



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
Fundação Instituída nos termos da lei nº 5.152, de 21/10/1966 – São Luís – MA
Centro de Ciências Sociais, da Saúde e Tecnologia – CCSST
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais – PPGCM



WALAJHONE OLIVEIRA PEREIRA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO TEÓRICO DO CRISTAL TERNÁRIO
DE COBRE (II) COMPLEXADO COM 1,10-FENANTROLINA E L-TIROSINA PARA
O USO COMO ANTITUMORAL**

Imperatriz - MA

2021

WALAJHONE OLIVEIRA PEREIRA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO TEÓRICO DO CRISTAL TERNÁRIO
DE COBRE (II) COMPLEXADO COM 1,10-FENANTROLINA E L-TIROSINA PARA
O USO COMO ANTITUMORAL**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Maranhão como um dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Área de concentração: Ciências Exatas e da Terra

Orientador: Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos

Imperatriz - MA

2021

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Pereira, Walajhone Oliveira.

Síntese, caracterização e estudo teórico do cristal ternário de cobre II complexado com 1,10-fenantrolina e L-tirosina para o uso como antitumoral / Walajhone Oliveira Pereira. - 2021.

97 p.

Orientador(a): Adenilson Oliveira dos Santos.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais/ccsst, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, 2021.

1. Atividade antitumoral. 2. Câncer. 3. Cobre. 4. Cristal. 5. DFT. I. Santos, Adenilson Oliveira dos. II. Título.

WALAJHONE OLIVEIRA PEREIRA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO TEÓRICO DO CRISTAL TERNÁRIO
DE COBRE (II) COMPLEXADO COM 1,10-FENANTROLINA E L-TIROSINA PARA
O USO COMO ANTITUMORAL**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Maranhão como um dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Área de concentração: Ciências Exatas e da Terra

Aprovado em: ___ / ___ / _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Prof. Dr. Francisco Ferreira de Sousa
Universidade Federal do Pará – UFPA

Prof. Dr. Rodrigo do Monte Gester
Universidade Federal do Sul e Sudeste Pará – UNIFESSPA

Imperatriz - MA

2021

*À minha querida esposa
Valéria Neres Leal e às minhas amadas filhas
Layla Cristine Leal Nascimento
Kayla Leal Nascimento e
Maria Clara Leal Oliveira*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me proporcionar a oportunidade e conceder força para recomeçar os estudos e continuar na minha caminhada acadêmica.

À minha querida esposa Valéria Neres Leal, por seu apoio em todos momentos e às minhas amadas filhas Layla Cristine Leal Nascimento, Kayla Leal Nascimento e Maria Clara Leal Oliveira por serem minha inspiração.

Ao Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos, por ter aceito me orientar e por compartilhar sua experiência profissional, concedendo a oportunidade de desenvolver meu trabalho no Laboratório de Difração de Raios X (LDRX).

A todos os colegas do LDRX, em especial ao João Gomes de Oliveira Neto por compartilhar sua amizade, tempo, paciência e experiência durante todas as etapas deste trabalho e ao Jailton Romão Viana pela amizade e inestimável ajuda com os cálculos computacionais.

Aos colegas Raychiman Douglas Santana Bezerra e Luís Henrique Silva Queiroz pela ajuda nas medidas térmicas e espectroscopia UV-Vis.

À Prof^a. Dr^a. Franciana Pedrochi e ao colega Otávio Cândido da Silva Neto pela ajuda nas medidas de FT-IR. Ao colega Jhonatam de Oliveira Carvalho pela ajuda com o gráfico de descontinuidade.

Ao Prof. Dr. Francisco Ferreira de Sousa da Universidade Federal do Pará (UFPA) pela inestimável contribuição com a parte experimental, análise dos dados de espectroscopia Raman e teoria de grupos, e de forma especial ao Laboratório de Espectroscopia Vibracional e Altas Pressões (LEVAP), sob a coordenação do Prof. Dr. Waldeci Paraguassu Feio.

Ao Prof. Dr. Mateus Ribeiro Lage pela ajuda nos cálculos DFT.

Ao Prof. Dr. Aramys Silva dos Reis pelas análises biológicas.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM) da UFMA, em especial aos que tive a oportunidade de ser aluno nas disciplinas, Prof. Dr. Mateus Ribeiro Lage, Prof. Dr. Paulo Roberto da Silva Ribeiro, Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos, Prof^a. Dr^a. Luzeli Moreira da Silva, Prof. Dr. Alysso Steimacher, Prof^a. Dr^a. Franciana Pedrochi e Prof. Dr. José Gadelha da Silva Filho pelos ensinamentos.

À prof^a. Dr^a. Ana Angélica Mathias Macêdo, por ter acreditado no meu trabalho desde minha graduação e por todos os momentos em que ajudou fora do ambiente acadêmico, com todo carinho e atenção.

Ao PhD Fernando José Figueiredo Agostinho d'Abreu Mendes e ao PhD Filipe Miguel Borges Amaral pelo apoio e parceria nos trabalhos.

A todos os servidores da UFMA pela ajuda e atenção, em especial à dona Antônia e à Noelene.

À UFMA, IFMA, CNPQ e CAPES pelo apoio à pesquisa, e à FAPEMA pela bolsa concedida.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

RESUMO

O câncer é uma das principais causas de morte no mundo, sendo que no Brasil a estimativa para novos casos da doença tem aumentado consideravelmente nos últimos anos. Diante desse cenário, é imprescindível a busca por novos materiais com propriedades antitumorais que sejam mais efetivos no combate a essa patologia e que minimizem os efeitos colaterais durante o tratamento. Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi sintetizar o cristal ternário de cobre (II) complexado com 1,0-fenantrolina e L-tirosina pelo método da evaporação lenta do solvente, assim como realizar o estudo teórico e das suas propriedades físico-químicas e biológicas visando a aplicação como agente antitumoral. O cristal foi obtido após um período de 30 dias, sendo caracterizado por espectroscopia de absorção no ultravioleta-visível (UV-Vis), difração de raios X (DRX) com refinamento Rietveld, espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), espectroscopia Raman, análise térmica por calorimetria exploratória diferencial (DSC), DRX em função da temperatura com refinamento Le Bail, ensaio de solubilidade e avaliação da atividade antitumoral *in vitro*. Além disso, fez-se o estudo computacional do complexo utilizando a teoria do funcional da densidade (DFT). A espectroscopia UV-Vis mostrou que a cristalização do material ocorre em pH ácido de aproximadamente 4. Através da DRX em temperatura ambiente (300 K) verificou-se que o cristal apresenta estrutura monoclinica com grupo espacial $P 2_1/c$ contendo 4 moléculas por célula unitária e parâmetros de rede $a = 9,385(2) \text{ \AA}$, $b = 25,458(3) \text{ \AA}$, $c = 10,942(2) \text{ \AA}$ e $\beta = 120,08(1)^\circ$. Por meio do estudo computacional obteve-se a estrutura otimizada do complexo, o mapa de potencial eletrostático, distribuição espacial e energias dos orbitais HOMO e LUMO, sítios nucleofílicos, parâmetros termodinâmicos e os descritores de reatividade química. Os espectros FT-IR e Raman evidenciaram a complexação do íon metálico Cu^{2+} com as moléculas orgânicas, apresentando os modos de vibração devido à estrutura molecular formada a partir da tirosina e fenantrolina com o cobre. Através do DSC verificou-se que o cristal ternário apresenta estabilidade térmica até 321 K. O DRX em função da variação de temperatura mostrou que o material sofre uma transformação de fase estabilizando-se em uma nova estrutura a partir de 354 K com sistema monoclinico, grupo espacial $P 121$ e parâmetros de rede $a = 7,990(3) \text{ \AA}$, $b = 9,862(2) \text{ \AA}$, $c = 16,961(2) \text{ \AA}$ e $\beta = 94,28(1)^\circ$. Além disso, o cristal em temperatura de 308 K apresentou bom perfil de solubilidade em comparação com outros fármacos utilizados na quimioterapia, atingindo 48,16 mg/mL em 300 minutos. A atividade antitumoral do complexo foi confirmada pelos testes citotóxicos *in vitro* nas linhagens de células tumorais do câncer de próstata (PC3) e câncer do sistema nervoso central (SNB-19), apresentando IC_{50} igual a 3,15 e 3,45 μM , respectivamente, mais eficiente que a cisplatina e outros compostos para essas linhagens. Portanto, os resultados obtidos sugerem que o cristal ternário de cobre (II) complexado com 1,10-fenantrolina e L-tirosina apresenta atividade antitumoral, tendo potencial para ser empregado no tratamento quimioterápico de células cancerígenas.

Palavras-chave: Cristal; Cobre; Câncer; DFT; Atividade antitumoral.

ABSTRACT

Cancer is one of the main causes of death in the world, and in Brazil the estimative for new cases of the disease has increased considerably in recent years. Given this scenario, it is essential to search for new materials with antitumor properties that are more effective in combating this pathology and that minimize side effects during treatment. In this context, the objective this work was to synthesize the copper (II) ternary crystal complexed with 1,10-phenanthroline and L-tyrosine by the method of slow evaporation of the solvent, as well as to perform the theoretical study and of their physicochemical and biological properties aiming at its application as an antitumor agent. The crystal was obtained after a period of 30 days, being characterized by ultraviolet-visible (UV-Vis) absorption spectroscopy, X-ray diffraction (XRD) with Rietveld refinement, Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy, Raman spectroscopy, differential scanning calorimetry (DSC), XRD as a function of temperature with Le Bail refinement, solubility test and evaluation of antitumor activity *in vitro*. Moreover, the computational study of the complex was performed using density functional theory (DFT). UV-Vis spectroscopy showed that material crystallization occurs at acid pH of approximately 4. Through XRD at room temperature (300 K) it was verified that the crystal presents a monoclinic structure with spatial group $P 2_1/c$ containing 4 molecules per unit cell and lattice parameters $a = 9.385(2) \text{ \AA}$, $b = 25.458(3) \text{ \AA}$, $c = 10.942(2) \text{ \AA}$ and $\beta = 120.08(1)^\circ$. Through the computational study it were obtained the optimized structure of the complex, the electrostatic potential map, the energies of the HOMO and LUMO orbitals, thermodynamic parameters and the chemical reactivity descriptors. FT-IR and Raman spectra showed the complexation of the Cu^{2+} metallic ion with the organic molecules, presenting their vibrational modes due to the molecular structure formed from tyrosine and phenanthroline with copper. Through the DSC it was verified that the ternary crystal presents thermal stability up to 321 K. The XRD as a function of temperature variation showed that the material undergoes a phase transformation by stabilizing into a new structure in temperature 354 K with monoclinic system, spatial group $P 121$ and lattice parameters $a = 7.990(3) \text{ \AA}$, $b = 9.862(2) \text{ \AA}$, $c = 16.961(2) \text{ \AA}$ and $\beta = 94.28(1)^\circ$. Furthermore, the crystal in 308 K presented good solubility profile compared to other drugs used in chemotherapy, reaching 48.16 mg/mL in 300 minutes. The antitumor activity of the complex was confirmed by *in vitro* cytotoxic tests on tumor cell lines of prostate cancer (PC3) and cancer of the central nervous system (SNB-19), presenting IC_{50} equal to 3.15 and 3.45 μM , respectively, more efficient than cisplatin and other compounds for theses strains. Therefore, the results obtained suggest that the copper (II) ternary crystal complexed with 1,10-phenanthroline and L-tyrosine presents antitumor activity, having potential to be used in the chemotherapy treatment of cancer cells.

Keywords: Crystal; Copper; Cancer; DFT; Antitumor activity.

ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

➤ Participação em eventos científicos:

- ✓ WEBINÁRIO - Transposição da realização da disciplina presencial para o modelo remoto. Universidade Federal do Maranhão, 2020.
- ✓ Health 4.0: Designing Tomorrow's Healthcare. Coimbra Health School, Annual Meeting 2020.
- ✓ WEBINÁRIO – Explorando a Técnica DSC – Determinação da Capacidade Térmica Específica de Materiais. NETZSCH, 2020.
- ✓ MINICURSO – Fundamentos da espectroscopia vibracional (Raman e Infravermelho): estudo de compostos orgânicos por meio de espectros vibracionais. POS-CAQuí, IFMA – Campus Açailândia, 2020.
- ✓ MINICURSO – Informação quântica. Emaranhão Quântico 2021.
- ✓ XIX Brazilian Materials Research Society (B-MRS) Meeting. Online format, 2021.

➤ Apresentação de trabalhos:

- ✓ BERNARDINO, D.; PEREIRA, W.; MENESES, M.; AMARAL, F.M.B.; GASPARIN, F.; SANTOS, A.O.; SOMBRA, A.; MENDES, F.; MACÊDO, A. Semiconductor polymer based on polyaniline and galactomannan for application in biosensors. **Materials Chemistry 2021**. 2nd Global Virtual Summit no Advances in Materials, Physics & Chemistry Science, 18-19 de Fevereiro de 2021.
- ✓ SANTOS, G.L.; PEREIRA, W.O.; MENDES, F.; MACÊDO, A.A.M. Viscosidade galactomanana de *Adenanthera pavonina* L. em diferentes concentrações. **SEMIC-IFMA** da Região Tocantina, Ciências Exatas e da Terra, 5 de março de 2021.
- ✓ PEREIRA, W.O.; SILVA NETO, J.; GRAÇA, M.; SANTOS, A.O.; MENDES, F.; MACÊDO, A.A.M. Dielectric and rheological properties of polymeric galactomannan solutions extracted from *Adenanthera pavonina* L. seeds for use in biodegradable films and biosensors. **34th World Congress of the International Federation of Biomedical Laboratory Sciences**, Copenhagen, 24-28 de Agosto de 2021.
- ✓ SILVA NETO, J.; PEREIRA, W.O.; CAVALCANTE, L.A.; AMARAL, F.M.B.; SANTOS, A.O.; SOMBRA, A.; MENDES, F.; MACÊDO, A.A.M. Structural and electrical characterization of biopolymer with biomedical applications. **34th World Congress of the International Federation of Biomedical Laboratory Sciences**, Copenhagen, 24-28 de Agosto de 2021.
- ✓ MENDES, F.; SILVA NETO, J.; PEREIRA, W.O.; CAVALCANTE, L.A.; AMARAL, F.M.B.; SANTOS, A.O.; MACÊDO, A.A.M. Characterization of polymer vegetable for applications in the biomedical area. **34th World Congress of the International Federation of Biomedical Laboratory Sciences**, Copenhagen, 24-28 de Agosto de 2021.
- ✓ PEREIRA, W. O.; OLIVEIRA NETO, J. G.; SANTOS, A. O. Synthesis, structural and thermal characterization of copper (II) with 1,10-phenanthroline and L-tyrosine

for antitumor application. **XIX Brazilian Materials Research Society (B-MRS) Meeting**. Online format, 30 de Agosto a 3 de Setembro, 2021.

- ✓ **PEREIRA, W.O.**; OLIVEIRA NETO, J.G.; SANTOS, A.O. Synthesis, structural, thermal and vibrational characterization of copper (II) with 1,10-phenanthroline and L-proline for antitumor application. **XIX Brazilian Materials Research Society (B-MRS) Meeting**. Online format, 30 de Agosto a 3 de Setembro, 2021.
- ✓ OLIVEIRA NETO, J.G.; CARVALHO, J.O.; SOUSA, M.L.; **PEREIRA, W.O.**; LANG, R.; SANTOS, A.O. Growth, structure solution and spectroscopic study of a new $(\text{NH}_4)_2\text{Mn}_{1-x}\text{Zn}_x(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ Tutton salt for adjustable yellow-orange light emission. **XIX Brazilian Materials Research Society (B-MRS) Meeting**. Online format, 30 de Agosto a 3 de Setembro, 2021.

➤ **Capítulo de livro publicado:**

- ✓ BATISTA, B.S.; **PEREIRA, W.O.**; DIAS, D.M.O.; SILVA, A.R.A.; MENDES, F.; MACÊDO, A.A.M. Análise fitoquímica e estrutural da mucilagem de *Aloe barbadensis* Miller. “Ciências agrárias: a multidisciplinaridade dos recursos naturais - Volume II. 2021.

➤ **Patentes depositadas:**

- ✓ OLIVEIRA NETO, J.G.; SILVA NETO, O.C.; RAMOS, M.C.; **PEREIRA, W.O.**; SANTOS, A.O. Sólido cristalino inorgânico contendo íons Cr^{3+} e seu uso. Universidade Federal do Maranhão, Número do registro: BR1020210048743, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 15/03/2021
- ✓ **PEREIRA, W.O.**; OLIVEIRA NETO, J.G.; SANTOS, A.O. Processo de síntese do cristal ternário de cobre (II), 1,10-fenantrolina e L-tirosina. Universidade Federal do Maranhão. Número do registro: BR1020210080884, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 28/04/2021.
- ✓ **PEREIRA, W.O.**; OLIVEIRA NETO, J.G.; SANTOS, A.O. Filme cristalino com propriedade biológica. Universidade Federal do Maranhão. Número do registro: BR1020210162554, Instituição de registro: INPI - Instituto Nacional da Propriedade Industrial. Depósito: 17/08/2021.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática do processo de metástase no qual as alterações nas células do epitélio levam à formação de células tumorais que podem entrar na corrente sanguínea e se proliferarem de modo descontrolado, prendendo-se nos gânglios linfáticos ao longo do caminho e dando origem à metástase.	3
Figura 2. Estrutura molecular da <i>cis</i> -diaminodicloroplatina (II).	5
Figura 3. Representação esquemática da entrada da cisplatina na célula por difusão passiva ou transporte ativo mediado pelo transportador CTR1, as espécies ativas formadas por reações de hidrólise e sua posterior ligação ao DNA em adutos inter-fita e intrafita.	6
Figura 4. Representação esquemática de possíveis modos de interação não-covalente entre complexo-DNA em a) intercalação, b) interação entre os sulcos, c) interação eletrostática e modos de interação covalente em d) ligação à base nitrogenada e e) ligação ao fosfato.	7
Figura 5. Estrutura molecular da 1,10-fenantrolina.	8
Figura 6. Representação molecular esquemática dos aminoácidos, com grupo amina (NH ₂) à esquerda, grupo carboxílico à direita (COOH) e o grupo radical (R) que os diferencia.	9
Figura 7. Estrutura molecular da tirosina.	9
Figura 8. Diagrama de solubilidade-supersolubilidade.	11
Figura 9. Rede cristalina e célula unitária com os eixos coordenados (<i>x</i> , <i>y</i> e <i>z</i>), comprimentos axiais (<i>a</i> , <i>b</i> e <i>c</i>) e ângulos entre os eixos (α , β e γ).	12
Figura 10. Os sistemas cristalinos e suas relações com os parâmetros da rede cristalina.	13
Figura 11. Representação esquemática da interação entre a radiação eletromagnética e a matéria.	14
Figura 12. Representação esquemática da atenuação da intensidade de um feixe com intensidade P_0 para uma intensidade transmitida P ao atravessar um comprimento b cm de amostra absorvente.	15
Figura 13. Perdas na intensidade do feixe incidente por reflexão e espalhamento em uma solução.	16
Figura 14. Representação esquemática da difração de raios X nos átomos da rede cristalina	17
Figura 15. Diagrama esquemático do vetor de espalhamento.	18
Figura 16. Representação esquemática da variação do momento de dipolo molecular devido às forças geradas pela oscilação do campo elétrico do fóton.	22
Figura 17. Movimentos vibracionais moleculares.	23
Figura 18. Momento de dipolo induzido em uma molécula diatômica pelo campo elétrico oscilante de uma radiação incidente. As regiões com cargas parciais negativas são indicadas com a cor vermelha e as com cargas parciais positivas com a cor azul.	24
Figura 19. Diagrama esquemático dos processos Raman Stokes e Raman Anti-Stokes.	26
Figura 20. Esquema de uma curva DSC hipotética.	27

Figura 21. Espectrofotômetro UV-Vis Thermo Scientific modelo <i>Evolution 220</i>	33
Figura 22. Difratorômetro PANalytical modelo <i>Empyrean</i>	33
Figura 23. Espectrômetro FTR marca Bruker modelo Vertex 70v.	34
Figura 24. Espectrômetro Raman marca Jobin-Yvon modelo T64000.....	35
Figura 25. Analisador térmico (DSC) Shimadzu modelo <i>DSC-60</i>	35
Figura 26. Espectros de absorvância da solução do cristal FTCu em pH 2,4 e 3,8.....	38
Figura 27. Coloração das soluções de FTCu em a) pH = 2,4 e b) pH = 3,8.....	39
Figura 28. Cristal ternário FTCu.	39
Figura 29. Morfologia do cristal FTCu.	40
Figura 30. Padrão de Raios X refinado pelo método Rietveld em temperatura ambiente (300 K) para o cristal ternário FTCu, com difratograma experimental (círculos), difratograma teórico (linha vermelha) e diferença entre eles (linha violeta).	40
Figura 31. Unidade assimétrica do cristal ternário FTCu.....	41
Figura 32. Gráficos de correlação das distâncias atômicas experimental e calculada.	43
Figura 33. Gráficos de correlação dos ângulos experimental e calculado.	43
Figura 34. Curva de otimização e estrutura otimizada do complexo FTCu obtidas utilizando as funções de base PBE1PBE/6-311++G(d,p).....	44
Figura 35. Mapa de potencial eletrostático molecular com superfícies a) sólida e b) semitransparente para o complexo FTCu calculado com as funções de base PBE1PBE/6-311++G(d,p).	46
Figura 36. Orbitais moleculares de fronteira HOMO e LUMO para o complexo FTCu calculados com as funções de base PBE1PBE/6-311++G(d,p).....	47
Figura 37. Espectros experimental e teórico de FT-IR do cristal ternário FTCu.	51
Figura 38. Espectros Raman experimental e teórico para os cristais ternário FTCu em temperatura ambiente para a faixa espectral de 90 a 700 cm^{-1}	54
Figura 39. Espectros Raman experimental e teórico para os cristais ternário FTCu em temperatura ambiente para a faixa espectral de 700 a 1700 cm^{-1}	55
Figura 40. Espectros Raman experimental e teórico para os cristais ternário FTCu em temperatura ambiente para a faixa espectral de 2920 a 3140 cm^{-1}	56
Figura 41. Curva DSC do cristal ternário FTCu.....	58
Figura 42. Difratomogramas de DRX do cristal ternário FTCu em função da temperatura (300 a 393 K). Medida 300 K referente ao retorno à temperatura ambiente após 24 horas.	59
Figura 43. Transformação de fase do cristal ternário FTCu no intervalo angular 2θ entre 9,5 e 27,2°.....	60
Figura 44. a) Variação dos Parâmetros de rede a , b e c e b) variação do ângulo β da célula unitária em função da temperatura do cristal FTCu obtidos em função da temperatura pelos dados de DRX refinados pelo método de Rietveld.....	61

Figura 45. Variação do volume da célula unitária em função da temperatura do cristal FTCu obtida pelo refinamento Rietveld.	62
Figura 46. Padrão de raios X em 108 °C refinado pelo método Le Bail para o cristal ternário FTCu após a transformação de fase, com difratograma experimental (círculos), difratograma teórico (linha vermelha) e diferença entre eles (linha violeta).	62
Figura 47. Curva analítica para a determinação da solubilidade do cristal ternário FTCu em água.	64
Figura 48. Perfil de solubilidade do cristal ternário FTCu.	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros de rede do cristal ternário FTCu.	40
Tabela 2. Dados teóricos dos comprimentos e ângulos do complexo FTCu calculados com os funcionais PBE1PBE e B3LYP em comparação com os dados experimentais	42
Tabela 3. Fator de correlação entre os dados experimentais e calculados com os funcionais B3LYP, OPBE e PBE1PBE para as distâncias e ângulos atômicos do complexo FTCu.....	44
Tabela 4. Valores dos descritores de reatividade química para o complexo FTCu calculados com as funções de base PBE1PBE/6-311++G(d,p) e para a cisplatina calculados com as funções de base B3LYP-SDD.....	48
Tabela 5. Tabela de caracteres para o grupo fator C_{2h} de cristal com simetria monoclinica...	50
Tabela 6. Atribuições das bandas de absorção no FT-IR para o cristal ternário FTCu.....	52
Tabela 7. Atribuições dos modos Raman para o cristal ternário FTCu.....	57
Tabela 8. Concentração média das soluções padrão do cristal ternário FTCu utilizadas para a construção da curva analítica.....	63
Tabela 9. Concentração do cristal ternário FTCu em função do tempo	64
Tabela 10. IC_{50} do cristal ternário FTCu para as linhagens PC3 e SNB-19 em comparação com a cisplatina, Cu(PHEN)(ASN), Cu(PHEN)(MET), docetaxel, cefarantina e imatinib.....	66

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Câncer: definição e tratamento	3
<i>2.1.1 Complexos metálicos na quimioterapia</i>	4
<i>2.1.2 Complexos de cobre e ação antitumoral</i>	7
2.2 Crescimento de cristais	10
<i>2.2.1 Sistemas cristalinos</i>	12
2.3 Técnicas de caracterização	13
<i>2.3.1 Espectroscopia de absorção no ultravioleta-visível (UV-Vis)</i>	14
<i>2.3.2 Difração de raios X (DRX)</i>	17
<i>2.3.2.1 Método Rietveld e método Le Bail</i>	17
<i>2.3.3 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)</i>	21
<i>2.3.4 Espectroscopia Raman</i>	24
<i>2.3.5 Análise térmica</i>	27
2.4 Estudo computacional	28
<i>2.4.1 Teoria do funcional da densidade (DFT)</i>	29
3. METODOLOGIA	32
3.1 Síntese do cristal ternário de cobre (II) com 1,10-fenantrolina e L-tirosina	32
3.2 Caracterizações	32
<i>3.2.1 Análise óptica</i>	32
<i>3.2.2 Difração de raios X</i>	33
<i>3.2.3 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)</i>	34
<i>3.2.4 Espectroscopia Raman</i>	34
<i>3.2.5 Análise térmica</i>	35
<i>3.2.6 Ensaio de solubilidade</i>	36
<i>3.2.7 Avaliação da atividade antitumoral in vitro</i>	36
3.3 Estudo computacional	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
4.1 Síntese do cristal FTCu	38
4.2 Difração de raios X e refinamento Rietveld	40
4.3 Estudo computacional	42
4.4 Análise vibracional	48

<i>4.4.1 Teoria de grupos do cristal ternário FTCu</i>	49
<i>4.4.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier</i>	50
<i>4.4.3 Espectroscopia Raman em temperatura ambiente</i>	53
4.5 Análise térmica	58
4.6 Difração de raios X em função da temperatura	59
4.7 Ensaio de solubilidade	63
4.8 Avaliação da atividade antitumoral <i>in vitro</i>	65
5. CONCLUSÕES	68
6. PERSPECTIVAS	69
REFERÊNCIAS	70
APÊNDICE A	78

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o câncer é a segunda maior causa de morte no mundo, atrás apenas das doenças cardiovasculares, atingindo um patamar de 19,3 milhões de novos casos e quase 10 milhões de mortes no ano de 2020 [1,2]. No Brasil, a estimativa de novos casos de câncer para 2014/2015 era de 500 mil, para 2018/2019 esse número subiu para 600 mil e para cada ano do triênio 2020/2022 é esperado que aumente para 625 mil [3–5]. No Maranhão, os cânceres de próstata, mama e colo do útero são os que apresentam maior incidência [5], dados que apontam a importância epidemiológica da doença em nível global, nacional e regional.

Diante desse cenário, é imprescindível a busca por novos materiais com propriedades antitumorais e terapêuticas mais efetivas no combate a essa patologia, uma vez que alguns tumores, com o passar do tempo, podem adquirir resistência aos medicamentos atuais, além dessas drogas apresentarem efeitos colaterais indesejáveis, *e.g.*, reações alérgicas, disfunções gastrointestinais, hemorragia, redução na atividade da medula óssea (mielossupressão), perda de cabelo (alopecia), dentre outros [6–8].

Experimentos biológicos têm sido realizados com o intuito de descobrir novos compostos com atividade mais eficiente contra tumores malignos [9–12], impulsionando estudos sobre a molécula de DNA no decorrer das últimas décadas [13,14]. Nesse contexto, complexos com metais de transição vêm sendo amplamente investigados ao longo dos últimos anos devido aos seus potenciais redox biologicamente acessíveis e suas altas afinidades com as nucleobases, podendo atuar na clivagem dos ácidos nucleicos e ser potencialmente utilizados como agentes anticancerígenos [14–16].

De modo particular, íons metálicos, que comumente se apresentam na forma catiônica, podem propiciar uma forte interação com a estrutura do DNA, favorecendo a formação de complexos e consequentemente neutralizar determinados eventos tumorais oriundos de uma replicação celular descontrolada [17,18]. Esta relação tem motivado a comunidade científica a buscar o desenvolvimento de materiais a base de metais não tóxicos ao organismo, visando uma regularidade na atividade antitumoral.

A cisplatina, que foi primeiramente sintetizada por Michelle Peryone em 1844 e posteriormente utilizada na inibição da divisão celular na *Escherichia coli* por Rosenberg e colaboradores na década de 1960 [19,20], é considerada umas das drogas mais efetivas no tratamento de uma grande variedade de cânceres, apesar dos efeitos colaterais limitadores das

doses nos pacientes, que ainda podem apresentar resistência herdada ou adquirida ao medicamento durante a terapia [6,11].

Esses problemas têm estimulado o desenvolvimento de estratégias alternativas, baseadas em diferentes metais, com propriedades antitumorais e que possuem um mecanismo de ação diferente da cisplatina, tornando-os fortes candidatos a contornarem os problemas com a resistência celular. Dentre esses materiais, os complexos de cobre (II) mostram-se promissores, uma vez que vários estudos os reportam como potenciais agentes inibidores do câncer [6,16,21–24].

O cobre é um elemento essencial no metabolismo humano, sendo um importante íon metal ativo em reações de oxidação-redução associadas às bases do DNA, particularmente a guanina, podendo promover a transformação do DNA ou proteínas através de uma via oxidativa [25,26]. Em sistemas biológicos, está ligado a proteínas por complexação com cisteínas, histidinas, metioninas e compostos com baixo peso molecular [27,28]. Desde que Sigman e colaboradores [29] descobriram, em 1979, que complexos de cobre com 1,10-fenantrolina têm a capacidade de clivar o DNA, esforços vêm sendo empregados para melhorar a atividade de nucleases, *i.e.*, quebra das bases nitrogenadas, através de complexos de cobre com ligante heterocíclico doador de nitrogênio [12].

Os complexos de cobre e 1,10-fenantrolina na presença de ligantes auxiliares, como aminoácidos, que são unidades estruturais básicas das proteínas e amplamente distribuídos em sistemas biológicos, também se apresentam como nucleases químicas, sendo utilizados ainda para método terapêutico, com atividade antitumoral e de nucleases artificiais recentemente relatadas para esses complexos [14]. Com base nisto, novos cristais híbridos complexados com metais de transição e aminoácidos têm sido sintetizados.

Nesse contexto, o cristal ternário de cobre (II) complexado com 1,10-fenantrolina e L-tirosina já foi sintetizado e teve sua estrutura determinada em 2015 por Inci e colaboradores [11]. Todavia, o presente estudo tem o intuito de contribuir com investigações inéditas para o material, por meio de estudo teórico do complexo e caracterização sistemática das suas propriedades estruturais, vibracionais, térmicas, ópticas, químicas e biológicas, visando sua possível aplicação como agente antitumoral e colaborar para uma melhor compreensão das interações entre compostos organometálicos com a molécula de DNA, bem como no desenvolvimento da integração de pesquisas nas áreas oncológicas e de ciência dos materiais.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Câncer: definição e tratamento

As células eucariotas animais são submetidas a uma série de processos de renovação por meio de ciclos celulares durante toda a vida. Entretanto, apesar dos mecanismos de regulação desses ciclos, eventualmente ocorrem falhas que podem levar ao desenvolvimento de anomalias [30]. Neoplasia ou tumor é um termo genérico dado ao aumento anormal de tecidos devido à multiplicação desordenada dessas células por conta de mutações no DNA. As neoplasias podem ocorrer na sua forma benigna, na qual as células crescem de maneira localizada e se assemelham ao tecido original (raramente oferecendo riscos) e na forma maligna, o câncer, infiltrando-se em outros tecidos e órgãos e se espalhando para as demais regiões do corpo em um processo denominado metástase [31,32], como ilustra a Figura 1.

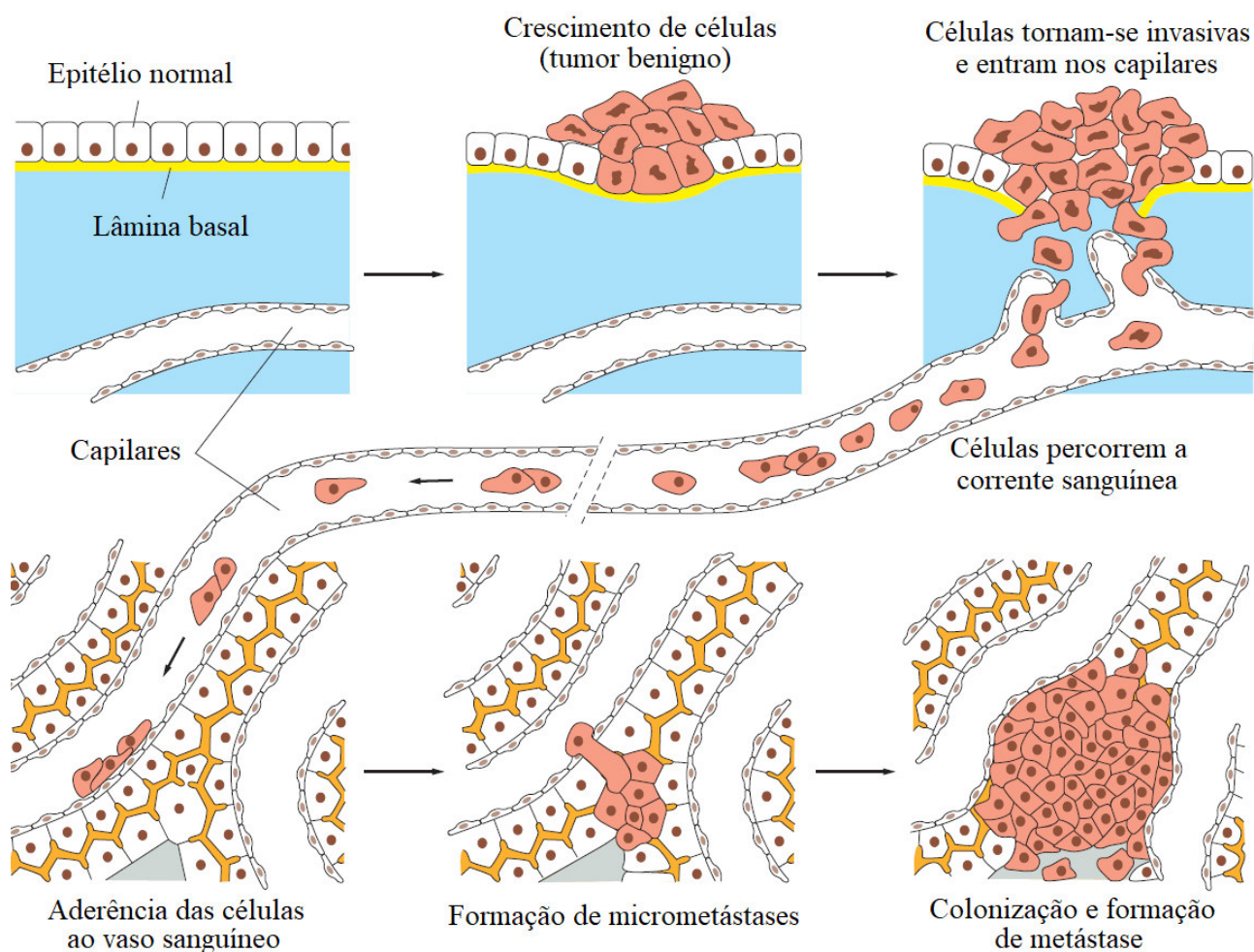


Figura 1. Representação esquemática do processo de metástase no qual as alterações nas células do epitélio levam à formação de células tumorais que podem entrar na corrente sanguínea e se proliferarem de modo descontrolado, prendendo-se nos gânglios linfáticos ao longo do caminho e dando origem à metástase.

Fonte: Adaptado da referência [33].

Derivado da palavra grega *karkínos*, que significa caranguejo, a denominação câncer foi utilizada pela primeira vez por Hipócrates (377 – 460 a.C.) para se referir à proliferação de células pelo organismo em formato semelhante às pinças e patas de um caranguejo [34]. A patologia engloba um conjunto de mais de 100 doenças que são classificadas conforme a localização primária do tumor, *e.g.*, câncer de próstata, câncer de mama, câncer de pulmão, dentre outros [31].

De modo geral, as formas de manifestação do câncer podem ser divididas em 5 grandes grupos: *Carcinoma*, quando a doença inicia-se na pele ou em tecidos que revestem outros órgãos; *Sarcoma*, onde a proliferação tem início nos ossos, cartilagem, tecido adiposo, músculos, vasos sanguíneos ou outros tecidos de conexão ou suporte; *Leucemia*, que parte da medula; *Linfoma e mieloma*, quando o câncer se inicia no sistema imune e *câncer do sistema nervoso central*, que tem início em tecidos do cérebro e da coluna vertebral [35].

Dentre os tratamentos mais comuns para o câncer estão a remoção cirúrgica do tumor, radioterapia, imunoterapia e quimioterapia, sendo que, geralmente, mais de uma técnica pode ser empregada no intuito de curar o paciente. Dentre as intervenções citadas, a quimioterapia é comumente a mais utilizada, consistindo em um tratamento sistêmico com o objetivo de inibir, controlar e/ou destruir as células tumorais e que é administrado em intervalos regulares por meio de um ou mais medicamentos [36,37].

As drogas quimioterápicas são medicamentos que têm a capacidade de destruir as células cancerígenas por apoptose (uma morte programada e ordenada com função de reconstituição e manutenção do organismo) seja interferindo diretamente no DNA ou atacando proteínas necessárias para a divisão celular. Ao atingirem a corrente sanguínea, alcançam todas as partes do organismo possibilitando a morte das células doentes e impedindo a metástase, todavia, também podem ser citotóxicas para células em divisão normal [38,39].

2.1.1 Complexos metálicos na quimioterapia

A partir da década de 1940, quando os mecanismos de ação das mostardas nitrogenadas começaram a ser elucidados, os agentes antitumorais utilizados na quimioterapia passaram a ter como principal alvo o DNA devido ao seu papel fundamental na replicação celular [40]. O DNA contém ânions fosfatos, átomos de oxigênio e nitrogênio, tendo grande potencial de interação com cátions metálicos. Por esse motivo, a interação do DNA com complexos metálicos é de grande interesse devido à alta estabilidade e versatilidade estrutural [26].

A descoberta das propriedades antitumorais da *cis*-diaminodichloroplatina (II) (Figura 2), também conhecida como cisplatina, na inibição da divisão celular da *Escherichia coli* através dos trabalhos de Rosenberg e seus colaboradores na década de 1960, foi o grande impulso que despertou o interesse no estudo de complexos metálicos na quimioterapia [19,20]. A partir de então, várias pesquisas buscaram entender os mecanismos de ação da cisplatina no organismo.

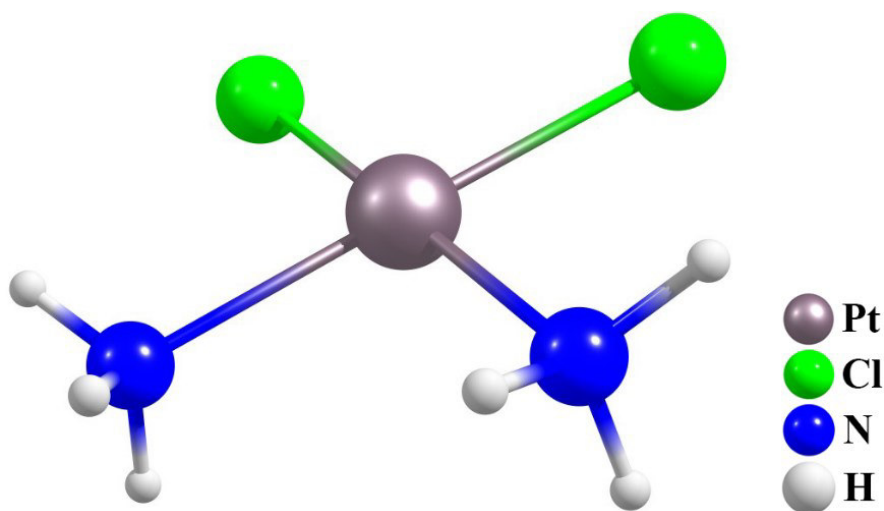


Figura 2. Estrutura química da *cis*-diaminodichloroplatina (II).
Fonte: Elaboração própria.

A cisplatina é administrada por via intravenosa, *i.e.*, introduzida diretamente na corrente sanguínea, por conta da sua baixa solubilidade em água, cerca de 2,5 mg/mL em temperatura ambiente. Dentro da corrente sanguínea, ela tende a permanecer na forma neutra devido à elevada concentração de íons cloreto. No entanto, ao atravessar a membrana plasmática por meio de difusão passiva ou transporte ativo, mediado pelo transportador CTR1 (uma proteína transmembranar envolvida na homeostase do cobre), adentra em um ambiente com baixa concentração de íons cloreto no interior da célula e sofre a hidrólise, onde um ou os dois íons cloreto são substituídos por moléculas de água, formando as espécies ativas $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}(\text{OH}_2)]^+$ e $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$ que podem interagir com as bases nitrogenadas do DNA, geralmente a guanina ou adenina [41,42].

No decorrer do processo de interação das espécies ativas com o DNA, as moléculas de água são substituídas pelas bases nitrogenadas, de forma que cada átomo de platina se liga aos nucleotídeos levando à formação de adutos, que podem ocorrer na mesma fita (intrafita) ou em diferentes fitas (inter-fitas) do DNA, conforme ilustra a Figura 3

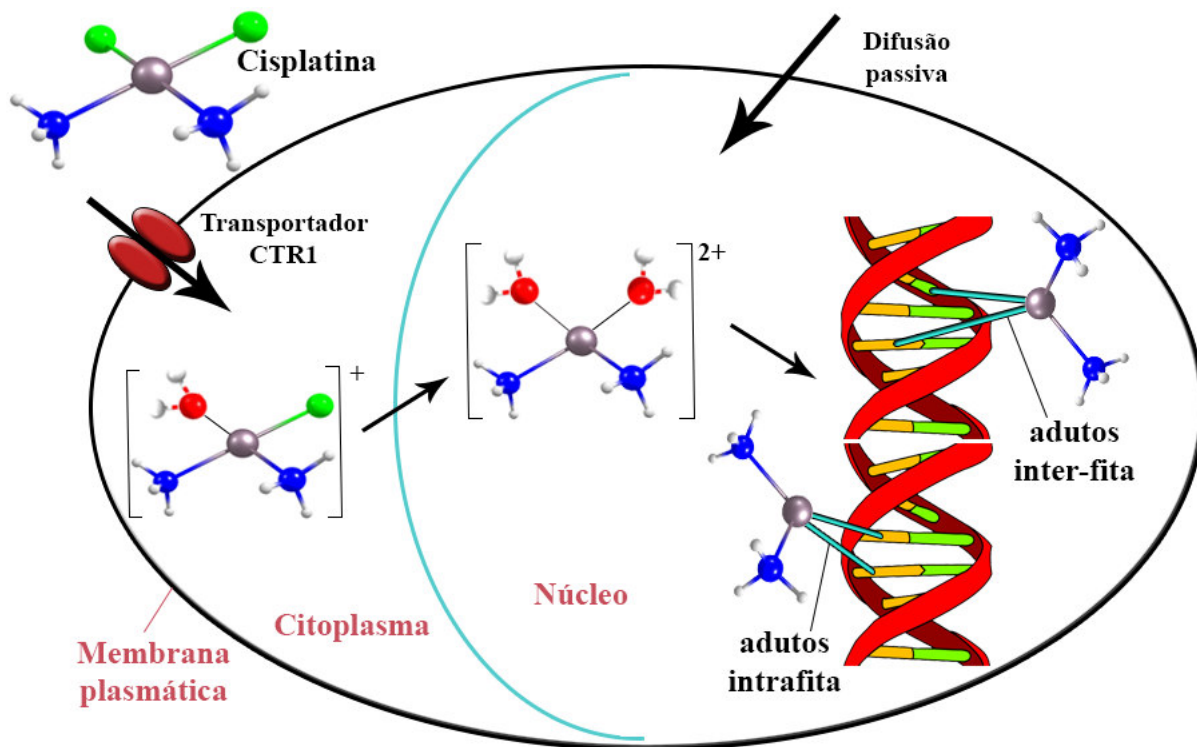


Figura 3. Representação esquemática da entrada da cisplatina na célula por difusão passiva ou transporte ativo mediado pelo transportador CTR1, as espécies ativas formadas por reações de hidrólise e sua posterior ligação ao DNA em adutos inter-fita e intrafita.
 Fonte: Elaboração própria.

De acordo com Dilruba e Kalayda [42], o aduto formado pela interação da cisplatina com o nitrogênio N7 da guanina é o mais importante, uma vez que causa distorções na estrutura em hélice do DNA que inibem os processos de replicação e transcrição, induzindo a morte celular por apoptose.

Desde a sua aprovação como agente quimioterápico no final da década de 1970, a cisplatina ainda permanece como um dos metalofármacos mais utilizados no mundo, especialmente no tratamento dos cânceres de pulmão, cabeça, estômago, esôfago, mama e linfomas [34]. Entretanto, alguns fatores adversos, *e.g.*, surgimento de resistência celular, baixa solubilidade em água, estreito espectro de atividade e efeitos colaterais graves (que surgem da complexação da cisplatina com proteínas e peptídeos), têm estimulando o desenvolvimento de estratégias alternativas com base em diferentes metais com propriedades antitumorais e que possuam mecanismos de ação diferentes da cisplatina.

Nesse contexto, as casiopeínas, que são complexos metálicos de cobre (II) com ligante aniônico e ligante neutro, vêm sendo apontadas como promissoras agentes antitumorais, uma vez que, a partir dos ligantes, podem interagir com as bases nitrogenadas do DNA e o cobre (II),

por sua vez, permite a formação de espécies reativas de oxigênio, levando à clivagem das moléculas de DNA nas células tumorais, impedindo assim sua replicação [43].

2.1.2 Complexos de cobre e ação antitumoral

O cobre apresenta uma considerável ação bioquímica tanto como um metal essencial para o metabolismo humano, estando ligado à ceruloplasmina, albumina e outras proteínas, quanto como constituinte de vários compostos administrados em humanos, formando complexos com ligantes de diversos tipos que interagem com biomoléculas, especialmente proteínas e ácidos nucleicos [44].

A estrutura do DNA permite a sua interação com complexos metálicos de várias maneiras (Figura 4), tendo como possíveis modos de interação não-covalente a intercalação (frequentemente a mais observada), interações eletrostáticas ou interações hidrofóbicas no sulco menor do DNA e interações covalentes, que podem ocorrer na ligação direta entre o complexo e o DNA através das bases nitrogenadas ou pelo grupo fosfato [45].

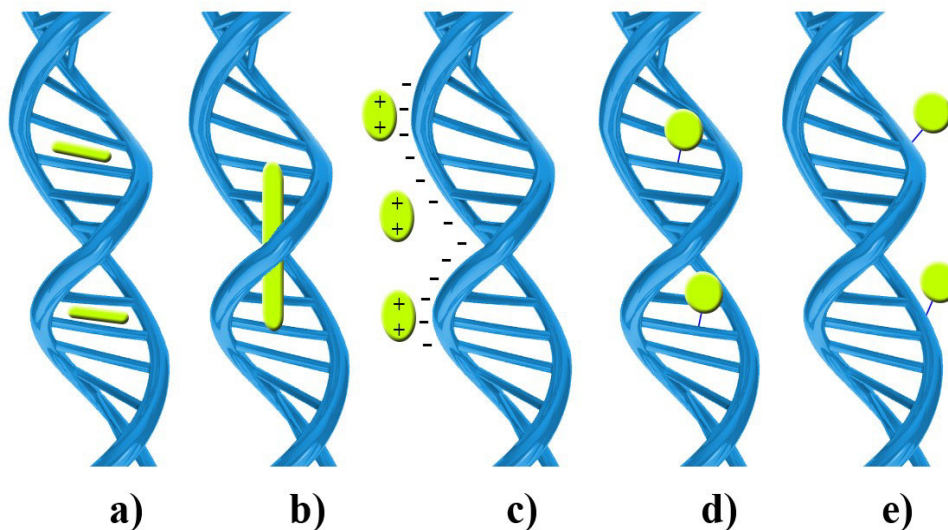


Figura 4. Representação esquemática de possíveis modos de interação não-covalente entre complexo-DNA em a) intercalação, b) interação entre os sulcos, c) interação eletrostática e modos de interação covalente em d) ligação à base nitrogenada e e) ligação ao fosfato.

Fonte: Elaboração própria.

A natureza dos ligantes determina as propriedades das casiopeínas, neutralizando a carga elétrica do íon metálico, facilitando o transporte do complexo através da membrana celular, intercalando no DNA ou interagindo não-covalentemente com proteínas [44]. Diversos complexos ternários de cobre com ligantes nitrogenados e aminoácidos têm sido sintetizados

por apresentarem várias aplicações na biomedicina como antimicrobiana, antiviral e anti-inflamatório, sendo ainda de atual interesse para possíveis aplicações como agentes antitumorais alternativos [46–48].

A 1,10-fenantrolina (Figura 5) e seus derivados são ligantes polipiridínicos utilizados na complexação com o cobre por apresentar a habilidade de clivar o DNA ao interagir com pares de bases de ácidos nucleicos [24,49]. Sua molécula apresenta uma estrutura rígida, além de dois nitrogênios aromáticos que contém pares de elétrons não compartilhados, tendo assim a capacidade de se ligar aos íons metálicos [50].

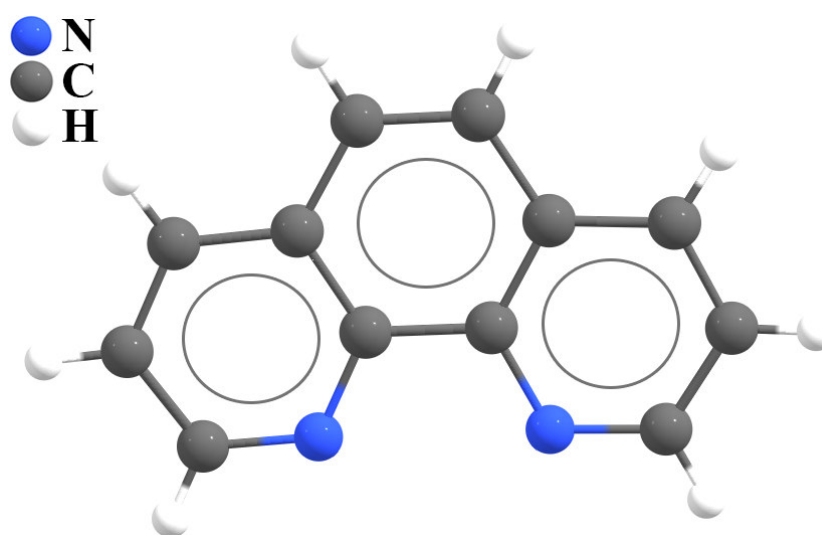


Figura 5. Estrutura molecular da 1,10-fenantrolina.
Fonte: Elaboração própria.

O empilhamento da fenantrolina como ligante dentro das sequências de pares de bases é um dos fatores importantes para a estabilização dos complexos metálicos dentro do DNA. De acordo com Hazarika e colaboradores [51], ambos os pares de bases Adenina-Timina e Guanina-Citosina podem estabilizar o ligante fenantrolina, contudo, existe uma preferência para o par de bases Guanina-Citosina. A estrutura de empilhamento prevista do complexo com fenantrolina com o par de bases Adenina-Timina é considerada complementar à estrutura cristalina. Além disso, pode ocorrer de, em certas estruturas cristalinas, a fenantrolina apresentar-se parcialmente intercalada dentro de duas nucleobases de Timina.

Os aminoácidos, também utilizados na complexação com íons metálicos, são definidos como qualquer molécula orgânica que apresente em sua estrutura uma amina e um grupo ácido (Figura 6), o que resulta em um número infinito de aminoácidos concebíveis. Todavia, apenas vinte são comumente encontrados nos organismos vivos em uma vasta diversidade de ligações

entre si, constituindo-se nos monômeros que formam as proteínas, sendo assim, essenciais para a manutenção dos seres vivos por desempenharem importante função biológica [52].

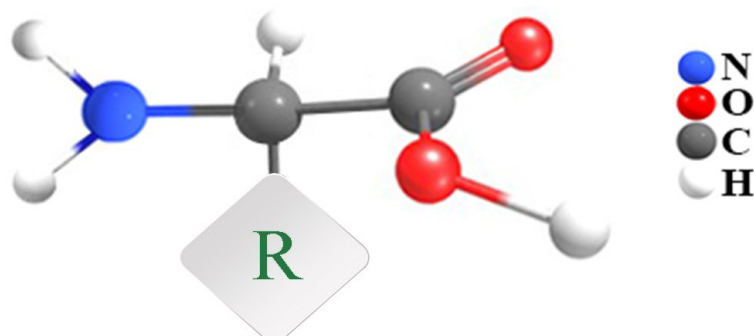


Figura 6. Representação esquemática dos aminoácidos, com grupo amina (NH_2) à esquerda, grupo carboxílico à direita (COOH) e o grupo radical (R) que os diferencia.
Fonte: Elaboração própria.

Em meio biológico, os aminoácidos têm a capacidade de formar complexos quelantes uma vez que podem assumir diferentes formas ionizadas, gerando compostos com íons metálicos com relevante papel na biologia, farmácia e indústrias. A tirosina (Figura 7), nome derivado do grego *tyros*, que significa queijo (uma vez que foi isolada do queijo), é um dos vinte aminoácidos naturais, classificada como não essencial por ser sintetizada pelo organismo a partir de outro aminoácido, a fenilalanina [11,53].

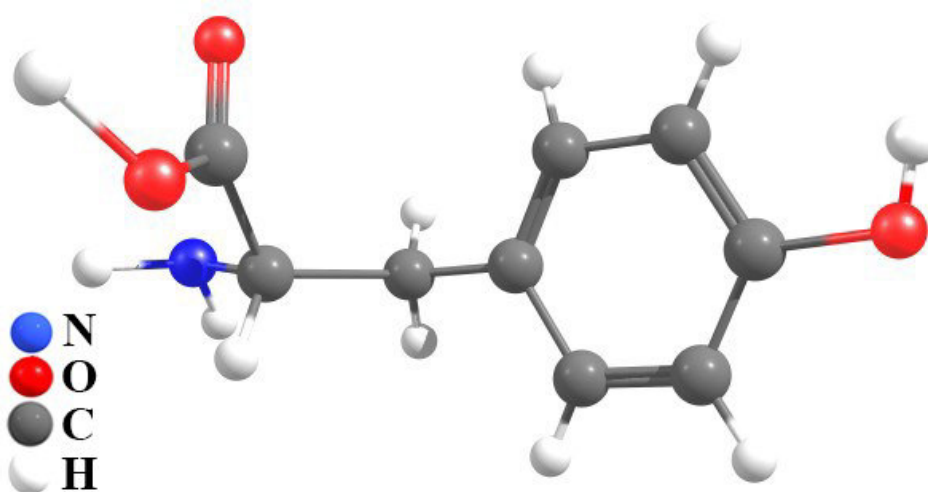


Figura 7. Estrutura molecular da tirosina.
Fonte: Elaboração própria.

A L-tirosina é uma molécula amplamente estudada por formar proteínas com importante papel de precursor em hormônios da tireoide e neurotransmissores, *e.g.*, dopamina, adrenalina e norepinefrina, utilizada no tratamento de distúrbios do sono, depressão e abstinência ao uso

de drogas. Além disso, de acordo com Winkler e Gray [54], a tirosina evita danos reativos de alto potencial intermediados por redução seguida pela transferência do oxidante equivalente a locais menos prejudiciais ou totalmente fora da proteína, desempenhando importante função em processos de redox biológico.

Atualmente existem várias técnicas que podem ser utilizadas no processo de complexação de metais com diferentes ligantes, *e.g.*, crescimento de cristal por evaporação lenta do solvente [24], método Czochralski [55], crescimento por zona de fusão [56], técnica epitaxial [57], dentre outras, sendo a mais comumente utilizada a técnica de crescimento de cristais por meio da evaporação lenta do solvente.

2.2 Crescimento de cristais

A palavra cristal deriva do grego κρύσταλλος (*krystallos*) que significa ao mesmo tempo "gelo" e "quartzo", uma vez que, antigamente, acreditava-se que as geleiras eram constituídas de quartzo. Os cristais apresentam-se no estado sólido, no qual seus átomos encontram-se arranjados de forma ordenada, obedecendo um padrão de repetição e periodicidade a longo alcance que se repete por toda a sua estrutura [58–60].

A formação dos cristais é oriunda do processo de cristalização no qual ocorre uma transição de fase de primeira ordem, onde um arranjo anteriormente desordenado de partículas presentes em uma solução ou na forma de vapor se reorganiza em um novo arranjo que apresenta periodicidade, em que a força motriz do processo reduz a energia livre de Gibbs do sistema, cuja variação negativa indica a espontaneidade da operação [58,61].

Os cristais podem ser encontrados na natureza ou sintetizados em laboratório através de diversas técnicas, dentre as quais a evaporação lenta do solvente é geralmente a mais usada por sua fácil reprodução e baixo custo. A partir desse método, a solução atinge a supersaturação através da evaporação lenta do solvente, gerando núcleos que podem evoluir para um cristal, formando aglomerados que crescem de forma ordenada em três dimensões [59,60].

No contexto do crescimento de cristais pela evaporação lenta do solvente, o estado de solubilidade da solução é um dos fatores essenciais no processo de cristalização. Uma solução é classificada como saturada quando está em equilíbrio termodinâmico com a fase sólida em determinada temperatura. A supersaturação, que é uma condição necessária para a cristalização, ocorre quando a quantidade de soluto dissolvido na solução é maior do que no estado de saturação.

Os termos *supersaturação*, para indicar a zona instável de supersaturação, e *metaestável*, que se refere a uma região intermediária entre a zona estável (insaturada) e a zona instável de supersaturação de uma solução, foram introduzidos em 1897 por Ostwald. Miers e Issac, alguns anos depois, apresentaram um diagrama esquemático de solubilidade-supersolubilidade (Figura 8) que mostra a relação entre a supersaturação e a cristalização espontânea [58,60].

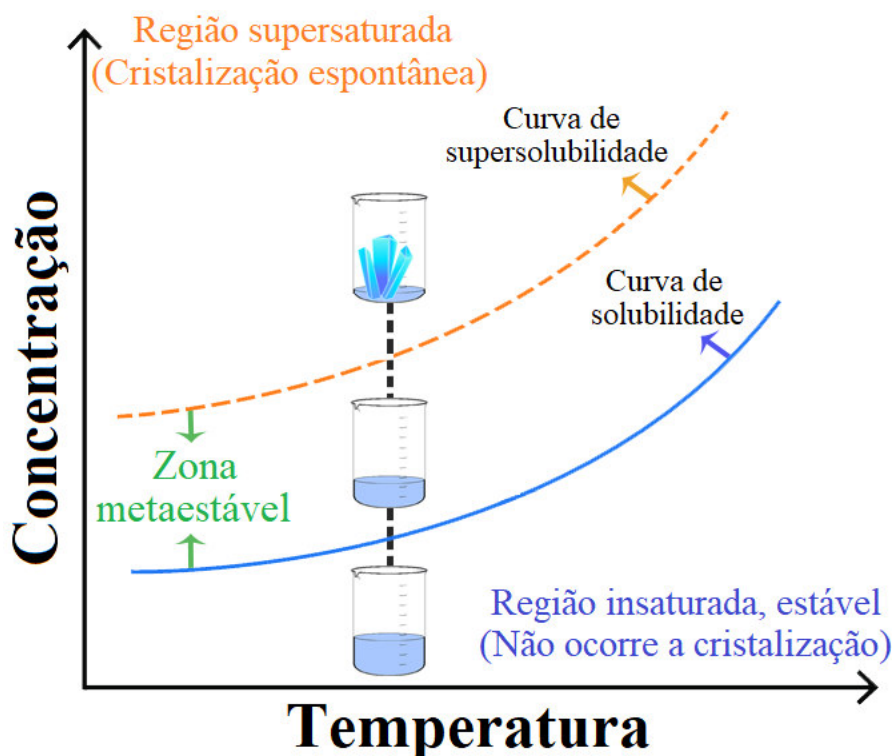


Figura 8. Diagrama de solubilidade-supersolubilidade.
Fonte: Elaboração própria.

Na Figura 8, a região abaixo da curva de solubilidade (em azul) é uma zona estável em que a solução encontra-se em um estado de instauração, onde a cristalização não ocorre. Na zona metaestável, região entre a curva de solubilidade e a curva de supersolubilidade¹ (tracejada em laranja), a solução começa a saturar, sendo que a cristalização espontânea é improvável, todavia, pode ocorrer o crescimento de cristal se uma semente for adicionada. A zona supersaturada, região acima da curva de supersolubilidade, é uma região instável, onde a cristalização espontânea é provável, no entanto, uma vez que a nucleação é um processo estocástico, ela pode ou não ocorrer [58–61].

¹ A curva de supersolubilidade não é bem definida como a curva de solubilidade por ser influenciada pelas condições fluidodinâmicas do sistema, bem como pela presença de impurezas.

Após a nucleação, ocorre a fase do crescimento do cristal, onde os núcleos aumentam de tamanho até formar o cristal, cujo formato e tamanho final dependem dos elementos utilizados e das condições do meio, *e.g.*, potencial hidrogeniônico (pH), temperatura, pressão, dentre outros. A periodicidade presente nas mais variadas estruturas cristalinas apresenta elementos de simetria em centros, eixos, planos e pontos de inversão que podem ser agrupados em 32 classes de pontos possíveis dentro de sete sistemas, os sistemas cristalinos.

2.2.1 Sistemas cristalinos

O padrão repetitivo presente em uma rede cristalina é devido ao ordenamento dos seus átomos, que pode ser melhor entendido ao se subdividir o arranjo em pequenas unidades, denominadas células unitárias (Figura 9), escolhidas convenientemente para representar a simetria da estrutura cristalina, de modo que as posições atômicas de toda a rede possam ser geradas a partir das translações dos seus comprimentos ao longo das suas arestas [62].

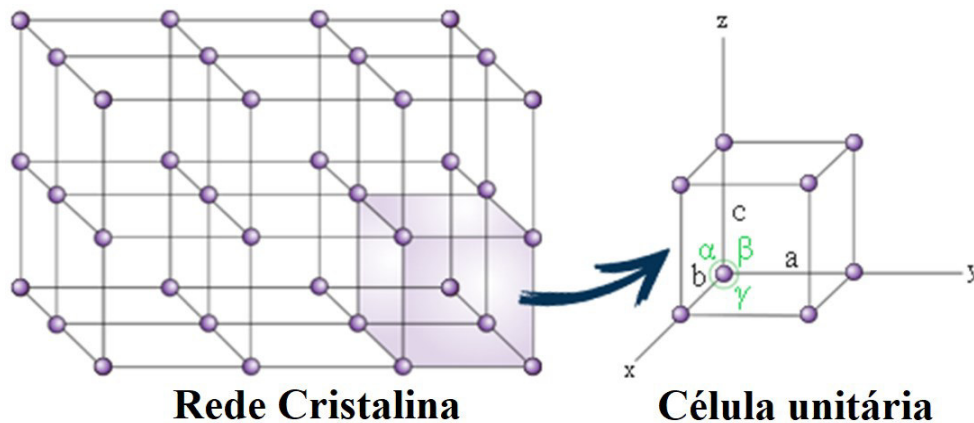


Figura 9. Rede cristalina e célula unitária com os eixos coordenados (x, y e z), comprimentos axiais (a, b e c) e ângulos entre os eixos (α, β e γ).
Fonte: Elaboração própria.

Para a determinação da geometria da célula unitária, estabelece-se um sistema ortogonal de coordenadas x, y e z com origem em um dos seus vértices, de forma que os eixos coincidam com três de suas arestas, onde são definidos os *parâmetros de rede* da estrutura cristalina a partir dos comprimentos das arestas a, b e c e dos ângulos entre os eixos coordenados α, β e γ . Os sistemas cristalinos (Figura 10) são obtidos com base nas sete possíveis combinações entre os parâmetros de rede, sendo eles os sistemas cúbico (que apresenta maior grau de simetria), hexagonal, romboédrico, tetragonal, ortorrômbico, monoclinico e triclinico [62,63].

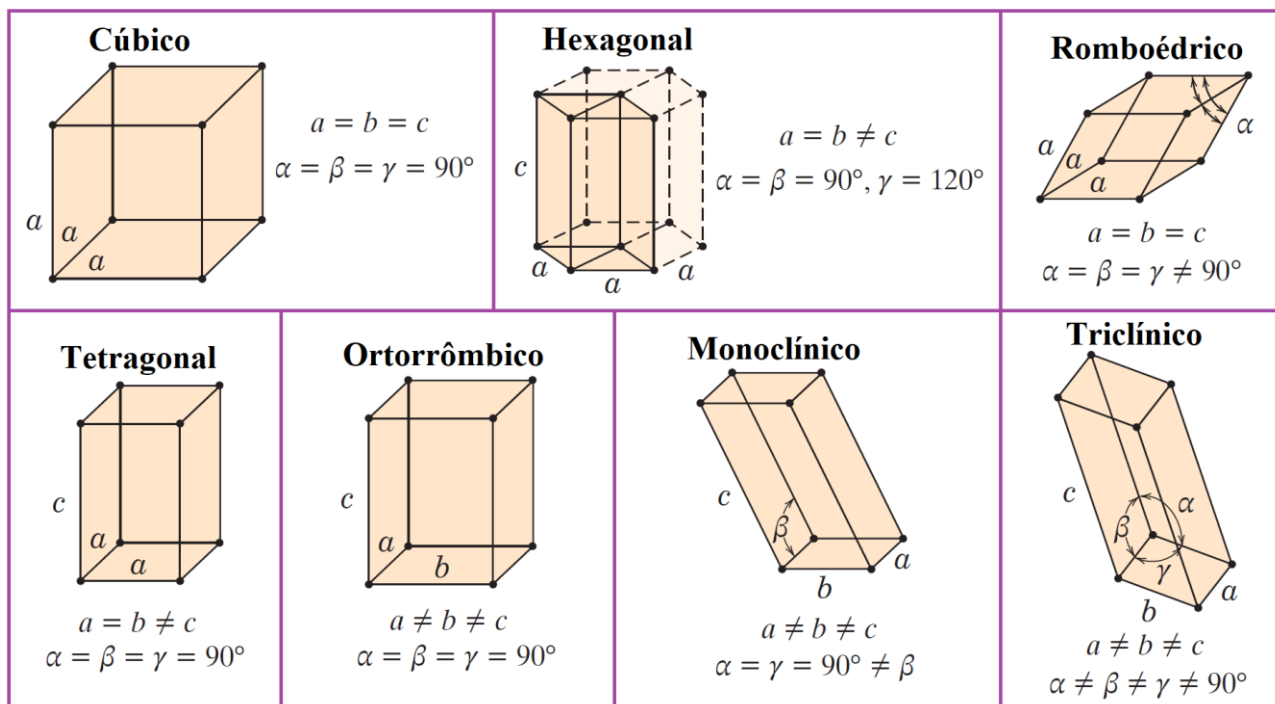


Figura 10. Os sistemas cristalinos e suas relações com os parâmetros da rede cristalina.

Fonte: Adaptado da referência [62].

As propriedades dos sistemas cristalinos podem ser investigadas a partir da análise de um conjunto de técnicas de caracterização que permitem a compreensão das características dos materiais, tais como composição, estrutura, propriedades térmicas, ópticas e vibracionais, dentre outras. A seguir serão apresentadas as técnicas empregadas neste trabalho, bem como os princípios gerais nos quais se fundamentam.

2.3 Técnicas de caracterização

A espectroscopia é uma das principais técnicas de caracterização na qual é possível analisar as propriedades físico-químicas dos materiais através da sua interação com a radiação eletromagnética por meio dos fenômenos de transmissão, espalhamento (elástico ou inelástico) e absorção, além de outros processos, *e.g.*, decaimento e produção de pares, que podem ser investigados em determinadas frequências ou comprimentos de onda em todo o espectro eletromagnético [64], conforme é ilustrado na Figura 11.

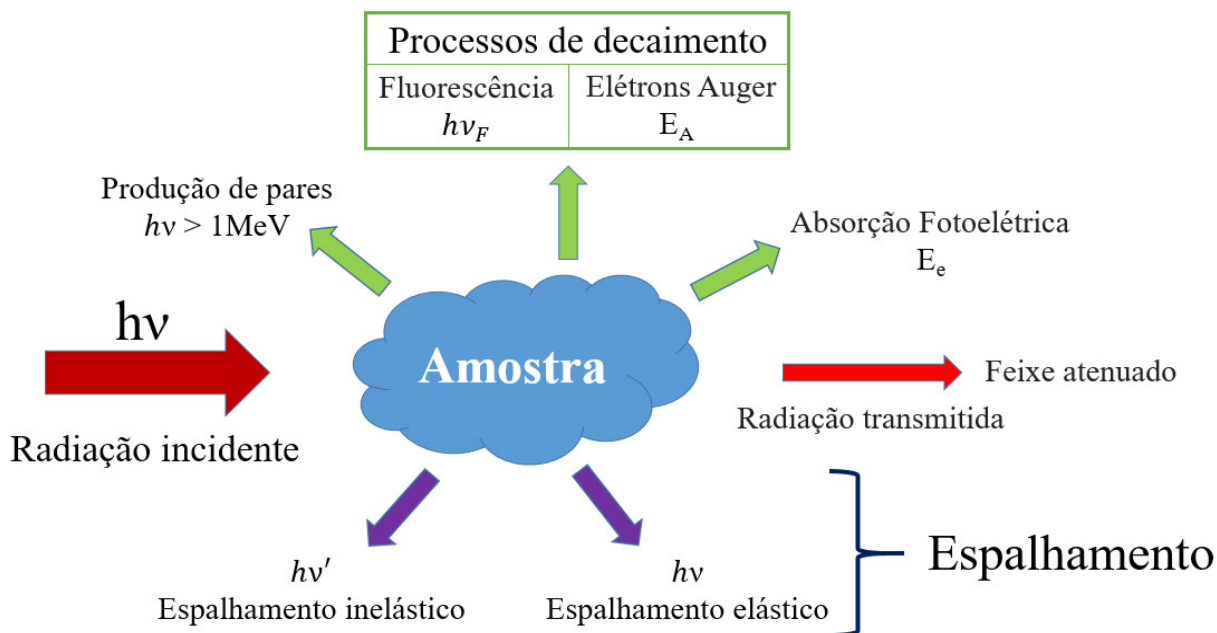


Figura 11. Representação esquemática da interação entre a radiação eletromagnética e a matéria.
Fonte: Elaboração própria.

As técnicas espectroscópicas empregadas neste trabalho são a espectroscopia de absorção no ultravioleta-visível (UV-Vis), difração de raios X (DRX), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR, do inglês *Fourier transform infrared*) e espectroscopia Raman.

2.3.1 Espectroscopia de absorção no ultravioleta-visível (UV-Vis)

A espectroscopia de absorção UV-Vis é baseada em medidas de absorção molecular da radiação eletromagnética na faixa de comprimento de onda do ultravioleta, de 220 a 380 nm, e visível, de 380 a 800 nm. Quanticamente, as moléculas possuem auto-estados discretos, onde os elétrons encontram-se em orbitais com níveis específicos de energia. Os fótons da região espectral UV-Vis têm energia suficiente para promover transições eletrônicas que são inferidas pela análise da atenuação da intensidade dos feixes incidentes ao atravessarem a amostra [65].

Considerando que um feixe de radiação monocromática com intensidade P_0 incide perpendicularmente em um bloco de matéria (Figura 12) com comprimento b e contendo n átomos absorventes, a intensidade P do feixe emergente é atenuada devido à absorção de uma parte da radiação.

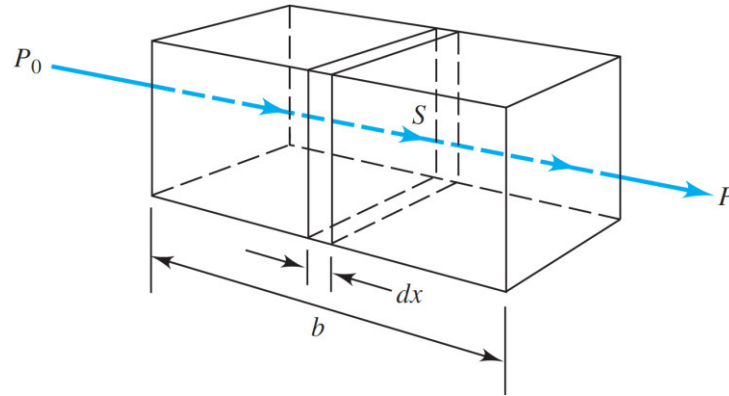


Figura 12. Representação esquemática da atenuação da intensidade de um feixe com intensidade P_0 para uma intensidade transmitida P ao atravessar um comprimento b cm de amostra absorvente.
Fonte: Referência [66].

A intensidade do feixe P_x que entra em uma seção de área S e espessura infinitesimal dx da amostra é proporcional ao número de fótons por unidade de área, sendo dP_x a intensidade absorvida nessa seção. Além disso, dentro da seção de área S existem dn partículas absorventes, assim, a probabilidade média para a captura de fótons é dada pela razão dS/S , onde dS é a área de captura dentro da seção de área S . Dessa forma, a fração absorvida $-dP_x/P_x$ é igual a probabilidade de captura dos fótons, de acordo com a Equação 1, sendo que o sinal negativo indica que a intensidade do feixe emergente decresce ao atravessar a região de absorção.

$$-\frac{dP_x}{P_x} = \frac{dS}{S} \quad (1)$$

A soma das áreas de captura de partículas dentro da seção deve ser proporcional ao número de partículas adn , em que dn é o número de partículas e a é uma constante de proporcionalidade referente à seção transversal de captura. A partir disto e integrando a Equação 1 no intervalo entre 0 a n , $-\int_{P_0}^P \frac{dP_x}{P_x} = \int_0^n \frac{adn}{S}$, obtém-se a Equação 2:

$$-\ln \frac{P}{P_0} = \frac{an}{S} \quad (2)$$

Rearranjando a Equação 2, convertendo para base de logaritmo 10 e sabendo que a área S pode ser reescrita como a razão entre o volume V cm³ do bloco de amostra da Figura 11 pelo comprimento b cm, pode-se reescrever a Equação 2 na forma da Equação 3:

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{anb}{2,303 V} \quad (3)$$

Além disso, nota-se que a razão n/V na Equação 3, que corresponde ao número de partículas por centímetros cúbicos da amostra, tem unidade de concentração, denotada por c e que pode ser convertida em mols. Combinando isto à Equação 3, chega-se à Equação 4:

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{6,02 \cdot 10^{23} abc}{2,303 \cdot 1000} \quad (4)$$

Por fim, todas as constantes da Equação 4 podem ser expressas em apenas um termo ε denominado absorvidade molar. Assim, obtém-se a Equação 5, conhecida como lei de Beer em homenagem ao físico e químico alemão August Beer, que mostra que a absorbância de luz (A) é diretamente proporcional à concentração da amostra absorvente e à distância percorrida pelo feixe no interior do material [65,66].

$$\log \frac{P_0}{P} = \varepsilon bc = A \quad (5)$$

Quando um feixe incide em uma cubeta contendo uma solução a ser analisada pela espectroscopia UV-Vis, uma parte da radiação é dispersa por reflexão nas interfaces do recipiente e por espalhamento, sendo que a atenuação do feixe emergente não representa toda a radiação absorvida pela amostra [66], conforme ilustra a Figura 13.

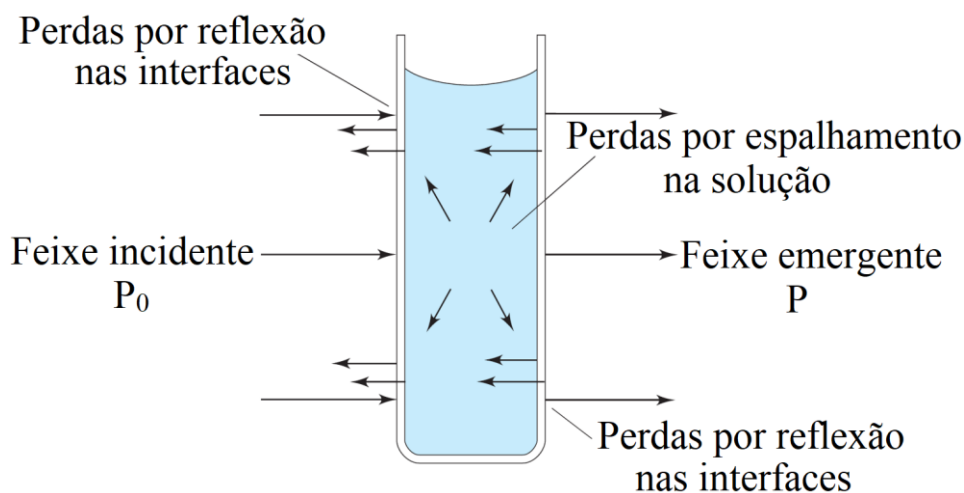


Figura 13. Perdas na intensidade do feixe incidente por reflexão e espalhamento em uma solução.
Fonte: Adaptado da referência [66].

Para compensar essas perdas, geralmente é utilizada uma cubeta idêntica contendo apenas o solvente, sendo que a absorvância é calculada em razão das intensidades dos feixes emergentes das células com a amostra e com o solvente [66,67].

2.3.2 Difração de raios X (DRX)

Dentro do espectro eletromagnético, os raios X são definidos na faixa de comprimento de onda entre 0,1 e 100 Å. Todavia, a difração de raios X em cristais pode ser observada apenas em comprimentos de onda que têm a mesma ordem de magnitude das distâncias interatômicas mais curtas, que estão na faixa de 0,5 a 2,5 Å. Os raios X se espalham a partir dos elétrons, de modo que os centros de espalhamentos ativos não são os núcleos dos átomos, mas sim a densidade de elétrons, periodicamente distribuída na rede cristalina [68].

Considerando uma onda eletromagnética monocromática e plana, de modo que tenha um vetor de onda \vec{k} bem definido incidindo na direção \hat{n} (Figura 14), os feixes difratados, com vetor de onda \vec{k}' na direção \hat{n}' , são formados a partir das interferências construtivas produzidas pelas reflexões nos planos paralelos da rede cristalina [63].

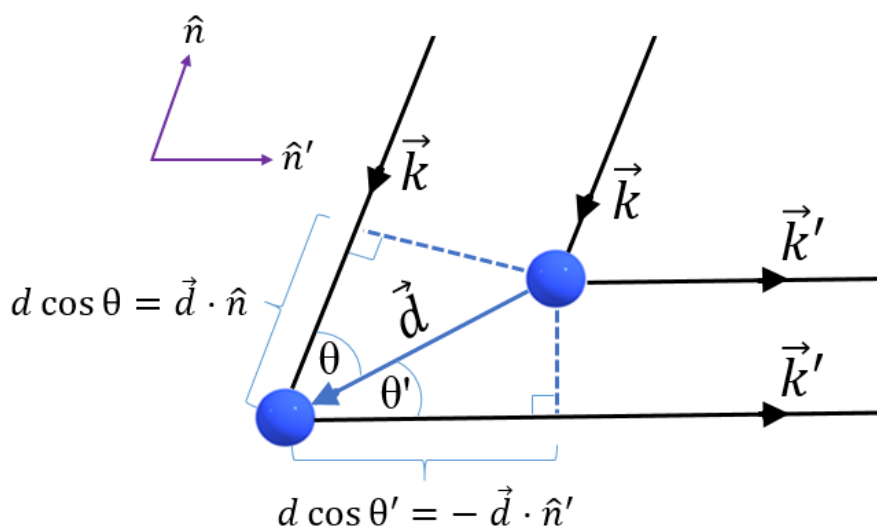


Figura 14. Representação esquemática da difração de raios X nos átomos da rede cristalina.
Fonte: Elaboração própria.

Para que haja uma interferência construtiva máxima na difração de raios X, a diferença de caminho entre o vetor de onda incidente e difratado $[\vec{d} \cdot \hat{n} + (-\vec{d}) \cdot \hat{n}']$ deve ser igual ao produto do comprimento de onda por um número inteiro m , conforme a Equação 6:

$$\vec{d} \cdot (\hat{n} - \hat{n}') = m\lambda \quad (m \in Z) \quad (6)$$

O fenômeno da difração de raios X é um espalhamento elástico da radiação eletromagnética ao interagir com a matéria, *i.e.*, as ondas incidente e refratada têm as mesmas energias e, conseqüentemente, os mesmos comprimentos de onda. Logo, é possível reescrever a Equação 6 em termos dos vetores de onda através das relações $\vec{k} = \frac{2\pi}{\lambda} \hat{n}$ e $\vec{k}' = \frac{2\pi}{\lambda} \hat{n}'$, conforme a Equação 7:

$$(\vec{k} - \vec{k}') = \frac{2\pi}{\vec{d}} m \quad (m \in Z) \quad (7)$$

A Equação 7, referente a dois átomos da rede cristalina, pode ser expandida para todos os átomos da estrutura ao se substituir o vetor \vec{d} pela distância interplanar d_{hkl} , que corresponde a se considerar todos os vetores de distâncias interatômicas. Para que essa condição seja satisfeita é necessário que o vetor diferença $(\vec{k} - \vec{k}')$, definido como vetor de espalhamento \vec{Q} , conforme Figura 15, seja igual a um vetor da rede recíproca², definido como $\vec{G} = h\vec{a}^* + k\vec{b}^* + l\vec{c}^*$, cujo módulo é $|\vec{G}_{hkl}| = \frac{2\pi}{d_{hkl}}$ [63,68], em que h , k e l são os índices de Miller, utilizados para indexar os planos cristalográficos.

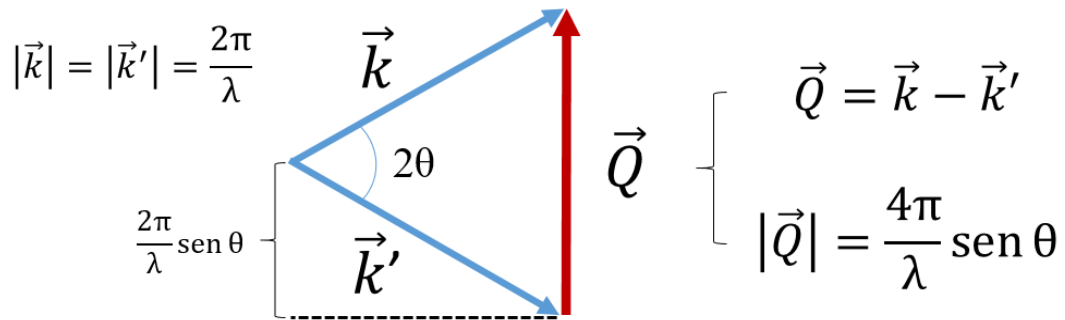


Figura 15. Diagrama esquemático do vetor de espalhamento.
Fonte: Elaboração própria.

Assim, chega-se à Equação 8, conhecida como condição de difração de Laue, em homenagem ao físico alemão Max von Laue por ser o primeiro a observar e explicar o fenômeno

² Onde $\vec{a}^* = 2\pi \frac{(\vec{b} \times \vec{c})}{\vec{a} \cdot (\vec{b} \times \vec{c})}$, $\vec{b}^* = 2\pi \frac{(\vec{c} \times \vec{a})}{\vec{a} \cdot (\vec{b} \times \vec{c})}$ e $\vec{c}^* = 2\pi \frac{(\vec{a} \times \vec{b})}{\vec{a} \cdot (\vec{b} \times \vec{c})}$, sendo \vec{a} , \vec{b} e \vec{c} as translações elementares na rede recíproca.

da difração de raios X em 1912, vindo a ser laureado com o prêmio Nobel de Física em 1914 por sua descoberta da difração de raios X em cristais [68].

$$\overrightarrow{G_{hkl}} = \vec{Q} \quad (8)$$

A condição de difração de Laue pode ser reescrita na forma escalar a partir da Equação 8 utilizando os módulos dos vetores $\overrightarrow{G_{hkl}}$ e \vec{Q} , conforme a Equação 9:

$$2d_{hkl} \sin \theta = m\lambda \quad (m \in Z) \quad (9)$$

Essa equação é conhecida como Lei de Bragg devido às contribuições dos físicos e matemáticos britânicos William Henry Bragg e seu filho William Laurence Bragg que em 1913, laureados com o Nobel de Física em 1915 por suas contribuições na análise de estruturas cristalinas por meio da difração de raios X [68].

Nesse contexto, os métodos padronizados de difração de raios X utilizados na análise de estruturas cristalinas são projetados de forma a satisfazer as condições da Lei de Bragg. Dentre esses métodos, a difração de raios X em pó é a mais utilizada para caracterização estrutural de policristais, uma vez que a distribuição das orientações dos cristalitos é aproximadamente contínua [63,68].

Após a obtenção dos difratogramas das amostras é necessária a realização de tratamento matemático, denominado refinamento, das variáveis e parâmetros cristalinos para a determinação da estrutura cristalina. Dentre os refinamentos mais utilizados na cristalografia estão os métodos Rietveld e Le Bail.

2.3.2.1 Método Rietveld e método Le Bail

O método Rietveld foi desenvolvido na década de 1960 pelo físico holandês Hugo Rietveld inicialmente para o tratamento de dados em difração de nêutrons [69,70], sendo sua abordagem posteriormente estendida à difração de raios X [71]. O trabalho de Rietveld foi pioneiro na utilização da computação no tratamento de dados de difração, onde o ajustamento dos parâmetros de uma amostra cristalina a um padrão de estrutura já conhecida é feito através de cálculo numérico pelo método de mínimos quadrados.

O intuito do método Rietveld é analisar a difração de raios X em pó usando uma variedade de parâmetros refináveis, de modo a contornar o problema de sobreposições de picos sistemáticas e acidentais inerentes do procedimento experimental. Entretanto, o método não é uma ferramenta ativa para análise das estruturas cristalinas *ab initio*, *i.e.*, é possível apenas modificar ligeiramente um modelo preconcebido construído com base em conhecimentos externos anteriores [68,71].

A somatória das diferenças de intensidades medidas e calculadas S_y (Eq. 10) é a quantidade minimizada no refinamento:

$$S_y = \sum_{i=1}^n w_i (y_{io} - y_{ic})^2 \quad (10)$$

onde $w_i = 1/y_{io}$, y_{io} é a intensidade observada no i -ésimo ponto e y_{ic} é intensidade calculada no i -ésimo ponto.

A qualidade do refinamento é definida com base em alguns parâmetros que estimam a concordância entre o modelo utilizado e os resultados experimentais, levando-se em consideração as condições de difração e a existência de mínimos globais. Esses parâmetros são monitorados durante o refinamento e definidos por:

$$R\text{-perfil} = R_p = \frac{\sum_{i=1}^n |y_{io} - y_{ic}|}{\sum_{i=1}^n y_{io}} \times 100\% \quad (11)$$

$$R\text{-perfil ponderado} = R_{wp} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_{io} - y_{ic})^2}{\sum_{i=1}^n w_i (y_{io})^2}} \times 100\% \quad (12)$$

$$R\text{-esperado} = R_{exp} = \sqrt{\frac{N - P}{\sum_{i=1}^n w_i (y_{io})^2}} \times 100\% \quad (13)$$

$$\text{GOF} = S = \frac{R_{wp}}{R_{exp}} \quad (14)$$

onde N é o número de pontos experimentais e P é o número de parâmetros ajustados.

Os parâmetros estatisticamente mais significativos são o R_p e R_{wp} , que melhor refletem o progresso do refinamento, e o S (Goodness Of Fit – GOF), que relaciona a qualidade do ajuste entre os difratogramas observado e calculado. Bons refinamentos apresentam R_p e R_{wp} entre 2 e 10% e S o mais próximo de 1, sendo aceitável valores inferiores a 4. Por fim, deve-se considerar o aspecto gráfico comparativo entre os difratogramas para que o ajuste seja apontado como satisfatório [71,72].

O método Le Bail, desenvolvido pelo cientista francês Armel Le Bail em 1988 [73], apresenta certa semelhança com o método Rietveld, exceto pelo fato de que não necessita de uma estrutura cristalina já conhecida para ser usada como padrão no refinamento. Nesse método, as posições de reflexão também são determinadas a partir do grupo espacial e dos parâmetros da célula unitária, todavia, as intensidades de reflexão são tratadas como arbitrárias, tendendo a evoluir iterativamente no refinamento pelo método de mínimos quadrados [74].

Uma das principais aplicações para o método Le Bail é a obtenção de um conjunto de intensidades integradas que podem ser utilizadas para a determinação de estruturas desconhecidas. Nesse refinamento é exigido mais ciclos de iteração que no refinamento Rietveld, porém, apenas os parâmetros da célula unitária e os picos são utilizados na minimização dos quadrados [68,74].

Existem atualmente vários softwares disponíveis para a realização do refinamento de estruturas cristalinas através da deconvolução do padrão de difração de raios X, *e.g.*, GSAS, FullProf, DBWS Tools, nos quais é possível obter as informações estruturais acerca dos parâmetros de rede, coordenadas atômicas, tamanho do cristalito, dentre outras.

2.3.3 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

A região do infravermelho é comumente subdivida em infravermelho distante, na faixa de 14000 a 4000 cm^{-1} , infravermelho médio, entre 4000 e 400 cm^{-1} , e infravermelho próximo, de 400 a 10 cm^{-1} [75], sendo que para a caracterização de amostras orgânicas e inorgânicas a radiação no infravermelho médio é a mais utilizada, uma vez que vários grupamentos que constituem esses materiais possuem vibrações para essa faixa do espectro.

A energia associada à radiação infravermelha não é suficiente para que ocorram transições eletrônicas, todavia, de acordo com algumas regras de seleção, a absorção dessa energia pode provocar mudanças nos estados vibracionais fundamentais dos átomos, dessa forma, é possível obter um espectro vibracional do material em análise. Essas vibrações

moleculares se dão por conta do confinamento dos átomos na estrutura cristalina, que resulta em uma quantização de energia associada a uma quase-partícula denominada fônon, que designa um quantum de vibração em um retículo cristalino rígido [63,76].

A absorção da energia da luz infravermelha ocorre principalmente pela transição entre níveis de energia de vibrações moleculares em que a energia de um fóton absorvido $h\nu$, onde h é a constante de Planck e ν é a frequência do fóton, deve ser igual à diferença de energia entre dois desses estados de vibração separados por um número quântico vibracional $\Delta\nu = \pm 1$. Entretanto, outra regra de seleção deve ser atendida para haja a absorção da radiação infravermelha, na qual, durante a vibração, a derivada do momento de dipolo em torno da posição de equilíbrio seja não nula, *i.e.*, é necessária uma variação do momento de dipolo elétrico durante a vibração, como ilustra a Figura 16 [75,76].

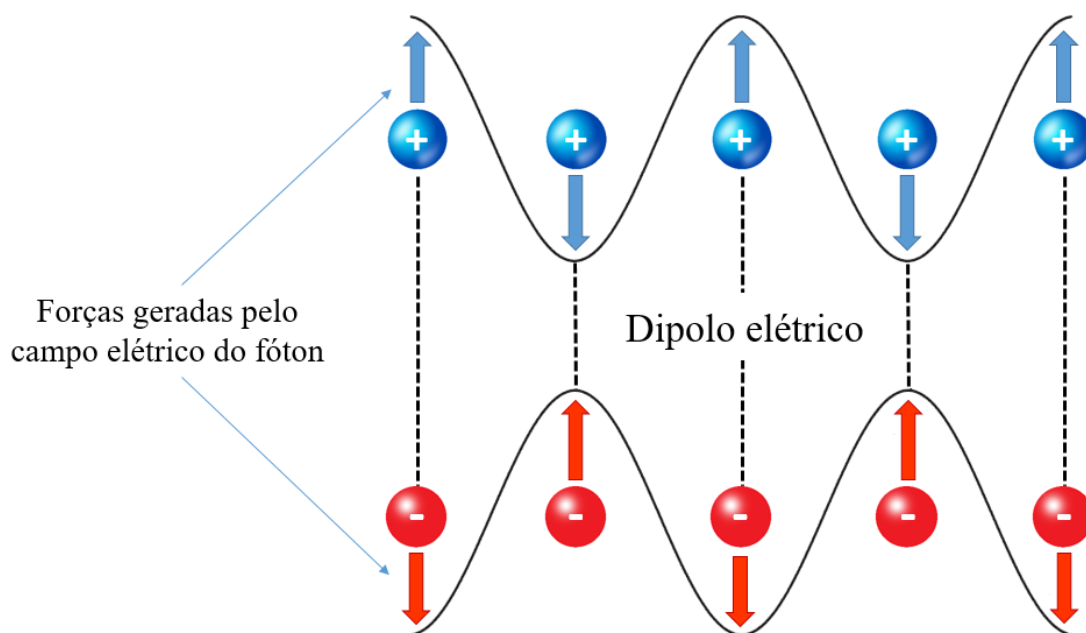


Figura 16. Representação esquemática da variação do momento de dipolo elétrico molecular devido às forças geradas pela oscilação do campo elétrico do fóton.

Fonte: Elaboração própria.

Os momentos de dipolo nas moléculas sem carga são oriundos das cargas parciais nos átomos, que podem ser estimadas por comparações das suas eletronegatividades. A Figura 16 mostra um campo elétrico oscilante (considerado uniforme em toda a molécula, uma vez que o seu comprimento de onda é muito maior que o tamanho da maioria das moléculas) de uma radiação infravermelha, gerando forças em um dipolo molecular que aumentam e diminuem o espaçamento entre as cargas, o que provoca a variação do momento dipolar [75].

Em uma molécula com N átomos existem $3N - 6$ graus de liberdade, dando origem às vibrações fundamentais, no entanto, devido às regras de seleção, nem todos esses modos de vibração são ativos no espectro infravermelho [66,75]. As vibrações identificadas na espectroscopia vibracional (Figura 17) são classificadas em vibrações de estiramento, que incluem estiramentos simétricos e antissimétricos das distâncias interatômicas ao longo do eixo de ligação entre os átomos, e vibrações de deformação, que caracterizam a variação entre os ângulos das ligações e se subdividem em deformações simétricas e antissimétricas no plano e fora do plano. Além disso, existem as torções, onde os átomos giram em torno de um eixo que passa pelo centro da molécula.

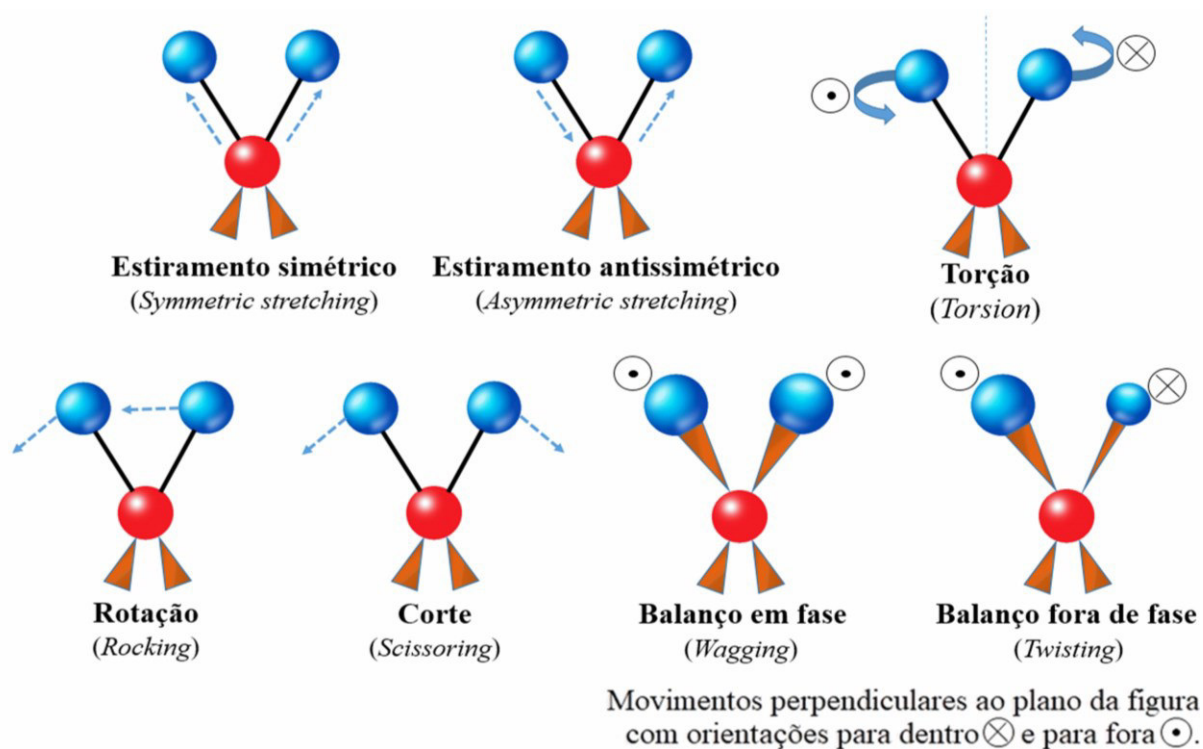


Figura 17. Movimentos vibracionais moleculares.
Fonte: Elaboração própria.

Os espectros de FT-IR são obtidos através de um interferômetro cujo sinal de saída, o interferograma, é tratado matematicamente com transformadas de Fourier, uma função que converte o domínio de tempo no qual o interferograma é obtido para o domínio de frequência. Através desse procedimento é possível detectar e medir simultaneamente uma grande faixa de comprimentos de onda com baixo ruído do sinal e com maior rapidez [77].

2.3.4 Espectroscopia Raman

Os espectros Raman também fornecem informações sobre as características vibracionais específicas de cada molécula, no entanto, diferentemente do FT-IR, o efeito Raman trata-se de um espalhamento inelástico, *i.e.*, a radiação espalhada pode ser mais ou menos energética do que a radiação incidente, podendo ser observado utilizando-se luz com maior energia do que o infravermelho, *e.g.*, radiação na faixa de luz visível ou ultravioleta.

O espalhamento inelástico da luz foi previsto teoricamente em 1923 pelo físico austríaco Adolf Smekal, todavia, o efeito só foi comprovado experimentalmente em 1928 através dos trabalhos do físico indiano Chandrasekhara Venkata Raman [78,79]. Raman percebeu que os deslocamentos de frequências observados tinham íntima ligação com as frequências de oscilação moleculares específicas de cada material, vindo a ser laureado com o prêmio Nobel de Física em 1930 por seus trabalhos no espalhamento da luz e pela descoberta do efeito que leva o seu nome.

Para que ocorra o efeito Raman é necessária uma variação da polarizabilidade durante a vibração, a regra de seleção é que, durante a vibração, a derivada do tensor de polarizabilidade em torno da posição de equilíbrio deve ser não nula [75,80]. A polarizabilidade molecular, como ilustra a Figura 18, é oriunda de forças de um campo elétrico externo que causam deformação na nuvem eletrônica, provocando um deslocamento de cargas e induzindo um momento de dipolo oscilante na molécula.

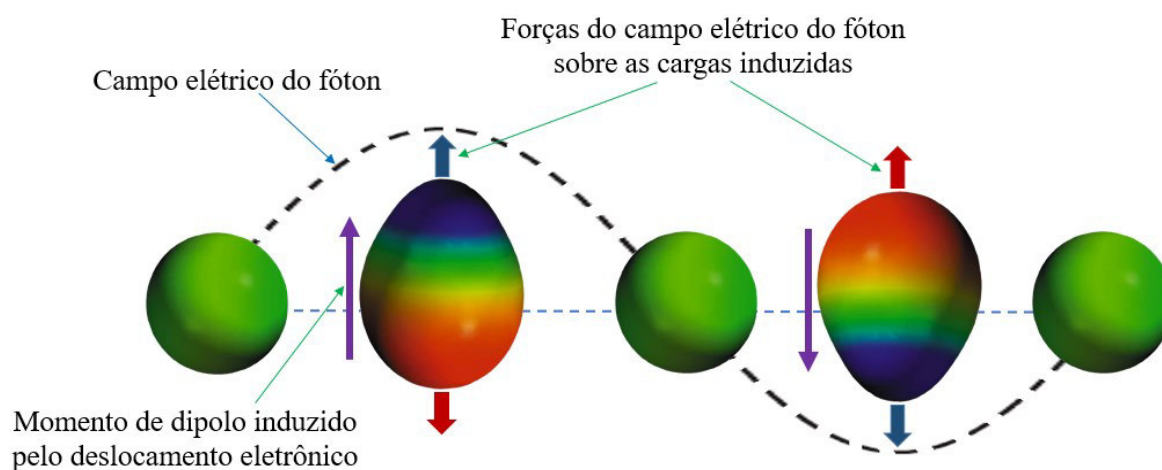


Figura 18. Momento de dipolo induzido em uma molécula diatômica pelo campo elétrico oscilante de uma radiação incidente. As regiões com cargas parciais negativas são indicadas com a cor vermelha e as com cargas parciais positivas com a cor azul.

Fonte: Elaboração própria.

Pode-se tratar quantitativamente o efeito Raman analisando um campo elétrico incidente \vec{E} de luz monocromática com frequência ω_0 e amplitude E_0 como uma onda plana na forma $\vec{E}_0 \cos \omega_0 t$, que induz um momento de dipolo oscilante (\vec{m}) de acordo com a Equação 15:

$$\vec{m} = \vec{\alpha} \vec{E} \quad (15)$$

O momento de dipolo induzido depende da polarizabilidade $\vec{\alpha}$, descrito fisicamente como um tensor de segunda ordem que relaciona os vetores \vec{m} e \vec{E} , uma vez que os meios materiais comumente são anisotrópicos e não lineares, logo, esses vetores não são necessariamente paralelos entre si. O tensor de polarizabilidade é definido em função da configuração espacial do sistema molecular, estando associado a vibrações atômicas caracterizadas por coordenadas normais \vec{Q}_k e frequência de oscilação ω_k [80].

Tendo em vista que as amplitudes das oscilações em torno das posições de equilíbrio são muito pequenas em comparação com as vibrações da rede, é possível expandir o tensor de polarizabilidade em uma série de Taylor, conforme a Equação 16:

$$\vec{\alpha} = \vec{\alpha}_0 + \left(\frac{\partial \vec{\alpha}}{\partial \vec{Q}_k}\right)_0 \vec{Q}_k + \frac{1}{2!} \left(\frac{\partial^2 \vec{\alpha}}{\partial \vec{Q}_k^2}\right)_0 \vec{Q}_k^2 + \dots \quad (16)$$

onde $\vec{\alpha}_0$ representa a polarizabilidade na configuração de equilíbrio.

Uma vez que as vibrações em torno das posições de equilíbrio são muito pequenas, pode-se simplificar a Equação 6 truncando a série a partir dos termos de ordem quadrática. A partir disto e sabendo que $\vec{Q}_k = \vec{Q}_{k_0} \cos(\omega_k t + \delta_k)$, em que \vec{Q}_{k_0} é a amplitude da coordenada normal e δ_k é um fator de fase, chega-se à Equação 17:

$$\vec{\alpha} = \vec{\alpha}_0 + \left(\frac{\partial \vec{\alpha}}{\partial \vec{Q}_k}\right)_0 [\vec{Q}_{k_0} \cos(\omega_k t + \delta_k)] \quad (17)$$

Substituindo a Equação 17 na Equação 15 obtém-se a Equação 18:

$$\vec{m} = \left\{ \vec{\alpha}_0 + \left(\frac{\partial \vec{\alpha}}{\partial \vec{Q}_k}\right)_0 [\vec{Q}_{k_0} \cos(\omega_k t + \delta_k)] \right\} (\vec{E}_0 \cos \omega_0 t) \quad (18)$$

Por fim, desenvolvendo-se a Equação 18 e utilizando-se a relação trigonométrica $\cos A \cos B = \frac{1}{2}[\cos(A + B) + \cos(A - B)]$, tem-se a Equação 19:

$$\vec{m} = \vec{\alpha}_0 \vec{E}_0 \cos \omega_0 t + \frac{\vec{E}_0 \vec{Q}_{k_0}}{2} \left(\frac{\partial \vec{\alpha}}{\partial \vec{Q}_k} \right)_0 \{ \cos[(\omega_0 + \omega_k)t + \delta_k] + \cos[(\omega_0 - \omega_k)t - \delta_k] \} \quad (19)$$

A Equação 19 descreve um momento de dipolo induzido que possui três diferentes componentes de frequências, sendo a primeira delas (ω_0) referente a um espalhamento elástico, denominado espalhamento Rayleigh, onde as frequências incidente e de vibração são iguais. As outras frequências ($\omega_0 - \omega_k$) e ($\omega_0 + \omega_k$), ilustradas na Figura 19, são oriundas de espalhamentos inelásticos, denominados Stokes e Anti-Stokes, que caracterizam o efeito Raman. É possível perceber ainda, a partir da Equação 19, que o efeito Raman ocorre apenas se $\left(\frac{\partial \vec{\alpha}}{\partial \vec{Q}_k} \right)_0$ for não nulo, *i.e.*, deve haver uma variação na polarizabilidade com o deslocamento das coordenadas normais em torno da posição de equilíbrio [75,80].

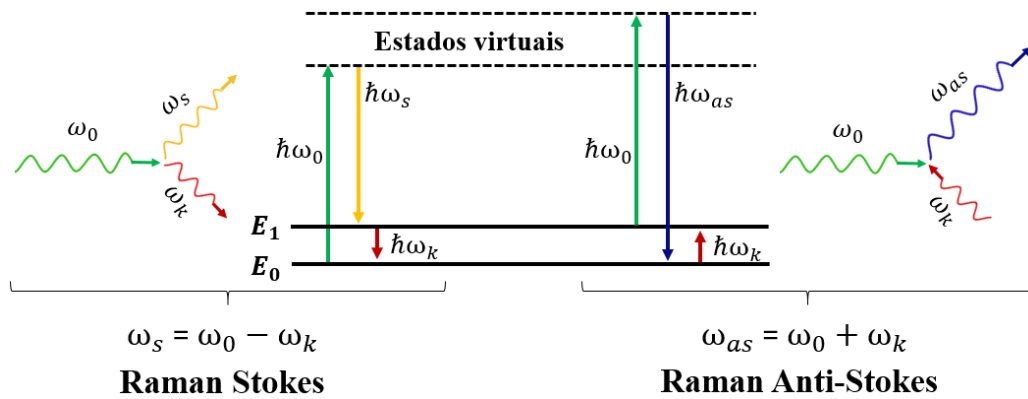


Figura 19. Diagrama esquemático dos processos Raman Stokes e Raman Anti-Stokes.
Fonte: Elaboração própria.

A Figura 19 apresenta um diagrama esquemático dos processos de espalhamento inelástico Raman Stokes, no qual a energia da radiação incidente oriunda de fótons é perdida parcialmente para criação de modos vibracionais, resultando em um espalhamento com menor energia, e o Raman Anti-Stokes, no qual modos vibracionais são aniquilados e suas energias transferidas para o espalhamento de uma radiação com maior energia que a incidente. Essas diferenças de energia entre as radiações incidente e espalhada são características de cada material, o que permite, a partir da análise dos espectros Raman, a identificação dos modos vibracionais de cada amostra.

2.3.5 Análise térmica

A análise térmica é outra importante ferramenta para caracterização dos materiais, na qual é possível analisar as suas propriedades físico-químicas fornecendo-se calor à amostra. Embora o estudo dos efeitos do calor sobre os materiais tenha uma longa história, que se inicia com as primeiras tentativas de produção de cerâmicas, extração de metais (cerca de 8000 a.C.) e fabricação de vidros (cerca de 3400 a.C.), somente no final do século XIX os experimentos tornaram-se mais controlados e quantitativos, quando desenvolveu-se as técnicas termoanalíticas, que permitem uma análise que pode levar à melhoria de processos de moldagem, transporte, conservação e aplicação dos materiais [81].

A calorimetria exploratória diferencial (DSC, do inglês *differential scanning calorimetry*) é uma técnica termoanalítica na qual é possível obter informações das mudanças térmicas de uma amostra em relação a uma amostra inerte de referência submetida ao mesmo aquecimento ou resfriamento, onde o termo “diferencial” enfatiza uma importante característica em que dois sensores idênticos são utilizados para medições, de forma que a variação térmica em estudo não é afetada pelos diversos efeitos térmicos que influenciam ambos os materiais igualmente [82].

A Figura 20 apresenta uma curva DSC hipotética com alguns eventos típicos.

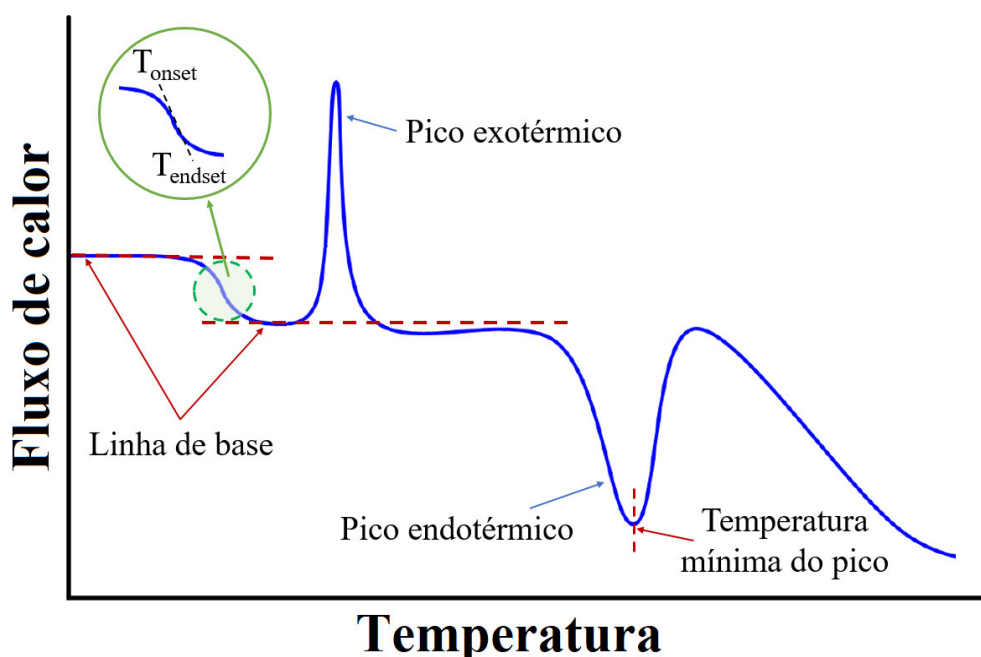


Figura 20. Esquema de uma curva DSC hipotética.
Fonte: Adaptado da referência [81]

Na Figura 20, os picos com deslocamento negativo normalmente representam eventos endotérmicos e picos com deslocamento positivo eventos exotérmicos. No início da curva é possível perceber uma variação entre as linhas de base no sentido endotérmico, evento comumente atribuído à transição vítrea em materiais não cristalinos. Os picos exotérmicos e endotérmicos, que variam de posição e largura para diferentes materiais, podem caracterizar eventos de oxidação e fusão, respectivamente [82].

A partir das curvas DSC é possível obter informações sobre as variações de temperatura e entalpia para os eventos térmicos ocorridos no experimento que envolvem ponto de fusão, calor específico, oxidação, pureza, temperatura de transição vítrea e de cristalização, sendo usadas em grande diversidade de materiais, *e.g.*, metais e ligas, polímeros, vidros, cerâmicas, dentre outros [81,82].

2.4 Estudo computacional

Em decorrência dos avanços tecnológicos e científicos dos últimos anos, o uso da simulação computacional para o estudo de sistemas de muitos corpos vem se tornando predominante na abordagem teórica de uma grande variedade de materiais. O tratamento desses sistemas moleculares é fundamentado na mecânica quântica com a construção de um hamiltoniano \hat{H} (função que atua em um espaço de sistemas físicos, denominada de operador, cujo observável corresponde à energia total do sistema) e na solução da equação de Schrödinger [83] (Eq. 20):

$$\hat{H}\psi_n = E_n\psi_n \quad (20)$$

onde ψ_n e E_n são as funções de onda e energia total do sistema, respectivamente.

O Hamiltoniano não relativístico independente do tempo para sistemas moleculares de muitos elétrons e núcleos é dado pela Equação 21, sendo composto pelos operadores de energia cinética \hat{T}_e dos elétrons e \hat{T}_N dos núcleos e pelos operadores de energia potencial \hat{V}_{Ne} referente à interação elétron-núcleo, \hat{V}_e para repulsão entre os elétrons e \hat{V}_N para repulsão entre os núcleos.

$$\hat{H} = \hat{T}_e + \hat{V}_{Ne} + \hat{V}_e + \hat{T}_N + \hat{V}_N \quad (21)$$

Todavia, com exceção de alguns sistemas mais simples, *e.g.*, o átomo de hidrogênio, não é possível obter soluções analíticas para a equação de Schrödinger em estruturas com mais de dois elétrons, sendo necessário o uso de aproximações que permitam o emprego de técnicas numéricas para descrever o sistema.

Uma primeira aproximação utilizada para a Equação 21 foi proposta em 1927 por Born e Oppenheimer [84] ao considerarem um desacoplamento dos movimentos dos núcleos e dos elétrons, uma vez que o núcleo dos átomos tem massa muito maior que a dos elétrons, logo, a velocidade dos elétrons é muito superior à do núcleo, o que leva a suposição de que os núcleos estão praticamente em repouso em relação aos elétrons e assim o movimento eletrônico ocorreria em um campo nuclear fixo. Dessa forma, \hat{T}_N é nula e \hat{V}_N constante.

No entanto, mesmo com a aproximação de Born-Oppenheimer, o Hamiltoniano eletrônico ainda é de difícil solução. Para contornar esse problema, em 1928, Douglas Hartree [85] propôs tratar a equação de Schrödinger separadamente para cada elétron sob a ação de um campo médio efetivo. Posteriormente, em 1930, Jhon Slater [86] e Vladimir Fock [87] apresentaram uma complementação ao modelo de Hartree, conhecida como modelo de Hartree-Fock, que leva em consideração o princípio de antissimetria da função de onda através do determinante de Slater [88].

Contudo, apesar do método de Hartree-Fock oferecer resultados precisos utilizando a função de onda como variável fundamental, o seu emprego demanda um alto custo computacional. Nesse contexto, a Teoria do Funcional da Densidade (DFT, do inglês *density functional theory*) é uma abordagem que descreve com grande eficiência o comportamento quântico de átomos e moléculas com custo computacional relativamente baixo em comparação com o método de Hartree-Fock e outros métodos pós-Hartree-Fock.

2.4.1 Teoria do funcional da densidade (DFT)

O DFT tem origem no final da década de 1920 com os trabalhos independentes de Llewelly Thomas e Enrico Fermi que tinham como objetivo determinar o estado fundamental de átomos com muitos elétrons baseando-se em considerações semiclássicas e estatísticas. No entanto, o desenvolvimento da teoria se deu apenas na década de 1960 através de dois teoremas onde Pierre Hohenberg e Walter Kohn [89] demonstram que a densidade de carga do estado fundamental de um sistema com muitos elétrons é determinada de maneira unívoca, a menos de uma constante aditiva, a partir do potencial externo e que a energia do estado fundamental

corresponde ao mínimo do funcional de energia obtido a partir da densidade exata do estado fundamental [90].

Os teoremas de Hohenberg e Kohn transformam o problema de $3N_e$ variáveis para N_e elétrons, que envolve as funções de onda para cada elétron, em um funcional de densidade, que é uma função real de 3 variáveis de dimensão. A forma funcional para a energia total segue o princípio variacional, o qual permite obter a densidade eletrônica do estado fundamental a partir do mínimo global do funcional de energia. O sistema de equações autoconsistentes pelas quais é possível obter a densidade eletrônica que minimiza o funcional de energia foi formulado em 1965 por Walter Kohn e Lu Jeu Sham [91].

A energia total $E[n(\vec{r})]$ para um sistema de elétrons não interagentes na equação de Kohn-Sham é dada pelo funcional apresentado na Equação 22:

$$E[n(\vec{r})] = V[n(\vec{r})] + F[n(\vec{r})] = \int n(\vec{r})V(\vec{r})d\vec{r} + F[n(\vec{r})] \quad (22)$$

onde $n(\vec{r})$ é a densidade eletrônica, $V[n(\vec{r})]$ é o funcional do potencial externo e $F[n(\vec{r})]$ é um funcional que contém os termos da energia cinética dos elétrons e de interação clássica e quântica entre elétrons.

A interação clássica entre elétrons já é conhecida das teorias anteriores e pode ser escrita na forma de um funcional de potencial $U_H[n(\vec{r})]$ conhecido como potencial de Hartree. Além disso, Kohn e Sham propuseram a adição de mais um funcional $G[n(\vec{r})]$, denominado funcional universal da densidade, como aproximação da soma do funcional de energia cinética do sistema de elétrons não interagentes $T_s[n(\vec{r})]$ mais um funcional que representa as correções não clássicas para o modelo de partículas independentes, chamado funcional de energia de troca e correlação $E_{xc}[n(\vec{r})]$. Dessa forma a Equação 22 pode ser reescrita conforme a Equação 23:

$$E[n(\vec{r})] = V[n(\vec{r})] + U_H[n(\vec{r})] + T_s[n(\vec{r})] + E_{xc}[n(\vec{r})] \quad (23)$$

A densidade eletrônica e a energia cinética $T_s[n(\vec{r})]$ podem ser calculadas resolvendo-se as equações autoconsistentes de Kohn-Sham através do princípio variacional aplicado às derivadas para minimização do funcional de energia total em relação à densidade $n(\vec{r})$. Todavia, o funcional da energia de troca e correlação $E_{xc}[n(\vec{r})]$ não tem uma expressão exata conhecida, sendo necessária a utilização de funcionais de aproximação, dentre os quais, os mais utilizados estão as aproximações da densidade local (LDA, do inglês *local density*

approximation), a aproximação do gradiente generalizado (GGA, do inglês *generalized gradient approximation*), bem como aproximações híbridas [90,92].

Dentre os funcionais de troca e correlação mais utilizados e que também foram empregados neste trabalho estão o B3LYP e PBE1PBE, também conhecido como PBE0. O funcional B3LYP é uma junção do funcional B proposto por Axel Becke [93], que inclui a troca de Slater em conjunto com correções envolvendo o gradiente da densidade, e o funcional de correlação LYP proposto no trabalho de Chengteh Lee, Weitao Yang e Robert Parr [94] incluindo termos locais e não locais. Já o funcional PBE1PBE é baseado no funcional puro PBE proposto por John Perdew, Kieron Burke e Matthias Ernzerhof [95] transformado em um funcional híbrido por Carlo Adamo e Vincenzo Barone [96], no qual combina o funcional de gradiente generalizado PBE com uma quantidade predefinida de troca exata.

Além dos funcionais de troca e correlação também são inseridos como entradas para realização do estudo computacional de moléculas funções pseudopotenciais para diminuição do custo computacional, as quais ao simplificar a descrição dos elétrons mais próximos do núcleo (elétrons de caroço) propiciam a obtenção de funções mais simples, e um conjunto de funções, denominadas funções de base, utilizadas para a transformações das equações diferenciais parciais, oriundas das equações de Kohn-Sham, em equações algébricas mais adequadas para implementação eficiente nos softwares [90,92].

3. METODOLOGIA

3.1 Síntese do cristal ternário de cobre (II) com 1,10-fenantrolina e L-tirosina

Sintetizou-se o cristal de cobre (II) com 1,10-fenantrolina e L-tirosina pela técnica de evaporação lenta do solvente. Inicialmente foi feita a moagem mecânica em almofariz com uma quantidade equimolar de 1,10-fenantrolina [1 mmol] - 0,1982 g (Synth, Diadema, Brasil, 99%), L-tirosina [1 mmol] - 0,1812 g (Synth, Diadema, Brasil, 99%) e nitrato de cobre (II) [1 mmol] - 0,2416 g (Sigma, Cotia, Brasil, 98%). Em seguida, dissolveu-se a mistura em 50 mL de etanol e água deionizada (proporção 4:1, v/v) sob agitação magnética durante 10 minutos em temperatura ambiente (300 K). Logo após, adicionou-se hidróxido de sódio [1 mmol] - 0,04 g (Sigma, São Paulo, Brasil, 98%) na solução, ajustando o pH para aproximadamente 4. A mistura foi mantida sob agitação magnética por 1 hora em temperatura ambiente. Por fim, a solução preparada foi filtrada e seca em temperatura ambiente, para completa evaporação dos solventes no material, sendo os cristais obtidos após 30 dias.

Para a síntese e crescimento do cristal foram utilizados os materiais e equipamentos do Laboratório de Difração de Raios X (LDRX) e Laboratório de Crescimento de Cristais (LCC) da Unidade de Preparação e Caracterização de Materiais (UPCM) da UFMA. O cristal ternário de cobre (II) complexado com 1,10-fenantrolina e L-tirosina já foi obtido e reportado na literatura com o nome de *aqua-(1,10-phenanthroline)-tyrosinato-copper(ii) nitrate dihydrate* [11], no entanto, neste trabalho será nomeado de cristal ternário FTCu.

3.2 Caracterizações

3.2.1 Análise óptica

A espectroscopia na região UV-Vis foi utilizada para verificação da absorvidade óptica das soluções precursoras do cristal ternário FTCu. As medidas foram realizadas no espectrofotômetro UV-Vis da Thermo Scientific modelo *Evolution 220* (Figura 21), utilizando-se cubetas de quartzo com intervalo de 10 nm/s, em uma região espectral com comprimentos de onda entre 450 e 1100 nm, para soluções com pH 2,4 e 3,8 em temperatura ambiente (300 K). As medidas foram realizadas no Laboratório de Síntese e Caracterização de Materiais Farmacêuticos (LABFARMA) na UPCM.



Figura 21. Espectrofotômetro UV-Vis Thermo Scientific modelo *Evolution 220*.

3.2.2 Difração de raios X

O cristal ternário FTCu sintetizado foi pulverizado em almofariz e submetido à técnica de difração de raios X (DRX) em pó para confirmação da complexação do metal no composto em estudo. Para isso, utilizou-se um difratômetro da PANalytical modelo *Empyrean* (Figura 22), operando com radiação de Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), tensão de 40 kV e corrente 40 mA, geometria parafocal Bragg-Bretano, monocromador de grafite pirolítico, detector rápido PIXcel 1d e câmara de temperatura *Anton-Paar* modelo *TTK 450*.



Figura 22. Difratômetro PANalytical modelo *Empyrean*.

Fez-se a análise em temperatura ambiente (300 K), com intervalo angular (2θ) variando entre 5° e 50° , passo angular $0,02^\circ$ e tempo de aquisição 2 segundos. O difratograma obtido foi refinado pelo método Rietveld por meio do software GSAS-EXPGUI [97], utilizando os dados cristalográficos CCDC 914898 coletados no banco de dados da *Cambridge crystallographic data centre* (CCDC).

Fez-se ainda o estudo de difração de raios X em função da temperatura. Para essa medida, utilizou-se passo angular de $0,02^\circ$ para um intervalo de 5° a 40° com tempo de aquisição 2 segundos por passo, variando a temperatura de 27 a 393 K. As medidas foram realizadas no LDRX da UPCM.

3.2.3 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

Para obtenção do espectro de FT-IR foi empregada a técnica de pastilhas de KBr, onde foram preparadas pastilhas com 99% de Brometo de Potássio (KBr) e 1% do cristal FTCu, prensadas com 8 toneladas em um tempo médio de 30 segundos. O equipamento utilizado foi um FT-IR Vertex 70v da Bruker (Figura 23), à vácuo, em 32 varreduras e com resolução espectral 4 cm^{-1} , sendo a medida realizada no Laboratório de Espectroscopia Óptica e Fototérmica (LEOF) na UPCM.



Figura 23. Espectrômetro FT-IR marca Bruker modelo Vertex 70v.

3.2.4 Espectroscopia Raman

Os espectros Raman foram obtidos a partir de um espectrômetro triplo, marca *Jobin-Yvon* modelo *T64000* (Figura 24) com detector CCD resfriado a ar. Para as medidas foi utilizado um laser de estado sólido ($\lambda = 532\text{ nm}$), potência de 10 mW e resolução espectral de 2 cm^{-1} . As

medidas foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia Vibracional e Altas Pressões (LEVAP) da Universidade Federal do Pará (UFPA).



Figura 24. Espectrômetro Raman marca Jobin-Yvon modelo T64000.

3.2.5 Análise térmica

A curva de DSC foi obtida em um equipamento *DSC-60* da Shimadzu (Figura 25), a partir de aproximadamente 2 mg de amostra, em atmosfera de nitrogênio com fluxo de gás de 50 mL/min, utilizando cadinho de alumínio aberto em uma faixa de temperatura entre 300 e 523 K com taxa de aquecimento de 5 K/min. As medidas foram realizadas no LABFARMA na UPCM.



Figura 25. Analisador térmico (DSC) Shimadzu modelo *DSC-60*.

3.2.6 Ensaio de solubilidade

Para o estudo de solubilidade do cristal FTCu, preparou-se uma solução supersaturada em 100 mL de água deionizada, com pH=7. Esta solução foi colocada em agitação magnética a 360 rpm, a 35 °C durante 300 minutos, no qual foram retiradas alíquotas em intervalos de tempos pré-determinados. O material foi determinado pela absorvância em um comprimento de onda de 615 nm, usando o espectrômetro UV-Vis descrito na seção 3.2.1. Além disso, preparou-se uma curva analítica padrão baseada na associação entre concentrações conhecidas do cristal FGCu e suas respectivas absorvâncias em 615 nm. A metodologia utilizada foi feita paralelo a métodos já dispostos na farmacopeia britânica [98].

3.2.7 Avaliação da atividade antitumoral *in vitro*

Para a avaliação da atividade antitumoral *in vitro* foram inicialmente plaqueadas $0,6 \times 10^4$ células das linhagens PC3 e SNB-19 em placas de 96 poços (5×10^4 células/mL em 200 μ L de meio), sendo adicionado o cristal ternário FTCu em concentrações de 50 μ L após um período de 24 horas, fazendo cada medida em duplicada com incubação por 72 horas. Depois de 72 horas de incubação, o material sobrenadante foi substituído por meio de cultura contendo MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina), (0,5 mg/mL). Em seguida, após um período de 3 horas, removeu-se o sobrenadante e fez-se a secagem da placa. Logo após, o precipitado contendo azul de formazam de MTT foi dissolvido em 150 μ L de dimetilsulfóxido (DMSO) e a absorvância medida a 570 nm. Por fim, calculou-se as IC_{50} (concentração que inibe metade do crescimento celular) obtidas pela curva dose-resposta. Os testes citotóxicos foram realizados nos laboratórios do curso de medicina da UFMA.

3.3 Estudo computacional

Os cálculos foram realizados em um cluster de computadores do grupo parceiro da *ComputeCanada*, usando o software *Gaussian 16* [99] e empregando a teoria do funcional da densidade (DFT). Foram utilizados os conjuntos de funções de base 6-311++G(d,p) [100,101] para H, N, C e O, e o pseudopotencial SDD [102] para o íon metálico Cu, além do sistema de solvatação modelo de polarização contínua (*Polarizable Continuum Model* - PCM) [103] usando o etanol como solvente (meio dielétrico com $\epsilon = 24,852$). Aplicou-se os funcionais B3LYP e PBE1PBE para averiguar qual apresenta melhor fator de correlação em relação aos

dados experimentais. As geometrias otimizadas do complexo FTCu foram plotadas no software *Chemcraft*, sendo observadas as frequências dos modos vibracionais para que não haja nenhuma frequência imaginária e se confirme a minimização das energias da geometria otimizada.

Além disso, a interpretação dos modos vibracionais foi feita utilizando-se a regressão Bayesiana por meio da determinação de relevância automática do modo vibracional (VMARD - do inglês *vibrational mode automatic relevance determination*) [104] empregando-se o software livre *vibAnalysis* [105].

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese do cristal FTCu

A análise da absorbância em função do comprimento de onda (Figura 26) foi realizada com as soluções precursoras do cristal ternário FTCu em dois diferentes pHs (2,4 e 3,8), com e sem a adição do hidróxido de sódio, para melhor compreensão do seu perfil de cristalização e da natureza dos ligantes.

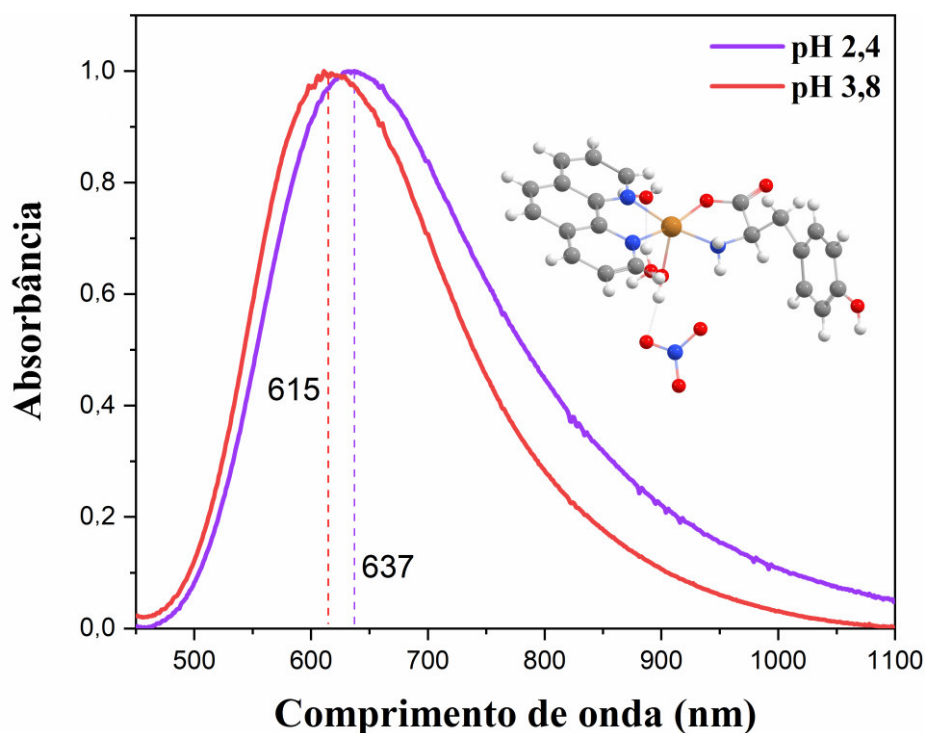


Figura 26. Espectros de absorbância da solução do cristal FTCu em pH 2,4 e 3,8.

É possível verificar na Figura 26 um deslocamento de banda em decorrência do aumento do pH da solução, efeito causado pela alteração da coordenação do centro metálico com os ligantes. Com o aumento do pH, a 1,10-fenantrolina e a L-tirosina comportam-se como ligantes de campo forte em relação à água, que é ligante de campo intermediário, favorecendo a complexação em uma região de comprimento de onda menor [106–108].

A modificação da natureza do ligante na complexação do cristal ternário FTCu implica em uma variação do pico de absorção do material, provocando ainda uma alteração na cor do complexo, que em pH 2,4 apresenta uma coloração azul mais clara, absorvendo em um comprimento de onda de 637 nm, e em pH 3,8 exibe uma coloração azul mais escura, absorvendo em um comprimento de onda de 615 nm, como mostra a Figura 27.

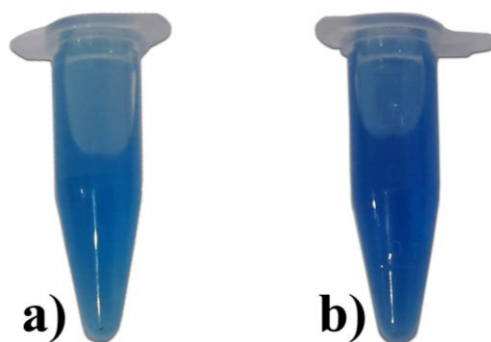


Figura 27. Coloração das soluções de FTCu em a) pH = 2,4 e b) pH = 3,8.

A banda de absorção na região visível entre 608 e 672 nm para o complexos de cobre (II) com 1,10-fenantrolina e aminoácidos já foi reportada na literatura, sendo atribuída às transições de elétrons dos orbitais d de baixa energia para o orbital vazio $d_{x^2-y^2}$ e transferência de elétrons do ligante para o metal central, em particular de σN para o orbital $d_{x^2-y^2}$ do cobre (II) ao longo das ligações Cu-N [7,11,24].

Definiu-se então o pH em 3,8 para a região de crescimento do sistema cristalino do complexo FTCu, o qual foi obtido pelo método de evaporação lenta do solvente após um período de 30 dias. O cristal sintetizado apresenta uma coloração azul escuro, de acordo com a Figura 28.

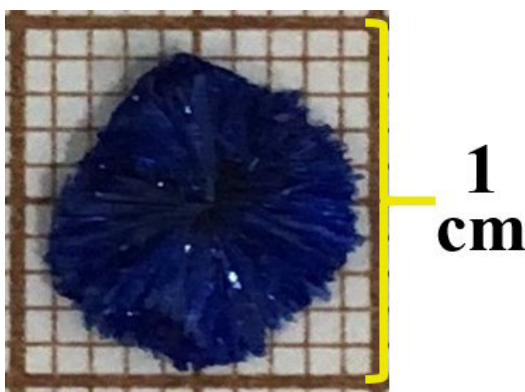


Figura 28. Cristal ternário FTCu.

Em relação ao seu formato e morfologia, o cristal ternário FTCu cristaliza-se em formato prismático, onde, como ilustra a Figura 29, pode apresentar dezesseis planos morfológicos principais, sendo eles: (011), (0-11), (-111), (-1-11), (-110), (-100), (-1-10), (0-1-1), (01-1), (1-1-1), (01-1), (1-1-1), (11-1), (1-10), (100) e (110), que crescem ordenadamente, podendo, no entanto, haver predominância de planos específicos desde a nucleação até o crescimento do cristal [25; 27].

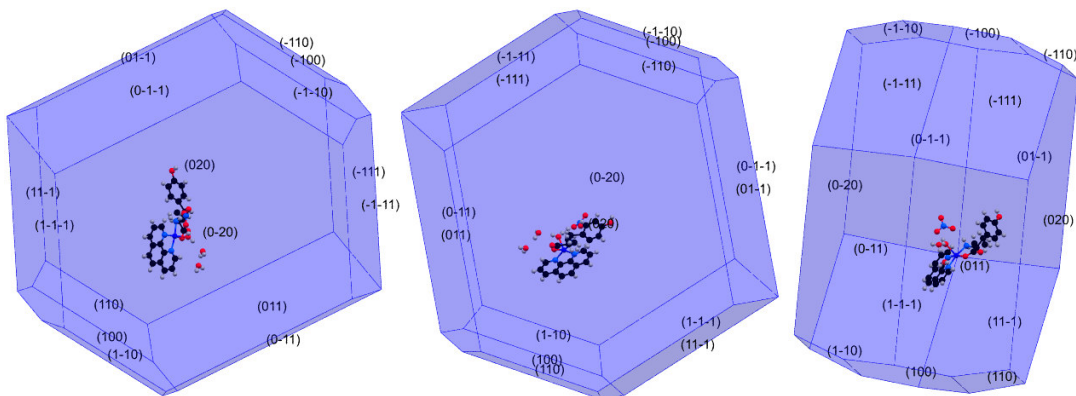


Figura 29. Morfologia do cristal FTCu.

4.2 Difração de raios X e refinamento Rietveld

A Figura 30 apresenta o difratograma do cristal ternário FTCu, obtido por meio da técnica de difração de raios X em pó, do qual os dados foram refinados pelo método de Rietveld para confirmação da fase formada. Os índices de confiança $R_{wp} = 4,98\%$, $R_p = 3,75\%$ e $S = 1,19$ mostram que o refinamento foi realizado com um bom nível de ajuste e que os dados produzidos possuem boa confiabilidade.

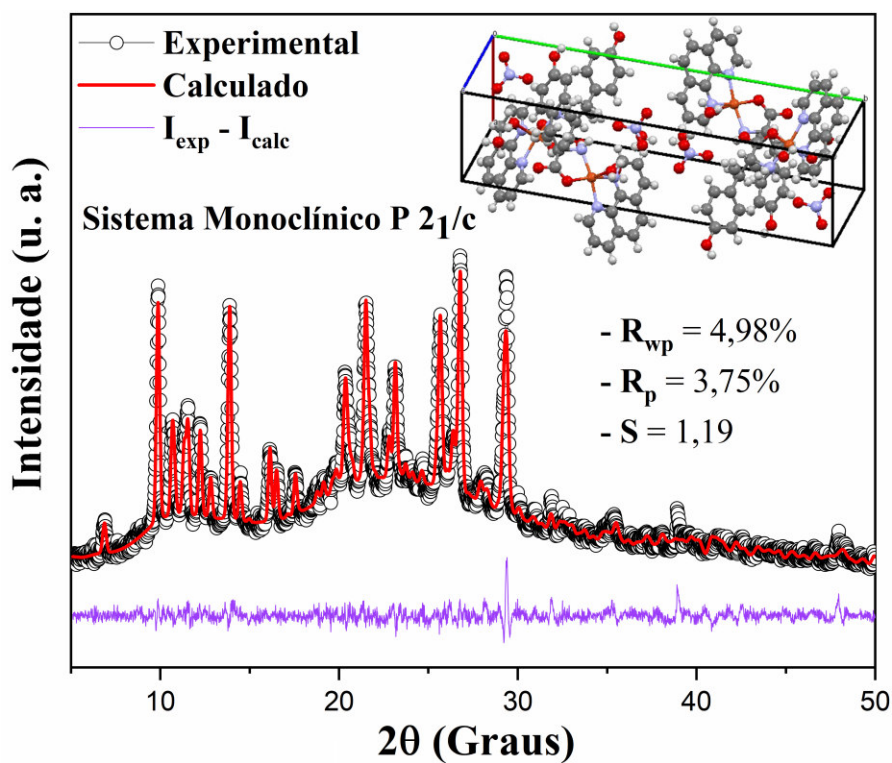


Figura 30. Padrão de raios X refinado pelo método Rietveld em temperatura ambiente (300 K) para o cristal ternário FTCu, com difratograma experimental (círculos), difratograma teórico (linha vermelha) e diferença entre eles (linha violeta).

Conforme o resultado obtido, pode-se afirmar que o complexo FTCu cristalizou-se em uma estrutura monoclinica com grupo espacial $P 2_1/c (C_{2h}^5)$, contendo quatro moléculas por célula unitária ($Z = 4$). Os parâmetros de rede do cristal ternário FTCu são apresentados na Tabela 1, estando em concordância com os valores reportados na literatura, com diferença percentual inferior a 1 %.

Tabela 1. Parâmetros de rede do cristal ternário FTCu.

Parâmetros de rede da célula unitária	Valores da literatura [11]	Valores desse estudo	Varição percentual (%)
a (Å)	9,3514(3)	9,385(2)	0,36
b (Å)	25,5103(7)	25,458(3)	0,20
c (Å)	10,8435(2)	10,942(2)	0,90
β (°)	119,426(2)	120,08(1)	0,55
V (Å ³)	2253,07(10)	2262,3(2)	0,41

A unidade assimétrica do cristal ternário FTCu consiste em um átomo de cobre (II), uma molécula de 1,10-fenantrolina, uma L-tirosina, um ânion nitrato não coordenado, uma molécula água coordenada e duas moléculas de água livres (não coordenadas), conforme Figura 31. O átomo de cobre (II) encontra-se pentacoordenado em uma geometria tetraédrica-piramidal distorcida, típica para complexos ternários de cobre (II), fenantrolina e aminoácidos [24,46,109], sendo que o complexo não exibe interação intramolecular de empilhamento dos anéis aromáticos entre os ligantes L-tirosina e 1,10-fenantrolina.

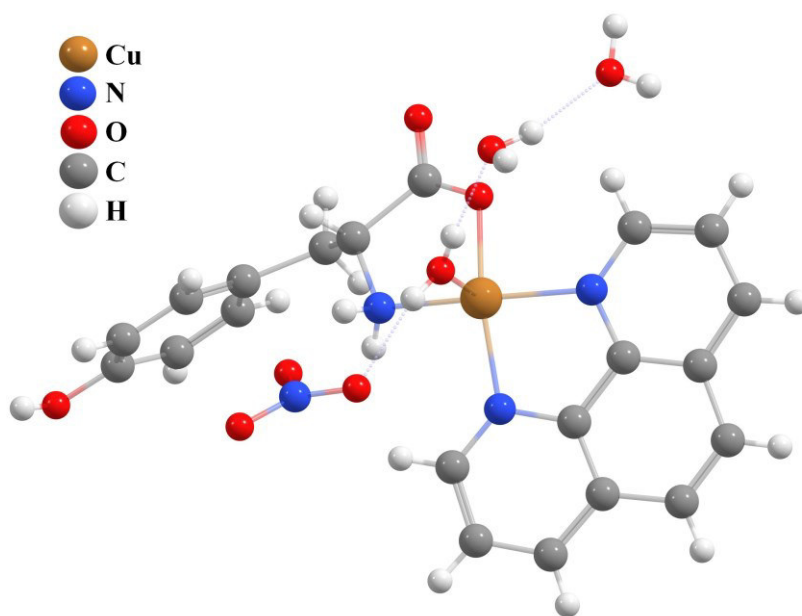


Figura 31. Unidade assimétrica do cristal ternário FTCu.

4.3 Estudo computacional

O estudo teórico do cristal ternário FTCu foi realizado por meio de cálculos computacionais utilizando a metodologia do DFT. A otimização da estrutura do complexo foi calculada considerando-se todos os átomos livres, sem o íon nitrato e as moléculas de água não coordenadas, utilizando carga total do complexo igual a 1e, multiplicidade de spin 2 e aplicando os funcionais B3LYP e o PBE1PBE, recentemente utilizados para otimização de estrutura contendo cobre e 1,10-fenantrolina [110].

A Tabela 2 mostra os dados teóricos dos comprimentos e ângulos das ligações do complexo FTCu calculados com os funcionais B3LYP e PBE1PBE em comparação com os dados experimentais.

Tabela 2. Dados teóricos dos comprimentos e ângulos das ligações do complexo FTCu calculados com os funcionais PBE1PBE e B3LYP em comparação com os dados experimentais [11].

Comprimentos das ligações (Å)				Ângulos das ligações (°)			
Ligações	PBE1PBE	B3LYP	Experimental	Ângulos	PBE1PBE	B3LYP	Experimental
Cu1-N1	2,0155	2,0291	1,995(3)	N2-Cu1-N6	100,831	101,638	98,8(2)
Cu1-N5	2,0126	2,0288	1,999(4)	N2-Cu1-O8	84,286	83,248	84,3(2)
Cu1-N6	2,0426	2,0604	2,025(5)	N2-Cu1-O11	87,160	87,312	97,3(2)
Cu1-O8	1,9298	1,9487	1,934(4)	N5-Cu1-N6	81,668	81,523	82,3(2)
Cu1-O11	2,3747	2,4066	2,187(5)	N5-Cu1-O8	92,479	92,852	92,0(2)
N2-C15	1,4813	1,4897	1,55(1)	N5-Cu1-O11	98,963	101,804	94,8(2)
N5-C27	1,3269	1,3269	1,327(6)	N6-Cu1-O11	91,199	92,658	94,2(2)
N5-C34	1,3549	1,3549	1,355(7)	O8-Cu1-O11	96,366	92,604	97,4(2)
N6-C35	1,3524	1,3587	1,360(5)	Cu1-N2-C15	110,334	109,519	106,9(5)
N6-C36	1,3227	1,3279	1,319(6)	Cu1-N5-C27	127,741	127,777	128,4(4)
O7-C14	1,2245	1,2278	1,250(7)	Cu1-N5-C34	112,869	112,764	112,7(3)
O8-C14	1,2862	1,2944	1,248(6)	C27-N5-C34	119,389	119,455	118,9(4)
O9-C22	1,3562	1,3700	1,370(5)	Cu1-N6-C35	111,621	111,465	111,3(3)
C14-C15	1,5454	1,5454	1,51(1)	Cu1-N6-C36	129,765	129,821	130,2(3)
C15-C47	1,5357	1,5439	1,52(1)	Cu1-O8-C14	117,667	117,602	116,6(3)
C47-C17	1,5071	1,5152	1,63(1)	O7-C14-O8	124,545	124,252	123,2(5)
C17-C18	1,3977	1,4014	1,373(9)	O7-C14-C15	118,985	119,832	117,3(7)
C17-C25	1,3983	1,4015	1,38(1)	O8-C14-C15	116,447	115,852	117,9(6)
C40-C20	1,3892	1,3929	1,384(7)	N2-C15-C14	110,707	109,641	106,9(8)
C20-C22	1,3917	1,3944	1,384(8)	N2-C15-C47	112,511	113,375	115,0(9)
C22-C23	1,3959	1,3970	1,389(7)	C14-C15-C47	112,280	113,913	108,8(9)
C23-C25	1,3902	1,3925	1,363(9)	C15-C47-C17	113,310	114,817	107,9(8)
C27-C29	1,4016	1,4049	1,398(7)	O9-C22-C20	122,591	122,618	122,8(5)
C29-C31	1,3762	1,3795	1,370(9)	O9-C22-C23	117,813	117,598	118,0(5)
C31-C33	1,4085	1,4123	1,400(7)	N5-C27-C29	121,777	121,759	121,8(5)
C33-C34	1,4037	1,4091	1,396(6)	N5-C34-C33	122,944	122,742	123,0(5)
C33-C45	1,4308	1,4351	1,433(9)	N5-C34-C35	116,797	117,005	116,5(4)
C34-C35	1,4288	1,4329	1,426(6)	N6-C35-C34	117,039	117,238	117,1(4)
C35-C42	1,4048	1,4101	1,402(8)	N6-C35-C42	123,154	122,948	123,0(4)
C36-C38	1,4004	1,4039	1,393(9)	N6-C36-C38	122,448	122,362	122,3(5)
C38-C40	1,3756	1,3790	1,368(7)				
C40-C42	1,4076	1,4114	1,404(6)				
C42-C43	1,4312	1,4355	1,433(6)				

As Figuras 32 e 33 apresentam os gráficos de correlação entre os dados experimentais [11] e calculados com os funcionais B3LYP e PBE1PBE.

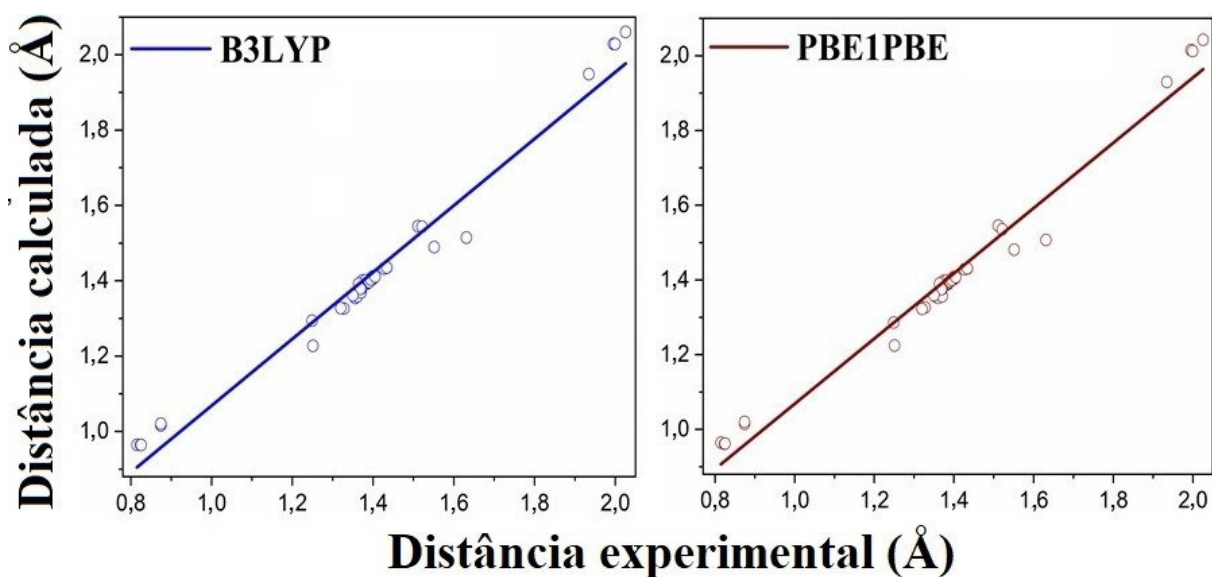


Figura 32. Gráficos de correlação das distâncias atômicas experimental e calculada

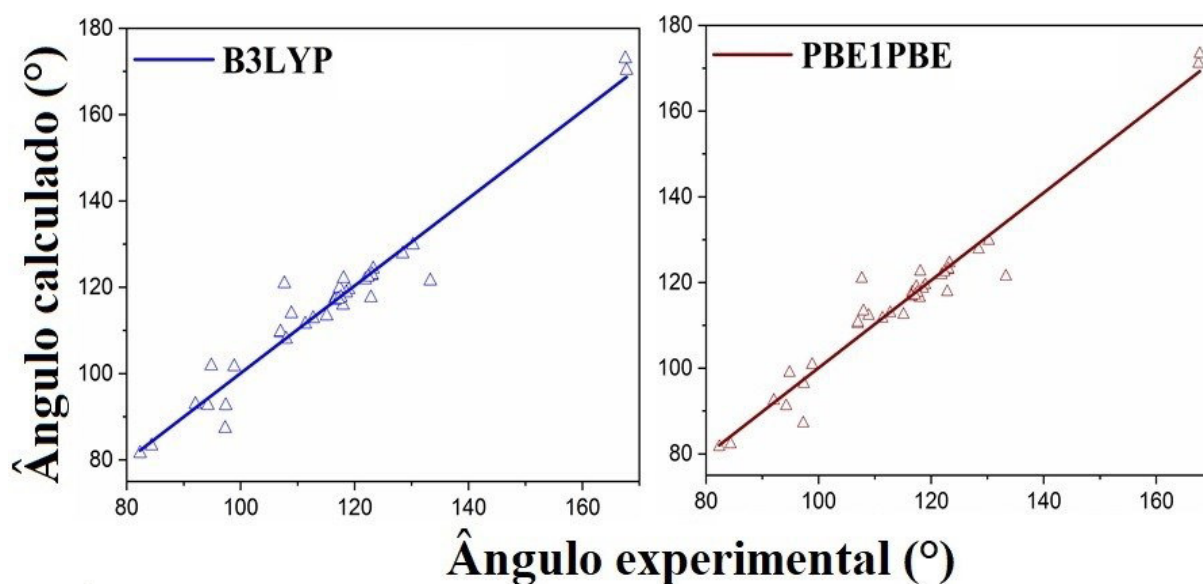


Figura 33. Gráficos de correlação dos ângulos experimental e calculado.

Os fatores de correlação entre os dados comparativos dos comprimentos e ângulos atômicos experimental e calculados com os funcionais B3LYP e PBE1PBE são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Fator de correlação entre os dados experimentais* e calculados com os funcionais B3LYP e PBE1PBE para as distâncias e ângulos atômicos do complexo FTCu.

Funcional	Fator de correlação	
	Distância	Ângulo
B3LYP	0,97303	0,94862
PBE1PBE	0,97387	0,95043

* Os dados experimentais foram retirados da referência [11].

Conforme os dados das Figuras 32 e 33 e das Tabela 2 e 3 verificou-se que o funcional que apresentou o melhor fator de correlação para as distâncias e ângulos atômicos foi o PBE1PBE. A partir desse resultado, aplicou-se o funcional PBE1PBE para o cálculo da otimização geométrica, mapa de potencial eletrostático, orbitais HOMO e LUMO com suas respectivas energias e simulação dos espectros vibracionais IR e Raman.

A Figura 34 apresenta a curva de otimização e a estrutura otimizada do complexo FTCu.

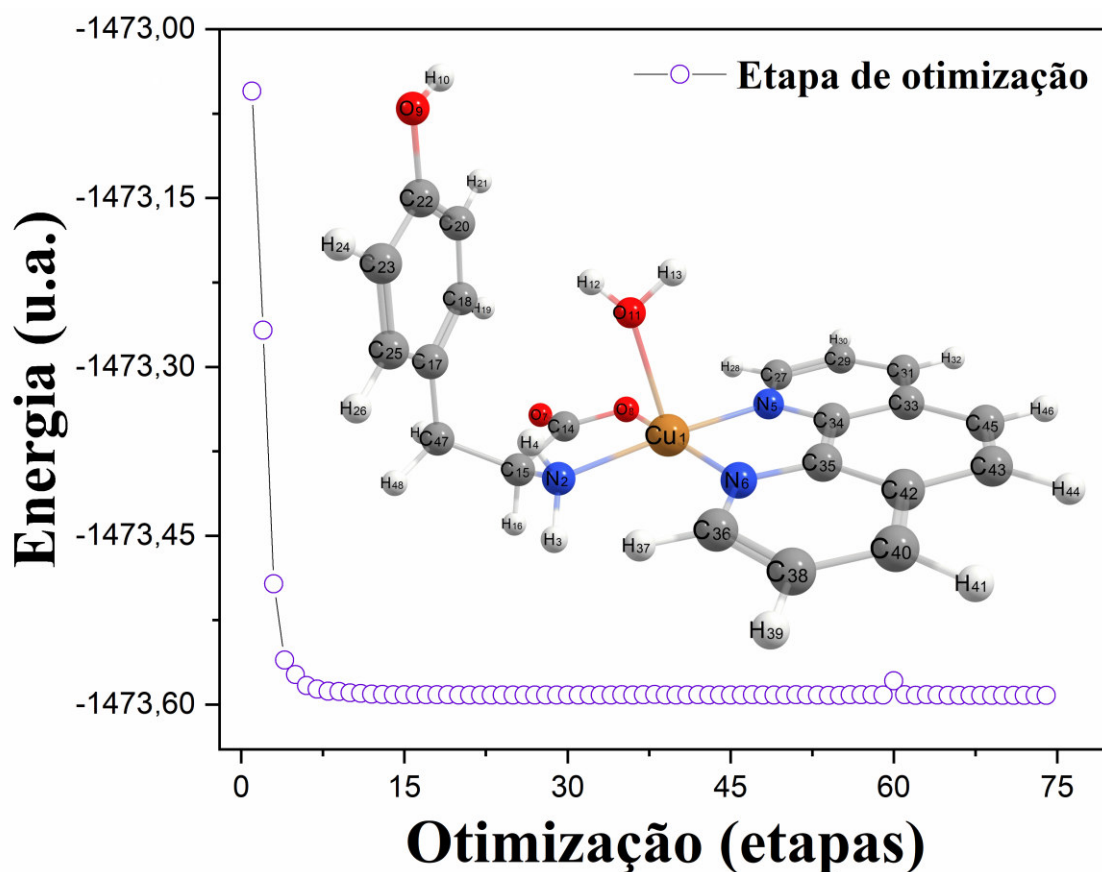


Figura 34. Curva de otimização e estrutura otimizada do complexo FTCu obtidas utilizando o método DFT-PBE1PBE/6-311++G(d,p)-SDD.

Calculou-se simultaneamente as frequências vibracionais para cada etapa, as quais apresentaram valores positivos, *i.e.*, não existem frequências imaginárias, confirmando a minimização das energias da geometria obtida. Para a otimização foram executadas 74 etapas sendo a energia da última etapa de otimização igual a -1473,59 u.a. Calculou-se ainda a energia livre de Gibbs ($\Delta G_{\text{complexação}}$), entalpia ($\Delta H_{\text{complexação}}$) e entropia ($\Delta S_{\text{complexação}}$) da complexação conforme as Equações 24, 25 e 26:

$$\Delta G_{\text{complexação}} = G_{\text{complexo}} - (G_{\text{fen}} + G_{\text{tir}} + G_{\text{Cu}} + G_{\text{água}}) \quad (24)$$

$$\Delta H_{\text{complexação}} = H_{\text{complexo}} - (H_{\text{fen}} + H_{\text{tir}} + H_{\text{Cu}} + H_{\text{água}}) \quad (25)$$

$$\Delta S_{\text{complexação}} = \frac{\Delta H_{\text{complexação}} - \Delta G_{\text{complexação}}}{T} \quad (26)$$

com as energias livres de Gibbs G_{complexo} para o complexo, G_{fen} para a molécula de 1,10-fenentrolina, G_{tir} para a molécula de L-tirosina, G_{Cu} para o íon de cobre (II) e $G_{\text{água}}$ para a molécula de água coordenada, e as entalpias H_{complexo} do complexo, H_{fen} da 1,10-fenentrolina, H_{tir} da L-tirosina, H_{Cu} do íon de cobre (II) e $H_{\text{água}}$ da molécula de água coordenada. Para o cálculo da entropia da complexação, utilizou-se ainda a temperatura ambiente T de 298,15 K.

Os valores dos parâmetros termodinâmicos de -359,725 Kcal/mol, -392,934 Kcal/mol e -0,121 Kcal/mol·K, para a $\Delta G_{\text{complexação}}$, $\Delta H_{\text{complexação}}$ e $\Delta S_{\text{complexação}}$, respectivamente, mostram que a complexação ocorre de maneira espontânea, *i.e.*, sem a adição de energia externa, e com boa estabilidade.

O mapa de potencial eletrostático molecular (MPE) do complexo FTCu é apresentado na Figura 35, tendo as regiões nucleofílicas, com potencial eletrostático negativo, apresentadas na cor vermelha, e as regiões eletrofílicas, de potencial eletrostático positivo, apresentadas na cor azul. Conforme Costa e colaboradores [111], o MPE é uma ferramenta útil para prever sítios de reatividade para ataques eletrofílicos e nucleofílicos, estudos de reconhecimento biológico e predição de interação de ligações de hidrogênio.

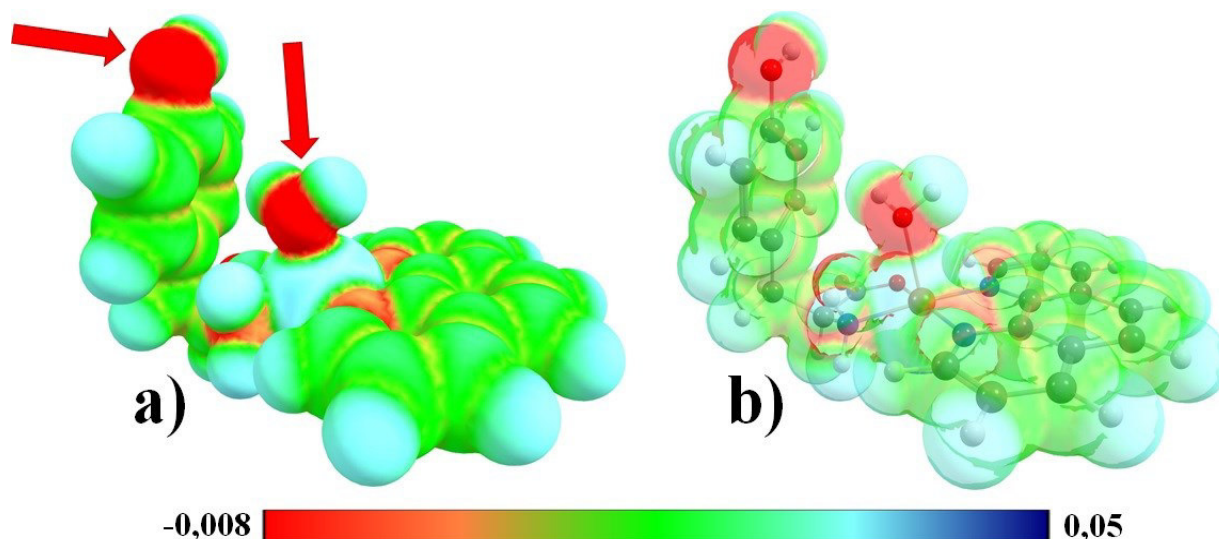


Figura 35. Mapa de potencial eletrostático molecular com superfícies **a)** sólida e **b)** semitransparente para o complexo FTCu calculado com o método DFT-PBE1PBE/6-311++G(d,p)-SDD.

A partir da Figura 35 é possível verificar que as regiões com maior densidade eletrônica, indicadas com as setas vermelhas, estão localizadas junto ao oxigênio ligado ao anel aromático da L-tirosina e ao oxigênio da água coordenada ligada ao cobre. Essas regiões nucleofílicas propiciam a formação de ligações de hidrogênio com as bases nitrogenadas, levando à interação do complexo FTCu com o DNA e favorecendo sua atuação antitumoral com a indução da apoptose nas células cancerígenas.

O valor do gap de energia (ΔE) entre o orbital molecular ocupado de mais alta energia (HOMO - do inglês *highest occupied molecular orbital*) e o orbital molecular desocupado de mais baixa energia (LUMO - do inglês *lowest unoccupied molecular orbital*) é de grande importância para determinação das propriedades elétricas, estabilidade cinética e, de maneira particular, do índice de eletrofilicidade, o qual define uma classificação quantitativa da natureza eletrofílica global de uma molécula dentro de uma escala relativa, que vem sendo apontado como um possível descritor de atividade biológica [111,112].

A Figura 36 mostra os orbitais moleculares de fronteira calculados para o complexo FTCu. Os valores das energias calculadas para os orbitais HOMO (E_{HOMO}), localizado na molécula de L-tirosina, e LUMO (E_{LUMO}), na molécula 1,10-fenantrolina, foram de -6,854 eV e -2,766 eV, respectivamente, com gap de energia entre eles de 4,088 eV. A partir dos valores das energias dos orbitais HOMO e LUMO calculou-se os valores dos descritores de reatividade dureza química, potencial químico e índice de eletrofilicidade do complexo.

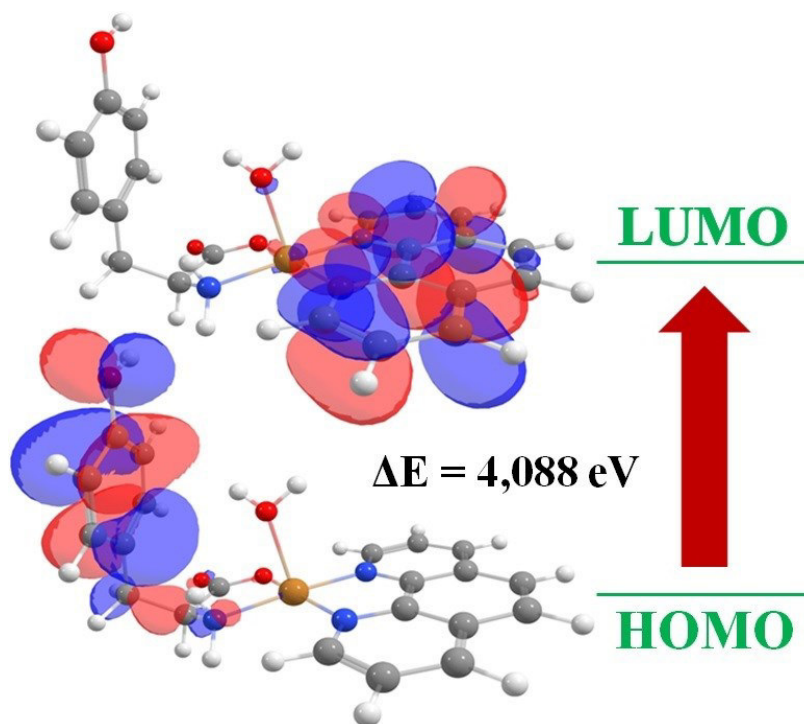


Figura 36. Orbitais moleculares de fronteira HOMO e LUMO para o complexo FTCu calculados com o método DFT-PBE1PBE/6-311++G(d,p)-SDD.

A dureza química (η) está relacionada com a estabilidade da molécula, o potencial químico (μ) fornece um índice de reatividade global relacionado à transferência de carga de um sistema com maior potencial químico para um de menor potencial químico e o índice de eletrofilicidade (ω) mede a natureza eletrofílica global de uma molécula referente à redução de energia devido à transferência de carga, sendo são calculados de acordo com as Equações 27, 28 e 29, respectivamente:

$$\eta = \frac{I - A}{2} \quad (27)$$

$$\mu = \frac{-(I + A)}{2} \quad (28)$$

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (29)$$

onde I é o potencial de ionização, sendo aproximadamente igual a $-E_{\text{HOMO}}$, e A é a afinidade eletrônica, aproximadamente igual a $-E_{\text{LUMO}}$.

A Tabela 4 apresenta os valores dos descritores de reatividade química calculados com as funções de base PBE1PBE/6-311++G(d,p) para o cristal ternário FTCu em comparação com os valores dos descritores de reatividade química calculados para a cisplatina com as funções de base B3LYP-SDD.

Tabela 4. Valores dos descritores de reatividade química para o complexo FTCu calculados com o método DFT-PBE1PBE/6-311++G(d,p)-SDD e para a cisplatina calculados com o método DFT-B3LYP/SDD.

Propriedades (eV)	Valores desse estudo para o complexo FTCu	Valores da literatura para a cisplatina [113]
E_{HOMO}	-6,8537	-6,2432
E_{LUMO}	-2,7660	-1,7951
ΔE	4,0877	4,4481
η	2,0438	2,2240
μ	-4,8098	-4,0192
ω	5,6596	3,6315

Os trabalhos de Maynard *et al.* [114] e Parr *et al.* [115] apontam uma relação entre o índice de eletrofilicidade de uma molécula e citotoxicidade, fornecendo uma relação direta entre a taxa de reação e o poder eletrofílico dos inibidores, sendo que a análise dessas propriedades revelou-se suficiente para descrever a toxicidade das moléculas de befenilpoliclorado e benzidina [112]. Nesse contexto, é possível verificar a partir da Tabela 4 que o complexo FTCu apresenta índice de eletrofilicidade superior ao da cisplatina, já utilizada como agente quimioterápico no tratamento de uma grande variedade de cânceres, sendo um indicativo de que o cristal ternário FTCu possa apresentar propriedade antitumoral.

4.4 Análise vibracional

Nesta seção será feito o estudo das propriedades vibracionais do cristal ternário FTCu através das medidas de espectroscopias FT-IR e Raman em conjunto com os espectros teóricos obtidos a partir dos cálculos computacionais utilizando a metodologia do DFT. Além disso, é desenvolvida a teoria de grupos com o intuito de mostrar a distribuição dos modos normais de vibração do material.

4.4.1 Teoria de grupos do cristal ternário FTCu

Conforme descrito na seção 4.2, o cristal ternário FTCu possui uma estrutura cristalina com simetria monoclínica e grupo espacial $P 2_1/c (C_{2h}^5)$, contendo quatro moléculas por célula unitária. Desse modo, o material deve possuir modos normais de vibração distribuídos em termos das representações irredutíveis como A_g , A_u , B_g e B_u , sendo os modos Raman ativos associados às representações A_g e B_g e os modos ativos no infravermelho associados às representações A_u e B_u .

Cada molécula do cristal ternário FTCu contém 59 átomos, sendo assim, a célula unitária possui um total de 236 átomos e 708 graus de liberdade. Conforme Rosseau, Bauman e Porto [116], o grupo espacial C_{2h}^5 possui sítios de simetria C_1 que são ocupados por 4 átomos, assim sendo, os 236 átomos da célula unitária do material ocupam 59 sítios do tipo $C_1(4)$, que contribuem com 12 modos vibracionais ativos no Raman e infravermelho de acordo com a expressão da representação irredutível total do grupo fator C_{2h} : $\Gamma = 3A_g + 3B_g + 3A_u + 3B_u$.

Dessa forma, levando em consideração todos os 59 sítios da célula unitária, a representação total Γ^{total} dos modos de vibração do cristal ternário FTCu, que inclui os modos ópticos e os modos acústicos, em termos das representações irredutíveis é dada conforme Equação 30:

$$\Gamma^{total} = 59(3A_g + 3B_g + 3A_u + 3B_u) = 177(A_g + B_g + A_u + B_u) \quad (30)$$

De acordo com a tabela 6B da referência [116], que mostra as representações irredutíveis que dão os modos de rede translacionais, para o grupo fator C_{2h} originam-se três modos acústicos Γ^{ac} na forma de Equação 31:

$$\Gamma^{ac} = A_u + 2B_u \quad (31)$$

Portanto, os modos ópticos ativos no infravermelho Γ^{IR} têm a representação total descrita pela Equação 32:

$$\Gamma^{IR} = 176A_u + 175B_u \quad (32)$$

Enquanto que a Equação 33 descreve os modos ópticos ativos no Raman Γ^{Raman} :

$$\Gamma^{Raman} = 177A_g + 177B_g \quad (33)$$

Os modos vibracionais do cristal ternário FTCu podem ser ativos no infravermelho ou Raman conforme satisfaçam as regras de seleção apresentadas na tabela de caracteres do grupo fator C_{2h} (Tabela 5).

Tabela 5. Tabela de caracteres para o grupo fator C_{2h} de um cristal com simetria monoclínica.

C_{2h}	E	C_2^2	i	σ_h	Regras de seleção	
					Infravermelho	Raman
A_g	1	1	1	1	R_z	xx, yy, zz, xy
A_u	1	1	-1	-1	T_z	
B_g	1	-1	1	-1	R_x, R_y	xz, yz
B_u	1	-1	-1	1	T_x, T_y	

Fonte: Adaptado da referência [116]

É possível perceber a partir da Tabela 5 que o cristal ternário FTCu apresenta modos ópticos que são ativos ou no Raman ou no infravermelho devido a estrutura cristalina do material possuir um plano de inversão (σ_h), que deve coincidir com o plano xy, e que está associado ao centro de inversão (i) do cristal.

4.4.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

O espectro teórico foi obtido a partir das intensidades IR calculadas pelo método DFT em combinação com os números de onda vibracionais uniformemente dimensionados por um fator de 0,959 conforme sugere o banco de dados CCCBDB (*Computational Chemistry Comparison and Benchmark DataBase*) [117]. A interpretação das bandas experimentais para os modos normais de vibração foi feita utilizando-se a regressão Bayesiana por meio da VMARD usando a estrutura otimizada com a menor energia potencial.

Conforme Teixeira *et al.* [104], a VMARD é uma alternativa viável ao bem estabelecido método da decomposição de energia potencial (PED - do inglês *potential energy decomposition*) por não necessitar da concepção de um conjunto de coordenadas linearmente independentes, sendo uma abordagem para a interpretação de espectros vibracionais com base na decomposição dos movimentos atômicos em termos de deslocamentos ao longo de um

conjunto de coordenadas internas. O método foi recentemente empregado na literatura para o estudo vibracional de alguns sistemas moleculares [118,119].

Um total de 38 bandas referentes aos modos de vibrações ativados no FT-IR apontadas pelos cálculos foram comparadas com as bandas experimentais em um intervalo de números de onda entre 400 a 4000 cm^{-1} . Os espectros de FT-IR experimental e calculado para o complexo FTCu são apresentados na Figura 37.

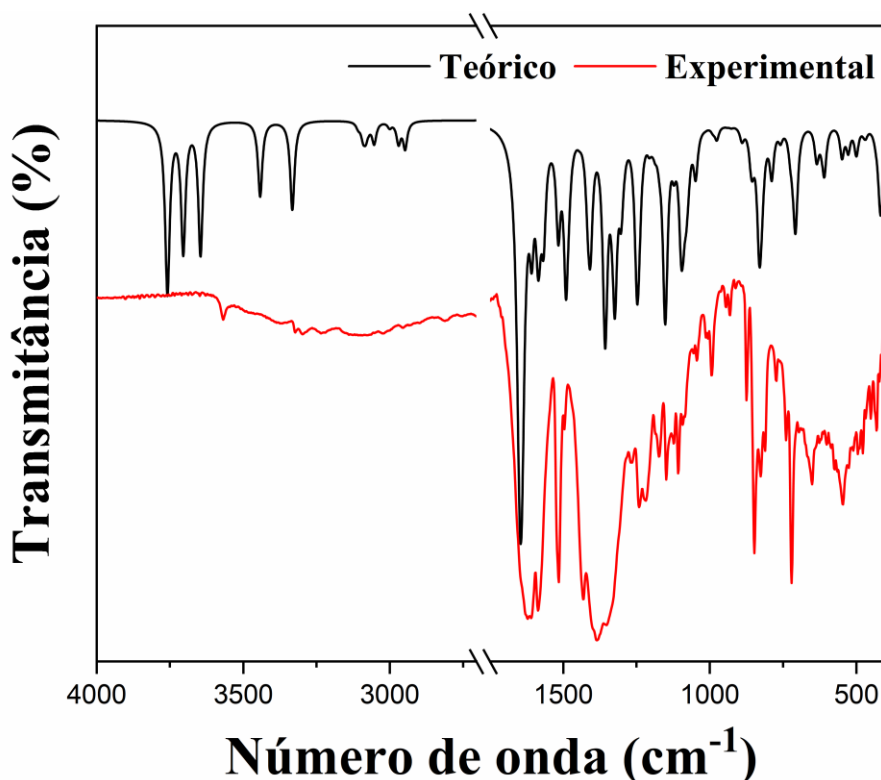


Figura 37. Espectros experimental e teórico de FT-IR do cristal ternário FTCu.

A região entre 3200 e 3700 cm^{-1} do espectro FT-IR experimental para o cristal ternário FTCu apresenta uma larga banda de absorção tipicamente atribuída para modos vibracionais referentes às moléculas de água presentes no material [11] e às vibrações do grupo amino coordenado [24], todavia, a absorção dessas moléculas no infravermelho pode causar uma sobreposição de bandas que leva ao não aparecimento de algumas vibrações, como é possível verificar na Figura 37. Contudo, no espectro IR calculado esses modos se destacam, sendo referentes às vibrações de estiramentos simétrico e antissimétrico da molécula de água coordenada e do grupo amino ligados ao centro metálico, além de estiramento da hidroxila O9H10 ligada ao anel aromático da L-tirosina.

A Tabela 6 apresenta as atribuições referentes às bandas apresentadas nos espectros FT-IR experimental ($\omega_{\text{FT-IR}}$) e calculadas para a estrutura otimizada (ω_{cal}) do complexo FTCu, com os valores numéricos das VMARDs apresentadas entre parênteses. Pode-se observar que as bandas nos espectros experimental e teórico apresentam boa concordância.

Tabela 6. Atribuições das bandas de absorção no FT-IR para o cristal ternário FTCu.

* ω_{cal} (cm ⁻¹)	$\omega_{\text{FT-IR}}$ (cm ⁻¹)	Atribuições com VMARD (%)
3759	-	$\nu_{\text{a}}(\text{H12O11H13})(87)$
3705	-	$\nu(\text{O9H10})(86)$
3646	3570	$\nu_{\text{s}}(\text{H12O11H13})(92)$
3442	-	$\nu_{\text{a}}(\text{H3N2H4})(96)$
3333	3298	$\nu_{\text{s}}(\text{H3N2H4})(93)$
3086	-	$\nu_{\text{a}}(\text{fen}_{\text{anel}})(66)$
3054	-	$\nu_{\text{a}}(\text{tir}_{\text{anel}})(85)$
3000	-	$\nu_{\text{a}}(\text{H48C47H49})(94)$
2970	2955	$\nu(\text{C15H16})(77) + \nu_{\text{s}}(\text{H48C47H49})(23)$
2948	-	$\nu_{\text{s}}(\text{H48C47H49})(72) + \nu(\text{C15H16})(11)$
1645	1622	$\nu_{\text{a}}(\text{O7C14O8})(67)$
1609	1610	$\delta(\text{tir}_{\text{anel}})(60)$
1585	1587	$\nu(\text{C17C25})(11) + \nu(\text{C20C22})(11) + \nu(\text{C22C23})(10) + \nu(\text{C17C18})$
1568	-	$\gamma(\text{H12O11H13})(28) + \gamma(\text{H3N2H4})$
1517	1515	$\gamma(\text{fen}_{\text{anel}})(57)$
1491	1496	$\delta(\text{tir}_{\text{anel}})(85)$
1409	1432	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})(53)$
1357	1386	$\nu(\text{O8C14})(21) + \omega_{\text{f}}(\text{H3N2H4}) + \rho(\text{C15H16})$
1325	1353	$\rho(\text{C15H16}) + \omega(\text{H48C47H49}) + \omega_{\text{f}}(\text{H3N2H4})$
1304	1267	$\omega(\text{H48C47H49}) + \rho(\text{O9H10}) + \rho(\text{fen}_{\text{anel}})$
1247	1242	$\rho(\text{tir}_{\text{anel}})(58) + \omega_{\text{f}}(\text{H3N2H4}) + \omega_{\text{f}}(\text{H48C47H49}) + \rho(\text{C15H16})$
1152	1149	$\rho(\text{O9H10})(11) + \omega_{\text{f}}(\text{H3N2H4}) + \rho(\text{C15H16}) + \rho(\text{C23H24})$
1122	1124	$\gamma(\text{fen}_{\text{anel}})(55)$
1096	1108	$\omega(\text{H3N2H4}) + \omega_{\text{f}}(\text{H48C47H49}) + \gamma(\text{tir}_{\text{anel}})$
1049	1045	$\nu(\text{N2C15})(16) + \rho(\text{C47H48})$
977	995	$\rho(\text{C15C47}) + \omega(\text{H3N2H4})$
889	891	$\omega_{\text{f}}(\text{H3N2H4}) + \omega_{\text{f}}(\text{H48C47H49}) + \rho(\text{C15C47})$
855	875	$\tau(\text{fen}_{\text{anel}})(57)$
830	848	$\omega(\text{fen}_{\text{anel}})(64)$
789	773	$\tau(\text{tir}_{\text{anel}})(14) + \omega(\text{O7C14O8})(20)$
708	721	$\tau(\text{fen}_{\text{anel}})(46)$
635	651	$\tau(\text{tir}_{\text{anel}}) + \tau(\text{fen}_{\text{anel}})$
610	601	$\tau(\text{H3N2H4}) + \rho(\text{H48C47H49}) + \omega_{\text{f}}(\text{H12O11H13})$
549	545	$\omega(\text{tir}_{\text{anel}}) + \omega_{\text{f}}(\text{H3N2H4})$
528	526	$\omega(\text{tir}_{\text{anel}}) + \omega_{\text{f}}(\text{H12O11H13})$
500	495	$\omega(\text{tir}_{\text{anel}})(12) + \tau(\text{H3N2H4})$
469	468	$\nu(\text{Cu1N2}) + \gamma(\text{C14O7C15}) + \rho(\text{Cu1O8C14})$

*Números de onda calculados utilizando o método DFT-PBE1PBE/6-311++G(d,p).

São apresentados apenas os valores das porcentagens VMARD acima de 9%.

Os modos sem VMARD foram determinados visualmente.

Notação para os modos: ν – Estiramento; ν_s - Estiramento simétrico; ν_a - Estiramento antissimétrico; δ - Deformação; ρ - Rotação; γ - Corte; ω – Balanço em fase; ω_f – Balanço fora de fase; τ - Torção.

As vibrações características de estiramento para o aminoácido L-tirosina complexado ao cobre (II) aparecem no número de onda 3054 cm^{-1} . Já as vibrações correspondentes às deformações angulares no plano do anel aromático do aminoácido apresentam-se em 1609 e 1491 cm^{-1} , rotação em 1247 cm^{-1} , e 1096 cm^{-1} em corte e as deformações angulares fora do plano nos números de onda 549 , 528 e 500 cm^{-1} . Além disso, as torções na molécula de L-tirosina encontram-se em 789 e 635 cm^{-1} .

O modo vibracional para o complexo FTCu localizado em 3086 cm^{-1} é referente à vibração de estiramento C-C dos anéis da 1,10-fenantrolina. Em 1517 , 1409 , 1304 , 1122 cm^{-1} encontram-se as deformações no plano e em 830 cm^{-1} as deformações fora do plano na molécula 1,10-fenantrolina. As torções aparecem nos números de onda 855 , 708 e 635 cm^{-1} .

Em baixos números de onda surgem bandas com fraca vibração devido à interação dos ligantes com o centro metálico. Para o cristal ternário FTCu a banda localizada em 469 cm^{-1} é referente ao estiramento $\nu(\text{Cu1N2})$ do Cu^{2+} com o nitrogênio da L-tirosina e à rotação $\rho(\text{Cu1O8C14})$ da ligação O-C do aminoácido ligada ao íon metálico.

4.4.3 Espectroscopia Raman em temperatura ambiente

Nesta seção serão apresentadas as atribuições dos modos vibracionais ativos pelo espalhamento Raman para o cristal ternário FTCu. Os espectros teóricos foram obtidos a partir das intensidades Raman calculadas pelo método DFT em combinação com os números de onda vibracionais uniformemente dimensionados por um fator de 0,959 [117], sendo as identificações das bandas feitas por meio da VMARD utilizando a estrutura otimizada com a menor energia potencial do complexo.

Os espectros experimentais e teóricos foram analisados nos intervalos de números de onda entre 60 a 700 cm^{-1} , 700 a 1700 cm^{-1} e 2920 a 3140 cm^{-1} com o intuito de melhor detalhamento das propriedades vibracionais do material, sendo atribuídos 46 modos de vibrações nessas faixas espectrais.

A Figura 38 apresenta os espectros Raman experimental e teórico para o cristal ternário FTCu no intervalo entre 90 e 700 cm^{-1} . Os números de onda inferiores a 200 cm^{-1} geralmente

estão associados aos modos de rede, conforme reportado na literatura [120,121]. Esses modos são referentes às vibrações coletivas de toda a estrutura do complexo, sendo que algumas delas podem estar associadas às contribuições ou acoplamentos das ligações de hidrogênio responsáveis pela formação do cristal.

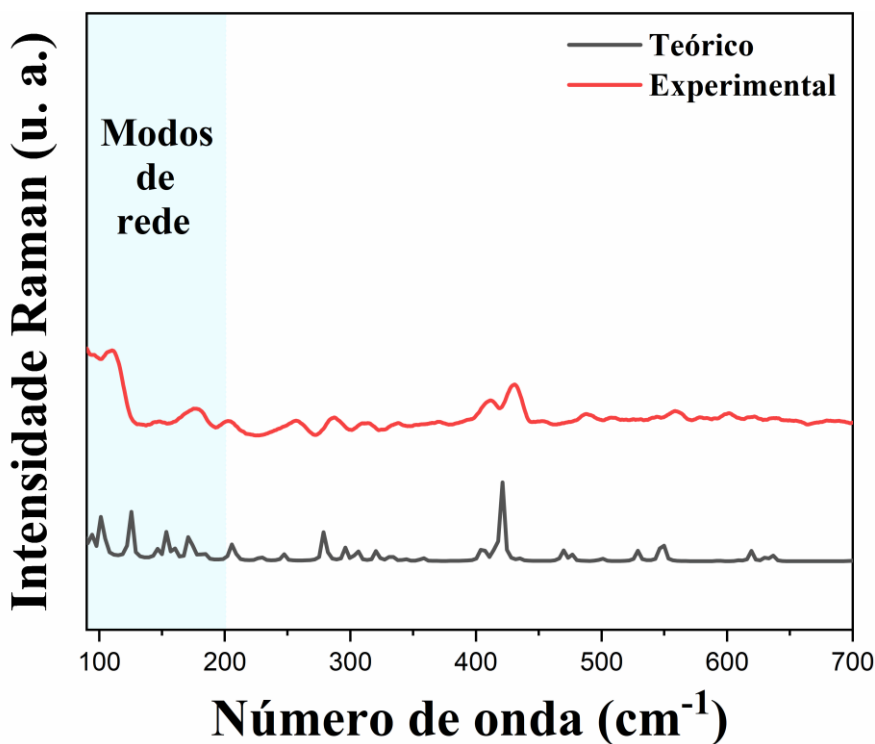


Figura 38. Espectros Raman experimental e teórico para os cristais ternários FTCu em temperatura ambiente para a faixa espectral de 90 a 700 cm^{-1} .

Os modos vibracionais localizados entre os números de onda 300 e 700 cm^{-1} estão associados às deformações da estrutura esquelética do complexo FTCu. As deformações relacionadas às vibrações metal-ligante identificadas em 313, 337, 369, 487 e 543 cm^{-1} são correspondentes às ligações Cu-N e Cu-O. Além disso, na banda localizada em 487 cm^{-1} encontra-se um estiramento na ligação Cu1-N2.

As bandas nos números de onda 295, 421 e 476 cm^{-1} são referentes a deformações angulares no plano para os anéis da molécula de 1,10-fenantrolina. Já para o anel aromático da molécula de L-tirosina, as deformações angulares no plano aparecem em 358, 549 e 619 cm^{-1} . Essas deformações também são encontradas nos números de onda 629 e 636 cm^{-1} para ambas as moléculas de 1,10-fenatrolina e L-tirosina. Além disso, os modos vibracionais presentes nos números de onda 403 e 434 cm^{-1} são referentes às torções nos anéis da molécula de 1,10-fenantrolina.

A banda de maior intensidade nessa faixa do espectro entre 300 e 700 cm^{-1} está localizada em 421 cm^{-1} sendo devida à contribuição da deformação em balanço fora de fase da molécula de água H_2O coordenada ao metal central Cu. A molécula de água coordenada apresenta ainda deformações de balanço em fase em 295 e 306 cm^{-1} e rotação em 434 cm^{-1} .

Na Tabela 5, no final desta seção, são apresentas os demais modos vibracionais presentes na região espectral entre 300 e 700 cm^{-1} com as respectivas atribuições para o complexo FTCu.

A Figura 39 apresenta os espectros Raman experimental e teórico para o cristal ternário FTCu no intervalo entre 700 e 1700 cm^{-1} . Essa região, conhecida como *fingerprint* (impressão digital), é considerada de grande interesse por compreender a maioria das bandas referentes aos modos vibracionais ativos no espalhamento Raman. Nas moléculas orgânicas, *e.g.*, 1,10-fenantrolina e L-tirosina, as bandas majoritárias no *fingerprint* são devidas às vibrações de deformações do CH, CH₂ e CH₃ presentes em suas estruturas [122,123].

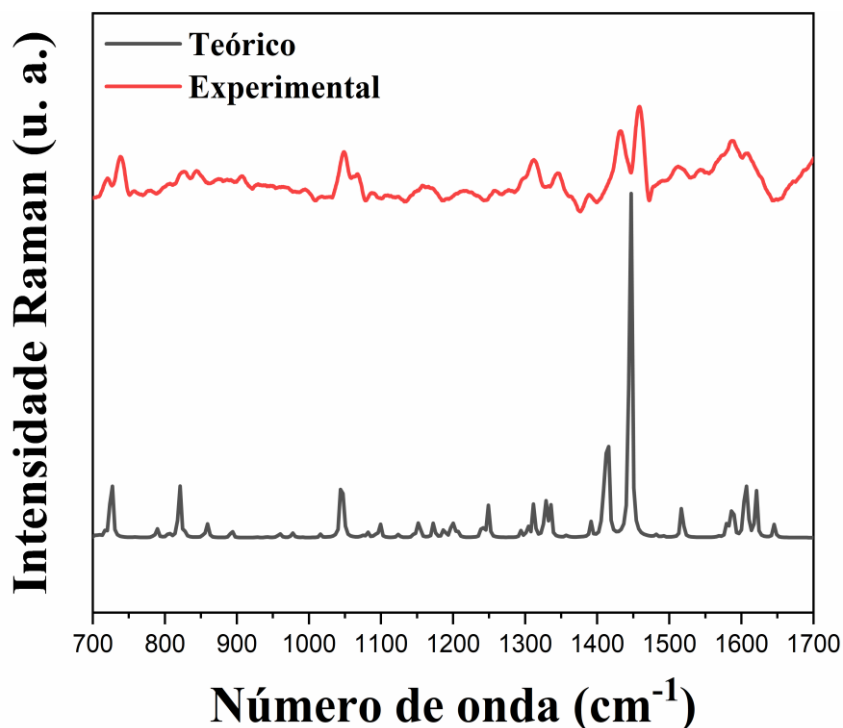


Figura 39. Espectros Raman experimental e teórico para os cristais ternários FTCu em temperatura ambiente para a faixa espectral de 700 a 1700 cm^{-1} .

Para o ligante 1,10-fenantrolina, os modos vibracionais de deformações dos anéis da molécula estão associados aos números de onda 727, 894, 1311, 1328, 1335, 1391, 1446 e 1516 cm^{-1} e a deformação em corte referente às ligações CH encontra-se em 1043 cm^{-1} . Além disso,

os números de onda 1606, 1620 cm^{-1} foram atribuídos a estiramentos antissimétricos das ligações CH nos anéis da 1,10-fenantrolina.

Já na molécula de L-tirosina presente no complexo FTCu, as deformações angulares no plano do anel aromático aparecem nos números de onda 716, 820, 1248, 1328 e 1415 cm^{-1} e uma deformação das ligações CH em corte em 1081 cm^{-1} . Para o grupo CH_2 presente na molécula do aminoácido (H48C47H49) foram atribuídas deformações angulares de rotação em 859 cm^{-1} e balanço fora de fase em 894, 1099, 1151 e 1248 cm^{-1} . Além disso, nessa faixa espectral para a L-tirosina encontram-se ainda deformações angulares em rotações para C15H16 em 716 e 1151 cm^{-1} e para o grupo H3N2H4 foram atribuídos balanços em fase nos números de onda 1081 e 1099 cm^{-1} e balanços fora de fase em 859 e 1151 cm^{-1} .

A Figura 40 apresenta os espectros Raman experimental e teórico para o cristal ternário FTCu para a faixa espectral de 2920 a 3140 cm^{-1} . Essa região de alto número de onda para o espectro Raman comumente apresenta grandes bandas sobrepostas características de compostos orgânicos, sendo oriundas principalmente de vibrações de estiramento das ligações CH [123].

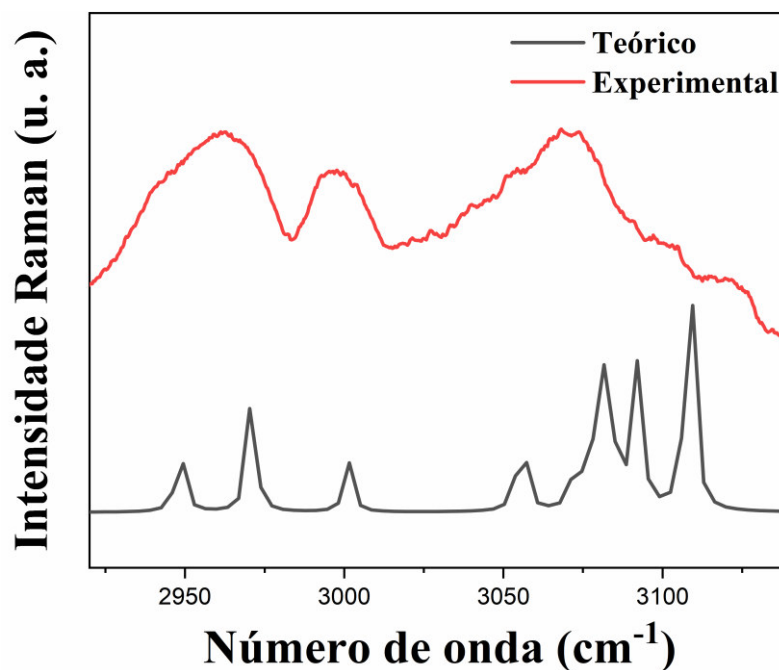


Figura 40. Espectros Raman experimental e teórico para os cristais ternários FTCu em temperatura ambiente para a faixa espectral de 2920 a 3140 cm^{-1} .

Os estiramentos nos anéis da molécula de 1,10-fenantrolina foram atribuídos nos números de onda 3081 e 3092 cm^{-1} como antissimétricos e em 3109 cm^{-1} como simétrico. Já para o anel aromático da L-tirosina identificou-se estiramento antissimétrico das ligações CH em 3057 cm^{-1} . Além disso, em 2949 e 2970 cm^{-1} encontram-se estiramentos de C15H16. Para

o complexo FTCu também foram atribuídas bandas de estiramento simétrico de CH₂ em 2949 e 2970 cm⁻¹ e estiramento antissimétrico em 3001 cm⁻¹ para H48C47H49.

A Tabela 7 apresenta todas as 46 bandas identificadas nos espectros Raman teóricos (ω_{cal}) e experimentais (ω_{Raman}) para o cristal ternário FTCu, bem como suas respectivas atribuições dos modos vibracionais com os valores numéricos das VMARDs apresentadas entre parênteses. Pode-se observar que as bandas nos espectros experimental e teórico apresentam boa concordância.

Tabela 7. Atribuições dos modos Raman para o cristal ternário FTCu.

* ω_{cal} (cm ⁻¹)	ω_{Raman} (cm ⁻¹)	Atribuições com VMARD (%)
94	95	
101	110	
153	147	
170	178	
205	202	$\delta(\text{tir}_{\text{anel}})(23) + \delta(\text{H12O11H13})$
247	256	$\tau(\text{fen}_{\text{anel}})(68)$
278	286	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})(15) + \delta(\text{Cu1O8N2}) + \omega(\text{H12O11H13}) + \delta(\text{tir}_{\text{anel}})$
295	310	$\omega(\text{H12O11H13}) + \delta(\text{fen}_{\text{anel}})$
306	313	$\omega(\text{H12O11H13}) + \delta(\text{Cu1N5C34}) + \delta(\text{Cu1N6C35})$
320	337	$\delta(\text{Cu1O8N2})(15) + \delta(\text{H12O11H13})$
358	369	$\delta(\text{Cu1O8C14})(16) + \delta(\text{O7C14O8})(12) + \delta(\text{tir}_{\text{anel}}) + \delta(\text{H48C47H49}) + \delta(\text{H3N2H4})$
403	411	$\tau(\text{fen}_{\text{anel}})(44)$
421	430	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})(46) + \omega_{\text{f}}(\text{H12O11H13})$
434	452	$\tau(\text{fen}_{\text{anel}})(62) + \rho(\text{H12O11H13})$
469	487	$\nu(\text{Cu1N2}) + \delta(\text{Cu1O8C14}) + \delta(\text{Cu1N2C15}) + \rho(\text{C15H16})$
476	-	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})(30)$
501	507	$\rho(\text{H3N2H4}) + \tau(\text{C17C25C23C22})$
528	543	$\rho(\text{H3N2H4}) + \delta(\text{Cu1O8C14})(13) + \delta(\text{Cu1N2C15})$
549	558	$\delta(\text{tir}_{\text{anel}}) + \rho(\text{H3N2H4})$
619	602	$\delta(\text{tir}_{\text{anel}})(43)$
629	621	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}}) + \delta(\text{tir}_{\text{anel}})$
636	637	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}}) + \delta(\text{tir}_{\text{anel}})$
716	720	$\delta(\text{tir}_{\text{anel}})(35) + \rho(\text{C15H16})$
727	737	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})(58)$
820	826	$\delta(\text{tir}_{\text{anel}})(66)$
859	843	$\gamma(\text{O7C14O8})(27) + \omega_{\text{f}}(\text{H3N2H4}) + \rho(\text{H48C47H49})$
894	906	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}}) + \omega_{\text{f}}(\text{H48C47H49})$
1043	1048	$\gamma(\text{fen}_{\text{anel}})(41)$
1081	1060	$\gamma(\text{tir}_{\text{anel}})(17) + \omega(\text{H3N2H4})$
1099	1067	$\omega(\text{H3N2H4}) + \omega_{\text{f}}(\text{H48C47H49})$
1151	1157	$\rho(\text{O9H10})(11) + \rho(\text{C15H16}) + \omega_{\text{f}}(\text{H48C47H49}) + \omega_{\text{f}}(\text{H3N2H4})$
1248	1257	$\delta(\text{tir}_{\text{anel}})(58) + \omega_{\text{f}}(\text{H48C47H49})$
1311	1311	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})(36)$

1328	1332	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})(38) + \delta(\text{tir}_{\text{anel}})$
1335	1346	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})(52)$
1391	1388	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})(33)$
1415	1432	$\delta(\text{tir}_{\text{anel}})(62)$
1446	1458	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})(60)$
1516	1512	$\delta(\text{fen}_{\text{anel}})(57)$
1606	1586	$\nu_a(\text{fen}_{\text{anel}})(65)$
1620	1605	$\nu_a(\text{fen}_{\text{anel}})(53)$
2949	-	$\nu_s(\text{H48C47H49})(72) + \nu(\text{C15H16})(11)$
2970	2962	$\nu(\text{C15H16})(77) + \nu_s(\text{H48C47H49})(23)$
3001	2997	$\nu_a(\text{H48C47H49})(94)$
3057	3054	$\nu_a(\text{tir}_{\text{anel}})(82)$
3081	3068	$\nu_a(\text{fen}_{\text{anel}})(70)$
3092	3073	$\nu_a(\text{fen}_{\text{anel}})(69)$
3109	-	$\nu_s(\text{fen}_{\text{anel}})(87)$

*Números de onda calculados utilizando o método DFT-PBE1PBE/6-311++G(d,p).

São apresentados apenas os valores das porcentagens VMARD acima de 9%.

Os modos sem VMARD foram determinados visualmente.

Notação para os modos: ν – Estiramento; ν_s - Estiramento simétrico; ν_a - Estiramento antissimétrico; ρ - Rotação; δ - Deformação; γ - Corte; ω – Balanço em fase; ω_f – Balanço fora de fase; τ - Torção.

4.5 Análise térmica

A Figura 41 apresenta a curva DSC na faixa de temperatura entre 303 a 393 K para o cristal ternário FTCu.

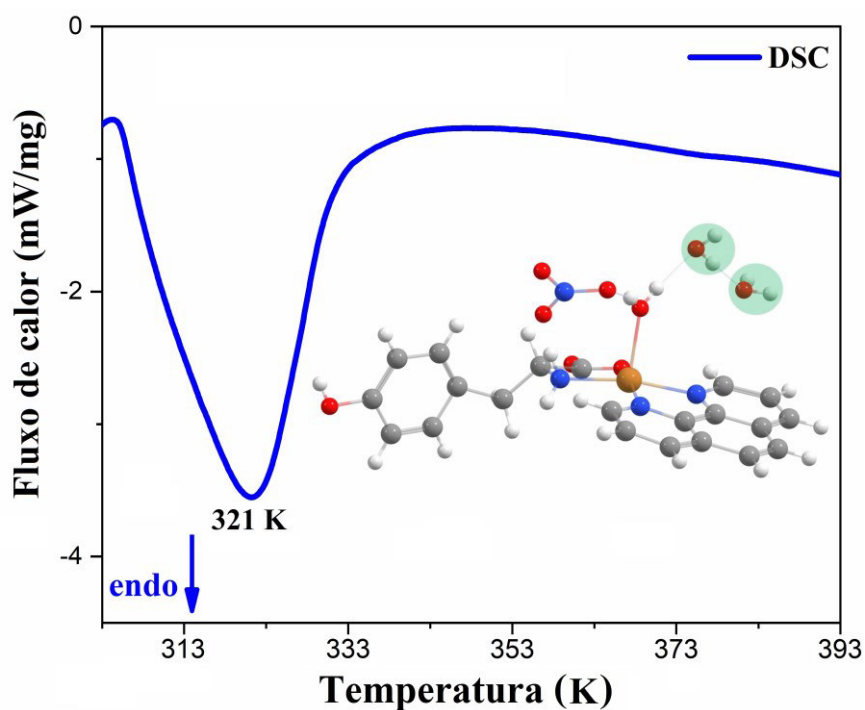


Figura 41. Curva DSC do cristal ternário FTCu.

É possível observar um pico endotérmico bem definido na temperatura de 321 K, provavelmente relacionado com a saída das moléculas de água livre do cristal ternário FTCu. Este evento sugere uma estabilidade térmica do material superior à temperatura normal do corpo humano, aproximadamente 310 K [124], favorecendo sua possível aplicação como agente antitumoral.

Com base na Figura 41, pressupõem-se ainda que as moléculas de água livre (não coordenadas), encontram-se fracamente ligadas ao complexo por meio de ligações secundárias, o que requer uma baixa energia para sua evaporação, sugerindo que em temperaturas superiores à 321 K o cristal ternário FTCu sofre uma transformação de fase.

4.6 Difração de raios X em função da temperatura

Baseando-se em uma possível alteração da estrutura do cristal ternário FTCu devido à perda das moléculas de água livre, fez-se a análise dos difratogramas entre as temperaturas de 300 a 393 K (Figura 42) para verificação de uma transformação de fase do material.

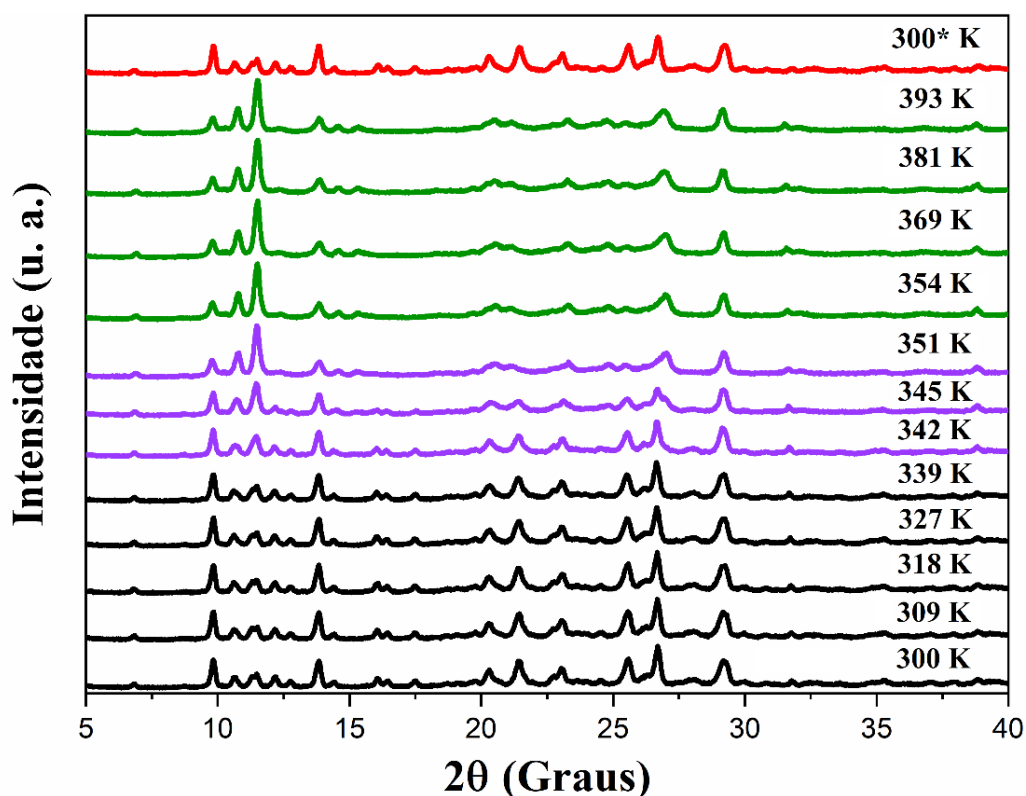


Figura 42. Difratogramas do cristal ternário FTCu em função da temperatura (300 a 393 K). Medida 300* K referente ao retorno à temperatura ambiente após 24 horas.

A partir da Figura 42, verifica-se que o cristal ternário FTCu apresenta a fase monoclinica em temperatura ambiente até 339 K³, não sendo possível perceber qualquer mudança significativa em sua estrutura nesse intervalo de temperatura. A curva de DSC (Figura 41) sugere que a saída das moléculas de água livre ocorre entre 321 e 330 K, no entanto, conforme os difratogramas em função da temperatura, essas águas só são eliminadas completamente da estrutura do complexo FTCu em temperatura superior a 354 K, essa diferença pode estar relacionada a maior quantidade de amostra utilizada para as medidas de DRX, o que gera um gradiente de temperatura. Nota-se ainda da Figura 42, que, a partir de temperaturas superiores a 354 K, os difratogramas apresentam o desaparecimento de picos, bem como alargamento e diminuição de outros, o que sugere uma baixa cristalinidade do complexo FTCu nessa faixa de temperatura [125,126].

A Figura 43 apresenta a descontinuidade devida ao aumento da temperatura do pico referente ao plano (011), localizado na posição $2\theta = 9,8^\circ$, assim como um aumento da intensidade dos picos nas posições $2\theta = 10,7$ e $11,45^\circ$, referentes aos planos (11-1) e (110), respectivamente, e ainda uma diminuição e deslocamento do pico localizado em $2\theta = 26,6^\circ$.

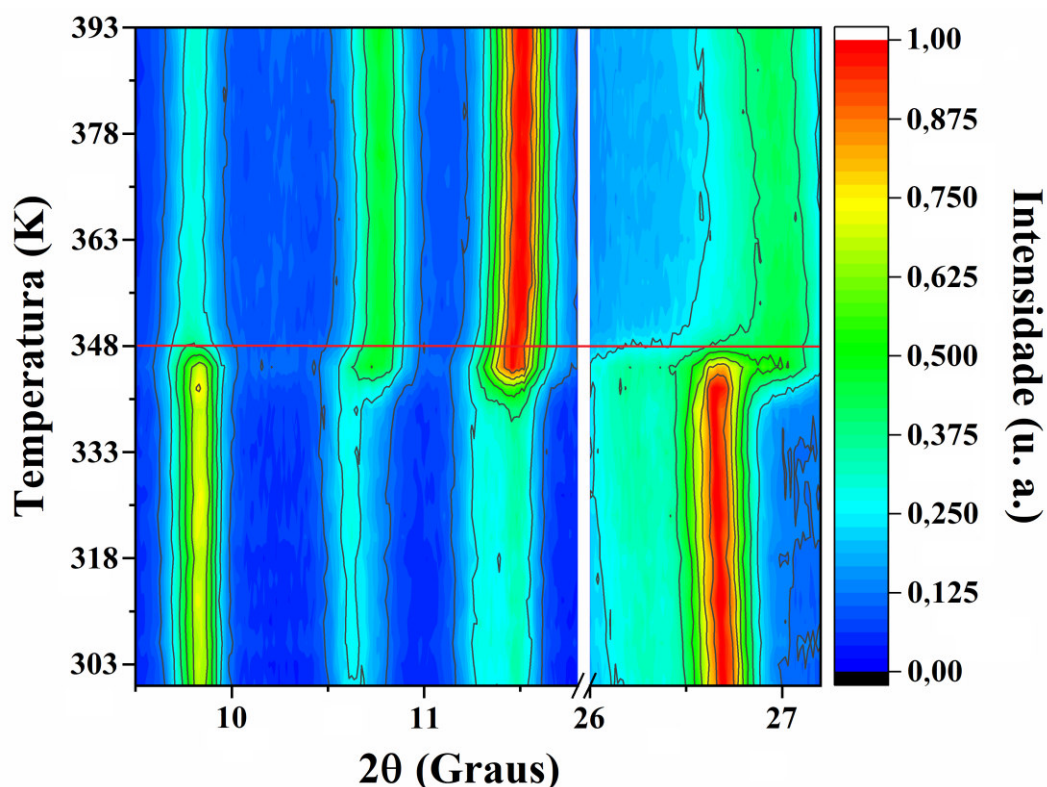


Figura 43. Transformação de fase do cristal ternário FTCu no intervalo angular 2θ entre $9,5$ e $27,2^\circ$.

³ Os difratogramas refinados pelo método Rietveld entre as temperaturas de 309 a 339 K e os seus respectivos parâmetros estruturais são apresentados no Apêndice A.

A descontinuidade desses picos até a formação de um novo padrão cristalográfico a partir da temperatura de 354 K (Figura 42) é um fator indicativo da transformação de fase sugerida pela análise da curva DSC (Figura 41), decorrente da perda de moléculas de água livre na estrutura cristalina.

A Figura 44 apresenta a variação dos parâmetros de rede do cristal FTCu até a transformação de fase do material, que ocorre a partir de 342 K.

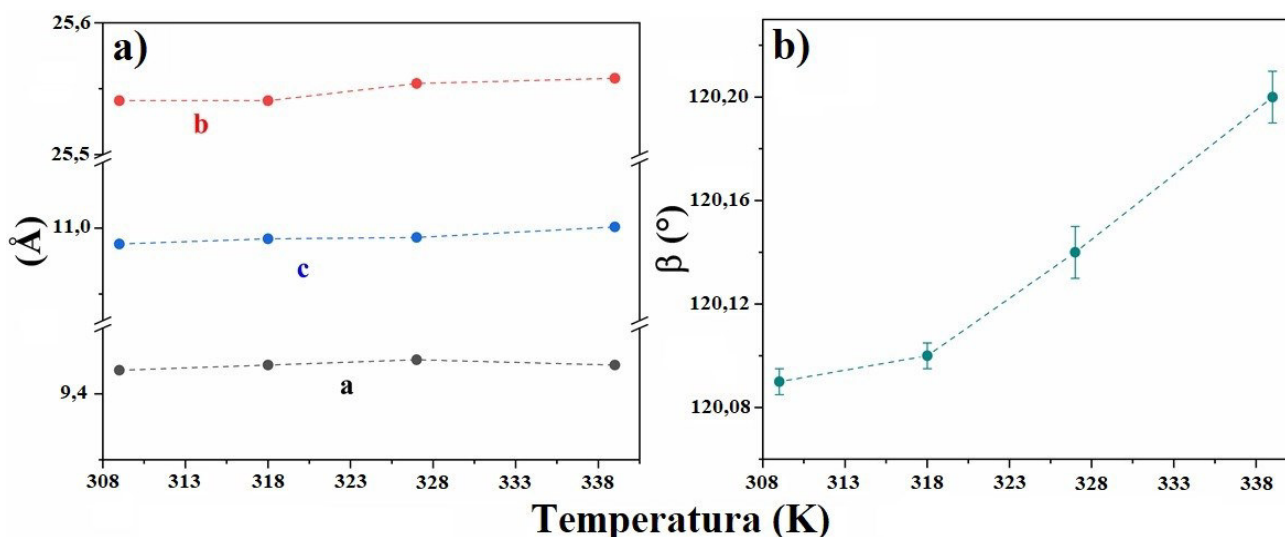


Figura 44. a) Variação dos parâmetros de rede a , b e c e b) do ângulo β da célula unitária do cristal FTCu obtidos em função da temperatura pelos dados de DRX refinados pelo método de Rietveld.

É possível verificar pela Figura 44, que o efeito de dilatação térmica não altera significativamente os valores dos parâmetros a , b e c , todavia, observar-se que o ângulo β aumenta conforme aumenta a temperatura.

A variação do volume da célula em função da temperatura para o cristal ternário FTCu é apresentada na Figura 45. Pode-se notar que a célula unitária sofre um aumento devido aos efeitos de dilatação térmica no material. A curva apresenta ainda uma descontinuidade na temperatura de 327 K, que resulta em uma diminuição do volume, possivelmente por conta de uma conformação da estrutura molecular devido ao rearranjo em uma nova estrutura após a transformação de fase.

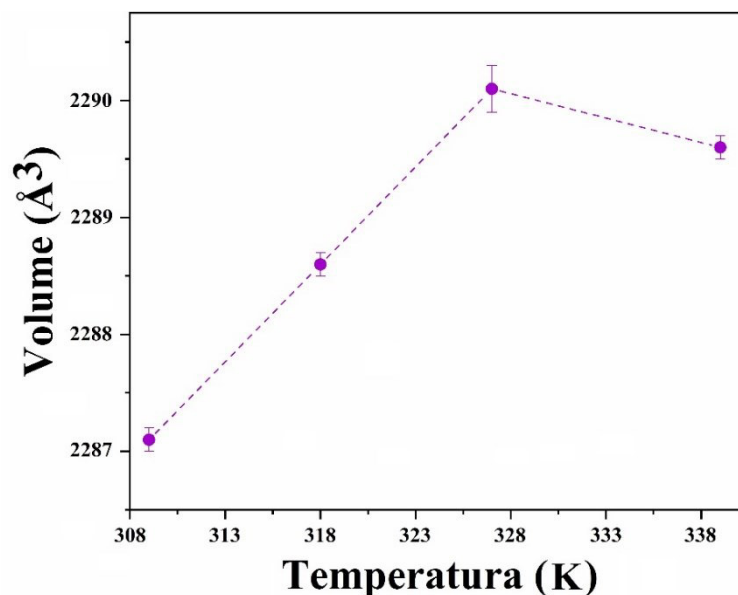


Figura 45. Variação do volume da célula unitária em função da temperatura do cristal FTCu obtida pelo refinamento Rietveld.

Após a confirmação da transformação da fase, fez-se o refinamento pelo método Le Bail a partir do difratograma obtido na temperatura de 381 K, apresentado na Figura 46, validando os dados indexados no software DASH 3.3.6 por meio do programa GSAS.

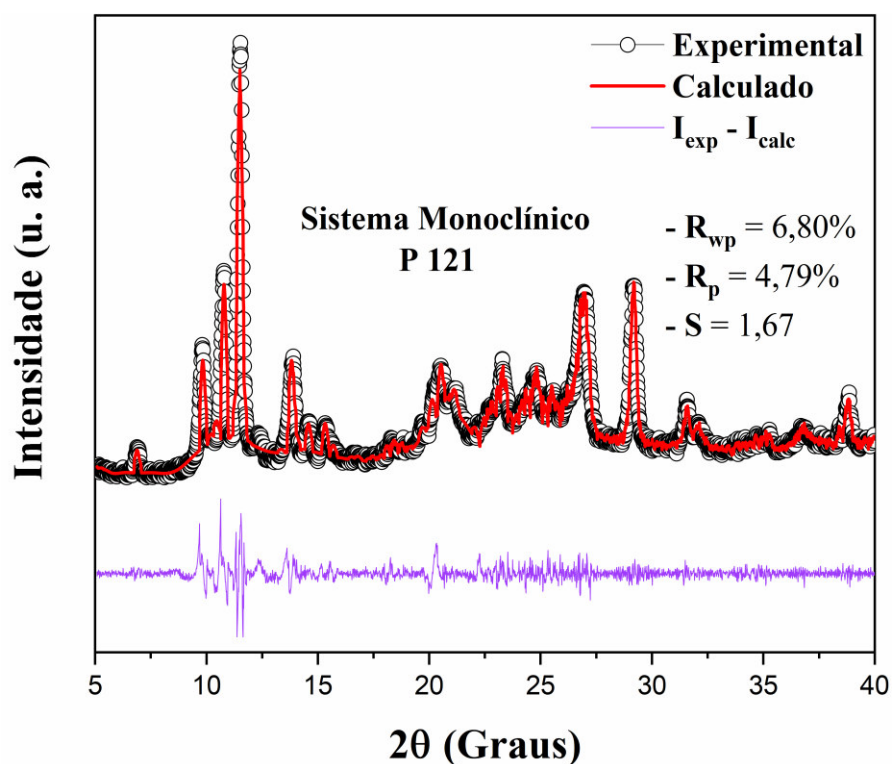


Figura 46. Padrão de raios X em 381 K refinado pelo método Le Bail para o cristal ternário FTCu após a transformação de fase, com difratograma experimental (círculos), difratograma teórico (linha vermelha) e diferença entre eles (linha violeta).

Os índices de confiança $R_{wp} = 6,80\%$, $R_p = 4,79\%$ e $S = 1,67$ mostram que o refinamento foi realizado com um bom nível de ajuste e que os dados produzidos possuem boa confiabilidade.

Com a transformação de fase, o material passa de uma célula unitária para uma super célula devido à desordem nas ligações entre os grupos moleculares, causada pelo aumento da temperatura, com o indexamento dos parâmetros de rede mostrando que o material permanece com o sistema cristalino monoclinico, no entanto, mudando o grupo espacial de $P2_1/c$ para $P121 (C_2^1)$, com os seguintes parâmetros: $a = 17,990(3) \text{ \AA}$, $b = 9,862(2) \text{ \AA}$, $c = 16,961(2) \text{ \AA}$, $\beta = 94,28(1)^\circ$ e $V = 3000,7(2) \text{ \AA}^3$.

Ao final da última medida em 393 K, fez-se uma nova medida em temperatura ambiente (300°K) após 24 horas e constatou-se que o material retornou, ainda no sistema monoclinico, para o grupo espacial $P2_1/c$, provavelmente por absorver moléculas de água do ambiente.

4.7 Ensaio de solubilidade

O perfil de solubilidade do cristal ternário FTCu foi analisado através do ensaio de solubilidade utilizando uma massa de 500 g do cristal em solução de 100 mL de água deionizada. A Tabela 8 apresenta as concentrações das soluções padrão do material e suas respectivas absorvâncias em 615 nm que foram utilizadas a obtenção de uma curva analítica, através do método dos mínimos quadrados, segundo representado na Figura 47 como curva padrão.

Tabela 8. Concentração média das soluções padrão do cristal ternário FTCu utilizadas para a construção da curva analítica (Absorbância = 615 nm).

Pontos	Absorbância (615 nm)	Concentração do cristal FTCu (g/L)
1	0,551	2
2	0,583	3
3	0,618	4
4	0,651	5
5	0,674	6
6	0,69	7
7	0,708	8
8	0,728	9
9	0,753	10 (Padrão / Solução mãe)

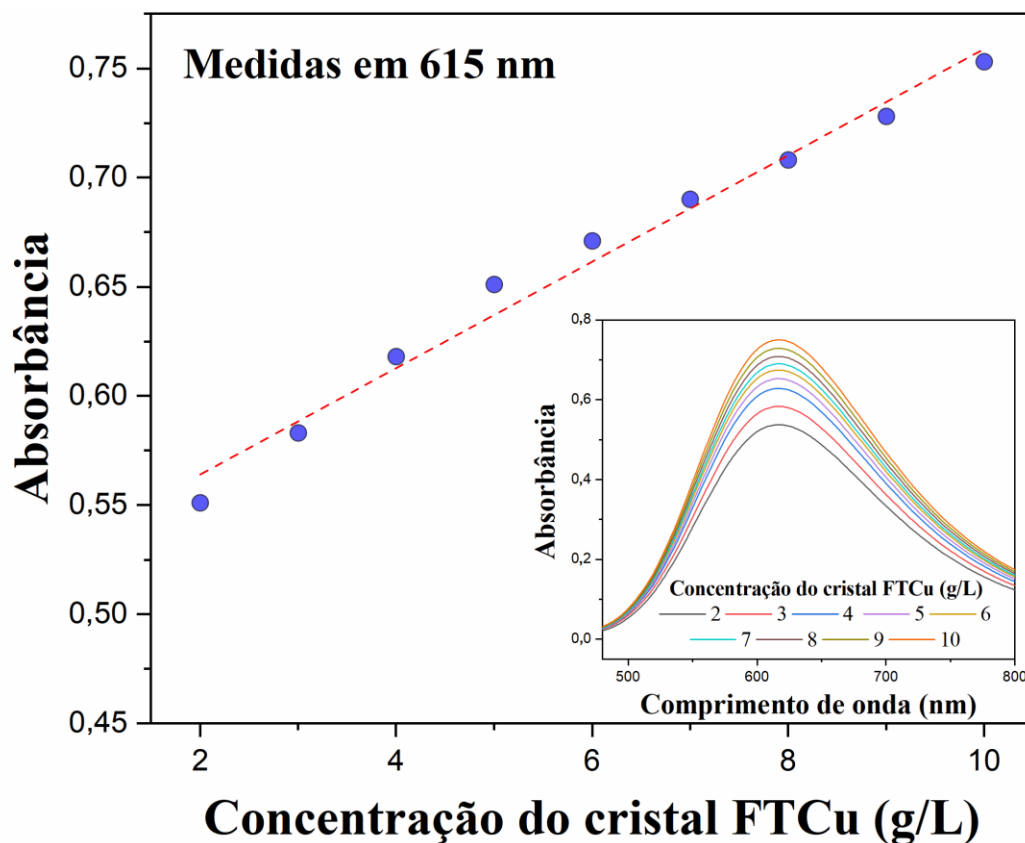


Figura 47. Curva analítica para a determinação da solubilidade do cristal ternário FTCu em água.

A curva analítica apresentou parâmetro de ajuste (R^2) de 0,98, evidenciando uma boa correlação linear para as variáveis em estudo. A partir da equação da reta obtida pela curva analítica calculou-se as concentrações em mg/mL do cristal ternário FTCu em função do tempo conforma a Tabela 9.

Tabela 9. Concentração do cristal ternário FTCu em função do tempo.

Tempo (min)	Concentração do cristal ternário FTCu (mg/mL)
0,5	4,46
1	13,90
2	23,13
3	24,98
4,5	30,11
8	30,52
20	31,13
60	32,57
120	35,85
180	39,54
240	43,65
300	48,16

O perfil de solubilidade do cristal ternário FTCu é apresentado na Figura 48. Conforme é possível observar na Tabela 9 e na Figura 48, o material apresenta solubilidade inicial no tempo de 0,5 minutos igual a 4,46 mg/mL, seguindo com aumentos gradativos ao longo do tempo de 300 minutos até atingir uma solubilidade de 48,16 mg/mL.

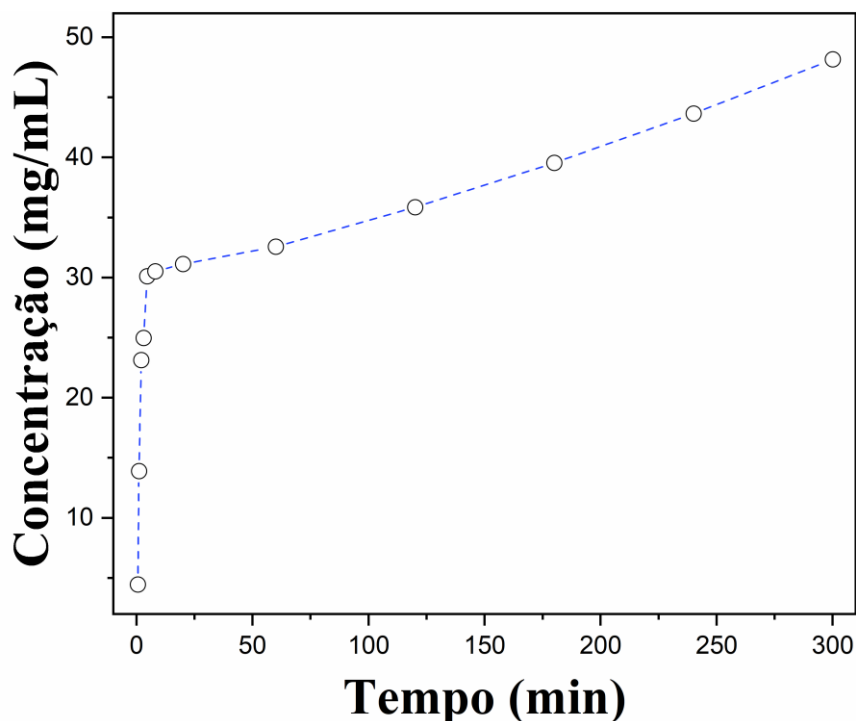


Figura 48. Perfil de solubilidade do cristal ternário FTCu.

O ensaio de solubilidade é uma ferramenta importante para controle no desenvolvimento de fármacos ou carreadores de drogas. A cisplatina, que é uma das drogas quimioterápicas mais utilizadas no tratamento de vários tipos de câncer, apresenta uma baixa solubilidade em água, cerca de 2,5 mg/mL, sendo necessário ser diluída em solução de cloreto de sódio ao ser administrada nos pacientes. Dessa forma, o cristal ternário FTCu apresenta um melhor perfil de solubilidade, possibilitando o seu uso no tratamento quimioterápico sem a presença de qualquer outro solvente para sua dissolução.

4.8 Avaliação da atividade antitumoral *in vitro*

A atividade antitumoral do complexo ternário FTCu foi investigada por meio de testes de citotoxicidade *in vitro* utilizando-se as linhagem PC3, referente ao adenocarcinoma de próstata, *i.e.*, tipo de câncer que atinge as glândulas e o tecido epitelial da próstata [127], e SNB-

19, do tipo histológico glioblastoma de células tumorais do sistema nervoso central que afetam o cérebro humano [128].

Os testes *in vitro* são essenciais em compostos com potencial para uso como novas drogas antes da aplicação em humanos, sendo uma alternativa eficiente para experimentos com células animais que oferecem estimativas do potencial citotóxico com alto grau de precisão. Nesse contexto, o índice IC₅₀ (do inglês *half-maximal inhibitory concentrations*, concentração que inibe metade do crescimento celular) é uma medida da dose de uma substância que causa 50% de inibição em uma população de células após determinado tempo, frequentemente utilizado como indicador geral da eficácia de um medicamento [129].

A Tabela 10 apresenta os valores do IC₅₀ para o cristal ternário FTCu aplicado nas linhagens PC3 e SNB-19 em comparação com a cisplatina, outras casiopeínas que utilizam os aminoácidos L-asparagina e L-metionina (Cu(PHEN)(ASN) e Cu(PHEN)(MET), respectivamente) e os medicamentos docetaxel (comumente empregado no tratamento quimioterápico do câncer de próstata), cefarantina e imatinib (usados na quimioterapia do câncer do sistema nervoso central).

Tabela 10. IC₅₀ do cristal ternário FTCu para as linhagens PC3 e SNB-19 em comparação com a cisplatina, Cu(PHEN)(ASN), Cu(PHEN)(MET), docetaxel, cefarantina e imatinib.

Compostos	IC ₅₀ (μM)		Referência
	PC3	SNB-19	
FTCu	3,15	3,45	-
Cisplatina	3,9	7,7	[128,130]
Cu(PHEN)(ASN)	5,7	-	[47]
Cu(PHEN)(MET)	7,4	-	[47]
Docetaxel	11,8	-	[131]
Cefarantina	-	4,38	[132]
Imatinib	-	18,7	[133]

A partir dos dados da Tabela 10 pode-se perceber que o cristal ternário FTCu possui ação antitumoral mais efetiva que a cisplatina, os outros complexos com os aminoácidos asparagina e metionina e alguns dos medicamentos utilizados no tratamento de câncer das linhagens PC3 e SNB-19, confirmando a atividade citotóxica prevista pelo estudo computacional a partir do índice de eletrofilicidade.

A maior citotoxicidade do complexo FTCu em relação ao docetaxel, cefarantina e imatinib pode ser atribuída à presença do íon metálico não presente nesses medicamentos, que ao ser complexado com os ligantes potencializa a sua capacidade de nuclease no DNA das

células cancerígenas, fator que também pode ser responsável pela melhor atividade citotóxica do material em relação à cisplatina, que contém o íon platina, mas que, no entanto, tem coordenação com ligantes de campo mais fraco em relação à 1,10-fenantrolina e L-tirosina.

Quando em comparação com as outras casiopeínas, com o ligante fenantrolina e outros aminoácidos, o cristal ternário FTCu também apresentou melhor atividade antitumoral contra a linhagem do câncer de próstata. Esse efeito citotóxico do complexo em estudo neste trabalho provavelmente pode ter sido potencializado pela presença do anel aromático da L-tirosina, que em associação com os anéis piridínicos da 1,10-fenantrolina, fornecem uma maior rigidez ao complexo e favorecem sua intercalação entre as fitas do DNA das células tumorais, levando a sua nucleasse.

5. CONCLUSÕES

Foi obtido o cristal ternário FTCu em período de 30 dias pela técnica da evaporação lenta do solvente, sendo que a complexação do material, de acordo com a espectroscopia UV-Vis, foi possível em um pH ácido de aproximadamente 4, resultando em um material de coloração azul escuro e formato prismático.

Pela análise de DRX em combinação com o refinamento Rietveld em temperatura ambiente mostrou que o material se cristaliza no sistema monoclinico com grupo espacial $P2_1/c$, contendo 4 moléculas por célula unitária.

Através do estudo computacional empregando a DFT foi possível encontrar as regiões nucleofílicas do material, que são possíveis sítios de interação do complexo ao DNA das células cancerígenas.

A análise de FT-IR e Raman ratificou a complexação do íon metálico Cu^{2+} com as moléculas de 1,10-fenantrolina e L-tirosina, confirmando que as moléculas de água presentes na estrutura são de cristalização, sendo observadas suas vibrações.

O DSC indicou que o cristal ternário FTCu é estável até uma temperatura de aproximadamente 320 K, maior que a temperatura média do corpo humano, o que favorece sua aplicação como antitumoral.

O DRX com temperatura combinado com o refinamento Le Bail confirmou uma transformação de fase do material, que se estabiliza em uma nova estrutura a partir de 354 K, permanecendo no sistema monoclinico mas mudando para o grupo espacial $P121$.

O ensaio de solubilidade mostrou uma boa solubilidade ao longo de 300 minutos para o cristal ternário FTCu, não sendo necessário outro agente para dissolução do material em meio aquoso.

Os testes biológicos confirmaram a atividade antitumoral do cristal ternário FTCu para as linhagens PC3 e SNB-19, apresentando IC_{50} igual a 3,15 e 3,45 μM , respectivamente, mais eficiente que a cisplatina e outros compostos para essas linhagens.

Os resultados obtidos sugerem que o complexo ternário de cobre (II) complexado com 1,10-fenantrolina e L-tirosina apresenta atividade antitumoral, podendo ser empregado no tratamento quimioterápico de células cancerígenas.

6. PERSPECTIVAS

- Realizar medidas de TG e DTA;
- Realizar medidas de Espectroscopia Raman em função da temperatura;
- Realizar cálculos computacionais com outros solventes;
- Desenvolver novos materiais a partir do cristal sintetizado nesse estudo;
- Apresentar resultados em congressos nacionais e internacionais;
- Escrever e publicar artigos científicos.

REFERÊNCIAS

- [1] E. Bidram, Y. Esmaceli, H. Ranji-Burachaloo, N. Al-Zaubai, A. Zarrabi, A. Stewart, D.E. Dunstan, A concise review on cancer treatment methods and delivery systems, **Journal of Drug Delivery Science Technology**. 54 (2019) 101350. doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101350.
- [2] H. Sung, J. Ferlay, R.L. Siegel, M. Laversanne, I. Soerjomataram, A. Jemal, F. Bray, Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries, CA: **A Cancer Journal for Clinicians**. (2021) 1–41. doi.org/10.3322/caac.21660.
- [3] C. Panis, A.C.B. Kawasaki, C.R. Pascotto, E.Y. Della Justina, G.E. Vicentini, L.C. Lucio, R.T.C. Prates, Critical review of cancer mortality using hospital records and potential years of life lost, **Einstein** (Sao Paulo). (2018). doi.org/10.1590/s1679-45082018ao4018. [4] M. da Saúde, 6^a edição revista e atualizada Rio de Janeiro, RJ, 2020.
- [5] BRASIL. Ministério da Saúde. **Estimativa 2020 Incidência de câncer no Brasil**, Rio de Janeiro: INCA, 2019.
- [6] J.A. Eremina, E. V. Lider, D.G. Samsonenko, L.A. Sheludyakova, A.S. Berezin, L.S. Klyushova, V.A. Ostrovskii, R.E. Trifonov, Mixed-ligand copper(II) complexes with tetrazole derivatives and 2,2'-bipyridine, 1,10-phenanthroline: Synthesis, structure and cytotoxic activity, **Inorganica Chimica Acta**. 487 (2019) 138–144. doi.org/10.1016/j.ica.2018.12.011.
- [7] G. Valora, G. Munzi, R.P. Bonomo, Ternary copper(II) complexes with 1,10-phenanthroline and various aminoacidates: A spectroscopic and voltammetric study in aqueous solution, **Journal of Inorganic Biochemistry**. 191 (2019) 40–48. doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.10.012.
- [8] D. Wesselinova, N. Kaloyanov, G. Dimitrov, Cytotoxicity and effects of 1,10-phenanthroline and 5-amino-1,10-phenanthroline derivatives on some immunocompetent cells, **European Journal of Medicinal Chemistry**. 44 (2009) 5099–5102. doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.07.016.
- [9] Q. Wang, W. Li, F. Gao, S. Li, J. Ni, Z. Zheng, Comprehensive studies on the DNA-binding and cleavage properties of a nickel complex derived from phthalate and 1,10-phenanthroline, **Polyhedron**. 29 (2010) 539–543. doi.org/10.1016/j.poly.2009.06.066.
- [10] M.G. Varrica, C. Zagni, P.G. Mineo, G. Floresta, G. Monciino, V. Pistarà, A. Abbadessa, A. Nicosia, R.M. Castilho, E. Amata, A. Rescifina, DNA intercalators based on (1,10-phenanthrolin-2-yl)isoxazolidin-5-yl core with better growth inhibition and selectivity than cisplatin upon head and neck squamous cells carcinoma, **European Journal of Medicinal Chemistry**. 143 (2018) 583–590. doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.11.067.
- [11] D. Inci, R. Aydin, Ö. Vatan, D. Yilmaz, H.M. Gençkal, Y. Zorlu, T. Cavaş, Binary and ternary new water soluble copper(II) complexes of l-tyrosine and substituted 1,10-phenanthrolines: Effect of substitution on DNA interactions and cytotoxicities, **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. 145 (2015) 313–324. doi.org/10.1016/j.saa.2015.03.011.
- [12] J. Hernández-Gil, L. Perelló, R. Ortiz, G. Alzuet, M. González-Álvarez, M. Liu-González, Synthesis, structure and biological properties of several binary and ternary complexes of copper(II) with ciprofloxacin and 1,10 phenanthroline, **Polyhedron**. 28 (2009) 138–144. doi.org/10.1016/j.poly.2008.09.018.
- [13] C. V. Barra, F. V. Rocha, L. Morel, A. Gautier, S.S. Garrido, A.E. Mauro, R.C.G. Frem, A.V.G. Netto, DNA binding, topoisomerase inhibition and cytotoxicity of palladium(II)

- complexes with 1,10-phenanthroline and thioureas, **Inorganica Chimica Acta**. 446 (2016) 54–60. doi.org/10.1016/j.ica.2016.02.053.
- [14] Z. Yang, Y. Wang, G. Yang, Copper (II) complex of 1,10-phenanthroline and l-tyrosine with DNA oxidative cleavage activity in the gallic acid, **BioMetals**. 24 (2011) 737–745. doi.org/10.1007/s10534-011-9426-5.
- [15] M.K. Koley, N. Duraipandy, M.S. Kiran, B. Varghese, P.T. Manoharan, A.P. Koley, DNA binding and cytotoxicity of some Cu(II)/Zn(II) complexes containing a carbohydrazone Schiff base ligand along with 1,10-phenanthroline as a coligand, **Inorganica Chimica Acta**. 466 (2017) 538–550. doi.org/10.1016/j.ica.2017.06.068.
- [16] J. Luis García-Giménez, M. González-Álvarez, M. Liu-González, B. Macías, J. Borrás, G. Alzuet, Toward the development of metal-based synthetic nucleases: DNA binding and oxidative DNA cleavage of a mixed copper(II) complex with N-(9H-purin-6-yl)benzenesulfonamide and 1,10-phenanthroline. Antitumor activity in human Caco-2 cells and Jurkat T lymphocy, **Journal Inorganic Biochemistry**. 103 (2009) 923–934. doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2009.04.003.
- [17] Í.P. de Souza, B. de P. Machado, A.B. de Carvalho, I. Binatti, K. Krambrock, Z. Molphy, A. Kellett, E.C. Pereira-Maia, P.P. Silva-Caldeira, Exploring the DNA binding, oxidative cleavage, and cytotoxic properties of new ternary copper(II) compounds containing 4-aminoantipyrine and N,N-heterocyclic co-ligands, **Journal of Molecular Structure**. 1178 (2019) 18–28. doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.10.004.
- [18] P.P. Silva, W. Guerra, G.C. Dos Santos, N.G. Fernandes, J.N. Silveira, A.M. Da Costa Ferreira, T. Bortolotto, H. Terenzi, A.J. Bortoluzzi, A. Neves, E.C. Pereira-Maia, Correlation between DNA interactions and cytotoxic activity of four new ternary compounds of copper(II) with N-donor heterocyclic ligands, **Journal Inorganic Biochemistry**. 132 (2014) 67–76. doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.09.014.
- [19] B. Rosenberg, L. Van Camp, T. Krigas, Inhibition of cell division in escherichia coli by electrolysis products from a platinum electrode, **Nature**. 205 (1965) 698–699.
- [20] S. Dasari, P. Bernard Tchounwou, Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action, **European Journal of Pharmacology**. 740 (2014) 364–378. doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.025.
- [21] S. Ramakrishnan, V. Rajendiran, M. Palaniandavar, V.S. Periasamy, B.S. Srinag, H. Krishnamurthy, M.A. Akbarsha, Induction of cell death by ternary copper(II) complexes of l-tyrosine and diimines: Role of coligands on DNA binding and cleavage and anticancer activity, **Inorganic Chemistry**. 48 (2009) 1309–1322. doi.org/10.1021/ic801144x.
- [22] D. Kannan, M.N. Arumugham, Synthesis , Characterisation , DNA-Binding Studies and antimicrobial activity of Copper (II) Complex with 1 , 10 Phenanthroline , L-Tyrosine and Urea as Ligands, **International Journal of Inorganic and Bioinorganic Chemistry**. 3 (2013) 8–15.
- [23] M. Kumar, S.U. Parsekar, N. Duraipandy, M.S. Kiran, A.P. Koley, Synthesis, DNA binding and in vitro cytotoxicity studies of a mononuclear copper(II) complex containing N2S(thiolate)Cu core and 1,10-phenanthroline as a coligand, **Inorganica Chimica Acta**. 484 (2019) 219–226. doi.org/10.1016/j.ica.2018.09.044.
- [24] M.L. Low, C.W. Chan, P.Y. Ng, I.H. Ooi, M.J. Maah, S.M. Chye, K.W. Tan, S.W. Ng, C.H. Ng, Ternary and binary copper(II) complexes: synthesis, characterization, ROS-inductive, proteasome inhibitory, and anticancer properties, **Journal of Coordination Chemistry**. 70 (2017) 223–241. doi.org/10.1080/00958972.2016.1260711.
- [25] S. Baskaran, M. Murali Krishnan, M.N. Arumugham, Synthesis, crystal structure, DNA binding, cleavage and cytotoxicity, antimicrobial activity of new copper(II) complex with l-ornithine and 1,10-phenanthroline, **Inorganic and Nano-Metal Chemistry**. 47 (2017)

- 269–277. doi.org/10.1080/15533174.2016.1186039.
- [26] A. Zafar, S. Singh, S. Ahmad, S. Khan, M. Imran Siddiqi, I. Naseem, Interaction of C20-substituted derivative of pregnenolone acetate with copper (II) leads to ROS generation, DNA cleavage and apoptosis in cervical cancer cells: Therapeutic potential of copper chelation for cancer treatment, **Bioorganic Chemistry**. 87 (2019) 276–290. doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.03.031.
- [27] H. Öhrvik, D.J. Thiele, The role of Ctr1 and Ctr2 in mammalian copper homeostasis and platinum-based chemotherapy, **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**. 31 (2015) 178–182. doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.03.006.
- [28] A. De Luca, A. Barile, M. Arciello, L. Rossi, Copper homeostasis as target of both consolidated and innovative strategies of anti-tumor therapy, **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**. 55 (2019) 204–213. doi.org/10.1016/j.jtemb.2019.06.008.
- [29] D.S. Sigman, D.R. Graham, V. D'Aurora, A.M. Stern, Oxygen-dependent Cleavage of DNA by the 1,10-Phenanthroline Cuprous Complex, **Journal of Biological Chemistry**. 254 (1979) 12269–12272.
- [30] N. Hustedt, D. Durocher, The control of DNA repair by the cell cycle, **Nature Cell Biology**. 19 (2017) 1–9. doi.org/10.1038/ncb3452.
- [31] R.C.F. da Silva, Memória Iconográfica do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, 2019. doi.org/10.32635/2176-9745.rbc.2017v63n3.143.
- [32] R.J.B. King, M.W. Robins, **Cancer Biology**. ed. 3th, 2006.
- [33] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, D. Morgan, M. Raff, K. Roberts, P. Walter, **Molecular Biology of the Cell**, ed. 6th, 2015. doi.org/10.1249/mss.0b013e318185ce9d.
- [34] A.P.S. Fontes, E.T. César, H. Beraldo, Cadernos temáticos - A Química Inorgânica na terapia do câncer, **Química Nova na Escola**. 6 (2005) 13–18.
- [35] R. Fior, R. Zilhão, **Molecular and Cell Biology of Cancer**, Springer, 2019.
- [36] A. Sudhakar, History of Cancer, Ancient and Modern Treatment Methods, **Journal of Cancer Science & Therapy**. 01 (2009) i–iv. doi.org/10.4172/1948-5956.100000e2.
- [37] L. Wan, K. Pantel, Y. Kang, Tumor metastasis: Moving new biological insights into the clinic, **Nature Medicine**. 19 (2013) 1450–1464. doi.org/10.1038/nm.3391.
- [38] J. Fernando, R. Jones, **The principles of cancer treatment by chemotherapy**, Surgery. (Oxford). 33 (2015) 131–135. doi.org/10.1016/j.mpsur.2015.01.005.
- [39] A. Alam, Chemotherapy Treatment and Strategy Schemes: A Review, **Open Access Journal of Toxicology**. 2 (2018). doi.org/10.19080/oajt.2018.02.555600.
- [40] S. Neidle, D.E. Thurston, Chemical approaches to the discovery and development of cancer therapies, **Nature Reviews Cancer**. 5 (2005) 285–296. doi.org/10.1038/nrc1587.
- [41] A.P. Neves, M.D. Vargas, Platinum(II) complexes in cancer therapy, **Revista Virtual de Química**. 3 (2011) 196–209. doi.org/10.5935/1984-6835.20110023.
- [42] S. Dilruba, G. V. Kalayda, Platinum-based drugs: past, present and future, **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**. 77 (2016) 1103–1124. doi.org/10.1007/s00280-016-2976-z.
- [43] R. Galindo-Murillo, J. Hernandez-Lima, M. González-Rendón, F. Cortés-Guzmán, L. Ruíz-Azuara, R. Moreno-Esparza, π -Stacking between Casiopeínas® and DNA bases, **Physical Chemistry Chemical Physics**. 13 (2011) 14510–14515. doi.org/10.1039/c1cp20183b.
- [44] I. Iakovidis, I. Delimaris, S.M. Piperakis, Copper and Its Complexes in Medicine: A Biochemical Approach, **Molecular Biology International**. 2011 (2011) 1–13. doi.org/10.4061/2011/594529.
- [45] C.V. Barra, A.V.G. Netto, Antitumour complexes and DNA interactions and their tools of analysis: An approach to metalointercalators, **Revista Virtual de Química**. 7 (2015)

- 1998–2016. doi.org/10.5935/1984-6835.20150118.
- [46] S. Kiraz, D. Inci, R. Ayd, Ö. Vatan, Y. Zorlu, T. Cavaş, Antiproliferative activity of copper (II) glutamine complexes with N , N - donor ligands : Synthesis , characterization , potentiometric studies and DNA / BSA interactions, **Journal of molecular structure**. 1194 (2019) 245–255. doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.05.086.
- [47] J.A.O. Rodrigues, J.G. de Oliveira Neto, A.O. da Silva de Barros, A.P. Ayala, R. Santos-Oliveira, A.S. de Menezes, F.F. de Sousa, Copper(II):phenanthroline complexes with L-asparagine and L-methionine: Synthesis, crystal structure and in-vitro cytotoxic effects on prostate, breast and melanoma cancer cells, **Polyhedron**. 191 (2020) 114807. doi.org/10.1016/j.poly.2020.114807.
- [48] V. Adımcılar, M. Çeşme, P. Şenel, İ. Danış, D. Ünal, A. Gölcü, Comparative study of cytotoxic activities, DNA binding and molecular docking interactions of anticancer agent epirubicin and its novel copper complex, **Journal of Molecular Structure**. 1232 (2021) 130072. doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130072.
- [49] G. Marverti, G. Gozzi, A. Lauriola, G. Ponterini, The 1 , 10-Phenanthroline Ligand Enhances the Antiproliferative Activity of DNA-Intercalating Thiourea-Pd (II) and -Pt (II) Complexes Against Cisplatin-Sensitive and -Resistant Human Ovarian Cancer Cell Lines, **International Journal of Molecular Sciences**. 20 (2019) 1–18. doi:10.3390/ijms20246122
- [50] N. Türkel, Study of Metal-1,10-Phenanthroline Complex Equilibria by Potentiometric Measurements, **ISRN Analytical Chemistry**. 2012 (2012) 1–5. doi.org/10.5402/2012/345684.
- [51] P. Hazarika, B. Bezbaruah, P. Das, O.K. Medhi, C. Medhi, A model study on the stacking interaction of phenanthroline ligand with nucleic acid base pairs: An ab initio, MP2 and DFT studies, **Journal of Biophysical Chemistry**. 02 (2011) 153–158. doi.org/10.4236/jbpc.2011.22019.
- [52] M. Fleck, A.M. Petrosyan, **Salts of amino acids: Crystallization, structure and properties**, 2014.
- [53] A.L. Lehninger, D.L. Nelson, M.M. Cox, **Principles of Biochemistry**, 2013.
- [54] J.R. Winkler, H.B. Gray, Could tyrosine and tryptophan serve multiple roles in biological redox processes?, **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering sciences**. 373 (2015). doi.org/10.1098/rsta.2014.0178.
- [55] X. Chen, P. Chen, L. Jiang, Y. Zhao, Y. Chen, Z. Sun, H. Chen, Luminescence properties of large-size Li₂MoO₄ single crystal grown by Czochralski method, **Journal of Crystal Growth**. 558 (2021) 126022. doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2020.126022.
- [56] C.F. Chimezie, S.O. Aisida, V.A. Ezekoye, B. Onwurah, K.K. Agwu, Characterization and gamma dose-response of multicrystalline Li₂B₄O₇: Mg phosphor prepared by the melting zone method, **Radiation Physics and Chemistry**. 177 (2020) 109121. doi.org/10.1016/j.radphyschem.2020.109121.
- [57] K.Y. Lin, H.W. Wan, K.H.M. Chen, Y.T. Fanchiang, W.S. Chen, Y.H. Lin, Y.T. Cheng, C.C. Chen, H.Y. Lin, L.B. Young, C.P. Cheng, T.W. Pi, J. Kwo, M. Hong, Molecular beam epitaxy, atomic layer deposition, and multiple functions connected via ultra-high vacuum, **Journal of Crystal Growth**. 512 (2019) 223–229. doi.org/10.1016/j.jcrysgro.2019.02.035.
- [58] J.W. Mullin **Crystallization**, (2001).
- [59] S.K. Chatterjee, **Crystallography and the world of symmetry**, 2008.
- [60] A. Holden, P. Morrison, **Crystals and crystal growing**, 1982.
- [61] J.W.P. Schmelzer, **Nucleation Theory and Applications**, 2005.
- [62] J. William D. Callister, D.G. Rethwisch, **Materials Science and Engineering: an introduction**, ed. 10th, Wiley, 2018.

- [63] C. Kittel, **Introduction to Solid State Physics**, ed. 8th, John Wiley & Sons, 2005.
- [64] J.M. Hollas, **Modern spectroscopy**, 2011.
- [65] F. Hinderer, **Prinzip der UV/Vis-Absorptions- und Fluoreszenz-Spektroskopie**, Springer Spektrum, Wiesbaden, Germany, 2020.
- [66] D.A. Skoog, J. Hanlan, D.M. West, **Principles of Instrumental Analysis**, ed. 7th, Cengage Learning, 2016.
- [67] E.N. Kaufmann, **Characterization of materials**, John Wiley & Sons, 2003.
- [68] V.K. Pecharsky, P.Y. Zavalij, **Fundamentals of powder diffraction and structural characterization of materials**, ed. 2nd, Springer, New York, 2009.
- [69] H.M. Rietveld, Line profiles of neutron powder-diffraction peaks for structure refinement, **Acta Crystallographica**. 22 (1967) 151–152. doi.org/10.1107/s0365110x67000234.
- [70] H.M. Rietveld, A profile refinement method for nuclear and magnetic structures, **Journal of Applied Crystallography**. 2 (1969) 65–71. doi.org/10.1107/s0021889869006558.
- [71] G. Will, **Powder diffraction: The Rietveld Method and the Two Stage Method to Determine and Refine Crystal Structures from Powder Diffraction Data**, Springer, 2006.
- [72] B.H. Toby, R factors in Rietveld analysis: How good is good enough? , **Powder Diffraction**. 21 (2006) 67–70. doi.org/10.1154/1.2179804.
- [73] A. Le Bail, H. Duroy, J.L. Fourquet, Ab-Initio Structure Determination of LiSbWO by X-Ray Powder Diffraction, **Mat. Res. Bull.** 23 (1988) 447–452.
- [74] V.K. Peterson, Lattice parameter measurement using Le Bail versus structural (Rietveld) refinement: A caution for complex, low symmetry systems, **Powder Diffraction**. 20 (2005) 14–17. doi.org/10.1154/1.1810156.
- [75] P.J. Larkin, **IR and Raman Spectroscopy - Principles and Spectral Interpretation**, Elsevier, 2011.
- [76] A. Christy, Y. Ozaki, V. Gregoriou, **Modern Fourier Transform Infrared Spectroscopy**, Wilson & Wilson's, 2011.
- [77] P.R. Griffiths, J.A. de Haseth, **Fourier Transform Infrared Spectrometry**, ed. 2nd, John Wiley & Sons, 2007.
- [78] C.V. Raman, A new radiation, **Indian J. Phys.** 2 (1928) 387–398. https://doi.org/10.1007/BF03052651.
- [79] P. Rostron, S. Gaber, D. Gaber, Raman Spectroscopy , Review, **Int. J. Eng. Tech. Res.** 6 (2016) 2454–4698.
- [80] D.A. Long, **The Raman effect: A unified treatment of the theory of Raman scattering b molecules**, John Wiley & Sons, 2002.
- [81] M.E. Brown, **Introduction to thermal analysis: Techniques and applications**, ed. 2nd, Kluwer Academic Publishers, 2004.
- [82] P.J. Haines, **Principles of thermal analysis and calorimetry**, Royal Society of Chemistry, 2002.
- [83] R. Eisberg, R. Resnick, **Quantum Physics of Atoms, Molecules, Solids, Nuclei and Particles**, Wiley, 1985.
- [84] M. Born, R. Oppenheimer, Zur quantentheorie der Molekeln, **Annalen der Physik**. (1927) 457–484. doi.org/10.1002/andp.19273892002.
- [85] D.R. Hartree, The Wave Mechanics of an Atom with a Non-Coulomb Central Field, **Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society**. 24 (1928) 89–110. doi.org/10.1017/S0305004100011919.
- [86] J.C. Slater, Note on hartree's method, **Physical Review**. 35 (1930) 210–211. doi.org/10.1103/PhysRev.35.210.2.
- [87] V. Fock, Näherungsmethode zur Lösung des quantenmechanischen

- Mehrkörperproblems, **Zeitschrift Für Physik**. 61 (1930) 126–148. doi.org/10.1007/BF01340294.
- [88] J.C. Slater, The theory of complex spectra, **Physical Review**. 34 (1929) 1293–1322. doi.org/10.1103/PhysRev.34.1293.
- [89] P. Hohenberg, W. Kohn, Inhomogeneous electron gas, **Physics Review**. 136 (1964) B864–B871. doi.org/doi:10.1103/PhysRev.136.B864.
- [90] D.S. Sholl, J.A. Steckel, **Density Functional Theory a practical introduction**, Wiley, 2009.
- [91] W. Kohn, L.J. Sham, Self-consistent equations including exchange and correlation effects, **Physical Review**. 140 (1965) A11133–A1138. doi.org/doi:10.1103/PhysRev.140.A1133.
- [92] J. Morin, J.M. Pelletier, **Density Functional Theory: principles, applications and analysis**, Nova Science Publishers, 2013.
- [93] A.D. Becke, Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange, **The Journal of Chemical Physics**. 98 (1993) 5648–5652. doi.org/10.1063/1.464913.
- [94] C. Lee, W. Yang, R.G. Parr, Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density, **Physical Review B**. 37 (1988) 785–789. doi.org/10.1103/PhysRevB.37.785.
- [95] J.P. Perdew, K. Burke, M. Ernzerhof, Generalized gradient approximation made simple, **Physical Review Letters**. 77 (1996) 3865–3868. doi.org/10.1103/PhysRevLett.77.3865.
- [96] C. Adamo, V. Barone, Toward reliable density functional methods without adjustable parameters: The PBE0 model, **Journal of Chemical Physics**. 110 (1999) 6158–6170. doi.org/10.1063/1.478522.
- [97] A.C. Larson, R.B. Von Dreele, **General Structure Analysis System (GSAS)**, 748 (2004).
- [98] British Pharmacopoeia, **British Pharmacopoeia 2020**, Br. Pharmacopoeia 2020.
- [99] M. Frisch, G. Trucks, H. Schlegel, G. Scuseria, M. Robb, J. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, J.F. e D.F. GA Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, AV Marenich, J. Bloino, BG Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, HP Hratchian, JV Ortiz, AF Izmaylov, JL Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Hender, **Gaussian 16**, (2016).
- [100] A.D. McLean, G.S. Chandler, Contracted Gaussian basis sets for molecular calculations. I. Second row atoms, Z=11-18, **Journal of Chemical Physics**. 72 (1980) 5639–5648. doi.org/10.1063/1.438980.
- [101] T. Clark, J. Chandrasekhar, G.W. Spitznagel, P.V.R. Schleyer, Efficient diffuse function-augmented basis sets for anion calculations. III. The 3-21+G basis set for first-row elements, Li–F, **Journal of Computational Chemistry**. 4 (1983) 294–301. doi.org/10.1002/jcc.540040303.
- [102] H. Stoll, P. Fuentealba, P. Schwerdtfeger, J. Flad, L. V. Szentpály, H. Preuss, Cu and Ag as one-valence-electron atoms: CI results and quadrupole corrections for Cu₂, Ag₂, CuH, and AgH, **The Journal of Chemical Physics**. 81 (1984) 2732–2736. doi.org/10.1063/1.447992.
- [103] M. Caricato, F. Ingrosso, B. Mennucci, J. Tomasi, A time-dependent polarizable continuum model: Theory and application, **The Journal of Chemical Physics**. 122 (2005). doi.org/10.1063/1.1879952.
- [104] F. Teixeira, M.N.D.S. Cordeiro, Improving Vibrational Mode Interpretation Using Bayesian Regression, **Journal of Chemical Theory and Computation**. 15 (2019) 456–470. doi.org/10.1021/acs.jctc.8b00439.
- [105] F. Teixeira, **vibAnalysis**, (2017). <https://github.com/teixeirafilipe/vibAnalysis>.
- [106] P. Atkins, T. Overton, J. Rourke, M. Weller, F. Armstrong, **Shriver and Atkins'**

- Inorganic Chemistry**, ed. 5th, 2009.
- [107] G.L. Miessler, P.J. Fischer, D.A. Tarr, **Inorganic Chemistry**. ed. 5th, Pearson, 2014.
- [108] C.E. Housecroft, A.G. Sharpe, **Inorganic chemistry**, ed. 2nd, Pearson, 2005.
- [109] R. Rao, A.K. Patra, P.R. Chetana, DNA binding and oxidative cleavage activity of ternary (1-proline)copper(II) complexes of heterocyclic bases, **Polyhedron**. 26 (2007) 5331–5338. doi.org/10.1016/j.poly.2007.07.040.
- [110] I. Papazoglou, P.J. Cox, A.G. Papadopoulos, M.P. Sigalas, P. Aslanidis, Copper(i) complexes of 1,10-phenanthroline and heterocyclic thioamides: An experimental and theoretical (DFT) investigation of the photophysical characteristics, **Dalt. Trans.** 42 (2013) 2755–2764. https://doi.org/10.1039/c2dt32167j.
- [111] R.R.A. Costa, K.M.T. Oliveira, R. de Cássia Saraiva Nunomura, E.S.A. Junior, M.L.B. Pinheiro, E. V. Costa, A. Barison, Quantum chemical properties investigation and molecular docking analysis with DNA topoisomerase II of β -carboline indole alkaloids from *Simaba guianensis*: a combined experimental and theoretical DFT study, **Structural Chemistry**. 29 (2018) 299–314. doi.org/10.1007/s11224-017-1029-5.
- [112] R. Parthasarathi, V. Subramanian, D.R. Roy, P.K. Chattaraj, Electrophilicity index as a possible descriptor of biological activity, **Bioorganic and Medicinal Chemistry**. 12 (2004) 5533–5543. doi.org/10.1016/j.bmc.2004.08.013.
- [113] F.A. Mohammed, H.I. Abbood, Structural and Electronic Properties of Cis-platin Metal Complex: B3LYP-SDD/DFT Calculations, **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**. 4 (2017) 82–86. doi.org/10.22161/ijaers.4.7.12.
- [114] A.T. Maynard, M. Huang, W.G. Rice, D.G. Covell, Reactivity of the HIV-1 nucleocapsid protein p7 zinc finger domains from the perspective of density-functional theory, **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U. S. A.** 95 (1998) 11578–11583. doi.org/10.1073/pnas.95.20.11578.
- [115] R.G. Parr, L. v. Szentpály, S. Liu, Electrophilicity index, **Journal of the American Chemical Society**. 121 (1999) 1922–1924. doi.org/10.1021/ja983494x.
- [116] D.L. Rousseau, R.P. Bauman, S.P.S. Porto, Normal Mode Determination in Crystals, **Journal of Raman Spectroscopy**. 10 (1981) 253–290.
- [117] S.R. Database, **Precomputed vibrational scaling factors**, 21 (2020) 2020–2021.
- [118] S. Góbi, I. Reva, G. Tarczay, R. Fausto, Amorphous and crystalline thioacetamide ice: Infrared spectra as a probe for temperature and structure, **Journal of Molecular Structure**. 1220 (2020). doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128719.
- [119] D. Bonegardt, D. Klyamer, P. Krasnov, A. Sukhikh, T. Basova, Effect of the position of fluorine substituents in tetrasubstituted metal phthalocyanines on their vibrational spectra, **Journal of Fluorine Chemistry**. 246 (2021). doi.org/10.1016/j.jfluchem.2021.109780.
- [120] T.S. Baldez, C.M.R. Remédios, A.S. de Menezes, A.O. dos Santos, F.F. de Sousa, New structural phases of [bis(L-alaninato) diaqua] nickel(II)dihydrate crystal, **Spectrochim. Acta Part A Mol. Biomol.** 214 (2019) 294–301. https://doi.org/doi.org/10.1016/j.saa.2019.02.043.
- [121] J.G.O. Neto, J.G. da Silva Filho, N.S. Cruz, F.F. de Sousa, P.F.F. Filho, A.O. Santos, Growth, structural, vibrational, DFT and thermal studies of bis(β -alanine) nickel(II) dihydrate crystals, **J. Phys. Chem. Solids**. 141 (2020) 109435. https://doi.org/10.1016/j.jpcs.2020.109435.
- [122] R.M.C.S. Diniz, C.E.S. Nogueira, C.C. Santos, F.S.M. Sinfrônio, F.F. de Sousa, A.S. de Menezes, Structural, vibrational and thermal studies on bis(L-glutaminato)copper(II), **Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.** 205 (2018) 603–613. https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.07.096.
- [123] A.L. Jenkins, R.A. Larsen, T.B. Williams, Characterization of amino acids using Raman

- spectroscopy, *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 61 (2005) 1585–1594. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2004.11.055>.
- [124] E.A.C. Garcia, **Biofisica**, 2002.
- [125] A.S. Myerson, S.R. Anderson, R.C. Bennett, D. Green, P. Karpinski, **Handbook of Industrial Crystallization**, 2019. doi.org/10.1017/9781139026949.
- [126] G.M. Moura, J.O. Carvalho, M.C.D. Silva, P.F.F. Filho, A.O. Santos, Structural , vibrational and thermal characterization of phase transformation in L -histidinium bromide monohydrate single crystals, **Materials Chemistry and Physics.** (2015) 1–6. doi.org/10.1016/j.matchemphys.2015.09.009.
- [127] M.E. Cancino-Marentes, G. Hernández-Flores, P.C. Ortiz-Lazareno, M.M. Villaseñor-García, E. Orozco-Alonso, E. Sierra-Díaz, R.A. Solís-Martínez, C.C. Cruz-Gálvez, A. Bravo-Cuellar, Sensitizing the cytotoxic action of Docetaxel induced by Pentoxifylline in a PC3 prostate cancer cell line, **BMC Urology.** 21 (2021) 1–10. doi.org/10.1186/s12894-021-00807-6.
- [128] B. Morak-Młodawska, K. Pluta, M. Latocha, K. Suwińska, M. Jeleń, D. Kuśmierz, 3,6-Diazaphenothiazines as potential lead molecules – synthesis, characterization and anticancer activity, **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry.** 31 (2016) 1512–1519. doi.org/10.3109/14756366.2016.1151014.
- [129] P.G. González-Larrazá, T.M. López-Goerne, F.J. Padilla-Godínez, M.A. González-López, A. Hamdan-Partida, E. Gómez, IC50 Evaluation of Platinum Nanocatalysts for Cancer Treatment in Fibroblast, HeLa, and DU-145 Cell Lines, **ACS Omega.** 5 (2020) 25381–25389. doi.org/10.1021/acsomega.0c03759.
- [130] G.H. Heeba, A.A. Hamza, S.O. Hassanin, Induction of heme oxygenase-1 with hemin alleviates cisplatin-induced reproductive toxicity in male rats and enhances its cytotoxicity in prostate cancer cell line, **Toxicology Letters.** 264 (2016) 38–50. doi.org/10.1016/j.toxlet.2016.10.019.
- [131] J. Gao, S. Jiang, X. Zhang, Y. Fu, Z. Liu, Preparation, characterization and in vitro activity of a docetaxel–albumin conjugate, **Bioorganic Chemistry.** 83 (2019) 154–160. doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.10.032.
- [132] K. Cierluk, W. Szlasińska, J. Rossowska, M. Tarek, A. Szewczyk, J. Saczko, J. Kulbacka, Cepharanthine induces ROS stress in glioma and neuronal cells via modulation of VDAC permeability, **Saudi Pharmaceutical Journal.** 28 (2020) 1364–1373. doi.org/10.1016/j.jsps.2020.08.026.
- [133] P. Kinsella, M. Clynes, V. Amberger-Murphy, Imatinib and docetaxel in combination can effectively inhibit glioma invasion in an in vitro 3D invasion assay, **Journal of Neuro-oncology.** 101 (2011) 189–198. doi.org/doi 10.1007/s11060-010-0246-1.

APÊNDICE A

Tabela A.1. Parâmetros de rede do cristal ternário FTCu para entre as temperaturas 309 e 339 K.

Temperatura (K)	Parâmetros de rede (Å)			Parâmetros estruturais	
	a	b	c	V (Å ³)	β (°)
309	9,418(2)	25,541(3)	10,988(3)	2287,1(1)	120,09(1)
318	9,422(2)	25,541(3)	10,992(2)	2288,6(1)	120,10(1)
327	9,426(2)	25,554(3)	10,993(2)	2290,1(2)	120,14(2)
339	9,422(2)	25,558(3)	11,001(2)	2289,6(1)	120,20(2)

