5 Ressonância paramagnética eletrônica

Os estudos de EPR dos complexos de cobre(II) foram realizados com as amostras no estado sólido, à temperatura ambiente (298 K). As Figuras 44 e 45 apresentam os espectros de **1** e **2**, respectivamente.



**Figura 44.** Espectro de EPR experimental (em preto) e simulado (vermelho) para o complexo **1**. A simulação só foi possível através da consideração de dois componentes distintos (em tons de azul). Amostra no estado sólido, temperatura ambiente.



**Figura 45.** Espectro de EPR experimental (em preto) e simulado (vermelho) para o complexo **2**. Amostra no estado sólido, temperatura ambiente.

Para 1, a simulação só é possível com a soma de duas componentes, indicando a presença de dois centros distintos de cobre(II), como evidenciado na análise estrutural por difração de raios X. Ambas as componentes puderam ser

simuladas com apenas dois valores de g diferentes (2,06 e 2,28 para a primeira e 2,08 e 2,24 para a segunda). Essas componentes apresentam desdobramento hiperfino na região paralela, indicando ausência de interação de troca, e um sinal axial cujos valores de g indicam que o estado fundamental é  $d_x^2 - y^2$  pois,  $g_{\parallel} > g_{\perp}$ . Já o composto **2** é simulado com três valores diferentes de g (2,04; 2,08 e 2,26), o que tende mais para uma simetria rômbica, embora os dois primeiros valores de g sejam bem próximos, sugerindo que a simetria se aproxima muito da axial também neste caso.

# 5.1.6 Modelagem computacional

Como para o complexo 2 não foi possível obter estrutura cristalina, este foi então submetido a cálculos de modelagem computacional com o objetivo de auxiliar em sua proposição estrutural. Os parâmetros vibracionais teóricos, assim como sua estrutura otimizada foram obtidos utilizando teoria do funcional da densidade e o conjunto de bases 6-31G no funcional B3LYP, [113] tendo sido aplicado fator de correção, 0,962, correspondente. [107] A mesma abordagem empregada aos ligantes, na qual foi estabelecido um comparativo entre os dados teóricos e experimentais, foi aplicada ao complexo 2, de modo a permitir um estudo espectroscópico mais detalhado. A estrutura do complexo foi proposta com base nos diversos meios de caracterização a que este foi submetido, levando em consideração a minimização das repulsões entre os átomos.

É importante salientar que no cálculo teórico o complexo é simulado no vácuo, condição na qual são desprezadas possíveis interações de natureza intra e intermolecular, que comumente ocorrem em fase sólida.

A conformação mais estável encontrada para o complexo **2** e sua esfera de coordenação primária estão representadas nas Figuras 46 e 47 abaixo. Na sequência, é apresentado um comparativo entre os espectros vibracional e teórico do composto na Tabela 13, acompanhado das distâncias interatômicas e ângulos de ligação dos átomos que compõem a esfera de coordenação do metal, representados nas Tabelas 14 e 15, respectivamente.



**Figura 46.** Estrutura em fase gás para o complexo **2** (nível teórico B3LYP/6-31G), visão frontal (1), visão superior (2), visão lateral (3).



Figura 47. Esfera de coordenação primária do complexo 2 com átomos numerados.

Atribuição	Valor experimental (cm <sup>-1</sup> )	Valor teórico (cm <sup>-1</sup> )
ν(O_H)	3206	3503
ν <b>(C=N)</b> <sub>oxima</sub>	1667	1645
v(C=N) <sub>triazol</sub>	1436	1473
∨(N–N–N)	1233	1221
ν <b>(N–O)</b>	910	830
v(Cu–O)	584	503
v(Cu–N) <sub>triazol</sub>	484	458

Tabela 13. Principais bandas no IV, experimentais e teóricas, para o complexo 2

**Tabela 14.** Distâncias interatômicas calculadas para os átomos envolvidos na esfera decoordenação primária do complexo 2

Lineção	Distâncias interatômicas
Ligação	(Å)
Cu1–Cl1	2,29
Cu1–Cl2	2,29
Cu1–O1	2,07
Cu1–O2	2,07
Cu1–N1	2,62
Cu1–N2	2,65

Ligação	Ângulos (º)
CI1-Cu1-CI2	100,77
O2–Cu1–N2	70,82
O1–Cu1–N1	71,20
O1-Cu1-O2	71,81
N1-Cu1-O2	73,54
N1–Cu1–Cl1	88,81
N2-Cu1-Cl2	88,54
N2-Cu1-O1	72,72
O1–Cu1–Cl1	93,53
Cl1–Cu1–O2	161,49
Cl2-Cu1-O1	160,54
N1-Cu1-N2	134,08
N2–Cu1–Cl1	120,96
N1-Cu1-Cl2	121,79
Cl2–Cu1–O1	160,55

**Tabela 15.** Principais ângulos de ligação calculados para os átomos que compõem aesfera de coordenação primária do complexo 2

Como já esperado, as vibrações teóricas envolvendo átomos de oxigênio apresentaram diferenças significantes em relação aos valores experimentais correspondentes, visto que, conforme mencionado anteriormente não são levadas em conta a existência de interações de hidrogênio. As demais absorções apresentaram correspondência satisfatória com o espectro experimental, de modo que é possível afirmar que a estrutura obtida após a otimização descreve adequadamente o sistema em estudo.

Os ângulos de ligação observados sugerem que a esfera de coordenação primária do centro cúprico apresenta geometria aproximadamente octaédrica (Figura 48), na qual cloretos e oxigênios seguem configuração *cis* enquanto os nitrogênios triazólicos posicionam-se em posição *trans* em relação ao centro

metálico. Desvios são observados quando aos ângulos de ligação entre os átomos em comparação aos valores esperados para esta geometria, também foi verificada distorção no eixo da ligação N(1)–Cu(1)–N(2), que aparece mais alongado que os demais eixos.



**Figura 48.** Visão poliédrica mostrando a geometria aproximadamente octaédrica em torno do centro metálico, sob diferentes perspectivas. Átomos representados: cloro em verde, nitrogênio em azul, centro de cobre(II) como um octaedro distorcido laranja.

## 5.1.7 Avaliação do efeito dos compostos na viabilidade celular por metabolização do MTT

Como screening inicial, as viabilidades de linhagens tumorais leucêmicas, U937 e THP-1, foram avaliadas após tratamento com os complexos 1 e 2, e também o ligante HL1, no tempo de 36 h. Todos os compostos testados foram capazes de reduzir a viabilidade celular, como pode ser observado na Figura 49. O ligante HL1 apresentou toxicidade moderada, reduzindo a viabilidade em 35% na maior concentração testada para ambas as linhagens. Os complexos, por sua vez, foram capazes de reduzir a viabilidade das linhagens U937 e THP-1 de maneira mais efetiva que HL1. O perfil de atividade frente às células U937 foi semelhante para 1 e 2. Entretanto, o composto 1 foi duas vezes mais ativo que 2contra a linhagem celular THP-1, motivo pelo qual decidiu-se aprofundar mais a investigação deste complexo e do seu ligante livre.



**Figura 49.** Efeito citotóxico do complexo 1, ligante H*L1* e complexo 2 frente às células leucêmicas U937 e THP-1, após 36 horas de incubação. A avaliação foi feita através do ensaio colorimétrico utilizando MTT. Controle de viabilidade com DMSO.

Para se avaliar a toxicidade do complexo **1** e do seu ligante livre H*L1* em células normais (Figura 50), células mononucleares do sangue periférico (PBMC) de indivíduos saudáveis foram incubadas com esses compostos durante 36 h. O complexo **1** foi 23% mais tóxico para a linhagem leucêmica THP-1 do que para as células normais PBMC. Por sua vez, frente às células U937, a toxicidade de **1** foi 10% maior do que frente às células normais. Já o ligante não foi tóxico para as PBMC em nenhuma das concentrações testadas (até 400  $\mu$ M), o que é até certo ponto interessante, pois, em concentrações de 400  $\mu$ M, H*L1* é capaz de reduzir a viabilidade das linhagens U937 e THP-1 em aproximadamente 30%.



**Figura 50.** Efeito citotóxico do complexo **1** e do ligante H*L1* frente às células humanas mononucleares do sangue periférico (PBMC), após 36 horas de incubação. A avaliação foi feita através do microensaio colorimétrico utilizando MTT.

Para efeito de uma melhor comparação da atividade dos compostos nas diferentes células testadas, foi calculada, com base no teste de viabilidade, a dose efetiva 50% (concentração dos compostos capaz de induzir morte em 50% das células tratadas). Os valores da EC<sub>50</sub> do fármaco padrão cisplatina também foram incluídos na Tabela 16 para fins de comparação. A EC<sub>50</sub> foi determinada utilizando o programa GraphPad Prism versão 5.0 através da curva de regressão não linear, a partir dos dados apresentados nas Figuras 49 e 50.

Células	Compostos			
	1	H <i>L1</i>	2	cisplatina
U937	155 ± 1	>400	153 ± 1	$16\pm1$
THP-1	133 ± 1	>400	266 ± 1	$29 \pm 1$
PBMC	173 ± 1	>400	-	$44\pm1$

**Tabela 16.** Valores de EC<sub>50</sub> para os compostos de cobre(II), o ligante H*L1* e a cisplatina frente às linhagens celulares U937, THP-1 e PBMC. Os valores são dados em  $\mu$ M e o desvio-padrão é também incluído

Apesar da menor atividade, quando comparada àquela da cisplatina, de **1** contra as linhagens tumorais testadas, o complexo mostrou-se cerca de 4 vezes menos tóxico para as células sadias do tipo PBMC que o padrão considerado.

## 5.1.8 Avaliação da externalização de fosfatidilserina (marcação com Anexina V e lodeto de Propídio)

A fim de se determinar qual o processo de morte observado pelo teste de viabilidade celular, ambas as linhagens neoplásicas foram submetidas a dupla marcação com Anexina V e PI (lodeto de Propídio). As células U937 e THP-1 foram tratadas apenas com o complexo 1 (200 e 400 μM) pelo fato de este ter se mostrado mais ativo, e também com a cisplatina (50 μM), para fins comparativos. Após 24 h de incubação, as células foram marcadas e analisadas no citômetro de fluxo. Células em apoptose primária são marcadas apenas com anexina V. Células em apoptose tardia (apoptose-necrose) são marcadas com Anexina V e PI. Células em necrose são marcadas somente com PI e células "sadias", isto é, não afetadas pelo complexo, não sofrem nenhum tipo de marcação.

As Figuras 51 e 52 revelam que **1** foi capaz de induzir apoptose nas linhagens leucêmicas de maneira concentração-dependente. Para a linhagem U937 (Figura 51), 400 µM do complexo **1** foram capazes de induzir 90,3% de morte celular por apoptose, atingindo valores equivalentes àqueles do fármaco cisplatina, 89,3%, na concentração de 50 µM. Talvez mais importante seja o fato de o mecanismo de morte celular disparado pelo complexo **1** ser mais rápido do que o mecanismo induzido por cisplatina, já que, após 24 de incubação, 84,6% das células tratadas com **1** encontram-se em apoptose tardia, enquanto somente 14,3% das células tratadas com cisplatina são observadas nesse estágio.



**Figura 51**. Porcentagem de morte celular por necrose (quadrante A), apoptose tardia (quadrante B) e apoptose primária (quadrante D), induzida por cisplatina e pelo composto 1 na linhagem leucêmica U937 após 24 horas de incubação. O quadrante C corresponde às células "sadias" (não afetadas pelo composto).

Por outro lado, em relação às células THP-1 (Figura 52), o composto 1, na concentração de 400  $\mu$ M, induz 95,5% de apoptose, enquanto a cisplatina, na concentração de 50  $\mu$ M, induz apenas 63,8% de apoptose. Isto confirma a maior atividade de 1 frente a esta linhagem celular. Desta vez, as porcentagens de células em processo de apoptose tardia não são tão diferentes: 67,3% para 1 vs. 47,4% para o grupo tratado com cisplatina.



**Figura 52.** Porcentagem de morte celular por necrose (quadrante A), apoptose tardia (quadrante B) e apoptose primária (quadrante D), induzida por cisplatina e pelo composto **1** na linhagem leucêmica THP-1 após 24 horas de incubação. O quadrante C corresponde às células "sadias" (não afetadas pelo composto).