

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Química



Dissertação

**Novos complexos de Cu(II) contendo ligantes monodentados
derivados de 4-(fenilcalcogênio)-1*H*-pirazol (Se, S) e tridentados
naftalato-imina: Síntese, caracterização, avaliação da atividade
antioxidante e citotoxicidade**

Ianka Jacondino Nunes

Pelotas, 2023

Ianka Jacondino Nunes

Novos complexos de Cu(II) contendo ligantes monodentados derivados de 4-(fenilcalcogênio)-1*H*-pirazol (Se, S) e tridentados naftalato-imina: Síntese, caracterização, avaliação da atividade antioxidante e citotoxicidade

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Adriana Castro Pinheiro
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Daniela Hartwig Oliveira

Pelotas, 2023

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

N972n Nunes, Ianka Jacondino

Novos complexos de Cu(II) contendo ligantes monodentados derivados de 4-(fenilcalcogênio)-1*H*-pirazol (Se, S) e tridentados naftalato-imina : síntese, caracterização, avaliação da atividade antioxidante e citotoxicidade / Ianka Jacondino Nunes ; Adriana Castro Pinheiro, orientadora ; Daniela Hartwig Oliveira, coorientador. — Pelotas, 2023.

164 f.

Dissertação (Mestrado) — Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Complexos de cobre(II) . 2. Atividade antioxidante. 3. Atividade pró-oxidante. 4. Citotoxicidade. I. Pinheiro, Adriana Castro, orient. II. Oliveira, Daniela Hartwig, coorient. III. Título.

CDD : 546.65225

Ianka Jacondino Nunes

Novos complexos de Cu(II) contendo ligantes monodentados derivados de 4-(fenilcalcogênio)-1H-pirazol (Se, S) e tridentados naftalato-imina: Síntese, caracterização, avaliação da atividade antioxidante e citotoxicidade

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Química, Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 02/03/2023

Banca Examinadora:



Prof.^a Dr.^a Adriana Castro Pinheiro

Doutora em Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Documento assinado digitalmente
 BERNARDO ALMEIDA IGLESIAS
Data: 12/04/2023 14:05:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Bernardo Almeida Iglesias

Doutor em Química pela Universidade de São Paulo

Documento assinado digitalmente
 OSVALDO DE LAZARO CASAGRANDE JUNIO
Data: 13/04/2023 11:12:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Osvaldo de Lázaro Casagrande Jr.

Doutor em Química Inorgânica pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Agradecimentos

A minha mãe, Tatiane Rodrigues Jacondino grande incentivadora para que eu não desistisse dos meus sonhos, sempre estando do meu lado.

Aos meus Irmãos, Yago Jacondino Nunes, Yasmin Jacondino Nunes e Yuri Nunes pelo incentivo que me fazem continuar sempre.

Ao meu namorado Ricardo Contreira que sempre me auxiliou e incentivou durante todo o processo de pesquisa e escrita dessa dissertação.

Aos amigos, Wesley Vieira, Gabriele Buss e Laura Dias, nas quais muito me auxiliaram na finalização deste trabalho.

Agradeço a minha orientadora, Adriana Castro Pinheiro por todos os ensinamentos, conselhos e incentivo. Obrigada também pelas críticas que contribuíram para o meu crescimento como pessoa.

Agradeço também aos colaboradores do Laboratório de Síntese Orgânica Limpa da Universidade Federal de Pelotas em especial a minha Coorientadora Daniela Hartwig de Oliveira.

Por fim, sou grata a todos que de alguma forma participaram da realização desse trabalho.

Resumo

Três novos complexos de Cu(II) contendo ligantes monodentados derivados de 4-(fenilcalcogênio)-1H-pirazol (Se ou S), denominados **2a**, **2b** e **2c** foram sintetizados e caracterizados. Os complexos **2a** – **2c** foram caracterizados por difração de raios X de monocristal, espectrometria de massas de alta resolução com ionização por electrospray (ESI-HRMS), espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-vis) e no infravermelho (IV). Análise elementar (C,H,N) dos compostos **2a** e **2b** foi obtida para determinar a pureza desses compostos. Os compostos **2a** – **2c** apresentam características no estado sólido de complexos mononucleares, com coordenação de dois átomos de N_{pirazol} e dois átomos de cloro frente ao átomo de Cu(II) com número de coordenação quatro e uma geometria quadrática. Já o complexo **2c** possui características de um complexo dinuclear no estado sólido, com o número de coordenação cinco, dispondo de uma geometria piramidal quadrada. Em solução, o complexo **2c** foi caracterizado como espécie monometálica por ESI-HRMS. Os complexos **2a** e **2b** foram estáveis em solução de DMSO por 24 h.

Estamos interessados na investigação das atividades biológicas de compostos de coordenação contendo cobre como centro metálico. Desta forma, os novos complexos **2a** – **2c** juntamente com complexos de Cu(II) **2d** – **2h** contendo ligantes bidentados e tridentados naftalato-imina com átomos doadores NNO, ONO e SNO foram aplicados em testes *in vitro* de avaliação da capacidade antioxidante desses novos compostos. Investigamos a capacidade de captura do radical livre ABTS⁺ e DPPH para as duas classes de compostos. Ainda, os compostos **2a** – **2b** foram avaliados em teste *ex-vivo* da inibição das espécies reativas (ER). No ensaio de avaliação antioxidante os ligantes **1a** – **1c** não apresentaram atividade antioxidante na eliminação dos radicais DPPH e ABTS⁺. Já os complexos **2a** – **2c**, apresentaram IC₅₀ de 4,0 ± 1,2 µM, 8,0 ± 0,5 µM e 3,7 ± 2,2 µM, respectivamente, na eliminação do radical DPPH. Na eliminação do radical ABTS⁺ obteve-se IC₅₀ de 37,7 ± 1,8 µM para **2a**. Os compostos **2b** e **2c** não apresentaram atividade nas doses testadas em ABTS⁺. Na eliminação de espécies reativas o composto **2a** apresentou melhor inibição das ER em 10 µM, em comparação a **2b**, com percentuais de eliminação de 63,6 ± 1,6 % (**2a**) e 55,6 ± 4,1 % (**2b**). A avaliação de citotoxicidade *in vitro* foram realizados empregando a linhagem V79 pelo método Vermelho Neutro. Os ligantes **1a** – **1c** e complexos **2a** – **2c** não exibiram citotoxicidade na linhagem celular V79 em baixas concentrações, com IC₅₀ chegando a 63,6 µM (**1a**), 57,3 µM (**2a**), 54,3 µM (**2b**) e 41,1 µM (**2c**).

Estudos de estabilidade em solução de DMSO e PBS, assim como avaliação do comportamento redox foram realizados para classe de complexos de Cu(II) (**2d** - **2h**) contendo ligante bidentados e tridentados naftalato-imina por técnicas de UV-Vis e voltametria cíclica, respectivamente. No estudo cinético os compostos foram estáveis em DMSO, no entanto, em PBS apresentaram um leve efeito hipocrômico, mas que não indica alterações estruturais. Todos os compostos apresentaram atividade redox, com valores relevantes de ΔE/mV para os complexos **2d**, **2f** e **2h**. A avaliação de captura do radical DPPH e cátion radical ABTS⁺ foram realizadas em diferentes tempos. Os complexos **2d**, **2e**, **2f** e **2h** apresentaram atividades na eliminação do radical ABTS⁺ a partir da

concentração de 5 μ M, com percentuais chegando a $83,8 \pm 0,1$ %; $93,4 \pm 0,2$ %; $52,1 \pm 0,4$ %; $79,3 \pm 0,6$ %, respectivamente. Na avaliação antioxidante em DPPH, com exceção do complexo **2e**, os complexos neutralizaram o radical DPPH a partir de 20 μ M, com percentuais de $91,4 \pm 1,4$ (**2d**); $74,6 \pm 7,7$ (**2f**); $37,3 \pm 6,8$ (**2g**) e $95,2 \pm 0,7$ (**2h**).

Palavras-chave: Complexos de cobre(II), Atividade antioxidante e Pró-oxidante, Citotoxicidade.

Abstract

Three new Cu(II) complexes containing monodentate ligands derived from 4-(phenylchalcogen)-1H-pyrazole (Se or S), named **2a**, **2b** and **2c** were synthesized and characterized. Complexes **2a** – **2c** were characterized by single crystal X-ray diffraction, high resolution electrospray ionization mass spectrometry (ESI-HRMS), ultraviolet-visible (UV-vis) and infrared (IR) spectroscopy. Elemental analysis (C,H,N) of compounds **2a** and **2b** was performed to determine the purity of these compounds. Compounds **2a** – **2c** show characteristics in the solid state of mononuclear complexes, with coordination of two atoms of Npyrazole and two atoms of chlorine in front of the Cu(II) atom, with coordination number four and a quadratic geometry. Complex **2c**, on the other hand, has characteristics of a dinuclear complex in the solid state, with the coordination number five, having a square pyramidal geometry. In solution, complex **2c** was characterized as a monometallic species by ESI-HRMS. Complexes **2a** and **2b** were stable in DMSO solution for 24 h. We are interested in investigating the biological activities of coordination compounds containing copper as the metallic center. Thus, the new complexes **2a** – **2c** together with Cu(II) **2d** – **2h** complexes containing bidentate and tridentate naphthalate-imine ligands with NNO, ONO and SNO donor atoms were applied in in vitro tests to evaluate the antioxidant capacity of these new compounds. We investigated the ABTS⁺ and DPPH free radical scavenging capacity for both classes of compounds. Also, compounds **2a** – **2b** were evaluated in an ex-vivo test of inhibition of reactive species (RE). In the antioxidant evaluation assay, ligands **1a** – **1c** did not show antioxidant activity in the elimination of DPPH and ABTS⁺ radicals. Complexes **2a** – **2c**, on the other hand, presented IC₅₀ of 4.0 ± 1.2 µM, 8.0 ± 0.5 µM and 3.7 ± 2.2 µM, respectively, in the elimination of the DPPH radical. In the elimination of the ABTS⁺ radical, an IC₅₀ of 37.7 ± 1.8 µM was obtained for **2a**. Compounds **2b** and **2c** did not show activity at the doses tested in ABTS⁺. In the elimination of reactive species, compound **2a** showed better ER inhibition at 10 µM, compared to **2b**, with elimination percentages of 63.6 ± 1.6% (**2a**) and 55.6 ± 4.1% (**2b**). In vitro cytotoxicity evaluations were performed using the V79 strain by the Neutral Red method. Ligands **1a** – **1c** and complexes **2a** – **2c** did not exhibit cytotoxicity on the V79 cell line at low concentrations, with IC₅₀ reaching 63.6 µM (**1a**), 57.3 µM (**2a**), 54.3 µM (**2b**) and 41.1 µM (**2c**).

Stability studies in DMSO and PBS solution, as well as evaluation of the redox behavior were performed for Cu(II) complex class (**2d-2h**) containing bidentate and tridentate naphthalate-imine ligands by UV-Vis techniques and cyclic voltammetry, respectively. In the kinetic study, the compounds were stable in DMSO, however, in PBS they showed a slight hypochromic effect, which does not indicate structural alterations. All compounds showed redox activity, with relevant values of ΔE/mV for the **2d**, **2f** and **2h** complexes. The evaluation of DPPH radical capture and ABTS⁺ radical cation was performed at different times. Complexes **2d**, **2e**, **2f** and **2h** showed activities in the elimination of the ABTS⁺ radical from the concentration of 5 µM, with percentages reaching 83.8 ± 0.1 %; 93.4 ± 0.2%; 52.1 ± 0.4%; 79.3 ± 0.6%, respectively. In the antioxidant

evaluation in DPPH, with the exception of complex **2e**, the complexes neutralized the DPPH radical from 20 μ M, with percentages of 91.4 ± 1.4 (**2d**); 74.6 ± 7.7 (**2f**); 37.3 ± 6.8 (**2g**) and 95.2 ± 0.7 (**2h**).

Keywords: Copper(II) complexes, Antioxidant and Pro-oxidant activity, Cytotoxicity.

Lista de Figuras

Figura 1- Função metabólica essencial das proteínas de cobre.....	28
Figura 2- Possíveis geometrias ao redor do centro metálico cobre (II).....	29
Figura 3- Equação tipo-Fenton com cobre (II).....	33
Figura 4- Complexos com diferentes íons metálicos de Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II), avaliados perante sua atividade antioxidante.....	34
Figura 5- Complexo de Cu(II) contendo ligante base de Schiff	35
Figura 6- Complexos de cobre(II), cobalto(II) e níquel(II) contendo ligante bases de Schiff.....	37
Figura 7- Complexo de cobre(II) com atividade antioxidante.....	38
Figura 8- Complexo de cobre(II) contendo ligante bases de Schiff.....	38
Figura 9- Complexos de Cu(II), Co(II) e Ni(II) avaliação da atividade antioxidante.....	39
Figura 10- Complexos de Cu(II), Co(II) e Ni(II) avaliação da atividade antioxidante.....	40
Figura 11- Complexo de cobre(II) contendo derivados de pirazol com atividade antioxidante.....	41
Figura 12- Cu(II) Elesclomol	43
Figura 13- Casiopeínas Cu(acetilacetato)(4,7-dimetil-1,10-fenantrolina) (III-Ea) e Cu(glicinato)(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina (II-Gly).....	44
Figura 14- Complexos de Cu(II) 1 (Cu ₂ Vap ₄), 2 (CuVap ₂ Fen) e 3 (CuVap ₂ Bip).....	47
Figura 15- Citotoxicidade de complexos 1, 2 e 3 em células V79, conforme determinado pelo método de redução de MTT.....	49
Figura 16- Ligantes 3,5-dimetil-4-(fenilcalcogênio)-1 <i>H</i> -pirazol (Se ou S) (1a-1b) e 4-(chalcogenil)-1 <i>H</i> -pirazol (Se) (1c).....	50
Figura 17- Placa de 96 poços para cultura de células.....	57
Figura 18- Sobreposição do espectro vibracional do pré-ligante 1a e o complexo 2a	62

Figura 19- Sobreposição do espectro vibracional do pré-ligante 1c e o complexo 2c	62
Figura 20- Sobreposição do espectro vibracional do pré-ligante 1c e o complexo 2c	63
Figura 21- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o 2a , análise de estabilidade em DMSO em diferentes tempos.....	65
Figura 22- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o 2b , análise de estabilidade em DMSO em diferentes tempos.....	65
Figura 23- Estrutura cristalina e molecular do complexo 2a . As elipsóides térmicas são representadas com 50% de nível de probabilidade. Distâncias (Å) de ligações selecionadas: Cu1-N(21) = 1,986(2); Cu1-N1' = 1,986(2); Cu1-Cl1 = 2,2500(9); Cu1-Cl1' = 2,2501(9).....	68
Figura 24- Estrutura cristalina e molecular do complexo 2b . As elipsóides térmicas são representadas com 50% de nível de probabilidade. Distâncias (Å) de ligações selecionadas: Cu1-N1= 1,9597(14); Cu1-N1' = 1,9597(14); Cu1-Cl1' = 2,2713(5); Cu1-Cl1 = 2,2713(5)	70
Figura 25- Estrutura cristalina e molecular do complexo 2c . As elipsóides térmicas são representadas com 50% de nível de probabilidade. Distâncias (Å) de ligação selecionadas: Cu1-N1 = 2,019(3); Cu1-N(3) = 2,020(3); Cu1-Cl2 = 2,2743(9); Cu1-Cl1 = 2,3112(9).....	73
Figura 26- As células V79 foram tratadas com o ligante 1a (A) e os complexos 2a (B), 2b (C) e 2c (D) por 24 horas, e a sobrevivência das células foi avaliada através do ensaio Vermelho Neutro. NC representa o controle negativo. Os gráficos representam a média $\pm$ DP. A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma via, seguida pelo teste de comparação múltipla de Dunnett e $p < 0,05$ foi considerado significativo. * $p = 0,0178$, ** $p = 0,0029$ (1a) e $0,0018$ (2c), *** $p = 0,0002$ e **** $p < 0,0001$ em relação à NC.....	83
Figura 27- Ligantes bidentados e tridentados imina-naftalato funcionalizados com grupos amina, éter e tioéter (1d–1h).....	86
Figura 28- Complexos de Cu(II) contendo ligantes bidentado e tridentados imina-naftalato funcionalizados com grupos amina, éter e tioéter (2d-2h).....	86
Figura 29- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o 2d , análise de	

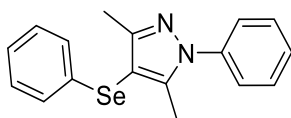
estabilidade em DMSO em diferentes tempos.....	89
Figura 30- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o 2e , análise de estabilidade em DMSO em diferentes tempos.....	90
Figura 31- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o 2f , análise de estabilidade em DMSO em diferentes tempos.....	90
Figura 32- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o 2g , análise de estabilidade em DMSO em diferentes tempos.....	91
Figura 33- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o 2h , análise de estabilidade em DMSO em diferentes tempos.....	91
Figura 34- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o 2d , análise de estabilidade em PBS em diferentes tempos.....	92
Figura 35- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o 2e , análise de estabilidade em PBS em diferentes tempos.....	93
Figura 36- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o 2f , análise de estabilidade em PBS em diferentes tempos.....	93
Figura 37- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o 2g , análise de estabilidade em PBS em diferentes tempos.....	94
Figura 38- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o 2h , análise de estabilidade em PBS em diferentes tempos.....	94
Figura 39- Voltamograma obtido por voltametria cíclica, onde Ox representa a espécie oxidada, Red representa a espécie reduzida, e “ne- ” o número de elétrons envolvidos.....	97
Figura 40- Voltamogramas cíclicos de um sistema reversível (-) e quasi-reversível (--)......	97
Figura 41- Voltamograma cíclico do pré-ligante 1e-1h , em DMF, LiClO ₄ (0,1 mol.L ⁻¹) e ferroceno (Fc ⁺ /Fc) como padrão interno. Velocidade de varredura 100 mV.s ⁻¹	98
Figura 42- Voltamograma cíclico do complexo 2d-2h , em DMF, LiClO ₄ (0,1 mol.L ⁻¹) Velocidade de varredura 100 mV.s ⁻¹	100
Figura 43- Os valores são apresentados como: % controle dos radicais DPPH e ABTS ⁺ quando comparado a um grupo controle sem inibição de radicais (controle de 100%). Os asteriscos indicam os níveis de significância quando	

comparados ao grupo controle: (**) $p < 0.01$, (***) $p < 0.001$ e (****) $p < 0.0001$	107
Figura 44- Os valores são apresentados como: % controle dos radicais DPPH e ABTS ⁺ quando comparado a um grupo controle sem inibição de radicais (controle de 100%). Os asteriscos indicam os níveis de significância quando comparados ao grupo controle: (**) $p < 0.01$, (***) $p < 0.001$ e (****) $p < 0.0001$	111
Figura 45- Os asteriscos indicam os níveis de significância quando comparados ao grupo controle: (**) $p < 0.01$, (***) $p < 0.001$ e (****) $p < 0.0001$	115
Figura 46- Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃ , 25 °C) do pré-ligante 1a .	141
Figura 47- Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃ , 25 °C) do pré-ligante 1b .	142
Figura 48- Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃ , 25 °C) do pré-ligante 1c .	142
Figura 49- Espectro de RMN ¹³ C (200 MHz, CDCl ₃ , 25 °C) do pré-ligante 1a .	143
Figura 50- Espectro de RMN ¹³ C (200 MHz, CDCl ₃ , 25 °C) do pré-ligante 1b .	144
Figura 51- Espectro de RMN ¹³ C (200 MHz, CDCl ₃ , 25 °C) do pré-ligante 1c .	144
Figura 52- Voltamograma cíclico do ferroceno (Fc ⁺ /Fc) em DMF, LiClO ₄ (0,1 mol.L ⁻¹). Velocidade de varredura 100 mV.s ⁻¹	152
Figura 53- A porcentagem de inibição máxima é representada por I _{max} . Os dados foram analisados por ANOVA de via, seguida pelo teste post hoc de Tukey (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$).....	153
Figura 54- Espectro de ESI-HRMS para o complexo 2a em MeOH.....	159
Figura 55- Espectro de ESI-HRMS para o complexo 2b em MeOH.....	160
Figura 56- Espectro de ESI-HRMS para o complexo 2c em MeOH.....	160
Figura 57- ESI-HRMS espectro para o complexo 2a em DMSO.....	161
Figura 58- ESI-HRMS espectro para o complexo 2b em DMSO.....	162
Figura 59- ESI-HRMS espectro para o complexo 2c em DMSO.....	163
Figura 60- Espectro de UV-Vis do 1a (1×10^{-5} M) em DMSO (250 – 700 nm).	164
Figura 61- Espectro de UV-Vis do 1b (1×10^{-5} M) em DMSO (250 – 700 nm).	164

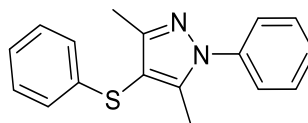
Lista de Estruturas

CAPÍTULO I – Complexos de Cu(II) contendo ligantes monodentados 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilcalcogenil)-1*H*-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselenil)-1*H*-pirazol (Se).

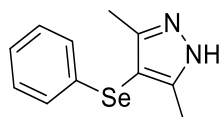
Classe I: Ligantes monodentados 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilcalcogenil)-1*H*-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselenil)-1*H*-pirazol (Se).



3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilselenil)-1*H*-pirazol (**1a**)

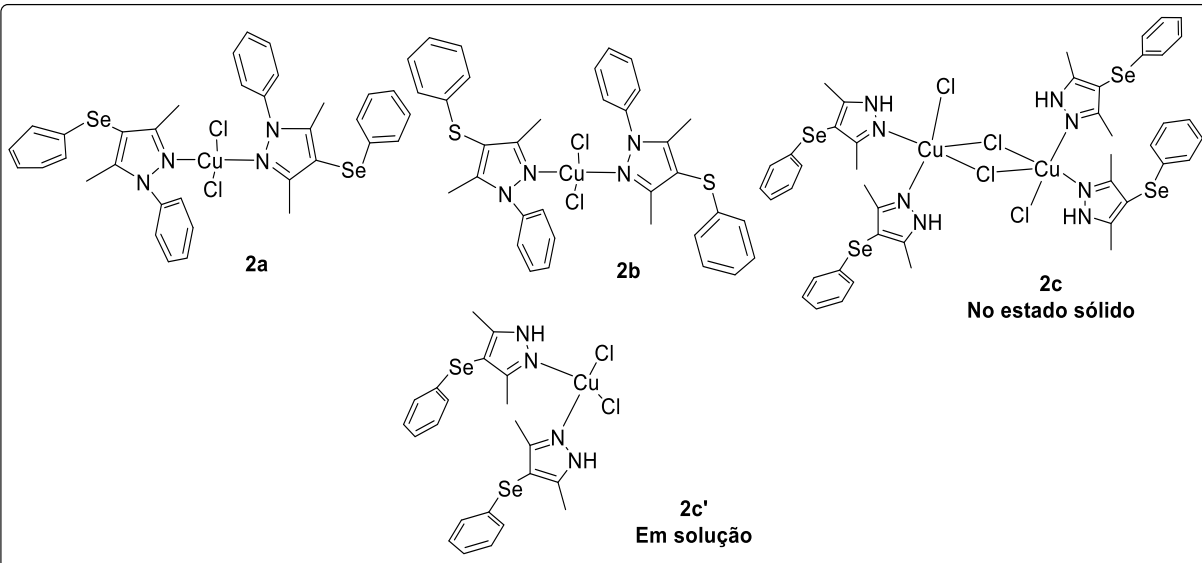


3,5-dimetil-1-fenil-4-(feniltio)-1*H*-pirazol (**1b**)



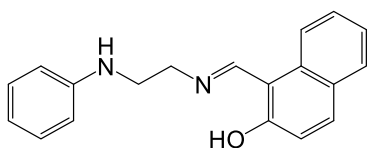
3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1*H*-pirazol (**1c**)

Classe I: Complexos de Cu(II) contendo bis-ligantes 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilcalcogenil)-1*H*-pirazoles (Se, S) e bis-ligante 3,5-dimetil-4-(fenilselenil)-1*H*-pirazol.

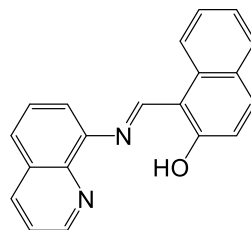


CAPÍTULO II – Complexos de Cu(II) contendo ligantes bidentados e tridentados naftalato-imina funcionalizados com grupos amina, éter, tio éter.

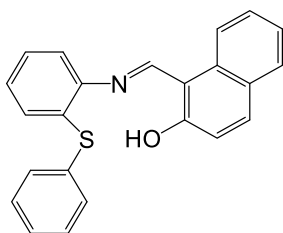
Classe II: Ligantes tridentados naftalato-imina funcionalizados com grupos amina, éter e tioéter.



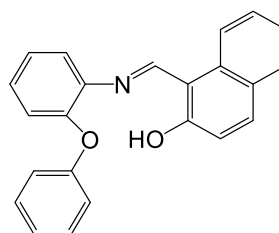
1-(2-(fenilamina)etil-imina)metil-naftalen-2-ol (**1d**)



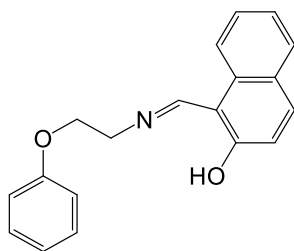
1-(quinolin-8-imina)metil-naftalen-2-ol (**1e**)



1-(2-(tiofenil)fenil-imina)metil-naftalen-2-ol (**1f**)

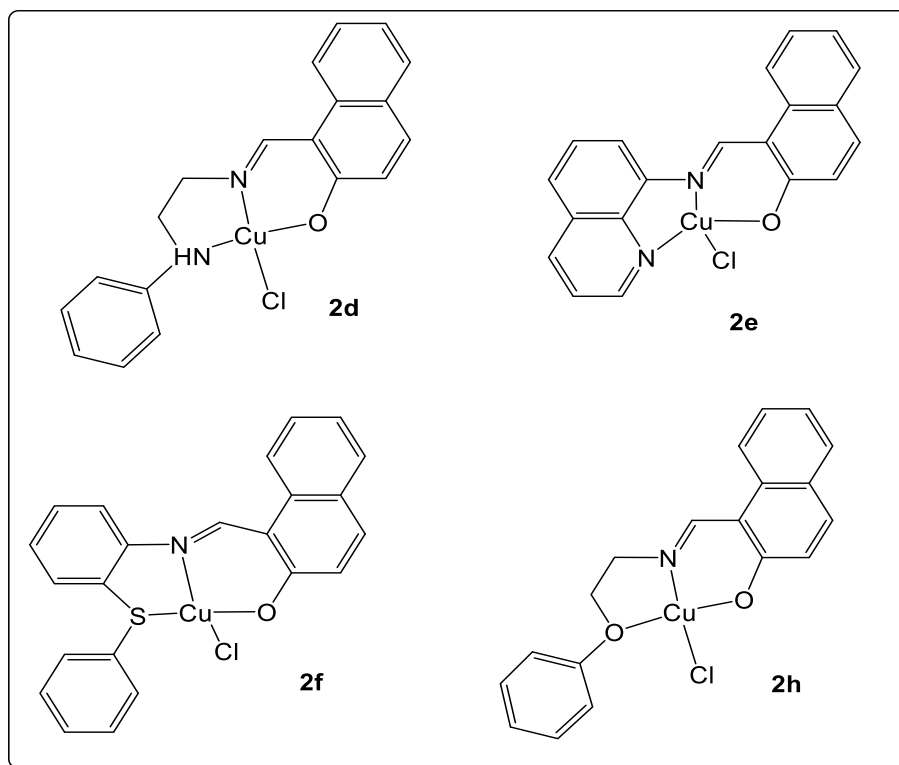


1-(2-fenoxifenil)imina)metil-naftalen-2-ol (**1g**)

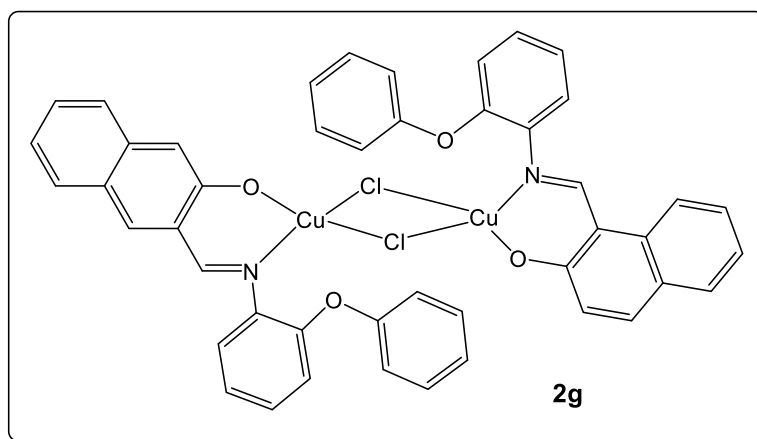


1-(2-fenoxietil)imina)metil-naftalen-2-ol (**1h**)

Classe II: Complexos monoméricos de Cu(II) contendo ligantes tridentados naftalato-imina funcionalizados com grupos amina, éter, tioéter.



Classe II: Complexo dimérico de Cu(II) contendo ligante bidentado naftalato-imina funcionalizados com grupo éter.



Lista de Esquemas

Esquema 1- Rota geral de síntese do complexo de Cu(II) contendo bis-ligantes 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilselenil)-1 <i>H</i> -pirazol.....	52
Esquema 2- Rota geral de síntese do do complexo de Cu(II) contendo bis-ligantes 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilsulfanil)-1 <i>H</i> -pirazol.....	53
Esquema 3- Rota geral de síntese do complexo dimérico de Cu(II) contendo bis-ligantes 3,5-dimetil-4-(fenilselenil)-1 <i>H</i> -pirazoles.....	53
Esquema 4- Síntese dos complexos de Cu(II) 2a-2c	60
Esquema 5- Rota geral de síntese do pré-ligante 1a	139
Esquema 6- Rota geral de síntese do pré-ligante 1b	140
Esquema 7- Rota geral de síntese do pré-ligante 1c	140
Esquema 8- Reação de síntese do pré-ligante 1d	145
Esquema 9- Reação de síntese do pré-ligante 1e	145
Esquema 10- Reação de síntese do pré-ligante 1f	146
Esquema 11- Reação de síntese do pré-ligante 1g	147
Esquema 12- Reação de síntese do pré-ligante 1h	148
Esquema 13- Reação de síntese do complexo 2d	148
Esquema 14- Reação de síntese do complexo 2e	149
Esquema 15- Reação de síntese do complexo 2f	150
Esquema 16- Reação de síntese do complexo 2g	150
Esquema 17- Reação de síntese do complexo 2h	151

Lista de Tabelas

Tabela 1- Valores IC ₅₀ da atividade de eliminação de DPPH de complexos 1, 2, 3 e AA.....	39
Tabela 2- Avaliação antioxidante dos complexos de Cu(II), Co(II) e do ligante contendo pirazol.....	41
Tabela 3- Cor e rendimento dos complexos de Cu(II).....	61
Tabela 4- Bandas de absorção analisadas nos espectros de infravermelho para os pré-ligantes e seus respectivos complexos de cobre (II).....	63
Tabela 5- Valores encontrados de Análise elementar (CHN).....	66
Tabela 6- Principais ângulos e distâncias das ligações da estrutura cristalina 2a.....	68
Tabela 7- Dados do cristal e refinamento da estrutura para os complexos 2a e 2b.....	68
Tabela 8- Principais ângulos das ligações da estrutura cristalina 2b.....	70
Tabela 9- Dados do cristal e refinamento da estrutura para o complexo 2c.....	71
Tabela 10- Principais ângulos das ligações da estrutura cristalina 2c.....	73
Tabela 11- Atividade Antioxidante <i>ex vivo</i> do complexo de cobre(II) 2a e 2b	75
Tabela 12- Atividade Antioxidante <i>ex vivo</i> dos pré-ligantes 1a e 1b	76
Tabela 13- Atividade Antioxidante <i>in vitro</i> do complexo de cobre(II) 2a e 2b	77
Tabela 14- Atividade Antioxidante <i>in vitro</i> do complexo de cobre(II) 2c	80
Tabela 15- Atividade Antioxidante <i>in vitro</i> dos pré-ligantes 1a , 1b e 1c	80
Tabela 16- Valores de IC ₅₀ para os complexos 2a , 2b e 2c , e seus respectivos ligantes em células V79.....	83
Tabela 17- Potenciais redox para os complexos 2d-2h . Velocidades de varredura de 100 mV.s ⁻¹	102

Tabela 18- Resultados do ensaio de inibição do radical ABTS ⁺ dos ligantes de Naftol-imina.....	106
Tabela 19- Efeito dos complexos de Cu (II) na atividade <i>scavenger</i> do radical ABTS ⁺	109
Tabela 20- Efeito dos complexos de Cu (II) na atividade <i>scavenger</i> do radical DPPH.....	113
Tabela 21- Atividade antioxidante para o complexo 2d no ensaio de captura do radical livre ABTS ⁺	154
Tabela 22- Atividade antioxidante para o complexo 2e no ensaio de captura do radical livre ABTS ⁺	154
Tabela 23- Atividade antioxidante para o complexo 2f no ensaio de captura do radical livre ABTS ⁺	155
Tabela 24- Atividade antioxidante para o complexo 2g no ensaio de captura do radical livre ABTS ⁺	155
Tabela 25- Atividade antioxidante para o complexo 2h no ensaio de captura do radical livre ABTS ⁺	156
Tabela 26- Atividade antioxidante para o complexo 2d no ensaio de captura do radical livre DPPH.....	157
Tabela 27- Atividade antioxidante para o complexo 2f no ensaio de captura do radical livre DPPH.....	157
Tabela 28- Atividade antioxidante para o complexo 2g no ensaio de captura do radical livre DPPH.....	158
Tabela 29- Atividade antioxidante para o complexo 2h no ensaio de captura do radical livre DPPH.....	158

Lista de Abreviaturas, Símbolos e Siglas

ΔE_p	Diferença entre o potencial de pico anódico e pico catódico
ABTS	2, 2' radical-azinobis-3- etilbenzotiazolino-6-sulfónico
CAT	Catalase
DMEM	Meio de Eagle modificado de Dulbecco
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DPPH	1,1-difenil-2- picrilhidrazil
E	Potencial
$E_{1/2}$	Potencial intermediário entre os valores de E_p e $E_p/2$
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
ERO	Espécies reativas de oxigênio
EtOH	Etanol
GPx	Glutathione peroxidase
HC	Hipocampos
II-Gli	Cu(glicinato)(4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina
III-Ea	Cu(acetilacetato)(4,7-dimetil-1,10-fenantrolina)
i_{pa}	Corrente de pico anódico
i_{pa} / i_{pc}	Razão corrente de pico anódico e a corrente de pico catódico
i_{pc}	Corrente de pico catódico
LMA	Leucemia mieloide aguda
MeOH	Metanol
MTT	Brometo de 3-4,5-dimetil-tiazol-2-il-2,5-difeniltetrazólio
mV	Milivolt
n	Número de elétrons
PBS	Tampão fosfato-salino
PFC	Córtices pré-frontais
RS	Espécies reativas
SOD	Superóxido dismutases

THF	Tetraidrofurano
V	Volt
VC	Voltametria Cíclica
VN	Vermelho neutro
v_s	v_s = estiramento simétrico
v	Velocidade de varredura de potencial
v	Vibração de estiramento axial
$v^{1/2}$	Raiz quadrada da velocidade de varredura

Sumário

1.	Introdução	25
2.	Revisão Bibliográfica	28
2.1	O cobre na química inorgânica medicinal.....	28
2.2.	Atividade antioxidante de complexos de Cu(II).....	30
2.2.1	Importância da atividade antioxidante e pró-oxidante de complexos de Cu(II) contra doenças.....	41
2.3.	Citotoxicidade de complexos de Cu(II) em células V79.....	45
CAPÍTULO I – Complexos de Cu(II) contendo ligantes monodentados 3,5-dimetil-4-(fenilcalcogenil)-1H-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselenil)-1H-pirazol (Se).....		
3.	Objetivo.....	48
3.1.	Objetivo Geral	48
3.2.	Objetivos Específicos	48
4.	Parte Experimental	49
4.1.	Materiais e Procedimentos Gerais	49
4.1.1	Classe I dos ligantes monodentados 3,5-dimetil-4-(fenilcalcogenil)-1H-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil 4-(fenilselenil)-1H-pirazol (Se).....	49
4.2.	Métodos de Instrumentação	50
4.2.1.	Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	50
4.2.2.	Análise elementar (CHN).....	50
4.2.3.	Análise de Difração de raios X de monocristais.....	51
4.2.4	Espectroscopia no ultravioleta visível (Uv-Vis)	51
4.2.5	Espectroscopia de massa de ionização por eletrospray de alta resolução (HRMS-ESI)	51
4.3.	Síntese dos Complexos Cu(II) contendo ligantes monodentados ligantes 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilcalcogenil)-1H-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilcalcogenil)-1H-pirazol (Se).....	52
4.3.1.	Cu[bis{3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilselenil)-1H-pirazol}Cl ₂] 2a	52
4.3.2.	Cu[bis{3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilsufanil)-1H-pirazol}Cl ₂] 2b	53
4.3.3.	Bis[Cu{(μ ² -cloro)-Cl-3,5-dimetil-4-(fenilselenil)-1H-pirazol}Cl] 2c	54
4.4.	Ensaio antioxidantes.....	54

4.4.1 Ensaio de atividade de eliminação do radical 2,2'-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).....	55
4.4.2 Ensaio de atividade de eliminação do cátion radical 2,2'-azino-bis(ácido 3-tilbenztiazolina-6-sulfônico) (ABTS).....	55
4.4.3. Inibição da formação de Espécies Reativas (ER).....	55
4.5. Avaliação da Citotoxicidade.....	56
4.5.1 Cultura celular.....	56
4.5.2 Ensaio Vermelho Neutro.....	56
4.6 Análise estatística.....	57
4.6.1 Avaliação da atividade antioxidante.....	57
4.6.2 Viabilidade celular pelo método de vermelho neutro (VN).....	58
5. Resultados e Discussão	58
5.1 Síntese e caracterização dos pré-ligantes ligantes 3,5-dimetil-4-(fenilcalcogênio)-1 <i>H</i> -pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselenil)-1 <i>H</i> -pirazol (Se).....	58
5.2 Síntese e caracterização de complexos de Cu(II) contendo ligantes monodentados 3,5-dimetil-4-(fenilcalcogenil)-1 <i>H</i> -pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselenil)-1 <i>H</i> -pirazol (Se).....	59
5.3 Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho (IR).....	61
5.4 Avaliação da estabilidade dos complexos de Cu(II) em espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível.....	64
5.5 Análise elementar.....	66
5.6 Caracterização no estado sólido por difração de raios x em monocristal.....	67
5.7 Ensaio Biológicos.....	73
5.7.1 Avaliação da Atividade antioxidante.....	73
5.7.2 Avaliação da Citotoxicidade.....	81
CAPÍTULO II – Complexos de Cu(II) contendo ligantes bidentados e tridentados imina-naftalato funcionalizados com grupos amina, éter, tio éter.....	84
6. Objetivo	84
6.1 Objetivo Geral	84

6.2	Objetivos Específicos	84
7.	Parte Experimental	85
7.1	Métodos Materiais e Procedimentos Gerais.....	85
7.1.1	Classe II dos complexos de Cu(II) contendo ligante bidentado e tridentado naftalato-imina funcionalizados com grupos amina, éter e tioéter.....	85
7.2	Métodos de Instrumentação	87
7.2.1	Voltametria Cíclica.....	87
7.2.2	Espectrofotômetro de Uv-Vis.....	87
7.3	Ensaio da atividade antioxidante.....	87
7.3.1	Ensaio de atividade de eliminação do radical 2,2'-difênil-1-picril-hidrazil (DPPH).....	88
7.3.2	Ensaio de atividade de eliminação do cátion radical 2,2'-azino-bis (ácido 3-tilbenztiazolina-6-sulfônico) (ABTS ⁺).....	88
7.4	Análise Estatística.....	88
7.4.1	Avaliação da atividade antioxidante.....	88
8.	Resultados e Discussão.....	89
8.1	Avaliação da estabilidade dos complexos de Cu(II) em espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível.....	89
8.2	Análise de Voltametria Cíclica.....	95
8.3	Análise da atividade antioxidante em diferentes tempos pelo método ABTS ⁺ e DPPH.....	103
9.	Considerações Finais	116
	Referências	119
	Apêndices	139
	Apêndice A.....	139
	Apêndice B.....	141
	Apêndice C.....	143
	Apêndice D.....	145
	Apêndice E.....	149
	Apêndice F.....	152
	Apêndice G.....	153
	Apêndice H.....	154

Apêndice I.....	159
Apêndice J.....	164

1. Introdução

A química inorgânica medicinal, vem contribuindo com o desenvolvimento de novos medicamentos com propriedades farmacológicas específicas. A partir da escolha do metal de transição, há possibilidade de selecionar o grupo funcional orgânico, que irá melhor atender a finalidade que se quer dar ao composto de coordenação no âmbito farmacológico.

Os metais bioessenciais têm características únicas, como modos de coordenação variáveis, diferentes estados redox, e reatividade sendo indispensável para diversos processos bioquímicos nas células. Além das características termodinâmicas e cinéticas de cada íon metálico (PEDROSA et al., 2018). Dentre os metais de transição, o Cu(II) vem apresentando grande potencial na química medicinal, estando presente em diversas aplicações, tais como, anti-inflamatórios (GZIUT et al., 2013), antibacterianos (HINIS et al., 2021), antifúngicos (SUMALATHA et al., 2021), antioxidantes (CHKIRATE et al., 2019) e agentes antitumorais (MANJURI et al., 2018). O cobre por ser um elemento bioessencial está presente na maioria dos organismos aeróbicos, em enzimas e proteínas, onde auxilia em muitos processos biológicos realizando diversas funções importantes (WAIL AL ZOUBI T AL., 2019). Além disso, pode facilmente coordenar-se em sítios de ligantes orgânicos doadores, gerando compostos com diferentes geometrias e números de coordenação.

O potencial redox do Cu(I)/Cu(II) no meio fisiológico varia dependendo da geometria molecular, natureza do grupo doador, efeitos estéricos e eletrônicos dos substituintes, e o modo de coordenação do ligante (MEDINA, M. et al., 2019). Além disso, tal transferência de elétrons sempre envolve modificações importantes da estereoquímica do metal oxidado/reduzido pertinente de complexos (SANTINI, C. et al., 2014).

Normalmente, a coordenação do ligante ao centro metálico leva a uma melhoria das atividades farmacológicas, em virtude dos efeitos sinérgicos entre o metal e o ligante. Em algumas situações, os ligantes podem neutralizar a carga elétrica de Cu(II), aumentando a lipofilicidade do complexo, podendo

intercalar com o DNA e interagir com diferentes proteínas (MEDINA, M. et al., 2019).

Os compostos contendo calcogênios (Se, S) e pirazóis são substâncias orgânicas que apresentam uma ampla gama de potencial farmacológico e sintético. Os calcogênios, especificamente o selênio é bastante utilizado em compostos que apresentam atividade antioxidante e antitumoral (CHKIRATE et al., 2019). Já os derivados de pirazol possuem importantes propriedades biológicas e quimioterápicas, sendo encontrado em compostos com atividades anti-inflamatórias, antipirética, hipnótica, antiartrite, bactericida, fungicida, entre outras (OLIVEIRA et al., 2020).

Outra classe de compostos orgânicos que vêm desempenhando papéis fundamentais na tecnologia e indústria farmacêutica são as bases de Schiff, que apresentam em sua estrutura o grupamento imina ($\text{HC}=\text{N}$) (CHELLAIN et al., 2021). As bases de Schiff possuem propriedades quelantes de metais, flexibilidade estrutural e atividade biológica. Tais propriedades tornam esses compostos amplamente versáteis, sendo aplicados como agentes antitumorais (Jiang et al., 2020), antioxidantes e antifúngicos (HAMEED et al., 2017).

Portanto, compostos com centro metálicos de Cu(II) com atividades antioxidantes vêm recebendo atenção, por conta da sua capacidade de proteger sistemas vivos e células de danos causados por estresse oxidativo e/ou radical livre. Geralmente esses complexos são doadores de elétrons ou doadores de hidrogênio para o sítio reativo na neutralização dos radicais livres (WAIL AL ZOUBI AL., 2019).

Os antioxidantes são substâncias que têm a capacidade de proteger as células contra os efeitos deletérios ocasionados pelas espécies reativas de oxigênio (ERO), atuam através da inibição do mecanismo oxidativo, interrupção das reações deletérias em cadeia, além da inibição de reações de oxidação (BORA, et al., 2019). Os antioxidantes podem ser produzidos pelo nosso organismo (enzimáticos) através das enzimas superóxido dismutases (SODs), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) que atuam como um sistema de defesa celular primário contra danos oxidativos em organismos vivos. Ainda,

podem ser absorvidos de forma endógena através da dieta de alimentos e fármacos (BLANCO, A. ET AL., 2017).

O presente trabalho foi dividido em dois capítulos, no capítulo I descrevemos a síntese e caracterização das propriedades eletrônicas e estruturais, de novos complexos de Cu(II) contendo ligantes monodentados 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilcalcogenil)-1*H*-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1*H*-pirazol (Se). Os novos complexos foram caracterizados por difração de raios X de monocristal, espectrometria de massas de alta resolução com ionização por electrospray (ESI-HRMS), espectroscopia na região do ultravioleta-visível (UV-vis), análise elementar (C, H, N) e espectroscopia no infravermelho. Ainda, investigamos a atividade antioxidante total dos novos complexos pela captura do radical livre ABTS⁺, radical DPPH e inibição das espécies reativas (ER). Estudos de citotoxicidade *in vitro* foram realizados empregando a linhagem de fibroblastos de hamster chinês (V79) pelo método Vermelho Neutro, sendo este um ensaio que fornece informações sobre a toxicidade dos novos compostos candidatos a fármacos de uma forma rápida e econômica.

No capítulo II, é descrito a investigação de uma nova classe de complexos de Cu(II) contendo ligante bidentados e tridentados naftalato-imina aplicados no ensaio de avaliação antioxidante pelos métodos de 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e 2, 2' radical-azinobis-3- etilbenzotiazolino-6-sulfônico (ABTS⁺) em diferentes tempos 10-40 min. Estudos de estabilidade em solução desses complexos e avaliação do comportamento redox foram realizados por técnicas de UV-Vis e voltametria cíclica, respectivamente.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. O cobre na química inorgânica medicinal

Os metais de transição de primeira linha, como ferro (Fe), zinco (Zn) e cobre (Cu), são vitais para o crescimento e proliferação de quase todos os organismos. O cobre é um micronutriente metálico essencial para a estabilização estrutural de proteínas e para a catálise de múltiplas atividades redox de transporte, desnitrificação e respiração oxidativa (SHARMA et al., 2018). O cobre também é vital para vários processos metabólicos relacionados à produção de energia, biossíntese de melanina e defesa antioxidante (SHARMA et al., 2018). Esse metal possui a homeostase fortemente regulada e está envolvido em várias funções biológicas, tais como a sinalização celular e síntese do DNA (SANTINI et al., 2014), sendo encontrado em diferentes metaloenzimas Figura 1. A maioria dessas enzimas de cobre biologicamente ativas são usadas para a utilização de reações de oxigenação (tirosinase, ascorbato oxidase), transportando oxigênio (hemocianina) e para reações de transferência de elétrons (azurina, plastocianina, lacase) (ABHIMANYU et al., 2022).

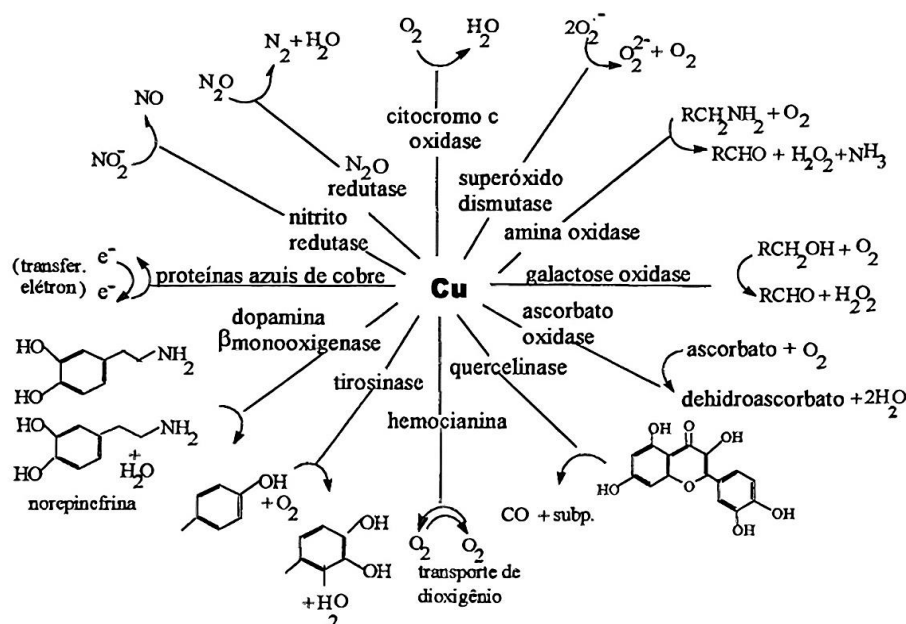


Figura 1- Função metabólica essencial das proteínas de Cobre. Fonte. (COTTON et al., 1980)

O cobre (Cu) é o terceiro elemento de transição mais abundante no corpo humano, sendo um bom candidato para a síntese de compostos de coordenação aplicados ao desenvolvimento de novos fármacos. Quando combinado com outros compostos orgânicos ou elementos, apresenta principalmente os estados de oxidação (1^+ e 2^+), sendo o 2^+ mais estável e comum (TISATO et al., 2010). Os complexos de Cu(I) com número de coordenação igual a 2, 3 e 4 adotam geometrias linear, trigonal planar e tetraédrica/quadrática, respectivamente. Já os complexos de cobre(II) possuem número de coordenação que variam entre 4 e 6, sendo predominante o 4 (geometria quadrática ou tetraédrica), 5 (geometria bipirâmide trigonal ou pirâmide de base quadrada) e 6 (geometria octaédrica distorcida) (SANTINI et al., 2014). A configuração eletrônica $[Ar]3d^9$ do Cu(II) é disposto ao efeito Jahn-Teller devido ao estado degenerado dos orbitais e_g (d_{z^2} e $d_{x^2-y^2}$). Desta forma, uma variedade de estruturas distorcidas pode ser obtida, conforme Figura 2.

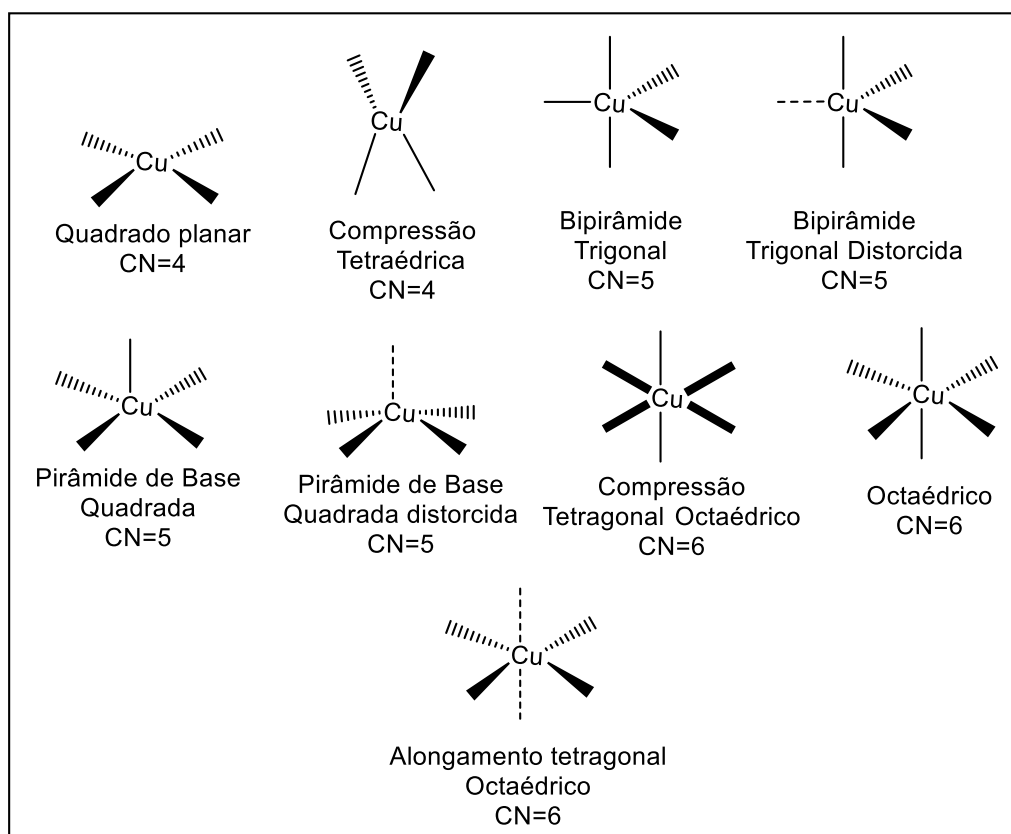


Figura 2- Possíveis geometrias ao redor do centro metálico cobre (II). Fonte. Adaptado de (COTTON et al., 1980)

Portanto, a química inorgânica medicinal é uma área de pesquisa em plena expansão, em vista do potencial farmacológico dos compostos de coordenação (CHEFF et al., 2017), diversos complexos de cobre(II) contendo diferentes classes de compostos orgânicos e diferentes íons espectadores têm sido planejados com o intuito de avaliar seu potencial biológico e propor novos fármacos, como por exemplo, anti-inflamatórios (GZIUT et al., 2013), antibacterianos (HINIS et al., 2021), antifúngicos (SUMALATHA et al., 2021), antioxidantes (CHKIRATE et al., 2019) e agentes antitumorais (MANJURI et al., 2018).

2.2. Complexos de Cu(II) com atividade antioxidante

O processo de oxidação que ocorre na cadeia transportadora de elétrons é de extrema importância para muitos organismos vivos, sendo responsável pela produção de energia metabólica durante seu ciclo de vida (THANAN et al. 2015). No entanto, radicais livres centrados em oxigênio e outras espécies reativas de oxigênio, que são produzidos continuamente durante a respiração aeróbica na célula, resulta em morte e dano tecidual (SONGÜL et al., 2018). As espécies reativas de oxigênio (ERO) quando produzidas em excesso tornam-se tóxicas para os principais componentes das células, lipídios, proteínas e ácidos nucleicos, e pode dar origem ao estresse oxidativo que está envolvido em diversas patologias, tais como doenças cardiovasculares, câncer, diabetes, doenças neurodegenerativas e lesões inflamatórias (RAY et al., 2012).

Em alguns tipos de câncer, as ERO estão presentes em altas concentrações, devido à alta atividade metabólica das células, mutação genética e hipóxia (DTORDOIR et al., 2016). No entanto, numerosos estudos concluíram que o aumento dos níveis de ERO, também pode promover a morte de células cancerígenas induzidas pelo estresse oxidativo (RECZEK et al., 2012). Assim, enquanto o papel das ERO na prevenção/indução do câncer é um tema de intenso debate, a ideia de usar terapias que seletivamente geram estresse oxidativo em células cancerosas foi proposto como um possível tratamento terapêutico para cânceres malignos (DHARMARAJA, 2017).

O termo antioxidante pode ser definido como uma substância que, em baixas concentrações, retarda ou previne o estresse oxidativo (SÁNCHEZ et al., 2019). Esses compostos podem ser produzidos pelo nosso organismo por vias enzimáticas, tais como, superóxido dismutases (SODs), catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx) que exercem a função de defesa celular primária contra danos oxidativos ocasionados nas células. Nas condições em que esses sistemas de defesa podem não ser suficientes para prevenir os danos, suplementos antioxidantes ou alimentos que contenham antioxidantes podem ser usados para ajudar o corpo humano a reduzir o dano oxidativo (SONGÜL et al., 2018).

Os antioxidantes sintéticos têm atraído muita atenção do ponto de vista farmacêutico, uma vez que a farmacoterapia antioxidante tornou-se uma técnica para reduzir o dano biomolecular causado pelo ataque de espécies reativas de oxigênio (ERO) a esses componentes dos organismos vivos (ABDELGAWAD et al., 2017). Algumas características químicas são necessárias para um fármaco ser considerado um bom agente antioxidante, por exemplo, ter a presença de substituintes doadores de hidrogênio ou elétrons, em conformidade com seu potencial de redução; capacidade de quelar metais de transição implicados no processo oxidativo; habilidade de deslocamento do radical formado em sua estrutura; e acesso ao local de ação, dependendo de seu coeficiente de partição e de sua lipofilicidade ou hidrofilia (SUMALATHA et al., 2021).

A atividade antioxidante de um composto pode ser expressa por diversos parâmetros, através de técnicas sensíveis, eficientes e baratas. Os métodos mais utilizados para a determinação antioxidante *in vitro* são o Poder Antioxidante Redutor Férrico (FRAP), 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS⁺), 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]) e Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio (ORAC) (SÁNCHEZ et al., 2019).

O método ABTS⁺ está baseado na habilidade dos antioxidantes em capturar o cátion radical ABTS. Esta captura ocasiona um decréscimo na absorbância, que é lida em 734 e 815 nm a partir da mistura do radical com o antioxidante (PÉREZ-JIMÉNEZ J et al., 2006). Foram desenvolvidos novos

métodos de geração do radical ABTS^+ , a partir da oxidação do sal por persulfato de potássio, cuja reação ocorre no escuro. A redução do radical ABTS^+ a ABTS , com a adição de um antioxidante a solução, promove a perda da coloração do meio reacional, do verde para incolor, indicando que houve a estabilização da espécie reativa pela doação de próton ou elétron (PRADO et al., 2009).

Já o método com DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) é considerado rápido e com boa estabilidade, sendo aplicado para determinar a possível capacidade antioxidante de um composto em sequestrar radicais livres. A redução do radical DPPH é monitorada pelo decréscimo da absorbância durante a reação que é lida normalmente na faixa de 517 nm. A intensidade de absorção decresce perdendo a cor violeta, na presença de um doador de hidrogênio ou elétron, tornando-se amarela, de acordo com o número de elétrons capturados, sendo assim, quando o elétron desemparelhado do átomo de nitrogênio no DPPH recebe um átomo de hidrogênio procedente de compostos antioxidantes, ocorre a mudança de cor violeta para o amarelo (PRADO, 2009). Esses dois ensaios antioxidantes são usados principalmente para medir o envolvimento direto do composto na melhoria da atividade antioxidante primária.

Um número significativo de pesquisas se concentrou no papel dos complexos contendo íons metálicos como antioxidantes (SONGÜL et al., 2018). Os complexos metálicos com atividade antioxidante normalmente atuam como doadores de hidrogênio ou doadores de elétrons, onde agem neutralizando radicais livres a partir da redução das espécies reativas de oxigênio. Além de possuírem capacidade de proteger sistemas de células vivas que podem ser afetadas pelo estresse oxidativo ocasionado pelos radicais livres (SÁNCHEZ et al., 2019). Ligantes contendo átomos doadores N, S e O são particularmente interessantes para a construção de complexos polinucleares como modelos para sistemas bioinorgânicos (CHKIRATE et al., 2017).

O cobre está presente em diversas vias biológicas, tendo importante papel em todos os seres vivos como um oligoelemento essencial, assim é um candidato promissor redox-ativo, cuja homeostase é fortemente controlada (SONGÜL et al., 2018).

A capacidade redox do cobre (Cu(II) / Cu(I)) o torna promissor para atuar como composto antioxidante, juntamente com moléculas que auxiliam na sua função redox. Além disso, por participar de reações redox, como no sistema Cu²⁺ e Cu⁺, o cobre é capaz de produzir grandes quantidades de espécies reativas de oxigênio (ERO), induzidas pela redução com glutathione ou ascorbato seguido de re-oxidação com O₂ ou na presença de peróxido de hidrogênio através de uma reação Tipo-Fenton (Figura 3), produzindo o radical hidroxil, sendo mais reativo e podendo danificar o DNA e proteínas (SANTINI et al., 2014). Portanto, compostos de cobre(II) podem exercer funções como antioxidantes ou pró-oxidantes.



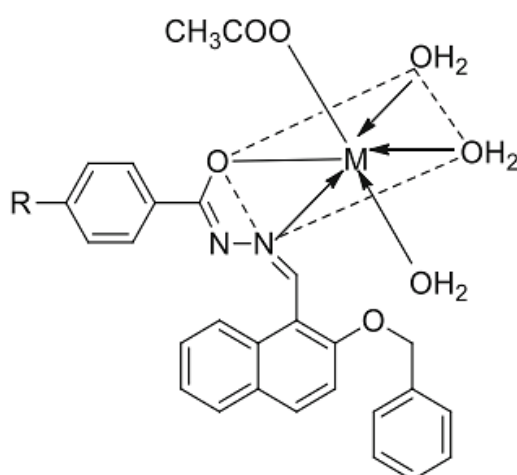
Figura 3- Equação tipo-Fenton com cobre (II)

Fonte. (BOAL AK, ROSENZWEIG AC, 2009)

Os complexos de Cu(II) contendo bases de Schiff são conhecidos por importantes aplicações na área medicinal (EMAM et al., 2019). As bases de Schiff são ligantes versáteis, devido a doação de elétrons do átomo de nitrogênio da ligação –HC=N–, os efeitos eletrônicos e estéricos facilmente ajustáveis, tornando os ligantes eficazes na formação de complexos estáveis com diferentes metais de transição, e com diferentes estados de oxidação (ANNAPOORANI et al., 2011). Para estas bases de Schiff operarem como ligantes e formar compostos de coordenação estáveis, o composto deve possuir um outro grupo funcional, de preferência uma hidroxila (OH), consideravelmente próxima ao sítio de complexação (–HC=N–), para que um anel de cinco ou seis membros possa ser formado quando reagir com um íon metálico (HAMIL et al., 2012). Na literatura observa-se, que alguns compostos apresentam maior atividade quando administrados como complexos metálicos do que como compostos orgânicos livres (GOLCU et al., 2005).

No estudo de YADAV et al., (2021) a avaliação antioxidante foi realizada para todos os compostos sintetizados, conforme apresentado na Figura 4.

Nesse trabalho foi analisado a inibição do radical sintético DPPH, usando ácido ascórbico como padrão positivo. Os autores observaram que o percentual de eliminação do radical aumenta com o aumento da concentração das soluções (100, 200, 300, 400, 500 µg/mL) (YADAV et al., 2021). O percentual de eliminação das espécies reativas foi explicado com base na retirada de elétrons da base de Schiff, que foram aprimorados na complexação com os íons metálicos, devido os complexos serem bons doadores de hidrogênio ou elétrons para o radical DPPH (DEVI et al., 2019). O hidrogênio da ligação azometina apresenta natureza ácida, sendo fácil de ser doado, devido a presença de grupos retiradores de elétrons na posição orto-para e dispersão de carga negativa no anel fenil, atribuídos à retirada de elétrons dos íons Cu(II) (retrodoação) que facilita a liberação de hidrogênio para reduzir o radical DPPH (DEVI et al., 2019).



M = Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II)

R= H ou Cl

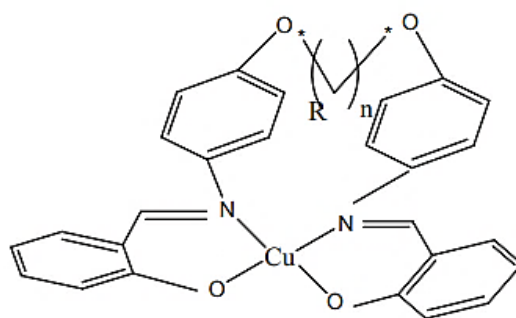
Figura 4- Complexos com diferentes íons metálicos de Co(II), Ni(II), Cu(II) e Zn(II), avaliados perante sua atividade antioxidante. Fonte. (YADAV et al., 2021)

A atividade antioxidante de ligantes, complexos metálicos e padrão positivo, mostrou ser dose-dependente com o aumento das concentrações. O IC₅₀ é a concentração suficiente para obter 50% da atividade de eliminação. O menor valor de IC₅₀ corresponde a maior atividade dos compostos com relação

a inibição das espécies reativas (GANJI et al., 2018). Os complexos de Cu(II), Ni(II), Co(II) e Zn(II) obtiveram IC₅₀ de 2,04 ± 0,971 µM; 2,18 ± 0,986 µM; 2,88 ± 0,983 µM; 3,44 ± 0,974 µM, respectivamente, na eliminação do radical DPPH. Enquanto o ácido ascórbico (padrão positivo utilizado no estudo) apresentou IC₅₀ de 1,92 ± 0,978 µM (YADAV et al., 2021).

A ordem de atividade antioxidante exibida pelos complexos foi Cu(II) > Ni(II) > Co(II) > Zn(II) (DEVI et al., 2019). Os resultados concluem que todos os complexos apresentaram boa atividade antioxidante, mas os complexos de cobre(II) são os mais ativos com valores de IC₅₀ mais baixos. Desta forma, os autores concluem que os estudos contribuem para um tratamento promissor para doenças patológicas com envolvimento de estresse oxidativo (YADAV et al., 2021).

Outro estudo de IFTIKHAR et al., (2018), demonstra a capacidade dos complexos de Cu(II), Figura 5, para atuarem como inibidores de radicais livres ou doadores de hidrogênio, pelo ensaio de eliminação do radical livre DPPH (EJIDIKE et al., 2015). Os resultados apresentados revelam que a atividade antioxidante de todos os compostos foi dependente da concentração (dose dependente), com aumento do percentual de inibição, conforme aumentou a concentração das soluções testadas (ALI et al., 2013).



n= 1,3,5 e R= CH₂

n= 1, MC-1

n=3, MC-3

n=5, MC-5

Figura 5- Complexo de Cu(II) contendo ligante base de Schiff. Fonte. (IFTIKHAR et al., 2018)

Guo et al., (2005) propuseram que a atividade antioxidante das bases de Schiff, estudada por esses autores, pode estar relacionada com os grupos hidroxila (OH) e imina ($-\text{HC}=\text{N}-$), ativos nas cadeias da molécula (GUO et al., 2005). Além disso, é relatado que a presença de espaçadores metil juntamente com grupamento fenil auxiliam no aumento da atividade antioxidante desses compostos (IFTIKHAR et al., 2018). Ligantes bases de Schiff apresentaram valores percentuais significativos de eliminação do radical livre sintético.

A literatura sugere que os compostos contendo grupos hidroxila no anel aromático estendem o sistema conjugado e conseqüentemente apresentam excelente atividade antioxidante em comparação com o ácido ascórbico (vitamina E) (IFTIKHAR et al., 2018). Os dados revelam que complexos de cobre com ligantes bases de Schiff presentes na Figura 5, apresentaram alta atividade antioxidantes com $\text{IC}_{50} = 13,95 \mu\text{g/mL}$ (MC-1) e $38,91 \mu\text{g/mL}$ (MC-5). A atividade antioxidante desses complexos pode ser atribuída à retirada de elétrons dos íons Cu(II) que facilita a liberação de hidrogênio para reduzir o radical DPPH (ALI et al., 2013).

No estudo de Sumalatha et al., (2021) com complexos de Cu(II) , cobalto (II) e níquel (II) contendo bases de Schiff, avaliou-se o potencial antioxidante na captura de radicais sintéticos DPPH, representados na Figura 6. O complexo de cobre (II) apresentou melhores resultados na inibição do radical livre sintético DPPH, com IC_{50} de $4,25 \pm 1,1 \mu\text{M}$. Em comparação com os demais complexos contendo íons metálicos de cobalto (II) e níquel (II) que apresentaram resultados na inibição do radical DPPH com IC_{50} de $5,72 \pm 1,2 \mu\text{M}$; $8,16 \pm 1,0 \mu\text{M}$, respectivamente (SUMALATHA et al., 2021).

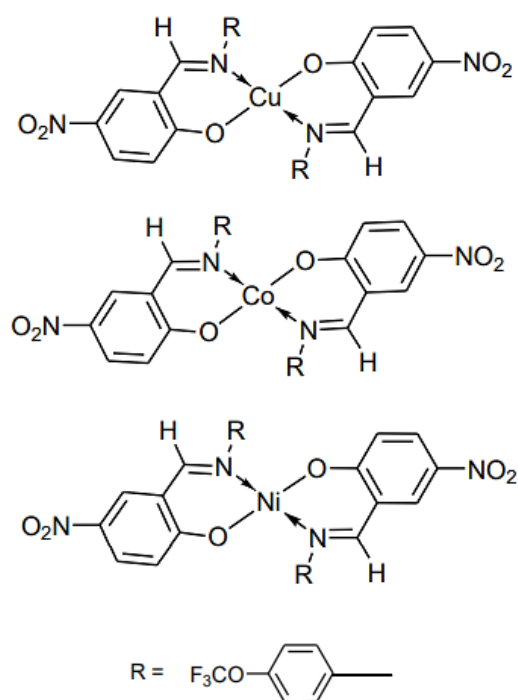


Figura 6- Complexos de cobre(II), cobalto(II) e níquel(II) contendo ligante bases de Schiff. Fonte. (SUMALATHA et al., 2021)

Esses complexos estudados pelos autores apresentaram atividade de eliminação do radical DPPH, mediante à presença do grupo azometina, que pode doar o próton facilmente, devido a coordenação e/ou à capacidade de redução de íons metal (SUMALATHA et al., 2021). A diferença observada da atividade antioxidante entre os complexos metálicos de cobre, cobalto e níquel, pode ser atribuída ao ambiente de coordenação e às propriedades redox que dependem de diversos fatores, como tamanho do anel quelato, ligação axial e grau de insaturação no anel quelato (VENKATESWARLU et al., 2018).

HOROZIĆ et al., (2019), avaliaram o potencial antioxidante do complexo de cobre(II) presente na Figura 7, contendo átomos doadores N, O, utilizando o método de inibição do radical sintético DPPH. O ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo. Com base no valor de IC_{50} , foi estabelecido que o complexo de Cu(II), tem uma alta capacidade antioxidante com IC_{50} de $0,095 \text{ mg mL}^{-1}$. Enquanto, que a vitamina C, tem um efeito antioxidante ligeiramente maior com IC_{50} de $0,035 \text{ mg mL}^{-1}$ (HOROZIĆ et al., 2019).

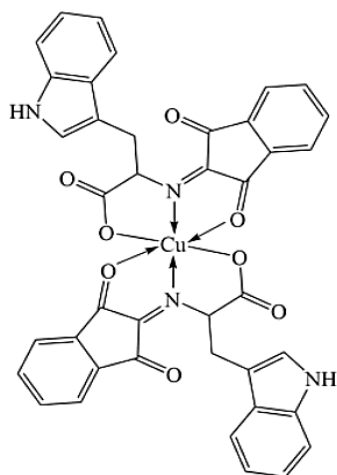


Figura 7- Complexo de cobre(II) com atividade antioxidante. Fonte. (HOROZIĆ et al., 2019)

Ganji et al. (2018), estudaram a atividade antioxidante *in vitro* de complexos de Cu(II) com diferentes ligantes contendo bases de Schiff, Figura 8, onde avaliou-se o potencial antioxidante pelo método DPPH nas concentrações de 20, 40, 60, 80 e 100 μM .

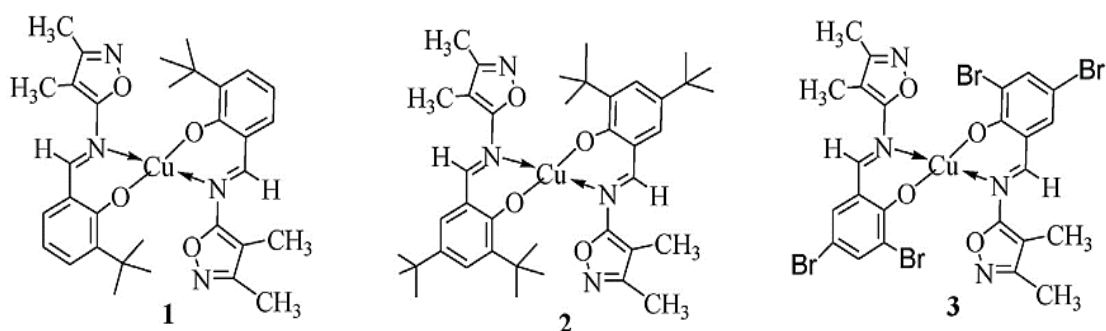


Figura 8- Complexo de cobre(II) contendo ligante bases de Schiff. Fonte. (GANJI et al., 2018)

Os valores de IC_{50} foram calculados e comparados com o padrão (ácido ascórbico) presentes na Tabela 1. O ácido ascórbico apresentou IC_{50} de 0,42 μM , os complexos 1, 2 e 3, mostraram valores de 7,84 μM , 9,82 μM e 3,57 μM , respectivamente. Isso indica que os complexos possuem propriedades antioxidantes, apesar de não obterem valores melhores do que o ácido ascórbico. O complexo 3 que apresenta os íons Br foi o que melhor se destacou

na inibição do radical sintético DPPH, quando comparados em relação aos complexos 1 e 2 que possuem grupos *terc*-butil.

Tabela 1- Valores IC_{50} da atividade de eliminação de DPPH de complexos 1, 2, 3 e AA.

Compostos	IC_{50} (μM)
AA	0,42
1	7,84
2	9,82
3	3,57

AA= Ácido ascórbico

Nos estudos de RAMESH et al., (2020), a atividade antioxidante dos compostos sintetizados, presentes na Figura 9, foi expressa com valores de IC_{50} (concentração inibitória de 50%) (VENKATESWARLU et al., 2018). Os valores de IC_{50} foram encontrados como 7,07 μM (1), 5,15 μM (2), 3,82 μM (3), 7,97 μM (4), 6,41 μM (5), 4,32 μM (6) e 0,42 μM (ácido ascórbico, AA), respectivamente (RAMESH et al., 2020).

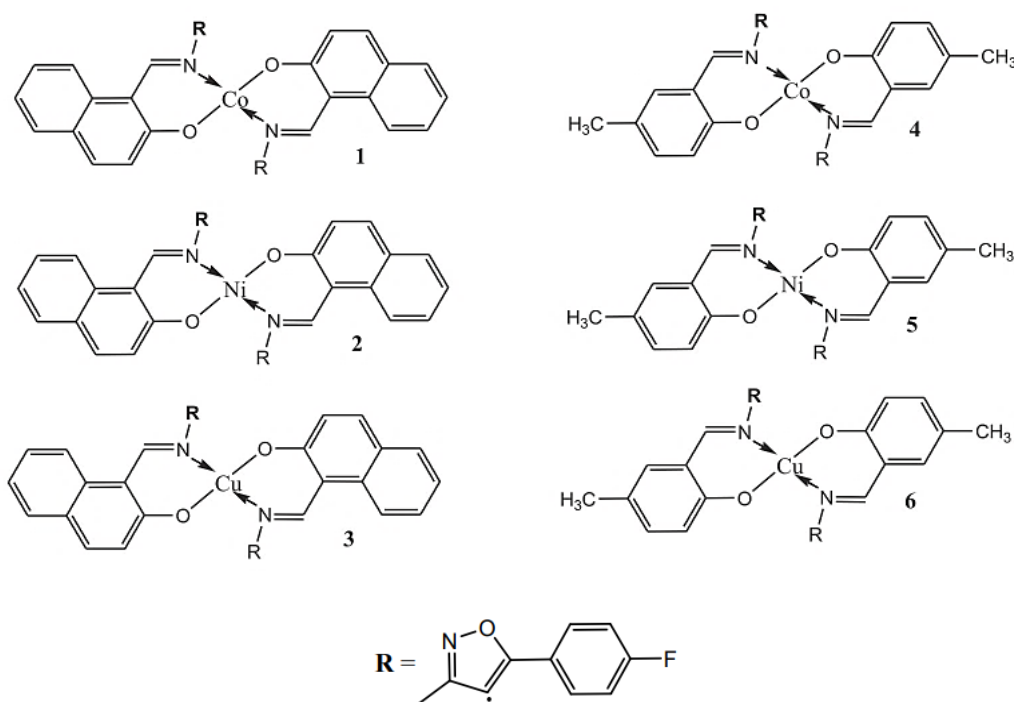


Figura 9- Complexos de Cu(II), Co(II) e Ni(II) avaliação da atividade antioxidante.

Fonte. (RAMESH et al., 2020)

A partir dos resultados presentes na Figura 10, os complexos de Cu(II) apresentam maior atividade antioxidante do que os complexos de Ni(II) e Co(II), mas inferior ao resultado do ácido ascórbico (AA). Os complexos metálicos que possuem ligantes naftalato-imina em sua estrutura obtiveram maiores atividades na eliminação do radical sintético DPPH, quando comparados com os ligantes fenolato-imina. Contudo, todos os complexos apresentaram atividade de eliminação do radical DPPH (RAMESH et al., 2020).

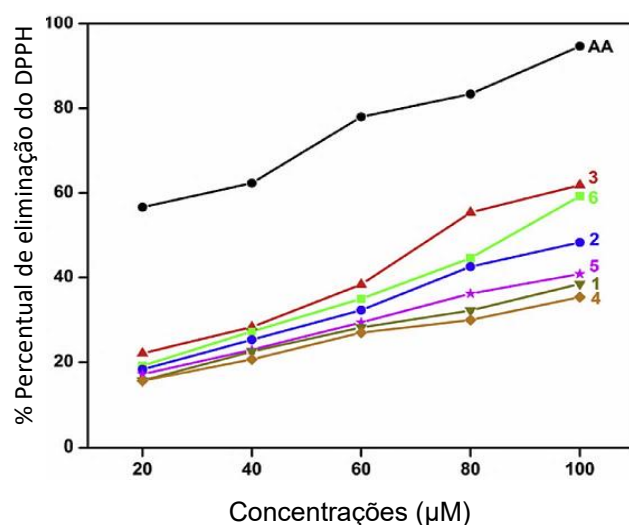


Figura 10- Complexos de Cu(II), Co(II) e Ni(II) avaliação da atividade antioxidante. AA= ácido ascórbico Fonte. Adaptado de (RAMESH et al., 2020)

Outra classe de complexos de cobre(II) contendo derivados pirazóis, vem sendo estudados, e demonstraram alta atividade antioxidante, particularmente na prevenção de efeitos deletérios ocasionados pelos radicais livres (CHKIRATE et al., 2019).

No estudo de Chikirate et al., (2019) a estrutura do complexo de Cu(II) apresentada na Figura 11, contendo ligante polidentado com átomos doadores N,N,N,O, apresenta atividade antioxidante na captura de radicais livres DPPH. Em comparação com o complexo contendo o íon de cobalto (II) com IC₅₀ de 72,67 µM, o composto contendo o íon de cobre (II) com IC₅₀ de 45,30 µM, apresenta melhor atividades antioxidantes na eliminação do radical livre DPPH, Tabela 2. Nesse estudo, o composto orgânico não apresentou atividade na eliminação do radical DPPH (CHKIRATE et al., 2019). Nos estudos biológicos

avaliados no trabalho de Chikirate et al, (2019) os autores observaram que a atividade biológica apresentada pelos complexos foi dependente do íon metálico, portanto a eficácia de diversos agentes terapêuticos orgânicos, pode muitas vezes ser ampliada pela coordenação da molécula orgânica ao íon metálico (ELSAYED et al., 2020).

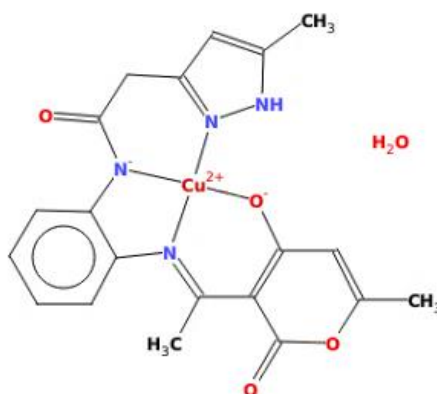


Figura 11- Complexo de cobre(II) contendo derivados de pirazol com atividade antioxidante. Fonte: (CHKIRATE et al., 2019)

Tabela 2- Avaliação antioxidante dos complexos de Cu(II), Co(II) e do ligante contendo pirazol.

Compostos	DPPH μM (IC_{50})	ABTS μM (IC_{50})	FRAP μM (IC_{50})
Cu(II) Pirazol	45,30 $\pm$ 4,49	0,50 $\pm$ 0,01	0,30 $\pm$ 0,02
Co(II) Pirazol	72,67 $\pm$ 4,10	0,31 $\pm$ 0,02	0,19 $\pm$ 0,01
Ligante Pirazol	NA	0,07 $\pm$ 0,01	0,09 $\pm$ 0,02

NA: Não ativo. Fonte: (CHKIRATE et al., 2019)

2.2.1. Importância da atividade antioxidante e pró-oxidante de complexos de Cu(II) contra doenças

A superprodução de espécies reativas de oxigênio nas formas de ânion superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$), radical hidroxila ($\text{HO}^{\bullet}$), óxido nítrico ($\text{NO}^{\bullet}$), alcóxil ($\text{RO}^{\bullet}$), peróxil ($\text{ROO}^{\bullet}$) e peroxinitrito (ONOO^-), são considerados os principais contribuintes para o dano oxidativo de biomoléculas como DNA, lipídios e

proteínas, acelerando assim o câncer, o envelhecimento, inflamação, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (BASU et al., 2007). Ainda estudos sugerem que as ERO participam do mecanismo fisiopatológico de várias outras doenças, como Parkinson, distrofia muscular, catarata, retinopatias, infarto do miocárdio, síndrome de isquemia, cirrose hepática entre outras doenças.

Portanto, a descoberta e o desenvolvimento de agentes que podem proteger contra o dano do estresse oxidativo vem sendo ativamente explorados, e o estudo com diversas moléculas antioxidantes com bons resultados para um tratamento eficaz, como as que foram apresentadas no tópico anterior vem sendo apresentadas. Mas, além da importância da produção de compostos que sejam antioxidantes, há aqueles que além de serem ótimos antioxidantes em concentrações baixas, pode apresentar atividade pró-oxidante em concentrações elevadas, o que por sua vez não é ruim para algumas aplicações, como exemplo, em alguns tipos de tumores malignos (DHARMARAJA et al., 2017).

Em alguns tipos de câncer malignos, as ERO estão presentes em concentrações altas, devido à atividade metabólica das células ser mais acelerada que em células saudáveis (DTORDOIR et al., 2016). No entanto, diversos estudos concluíram que o aumento dos níveis de espécies reativas de oxigênio, pode promover a morte celular programada de células cancerígenas induzidas pelo estresse oxidativo (RECZEK et al., 2012). E assim, espécies pró-antioxidantes poderiam ser empregadas como um possível tratamento terapêutico para cânceres malignos (DHARMARAJA et al., 2017).

O cobre possui importantes características químicas, devido a sua natureza redox e alta afinidade por nucleobases, facilitando a obtenção de candidatos a fármacos que apresentem um maior espectro de ação e menor toxicidade (HEDLEY et al., 2016). Os complexos de cobre (II) podem promover a morte celular por diferentes mecanismos de ação, como a formação de adutos no DNA; ligação e/ou inibição de proteínas pela sua capacidade em substituir outros íons metálicos; produzir espécies reativas de oxigênio (ERO) e induzir eficientes clivagem do DNA e RNA; interrompendo/atrasando o ciclo

celular em qualquer uma das fases; ou causando despolarização da membrana (PEDROSA et al., 2018).

Um exemplo de complexo de cobre(II) é o Cu(II)-Elesclomol que apresenta importantes propriedades redox ativas, no qual o mecanismo de ação tem caráter pró-oxidante, que por sua vez se torna eficaz contra células tumorais. O complexo de Cu(II)-Elesclomol, Figura 12, foi estudado em ensaio clínico de fase I contra leucemia mieloide aguda. O elesclomol se liga ao cobre (Cu) na forma de Cu^{2+} no soro e permite a redução de Cu (II) a Cu (I) uma vez dentro da célula maligna. Essa reação redox interrompe a respiração mitocondrial perturbando a produção de energia celular e metabolismo, e eleva o nível de espécies reativas de oxigênio (ERO) além dos níveis sustentáveis, desencadeia a apoptose mitocondrial em células cancerosas resultando em morte celular (BLACKMAN et al., 2012). As células mielóides são exclusivamente dependentes do metabolismo e função mitocondrial (SRISKANTHADEVAN et al., 2015). Assim, a ruptura mitocondrial mediada por elesclomol pode ser eficaz para um subgrupo de pacientes com leucemia mielóide aguda. Devido ao mecanismo de ação do Cu(II)-elesclomol, ser mais eficaz sob condições onde há oxigênio e a respiração mitocondrial é ativa (HEDLEY et al., 2018).

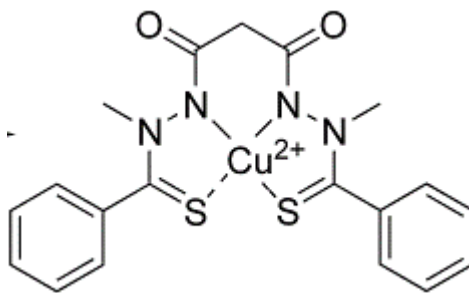


Figura 12- Cu(II) Elesclomol

Fonte. (HASINOFF et al., 2015)

Outra classe promissora de complexos de cobre(II) presentes na Figura 13, que vem sendo estudados são as Casiopeínas® Cu(acetilacetato)(4,7-dimetil-1,10-fenantrolina) (III-Ea) e Cu(glicinato) (4,7-dimetil-1,10-fenantrolina) (II-Gly), que contêm ligantes N,N-doadores (1,10-fenantrolina, 2,2-bipiridina e seus derivados) e ligantes do tipo N, O- ou O, O-doadores (BRAVO-GÓMEZ et

al., 2013). As casiopeínas foram avaliadas em ensaio de fase II contra cânceres de ovário, falópio e peritoneais, e demonstrou exercer atividade anticâncer como Cu(I). Estes complexos exibem atividade citotóxica e antineoplásicas com resultados promissores para a aplicação como agentes antitumorais (RUIZ-AZUARA et al., 2010).

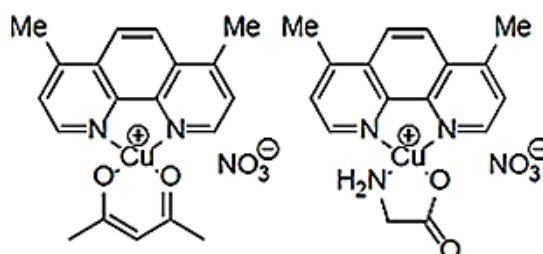


Figura 13- Casiopeínas III-Ea e II-Gli

Fonte. (BECCO et al., 2014).

A Figura 13 ilustra as Casiopeínas® que foram avaliadas *in vitro* e *in vivo* e apresentaram resultados antitumorais. Os mecanismos de ação sugerido para esses compostos envolvem a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), indução de apoptose e interação direta com o DNA (BRAVO-GÓMEZ et al., 2013). Os resultados confirmaram que as Casiopeínas clivam o DNA, por um mecanismo de radicais livres e produzem fortes mudanças na estrutura protéica da tubulina, integrina e fibronectina (BECCO et al., 2014). Todas as Casiopeínas apresentaram atividade antiproliferativa contra linhagem celular metastática de neuroblastoma SK-N-SH, um tumor extracraniano, superior à da cisplatina ($IC_{50} = 123 \mu M$), com valores de IC_{50} de 18 e 22 μM para CasII-gli Cu(glicinato)(4,7'-dimetil-2,2'-fenantrolina) e CasIII-Ea Cu(acetilacetato)(4,7-dimetil-1,10-fenantrolina), espectivamente (BECCO et al., 2014).

2.3. Citotoxicidade de complexos de Cu(II) em células V79

A citotoxicidade é a propriedade nociva de um composto em relação às células. A toxicidade desses compostos pode promover diversas modificações no ciclo celular e metabólico de uma célula, tais como, apoptose, alterações na

permeabilidade da membrana, modificações na fita do DNA, inibição enzimática, necrose, etc.

Na análise de citotoxicidade de uma substância normalmente é utilizado uma célula padrão, com características normais de uma célula saudável. A linhagem de células V79 (fibroblastos de pulmão de hamster chinês) é um exemplo de célula utilizada para estes experimentos de avaliação da toxicidade. Essas células apresentam alta eficiência de plaqueamento, devido serem capaz de iniciar rapidamente um crescimento exponencial a partir de um pequeno inóculo. Em geral, o tempo de duplicação destas células é de 12-16 horas, a 37 °C, com 5% de CO₂. Podem ser estocadas em nitrogênio líquido e refrigeradores a -81 °C, recuperando-se rapidamente após o seu descongelamento, permitindo, portanto, a manutenção de grandes estoques destas células com características reprodutíveis e similares, como por exemplo, a baixa frequência de mutações (FRIEAUFF et al., 2001).

Diversos métodos experimentais podem ser utilizados para observar a toxicidade de um composto em relação as células, tais como, MTT, Vermelho neutro (VN), etc. Uma toxicidade mínima ou inexistente em células saudáveis é necessária para o desenvolvimento bem-sucedido de uma preparação farmacêutica e, nesse sentido, os estudos de toxicidade baseados em células desempenham um papel significativo. A citotoxicidade é uma restrição comum para o uso de novos compostos em formulações farmacêuticas. (FERNANDES, A.S. et al., 2007).

O ensaio de viabilidade celular MTT (3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difeniltetrazólio) é um método comumente utilizado para avaliar a viabilidade de células em cultura, as células vivas têm atividade mitocondrial ativa, onde o MTT é captado e convertido pela enzima mitocondrial citocromo c oxidase em um produto chamado formazano, enquanto as células mortas ou danificadas não são capazes de reduzir o MTT. Portanto, a formação de formazano é diretamente proporcional à viabilidade celular (FRIEAUFF et al., 2001).

Já o ensaio vermelho neutro (VN) se baseia na capacidade das células vivas de incorporar um corante fluorescente chamado vermelho neutro, que é

um derivado do triphenyl tetrazolium (NBT), através dos lisossomos de células viáveis.

As células V79 são usadas principalmente para avaliar as doses toxicológicas, sendo um modelo alternativo pré-clínico que pode ser extrapolado para estipular doses *in vivo*, e assim diminuir o número de animais no experimento, com doses já estabelecidas *in vitro*. Além disso, possui diversas outras aplicações, tais como em mutagênese e reparação de DNA, estresse oxidativo, metabolismo e mecanismo de morte celular programada (PICH et al., 2019).

No estudo de Pich et al., (2019) as células V79 foram expostas por 72 horas aos complexos 1, 2 e 3 presentes na Figura 14, a fim de estipular as doses que os compostos apresentam toxicidade. As concentrações mais altas foram baseadas em seu máximo de solubilidade. Estudos foram realizados em Cisplatina, um fármaco já em uso terapêutico, com intuito de comparar a toxicidade. O ensaio empregado foi o MTT, os resultados mostraram que os complexos de Cu(II) foram capazes de diminuir a viabilidade celular de forma dose-resposta após 72 h de exposição. Na maioria das concentrações utilizadas nos experimentos de MTT, os complexos 1, 2 e 3 apresentaram efeitos citotóxicos. Toxicidades semelhantes foram observadas para os compostos 1 e 3, onde as concentrações inibitórias máximas (IC_{50}) foram de 193 e 150 mol/L-1, respectivamente, conforme mostrado na Figura 15. A comparação direta mostrou que o composto 2 possui citotoxicidade pelo menos 20 vezes maior que outros complexos de cobre, com valores de IC_{50} de 6,70 mol L-1.. Portanto, ao observarmos a diferença estrutural, o complexo que possui o grupamento fenantrolina apresentou maior citotoxicidade na célula V79, do que com relação aos complexos 1 bimetálico e 3 que possui o grupamento bipyridina. A Cisplatina apresentou IC_{50} de 4.9 μ M nas células V79.

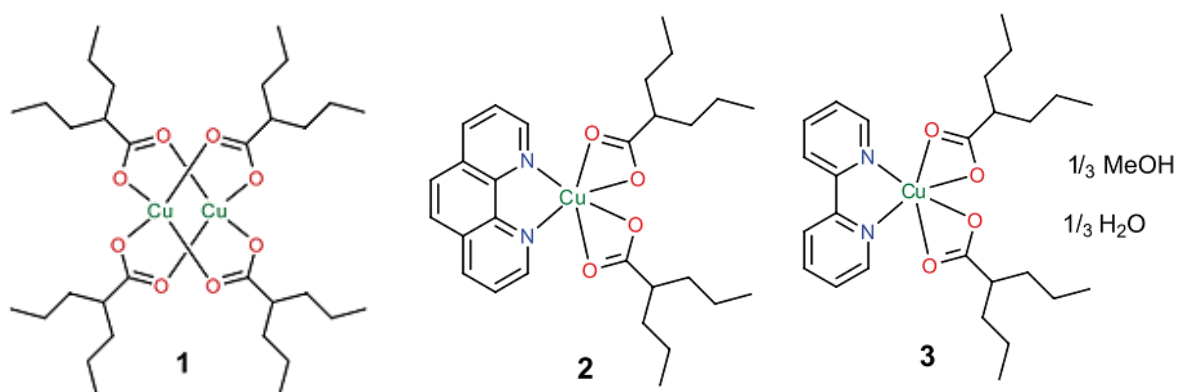


Figura 14. Complexos de Cu(II) 1 (Cu_2Vap_4), 2 (CuVap_2Fen) e 3 (CuVap_2Bip).

Fonte. (PICH et al., 2019)

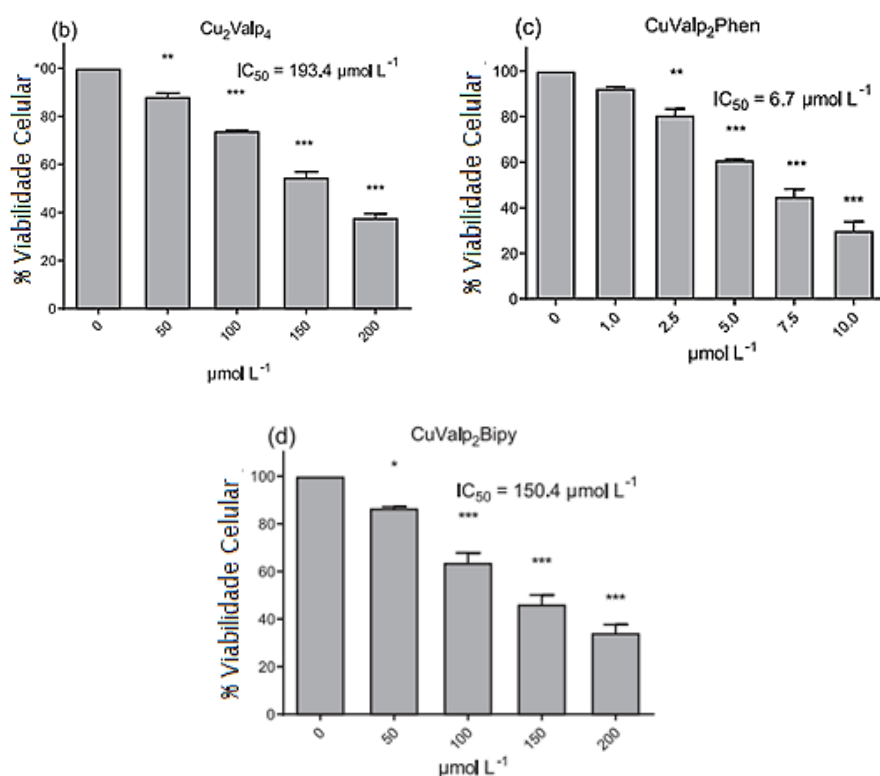


Figura 15- Citotoxicidade de complexos 1, 2 e 3 em células V79, conforme determinado pelo método de redução de MTT (porcentagem de controle negativo). Os respectivos controles negativos (solventes) foram incluídos; os dados são expressos como média $\pm$ S.D., $n = 3$. *Dados estatisticamente significantes diferentes em relação ao grupo controle negativo * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ /teste de comparação múltipla de ANOVA de um fator de Dunnett. Fonte. (PICH et al., 2019)

CAPÍTULO I – Complexos de Cu(II) contendo ligantes monodentados 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilcalcogenil)-1*H*-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1*H*-pirazol (Se)

3. Objetivo

3.1 Objetivo Geral

Síntese e caracterização de novos complexos de Cu(II) contendo ligantes monodentados 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilcalcogenil)-1*H*-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1*H*-pirazol (Se), e estudos das atividades antioxidantes e de citotoxicidade.

3.2. Objetivos Específicos

- Desenvolver uma nova classe de complexos de cobre(II) contendo ligantes 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilcalcogenil)-1*H*-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1*H*-pirazol (Se);
- Caracterizar as propriedades eletrônicas e estruturais dos novos complexos de Cu(II) por difração de raios X de monocristal, espectroscopia na região do infravermelho, espectroscopia eletrônica na região do UV-Vis (**2a** e **2b**), espectroscopia de massas de alta resolução-ESI e análise elementar (CHN).
- Determinar a capacidade antioxidante dos compostos de Cu(II) contendo ligantes 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilcalcogenil)-1*H*-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1*H*-pirazol (Se) através do método antioxidante, como a ABTS⁺, DPPH[•] e ER.
- Determinar a citotoxicidade dos compostos sintetizados, a partir do método vermelho neutro (VN), utilizando células de fibroblastos de pulmão de Hamster chins (V79).

4. Parte Experimental

4.1 Métodos, Materiais e Procedimentos Gerais

Os pré-ligantes e os seus respectivos complexos de Cu(II) foram sintetizados utilizando reagentes de grau analítico. Os solventes utilizados na síntese e purificação dos compostos (etanol, metanol, hexano e acetato de etila) foram adquiridos de forma comercial, com grau de pureza compatível com o uso, sem necessidade de purificação prévia. Os reagentes de grau analítico utilizados nos ensaios biológicos: meio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM), soro fetal bovino (FBS), solução salina tamponada com fosfato (PBS), tripsina-EDTA, L-glutamina, penicilina / estreptomicina e azul de Tripán foram obtidos da Gibco (Grand Island, NY, EUA). 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico) (ABTS), DMSO (dimetilsulfóxido), acetonitrila, metanol, etanol, pentano, hexano, acetato de etila e DMF (dimetilformamida), obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Todos os outros reagentes foram de grau analítico, LiClO₄, ferroceno, trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico).

4.1.1 Classe I dos ligantes 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilcalcogenil)-1H-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol (Se)

Os pré-ligantes 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol (**1a**), 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilsulfanil)-1H-pirazol (**1b**) 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol (**1c**) apresentados na Figura 16, foram preparados seguindo procedimentos descritos na literatura (OLIVEIRA et al., 2015), em colaboração com a Dra. Daniela Hartwig de Oliveira no Laboratório de Síntese Orgânica Limpa – LASOL da Universidade Federal de Pelotas.

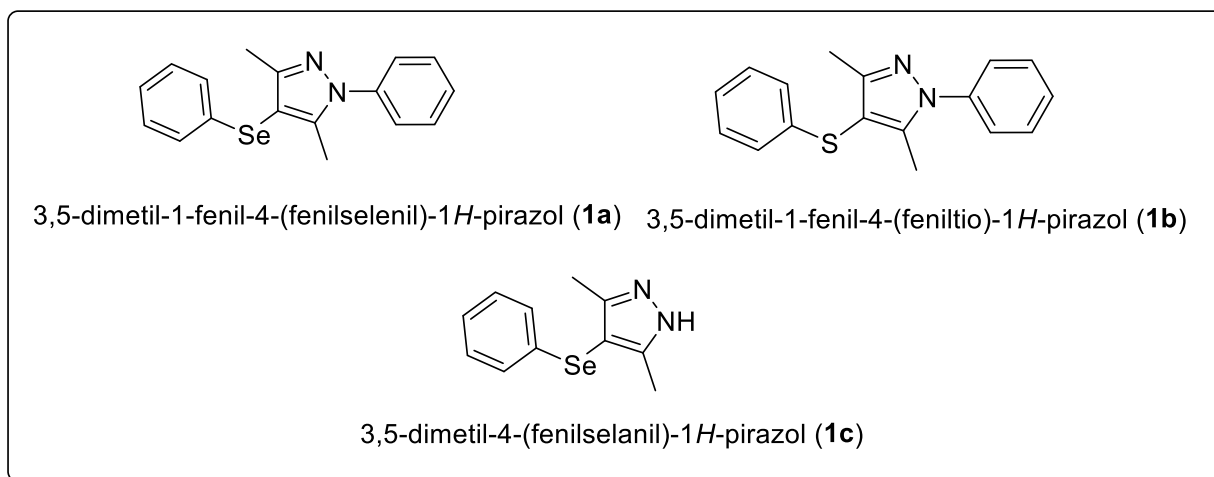


Figura 16- Ligantes 3,5-dimetil-4-(fenilcalcogenil)-1*H*-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1*H*-pirazol (Se) (**1a-1c**).

4.2 Métodos de Instrumentação

4.2.1 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

A caracterização dos compostos **1a – 1c** e **2a – 2c** por espectroscopia na região do Infravermelho foi realizada no Laboratório de Catálise Molecular localizado na IQ-Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Os espectros na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro IRAffinity-1, SHIMADZU, na região de 4000 a 500 cm^{-1} , sob o acessório ATR-ZnSe, em modo: transmitância, número de scans: 60, resolução: 4 cm^{-1} . As amostras foram dispostas sobre o cristal do equipamento para leitura do percentual de transmitância (%T).

4.2.2 Análise Elementar de CHN

As porcentagens de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN) foram obtidas através de um analisador elementar de C, H, N Carlo Erba CHNS-O-E1110, na Central Analítica do Instituto de Química – UFRGS, e os resultados foram obtidos a partir da média de duas determinações independentes.

4.2.3 Análise de Difração de Raios X de Monocristais

A coleta de dados de difração de raios X dos compostos **2a**, **2b** e **2c** foi realizada pela Dra. Roberta Cargnutti, no Departamento de Química Inorgânica da Universidade Federal de Santa Maria em um difratômetro Bruker D8 Venture Photon10, utilizando sistema óptico de monocromatização e a radiação de Mo K(α)(0,71073 Å) e sistema óptico de monocromatização. As estruturas foram solucionadas e refinadas empregando-se o método de matriz completa/mínimos quadrados dos fatores estruturais F^2 , com os parâmetros de deslocamento térmicos anisotrópicos para todos os átomos não hidrogenóides, através do programa SHELXS. Os átomos de Hidrogênio foram refinados isotropicamente na forma de grupos vinculados geometricamente aos respectivos átomos não hidrogenóides. As representações gráficas das estruturas cristalinas foram executadas através dos programas DIAMOND e ORTEP (FARRUJIA, L. J. P. 565, 1997).

4.2.4 Espectroscopia no Ultravioleta Visível (Uv-Vis)

Os espectros no ultravioleta visível foram obtidos em um espectrofotômetro Cary 60, na região de 200 a 800 nm, localizado no Laboratório de Catálise Molecular - LAMOCA da IQ-Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, em Porto Alegre. As leituras foram realizadas em DMSO, em uma concentração de 1×10^{-5} mol L⁻¹ (de acordo com a necessidade de visualização do espectro), em cubetas de quartzo de caminho óptico de 1 cm.

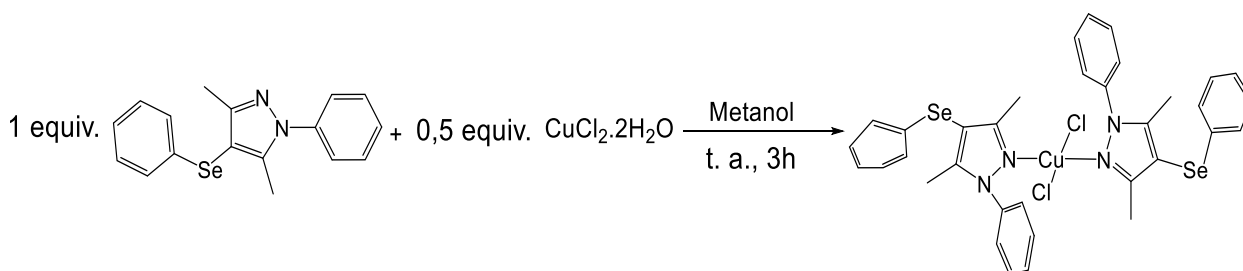
4.2.5 Espectrometria de massa de ionização por eletrospray de alta resolução (ESI-HRMS)

As análises de espectrometria de massa com ionização via eletrospray de alta resolução (ESI-HRMS) dos complexos em DMSO foram executadas em um equipamento Shimadzu-Bruker / LC-20ADXT MicrOTOF-QIII da central

analítica localizado na Universidade Federal de Ciência da Saúde - UFCSPA de Porto Alegre. Já as análises dos complexos em CH₃OH, foram realizadas usando um espectrômetro Micromass Waters® Q-ToF e UHPLC-ESI-QqToF modelo microTOF-QIII, localizado na IQ-Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRGS. As análises foram realizadas em soluções com solventes de grau espectroscópico (acetonitrila- ACN), com concentração em torno de 500 nM e vazão de 180 µL min⁻¹.

4.3. Síntese dos Complexos Cu(II) contendo ligantes monodentados ligantes 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilcalcogenil)-1H-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol (Se)

4.3.1 Cu[bis{3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol}Cl₂] 2a

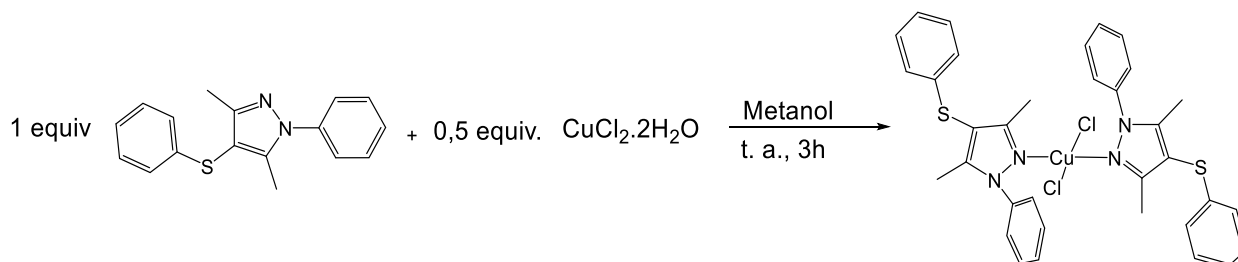


Esquema 1- Rota geral de síntese do complexo de Cu(II) contendo bis-ligantes 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilselenil)-1H-pirazol.

Uma solução de **1a** (0,300 g, 0,92 mmol) em metanol (10 mL) foi adicionada lentamente a uma solução de CuCl₂·2H₂O (0,078 g, 0,46 mmol) em metanol (5 mL). A mistura de reação foi agitada durante 3h à temperatura ambiente e a solução resultante foi parcialmente evaporada no rota-evaporador. A solução concentrada (aproximadamente 2 mL) de **2a** foi deixada para cristalização. O composto **2a** gerou cristais verdes escuros, alguns dos quais se mostraram adequados para estudos de difração de raios X de monocristal. Rendimento: 194 mg (80,5%). IV (ν max / cm⁻¹): 3052 (C-H), 1516 (C=N)_{Pirazol}, 1393 (C=C)_{pirazol}, 1067 (NN). UV-Vis (DMSO, 200 – 800 nm, 25°C): 258 (π-π*), 416 (n-π*) L-M. Anal. Calcd. For C₃₄H₃₂Cl₂CuN₄Se₂: C: 51,76; H:

4,09; N: 7,10. Encontrada: C: 51,38; H: 3,98; N: 6,87. ESI-HRMS (MeOH): carga $m/z = 719,0233$ $[M - 2Cl]^+$; $563,0833$ $[M - SePh - 2Cl]^+$; $407,1359$ $[M - 2SePh - 2Cl]^+$; $329,0544$ $[L + H]^+$. (calcd $m/z = 719,0253$) $[M - 2Cl]^+$; (calcd $m/z = 563,0775$) $[M - SePh - 2Cl]^+$; (calcd $m/z = 407,1297$) $[M - 2SePh - 2Cl]^+$; (calcd $m/z = 329,0557$) $[L + H]^+$.

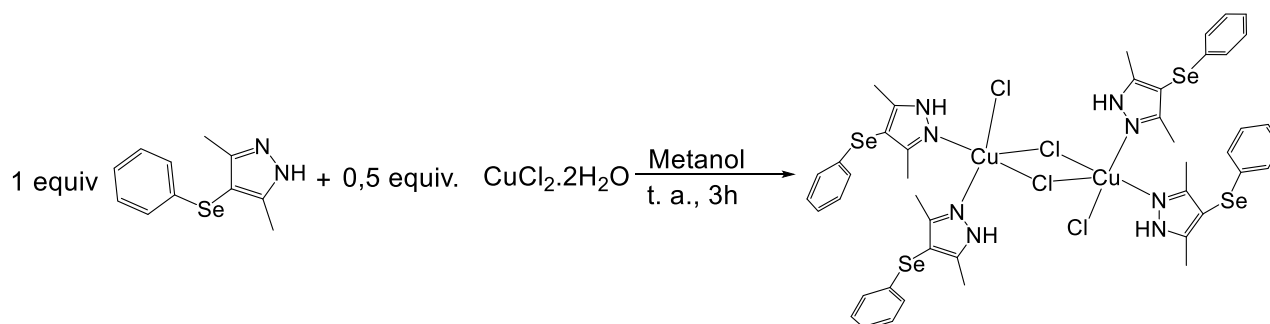
4.3.2 Cu[bis{3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilsufanil)-1H-pirazol}Cl₂] 2b



Esquema 2- Rota geral de síntese do do complexo de Cu(II) contendo bis-ligantes 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilsulfanil)-1H-pirazol.

Este complexo foi preparado como descrito para **2a**, partindo de **1b** (100 mg, 0,36 mmol) e CuCl₂.2H₂O (30 mg, 0,18 mmol). O complexo **2b** foi obtido como um sólido verde. Rendimento: 127 mg (51%). IV (ν max / cm⁻¹): 3040 (C-H), 1501 (C=N)_{pirazol}, 1385 (C=C)_{pirazol}, 1121 (NN). UV-Vis (DMSO, 200 – 800 nm, 25°C): 258 (π - π^*), 460 (n- π^*), 416 (L-M). Análise elementar para C₃₄H₃₂Cl₂CuN₄S₂. Calculada (%): C: 58,74; H: 4,64; N: 8,06. Encontrada (%): C: 58,41; H: 4,48; N: 7,76. ESI-HRMS (MeOH): carga $m/z = 623,1112$ $[M - 2Cl]^+$; $281,0951$ $[L+H]^+$. (calcd $m/z = 623,1364$) $[M - 2Cl]^+$; (calcd $m/z = 281,1112$) $[L+H]^+$.

4.3.3 Bis[{(μ²-Cloro)-Cl-3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol}Cu(II)] 2c



Esquema 3- Rota geral de síntese do complexo dimérico de Cu(II) contendo bis-ligantes 3,5-dimetil-4-(fenilselenil)-1H-pirazoles.

Este complexo foi preparado como descrito para **2a**, partindo de **1c** (100 mg, 3,98 mmol) e CuCl₂.2H₂O (34 mg, 2,00 mmol). O composto **2c** foi obtido como um sólido de cor verde. Rendimento: 106 mg (84%). IV (ν max / cm⁻¹): 3312 (C-H), 1545 (C=N)_{pirazol}, 1406 (C=C)_{pirazol}, 1105 (NN). ESI-HRMS (DMSO): carga m/z = 253,0237 [L-H]⁺; 565,9532 [M-2Cl-H]⁺. (calcd m/z = 253,0314) [L+H]⁺; (calcd m/z = 565,9616) [M - 2Cl-H]⁺.

4.4 . Ensaios antioxidantes

A atividade antioxidante dos complexos **2a**, Cu[bis{3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol}Cl₂], **2b** Cu[bis{3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilsufanil)-1H-pirazol}Cl₂] e **2c** Cu[bis{3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol}Cl₂] foi avaliada através de sua capacidade de neutralizar os radicais sintéticos 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), 2,2'-azino-bis (ácido 3-tilbenztiazolina-6-sulfônico) (ABTS⁺). Os complexos **2a** e **2b** também foram avaliados quanto a inibição da formação de espécies reativas (RS) induzidas pela azida de sódio. Os ensaios antioxidantes foram realizados em parceria com o grupo de pesquisa em Neurobiotecnologia (GPN) da Universidade Federal de Pelotas. Os compostos foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) para todas as análises em diferentes concentrações (0,1 µM, 1 µM, 5 µM, 10 µM e 50 µM). Os ensaios foram realizados em três experimentos independentes feitos em triplicata. A atividade antioxidante dos compostos é expressa em porcentagem de redução do DPPH. O método de captura do radical ABTS⁺ consiste em um método relativamente comum das classes de antioxidantes, sendo capturado tanto por antioxidantes de caráter hidrofílico quanto lipofílico (RUFINO et al., 2007).

4.4.1 Ensaio de atividade de eliminação do radical 2,2'-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)

Para determinar a atividade de eliminação do radical DPPH, foram misturadas diferentes concentrações dos complexos **2a** - **2c**, com 0,1 mM de uma solução metanólica do radical DPPH. Após isso, a mistura reacional foi incubada por 30 min a 30 °C no escuro. Uma diminuição na absorvância da solução roxa (a 517 nm) é um indicativo de atividade antioxidante dos compostos testados (Choi et al., 2002).

4.4.2 Ensaio de atividade de eliminação do cátion radical 2,2'-azino-bis (ácido 3-tilbenztiazolina-6-sulfônico) (ABTS⁺)

O cátion radical ABTS⁺ foi gerado com persulfato de sódio na presença de tampão fosfato de potássio (PÉREZ-JIMÉNEZ J et al., 2006). Diferentes concentrações de complexos **2a** - **2c**, foram misturados com 7mM de uma solução metanólica do cátion radical. A mistura reacional foi incubada em temperatura ambiente por 30 min no escuro. A absorbância da solução resultante foi medida a 734 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição dos radicais DPPH e ABTS⁺.

4.4.3 Inibição da formação de Espécies Reativas (ER)

A avaliação da inibição da formação de ER foi realizada com homogenatos de tecidos, de camundongos Swiss machos (25-30 g; fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas). Os camundongos foram eutanasiados e o tecido cerebral foi rapidamente removido e colocado no gelo. O cortex pré-frontal (PFC) e o hipocampo (HC) foram dissecados e homogeneizados em Tris-HCl 50 mM a pH 7,4 (1/4, peso / volume [p / v]). O homogenato foi centrifugado por 10 min a 2500 × g e o sobrenadante resultante foi usado para a análise. Os procedimentos foram aprovados pelo comitê de ética da Universidade Federal de Pelotas.

A quantificação dos níveis de ER no PFC e HC de camundongos foi realizada segundo Loetchutinat et al. (2005). Resumidamente, alíquotas dos sobrenadantes foram incubadas com diferentes concentrações de compostos

(1–50 μ M), diacetato de dicloro-di-hidrofluoresceína 1 mM (DCHF-DA), Tris-HCl pH 7,4 e azida de sódio (inibidor do complexo IV do transporte de elétrons em cadeia (Harvey et al., 1999). A oxidação do DCFHDA na diclorofluoresceína fluorescente (DCF) é medida para a detecção de ER intracelular. Os resultados foram expressos em porcentagem de formação de ER quando comparados à amostra sem os complexos **2a** ou **2b** (100% da formação de ER).

4.5. Ensaios de Citotoxicidade

4.5.1 Cultura celular

As células de fibroblastos de hamster chinês (V79) fazem parte do estoque de células do laboratório de Genética Toxicológica da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). As células foram adquiridas da ATCC (American Tissue Culture Collection) e foram cultivadas sob condições padrão a 37 °C em uma atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂. A linhagem V79 foi cultivada em meio DMEM com 10% de soro fetal bovino (composto por fatores de crescimento que estimulam a duplicação celular), 0,2 mg/mL L-glutamina, 100UI/mL de penicilina e 100 μ g/mL de estreptomicina.

4.5.2 Ensaio Vermelho Neutro

O ensaio de viabilidade celular foi realizado em colaboração com o Laboratório de Genética Toxicológica (Gentox) localizado na Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA, sendo determinada pelo método de captação do corante vermelho neutro (VN). Este ensaio é baseado na incorporação do corante vermelho neutro pelos lisossomos de células viáveis. No estudo foram usadas células V79 (fibroblastos de hamster chinês).

Para realização do ensaio VN inicialmente é feito o plaqueamento das células, utilizando placas de 96 poços, como demonstrado na Figura 17, utilizando 1×10^5 células por poço. As células são incubadas a 37 °C, durante

24 h, em atmosfera de 5% de CO₂ para aderência das células na placa. Após, é feito um tratamento de 24 h, com diferentes concentrações dos complexos de Cu(II) (1, 10, 50 e 100 µM). O percentual de DMSO em todas as concentrações foi de 0,1 %. A solução de 0,1% de DMSO com meio DMEM é utilizado como controle negativo.

Após, o tempo de tratamento com os compostos, as células foram lavadas com 100 µL de PBS e incubadas com 100 µL da solução de vermelho neutro (VN) (25 µg/mL) a 37°C por 3 h. As células foram lavadas novamente com PBS e incubadas por 30 min, protegidas da luz, com a solução de desadsorção (ácido acético:etanol:água, 1:50:49). A absorbância foi medida a 540 nm em espectrofotômetro. Com esse ensaio foi possível determinar o percentual de viabilidade celular e os valores de IC₅₀ (concentração inibitória mínima para inibir 50% das células).

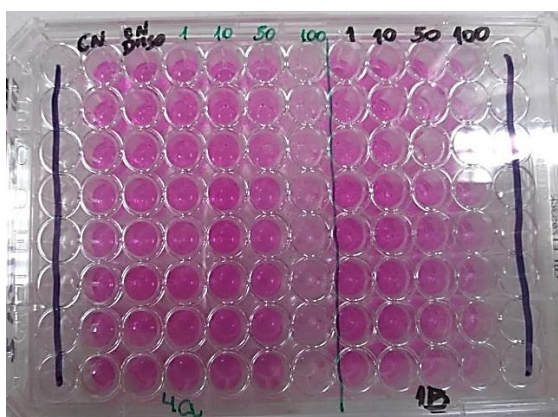


Figura 17- Placa de 96 poços para cultura de células.

4.6 Análise estatística

4.6.1 Avaliação da atividade antioxidante

Todos os testes foram realizados pelo menos três vezes em triplicata e os dados são expressos como média ± erro padrão da média (MEV). Os dados foram analisados por análise unidirecional de variância (ANOVA) seguida pelo teste post hoc de Tukey. Diferenças foram consideradas estatisticamente significante quando $p < 0,05$. A metade da concentração inibitória máxima (IC₅₀)

e os valores máximos de inibição ($I_{\max}$) foram calculados usando o software GraphPad versão 8.0 (GraphPad Software, San Diego, CA), o qual também foi usado para executar a análise estatística.

4.6.2 Viabilidade celular pelo método de vermelho neutro (VN)

Todos os experimentos *in vitro* foram obtidos em triplicadas e os resultados são expressos como média $\pm$ DP. A significância estatística foi determinada por ANOVA de uma via seguida pelo teste de comparação múltipla de Dunnett e $P < 0,05$ foi considerado significativo.

5. Resultados e discussões

5.1 Síntese e caracterização dos pré-ligantes ligantes 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilcalcogenil)-1H-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol (Se)

Os pré-ligantes monodentados 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilcalcogenil)-1H-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol (Se) (**1a** - **1c**) foram sintetizados (Apêndice A) a partir da reação de condensação, conforme previamente descrito na literatura por Oliveira et al., (2015). Esses ligantes foram obtidos como sólidos amarelo-claros em altos rendimentos (89 – 95%) e caracterizados por espectroscopia de infravermelho e ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C .

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) dos ligantes estão apresentados em anexo, no Apêndice B (Figuras 51-56). O espectro de RMN ^1H do composto **1a**, na região de 2,33 e 2,36 ppm, apresenta dois singletos referentes aos hidrogênios das metilas ligadas ao núcleo pirazólico, que apresentam valores relativos as integrais de 3H cada. Na região do espectro em 7,46 – 7,32 ppm, encontram-se dois multipletos referentes aos H do anel aromático da arilidrazina, na região de 7,18 ppm tem-se um duplete e na região de 7,14 – 7,10 ppm tem-se um multiplete referente aos H aromáticos

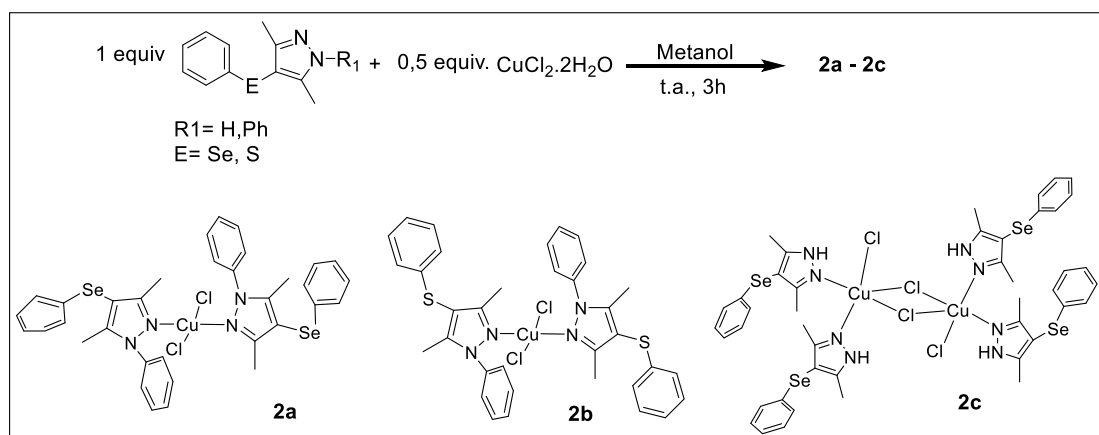
ligados ao anel vizinho ao átomo de selênio. Já o espectro de RMN ^{13}C do composto **1a**, observam-se os sinais referentes aos carbonos da molécula, em um total de 13 sinais, conforme o esperado. No deslocamento químico de 153,06 ppm encontra-se o sinal referente ao carbono imínico presente no núcleo pirazolínico. Já em 143,86 ppm apresenta o sinal do carbono de posição cinco no núcleo pirazolínico. O sinal do C de posição quatro do núcleo pirazólico, ligado diretamente ao átomo de selênio, encontra-se no deslocamento químico de 102,42 ppm. Enfim, em uma frequência mais baixa de 12,82 e 12,32 ppm, apresenta-se os sinais relativos aos dois carbonos metil (OLIVEIRA et al., 2015).

O RMN de ^1H do composto **1b**, na região de 2,29 e 2,34 ppm, apresenta dois singletos referentes aos hidrogênios das metilas ligadas diretamente ao núcleo pirazolínico, os quais apresentam valores relativos às integrais somadas de 6H. Já na região 7,26 – 7,19 ppm, observa-se um multipeto referente aos dois hidrogênios mais próximos ao átomo de S dos anéis aromáticos. No espectro de RMN ^{13}C do composto **1b**, observam-se sinais referentes aos C da molécula, em um total de 13 sinais, conforme o previsto. Em um deslocamento químico de 153,10 ppm há o sinal referente ao carbono imínico do núcleo pirazolínico. Em 144,01 ppm encontra-se o sinal referente ao C de posição cinco no anel pirazólico, o qual está ligado por uma ligação simples a um átomo de N. O carbono de posição quatro no núcleo pirazólico, está ligado diretamente ao átomo de S, no deslocamento químico de 106,18 ppm. Na frequência mais baixa, em 11,98 e 11,47 ppm, os sinais relativos aos dois carbonos das metilas (OLIVEIRA et al., 2015).

5.2 Síntese e caracterização dos complexos de Cu(II) contendo ligantes 3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilcalcogenil)-1H-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol (Se)

A rota geral de síntese para os novos complexos de Cu(II) a partir dos pré-ligantes 3,5-dimetil-4-(fenilcalcogenil)-1H-pirazol (Se ou S) e 3,5-dimetil-4-(fenilselanil)-1H-pirazol (Se) é apresentada no Esquema 4. A reação de 1 equiv.

dos pré-ligantes **1a** - **1c** com 0,5 equiv. de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em metanol, à temperatura ambiente por 3 h, promoveu a formação dos complexos **2a** - **2c** como sólidos, de coloração verde, com rendimentos variando entre 51,3 – 84,0%, conforme resultados descritos na Tabela 3.



Esquema 4- Síntese dos complexos de Cu(II) **2a-2c**.

Tabela 3- Coloração, rendimento dos complexos de Cu(II).

Compostos	Coloração	Rendimento (%)
2a	Verde	80,3
2b	Verde claro	51,3
2c	Verde escuro	84,0

Os produtos finais obtidos são estáveis ao ar e a umidade. As estruturas foram deduzidas com base em análise elementar (C, H e N) (complexos **2a** e **2b**), difração de raios X em monocristal, espectrometria de massas – ESI, espectroscopia na região do ultravioleta visível – (Uv-vis) e na região do infravermelho (IV). Não foi possível realizar análises de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , devido se tratar de espécies de cobre(II) (d^9) paramagnéticas. Os complexos **2a** - **2c** apresentaram solubilidade em solventes polares, tais como, DMSO, DMF e MeOH. Além disso, demonstraram ser parcialmente solúveis em H_2O , THF e diclorometano.

Os espectros de espectrometria de massa de ionização por eletrospray de alta resolução (ESI-HRMS) de **2a** - **2c** foram registrados em metanol e

DMSO. A ionização por electrospray é uma técnica usada em espectrometria de massas para produzir íons usando um electrospray, no qual uma alta voltagem é aplicada a um líquido para criar um aerossol. Os resultados do ESI-HRMS presentes no (Apêndice I) Figuras 56 e 57, dos complexos **2a** e **2b** indicam a formação de íons $[\text{Cu}(\text{L})_2 - 2\text{Cl}]^+$ pela perda de dois ligantes cloreto da estrutura no estado sólido. Em metanol o espectro do complexo **2a**, exibiu pico em $m/z = 563,0833$; $407,1359$; $329,0544$ atribuível às espécies $[\text{M} - \text{SePh} - 2\text{Cl}]^+$, $[\text{M} - 2\text{SePh} - 2\text{Cl}]^+$ e $[\text{L} + \text{H}]^+$, respectivamente. No complexo **2b** os picos em $m/z = 281,0951$; $623,112$ são atribuíveis ao ligante livre $[\text{L} + \text{H}]^+$ e a massa exata do íon molecular, $[\text{M} - 2\text{Cl}]^+$, respectivamente. Já o complexo **2c** apresentou picos em $m/z = 253,0099$; $565,9661$ atribuídos às espécies $[\text{L} + \text{H}]^+$ e $[\text{M} - 2\text{Cl} - \text{H}]^+$, respectivamente.

Os pré-ligantes **1a** – **1c** e seus complexos de Cu(II) **2a** – **2c** apresentaram baixa solubilidade em solução aquosa, então quando testados em meio biológico, esses compostos foram dissolvidos em DMSO e adicionados ao meio para atingir as diferentes concentrações desejadas antes do uso. Desta forma, os compostos foram analisados em solução de DMSO com o objetivo de verificar a possível coordenação do DMSO ao centro metálico. Os espectros em DMSO do complexo **2a**, exibiu pico em $m/z = 328,0474$ e $719,0230$ atribuível às espécies $[\text{L} + \text{H}]^+$ e $[\text{M} - 2\text{Cl}]^+$ respectivamente. No complexo **2b** um pico em $m/z = 280,1019$; $623,1359$ atribuível ao ligante livre $[\text{L} + \text{H}]^+$ e a massa exata do íon molecular $[\text{M} - 2\text{Cl}]^+$, respectivamente. Já o complexo **2c** apresenta pico em $m/z = 253,0237$; $565,9532$ atribuídos às espécies $[\text{L} + \text{H}]^+$, $[\text{M} - 2\text{Cl} - \text{H}]^+$, respectivamente. Os picos observados nos espectros com DMSO indicaram a formação de espécies semelhantes registradas em metanol, os espectros se encontram no (Apêndice I).

5.3 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IR)

A análise de espectroscopia na região do infravermelho (IV) baseia-se no fato de que a maioria das moléculas absorvem luz na região do infravermelho do espectro eletromagnético, ocasionando a conversão dessa

molécula em vibração molecular. Através dessa técnica espectroscópica é possível observar a presença dos principais grupos funcionais da molécula. Os espectros de infravermelho para os compostos **1a - 1c** e **2a - 2c** foram registrados na região de 4000 a 500 cm^{-1} , e são apresentados nas Figuras 18, 19 e 20. As bandas de absorção analisadas nos espectros obtidos dos pré-ligantes e complexos são apresentados na Tabela 4, respectivamente.

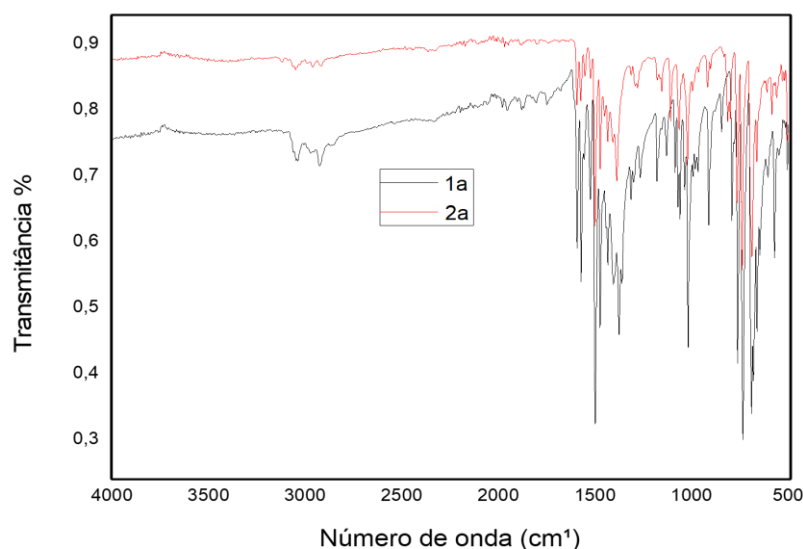


Figura 18- Sobreposição do espectro vibracional do pré-ligante **1a** e o complexo **2a**.

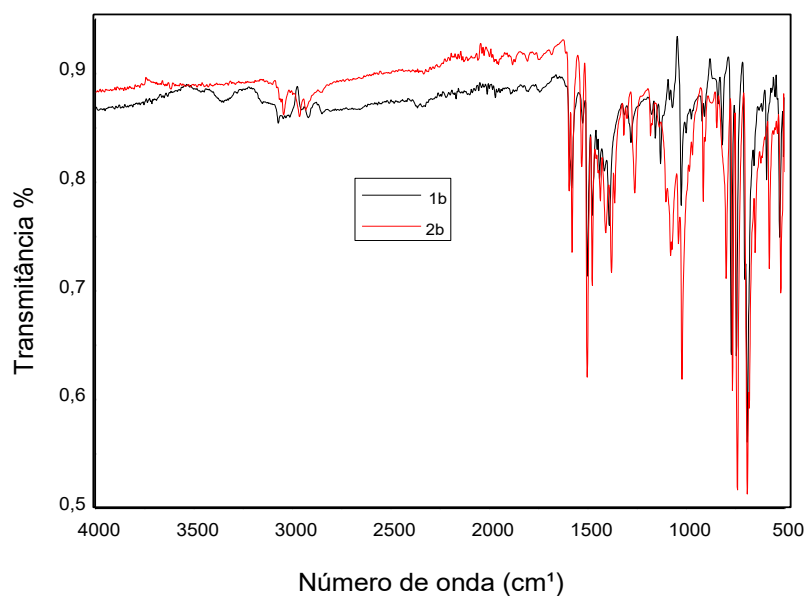


Figura 19- Sobreposição do espectro vibracional do pré-ligante **1b** e o complexo **2b**.

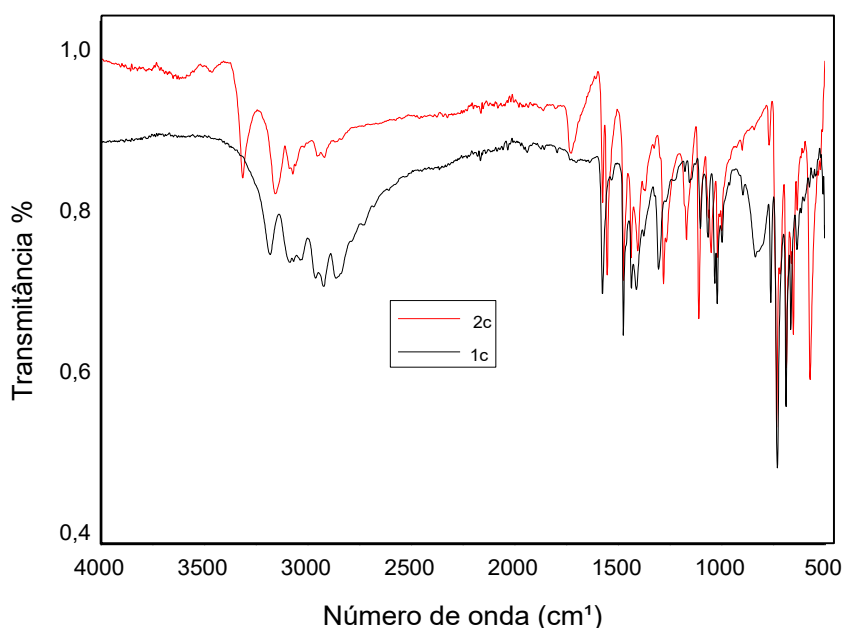


Figura 20- Sobreposição do espectro vibracional do pré-ligante **1c** e o complexo **2c**.

Tabela 4- Bandas de absorção analisadas nos espectros de infravermelho para os pré-ligantes e seus respectivos complexos de Cu(II).

Bandas de absorção	1a	2a	1b	2b	1c	2c
ν_s (C-H) (cm ⁻¹)	3043	3052	3050	3040	3188	3312
ν (C=N _{pz}) (cm ⁻¹)	1571	1578	1491	1578	1578	1545
ν (C=C _{pz}) (cm ⁻¹)	1389	1397	1379	1385	1479	1406
ν (NN) (cm ⁻¹)	1066	1067	1034	1072	1091	1105

ν = estiramento; ν_s = estiramento simétrico;

Nos espectros apresentados nas Figuras 18, 19 e 20 as bandas mais energéticas presentes na região entre 1479 - 1379 cm⁻¹ são características do estiramento da ligação C=C do anel pirazólico, enquanto que as absorções encontradas próximas a 1581 - 1501 cm⁻¹ são atribuídas ao estiramento C=N. Na região próxima a 3100 cm⁻¹ são bandas provenientes dos estiramentos da ligação C-H. Espera-se uma modificação eletrônica, devido a ocorrência da coordenação do nitrogênio doador do ligante ao centro metálico de Cu(II). Os grupos funcionais das moléculas do ligante em sua forma livre possuem uma força maior de ligação, quando comparado ao ligante coordenado ao centro

metálico. Quando coordenados ao centro metálico, os heteroátomos dos mesmos doam uma densidade eletrônica para o metal diminuindo a força da ligação (REGUERA et al., 2020).

A modificação no ambiente eletrônico/químico, que se deve a coordenação ao centro metálico do Cu(II), faz com que as frequências de deformação axial C=N sofram um deslocamento no complexo se comparado com o pré-ligante. Alguns grupos do pré-ligante sofreram deslocamentos inferiores ou superiores no número de onda, mostrando que a presença do metal no complexo também interfere na absorção dos grupos não coordenados (DE LA TABLA, 2012).

5.4 Avaliação da estabilidade dos complexos de Cu(II) em espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível

A espectroscopia na região do ultravioleta- visível, envolve a luz na faixa do ultravioleta próximo e do infravermelho próximo, portanto, região do comprimento de onda entre 190 a 1200 nm (MATOS et al., 2019). A radiação eletromagnética que foi absorvida pelos elétrons, terá energia igual a mudança de energia entre os estados fundamental e excitado, portanto, as transições resultantes da absorção ocorrem em nível eletrônico (ALCOLEA et al., 2016).

O propósito do teste de estabilidade é fornecer evidências de como o composto se apresenta sob influência de determinados solventes e do tempo em solução (ACILAN et al., 2017). A estabilidade é fundamental para monitorar possíveis degradações ou transformações químicas (tais como coordenação do solvente na esfera de coordenação do metal) (ALCOLEA et al., 2016). O comportamento/estabilidade dos complexos de Cu(II) **2a** e **2b** foi verificado em DMSO por 24 h em espectroscopia UV-Vis. As análises realizadas no solvente são importantes, uma vez que os compostos foram previamente diluídos em DMSO para a realização dos ensaios biológicos. A cinética de varredura obtida é relatada nas Figuras 21 e 22. Todos os espectros foram obtidos na concentração 10^{-5} mol L⁻¹.

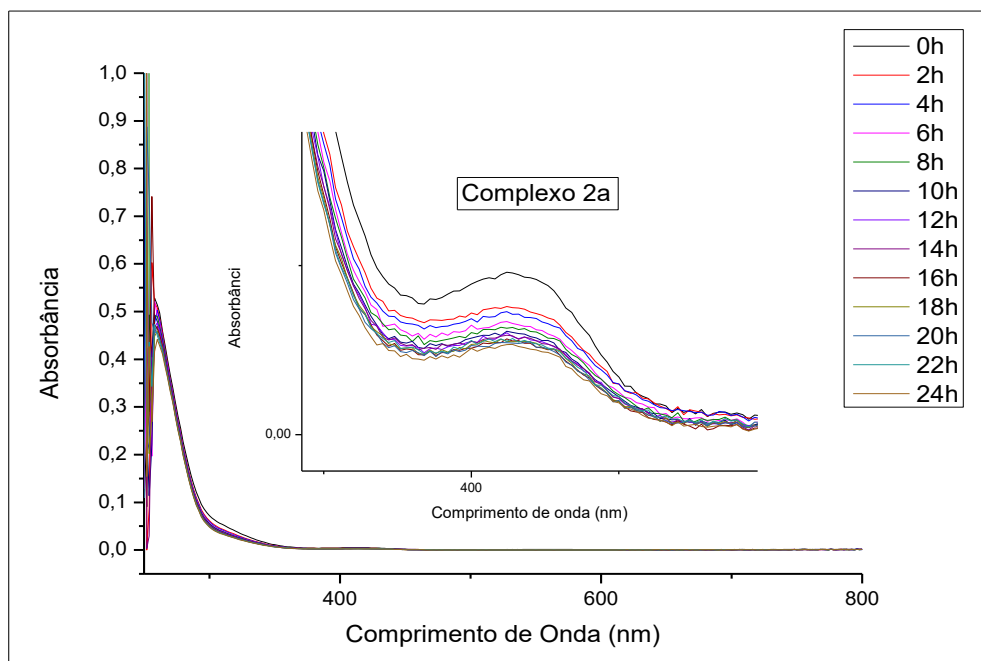


Figura 21- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o complexo **2a**.
Análise de estabilidade em DMSO em diferentes tempos.

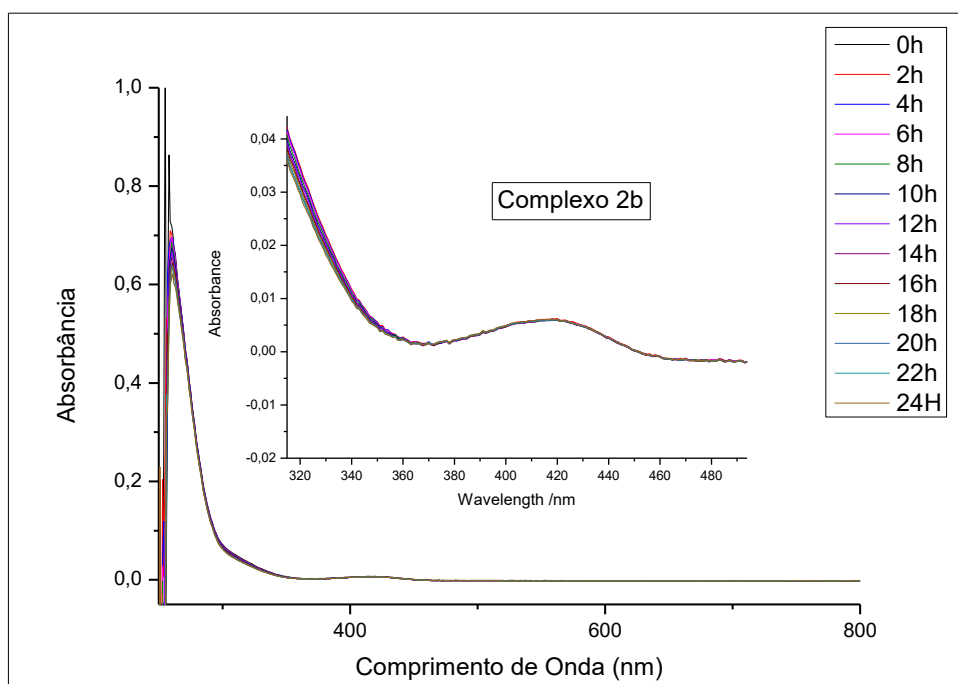


Figura 22- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o complexo **2b**.
Análise de estabilidade em DMSO em diferentes tempos.

Todos os ligantes apresentam uma banda de energia em torno de 259–292 nm atribuída a transições eletrônicas intra-ligante $\pi-\pi^*$ nos anéis

aromáticos dos ligantes (MATOS et al., 2019). Os espectros dos ligantes são encontrados no Apêndice J. A banda de absorbância em torno de 416-440 nm é provavelmente devido a uma transferência de carga atribuídos ao $n \rightarrow \pi^*$ ($L \rightarrow M$) (MUKHERJE et al., 2013).

Conforme mostrado nas Figuras 21 e 22, os complexos **2a** e **2b** foram ambos estáveis em solução de DMSO por 24 h. O complexo **2a** apresentou um leve efeito hipocrômico, em torno de 2 horas em solução. Nenhum desvio batocrômico ou hipsocrômico foi detectado. Este comportamento dos complexos de Cu(II) é atribuído à não modificação dos compostos originais (LOVISON et al., 2022). Já o complexo **2b** apresentou um perfil de absorbância constante, não havendo alteração do composto em solução de DMSO com o aumento de tempo.

5.5 Análise elementar

A análise elementar de CHN trata-se de um método quantitativo e qualitativo dos elementos carbono, hidrogênio e nitrogênio. Adicionalmente, avalia o grau de pureza de uma amostra. Os valores do percentual de C, H e N (%) para os complexos **2a** e **2b**, são apresentados na Tabela 5. A partir dos resultados obtidos da análise, pode-se constatar que os valores alcançados de forma experimental estão relativamente próximos aos valores teóricos calculados, portanto, determinando um elevado grau de pureza dos complexos **2a** e **2b**, conforme os resultados obtidos por análise elementar de CHN.

Tabela 5- Valores encontrados de CHN experimental e teórico dos complexos.

Compostos	Calculado (%)			Experimental (%)		
	C	H	N	C	H	N
2a	51,76	4,09	7,10	51,38	3,98	6,87
2b	58,74	4,64	8,06	58,41	4,48	7,76

5.6 Caracterização no estado sólido por difração de raios X de monocrystal

A difração de raios X é uma análise importante das estruturas, que permite a identificação de compostos cristalinos, além de fornecer detalhes e ângulos de ligações dos cristais. O arranjo espacial dos átomos doadores ao redor do centro metálico é denominado geometria de coordenação. Os ângulos e pontos fortes desses feixes são registradas quando o cristal é sucessivamente girado. Cada ponto registrado é chamado de reflexão, que corresponde à reflexão dos raios X de um conjunto de planos espaçados dentro do cristal.

Para a determinação da estrutura molecular por difração de raios X foram obtidos monocristais dos complexos **2a**, **2b** e **2c** a partir da evaporação lenta da solução concentrada resultante da reação. As estruturas cristalinas e moleculares destes juntamente com os principais ângulos e distâncias de ligação são apresentadas nas Figuras 23, 24 e 25. Dados cristalográficos e de refinamento são resumidos nas Tabelas 7 e 9.

O complexo **2a** pertencente ao sistema cristalino monoclinico com grupo espacial P21/n com Z=2, e apresenta-se de forma monomérica no estado sólido com coordenação monodentada do átomo doador nitrogênio do anel pirazólico frente ao átomo de Cu(II). A cela unitária apresentou uma única espécie molecular. Ocorreu a coordenação de dois pré-ligantes ao complexo **2a**, a partir dos átomos doadores de N_{pirazol} e dois átomos de cloro frente ao átomo de Cu(II) que determina o número de coordenação quatro. A estrutura cristalina e molecular apresenta ângulos de ligação N1-Cu1- N1' = 180,00(14) Å, Cl1-Cu1-Cl1' = 180,00 Å, N1-Cu1-Cl1 = 89,42(8) Å e N1'- Cu1-Cl1 = 90,58(8) Å que determinam a formação de uma geometria quadrática ao redor do centro metálico.

Tabela 6- Principais ângulos das ligações da estrutura cristalina **2a**.

Ligações	Ângulos (°)
N1-Cu-N1	180,00(14)
Cl1-Cu-Cl1'	180,00
N1-Cu1-Cl1	89,42(8)
N1'-Cu1-Cl1	90,58(8)

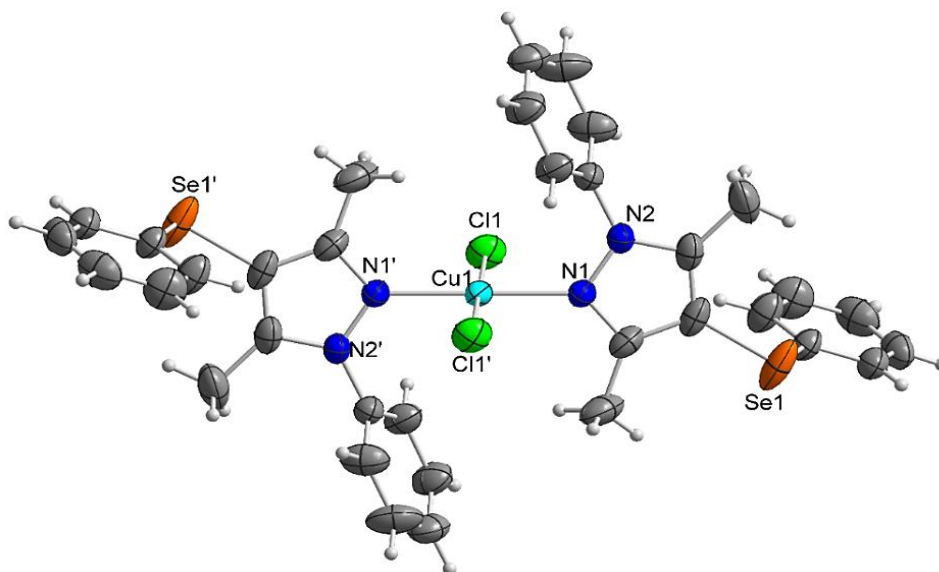


Figura 23- Estrutura cristalina e molecular do complexo **2a**. As elipsoides térmicas são representadas com 50% de nível de probabilidade. Distâncias (Å) de ligação selecionadas: Cu1-N(21) = 1,986(2); Cu1-N1' = 1,986(2); Cu1-Cl1 = 2,2500(9); Cu1-Cl1' = 2,2501(9).

Tabela 7- Dados do cristal e refinamento da estrutura para os complexos **2a** e **2b**

Complexo	2a	2b
Fórmula empírica	C ₃₄ H ₃₂ Cl ₂ CuN ₄ Se ₂	C ₃₄ H ₃₂ Cl ₂ CuN ₄ S ₂
Massa molar (g/mol)	788,99	695,19
Temperatura (K)	296(2)	296(2)
Comprimento de onda (Å)	0,71073	0,71073
Sistema do cristal	Monoclinico	triclínico
Grupo espacial	P 21/n	P ₋₁
Dimensões da unidade da célula		
A (Å)	10,2445(3)	8,9255(3)
B (Å)	8,2038(3)	9,3940(3)

C (Å)	20,3624(7)	10,1634(4)
α (°)	90	99,6160(10)
β (°)	104,1980(10)	96,5690(10)
γ (°)	90	102,0430(10)
Volume (Å ³)	1659,06(10)	811,79(5)
Z	2	1
Densidade calculada (mg.m ³)	1,579	1,422
Coeficiente de absorção linear (mm ⁻¹)	3,043	0,996
F (000)	790	359
Tamanho do cristal (mm ³)	0,222 x 0,128 x 0,075	0,241 x 0,170 x 0,098
Região de varredura angular θ (°)	2,512 – 30,568	2,882 – 30,572
Região de varredura dos índices	-14 $\leq h \leq$ 14 -11 $\leq k \leq$ 11 -29 $\leq l \leq$ 29	-12 $\leq h \leq$ 12 -13 $\leq k \leq$ 13 -14 $\leq l \leq$ 14
Reflexões coletadas/independ . [R _(int)]	29432/5095 [R(int) = 0.0481]	31120/4982 [R(int) = 0.0297]
Integralidade da medida (%)	99,9	99,7
Método de Refinamento	Full-matrix least-squares on F ²	Full-matrix least-squares on F ²
Dados/ restrições /parâmetros	5095 / 0 / 198	4982 / 0 / 198
Goodness-of-fit (GOF) em F ²	1,010	1,054
Índice R final [$I > 2\sigma(I)$]	R ₁ = 0,0498, wR ₂ = 0,1263	R ₁ = 0,0372, wR ₂ = 0,1150
Índices R (todos os dados)	R ₁ = 0,0920, wR ₂ = 0,1454	R ₁ = 0,0443, wR ₂ = 0,1200
Maior diferença de pico e vale (e Å ⁻³)	1,519 e -1,416	0,553 e -0,596

O complexo **2b** pertencente ao sistema cristalino triclinico com grupo espacial P-1, e apresenta-se de forma monomérica no estado sólido com coordenação do átomo doador N do anel pirazólico frente ao átomo de Cu(II). A cela unitária apresentou uma única molécula. Ocorreu a coordenação de dois pré-ligantes a partir dos átomos doadores de N_{pirazol} de forma monodentada e dois átomos de cloro frente ao átomo de Cu(II) que determinam o número de

coordenação quatro. A estrutura cristalina e molecular apresenta ângulos de ligação $N1-Cu-N1' = 180,00(9)$; $Cl1-Cu-Cl1' = 180,00$; $N1-Cu1-Cl1 = 89,18(15)$; $N1'-Cu1-Cl1 = 90,82(15)$ Å que determinam a formação de uma geometria quadrática ao redor do centro metálico, apresentados na Tabela 8.

Tabela 8- Principais ângulos das ligações da estrutura cristalina **2b**.

Ligações	Ângulos (°)
$N1-Cu-N1'$	180,00(9)
$Cl1-Cu-Cl1'$	180,00
$N1-Cu1-Cl1$	89,18(15)
$N1'-Cu1-Cl1$	90,82(15)

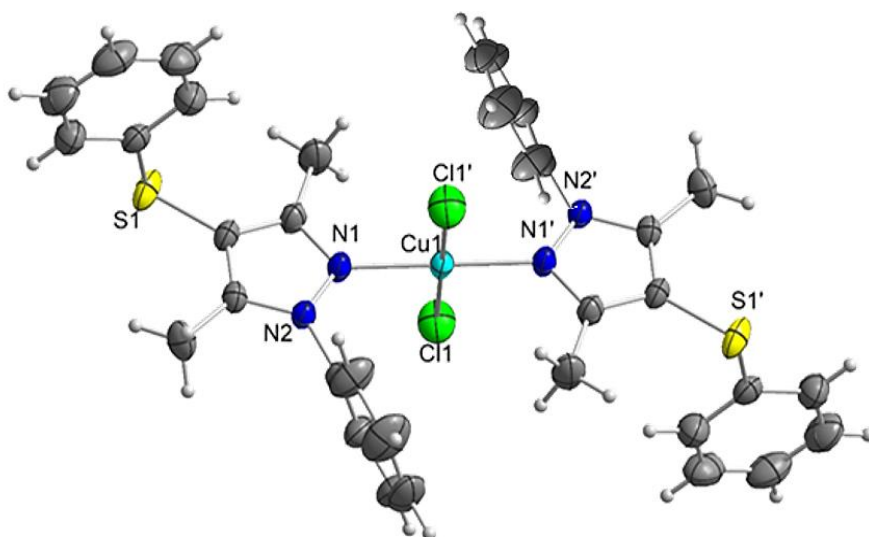


Figura 24- Estrutura cristalina e molecular do complexo **2b**. As elipsoides térmicas são representadas com 50% de nível de probabilidade. Distâncias (Å) de ligação selecionadas: $Cu1-N1 = 1,9597(14)$; $Cu1-N1' = 1,9597(14)$; $Cu1-Cl1' = 2,2713(5)$; $Cu1-Cl1 = 2,2713(5)$.

Para descrever o tamanho e a distância entre os átomos são usados o raio covalente dos átomos envolvidos na ligação e o raio de Van Der Waals. O raio covalente é metade da separação internuclear entre os núcleos de dois átomos. Enquanto o raio de van der Waals é usado para definir metade da distância entre a aproximação mais próxima de dois átomos não ligados de um determinado elemento (BROWN et al., 2005).

As distâncias de ligação Cu-N [1.986(2) Å] a **2a** e [1,9597(14) Å] a **2b** são comparáveis aos valores anteriormente relatados para complexos de Cu(II) com ligantes contendo pirazóis (HUERTAS et al., 2015). As distâncias de ligação Cu–Cl [2,2500(9) Å] a **2a** e [2,2713(5) Å] a **2b** são menores que a soma dos raios covalentes e estão de acordo com outros complexos de cobre-cloreto (GAMA et al., 2011). Os ângulos de ligação diagonais (°) a **2a** [N1–Cu1–N1' = 180,00 (14) e Cl1–Cu1–Cl1' = 180,00] e **2b** [N1–Cu1–N1' = 180,00 (9) e Cl1–Cu1–Cl1' = 180,00] determinam a formação de uma geometria perfeitamente quadrática em torno do centro metálico de cobre (MASSOUD et al., 2018).

Tabela 9- Dados do cristal e refinamento da estrutura para o complexo **2c**.

Complexo	2c
Fórmula empírica	C ₄₄ H ₄₈ Cl ₄ Cu ₂ N ₈ Se ₄
Massa molar (g)	1273,62
Temperatura (K)	295(2)
Comprimento de onda (Å)	0,56086
Sistema do cristal	Monoclinico
Grupo espacial	P 21/c
Dimensões da unidade da célula	
A (Å)	6,4465(2)
B (Å)	18,3340(7)
C (Å)	21,3901(8)
α (°)	90
β (°)	104,1980(10)
γ (°)	90
Volume (Å ³)	96,9530(10)
Z	2
Densidade calculada (mg.m ³)	1,686
Coeficiente de absorção linear (mm ⁻¹)	2,113
F (000)	1260
Tamanho do cristal (mm ³)	0,311 x 0,079 x 0,064
Região de varredura angular θ (°)	2,512 – 23,665
Região de varredura dos índices	-8 ≤ h ≤ 8 -26 ≤ k ≤ 26 -30 ≤ l ≤ 30

Reflexões coletadas/independ	77408/7666 [R(int) = 0,1118]
. [R _(int)]	
Integralidade da medida (%)	99,8
Método de Refinamento	Full-matrix least-squares on F ²
Dados/ restrições /parâmetros	7666 / 0 / 292
Goodness-of-fit (GOF) em F ²	1,059
Índice R final [I>2σ(I)]	R ₁ = 0,0480, wR ₂ = 0,0870
Índices R (todos os dados)	R ₁ = 0,0977, wR ₂ = 0,1014
Maior diferença de pico e vale (e Å ⁻³)	0,648 e -0,636

O complexo **2c** cristaliza no sistema monoclinico com grupo espacial P21/c, e apresenta-se de forma dimérica no estado sólido com coordenação do átomo doador N do anel pirazólico frente ao átomo de Cu(II). A cela unitária apresentou uma única molécula. A coordenação de dois átomos de N_{pirazol}, dois átomos de Cl em ponte entre os centros metálicos e um átomo de cloro frente ao átomo de cada Cu(II) que determinam o número de coordenação cinco. A estrutura cristalina e molecular apresenta ângulos de ligação N(1)-Cu1-N(3) = 89,72(11); N(1)-Cu1-Cl2 = 167,71(9); N(3)-Cu1-Cl2 = 88,68(8); N(1)-Cu1-Cl(1) = 90,67(8); N(3)-Cu1-Cl1 = 178,74(9); Cl2-Cu1-Cl1 = 91,19(4) que determinam a formação de uma geometria piramidal quadrada ao redor do centro metálico.

As distâncias de ligação Cu-Cl [2,2743(9); 2,3112(9) Å] do composto **2c** é menor que a soma dos raios covalentes e estão de acordo com outros complexos de cobre-cloreto (GAMA et al., 2011). A ligação Cu-Cl = 2,8001(1) Å é superior a soma dos raios covalentes (2,31 Å), indicando a existência de interações fracas entre o cloreto e o centro de cobre (KESKIC et al., 2019). Os ângulos diagonais (°) a **2c** [N(1)-Cu1-N(3)= 89,72 (11) e Cl2-Cu1-Cl1 = 91,19 (4)] determinam a formação de uma geometria piramidal quadrada em torno do centro metálico de cobre.

Tabela 10- Principais ângulos das ligações da estrutura cristalina **2c**.

Ligações	Ângulos (°)
N(1)-Cu1-N(3)	89,72(11)
N(1)-Cu1-Cl2	167,71(9)
N(3)-Cu1-Cl2	88,68(8)
N(1)-Cu1-Cl(1)	90,67(8)
N(3)-Cu1-Cl1	178,74(9)
Cl2-Cu1-Cl1	91,19(4)

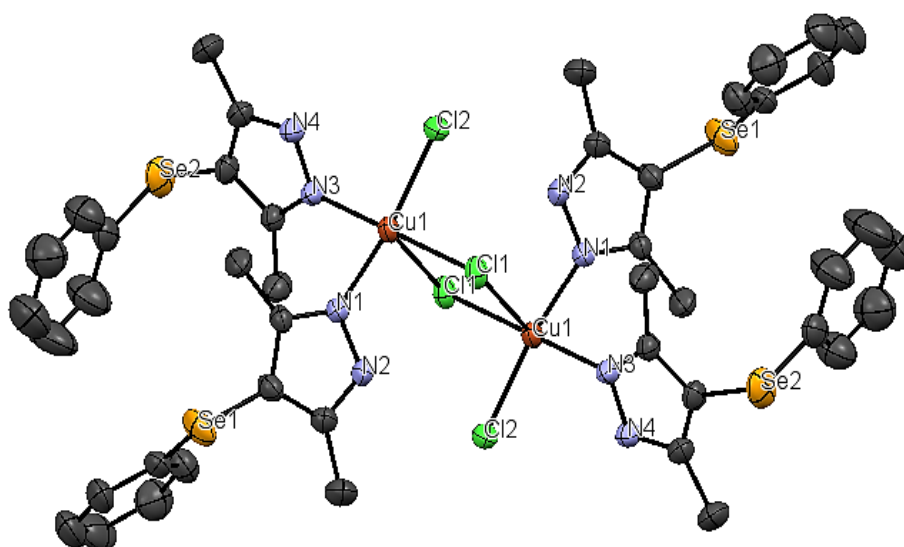


Figura 25- Estrutura cristalina e molecular do complexo **2c**. As elipsoides térmicas são representadas com 50% de nível de probabilidade. Distâncias (Å) de ligação selecionadas: Cu1-N1 = 2,019(3); Cu1-N(3) = 2,020(3); Cu1-Cl2 = 2,2743(9); Cu1-Cl1 = 2,3112(9) e 2,801(1).

5.7 Ensaios Biológicos

5.7.1 Avaliação da atividade antioxidante

Complexos de Cu(II) contendo ligantes pirazol, têm sido descritos por apresentarem atividade antioxidante significativa (KUPCEWICZ B. et al., 2013). Portanto, seguindo o propósito de identificar o perfil antioxidante dos pré-ligantes **1a**, **1b** e **1c** e seus respectivos complexos **2a**, **2b** e **2c**, o próximo passo

foi realizar testes baseados na estabilização de espécies radicais, DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) e ABTS⁺ (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) empregando soluções de diferentes concentrações. O ensaio DPPH e ABTS⁺ são amplamente utilizados na triagem de atividade antioxidante de compostos orgânicos e inorgânicos (Wolfenden e Wilson, 1982). Os complexos **2a** Cu[bis{3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1*H*-pirazol}Cl₂] e **2b** Cu[bis{3,5-dimetil-1-fenil-4-(fenilsufanil)-1*H*-pirazol}Cl₂] também foram avaliados quanto a inibição da formação de espécies reativas (ER) induzidas pela azida de sódio, utilizando diferentes concentrações das soluções dos complexos.

Na análise antioxidante do radical DPPH e ABTS⁺ a redução da concentração inicial é tida como evidência de suas capacidades antioxidantes. Os resultados obtidos na Tabela 11, foram calculados e apresentados como % de inibição, onde 100 % é o controle negativo (Veículo) e não apresenta atividade na eliminação do radical. As leituras das absorbâncias foram realizadas em 517 nm para ensaios DPPH e 734 nm para ABTS⁺. O ensaio de eliminação de radicais DPPH baseia-se na transferência de átomos de hidrogênio ou transferência de elétrons, seguida de transferência de prótons. No entanto, todos esses mecanismos levarão à formação do mesmo produto, o radical DPPH-H (Niki, 2010). Durante esse processo, se o DPPH for reduzido, isso causará uma mudança no estado de oxidação do composto e alteração da coloração de roxo para amarelo quando o radical for estabilizado.

O cátion radical ABTS⁺, que é um cromóforo verde-azulado, pode absorver a 734 nm e descorar após a reação, devido ocorrer a estabilização do ABTS⁺ por conta da doação de elétron/próton do complexo de cobre(II).

Os complexos de cobre(II) contendo ligantes monodentados (**2a** e **2b**), presentes na Tabela 11, podem reduzir a concentração do radical DPPH inicial em solução, com valores chegando a $94,3 \pm 1,1$ % para **2a** na concentração de 10 µM. O complexo **2b** na mesma concentração de 10 µM apresentou similar percentual de inibição, $87,3 \pm 9,8$ %. Ao analisar o perfil de inibição do radical DPPH para os dois complexos nas diferentes doses, o complexo **2a** na dose de 1 µM apresenta percentual de inibição de $25,8 \pm 5,3$ %, enquanto para **2b** o percentual é de $1,5 \pm 0,2$ %. Ambos os complexos não demonstraram perfil de

dose dependentes. O valor do IC₅₀ calculado é a concentração mínima necessária para obter 50% da atividade de eliminação. Portanto, o menor valor de IC₅₀ corresponde à maior atividade de eliminação. Os dados do % de inibição máxima (I_{max}) e IC₅₀ são mostrados na Tabela 11. Os complexos em baixa concentração (10 µM) apresentaram o I_{max} mais alto (94,3 ± 1,1% para **2a** e 87,3 ± 9,8 para **2b**) e menor IC₅₀ (4,0 µM para **2a** e 8,0 µM para **2b**). Desta forma, no ensaio de neutralização do radical DPPH o composto **2a** (contendo Se) apresenta maior potencial antioxidante comparado ao composto **2b** (contendo S).

A neutralização do radical ABTS⁺ é baseada em uma transferência eletrônica, ocorrendo a redução do cátion ABTS⁺ (Prior et al., 2005). Como apresentado na Tabela 11, o composto **2a** foi capaz de eliminar o radical ABTS⁺, apenas a maior concentração de 50 µM, resultando em um IC₅₀ de 37,7 µM (33,1 a 42,5 µM) e I_{max} de 62,9 ± 4,1%. O complexo **2b** não apresentou percentual de inibição nas concentrações testadas.

Tabela 11- Atividade Antioxidante *in vitro* do complexo de cobre(II) **2a** e **2b**.

Complexos	2a		2b	
	DPPH	ABTS ⁺	DPPH	ABTS ⁺
	[µM]	% controle	% controle	
Veículo	100	100	100	
0,1	98,3 ± 0,7	96,8 ± 1,0	98,2 ± 0,7	-
1	74,2 ± 5,3*	96,1 ± 1,2	98,5 ± 0,2	-
5	62,7 ± 11,5***	93,4 ± 2,0	98,6 ± 0,0	-
10	5,7 ± 1,1 ***	94,1 ± 0,8	12,7 ± 9,8**	-
50	9,0 ± 2,0***	37,1 ± 4,1***	10,8 ± 6,6**	-
I _{Max} (%)	94,3 ± 1,1	62,9 ± 4,1	89,2 ± 6,6	-
IC ₅₀ (µM)	4,0 (2,4 a 6,9)	37,7 (33,1 a 42,5)	8,0 (6,7 a 15,7)	-

Os dados são expressos como média ± erro padrão da média de três experimentos independentes realizados em duplicata. Os valores são apresentados como: porcentagem de % controle dos radicais DPPH e ABTS⁺ quando comparado a um grupo controle sem inibição de radicais (controle de 100%). O meio inibitório máximo concentração (IC₅₀) indica a

concentração de compostos necessária para inibir 50% do radical DPPH e ABTS⁺. A porcentagem de inibição máxima é representada por I_{max}. Os dados foram analisados por ANOVA de via, seguida pelo teste post hoc de Tukey (* p <0,05, ** p <0,01 e *** p <0,001).

Para o complexo **2c** as concentrações foram dobradas (2; 10; 20; 100 µM), afim de ajustar as doses utilizadas, devido em solução ter sido constatado que o composto possui estrutura monometálico. Portanto, o complexo **2c** pode reduzir a concentração do radical DPPH inicial em solução, com valores chegando a 97,0 ± 1,1 % na concentração de 100 µM. Ao analisar o perfil de inibição do radical DPPH nas diferentes doses, o complexo **2c** na dose de 2 µM apresenta percentual de inibição de 31,83 ± 1,3 %. O complexo demonstrou perfil de dose dependente. Os dados do % de inibição máxima (I_{max}) e IC₅₀ são mostrados na Tabela 12. O complexo na concentração (100 µM) apresenta o I_{max} mais alto 97,0 ± 1,1% e IC₅₀ de 3,7 µM. Desta forma, no ensaio de captura do radical DPPH o composto **2c** (contendo Se) apresenta potencial antioxidante. No ensaio ABTS⁺ o complexo **2c** não apresentou percentual de inibição nas concentrações testadas.

Tabela 12- Atividade Antioxidante *in vitro* do complexo de cobre(II) **2c**.

Complexos	2c	
	DPPH	ABTS ⁺
[µM]	% controle	
Veículo	100	
0,2	99,8 ±0,4	-
2	68,16 ±1,3***	-
10	10,9 ± 1,4***	-
20	4,5 ± 0,8***	-
100	3,0 ± 1,1***	-
I _{Max} (%)	97,0 ± 1,1	-
IC ₅₀ (µM)	3,7 (2,2 a 5,7)	-

Os dados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média de três experimentos independentes realizados em duplicado. Os valores são apresentados como: % controle dos radicais DPPH e ABTS⁺ quando comparado a um grupo controle sem inibição de radicais (controle de 100%).

Avaliamos o potencial antioxidante dos complexos, nos ensaios de captura dos radicais DPPH e ABTS⁺, comparado aos pré-ligantes. Os resultados de ensaios empregando os pré-ligantes **1a**, **1b** e **1c**, foram publicados por Oliveira et al. (OLIVEIRA et al., 2020) e são apresentados na Tabela 13. No ensaio de captura do radical DPPH, os pré-ligantes apresentaram $I_{\max}$ de $28,4 \pm 1,3$ % e $25,7 \pm 1,8$ % para **1a** e **1b**, respectivamente, em elevadas doses de 500 μ M. Assim sendo, não apresentaram valores de IC_{50} , uma vez que não inibiram 50% do radical sintético DPPH. O composto **1c** não apresentou atividade na inibição do radical DPPH nas doses testadas. De acordo com o ensaio de captura do radical ABTS⁺, também foi observada inabilidade antioxidante dos pré-ligantes nas condições testadas. Observa-se na Tabela 13, que o composto **1b** exibiu $I_{\max}$ de $37,7 \pm 2,4$ % na concentração de 500 μ M. Desta forma, a coordenação do ligante ao centro metálico, e ambiente de coordenação parece ser essencial nessa classe de compostos orgânicos para a atividade antioxidante. Ainda, a diferença na atividade antioxidante dos complexos **2a**, **2b** e **2c** pode ser devido as propriedades redox desses complexos de Cu(II).

Tabela 13- Atividade Antioxidante *in vitro* dos pré-ligantes **1a**, **1b** e **1c**.

	Compostos					
	1a		1b		1c	
	DPPH	ABTS ⁺	DPPH	ABTS ⁺	DPPH	ABTS ⁺
	% controle		% controle		% controle	
[μ M]						
Veículo	100	100	100	100	100	100
1	98,7 $\pm$ 0,5	-	98,7 $\pm$ 0,2	-	-	-
10	95,8 $\pm$ 1,0 ^b	-	96,9 $\pm$ 0,6 ^a	99,2 $\pm$ 0,5	-	-
50	91,2 $\pm$ 1,2 ^b	-	90,5 $\pm$ 0,6 ^b	94,4 $\pm$ 1,0 ^b	-	-
100	82,2 $\pm$ 1,3 ^b	-	88,4 $\pm$ 0,6 ^b	82,0 $\pm$ 2,1 ^c	-	-

500	71,6 ± 1,3 ^b	-	75,5 ± 2,1 ^b	62,3 ± 2,4 ^c	-	-
I _{Max} (%)	28,4 ± 1,3	-	25,7 ± 1,8	37,7 ± 2,4	-	-
IC ₅₀ (μM)	-	-	-	-	-	-

Os dados são expressos como média ± DP (n = 3) porcentagem de inibição em relação com as espécies controle. O I_{max} é a inibição máxima percentual. ANOVA unilateral seguida do teste de Newman – Keuls. Os dados são expressos como média ± DP (n = 3) da produção percentual de espécies reativas. O IC₅₀ indica a concentração necessária para inibir 50% da produção de espécies reativas. ANOVA unilateral seguida pelo Teste de Newman – Keuls(a P <0,05, b P <0,01, c P <0,001). (OLIVEIRA et al., 2020, p. 445).

Como os ligantes **1a** - **1c** não apresentam atividade nesses ensaios, esses resultados podem estar associados ao íon metálico central de Cu(II), que é reduzido a Cu(I) durante a transferência de um elétron para DPPH (MACHADO et al., 2020). Assim, a coordenação do ligante com o centro metálico e o ambiente de coordenação parece ser essencial nesta classe de compostos orgânicos para a atividade de eliminação. Geralmente, as propriedades redox dos complexos dependem de diversos fatores, como anel quelato, ligante axial, tamanho, grau de insaturação no anel quelato (MACHADO et al., 2020).

Avaliou-se a capacidade *ex vivo* dos complexos de Cu(II) na inibição da formação de espécies reativas (ER) induzida por azida de sódio no córtex pré-frontal (PFC) e hipocampo (HC) de camundongos. Os níveis basais de espécies reativas (ER) são produzidos fisiologicamente por diversos mecanismos, incluindo desaminação oxidativa de aminas biogênicas (aminoácido libera o seu grupo amina na forma de amônia), redução parcial de oxigênio (O₂) via cadeia de transporte de elétrons que corre na mitocôndria e dano oxidativo de biomoléculas como DNA, lipídios e proteínas, entre outros mecanismos, essa produção excessiva de espécies reativas provocado pelas atividades metabólicas pode ocasionar danos a toda estrutura celular (HALLIWELL et al., 2007).

O estresse oxidativo é precursor de muitas doenças crônicas e degenerativas, como diabetes, câncer, doenças cardiovasculares, envelhecimento precoce e neurológicas (MARSEGLIA et al. 2015). O cérebro

é altamente vulnerável ao estresse oxidativo, devido principalmente à sua alta taxa metabólica, além dos níveis baixos de defesas antioxidantes e altos níveis de conteúdo lipídico (MAES et al., 2011). Os efeitos degenerativos provocados por quantidades excessivas de espécies reativas (ER) têm sido associados a várias condições patológicas, incluindo depressão, doença de Alzheimer e doença de Parkinson (PATTEN et al., 2010).

Ambos os complexos **2a** e **2b**, a partir da concentração de 1 μM apresentam inibição do percentual de formação de ER no PFC e HP, com valores de percentual de formação de $84,5 \pm 27,3 \%$ e $82,6 \pm 6,0 \%$, respectivamente para **2a**; $88,0 \pm 21,5 \%$ e $86,8 \pm 6,1 \%$, respectivamente para **2b**. Na maior concentração de 50 μM os complexos apresentaram os menores percentuais de formação de ER no PFC e HP, bem como maiores valores de I_{Max} (percentual de inibição máxima). O complexo **2a** apresentou valores de I_{Max} de $86,1 \pm 1,0 \%$ no ER PFC e $82,0 \pm 0,7 \%$ no ER HP. Enquanto os valores de I_{Max} para o complexo **2b** ER PFC e HP foram $81,0 \pm 1,0 \%$ e $79,0 \pm 4,7 \%$, respectivamente.

Ambos os complexos demonstraram um perfil dose-dependente e nas duas maiores concentrações inibiram a formação de espécies reativas (ER) no PFC e HC [**2a**: IC_{50} de 5,3 μM (1,9 a 12,7 μM)] no PFC e [IC_{50} de 8,4 μM (5,0 a 14,5 μM)] no HC dos camundongos; [**2b**: IC_{50} de 7,2 μM (3,4 a 16,0 μM)] no PFC; e [IC_{50} de 10,5 μM (7,0 a 16,7 μM)] no HC de camundongos. Desta forma, os valores de IC_{50} (dose mínima necessária para inibir 50% das espécies reativas) foram similares para ambos os complexos, considerando o desvio padrão encontrado.

Os resultados obtidos no ensaio de inibição na formação de espécies reativas (ER) pelos complexos **2a** e **2b** são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14- Atividade Antioxidante *ex vivo* do complexo de cobre(II) **2a** e **2b**.

Compostos				
	2a		2b	
	ER PFC	ER HP	ER PFC	ER HP
[μM]	% de formação		% formação	
Veículo	100	100	100	100
0,1	-	-	-	-
0,5	-	-	-	-
1	84,5 $\pm$ 27,3	82,6 $\pm$ 6,0	88,0 $\pm$ 21,5	86,8 $\pm$ 6,1
5	48,7 $\pm$ 5,2	70,7 $\pm$ 9,2	53,4 $\pm$ 5,1	76,6 $\pm$ 7,8
10	36,4 $\pm$ 1,6*	39,0 $\pm$ 9,8**	44,4 $\pm$ 4,1*	42,9 $\pm$ 2,4**
50	13,9 $\pm$ 1,0**	18,3 $\pm$ 0,7***	19,0 $\pm$ 1,0*	21,0 $\pm$ 4,7**
I _{Max} (%)	86,1 $\pm$ 1,0	82,0 $\pm$ 0,7	81,0 $\pm$ 1,0	79,0 $\pm$ 4,7
IC ₅₀ (μM)	5,3 $\pm$ 1,9	8,4 $\pm$ 1,2	7,2 $\pm$ 0,4	10,5 $\pm$ 1,0

Os dados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média de três experimentos independentes realizados em duplicata. Os valores são apresentados como porcentagem de formação de ER quando comparado a um grupo sem inibição da RS (100% da formação da ER). O meio inibitório máximo concentração (IC₅₀) indica a concentração de compostos necessária para inibir 50% da formação de RS. A porcentagem de inibição máxima é representada por I_{max}. Os dados foram analisados por ANOVA, seguida pelo teste post hoc de Tukey (* p <0,05, ** p <0,01 e *** p <0,001).

Os resultados de ensaios empregando os pré-ligantes **1a** e **1b**, foram publicados por Oliveira et al., (2020) e são apresentados na Tabela 15.

Os pré-ligantes apresentaram I_{max} de 85,2 $\pm$ 14,6 e 96,6 $\pm$ 1,6 para **1a** e **1b**, respectivamente, em altas doses (500 μM) no ensaio de inibição da % formação das espécies reativas (ER) no córtice pré-frontal. Os valores de IC₅₀ foram, 27,3 $\pm$ 9,2 e 8,6 $\pm$ 0,5 μM para **1a** e **1b** respectivamente.

Tabela 15- Atividade Antioxidante *ex vivo* dos pré-ligantes **1a** e **1b**.

Compostos		
	1a	1b
	ER PFC	ER PFC
[μ M]	% formação	
Veículo	100	100
1	93,5 $\pm$ 1,1	97,9 $\pm$ 1,8
10	67,1 $\pm$ 2,8 ^b	45,3 $\pm$ 1,1 ^c
50	23,0 $\pm$ 7,2 ^c	9,1 $\pm$ 2,0 ^c
100	18,2 $\pm$ 7,0 ^c	4,5 $\pm$ 1,8 ^c
500	15,5 $\pm$ 8,2 ^c	3,7 $\pm$ 1,5 ^c
I _{Max} (%)	85,2 $\pm$ 14,6	96,26 $\pm$ 1,6
IC ₅₀ (μ M)	27,3 $\pm$ 9,2	8,6 $\pm$ 0,5

Os dados são expressos como média $\pm$ DP (n = 3) porcentagem de inibição em relação com as espécies controle. O I_{max} é a inibição máxima percentual. ANOVA unilateral seguida do teste de Newman – Keuls. Os dados são expressos como média $\pm$ DP (n = 3) da produção percentual de espécies reativas. O IC₅₀ indica a concentração necessária para inibir 50% da produção de espécies reativas. O I_{max} é a eliminação máxima oferecida pelo composto. As letras representam uma diferença significativa (a P <0,05, b P <0,01, c P <0,001) Fonte: OLIVEIRA et al., 2020.

Observou-se que a coordenação do ligante ao centro metálico de Cu(II) aumenta a atividade inibitória das espécies reativas (ER) no córtex pré-frontal nesta classe de compostos orgânicos. A concentração necessária para inibir 50% das espécies reativas foram menores para os complexos de Cu(II).

5.7.2 Avaliação da Citotoxicidade

Os estudos *in vitro* de citotoxicidade dos compostos são fundamentais para as fases iniciais de desenvolvimento de potenciais novos fármacos, uma vez que definem a concentração a ser utilizada em etapas posteriores de avaliação. Nesse contexto, auxiliam na determinação das doses que serão usadas *in vivo*. Análises recentes sugerem que o pirazol substituído e outros

heterocíclicos como o imidazol possuem atividade potencial com menores toxicidades na abordagem quimioterápica em humanos (ABHIMANYU et al., 2022).

Utilizando células de fibroblastos de pulmões de hamsters chineses (V79), foi determinada a porcentagem de viabilidade celular do pré-ligante **1a** e dos complexos **2a**, **2b** e **2c**. Foi utilizado o método vermelho neutro (VN), que envolve a captura de VN através de lisossomos de linhagens celulares saudáveis. As células foram tratadas em diferentes concentrações dos compostos (1, 10, 50 e 100 Mm para **2a** e **2b**); (2, 20, 100 e 200 Mm para **2c**), em um intervalo de 24 h, após foi lavado com PBS e adicionado a solução de VN em meio de cultura DMEM sem soro.

Os gráficos do percentual de viabilidade celular do ligante **1a** (A) e os complexos **2a** (B), **2b** (C) e **2c** (D) são apresentados na Figura 26, sendo que 100% de viabilidade celular corresponde ao controle negativo (células V79 + DMSO). Os compostos testados não apresentaram citotoxicidade nas células V79 em baixas concentrações. Em geral, não foi observado uma diminuição estatisticamente significativa na viabilidade celular em baixas concentrações, incluindo as doses em que os compostos apresentaram atividade antioxidante.

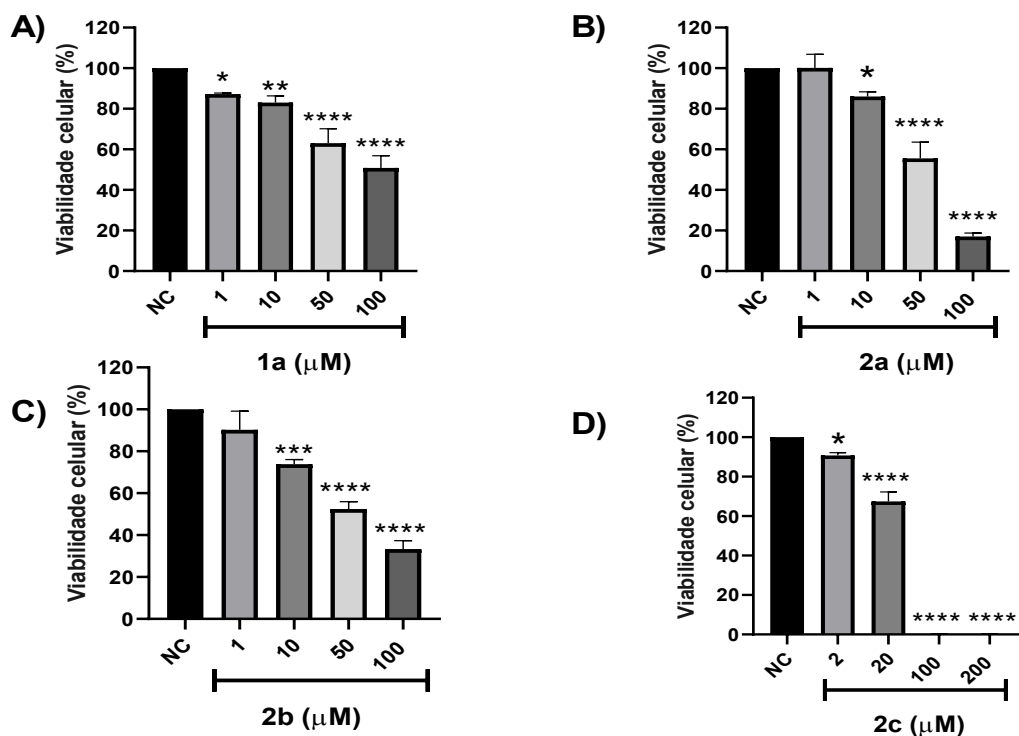


Figura 26- As células V79 foram tratadas com o ligante 1a (A) e os complexos 2a (B), 2b (C) e 2c (D) por 24 horas, e a sobrevivência das células foi avaliada através do ensaio Vermelho Neutro. NC representa o controle negativo. Os gráficos representam a média $\pm$ DP. A análise estatística foi realizada por ANOVA de uma via, seguida pelo teste de comparação múltipla de Dunnett e $p < 0,05$ foi considerado significativo. * $p = 0,0178$, ** $p = 0,0029$ (1a) e $0,0018$ (2c), *** $p = 0,0002$ e **** $p < 0,0001$ em relação à NC.

Os valores de IC_{50} ilustrados na Tabela 16, são referentes à concentração mínima necessária capaz de inibir 50% do crescimento celular. Considerando o pré-ligante **1a** e os complexos de Cu(II) nos ensaios realizados contra a linhagem V79, podemos inferir que o ligante **1a** e os complexos **2a** e **2b** apresentam leve toxicidade no método de incorporação do vermelho neutro com $IC_{50} = 63,6 \mu M$ (1a), $IC_{50} = 57,3 \mu M$ (2a) e $IC_{50} = 54,3 \mu M$ (2b). Por sua vez, o complexo **2c** exibiu moderado efeito de citotoxicidade com $IC_{50} = 41,1 \mu M$.

Tabela 16- Valores de IC_{50} para os complexos **2a**, **2b** e **2c**, e seus respectivos ligantes em células V79.

Compostos	$IC_{50} (\mu M)$
	V79
1a	63,6
2a	57,3
2b	54,3
2c	41,1

IC_{50} =concentração mínima necessária para inibir 50% do crescimento celular.

CAPITULO II- Complexos de Cu(II) contendo ligantes bidentados e tridentados naftalato-imina funcionalizados com grupos amina, éter, tio éter

6. Objetivos

6.1 Objetivos Gerais

Avaliação da atividade antioxidante dos pré-ligantes tridentados naftalato-imina e seus complexos de Cu(II) funcionalizados com grupos amina, éter e tio éter.

6.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a estabilidade dos complexos de Cu(II) em DMSO e PBS pelo método de espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível (UV-Vis).
- Determinar o comportamento redox dos complexos de Cu(II) utilizando o método de voltametria cíclica, com velocidade de varredura 100mV s^{-1} utilizando como eletrólito o LiClO_4 .
- Analisar a capacidade antioxidante dos compostos de Cu(II) contendo ligantes naftalato-imina, através do método antioxidante ABTS^+ e $\text{DPPH}^\bullet$ em diferentes tempos de 10-40 min.

7. Parte Experimental

7.1 Métodos, Materiais e Procedimentos Gerais

Os pré-ligantes e os seus respectivos complexos de Cu(II) foram sintetizados utilizando reagentes de grau analítico. 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfônico) (ABTS), DMSO (dimetilsulfoxido), obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Todos os outros reagentes foram de grau analítico, LiClO₄, ferroceno, trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico).

7.1.1 Classe II dos complexos de Cu(II) contendo ligante bidentado e tridentado naftalato-imina funcionalizados com grupos amina, éter e tioéter

Os pré-ligantes naftalato-imina (**1d - 1h**) apresentados na Figura 27, e os seus respectivos complexos de Cu(II) (**2d - 2h**) na Figura 28, utilizados neste trabalho foram previamente sintetizados e caracterizados pelo nosso grupo de pesquisa e apresentados na dissertação de Tamara Machado dos Santos em 2022.

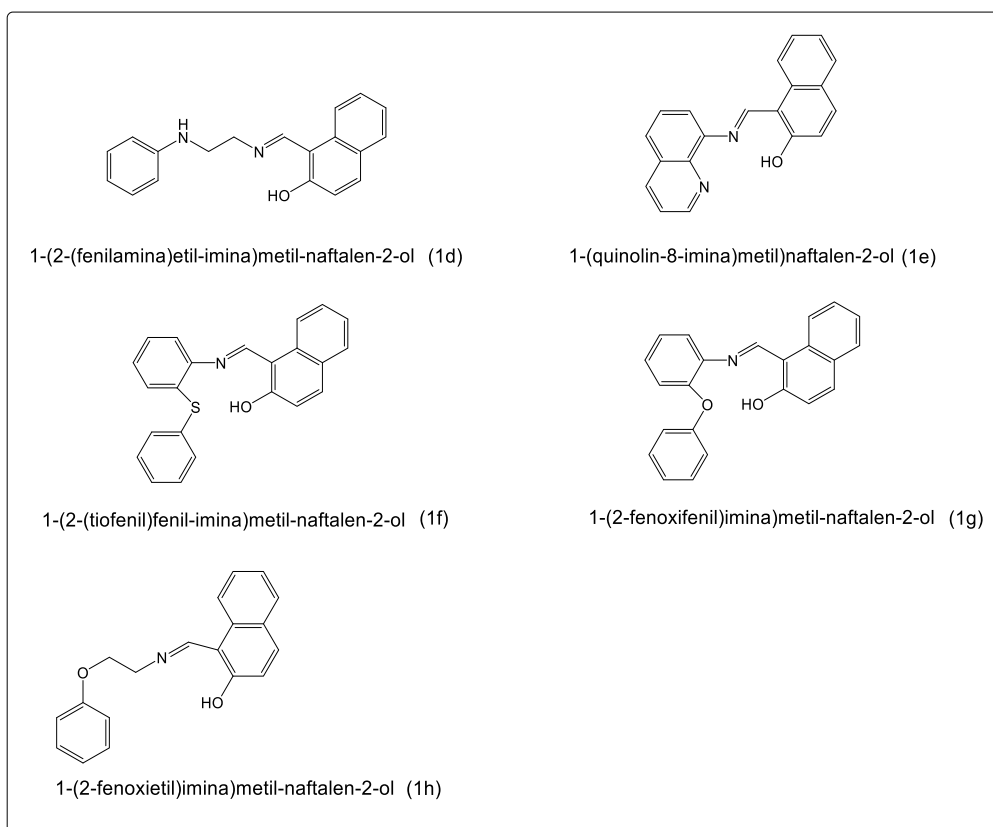


Figura 27- Ligantes bidentado e tridentados Imina-naftalato funcionalizados com grupos amina, éter e tioéter (1d – 1h).

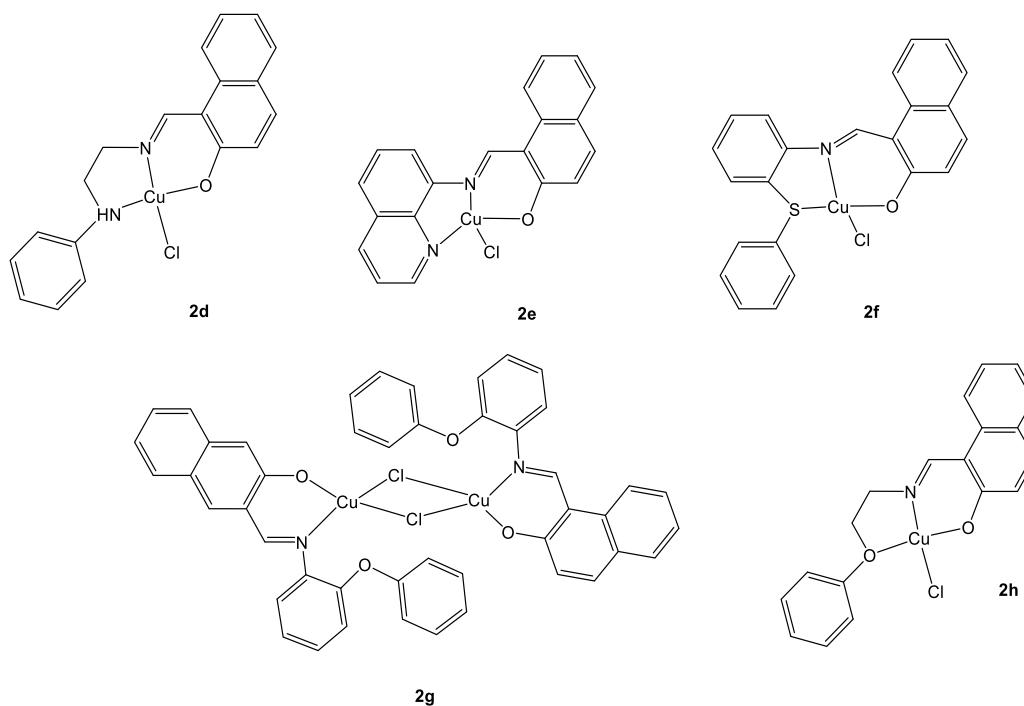


Figura 28- Complexos de Cu(II) contendo ligantes bidentado e tridentados Imina-naftalato funcionalizados com grupos amina, éter e tioéter (2d - 2h).

7.2 Métodos de Instrumentação

7.2.1 Voltametria Cíclica

As análises de voltametria cíclica foram medidas usando um Potenciostato/Galvanostato AUTOLAB PGSTAT 30/ FRA 2, à temperatura ambiente. Os experimentos foram realizados na Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS. Foi empregando um sistema padrão de três componentes: eletrodo planar de platina como eletrodo de trabalho, um eletrodo auxiliar de fio de platina, e um eletrodo de calomelano saturado (SCE) foi usado como o eletrodo de referência. O ferroceno $[\text{Fe}(\text{C}_5\text{H}_5)_2]$ foi usado como padrão presente no apêndice F. Todas as varreduras foram gravadas a 100 mVs^{-1} taxa de varredura em DMF contendo $1 \times 10^{-2} \text{ M}$ dos complexos e $0,1 \text{ M}$ LiClO_4 como eletrólito de suporte. Todos os potenciais são referenciados à referência SCE eletrodo.

7.2.2 Espectrofotômetro UV/Vis

A leitura da absorbância das análises antioxidantes foi realizada em um espectrofotômetro UV-Visível da marca shimadzu, na faixa de comprimento de onda de 190 a 1100nm. Os experimentos foram realizados na Universidade Federal de Pelotas – UFPel.

7.3 Ensaio da atividade antioxidante

A atividade antioxidante dos complexos (**2d-2h**) foi avaliada através de sua capacidade de eliminar os radicais sintéticos 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e 2,2'-azino-bis (ácido 3-tilbenztiazolina-6-sulfônico) (ABTS^+). Os compostos foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) para todas as análises em diferentes concentrações ($1 \mu\text{M}$, $5 \mu\text{M}$, $10 \mu\text{M}$, $20 \mu\text{M}$, $50 \mu\text{M}$, $100 \mu\text{M}$ e $200 \mu\text{M}$). Os ensaios foram realizados em três experimentos independentes feitos em triplicata e a absorbância foi medida em diferentes tempos (10-40 min). A

atividade antioxidante dos compostos é expressa em porcentagem de redução do radical DPPH• e do ABTS⁺ (RUFINO et al., 2007). O trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) foi utilizado como controle positivo.

7.3.1 Ensaio de atividade de eliminação do radical 2,2'-difeníl-1-picril-hidrazil (DPPH)

Para determinar a atividade de eliminação do radical DPPH, foram misturadas diferentes concentrações dos complexos **2d** - **2h**, com 1×10^{-5} mM de uma solução etanólica do radical DPPH por 10-40 min a temperatura ambiente no escuro. Uma diminuição na absorbância da solução roxa (a 517 nm) é um indicativo de atividade antioxidante dos compostos testados.

7.3.2 Ensaio de atividade de eliminação do cátion radical 2,2'-azino-bis (ácido 3-tilbenztiazolina-6-sulfônico) (ABTS⁺)

O cátion radical ABTS⁺ foi gerado a partir da oxidação do ABTS pelo reagente persulfato de potássio. Diferentes concentrações de complexos **2d** - **2h**, foram misturados com 10mM de uma solução etanólica do cátion radical. A mistura reacional foi incubada em temperatura ambiente por 10-40min no escuro. A absorbância resultante foi medida a 734 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição do radical ABTS⁺.

7.4 Análise estatística

7.4.1 Avaliação da atividade antioxidante

Os testes foram realizados em triplicata e os dados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média (MEV). Os dados foram analisados por análise unidirecional de variância (ANOVA) seguida pelo teste post hoc de Tukey. Diferenças foram consideradas estatisticamente significante quando $p < 0,05$. A metade da concentração inibitória máxima (IC₅₀) e os valores máximos de

inibição ($I_{\max}$) foram calculados usando o software GraphPad versão 8.0 (GraphPad Software, San Diego, CA), o qual também foi usada para executar a análise estatística.

8. Resultados e discussões

8.1 Avaliação da estabilidade dos complexos de Cu(II) em espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível

Foram obtidos espectros eletrônicos dos complexos de Cu(II) **2d** - **2h**, em diferentes tempos de análises, com o intuito de analisar a estabilidade desses compostos em DMSO e PBS. Os espectros dos complexos de Cu(II), são mostrados nas Figuras 29-38.

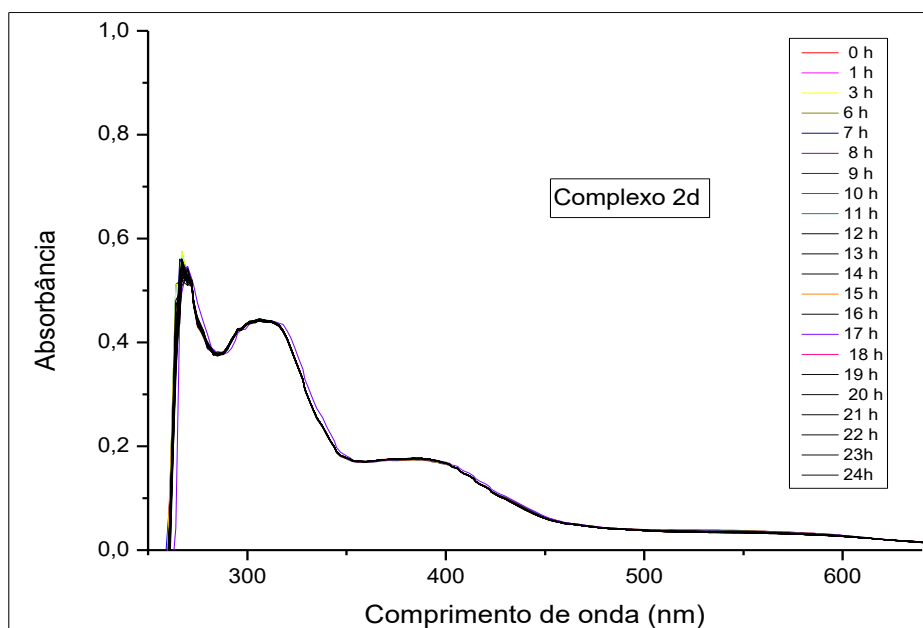


Figura 29- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o complexo **2d**, análise de estabilidade em DMSO em diferentes tempos

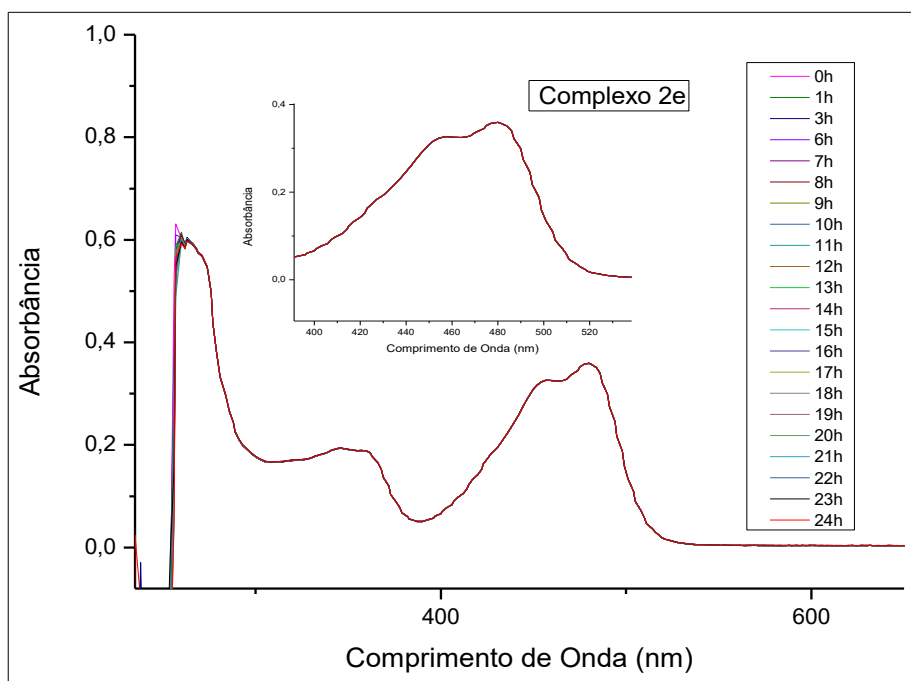


Figura 30- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o complexo **2e**, análise de estabilidade em DMSO em diferentes tempos.

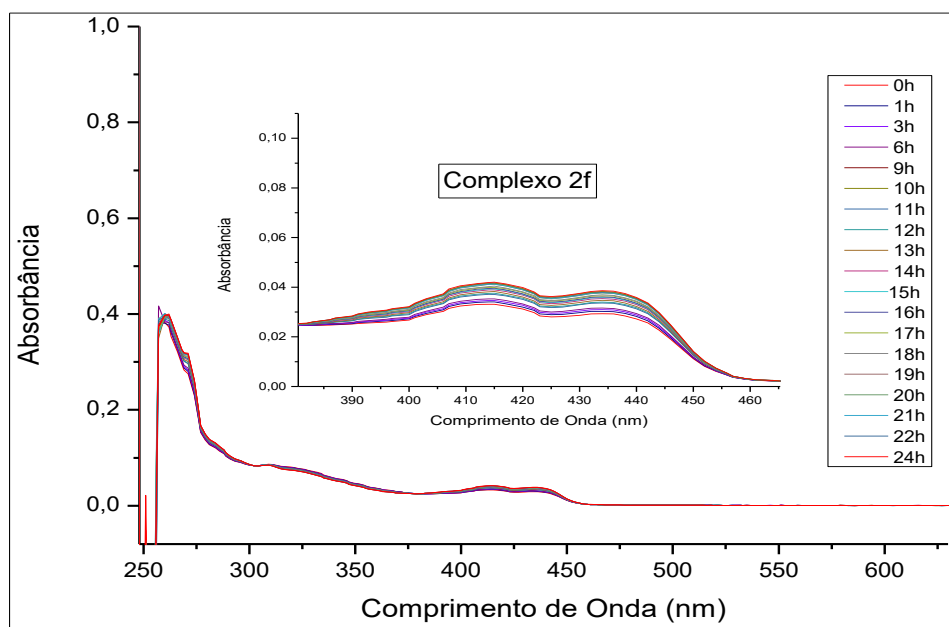


Figura 31- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o complexo **2f**, análise de estabilidade em DMSO em diferentes tempos

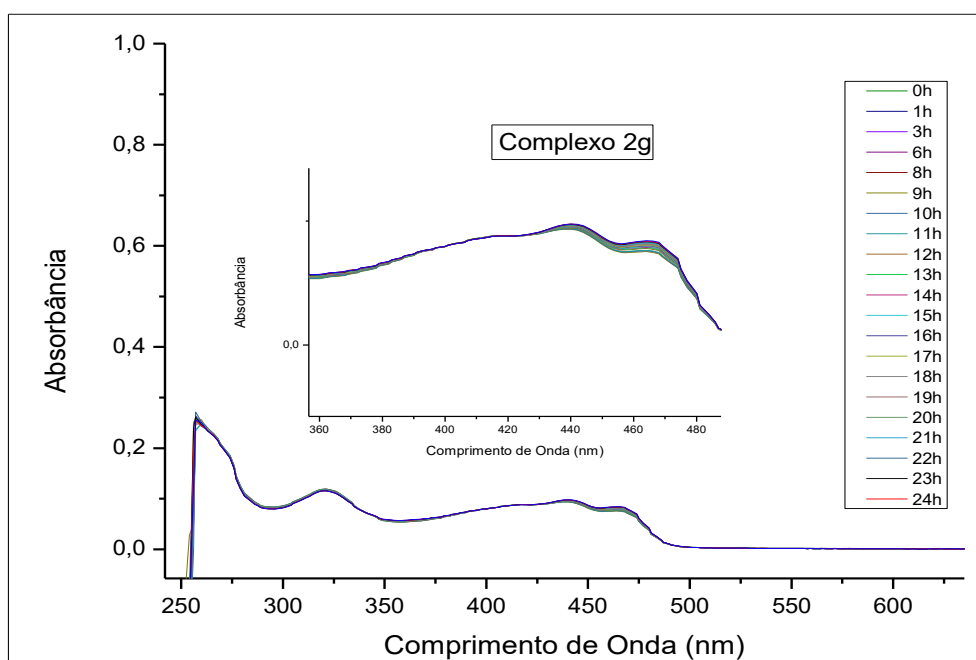


Figura 32- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o complexo **2g**, análise de estabilidade em DMSO em diferentes tempos.

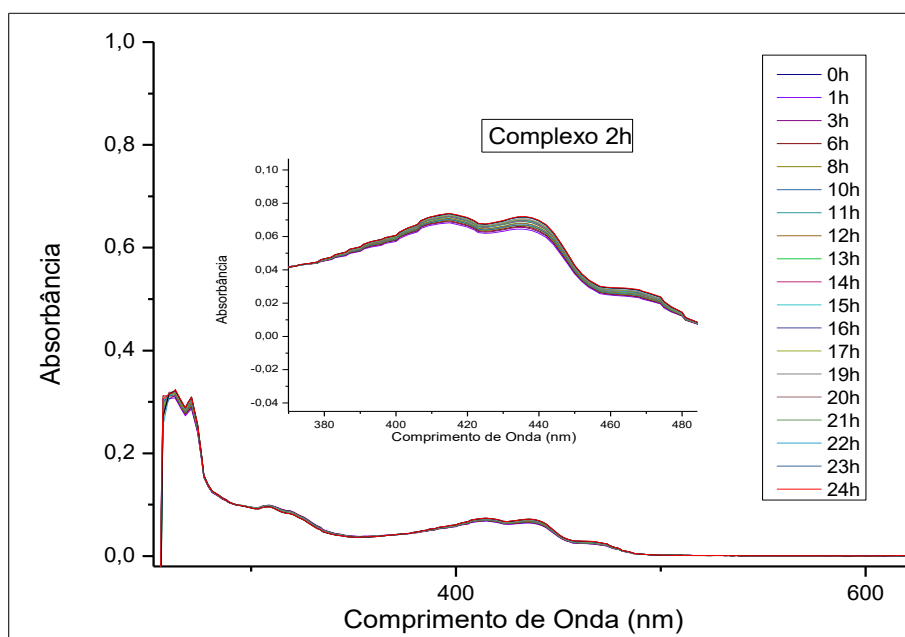


Figura 33- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o complexo **2h**, análise de estabilidade em DMSO em diferentes tempos.

As bandas que se referem as iminas CH=N aparecem no comprimento de onda entre 256-321 nm, devido a imina ser um grupo cromóforo, portanto, é o local da molécula que ocorre a maior absorção de luz. Esta banda nos complexos é verificada em comprimentos de ondas diferentes em virtude da presença do íon metálico, que desloca a banda imina (VOLLHARDT et al., 2011). As transições de transferência carga L→M se encontram na região de 401-482 nm e as transições d-d referente aos íons metálicos, visualizado somente no complexo **2d**, ocorrem na região de 543-669 nm mostrando os menores valores de ϵ (entre 5 e 695 L mol⁻¹ cm⁻¹), em virtude da baixa intensidade de absorção na faixa visível do espectro (VOLLHARDT et al., 2011).

Os complexos **2f**, **2g** e **2h** apresentam um leve efeito de hipocromicidade, ou seja, diminuição da absorbância a partir de 1 hora em solução, mas nenhum desvio batocrômico ou hipsocrômico foi detectado nos espectros. Já os complexos **2d** e **2e** apresentaram um perfil de absorbância constante, não havendo alteração do composto em solução de DMSO com o aumento de tempo. Este comportamento dos complexos de Cu(II) é atribuído à não modificação dos compostos originais em solução (LOVISON et al., 2022).

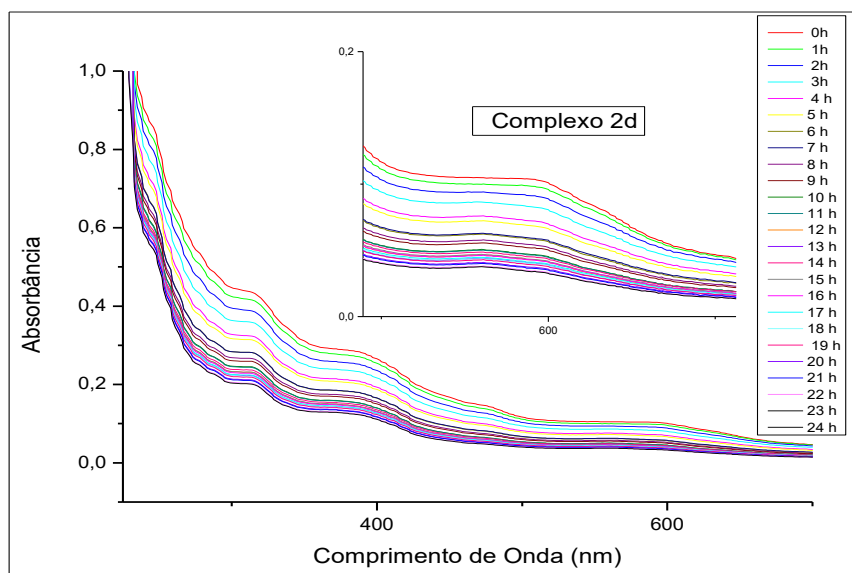


Figura 34- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o complexo **2d**, análise de estabilidade em PBS, em diferentes tempos.

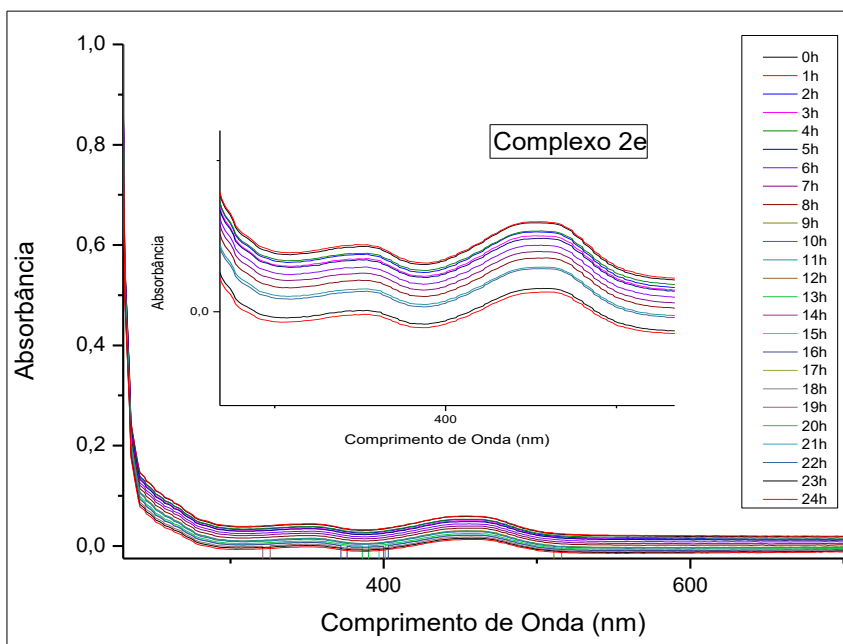


Figura 35- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o complexo **2e**, análise de estabilidade em PBS, em diferentes tempos.

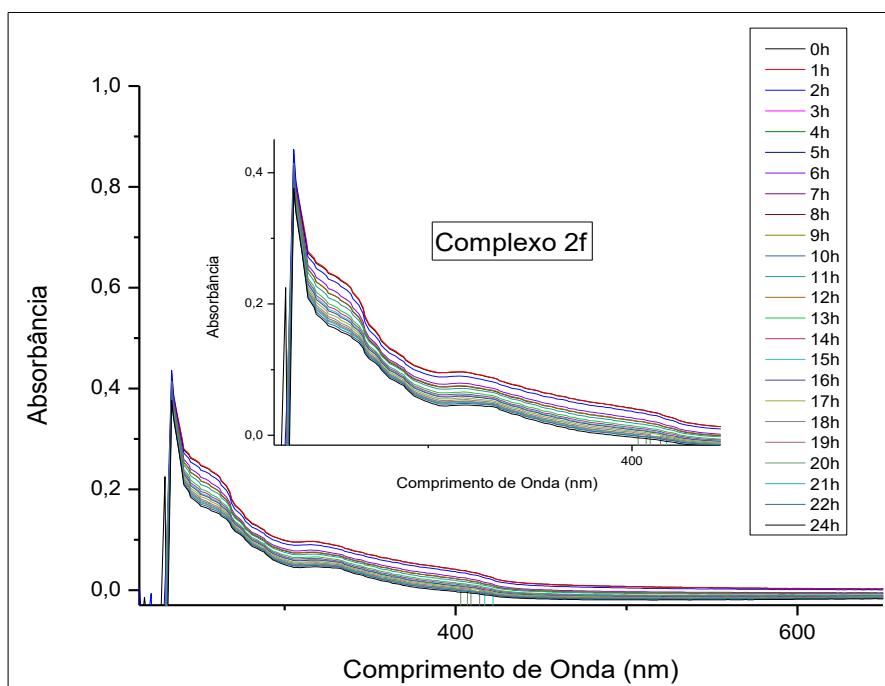


Figura 36- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o complexo **2f**, análise de estabilidade em PBS, em diferentes tempos.

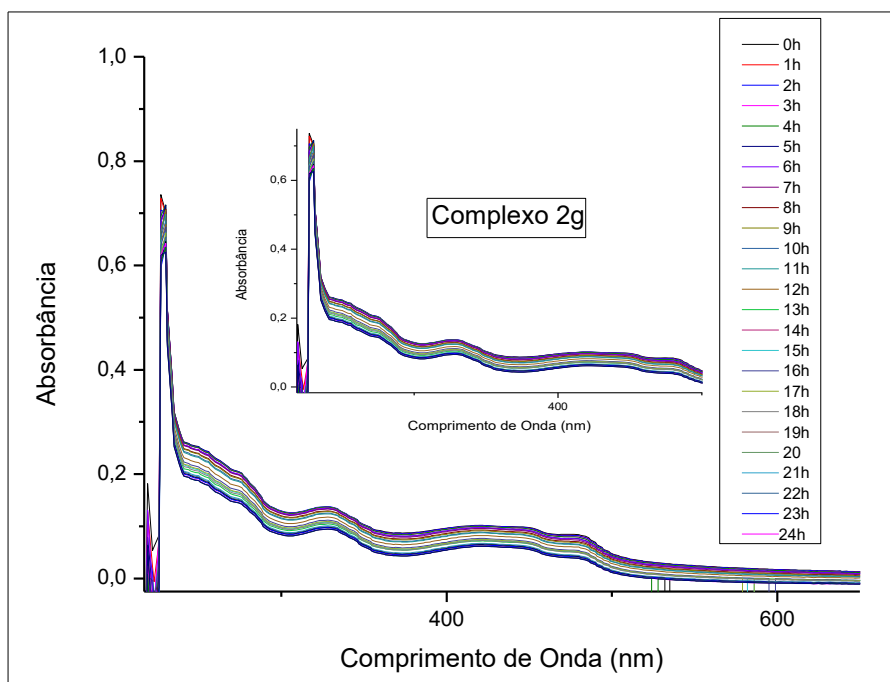


Figura 37- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o complexo **2g**, análise de estabilidade em PBS, em diferentes tempos.

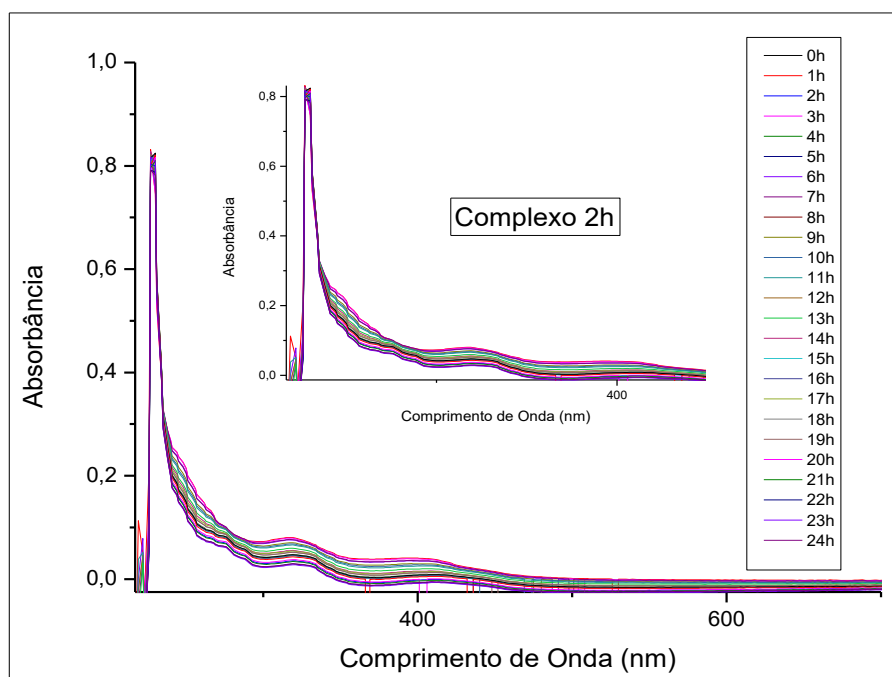


Figura 38- Espectros eletrônicos na região do UV-Vis para o complexo **2h**, análise de estabilidade em PBS, em diferentes tempos.

A estabilidade dos complexos de cobre(II) contendo bases de Schiff em

solução aquosa foi determinada a partir de seus espectros UV-visíveis. Soluções de complexos (**2d** - **2h**) na concentração de 1×10^{-5} em Tampão fosfato-salino (PBS) (pH = 7,4) foram incubados a temperatura ambiente por 24 h, e espectros UV-visíveis foram registrados em cada ponto de tempo. Os espectros de complexos de Cu(II) em PBS são demonstrados nas Figuras 34, 35, 36, 37 e 38. Uma banda intensa adicional em 254 - 280 nm é a transição entre ligantes ($\pi \rightarrow \pi^*$) centrada em uma base de Schiff coordenada. A absorção em cerca de 430 nm é atribuída a uma transição de transferência de carga ligante-metal ($L \rightarrow M$). As bandas na faixa de 320-370 nm, por analogia, foram atribuídas a uma transição $n \rightarrow \pi^*$ originada no $CH=N$ cromóforo, enquanto as bandas de energia mais baixas, em torno de 570-620 nm referente as transições d-d, visualizada somente no complexo **2d** (VOLLHARDT et al., 2011).

Os complexos **2d** – **2h** exibiram um leve efeito de hipocromicidade com o aumento do tempo em PBS, possivelmente como resultado da precipitação em solução salina. Quando comparados com os espectros em DMSO, nos comprimentos de onda em torno de 256-300 nm e 400 nm, os complexos **2f**, **2g** e **2h** sofrem um leve efeito hipsocrômico, onde os picos de absorção se deslocam para o comprimento de onda menor, devido a efeitos de substituição ou de solvente (DAMASCENO, 2014). Por ser uma solução polar o Tampão fosfato-salino (PBS) ocasiona um deslocamento para maiores energias (ou menores comprimentos de onda) com o aumento da polaridade, por fim esse deslocamento para o azul é caracterizado como solvatocromismo negativo (DAMASCENO, 2014) . Nenhum desvio batocrômico foi detectado nos espectros dos complexos.

8.2 Análise de voltametria cíclica

A voltametria cíclica é uma das técnicas mais utilizadas no âmbito eletroquímico, onde ocorre a investigação de processos eletródicos, por conta da capacidade de fornecer informações sobre a termodinâmica de processos redox, a cinética de reações heterogêneas de transferência de elétrons, além

da ocorrência de reações químicas acopladas a processos adsorptivos (ALCOLEA et al., 2016).

Estudos eletroquímicos dos ligantes **1d-1h** e dos complexos **2d-2h** foram realizados por voltametria cíclica. Os compostos foram dissolvidos em DMF à temperatura ambiente em uma solução $0,1 \text{ molL}^{-1}$ de LiClO_4 como eletrólito. Os potenciais foram medidos até 100 mV/s usando ferroceno como padrão interno ($E_{1/2} = 0,467 \text{ V}$). O ferroceno possui comportamento reversível ideal, apresentando notável reação de oxidação-redução, converte-se prontamente em seu produto de oxidação de um elétron, o íon ferroceno, um cátion radical de estabilidade eminente (Fc/Fc^+). A reação é reversível, e a transferência de elétrons inerente tem implicações para reações biológicas (BLESSING et al., 2017).

As espécies químicas em um par redox trocam elétrons rapidamente com o eletrodo de trabalho, sendo denominado de par eletroquimicamente reversível, e pode ser determinado através da diferença entre os potenciais anódico e catódico, ΔE_p :

$\Delta E_p = |E_{pa} - E_{pc}| = 0,059/n$ (1), onde n é o número de elétrons envolvido na semi-reação (para os complexos, $n = 1$). As correntes de picos anódico/catódico devem ter relação entre si de $E_{pa}/E_{pc} \approx 1$, para os processos reversíveis. Se o processo for irreversível os valores de ΔE_p costumam exceder os valores previstos pela equação (1) descrita acima (SKOOG et al., 2007). A análise de voltametria é importante devido a facilidade de quantificar a tendência desses compostos em doar e receber elétrons.

Conforme a Figura 39, quando o potencial inicial é varrido para regiões mais positivas do voltamograma cíclico, ocorre a oxidação da espécie eletroativa em solução, gerando um pico anódico de corrente proporcional à concentração do analito (HARRIS, 2001). Quando E_{final} é atingido, o potencial passa a ser varrido no sentido inverso, assim sendo, uma reação reversível. Tal reação é rápida para manter as concentrações de equilíbrio dos reagentes e produtos na superfície do eletrodo. Os produtos que foram produzidos no sentido de varredura direta são reduzidos na varredura inversa, gerando um pico catódico simétrico ao pico anódico (SILVA et al., 2006).

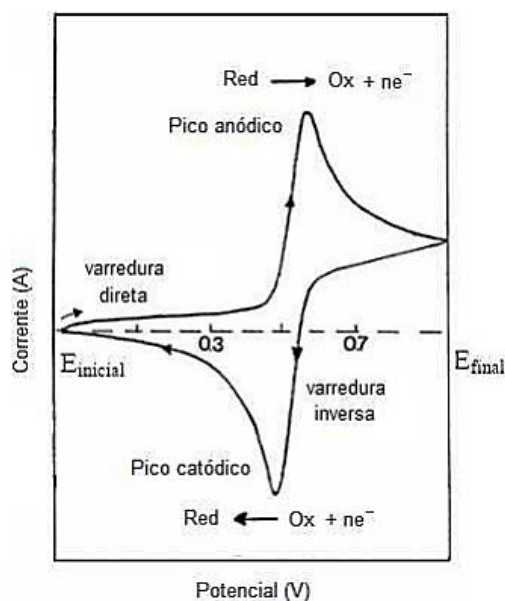


Figura 39- Voltamograma obtido por voltametria cíclica, onde Ox representa a espécie oxidada, Red representa a espécie reduzida, e “ne” o número de elétrons envolvidos.

Fonte. (SOUZA et al., 2011)

Nos sistemas quasi-reversíveis uma característica comum que pode ser observada é a crescente separação entre os picos E_{pa} e E_{pc} (ALCOLEA et al., 2016). A Figura 40 apresenta um voltamograma cíclico para um sistema quase-reversível comparado com um voltamograma cíclico de um sistema reversível.

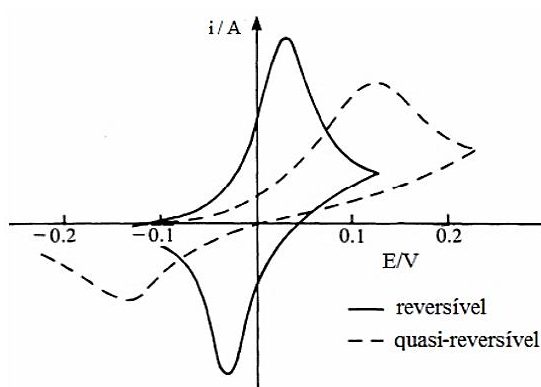


Figura 40- Voltamogramas cíclicos de um sistema reversível (—) e quasi-reversível (--)

Fonte. (SOUZA, 2011).

A análise do comportamento redox dos pré-ligantes **1d** - **1h** e seus respectivos complexos **2d** - **2h** foi estudada. Os espectros apresentados na

Figura 41, são voltamogramas cíclicos dos pré-ligantes e seus respectivos complexos de Cu(II) representados na Figura 42, onde estão presentes os picos anódicos e catódicos obtidos da voltametria cíclica.

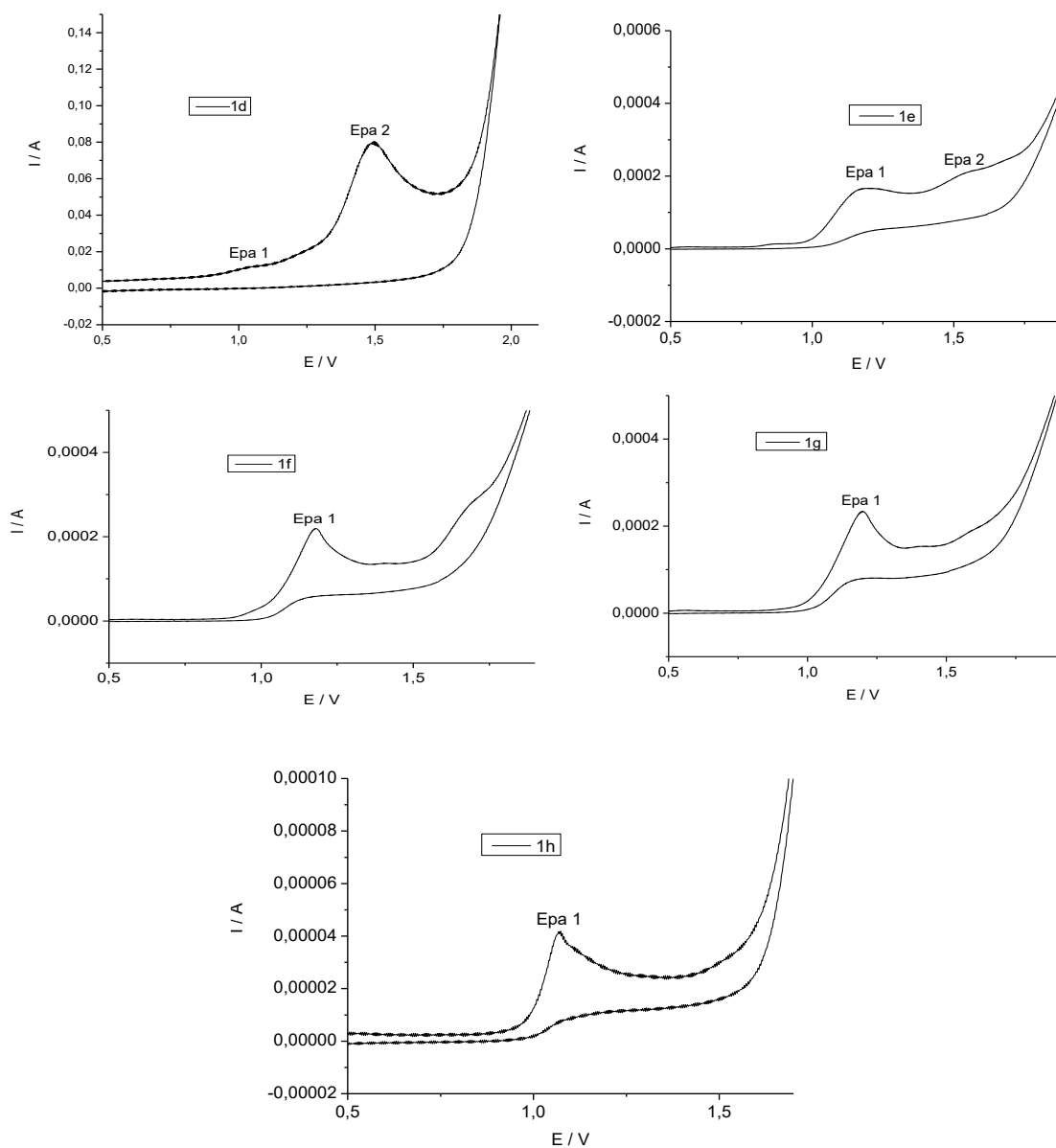


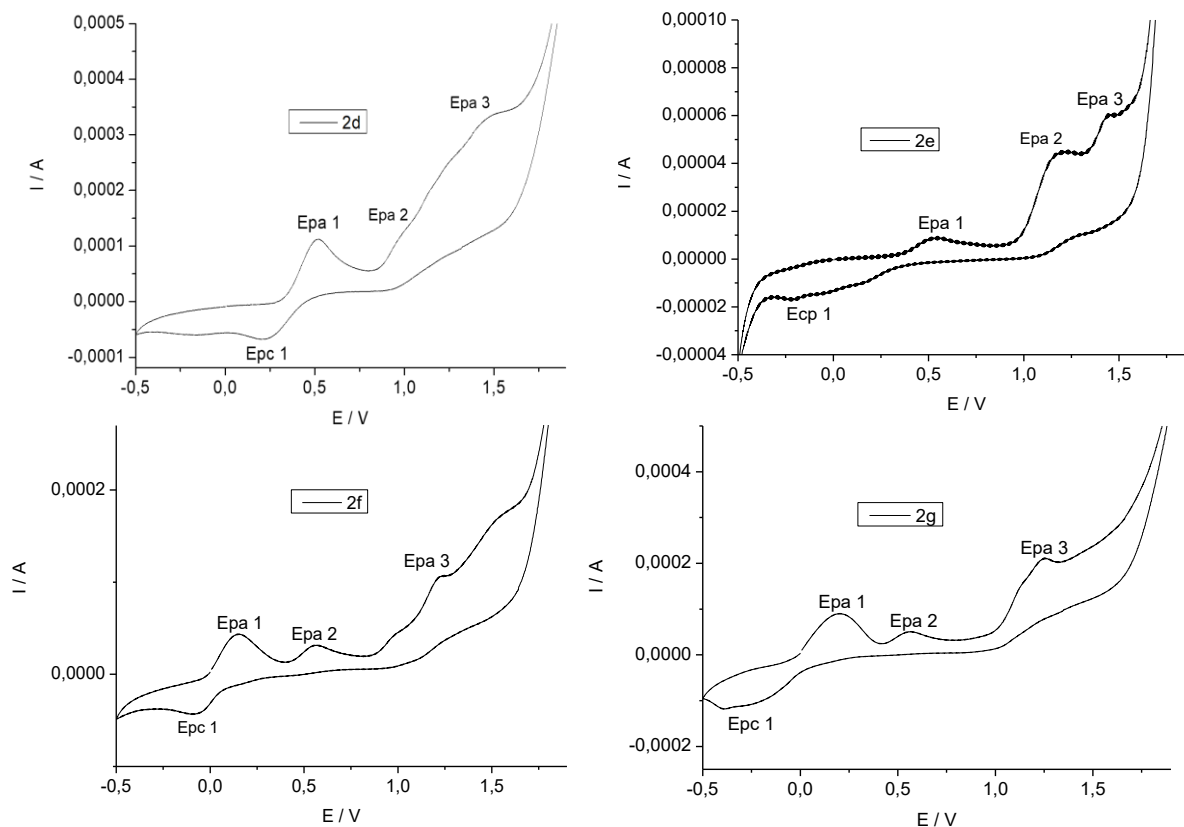
Figura 41- Voltamograma cíclico dos pré-ligantes **1d-h**, em DMF, LiClO_4 ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) e ferroceno (Fc^+/Fc) como padrão interno. Velocidade de varredura 100 mV.s^{-1} .

As análises de voltamogramas cíclicos dos pré-ligantes (**1d - 1h**) estão registradas na Figura 41. Os ligantes apresentam apenas o pico anódico (E_{pa}), $1,04$; $1,48 \text{ V}$ (**1d**), $1,18$; $1,54 \text{ V}$ (**1e**), $1,17 \text{ V}$ (**1f**), $1,19 \text{ V}$ (**1g**) e $1,06 \text{ V}$ (**1h**). Os

resultados indicam que sofrem oxidação irreversível, não apresentando o pico catódico referente a redução do composto (ULUSOY et al., 2008). As bases de Schiff investigadas tem como característica comum o pico irreversível (anódico), correspondente ao potencial de oxidação do grupo imino que é responsável pela reação redox das bases de Schiff (KIANFAR et al., 2010).

Tal processo envolveria reações de autoprotonação onde os grupos hidroxila fenólicos atuam como doadores de prótons. Isso está de acordo com os resultados de FRY A. et al (1969). Demonstrando a presença de apenas um pico anódico em valor potencial na faixa de +1,40 - 1,52 V; nenhuma onda catódica ocorre na varredura reversa. Assim, o processo de oxidação deve corresponder a um processo totalmente de transferência irreversível de elétrons (ULUSOY et al., 2008).

O valor do potencial anódico varia dependendo dos substituintes presentes no composto, e de acordo com as interações intramoleculares do grupo imina. Essas interações mudam dependendo do efeito eletrônico dos substituintes que estão presentes (efeito indutivo e interação π -elétron) (KIANFAR et al., 2010).



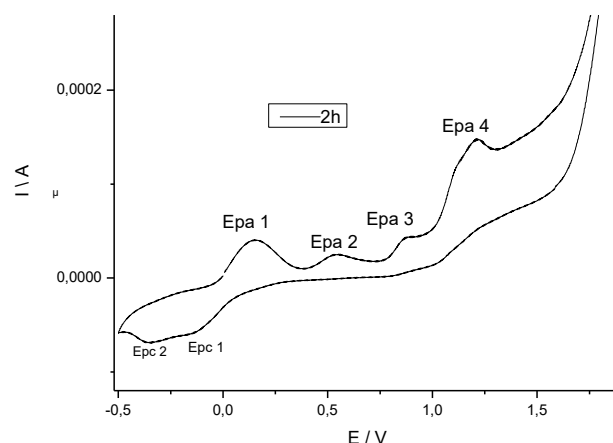


Figura 42- Voltamograma cíclico dos complexos **2d - 2h**, em DMF, LiClO₄ (0,1 mol.L⁻¹) e ferroceno (Fc⁺ /Fc) como padrão interno. Velocidade de varredura 100 mV.s⁻¹.

Os voltamogramas cíclicos (CV's) apresentados na Figura 42 para os complexos, implicam que ambos os centros de Cu(II) de **2d - 2h** simultaneamente trocam elétrons com o eletrodo (SAGHATFOROUSH et al., 2019). O potencial redox do complexo de cobre(II) pode ser relacionado com a estrutura do ligante de várias maneiras. Por exemplo, a potência redutora aumenta com o número de N-átomos doadores: ligante bidentado < ligante tridentado < ligante tripodal (WILOCH et al., 2013). Segundo Kupcewicz et al., (2013) um potencial redox adequado de Cu(II)/Cu(I) para uma atividade antioxidante eficaz deve ser necessário um potencial entre -0.405 V e +0.645 V (KUPCEWICZ et al., 2013).

Os CV's para solução de complexo dinuclear **2g** exibem três ondas anódicas em valores de E_{pa} 0,20, 0,55 e 1,25 V vs SCE, sendo os picos E_{pa} 1 a oxidação do centro metálico de Cu(II) e os picos E_{pa} 2 e E_{pa} 3 correspondentes a oxidação do ligante. Os complexos mononucleares **2d**, **2e**, **2f** e **2h** apresentaram pico anódico E_{pa}= 0,51, 0,97, 1,49 V vs SCE (**2d**); 0,53, 1,19 e 1,43 V vs SCE (**2e**); 0,16, 0,56 e 1,22 V vs SCE (**2f**); 0,13, 0,54, 0,86 e 1,20 V vs SCE (**2h**); O pico E_{pa} 1 é atribuído à oxidação do metal central de Cu(I)/Cu(II). Já os picos E_{pa} 2 e E_{pa} 3 são observados quase no mesmo valor potencial que o pico dos ligantes correspondentes, e pode ser atribuído à oxidação

irreversível das moléculas do ligante quando coordenadas ao centro Cu(II) (MACHADO et al., 2020). A nitidez do pico de oxidação do cobre é devido à estabilidade de Cu(II) no solvente aplicado.

O pico catódico E_{pc} 1 presente nos complexos **2d** - **2h** surge à medida que o potencial aplicado é diminuído, correspondendo ao processo catódico, atribuídas à redução Cu(II)→Cu(I) (SAGHATFOROUSH et al., 2019).

Todos os complexos **2d** - **2h** exibem respostas redox quase reversíveis, que pode ser atribuída à transferência de um elétron (PEREIRA et al., 2018). Os picos de oxidação referentes aos ligantes, presentes nos voltamogramas dos complexos exibem deslocamentos de acordo com o composto analisado, e contribuem na caracterização destes complexos. A análise de voltametria cíclica gera informações importantes para os complexos, devido ao centro metálico sofrer influência da densidade eletrônica pertencente aos ligantes complexados. A reversibilidade e a magnitude do par redox Cu(II)/Cu(I) é um reflexo da habilidade dos complexos sustentar diferentes geometrias de coordenação (MACHADO et al., 2020).

O ΔE_p representa a diferença entre as correntes de pico catódica e anódica correspondente ao processo de transferência de um elétron. Os resultados obtidos da variação de potencial entre o pico anódico e catódico (ΔE_p), determina a facilidade de troca de elétrons entre o composto e o eletrodo, portanto, quanto menor a diferença de potencial, mais rápida e fácil será a transferência de elétrons. Os compostos apresentam ΔE_p em 253 mV (**2d**); 775 mV (**2e**); 229 mV (**2f**); 590 mV (**2g**); 246 mV (**2h**) e 180 mV (**Fe**). Com isso, a ordem de compostos que apresentam maior potencial redox na forma crescente de Fe>2f>2h>2d>2g>2e. Os valores do potencial redox dos complexos de Cu(II) são representados na Tabela 17.

Tabela 17- Potenciais redox para os complexos **2d** - **2h**. Velocidades de varredura de 100 mV.s⁻¹.

Complexos	E_{pc}/V	E_{pa}/V	E_{1/2}/V	ΔE_p/mV
2d^a	0,257	0,51	0,36	253
2d^b		0,97		
2d^c		1,49		
2e^a	-0,215	0,54	0,16	755
2e^b		1,19		
2e^c		1,43		
2f^a	-0,069	0,16	0,05	229
2f^b		0,56		
2f^c		1,22		
2g^a	-0,390	0,20	-0,10	590
2g^b		0,55		
2g^c		1,25		
2h^a	-0,116	0,13	0,01	246
2h^b		0,54		
2h^c		0,86		
2h^d		1,20		
1d^a	-	1,04	-	-
1d^b		1,48		
1e^a	-	1,18	-	-
1e^b		154		
1f	-	1,17	-	-
1g	-	1,19	-	-
1h	-	1,06	-	-
Ferroceno	0,377	0,557	0,467	180

a) Refere-se ao 1º pico de oxidação do complexo. b) Refere-se ao 2º pico de oxidação do complexo. c) Refere-se ao 3º pico de oxidação do complexo. d) Refere-se ao 4º pico de oxidação do complexo. $\Delta E_p = E_{pa} - E_{pc}$; $E_{1/2} = (E_{pc} + E_{pa})/2$

O conhecimento eletroquímico das bases de Schiff como ligantes livre é de extrema importância, para atribuir adequadamente os processos de transferência de elétrons de complexos de cobre(II) correspondentes. Nos voltamogramas dos complexos de cobre (II) investigado **2d** - **2h** foram detectados vários picos característicos. Sendo resultado dos seguintes processos redox: redução do Cu(II) /Cu(I) (quase reversível), redução irreversível do grupo imina e a oxidação de o grupo imina (KIANFAR et al., 2010).

8.3 Análise da atividade antioxidante em diferentes tempos pelo método DPPH[•] e ABTS^{•+}.

Ligantes bases de Schiff e seus complexos metálicos são amplamente explorados como potentes compostos antioxidantes, devido a sua capacidade de proteger sistemas e células vivas de danos causados por estresse oxidativo ou radicais livres (EMAM et al., 2019). Estudos revelam que a natureza dos grupos funcionais é crucial para atividade biológica desses compostos.

Complexos de Cu(II) contendo bases de Schiff podem ser modificados pela introdução de diferentes substituintes proporcionando compostos muito versáteis para investigação de diferentes processos químicos e seus efeitos (YADAV et al., 2021). Tais complexos são geralmente doadores de hidrogênio/prótons ou doadores de elétrons para o sítio reativo na neutralização de radicais livres (DEVI et al., 2019).

A atividade antioxidante dos pré-ligantes **1d** - **1h** e seus respectivos complexos **2d** - **1h** foram avaliadas através de sua capacidade de eliminar os radicais sintéticos 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) e 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico (ABTS^{•+}), utilizando soluções com diferentes concentrações (1; 5; 10; 20, 50, 100 e 200 µM). Os ensaios antioxidantes para essa classe de compostos imina-naftalato foram realizados em diferentes tempos (10-40 min). Com base nos resultados apresentados no (Apêndice H), determinou - se que o melhor tempo de atividade no experimento ABTS^{•+} para os complexos **2d** e **2e** nas concentrações de 1, 5, 10 e 20 µM ocorreu em 40

minutos, período durante o qual altos percentuais de eliminação de radicais foram obtidos. No entanto, para as concentrações de 50, 100 e 200 μM , o melhor tempo encontrado foi em 10 minutos, pois os compostos se tornam mais pró-oxidantes à medida que o tempo em solução aumenta. Para os complexos **2f**, **2g** e **2h** o melhor tempo em solução na presença do radical foi em 40 min em todas as concentrações, devido ter obtido maior percentual de inibição. No ensaio de eliminação do radical DPPH o melhor tempo em solução foi 40 min para todos os complexos **2d** – **2h**, obtendo maior percentual de eliminação.

Utilizou-se o trolox como controle positivo, sendo está uma substância derivada da vitamina E que possui alto potencial antioxidante. A redução da absorbância inicial do radical DPPH e ABTS^+ é tida como evidência de suas capacidades antioxidantes (PÉREZ-JIMÉNEZ J et al., 2006). Os resultados dos ligantes **1d** - **1h** na Tabela 18, e seus respectivos complexos de Cu(II) **2d** - **2h** presentes nas Tabelas 19 e 20 foram calculados e apresentados como % de controle e medidos nas absorbâncias de 517 nm para ensaios DPPH e 734 nm para o ABTS^+ .

O radical DPPH $\cdot$, pode aceitar um elétron ou um hidrogênio de agentes antioxidantes para se tornar uma molécula estável. O ensaio é caracterizado pela modificação de sua cor de roxo escuro para amarelo, durante esse processo, se o DPPH for reduzido, isso causará uma mudança no estado de oxidação do composto (NIKI et al., 2010). A redução da concentração inicial do radical ABTS^+ para ABTS é tida como evidência de suas capacidades antioxidantes, havendo alterações na coloração do meio reacional de verde para incolor, demonstrando que ocorreu a estabilização do radical ABTS^+ , ou seja, a doação de um elétron ou próton do composto para o radical.

Segundo a literatura, o mecanismo pelo qual os ligantes da base de Schiff se comportam como antioxidantes envolve a transferência do átomo de hidrogênio do grupo imina ($\text{HC}=\text{N}$) para o radical ABTS^+ e DPPH (KATARZYNA et al., 2016). Pearson apresenta uma alta correlação das bases de Schiff com o momento dipolar, energia de dissociação da ligação e carga nos átomos de oxigênio e hidrogênio. Isso enfraquece a ligação $\text{HC}=\text{N}$ e o átomo de H é liberado mais facilmente (NAJAT et al., 2013).

Os efeitos dos substituintes modificam as propriedades de ligação de hidrogênio intramolecular e, portanto, afetam diretamente a atividade antioxidante dos compostos. Grupos doadores de elétrons (metil) fortalecem a ligação HC=N de modo que o átomo de H não seja facilmente transferido para o radical DPPH (o átomo de hidrogênio é menos ácido) (KATARZYNA et al., 2016).

No ensaio de eliminação do radical sintético DPPH os pré-ligantes **1d** - **1h** não apresentaram atividade antioxidante relevante, os resultados se encontram no (Apêndice G).

Na captura do cátion radical ABTS⁺, os pré-ligantes e complexos apresentaram atividade antioxidante. Os resultados de ensaios em radical ABTS⁺ empregando os pré-ligantes **1d** - **1h** são apresentados na Tabela 18. Na dose de 20 µM os ligantes **1d** e **1h** eliminaram o radical ABTS⁺ com percentuais chegando a 57± 0,9 % e 51,2± 0,9%, respectivamente. Já os demais ligantes **1f** e **1g** na mesma concentração apresentaram percentuais de 37,1± 0,4% e 27,7± 1,5%, respectivamente. Demonstrando que os ligantes com as classes de iminas **1d** (N-feniletilenodiamina) e **1h** (2-fenoxietilamina), apresentaram melhores percentuais de eliminação em doses baixas, que os ligantes com as classes de iminas **1f** (2- feniltioanilina) e **1g** (2-fenoxianilina). Com valores de I_{max} chegando a 97,9 ± 0,1 % (**1d**), 95,6 ± 1,5 % (**1f**), 93,2 ± 1,2 % (**1g**) e 86,7 ± 0,1 % (**1h**) na concentração de 100 µM. Mostraram ser dose-dependentes com o aumento das concentrações.

Os valores de IC₅₀ (concentração suficiente para obter 50% da atividade de eliminação máxima) foram calculados. Ao comparar as estruturas semelhantes contendo as classes de aminas **1h** (2-fenoxietilamina) e **1d** (N-feniletilenodiamina) os valores de IC₅₀ e I_{max} foram similares (14,31 ± 0,2 µM; 86,7 ± 0,1 %) e (17, 4 ± 0,9 µM; 97,9 ± 0,1 %), respectivamente. Há uma pequena diferença na dose mínima que inibiu 50% das espécies reativas. Já os pré-ligantes contendo as classes de amina **1f** (2- feniltioanilina) e **1g** (2-fenoxianilina), apresentaram IC₅₀ e I_{max} de (24,7 ± 0,9 µM; 95,6 ± 0,9 %) e (26,8 ± 0,6µM; ± 93,2 ± 1,2), respectivamente, indicando que o sulfeto de difenila auxilia no aumento da atividade antioxidante nessas classes de iminas. No

geral o pré-ligante **1d** contendo a classe de amina N-feniletilenodiamina em sua estrutura apresentou melhores resultados quando comparado com os demais ligantes, apresentando IC₅₀ de 17,4 ± 0,9 µM e I_{max} de 97,9 ± 0,1 % similar ao controle positivo trolox, que apresentou IC₅₀ de 10,8 ± 0,2 µM e I_{max} de 100 ± 0 %.

Tabela 18- Resultados do ensaio de inibição do radical ABTS⁺ dos ligantes de Naftol-imina.

Ligantes Naftol-Imina						
	Trolox	1d	1e	1f	1g	1h
Veículo	100± 0	100± 0	100± 0	100± 0	100± 0	100± 0,3
1 µM	68,4± 0,4**	100 ± 1,3	-	100± 1,6	100± 0,7***	93,4± 1,6
5 µM	65,6± 1,7**	96,4± 0,6	-	93,1± 1,2	96,2± 0,2***	83,4± 1,2**
10 µM	55,8± 0,3**	77,6± 0,5***	-	85,8± 0,8***	87,8± 0,4****	71,3± 0,8***
20 µM	23,1± 0,7***	43,0± 0,9****	-	62,9± 0,4****	72,3± 1,5****	48,8± 0,9***
50 µM	0 ± 0	11,9± 1,2****	-	23,9± 0,1****	22,5± 1,8***	13,8± 0,6***
100 µM	0 ± 0	2,1± 0,1****	-	4,4± 1,5****	7,8± 2,4****	13,3± 0,1****
200 µM	0 ± 0	2,1± 0,5****	-	20,5± 1,7****	6,8± 1,2****	22,9± 1,3****
Imáx (%)	100± 0	97,9± 0,1****	-	95,6± 1,5****	93,2± 1,2****	86,7± 0,1****
IC ₅₀ (µM)	10,8± 0,2	17,4 ± 0,9	-	24,7 ± 0,9	26,8 ± 0,6	14,31 ± 0,2

Os asteriscos indicam os níveis de significância quando comparados ao grupo controle: (**) p < 0.01, (***) p < 0.001 e (****) p < 0.0001. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls. Imáx = % de inibição máxima; IC₅₀ = concentração (µM) mínima necessária para inibir 50% da formação do radical ABTS⁺.

Os gráficos do percentual de controle dos pré-ligantes **1d** - **1h** são apresentados na Figura 43. sendo que 100% da formação do radical ABTS⁺ está representado pelo controle, conforme há a captura de radicais livres observa-se uma diminuição do percentual.

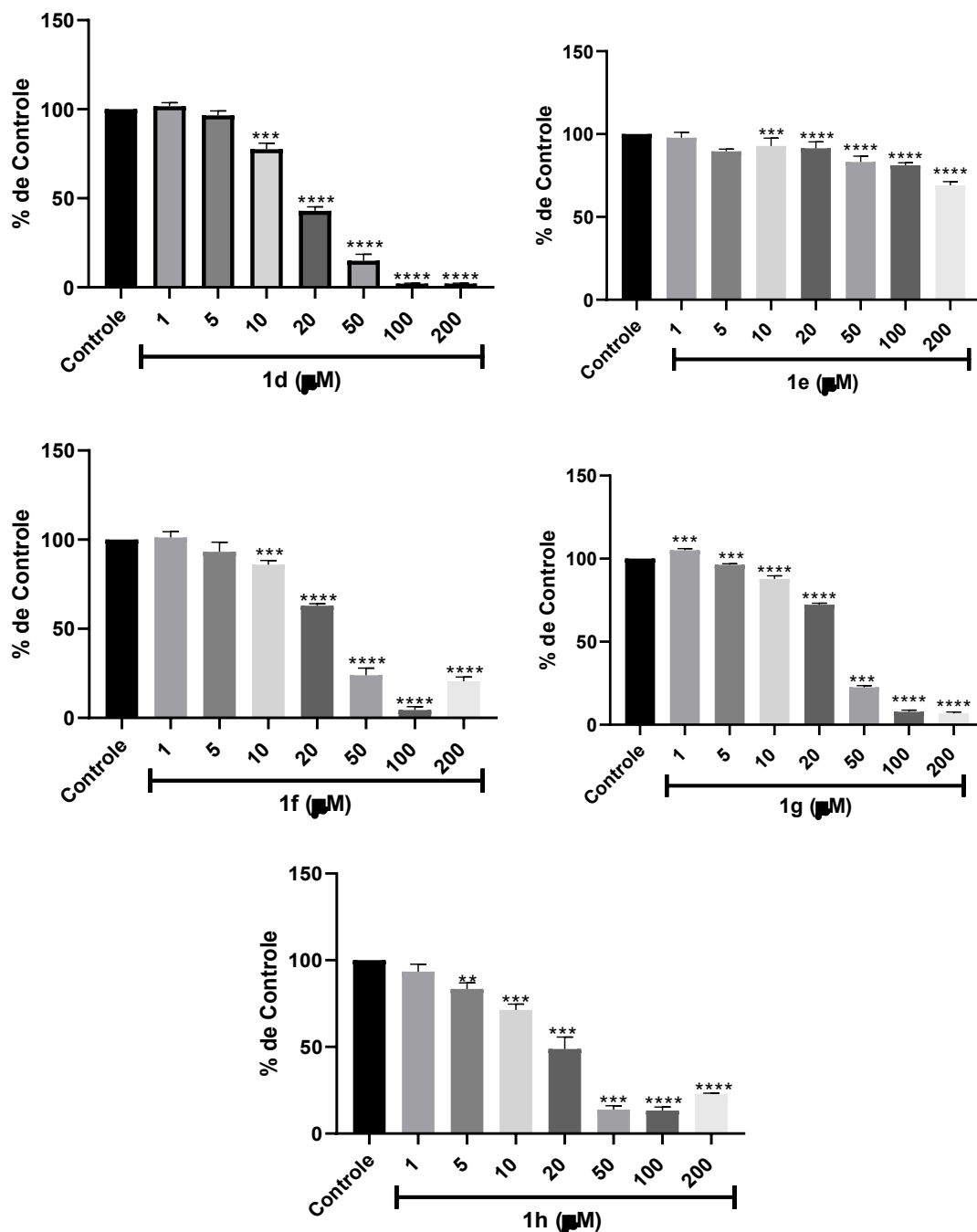


Figura 43- Os valores são apresentados como: % de controle dos radicais DPPH e ABTS+ quando comparado a um grupo controle sem inibição de radicais (controle de 100%). Os asteriscos indicam os níveis de significância quando comparados ao grupo controle: (**) $p < 0.01$, (***) $p < 0.001$ e (****) $p < 0.0001$. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls.

A coordenação das bases de Schiff e a presença de íons metálicos de Cu(II) aumentam o potencial antioxidante. Além disso, é possível observar a relação entre a atividade antioxidante e os grupos funcionais presentes nos

complexos (CHENG, et al., 2010). Segundo a literatura, a atividade antioxidante aumenta com o número de grupos fenil nos complexos contendo etilenodiamina, parte amina. Além disso, a acidez dos átomos de hidrogênio em relação aos átomos de nitrogênio da ponte imina é muito significativa para a atividade antioxidante (NAJAT et al., 2013).

Os estudos de relação estrutura atividade (REA) revelam que a natureza dos grupos é crucial para a atividade biológica (MALLESHA et al., 2012). A REA para os complexos **2d** - **2h** abrange as seguintes características: (a) fenil substituído e $-CH_2-$ para aumentar a estabilização radical; (b) um grupo aril hidrofóbico; (c) ambiente de coordenação (bidentado e tridentado ligantes/complexos dinucleares e mononucleares; (d) grupo metoxi (grupo doador de elétrons) na posição orto no anel aromático; (e) um sistema de unidade doadora de elétrons ($-C=N-$) / estender a deslocalização de radicais livres (MACHADO et al., 2020).

A neutralização do radical $ABTS^+$ é baseada em uma única transferência eletrônica (PRIOR et al., 2005). Como demonstrado na Tabela 19, o perfil do percentual de inibição do radical $ABTS^+$ em comparação com a concentração dos complexos testados apresentou diferenças ao comparar o complexo contendo ligante bidentado (**2g**), com os complexos com ligantes tridentados (**2d**, **2e**, **2f** e **2h**). O complexo bidentado começou a apresentar maiores porcentagens de inibição nas concentrações de 50 e 100 μM . Já os complexos tridentados, por outro lado, apresentaram maiores percentuais de inibição a partir de 5 μM , com uma diminuição neste percentual à medida que a concentração aumenta.

Ao analisar as doses de inibição dos complexos, o **2h** foi capaz de eliminar o radical $ABTS^+$ a partir da concentração de 1 μM , com $64,0 \pm 0,4$ % de inibição, resultando em um IC_{50} de 0,8 μM e I_{max} de $100 \pm 0\%$. Na mesma concentração de 1 μM os compostos **2d**, **2e** e **2f** inibiram em $32,5 \pm 3,3$ %, $47,8 \pm 4,6$ % e $38,2 \pm 0,3$ %, respectivamente. O composto **2d** demonstrou completa inibição do radical $ABTS$ em 10 μM , enquanto os complexos **2f** e **2h** apresentaram completa inibição em 50 μM e 20 μM , respectivamente. Os

compostos demonstraram perfil dose-dependente, conforme ocorre o aumento da concentração.

Os valores de IC₅₀ foram calculados e comparados com o padrão positivo (trolox). Em comparação com o controle positivo os complexos apresentaram menor IC₅₀ (concentração mínima para inibir 50% do radical ABTS⁺) **2d** (2,1 ± 0,8 µM), **2e** (1,4 ± 0,6 µM), **2f** (3,4 ± 1,4 µM) e **2h** (0,8 ± 0,2 µM), enquanto o trolox apresentou IC₅₀ de (10,8 ± 0,2 µM).

Assim, no ensaio ABTS⁺, o complexo tridentado **2h** apresenta o maior potencial como composto antioxidante. Quanto a menor porcentagem de inibição, vista no complexo **2g**, possivelmente devido ao efeito do impedimento estérico fornecido pela presença de dois centros metálicos. Já no composto **2h** pode ser visualizado o grupo –CH₂– que pode aumentar a estabilização dos radicais livres. Ainda, a diferença na atividade antioxidante dos complexos de metais bases de Schiff pode ser devido ao ambiente de coordenação e às propriedades redox dos complexos (NAJAT et al., 2013).

Quando avaliado o potencial como agente pró-oxidante o complexo **2d** a partir de 50 µM apresentou diminuição na inibição do radical ABTS⁺, demonstrando aumento das espécies de radicais presentes na solução, portanto, possivelmente se tornando pró-oxidante. O complexo **2e** apresentou diminuição da inibição do radical ABTS⁺ em 20 µM. Na dose de 200 µM o complexo **2e** demonstrou ser completamente pró-oxidante, apresentando um aumento de 100 % do radical ABTS⁺. Ainda, a diferença na atividade antioxidante dos complexos **2d** – **2h** pode ser devido as propriedades redox desses complexos.

Tabela 19- Efeito dos complexos de Cu (II) na atividade *scavenger* do radical ABTS⁺.

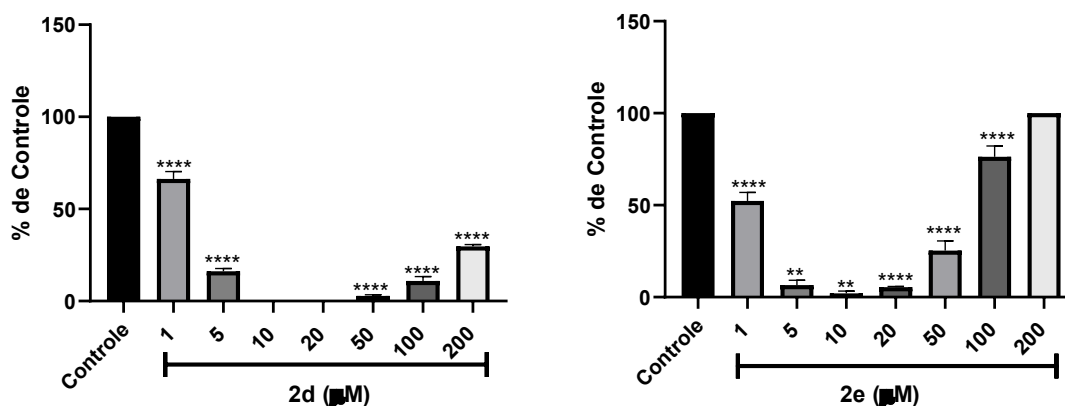
	Complexos Cu (II)					
	Trolox	2d	2e	2f	2g	2h
Veículo	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
1 µM	69,3 ± 1,2***	67,5 ± 3,3****	52,2 ± 4,6****	61,8 ± 0,3*	100 ± 0	36,0 ± 0,4*
5 µM	65,6 ± 1,9****	16,2 ± 0,1***	6,6 ± 0,2**	47,9 ± 0,4***	94,7 ± 0,3**	20,7 ± 0,6**
10 µM	55,8 ± 2,0***	0 ± 0	2,1 ± 0,1**	38,1 ± 0,2****	87,1 ± 0,3**	6,7 ± 0,4**
20 µM	23,1 ± 1,4***	0 ± 0	6,6 ± 0,3****	19,4 ± 0,0****	69,8 ± 0,6**	0 ± 0
50 µM	0 ± 0	2,8 ± 0,6****	25,8 ± 0,4****	0 ± 0	38,0 ± 0,2**	0 ± 0

100 μM	0 ± 0	$10,9 \pm 0,2^{****}$	$78,0 \pm 0,3^{****}$	0 ± 0	$10,6 \pm 0,1^*$	0 ± 0
200 μM	0 ± 0	$29,6 \pm 0,1^{****}$	$100 \pm 1,1$	0 ± 0	$13,1 \pm 0,2^{**}$	0 ± 0
Imáx (%)	100 ± 0	100 ± 0	$97,9 \pm 0,1$	100 ± 0	$89,4 \pm 0,1^{****}$	100 ± 0
IC ₅₀ (μM)	$10,8 \pm 0,2$	$2,1 \pm 0,8$	$1,4 \pm 0,6$	$3,4 \pm 1,4$	$32,4 \pm 0,8$	$0,8 \pm 0,2$

Os asteriscos indicam os níveis de significância quando comparados ao grupo controle: (**) $p < 0.01$, (***) $p < 0.001$ e (****) $p < 0.0001$. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls. Imáx = % de inibição máxima; IC₅₀ = concentração (μM) mínima necessária para inibir 50% da formação do radical ABTS⁺.

A atividade de eliminação das espécies reativas foi aprimorada na complexação, devido os complexos serem bons doadores de hidrogênio ou elétrons para o radical DPPH e ABTS⁺ (DEVI et al., 2019). Na ligação azometina (HC=N) o hidrogênio é muito fácil de abstrair devido à sua alta natureza ácida, resultando no aumento da estabilidade dos complexos devido à presença de grupo retirador de elétrons e dispersão de carga negativa no anel fenil (DEVI et al., 2019).

Os gráficos do percentual de controle dos complexos **2d** - **2h** e do trolox são apresentados na Figura 44, sendo que 100% da formação do radical ABTS⁺ está representado pelo controle, conforme há a captura de radicais livres observa-se uma diminuição do percentual. Os resultados do ensaio ABTS⁺ em mais detalhes estão presentes no (apêndice H).



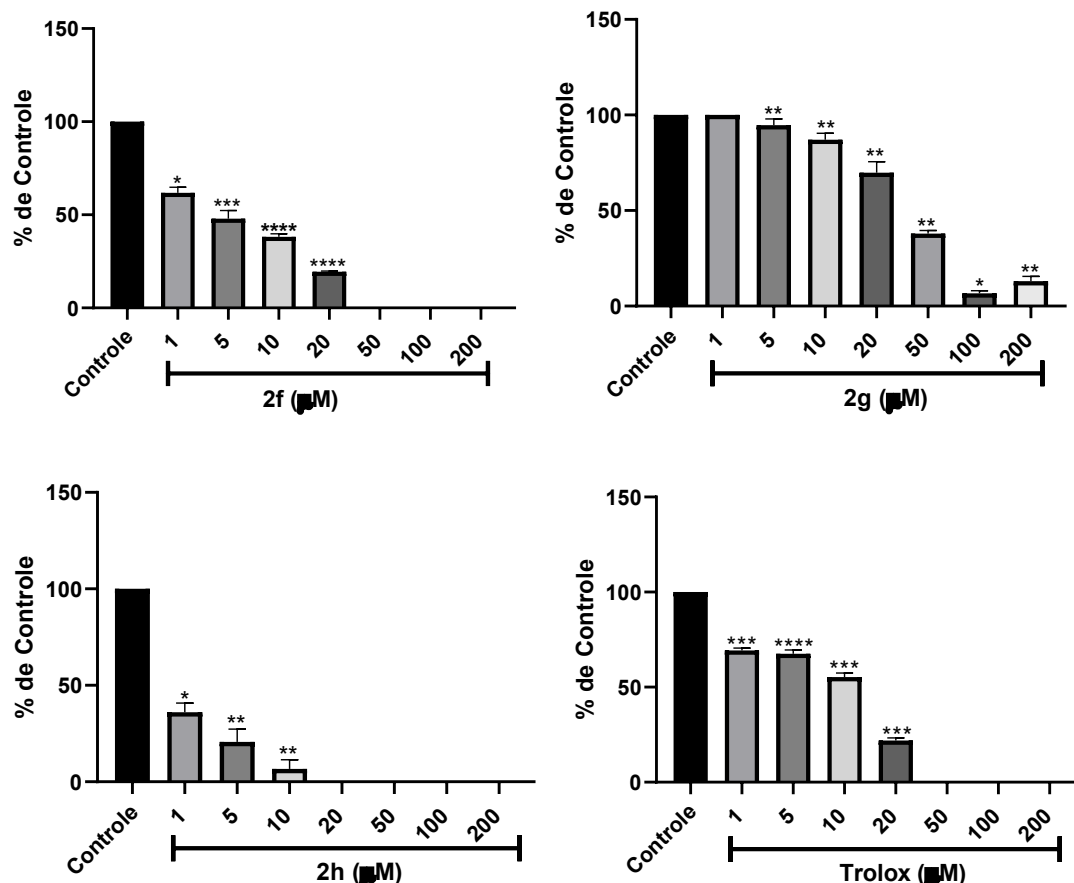


Gráfico 44- Os valores são apresentados como: % controle dos radicais DPPH e ABTS+ quando comparado a um grupo controle sem inibição de radicais (controle de 100%). Os asteriscos indicam os níveis de significância quando comparados ao grupo controle: (**) $p < 0.01$, (***) $p < 0.001$ e (****) $p < 0.0001$. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls.

O radical DPPH•, pode aceitar um elétron ou um hidrogênio de agentes antioxidantes para se tornar uma molécula estável (NIKI et al., 2010). Assim, como mostrado na Tabela 20, os complexos de Cu(II) (**2d**, **2f**, **2g** e **2h**), podem reduzir a concentração do radical DPPH inicial em solução, com valores chegando a $91,4 \pm 1,4$ % para **2d** na concentração de 20 μM. Na mesma concentração **2f** e **2h** apresentaram similar percentual de inibição, $74,6 \pm 7,7$ % e $95,1 \pm 1,3$ %, respectivamente. Já o composto **2g** na concentração de 20 μM apresentou uma redução do radical DPPH em $37,3 \pm 6,8$ %. O complexo **2f** apresentou a maior inibição na concentração de 100 μM, com $96,2 \pm 1,3$ %. Já o composto **2e** não apresentou atividade na eliminação do radical DPPH nas concentrações realizadas. Ao analisar o perfil de inibição do radical DPPH para

os complexos **2d**, **2f**, **2g** e **2h** nas diferentes doses, o complexo **2h** na dose de 1 μM apresentou maior percentual de inibição de $30,7 \pm 7,3 \%$, enquanto para **2d**, **2f** e **2g** o percentual é de $7,6 \pm 0,1 \%$, $6,1 \pm 1,2 \%$ e $10,1 \pm 5,3 \%$, respectivamente. Ambos os complexos não mostraram perfil dose dependentes.

Os valores de IC_{50} foram calculados. IC_{50} é a concentração suficiente para obter 50% da atividade de eliminação máxima. O menor valor de IC_{50} corresponde à maior atividade de eliminação. Os dados do % de inibição máxima (I_{max}) e IC_{50} são mostrados na Tabela 20. Os complexos **2d** e **2h** em baixa concentração (20 μM) apresentaram o I_{max} de $(91,4 \pm 1,4$ e $95,2 \pm 0,7\%)$ e menor IC_{50} de $(11,3 \pm 0,1$ e $11,2 \pm 0,3 \mu\text{M})$, respectivamente. Desta forma, no ensaio de captura do radical DPPH os compostos **2d** e **2h** apresentam maior potencial antioxidante comparado ao composto **2e**, **2f** e **2g**. Os complexos **2d** ($11,3 \pm 0,1 \mu\text{M}$) e **2h** ($11,2 \pm 0,3 \mu\text{M}$) apresentaram menores IC_{50} que o Trolox ($12,5 \pm 1,3 \mu\text{M}$).

O perfil do percentual de inibição do radical DPPH pode ser descrita pela natureza dos átomos doadores coordenados ao centro metálico, a presença de um ou mais centro metálicos de Cu(II), a geometria dos complexos, os grupos funcionais presentes na estrutura e o impedimento estérico que pode ser determinante para ocorrer a reação por transferência de átomos de H ou transferência de elétron ao radical DPPH (HERNÁNDEZ et al., 2016). Ao analisarmos a estrutura dos complexos monometálicos **2d**, **2e**, **2f** e **2h** tridentados, contendo (NNO - doadores), (NNO - doadores), (SNO - doadores), (NOO - doadores), respectivamente. O composto **2h** (NOO) apresentou melhores resultados na inibição do radical ao compararmos com o composto **2d** (NNO) que apresenta estrutura química similar, indicando que os átomos coordenados ao centro metálico influenciam na doação de elétrons ou prótons para a estabilização do radical. Já ao comparar a presença de um ou mais centros metálicos, o complexo bimetálico **2g** contendo (NO - doadores) apresentou resultado inferior na inibição do radical quando comparado aos complexos com apenas um centro metálico, indicando que possivelmente a estrutura dos complexos interfere no desempenho da atividade antioxidante,

neste caso há possivelmente o impedimento estérico, que dificulta a doação de elétron ou próton para a estabilização do radical (AZIZ et al., 2018). Complexos de Cu(II) com geometria quadrática apresentaram bons resultados antioxidantes (VENKATESWARLU et al., 2018).

Os resultados apontaram que os complexos de cobre (II) podem se comportar tanto como antioxidantes ou pró-oxidantes. A atividade pró-oxidante seria vantajosa quando as propriedades anticancerígenas e de indução de apoptose dos complexos de cobre (II) são consideradas, uma vez que as espécies reativas de oxigênio podem mediar a fragmentação apoptótica do DNA (BECCO et al., 2014).

Na análise como potencial agente pró-oxidante o complexo **2d** a partir de 50 µM mostrou diminuição na inibição do radical DPPH, demonstrando aumento das espécies de radicais presentes na solução, portanto, possivelmente se tornando pró-oxidante. Em alguns tipos de câncer as espécies reativas de oxigênio (ERO) estão presentes em altas concentrações, devido à alta atividade metabólica das células (REDZA-DTORDOIR et al., 2016). Há relatos em que o aumento dos níveis de ERO também pode promover a morte de células cancerígenas induzidas pelo estresse oxidativo (RECZEK et al., 2012).

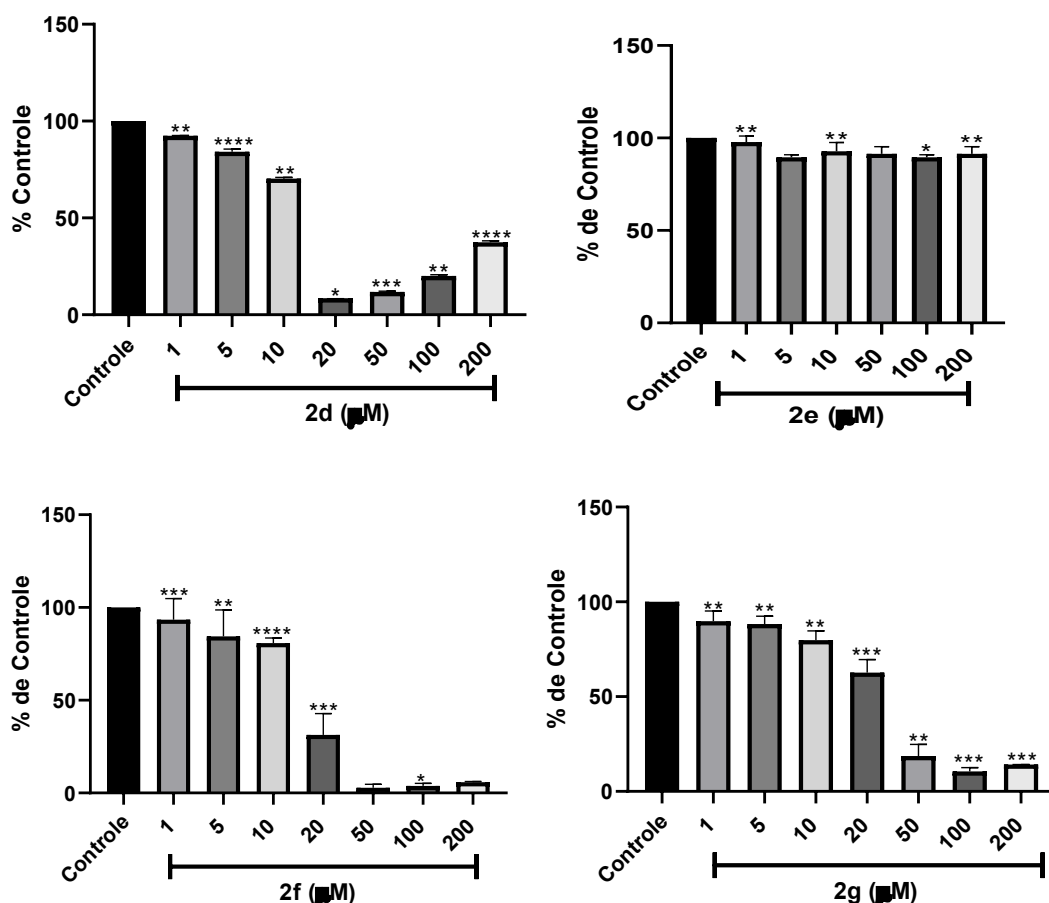
Tabela 20- Efeito dos complexos de Cu (II) na atividade *scavenger* do radical DPPH.

	Complexos Cu (II)					
	Trolox	2d	2e	2f	2g	2h
Veículo	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
1 µM	98,6± 0,6*	92,4 ± 0,1**	-	93,9 ± 1,2***	89,9 ± 5,3**	69,3 ± 7,3**
5 µM	81,4± 0,2**	85,7 ± 1,3****	-	86,4 ± 1,3**	88,3 ± 4,2**	73,6 ± 3,9***
10 µM	64,1± 0,7****	73,9 ± 1,0**	-	80,9 ± 2,7****	79,9 ± 4,8**	62,4 ± 2,3**
20 µM	29,0± 0,6****	8,6 ± 1,4*	-	25,4 ± 7,7***	62,7 ± 6,8***	4,8 ± 0,7***
50 µM	7,4± 0,5***	11,9 ± 0,4***	-	2,8 ± 1,9	18,7 ± 6,2**	4,9 ± 1,3***
100 µM	5,7± 0,2***	19,6 ± 0,8**	-	3,8 ± 1,3*	10,6 ± 1,9***	8,1 ± 2,2***
200 µM	1,6± 0,1	37,1 ± 1,2****	-	5,9 ± 0,3	14,2 ± 0,1***	8,4 ± 0,5**
Imáx (%)	98,3± 0,1	91,4 ± 1,4****	-	97,2 ± 1,9***	89,4 ± 1,9***	95,2 ± 0,7*
IC ₅₀ (µM)	12,5± 1,3	11,3 ± 0,1	-	15,2 ± 0,3	27,8 ± 1,1	11,2 ± 0,3

Os asteriscos indicam os níveis de significância quando comparados ao grupo controle: (*) p < 0.05, (***) p < 0.001 e (****) p < 0.0001. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de uma via

seguido pelo teste de Newman-Keuls. Imáx = % de inibição máxima; IC₅₀ = concentração (μM) mínima necessária para inibir 50% da formação do radical DPPH.

Os complexos de cobre(II) mostraram uma atividade antioxidante significativamente maior do que seus ligantes correspondentes. Os resultados obtidos de captura dos radicais DPPH[•] indicam que não existem indícios que a inibição dos diferentes compostos seja idêntica, sugerindo que existem possíveis fatores como: as diferenças estruturais, cinética reacional, efeitos estéricos e potencial redox (VENKATESWARLU et al., 2018). Os gráficos do percentual de controle dos complexos **2d - 2h** e do trolox são apresentados na Figura 45, sendo que 100% da formação do radical DPPH está representado pelo controle, conforme há a captura de radicais livres observa-se uma diminuição do percentual. Os resultados do ensaio DPPH, em mais detalhes estão presentes no apêndice H.



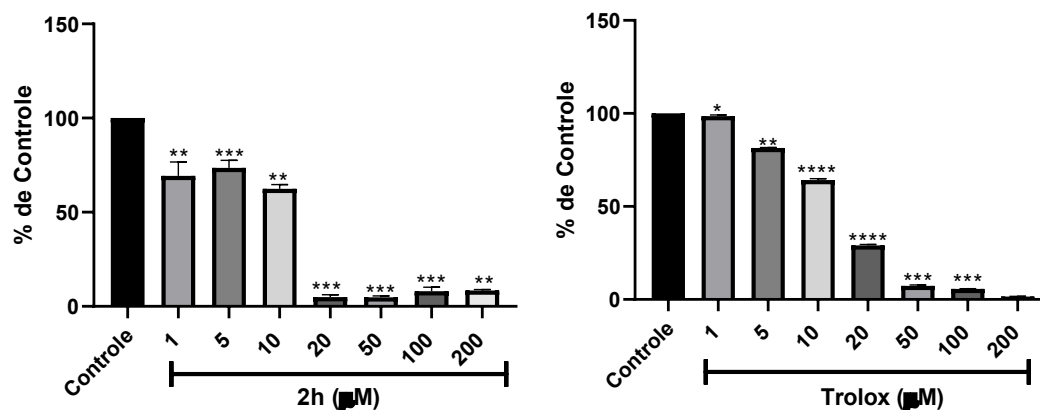


Figura 45- Os asteriscos indicam os níveis de significância quando comparados ao grupo controle: (**) $p < 0.01$, (***) $p < 0.001$ e (****) $p < 0.0001$. A análise estatística foi realizada utilizando ANOVA de uma via seguido pelo teste de Newman-Keuls.

A partir dos resultados obtidos no estudo eletroquímico foi possível analisar e comparar os dados teóricos e experimentais, onde os valores da variação entre o potencial de pico anódico e pico catódico (ΔE) representados na Tabela 17 no item 8.2 para os complexos Cu(II) naftol-imina mostram diferenças para os que apresentam melhores atividades antioxidantes. Os complexos **2d**, **2f** e **2h** demonstram menores valores de ΔE_p e maior atividade de estabilização do radical livre DPPH, ou seja, maior facilidade de doação de elétrons. Já os complexos **2e** e **2g** que apresentam menores atividades antioxidantes apresentaram maiores valores de ΔE_p .

9. Considerações Finais

No capítulo I são abordados uma nova classe de complexos de cobre (II) contendo ligante do tipo pirazol-(Se e S), os quais foram sintetizados e caracterizados através da análise elementar de C, H, N (complexos **2a** e **2b**), espectroscopia na região do infravermelho, espectrometria de massas de alta resolução com ionização por electrospray (ESI-HRMS), espectroscopia da região do ultravioleta visível (**2a** e **2b**) e difração de raios X de monocristal. Os espectros na região do infravermelho dos complexos em comparação com os pré-ligantes apresentam deslocamentos significativos para as frequências de estiramento dos principais grupos funcionais da molécula orgânica, sugerindo a coordenação do átomo de nitrogênio do pirazol ao centro metálico de cobre(II). Nos ensaios de UV-Vis analisou-se durante 24 h a estabilidade dos complexos em solução de DMSO. O complexo **2a** apresentou um leve efeito de hipocromicidade. Nenhum desvio batocrômico ou hipsocrômico foi detectado. Já o complexo **2b** apresentou um perfil de absorbância constante, não havendo alteração do composto em solução de DMSO com o aumento de tempo.

A estrutura molecular e cristalina no estado sólido dos complexos de cobre (II) **2a** e **2b**, mostra coordenação de duas moléculas do ligante **1a** e **1b**, respectivamente, ao centro de Cu(II) de modo monodentado determinando uma geometria quadrática de natureza monomérica. O complexo de Cu(II) **2c**, possui estrutura molecular e cristalina de natureza dimérica com coordenação de dois átomos de N_{pirazol}, dois átomos de Cl em ponte entre os centros metálicos e um átomo de cloro frente ao átomo de cada Cu(II), que determinam o número de coordenação cinco, sendo assim exibindo uma geometria piramidal quadrada ao redor do centro metálico. A partir das espécies encontradas no ensaio de espectrometria de massas de alta resolução (ESI-HRMS), constatou-se que em solução o complexo **2c**, se apresenta de forma monometálica. Ainda, nos espectros de ESI-HRMS em solução de DMSO verificou-se que não ocorre a coordenação do mesmo aos complexos.

O complexo **2a** demonstra atividade antioxidante, com inibição do radical DPPH a partir da concentração 10 µM e para o radical ABTS⁺ a partir de 50 µM.

O complexo **2b** apresentou inibição do radical DPPH a partir da concentração 10 μM , mas não apresentou inibição quanto ao radical ABTS^+ . Os complexos **2a** e **2b** exibem melhor inibição de espécies reativas (ER) com início em 10 μM , se comparado com as moléculas orgânicas. Já o complexo **2c** na concentração de 2 μM , apresenta uma boa atividade de eliminação do radical DPPH. No ensaio de eliminação do radical ABTS^+ o complexo **2c** não apresenta atividade nas doses testadas. Os complexos de Cu(II) mostraram maior eficiência na eliminação e inibição dos radicais DPPH e ABTS^+ , quando em comparação com os pré-ligantes **1a**, **1b** e **1c**. Os compostos testados não apresentaram citotoxicidade nas células V79 em baixas concentrações. Em geral, foi observada uma diminuição estatisticamente significativa na viabilidade celular nas concentrações de 50 e 100 μM .

No capítulo II são apresentados os complexos monoméricos e diméricos de Cu(II) **2d - 2h** contendo ligantes naftol-imina com o grupo éter funcionalizado **1d - 1h**. Foram realizados ensaios para analisar a estabilidade dos complexos de cobre(II) nos solventes DMSO e meio PBS, além da avaliação do comportamento redox pelo método eletroquímico de voltametria cíclica. Ainda, foi realizado a aplicação dos ligantes naftol-imina e seus respectivos complexos de Cu(II) para estabilização dos radicais sintéticos DPPH e ABTS^+ .

Nos ensaios de estabilidade pelo método de UV-Vis os complexos **2f**, **2g** e **2h** apresentaram um leve efeito de hipercromicidade a partir de 3 horas em solução de DMSO, nenhum desvio batocrômico ou hipsocrômico foi detectado nos espectros. Já os complexos **2d** e **2e** apresentaram um perfil de absorbância constante. Em solução de PBS (pH 7,4) os complexos **2d - 2h** apresentaram um leve efeito de hipocromicidade com o aumento de tempo. Quando comparados com os espectros em DMSO, no comprimento de onda em torno de 400 nm, os complexos **2f**, **2g** e **2h** sofrem um leve efeito hipsocrômico, devido a efeitos de substituição ou de solvente. Nenhum desvio batocrômico foi detectado nos espectros dos complexos.

As análises de voltamogramas cíclicos dos pré-ligantes (**1e - 1h**) apresentam apenas o pico anódico, indicando que sofrem oxidação irreversível. Os CV's observados para os complexos implicam que ambos os centros de

Cu(II) de **2d** - **2h** simultaneamente trocam elétrons com o eletrodo, com a presença de pico catódico e anódico. Na análise da atividade antioxidante, os complexos **2d** - **2h** demonstram atividade antioxidante, com inibição do radical DPPH a partir da concentração 10 μM e para o radical ABTS⁺ a partir de 50 μM . Apenas o complexo **2e** não apresentou inibição quanto ao radical ABTS⁺.

Observamos a partir dos resultados obtidos, que os compostos sintetizados apresentam potencial antioxidante superior ao controle positivo empregado em baixas concentrações. Com isso torna-se como projeção futura a continuidade desse trabalho, onde serão realizadas mais análises como a investigação de citotoxicidade em células V79 e MRC-5 para a classe de complexos naftol-imina, difração de Raio X, interações com ct-DNA, entre outras. Para a classe de complexos de Cu(II) contendo pirazol (Se e S), estão sendo estudados sua citotoxicidade e genotoxicidade perante as células tumorais, adenocarcinoma de mama (MCF-7) e Câncer cólon humano (SW620).

Referências

ALI, A. ABDULLAH, N. MAAH, M.J. Synthesis, characterization and antioxidant studies on 4-phenyl-1,3,5-triazine-2,6-diamine Schiff bases and their nickel(II), copper(II) and zinc(II) complexes, **Asian J. Chem.** V. 25, P. 3105-3108, 2013.

ABDOLMALEKI, S.; GHADERMAZI, M.; FATTAHI, A.; SHESHMANI, S. Synthesis, characterization, spectral studies and cytotoxic effects of mixed-ligand mono and binuclear copper(II) complexes and their amide ligands. **Inorganica Chimica Acta.** v. 443, p. 284–298, 2016.

ACILAN C, CEVATEMRE B, ADIGUZEL Z, KARAKAS D, ULUKAYA E, RIBEIRO N, CORREIA I, PESSOA JC. Synthesis, biological characterization and evaluation of molecular mechanisms of novel copper complexes as anticancer agentes. **BBA-Gen Subj**, V.1861, P. 218–234, 2017.

ACKER, CI. BRANDAO, R. ROSARIO, AR. NOGUEIRA, CW. Antioxidant effect of alkynylselenoalcohol compounds on liver and brain of rats in vitro. **Environmental Toxicology And Pharmacology**, V.28(2), P.280-287, 2009.

ALAM, R. WAHI, D. SINGH, R. D. SINHA, V. TANDON, A. GROVER, Rahisuddin, design, synthesis, cytotoxicity, Hu TopoII α inhibitory activity and molecular docking studies of pyrazole derivatives as anticancer agents, **Bioorg. Chem.** V. 69, P. 77–90, 2016.

ALARIO, F. A. MANGRICH, S. A. FERREIRA, A. M. Antioxidant and pro-oxidant properties of some di-Schiff base copper(II) complexes **J. Inorg. Biochem.** V.52, p. 71, 1998.

ALCOLEA, V. D. PLANO, I. ENCÍO, J.A. PALOP, A.K. SHARMA, C. SANMARTÍN. Antitumoural Sulphur and Selenium Heteroaryl Compounds: Thermal Characterization and Stability Evaluation. **Eur. J. Med. Chem.** V. 123 P. 407 – 418, 2016.

ALI, A. ABDULLAH, N. MAAH, M.J. Synthesis, characterization and antioxidant studies on 4-phenyl-1,3,5-triazine-2,6-diamine Schiff bases and their nickel(II), copper(II) and zinc(II) complexes. **Asian J. Chem.** V. 25, P. 3105-3108, 2013.

ALMEIDA, J. C.; PAIXÃO, D. A.; MARZANO, I.; ELLENA, J. M.; PIVATTO, M.; LOPES, N. P.; FERREIRA, A. M. D.C.; PEREIRA-MAIA, E. C.; GUILARDI, S. GUERRA, W. Copper(II) complexes with β -diketones and N-donor heterocyclic ligands: Crystal structure, spectral properties, and cytotoxic activity. **Polyhedron.** V.89, P. 1–8, 2015.

ANNAPOORANI, S.; KRISHNAN, C. N. **International Journal of ChemTech Research**, V.3, P.1962-1968, 2011.

APAK, R.; ÇAPANO, GLU, E.; SHAHIDI, F. Measurement of Antioxidant Activity and Capacity—Recent Trends and Applications; **John Wiley & Sons Ltd.: Hoboken, NJ**. P. 1–283, 2018

ARIF, A; SOMESH, B; SAIMA, K; NEELADRISINGHA S; ABDULLAH A; NAYIM, S; MUSHEER, A; Ligand substituent effect on the cytotoxicity activity of two new copper(ii) complexes bearing 8-hydroxyquinoline derivatives: validated by MTT assay and apoptosis in MCF-7 cancer cell line (human breast cancer). **RSC Adv**. V. 15; 11(24): P. 14362–14373, 2021.

ARNAO MB. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. **Trends Food Sci Tech**. v.11, p. 419-21, 2000.

ARNESANO, F.; NATILE, G. Mechanistic insight into the cellular uptake and processing of cisplatin 30 years after its approval by FDA. **Elsevier**, v. 253, p. 2070-2081, 2009.

AYSEGUL, G. MEHMET, T. HAVVA, D. ALAN, R. WHEATLEY, C. Cd(II) and Cu(II) complexes of polydentate Schiff base ligands: synthesis, characterization, properties and biological activity. **Inorganica Chimica Acta**. V.358, P.1785–1797, 2005.

AZIZ, A. SHAWKY A. KHALIL, M. "Synthesis, structural characterization, antimicrobial, antioxidant and DNA binding studies of some novel homobinuclear Schiff base metal (II) complexes," **Applied Organometallic Chemistry**, V. 32, P. e4404, 2018.

BAN-FENG RUAN, YUN-KE LIANGz, WAN-DING LIUz, JIE-YING WU, YU-PENG TIAN. Synthesis, characterization, and antitumor activities of two copper(II) complexes with pyrazole derivatives. **Journal of Coordination Chemistry**. 2127–2134, 2012.

Bargotya, S. Mathur, N. J. Advances in the research of novel N/S containing metal complexes as potent antioxidants **Appl. Chem**. v.10, p. 18 – 23, 2017.

BASU, C; CHOWDHURY, S; BANERJEE, R; EVANS, H.S; MUKHERJEE, S; A novel blue luminescent high-spin iron(III) complex with interlayer O–H...Cl bridging: Synthesis, structure and spectroscopic studies **Polyhedron**. V. 26, P. 3617–3624, 2007.

BECCO, LORENA; GARCÍA-RAMOS, JUAN CARLOS; AZUARA, LENA RUIZ; DINORAH GAMBINO; GARAT, BEATRIZ. Analysis of the DNA interaction of

copper compounds belonging to the Casiopeínas® antitumoral series. **Biol Trace Elem Res.** V.161(2), P.210-5, 2014.

BEKH/IT, A. A.; ABDEL-AZIEM, T. **Bioorg. Med. Chem.** v. 12, p. 1936, 2004.

BERALDO, Heloisa. *Tendências atuais e as perspectivas futuras da química inorgânica*, **Cienc. Cult**, São Paulo, no.1, vol.63, 2011.

BLACKMAN RK, CHEUNG-ONG K, GEBBIA M; Mitochondrial electron transport is the cellular target of the oncology drug elesclomol. **PLoS One.** V.7, P. e29798, 2012.

BLANCO, A. BLANCO, G. **Med. Biochem.** p. 205-214, 2017.

BOAL AK, ROSENZWEIG AC. Structural biology of copper trafficking. **Chem Ver.** P.4760-79, 2009.

BORA, G.; GOGOI, D.; SAIKIA, S.; PAREEK, A.; HANDIQUE, G. J. Stannous chloride catalyzed synthesis of Schiff bases from hydroxybenzaldehydes and determination of their antioxidant activity by ABTS and DPPH assay. **Indian Academy of Sciences**, India, v. p. 2019.

BOUSSALEH, N. R. TOUZANI, I. BOUABDALLAH, S. GHALEM, S. EL KADIRI, Catechol oxidase and Copper(I/II) Complexes Derived from Bipyrazol Ligand: Synthesis, Molecular Structure Investigation of New Biomimetic Functional Model and Mechanistic StudyInt.. **J. Acad. Res.** p.137–143, 2009.

BULDURUN, K. NEVIN T. AHMET, S. NAKI C, OLAK. Synthesis, structural characterization and biological activities of metal(II) complexes with Schiff bases derived from 5-bromosalicylaldehyde: Ru(II) complexes transfer hydrogenation. **Journal of Saudi Chemical Society**, V.42, P.1254, 2018.

BRAVO-GÓMEZ, MARÍA ELENA; HERNÁNDEZ, ANA, LAURA; GRACIA-MORA, ISABEL; Antineoplastic Evaluation of Two Mixed Chelate Copper Complexes (Casiopeínas®) in HCT-15 Xenograft Model. **J. Mex. Chem. Soc.** V.57, P.3, 2013.

BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. Electroquímica: Princípios, Métodos e Aplicações. **Oxford University Press**, v.5, p. 236-244, 416-418, 1996.

BROWN, Theodore L.; LEMAY, Junior H. Eugene; BURSTEN, Bruce E. Conceitos básicos de ligação química. **Química A Ciência Central**. 9. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, cap. 8, p. 251-288, 2005.

CASTILLO, I.; SUWALSKY, M.; GALLARDO, M.J.; TRONCOSO, V.; SÁNCHEZEGUÍA, B.N.; SANTIAGO-OSORIO, E.; AGUIÑIGA, I.; GONZÁLEZ-UGARTE, A.K. Structural and functional effects of benzimidazole/thioether-

copper complexes with antitumor activity on cell membranes and molecular models. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v.156, p. 98–104, 2016.

CAVERO, E.; URIEL, S.; ROMERO, P.; SERRANO, J. L.; GIMENEZ, R. Tetrahedral Zinc Complexes with Liquid Crystalline and Luminescent Properties: Interplay Between Nonconventional Molecular Shapes and Supramolecular Mesomorphic Order **J.Am. Chem. Soc.**, v. 129, p. 11608, 2007.

CEYHAN, G.; ÇELIKB, C.; URUS, S.; DEMIRTAS, I.; ELMASTAS, M.; TÜMERA, M. **Spectrochimica Acta Part A**, V. 81, P. 184-198, 2011.

CHANG, E.-M.; LEE, C.-T.; CHEN, C.-Y.; WONG, F. F.; YEH, M.-Y. Synthesis, Optical Properties, and Characterization of New Soluble Conjugated Poly(p-phenylenevinylene) Derivatives Constituted of Alternating Pyrazole and 1,3,4-oxadiazole. **Moties Aust.J. Chem**. V.61, P.342, 2008.

CHATTERJEE, A.K.; SARKAR, R.K.; CHATTOPADHYAY, A.P.; AICH, R.; CHAKRABORTY, P.; BASU, T. A simple robust method for synthesis of metallic copper nanoparticles of high antibacterial potency against E. coli. **Nanotechnology**. v.23, p. 103, 2013.

CHEFF, D. M.; e HALL, M. D. A Drug of Such Damned Nature.1 Challenges and Opportunities in Translational Platinum Drug Research. **Journal medicinal chemistry**. 2017.

CHEN, C.H.; SIGMAN, D.S. Proc. Nuclease activity of 1,10-phenanthroline-copper: sequence-specific targeting. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v. 83, p. 7147–7151, 1986.

CHELLAIN E S. RAJ, “Co(II), Ni(II), Cu(II), and Zn(II) complexes of 4-aminoantipyrine-derived Schiff base. Synthesis, structural elucidation, thermal, biological studies, and photocatalytic activity,” **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 58, p. 928-941, 2021

CHKIRATE K., SEBBAR, N.K. OUZIDAN, Y. ESSASSI, E.M. MAGUE, J.T. trans_Bis(N{2[2(3methyl1Hpyrazol5ylkN2)acetamidokO]-phen-yl}benzamide)bi s-(per-chlor-ato-κO)copper(II). **IUCrData**. V.2, P.170285, 2017.

CHOI, C.W., KIM, S.C., HWANG, S.S., CHOI, B.K., AHN, H.J., LEE, M. Y., PARK, S.H., KIM, S.K., Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. **Plant Sci**. 163, 1161–1168. **Free Radic Biol Med**. 49,503-515, 2002.

CHUDZIK, B.; TRACZ, I.B.; CZERNEL, G.; FIOŁKA, M.J.; BORSUK, G.; GAGOS M., Amphotericin B-Copper(II) Complex Shows Improved Therapeutic Index in Vitro. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 49, p. 850–857, 2013.

CODITA, I.; CAPLAN, D.M; DRAGULESCU, E.C; LIXANDRU, B.E; COLDEA, I.L, DRAGOMIRESCU, C.C; SURDU-BOB, C; BADULESCU, M. Antimicrobial activity of Copper and Silver nanofilms on nosocomial bacterial species. **Roumanian Archives of Microbiology and Immunology**. v. 69, p. 204-212, 2010.

COTTON, F. A.; WILKINSON, G. **Advanced inorganic chemistry**. New York: John Wiley & Sons, p.1396, 1980.

CREAVEN, B. CZEGLÉDI, SE. DEVEREUX, M. É.A. ENYEDY, A. FOLTYN-ARFA KIA, D. KARCZ, A. KELLETT, S. MCCLEAN, N.V. NAGY, A. NOBLE, A. ROCKENBAUER, T. SZABÓ-PLÁNKA, M. WALSH. Biological activity and coordination modes of copper(ii) complexes of Schiff base-derived coumarin ligands. **Dalt. Trans.** V. 39, P.10854, 2010.

DADIBOYENA, S.; NEFZI, A. Eur. J. Synthesis of functionalized tetrasubstituted DE LA TABLA, O.; MATAS, I.; PALMA, P.; ÁLVAREZ, E.; CÂMPORA, J. Nickel and Palladium Complexes with New Phosphinito-Imine Ligands and Their Application as Ethylene Oligomerization Catalysts. **Organometallics**, v. 31, n. 3, p. 1006-1016, 2012.

DESOIZE, B. Metals and metal compounds in cancer treatment, **Anticancer Res** V.24, P.1529–1544, 2004.

DEVI J, YADAV J AND SINGH N. Synthesis, characterisation, in vitro antimicrobial, antioxidant and antiinflammatory activities of diorganotin(IV) complexes derived from salicylaldehyde Schiff bases **Res. Chem. Intermed.** V. 45, P. 3943, 2019.

DHARMARAJA, A.T. Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in Therapeutics and Drug Resistance in Cancer and Bacteria. **J. Med. Chem.** V.60, P. 3221–3240, 2017.

DIMIZA, F; PERDIH, F; TANGOULIS, V; TUREL, I; KESSISSOGLU, D.P; PSOMAS, G. **J. Inorg. Biochem.** 105, 476, 2011.

EJIDIKE, I.P. AJIBADE, P. Synthesis, characterization and biological studies of metal(II) complexes of (3E)-3-[(2-[(E)-[1-(2,4-dihydroxyphenyl) ethylidene] amino)ethyl]imino]-1-phenylbutan-1-one Schiff base. **Molecules**. V. 20, P. 9788-9802, 2015.

ELSAYED, S. GHARABAWY, H. EL- I. BUTLER E F. ATLAM, “Novel metal complexes of 3- acetylcoumarin-2-hydrazinobenzothiazole Schiff base: Design, structural characterizations, DNA binding, DFT calculations, molecular docking

an biological studies," **Applied Organometallic Chemistry**, V. 34, P. e5643, 2020.

FAISAL, M. HUSSAIN, S. HAIDER, A. SAEED, A. LARIK, F.A. Assessing the effectiveness of oxidative approaches for the synthesis of aldehydes and ketones from oxidation of iodomethyl group, **Chem. Pap.** V.73 P.1053–1067, 2019.

FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; DIKSHIT, R.; ESER, S.; MATHERS, C.; REBELO, M; PARKIN, D.M.; FORMAN, D.; BRAY, F. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012, **International Journal of Cancer**, USA, v.136, p. E359, 2015.

FERNANDES, A.S. GASPAR, J. M. CABRAL, F. C. CANEIRAS, R. GUEDES, J. RUEFF, M. CASTRO, J. COSTA, N.G. OLIVERIA. Macrocyclic copper(II) complexes: superoxide scavenging activity, structural studies and cytotoxicity evaluation. **J. Inorg. Biochem.** V. 102, P. 849-858, 2007.

FREUDENDAHL, D.M.; SHAHZAD, S.A.; WIRTH, T. **EUR. J. Org. Chem**, USA, v.22, p.1649, 2009.

FRICKER, S.P. Metal Compounds in Cancer Therapy, **Springer Science & Business Media**, V. 87, P. 114-123, 2012.

FRIEAUFF, W., HARTMANN, A., SUTER, W. Automatic analysis of slides processed in the comet assay. **Mutagenesis**, v.16, p.133-7, 2001.

FRY, A., REED, R. **J. Am. Chem. Soc.** V. 91(23), P. 6448, 1969.

GALI RAMESH, SREENU DARAVATH, NIRMALA GANJI, AVELI RAMBABU, KADTALA VENKATESWARLU, SHIVARAJ. FACILE synthesis, structural characterization, DNA binding, incision evaluation, antioxidant and antimicrobial activity studies of Cobalt(II), Nickle(II) and Copper(II) complexes of 3-amino-5-(4-fluorophenyl) isoxazole derivatives. **Journal of Molecular Structure** V.1202, P. 127-338, 2020.

GAMA, S. FILIPA, M. MARQUES, F. ISABEL C. SANTOS, M. FERNANDA CARVALHO B , ISABEL CORREIA B , JOÃO COSTA PESSOA B , ISABEL SANTOS A , ANTÓNIO PAULO. Copper(II) complexes with tridentate pyrazole-based ligands: synthesis, characterization, DNA cleavage activity and cytotoxicity. **Journal of Inorganic Biochemistry**. V. 105, P.637–644, 2011.

GANJI, N.; RAMBABU, A.; VAMSIKRISHNA, N.; DARAVATH, S.; SHIVARAJ. Copper(II) complexes with isoxazole Schiff bases: Synthesis, spectroscopic

investigation, DNA binding and nuclease activities, antioxidant and antimicrobial studies. **Journal of Molecular Structure**, India, v.1173, p.173-182, 2018.

GRASS, G.; RENSING, C.; SOLIOZ, M. Metallic copper as an antimicrobial surface. **Applied and Environmental Microbiology**. v.77, p. 1541–1547, 2011.

GRAZUL, M. BESIC-GYENGE, E. MAAKE, CM. CIOLKOWSKI, M. CZYZ, R.K.O. SIGEL, E. BUDZISY, Synthesis, physico-chemical properties and biological analysis of newly obtained copper(II) complexes with pyrazole derivatives, **J. Inorg. Biochem.** V.135, P. 68–76, 2014.

GUO, Z. XING, R. LIU, S. YU, H. WANG P., LI, C. LI . The synthesis and antioxidant activity of Schiff bases of chitosan and carboxymethyl chitosan, **Bioorg. Med. Chem. Lett.** V.15, P.4600e4603, 2005.

GURUMOORTHY, P.; MAHENDIRAN, D.; PRABHU, D.; ARULVASU, C.; RAHIMAN,A.K. Mixed-ligand copper(II) phenolate complexes: Synthesis, spectral characterization, phosphate-hydrolysis, antioxidant, DNA interaction and cytotoxic studies. **Journal of Molecular Structure**. v.1080, p. 88–98, 2015.

GZIUT, M.; MACGREGOR, H.J.; NEVELL, T.G.; MASON, T.; LAIGHT, D.; SHUTE J.K. Anti-inflammatory effects of tobramycin and a copper-tobramycin complex with superoxide dismutase-like activity. **British Journal of Pharmacology**. v 168, p. 1165–1181, 2013.

KARGAR, H. AMIR, A. ARDAKANI; KHURRAM SHAHZAD MUNAWAR; MUHAMMAD ASHFAQ; MUHAMMAD NAWAZ TAHIR. Nickel(II), copper(II) and zinc(II) complexes containing symmetrical Tetradentate Schiff base ligand derived from 3,5-diiodosalicylaldehyde: Synthesis, characterization, crystal structure and antimicrobial activity. **Journal of the Iranian Chemical Society**. V.18, P.2493–2503, 2021.

KIANFAR, A.H., ZARGARI, S., KHAVASI, H.R., **J.Iran.Chem.Soc.** V. 7, P. 908, 2010.

HAGA, M. Syntheses and Phosphorescent Properties of Blue Emissive Iridium Complexes with Tridentate Pyrazolyl Ligands. **Inorg. Chem**, Japão, v.47, p.7154, 2008.

HALLIWELL, B., Antioxidants in human health and disease. **Annu Rev Nutr.** 16, 33-50, 1996.

HAMBLEY, T.W. Metal-Based Therapeutics. **Science**, USA, v. 318, p.1392, 2007.

HAMIL, A. M.; ABDELKAREM, M.; HEMMET, M.; EL-AJAILY, M. M. International **Journal of ChemTech Research**, V. 4, P. 682-685, 2012.

HANAHAHAN, D.; WEINBERG, R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, USA v. 144, p. 646, 2011.

HARVEY, J., HARDY, S.C., ASHFORD, M.L.J., Dual actions of the metabolic inhibitor, sodium azide on KATP channel currents in the rat CRI-G1 insulinoma cell line. **Br. J. Pharmacol.** 126, 51–60, 1999.

HARRIS, D.C. **Análise Química Quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC Editora, 2001.

HASINOFF, B. BRIAN; XING WU; ARUN A. YADAV; DAYWIN PATEL; HUI ZHANG; DE-SHEN WANG; ZHE-SHENG CHEN; JACK C. YALOWICH. Cellular mechanisms of the cytotoxicity of the anticancer drug elesclomol and its complex with Cu(II). **Biochemical Pharmacology**. V.93, P. 266-276, 2015.

HEDLEY D, AISHA SHAMAS-DIN, SUE CHOW, DEBORAH SANFELICE, ANDRE C. SCHUH, JOSEPH M. BRANDWEIN, MATTHEW D. SEFTTEL, VIKAS GUPTA, KAREN W. L. YEE AND AARON D. SCHIMMER. A phase I study of elesclomol sodium in patients with acute myeloid leucemia. **Leukemia & lymphoma**, V. 57, P. 2437–2440, 2016.

HERNÁNDEZ, V; SALGADO-BARRERA, J. J. RAMÍREZ-ESPINOSA, S. ESTRADA-SOTO, F. HERNÁNDEZ-LUIS; Synthesis and molecular docking of N'-arylidene-5-(4-chlorophenyl)-1-(3,4-dichlorophenyl)-4-methyl-1H-pyrazole-3-carbohydrazides as novel hypoglycemic and antioxidant dual agentes. **Bioorg.Med.Chem.** V. 24, P. 2298, 2016.

HINIS, M; KULDIP, S; DEMET, E; AYFER, M; Synthesis, characterization, and biological evaluation of new copper complexes of naphthyl pyrazole ligands. **Turkish Journal of Chemistry**. V. 45, p. 634-646, 2021.

HOLLA, B. S.; MAHALINGA, M.; KARTHIKEYAN, M. S.; AKBERALI, P. M.; SHETTY, N. S. PATEL, M. G.; DESAI, S. B.; DESAI, K. R. Synthesis of some novel pyrazolo[3,4-d]pyrimidine derivates as potential antimicrobial agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 6, p. 2040-2047, 2005.

HUANG, R; WALLQVIST, A; COVELL, D; Anticancer metal compounds in NCI's tumor-screening database: putative mode of action. **Biochem Pharmacol** 69:1009–1039, 2005.

Huang, X.-F., Y.-B. Zhang, X.-L. Wang, J.-F. Tang, B.-F. Ruan. **J. Coord. Chem.**, v. 64, p. 630, 2011.

IFTIKHAR, B; KANWAL, J; MUHAMMAD, S; ULLAH, K; ZAREEN, A; BUSHRA, M; VICKIE, M; Synthesis, characterization and biological assay of Salicylaldehyde Schiff base Cu(II) complexes and their precursors. **Journal of Molecular Structure**. V. 1155, P. 337-348, 2018.

JANA, A. BRANDÃO, P. MONDAL, G. BERA, P. A. SANTRA, JANA, A.D. R.B. MOKHAMATAM, S.K. MANNA, N. BHATTACHARYYA, P. BERA, Synthesis, characterization, cytotoxicity effect and DNA cleavage study of symmetric dinuclear chloro and azido bridged copper(II) complexes of naphthyl-pyrazole based ligand, **Inorganica Chim Acta**. V. 482, P.621–634, 2018.

JAYARAJU, D. KONDAPI, A.K. **Curr. Science**, v.81, p.787, 2001.

JIANG, H. NI, F. LIU, S. GU, P. YU E Y. GOU, "Binuclear Schiff base copper(II) complexes: Syntheses, crystal structures, HSA interaction and anti-cancer properties," **Inorganica Chimica Acta**, v. 499, p. 119186, 2020.

KAIM, W. SCHWEDERSKI, B. KLEIN, A. Bioinorganic Chemistry-Inorganic Elements in the Chemistry of Life: **An Introduction and Guide**, 2nd Ed, Wiley, Chichester, 2013.

KARGAR, H. AMIR, A. ARDAKANI, M. NAWAZ, T. MUHAMMAD, A. KHURRAM, S. MUNAWAR. Synthesis, spectral characterization, crystal structure and antibacterial activity of nickel(II), copper(II) and zinc(II) complexes containing ONNO donor Schiff base ligands. **Journal of Molecular Structure**. V. 1233, P.130112, 2021.

KATARZYNA, MALINOWSKA; LORENZ, INGO-PETER; SADOWSKA, BEATA; MUCHA, PAULINA. Complexos de Íons Metálicos com Pirazóis, Aziridinas e Diaziridinas – Síntese e Atividade Biológica. **Current Medicinal Chemistry**, V.26, P. 648-663(16), 2019.

KATRIZKY, A. R. Handbook of Heterocyclic Chemistry, **Pergamon Press**: Oxford 1984;

KEYPOUR, H. MAHMOUDABADI, M. SHOOSHTARI. A. BAYAT, M. KARAMIAN, R. M. ASADBEGY, R. Synthesis, crystal structure, theoretical studies and biological properties of three novel trigonal prismatic Co(II), Ni(II) and Cu(II) macroacyclic Schiff base complexes incorporating piperazine moiety. **Inorganica Chimica Acta**, V. 478, P. 176-186, 2018.

KESKIC, T.; COBELJIC, B.; GRUDEN, M.; ANĐELKOVIC K.; PEVEC, A.; TUREL, I.; RADANOVIC, D.; ZLATAR, M. What Is the Nature of Interactions of BF₄⁻, NO₃⁻, and ClO⁻ to Cu(II) Complexes with Girard's T Hydrazine? When Can Binuclear Complexes Be Formed? **Cryst Growth Des.** V. 19, P. 4810–4821, 2019.

KIRSHNER JR, HE S, BALASUBRAMANYAM V; Elesclomol induces cancer cell apoptosis through oxidative stress. **Mol Cancer Ther.** V. 7, P. 2319–2327, 2008.

KUPCEWICZ, B. K. SOBIESIAK, K. MALINOWSKA, K. KOPROWSKA, M. CZYZ, B. KEPPLER, E. Budzisz. Copper(II) complexes with derivatives of pyrazole as potential antioxidant enzyme mimics. **Med Chem Res.** p. 2395–2402, 2013.

KUSKOSKI EM, ASUERO AG, TRONCOSO AM, MANCINI FILHO J, FETT R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Cien Tecnol Aliment.** V. 25(4):p. 726–32, 2005.

LI, M. KONG, L.L. GOU, Y. YANG, F. H. LIANG, DNA binding, cytotoxicity and apoptosis induction activity of a mixed-ligand copper(II) complex with taurine Schiff base and imidazole. **Spectrochim, Acta, Part A** V.128, P. 686–693, 2014.

LI, M.J. LAN, T.Y. LIN, Z.S. YI, C.Q. CHEN, G.N. Synthesis, characterization, and DNA binding of a novel ligand and its Cu (II) complex, **J. Biol. Inorg. Chem.** V.18, P. 993–1003, 2013.

LI, X.; ZHANG, Z.; WANG, C.; ZHANG, T.; HE, K.; DENG, F. Synthesis, crystal structure and action on Escherichia coli by microcalorimetry of copper complexes with 1,10- phenanthroline and amino acid. **Journal of Inorganic Biochemistry.** v.105, p. 23–30, 2011.

LINDER, MC; HAZEGH-AZAM, M; Copper biochemistry and molecular biology. **Am J Clin Nutr** 63:797S–811S, 1996.

LIPINSKI, C.A. - Lead and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 1, p. 337–341, 2004.

LIU, Z; ZHOU, T; ZIEGLER, A.C; DIMITRION, P; ZUO, L; Oxidative stress in neurodegenerative diseases: from molecular mechanisms to clinical applications. **Oxid. Med. Cell. Longev.** V.17, P.1–11, 2017.

LOVISON, D. ALESSI, D. L. ALLEGRI, F. BALDAN, M. BALLICO, G. DAMANTE, M.GALASSO, D. GUARDAVACCARO, S. RUGGIERI, A. MELCHIOR, D. VECLANI, C. NARDON, W. BARATTA. Enantioselective Cytotoxicity of Chiral Diphosphine Ruthenium(II) Complexes Against Cancer Cells. **Chem.Eur. J.** P. e202200200, 2022.

MACLEAN, L. DARIUSZ, K. HOLLIE, J. SIOBHÁN, M. MICHAEL, D. ORLA HOWED, MARCOS D. PEREIRAE, NÓRA V. MAYF, ÉVA A. ENYEDYG,

BERNADETTE S. CREAVER. Copper(II) complexes of coumarin-derived Schiff base ligands: Pro- or antioxidant activity in MCF-7 cells?. **Journal of Inorganic Biochemistry** V. 197, p. 110702, 2019.

MACHADO, T; MARTINS, C; BUENO, D; NUNES, I; BUSATTO, F; CARGELUTTI, R; LUCHESE, C; CASAGRANDE JR., O; SAFFI, J; WILHELM, E; PINHEIRO, A; Synthesis, molecular structure and antioxidant activity of bis [L(μ 2-chloro) copper(II)] supported by phenoxy/naphthxy-imine ligands. **Journal of Inorganic Biochemistry**. V. 2010, p. 111130, 2020.

MACHADO, S. T. 2022. Síntese e caracterização de novos complexos de cobre(II) contendo ligantes naftalato-imina e aminopirazois de interesse medicinal. **Dissertação de Pós-Graduação em Química -UFPEI**, Pelotas, 2022.

MAES, M., GALECKI, P., CHANG, Y.S., BERK, M., A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative process in that illness. *Progr. Neuro-Psychopharmacol.* **Biol. Psychiatry**. V. 35, p. 676–692, 2011.

MALLESHA, LINGAPPA; MOHANA, N. KIKKERI; VEERESH, BANTAL. Synthesis and biological activities of Schiff bases of gabapentin with different aldehydes and ketones: a structure–activity relationship study. **Medicinal Chemistry Research**, V. 21, P. 1–9, 2012.

MALINOWSKA, K; INGO-PETER, L; BEATA S; PAULINA, M; Metal Ion Complexes with Pyrazoles, Aziridines and Diaziridines - Synthesis and Biological Activity. **Curr Med Chem**. V. 26(4) P. 648-663, 2019.

MANJURI K. KOLEY, SIDHALI UDAY PARSEKAR, NATARAJAN DURAI PANDY, MANIKANTAN SYAMALA KIRAN, BABU VARGHESE, PERIAKARUPPAN T. MANOHARAN, ADITYA P. KOLEY. DNA binding and cytotoxicity of two Cu(II) complexes containing a Schiff base ligand along with 1,10-phenanthroline or imidazole as a coligand. **Inorganica Chimica Acta**. V.1693(17), P. 31717-6, 2018.

MARTINS, D. A. et al., Copper(II)-fluoroquinolone complex with anti-trypanosoma cruzi activity and DNA binding ability. **Biometals**, v. 25, p. 951-960, 2012, 2016.

MARTINS, D. A. et al., Norfloxacin and n-donor mixed-ligand copper(II) complexes: synthesis, albumin interaction and anti-trypanosoma cruzi activity. **Bioinorganic Chemistry and Applications**, v. 2016, p. 11, 2016.

MARZANO, C.; PELLEI, M.; TISATO, F.; SANTINI, C. Copper Complexes as Anticancer Agents. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**. v. 9, p. 185-211, 2009

MASSOUD, S. LOUKA, F.R. DUCHARME, G. FISCHER, R. MAUTNER, F. J. VANCO, R. HERCHEL, Z. DVORÁK, Z. TRÁVNÍČEK. Copper(II) complexes based on tripodal pyrazolyl amines: synthesis, structure, magnetic properties and anticancer activity, **J. Inorg. Biochem.** V.180, P. 39–46, 2018.

MATILLA-DUE, A; ASHIZAWA, T; BRICE, A; MAGRI, S; MCFARLAND, K.N; PANDOLFO, M; Consensus paper: pathological mechanisms underlying neurodegeneration in spinocerebellar ataxias. **Cerebellum.** V.13 (2), P. 269–302, 2013.

MATOS, CP; ADIGUZEL, Z; YILDIZHAN, Y; CEVATEMRE, B; ONDER, TB; CEVIK, O; NUNES, P; FERREIRA, LP; CARVALHO, MD; CAMPOS, DL; PAVAN, FR; PESSOA, J; GARCIA, MH; TOMAZ, AI; CORREIA, I; ACILAN, C; Experimental data on novel Fe(III)-complexes containing phenanthroline derivatives for their anticancer properties. **Eur J Med Chem.** V. 176 P. 492–512, 2019.

MCGIVERN, T. J. P.; AFSHARPOUR, S.; MARMION, C. J. Copper complexes as artificial DNA metallonucleases: From Sigman's reagent to next generation anti-cancer agent? **Inorganica Chimica Acta**, v. 472, p. 12–39, 2018.

MEDICI, S. *et al.* Noble metals in medicine: Latest advances. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 284, p. 329–350, 2015.

MEOTTI, F.C., STANGHERLIN, E.C., NOGUEIRA, C.W., ROCHA, J.B.T. Protective role of aryl and alkyl diselenides on lipid peroxidation. **Environ. Res.** 94, 276–282, 2004.

MKOYI H.D. *et al.* *Pyrazol-1-yl carbonyl palladium complexes as catalysts for ethylene polymerization reaction.* **Journal of Organometallic Chemistry.** V. 724, p. 95-101, 2013.

MOOSUN, S. JOULE, J.A. BHOWON, M.G. LAULLOO, S.J. Phosphorus, Sulfur Silicon **Relat. Elem.** 187 (2012) 1383

MOOSUN, S; JHAUMEER-LAULLOO, S; HOSTEN, E; , BETZ, R; BHOWON, M; Crystal structures of o,o0 -(N,N0 -dipicolinyldene)diazadiphenyl disulfide and its copper (II) complex: Antioxidant, antibacterial and DNA-binding properties. **Inorganica Chimica Acta.** 430 P. 8-16, 2015.

MOUADILI, A. ATTAYIBAT, A. S. EL KADIRI, S. RADI, R. TOUZANI. Catecholase activity investigations using in situ copper complexes with pyrazole and pyridine based ligands. **Applied Catalysis A: General.** p. 456, 2013.

MUHAMMAD, N. GUO, Z. Metal-based anticancer chemotherapeutic agents, **Curr. Opin. Chem. Biol.** V.19 P.144–153, 2014.

MUKHERJEE, R. *In Comprehensive Coordination Chemistry II-From Biology to Nanotechnology*; McCleverty, J. A., Meyer, T. J., Eds.; **Elsevier Ltd.**: Oxford, U.K., 2004; Vol. 6.

MUKHERJEE, T; PESSOA, J; KUMAR, A; SARKAR, AR; Synthesis, structure, magnetic properties and biological activity of supramolecular copper(ii) and nickel(ii) complexes with a Schiff base ligand derived from vitamin B6. **Dalton Trans.** V. 42, P. 2594–2607, 2013.

NAJAT M. ABURAS; NIKOLA R. STEVANOVIĆ; MILOŠ K. MILČIĆ; ALEKSANDAR Đ. LOLIĆ; MAJA M. NATIĆ; ŽIVOSLAV LJ. TEŠIĆ; RADA M. BAOŠIĆ. Influence of the structure on the antioxidant activity of tetradentate schiff bases and their copper(II) complexes: possible mechanisms. **J. Braz. Chem. Soc.** V. 24, 2013.

NARTOP, D.; SARI, N.; ALTUNDAS, A.; OGUTCU, H. **Journal of Applied Polymer Science**, V.125, P. 1796-1803, 2012.

NETTO A. V. G. *A química supramolecular de complexos pirazólicos*. **Quim. Nova**, No. 5, Vol. 3, p.1208-1217, 2008,.

NIKI, E., Assessment of antioxidant capacity in vitro and in vivo Patten, D.A., Germain, M., Kelly, M.A., Slack, R.S., 2010. Reactive oxygen species: stuck in the middle of neurodegeneration. **J. Alzheimers Dis.** V. 20, p. S357–S367, 2010.

NOGUEIRA, C.W.; ZENI, G.; ROCHA, J.B.T. *Organoselenium and organotellurium compounds: Toxicology and pharmacology*. **Chem. Rev.** V. 104, p. 6255, 2004.

OLIVEIRA, D.; AQUINO, T.; EDMILSON, J.; PERIN, G.; JACOB, R.; ALVES, D. Direct Synthesis of 4-Organylselanylpurazoles by Copper Catalyzed One-Pot Cyclocondensation and C-H Bond Selenylation Reactions. **Advanced Synthesis and Catalysis**, Brasil, v. 357, p. 4041-4049, 2015.

OLIVEIRA, D.; SOUSA, F.; BIRMANN P; PESARICO, A.; ALVES, D.; GUIMARÃES, R.; SAVEGNAGO, L.; Evaluation of antioxidant activity and toxicity of sulfur- or selenium-containing 4-(arylchalcogenyl)-1H-purazoles. **Can. J. Physiol. Pharmacol.** V. 98, p. 441–448, 2020.

OTT, I. GUST, R. Non platinum metal complexes as anticancer drugs. **Arch. Pharm.** V.340 P.117–126, 2007.

OUYANG, Y.; CAI, X.; SHI, Q.; LIU, L.; WAN, D.; TAN, S. Poly-L-lysine-modified reduced graphene oxide stabilizes the copper nanoparticles with higher water-solubility and long-term additively antibacterial activity. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 107, p. 107–114, 2013.

P.D. Ray, B.-W. Huang, Y. Tsuji, *Cell. Signal.* 24 (2012) 981–990.

PALANIMURUGAN, A. DHANALAKSHMI, P. SELVAPANDIAN, A. KULANDAI SAMY; Electrochemical behavior, structural, morphological, Calf Thymus-DNA interaction and in-vitro antimicrobial studies of synthesized Schiff base transition metal complexes. **Heliyon**, vol. 5 p. 23, 2019.

PAREZ, J. LIERA, L. Pyrazole complexes and supramolecular chemistry, **Eur. J. Inorg. Chem.** V.33, P.4913–4925, 2009.

PATEL, M.N.; JOSHI, H.N.; PATEL, C.R.; Cytotoxic, antibacterial, DNA interaction and superoxide dismutase like activities of sparfloxacin drug based copper (II) complexes with nitrogen donor ligands. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. v.104, p 48-55, 2013.

PEDROSA, P. et al. Inorganic Coordination Chemistry: Where We Stand in Cancer Treatment? In: **Basic Concepts Viewed from Frontier in Inorganic Coordination Chemistry**. V.45, p. 38–65, 2018.

PEREIRA, M.B. FONTANA, L.A. SIQUEIRA, J.D. AURAS, B.L. M. P. DA SILVA, A. NEVES, P. GABRIEL, H. TERENCE, B. A. IGLESIAS, D. F. BACK, **Inorg. Chim. Acta**. V. 469, P. 561-575, 2018.

PÉREZ-JIMÉNEZ J, SAURA-CALIXTO F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Res Int.** v. 39 p. 791-800, 2006.

PERIN, G.; LENARDÃO, E.J.; JACOB, R.G.; PANATIERI, R.B. Synthesis of Vinyl Selenides. **Chem. Rev.** V.109, p.1277, 2009.

PICH, T. C. SANTOS, P. FORTUNATO, V. O. T. CHIARELLO, M. SOARES, Q. B. MACHADO, M. DUMAS, F. TERENCE, H. MOURA, H. S. Mixed Ternary Mononuclear Copper(II) Complexes Based on Valproic Acid with 1,10-Phenanthroline and 2,2'-Bipyridine Ligands: DNA Interaction and Cytotoxicity in V79 Cells. **J. Braz. Chem. Soc.** V. 30, p.597-613, 2019.

PRADO A. Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais. Dissertação [Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos] - **Universidade de São Paulo**; 2009.

PRAMANIK, A.; LAHA, D.; BHATTACHARYA, D.; PRAMANIK, P.; KARMAKAR, P. A novel study of antibacterial activity of copper iodide nanoparticle mediated by DNA and membrane damage. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v. 96, p. 50–55, 2012.

PRANGER, L; GOLDSTEIN, A; TANNENBAUM, R; Competitive self-assembly of symmetrical, difunctional molecules on ambient copper surfaces. **Langmuir**, V. 21, P. 5396-5404, 2005.

PRIOR, R.L., WU, X., SCHAICH, K., Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **J Agric Food Chem**. 53, 4290-4302, 2005.

pyrazolyl heterocycles. **European Journal of Medicinal Chemistry**, USA, v. 46, p.5258, 2011.

QIU-YUN, C. DONG-FANG, Z. JUAN, H. WEN-JIE, G. JING, G. Synthesis, anticancer activities, interaction with DNA and mitochondria of manganese complexes, **J. Inorg. Biochem**. V.11, P.1141–1417, 2010.

RAEVSKY, O.A.; Physicochemical Descriptors in Property-Based Drug Design, **Mini Rev. Med. Chem.**, v. 4, p. 1041-1052, 2004.

RAJALAKSHMI, S.; WEYHERMULLER, T.; DINESH, M.; NAIR, B.U. S. Copper (II) complexes of terpyridine derivatives: A footstep towards development of antiproliferative agent for breast cancer. **Journal of Inorganic Biochemistry**. v.117, p. 48–59, 2012.

RAJALAKSHMI, S.; WEYHERMULLER, T.; FREDDY, A.J.; VASANTHI, H.R.; NAIR, B.U. Anomalous behavior of pentacoordinate copper complexes of dimethylphenanthroline and derivatives of terpyridine ligands: Studies on DNA binding, cleavage and apoptotic activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 46, p. 608–617, 2011.

RAJESWARAN, A.; TROJAN, B.; GIANNELLI, M. Efficacy and side effects of cisplatin- and carboplatin-based doublet chemotherapeutic regimens versus nonplatinum-based doublet chemotherapeutic regimens as first line treatment of metastatic non-small cell lung carcinoma: a systematic review of randomized controlled trials. **Lung Cancer**, Suíça, v.1 p. 59, 2018.

RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., RICE-EVANS, C., Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radica Biol Med**. 26, 1231-1237, 1999.

RECZEK, C.R. CHANDEL, N.S. ANNU. The Two Faces of Reactive Oxygen Species in Cancer. **Rev. Cancer Biol**. V.1, P.79–98, 2017.

REDZA-DTORDOIR, M; AVERILL-BATES, D.A. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. **Biochimica Biophysica Acta** V.1863 (12), P. 2977–2992, 2016.

REGUERA, L; CANO, A; RODRIGUEZ-HERNANDEZ, J; RIVERA, D; EYCKEN, E; RAMIREZ-ROSALES, D; E REGUERA, E. Cu(I)Cu(II) and Ag(I) p-isocyanobenzoates as novel 1D semiconducting coordination oligomers. **Dalton Transactions**. V. 49, P. 12432-12440, 2020.

RIZZOTTO, M. Metal complexes as antimicrobial agents. A search for antibacterial agents., Argentina: **InTech**, V.7, P. 73-88, 2012.

ROSEMBERG, B.; VANCAMP, L.; KRIGAS, T. Inhibition of Cell Division in *Escherichia coli* by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. **Nature**, USA, v. 205, p. 698-699, 1965.

ROSSATO, J.I., KETZER, L.A., CENTURIÃO, F.B., SILVA, S.J.N., LÜDTKE, D.S., ZENI, G., BRAGA, A.L., RUBIN, M.A., ROCHA, J.B.T. Antioxidant properties of new chalcogenides against lipid peroxidation in rat brain. **Neurochem. Res.** 27, 297–303, 2001.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C.G.; PÉEZ-JIMN, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Metodologia científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS•⁺. **Comunicado técnico online**, v.128, 2007.

RUIZ-AZUARA, L; BRAVO-GÓMEZ, M. Copper compounds in cancer chemotherapy. **Curr Med Chem**.V. 17(31), P. 3606-15, 2010.

SALMAN, Y., BARLAS, F.; YAVUZ, M.; KAYA, K.; TIMUR, S.; TELLİ F.Ç. Synthesis, characterization and biological application of dinuclear Cu(II) complexes of Schiff base ligands of galactochloralose and α -chloralose. **Inorganica Chimica Acta**, Turkey, v.483, p.98-105, 2018.

EMAM SANAA M.; SAEYDA A. ABOUEL-ENEIN; EMAN M. ABDEL-SATAR Structural characterization, thermal investigation and biological activity of metal complexes containing Schiff Base ligand (Z)-3-(1-((4,6-dimethyl-1H-pyrazolo[3,4-b] pyridin-3-yl)imino)ethyl)-4-hydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-one. **Appl Organometal Chem**. V.19, P.e4847, 2019.

SANDHAUS, S; TAYLOR, R; EDWARDS, T; HUDDLESTON, A; WOOTEN, Y; VENKATRAMAN, R; WEBER, R.T; GONZALEZSARR, A; MARTIN, P. M; CAGLE, P. A novel copper(II) complex identified as a potent drug against

colorectal and breast cancer cells and as a poison inhibitor for human topoisomerase II α , **Inorg. Chem. Commun.** V.64 P.45–49, 2016.

SANTINI, C; PELLEI, M; GANDIN, V.; PORCHIA, M.; TISATO, F.; MARZANO, C. Advances in Copper Complexes as Anticancer Agents. **Chemical Reviews**. v.114, p. 815– 862, 2014.

SANTOS, D.B; SCHIAR, V.P.P ; PAIXÃO, M.W ; MEINERZ, D.F ; NOGUEIRA, C.W ; ASCHNER, M ; ROCHA, J.B.T ; BARBOSA, N.B.V. Hemolytic and genotoxic evaluation of organochalcogens in human blood cells in vitro. **Toxicology in Vitro**, Vol.23(6), p.1195-1204, 2009.

SANTOS, M, T; MARTINS, C, C; BUENO, T, D; NUNES, J, I; BUSATTO, F, F; CARGNELUTTI, R; LUCHESE, C; CASAGRANDE, O; WILHELM, A, E; SAFFI, J; PINHEIRO, C. A. Synthesis, molecular structure and antioxidant activity of bis [L(μ 2-chloro)copper(II)] supported by phenoxy/naphthoxy–imine ligands. **Journal of Inorganic Biochemistry**, P. v. 2019.

SAGHATFOROUSH, L.A; HOSSEINPOUR, S; BEZPALKO, M.W; SCOTT KASSEL, W. X-ray crystal structural and spectral studies of copper(II) and nickel(II) complexes of functionalized bis(thiosemicarbazone) ligands and investigation of their electrochemical behavior. **Inorganica Chimica Acta**. V. 484, P. 527-534, 2019.

SATHIYARAJ, S. SAMPATH, K. BUTCHER, R.J. PALLEPOGU, R. JAYABALAKRISHNAN, C. **Eur. J. Med. Chem.** V.64, P.81, 2013.

SHAMSUZZAMAN, S. SIDDIQUI, T. ALAM, M.G. DAR, M.A. Synthesis, characterization and anticancer studies of new steroidal oxadiazole, pyrrole and pyrazole derivatives, **J. Saudi Chem. Soc.** V.19 P.387–391, 2015.

SHARMA, A; SHARMA, D. SharIn K; silico study of iron, zinc and copper binding proteins of *Pseudomonas syringae* pv. *lapsea*: Emphasis on secreted metalloproteins,” **Frontiers in Microbiology**, V. 9, P. 1-19, 2018.

SILVA, D. C.; SILVA, G. F. 2006. Métodos Eletroanalíticos: Voltametria Cíclica. Monografia de Pós-Graduação em Química – UFMG, Belo Horizonte, 2006.

SINGH K. *et al.* **European Journal of Medicinal Chemistry**. 2012, p. 313-321, Vol. 52

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 1a reimp./1a ed., São Paulo: Thomson Learning, 2007.

SORENSEN, J. R. J. Cu, Fe, Mn, and Zn Chelates Offer a Medicinal Chemistry Approach to Overcoming Radiation Injury **Prog. Med. Chem.** p.437, 1989.

SOUSA, I.; CLARO, V., PEREIRA, J. L.; AMARAL, A.L.; CUNHA-SILVA, L.; DE CASTRO, B.; FEIO, M.J.; PEREIRA, E.; GAMEIRO, P. Synthesis, characterization and antibacterial studies of a copper(II) levofloxacin ternary complex. **Journal Inorganic Biochemistry**. v.110, p. 64-71, 2012.

SOUZA, P. **Estudos eletroquímicos de complexos de cu(ii) de antibióticos da classe das fluorquinolonas**. Dissertação (Mestrado em Química)-Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, p. 11, 2011.

SRISKANTHADEVAN, S. JEYARAJU DV, CHUNG TE. AML cells have low spare reserve capacity in their respiratory chain that renders them susceptible to oxidative metabolic stress. **Blood**. V. 125, P. 2120–2130, 2015.

STAROSTA, R. Copper(I) (Pseudo)Halide Complexes with Neocuproine and Aminomethylphosphines Derived from Morpholine and Thiomorpholine – In Vitro Cytotoxic and Antimicrobial Activity and the Interactions with DNA and Serum Albumins. **Chemical Biology & Drug Design**. v.82, p. 579–586, 2013.

SUCUPIRAA, N; BRAGA, A; PEREIRA G ; NASCIMENTO, J. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. **Cient Ciênc Biol Saúde**. P. 263-9, 2012.

SUMALATHA, V. SREENU, D. RAMBABU, A. GALI RAMESH, S. KAVADI. Antioxidant, antimicrobial, DNA binding and cleavage studies of novel Co(II), Ni(II) and Cu(II) complexes of N, O donor Schiff bases: synthesis and spectral characterization. **Journal Pre-proof**. V. 1229, P.129606, 2021.

TABASSUM, S.; ASIM, A.; ARJMAND, F.; AFZAL, M.; BAGCHI, V. Synthesis and characterization of copper (II) and zinc (II)-based potential chemotherapeutic compounds: their biological evaluation viz. DNA binding profile, cleavage and antimicrobial activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v.58, p. 308–316, 2012.

TADELE K.T. Antioxidant Activity of Schiff Bases and Their Metal Complexes: A Recent Review. **J. Pharm. Med. Res**. V.3, p. 73-77, 2017.

TANG Y, ZHU W., CHEN K., JIANG H. New technologies in computer-aided drug design: Toward target identification and new chemical entity discovery. **Drug Discovery Today: Technologies, Medicinal chemistry** v.3 (3), p. 307-313, 2006.

TARDITO, S; BASSANETTI, I; BIGNARDI, C; ELVIRI, L; TEGONI, M.; MUCCHINO, C; BUSSOLATI, O; FRANCHIGAZZOLA, R; MARCHIO L. **J. Am. Chem. Soc**. V. 133, P. 6235, 2011.

THEKKAE PADIL, V.V.; CERNIK, M. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using gum karaya as a biotemplate and their antibacterial application. **International Journal of Nanomedicine**. v.8, p. 889–898, 2013.

TISATO, F.; MARZANO, C.; PORCHIA, M.; PELLEI, M.; SANTINI, C. Copper in diseases and treatments, and copper-based anticancer strategies. **Medicinal Research Reviews**, Itália, v. 30, p. 708, 2010.

USMAN, M. S.; EL ZOWALATY, M. E.; SHAMELI, K.; ZAINUDDIN, N.; SALAMA, M.; IBRAHIM, N. A. Synthesis, characterization, and antimicrobial properties of copper nanoparticles. **International Journal of Nanomedicine**, vol. 8, no. 1, p. 4467–4479, 2013.

ULUSOY, M., KARABIYIK, H., KILINCARSLAN, R., AYGUN, M., CETINKAYA, B. **S. Struct. Chem.** V. 19, P. 749, 2008.

VALKO, M. LEIBFRITZ, D. MONCOL, J. M.T.D. CRONIN, M. MAZUR, J. TELSER, Int. **J. Biochem. Cell Biol.** V.39, P.44–84, 2007.

VENKATESWARLU, K; KUMAR, M; RAMBABU, A; VAMSIKRISHNA, N; DARAVATH, S; RANGAN, K; Crystal structure, DNA binding, cleavage, antioxidant and antibacterial studies of Cu(II), Ni(II) and Co(III) complexes with 2-(((furan-2-yl)methylamino)methyl)-6-ethoxyphenol Schiff base,” **Journal of Molecular Structure**, V. 1160, P. 198-207, 2018.

VOLLHARDT K. P. C. SCHORE N. E., Delocalized pi systems. Organic chemistry: Structure and function, 6^a ed., New York: **Freeman**. p. 642, 2011.

WANG, J.; KRUDY, G.; HOU, T.; ZHANG, W.; HOLLAND, G.; XU, X. – Development of Reliable Aqueous Solubility Models and Their Application in Druglike Analysis, **J. Chem. Inf. Model**, v. 47, p. 1395-1404, 2007.

WILOCH, M.Z. WAWRZYNIAK, U.E. I. UFNALSKA, G. PIOTROWSKI, A. BONNA, W. WRÓBLEWSKI. Redox Activity of Copper(II) Complexes with NSF₂RY Pentapeptide and Its Analogues. **PLoS ONE**. V.11(8), P.1-13, 2016.

WOLFENDEN, B.S., WILSON, R.L., Radical-cations as reference chromogens in kinetic studies of one-electron transfer reactions: pulse radiolysis studies of 2,2'-azinobis- (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate). **J. Chem Soc Perkin Trans.** 2, 805-812, 1982.

YADAV, M. SOM, S. DEVI, J; Designing, spectroscopic characterization, biological screening and antioxidant activity of mononuclear transition metal complexes of bidentate Schiff base hydrazones. **J. Chem. Sci.** V. 21, P. 133, 2021.

YANG, L.; OKUDA, F.; KOBAYASHI, K.; NOZAKI, K.; TANABE, Y.; ISHII, Y.;

YE, C.; GARD, G. L.; WINTER, R. W.; SYVRET, R. G.; TWAMLEY, B.; SHREEVE, Synthesis of Pentafluorosulfanylpirazole and Pentafluorosulfanyl-1,2,3-triazole and Their Derivatives as Energetic Materials by Click Chemistry **J. M. Org. Lett.** V.9, P.3841, 2007.

YU YU J.&, GITTINS J., Models and software for improving the profitability of pharmaceutical research, **European Journal of Operational Research**, v. 189 p. 459– 475, 2008.

ZENI, G.; PANATIERI, R.B.; LISSNER, E.; MENEZES, P.H.; BRAGA, A.L.; STEFANI, H.A. Synthesis of Polyacetylenic Acids Isolated from *Heisteria acuminata*. **Org. Lett**, v. 3, p. 819, 2001.

ZERROUKI, A; TOUZANI, R; EL KADIRI. S. Synthesis of new derivatized pyrazole based ligands and their catecholase activity studies. **Arab. J. Chem.** V. 4, p.459–464, 2011.

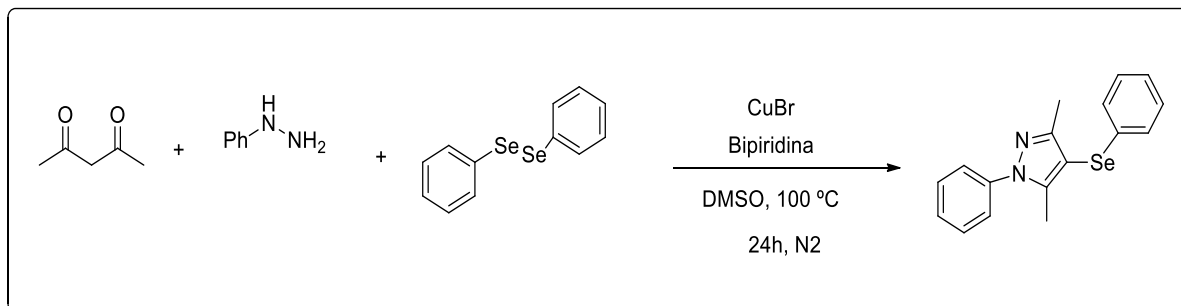
ZHANG, Z. BI. C.; SCHMITT, S.M.; FAN, Y.; DONG, L.; ZUO, J.; DOU, Q.P. 1,10-Phenanthroline promotes copper complexes into tumor cells and induces apoptosis by inhibiting the proteasome activity. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**. v 17, p. 1257–1267, 2012.

ZHENG, Y; YI, Y; WANG, Y; ZHANG, W; DU, M; Preparation of chitosan–copper complexes and their antitumor activity. **Bioorg Med Chem Lett** 16:4127–4129, 2006.

Apêndices

Apêndice A

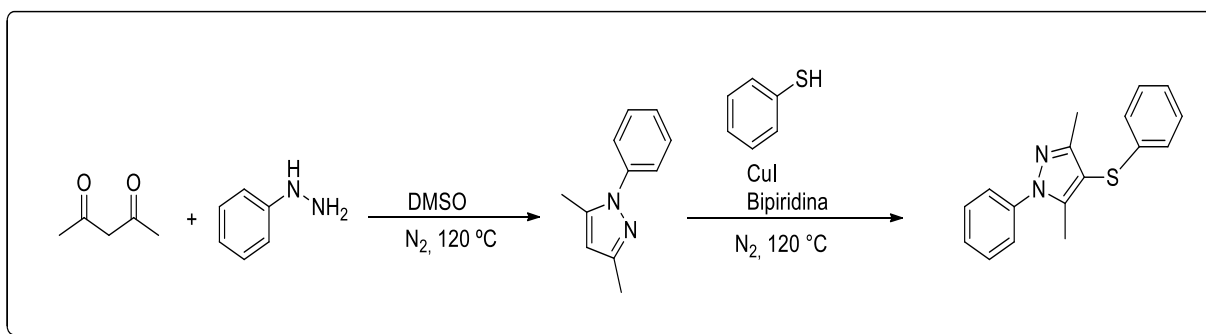
Síntese do [3,5-Dimetil-1-fenil-4-(fenilselanil)-1*H*-pirazol] **1a**



Esquema 5- Rota geral de síntese do pré-ligante **1a**.

Em um balão de fundo redondo de 25 mL adicionou-se a fenilhidrazina (0,5mmol), DMSO (1,0 mL), 2,4-pentanodiona (0,5 mmol), disseleneto de difenila (0,25 mmol), CuBr (10% em mol) e bipyridina (10% em mol). Na sequência, a mistura reacional foi agitada a 100 °C durante 24h. Após, o produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica usando uma mistura de hexano / acetato de etila (98: 2) como eluente para proporcionar o produto desejado. Ao final do procedimento, um sólido de coloração laranja claro com rendimento de 98% (0,161 g) foi obtido. Análise de RMN ¹H (CDCl₃, 200MHz, 25°C): d=7,44 7,46 (m, 4H), 7,32–7,39 (m, 1H), 7,18 (d, J=3,95 Hz, 4H), 7,10–7,14 (m, 1H), 2,36 (s, 3H), 2,33 (s, 3H); ¹³C RMN (CDCl₃, 75 MHz): d = 153,06 (C-N, 1-pirazol), 143,86 (C-Se, benzeno), 139,66 (C-N, 1-benzeno), 132,79 (CH, 1-benzeno), 128,98 (C, 1-benzeno), 128,95 (CH, 1-benzeno), 128,12 (CH, 1-benzeno) 127,56 (CH, 1-benzeno) ,125,58 (CH, 1-benzeno), 124,53 (CH, 1-benzeno), 102 (C-Se, 1-pirazol) , 12,82 (CH₃), 12,32 (CH₃); IV (ATR, cm⁻¹): u 3043 (C-H), u 1571 (C=N), u 1389 (C=C), u 1066 (NN).

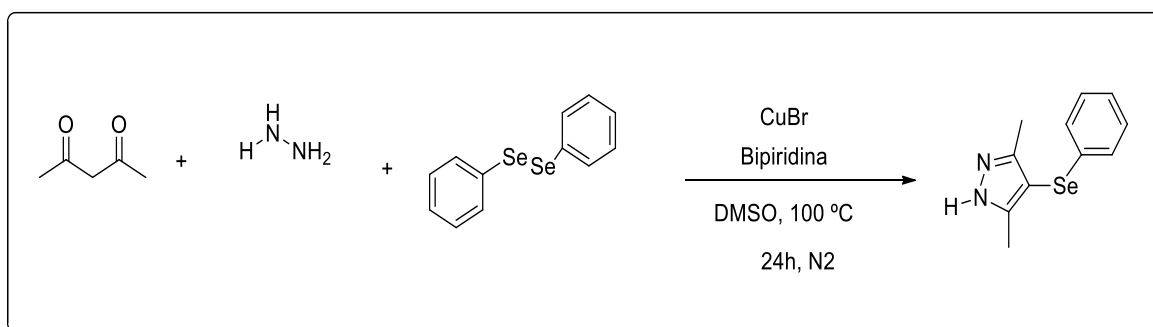
Síntese do [3,5-Dimetil-1-fenil-4-(fenilsulfanil)-1*H*-pirazol] **1b**



Esquema 6- Rota geral de síntese do pré-ligante **1b**.

Em um balão de fundo redondo de 25 mL adicionou-se a fenilidrazina (0,5mmol), DMSO (1,0 mL), 2,4-pentanodiona (0,5 mmol), disseleneto de difenila (0,25 mmol), CuBr (10% em mol) e bipyridina (10% em mol). A seguir, a mistura foi agitada a aproximadamente 90 °C durante 22h. Após o produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica usando uma mistura de hexano / acetato de etila (98: 2) como eluente para proporcionar o respectivo produto. Ao final do procedimento, obteve-se um sólido de coloração branca com rendimento de 85% (0,107 g). Análise de RMN ^1H (CDCl_3 , 400MHz, 25°C): δ =7,19–7,11 (m, 5H), 2.33 (s, 6H); ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz): δ = 149.03 (C-N, 1-pirazol), 133.12 (C-N, 1-pirazol), 129.09 (C-Se, 1-benzeno), 128.16 (CH, 1-benzeno), 125.64 (CH, 1-benzeno), 100.09 (C-Se, 1-pirazol), 15.4 (CH_3), 15.2 (CH_3); IV (ATR, cm^{-1}): ν 3188 (C-H), ν 1578 (C=N), ν 1479 (C=C), ν 1091 (NN).

Síntese do [3,5-Dimetil-4-(fenilselanil)-1*H*-pirazol] **1c**



Esquema 7- Rota geral de síntese do pré-ligante **1c**.

Em um balão reacional de 25 mL sob atmosfera inerte de nitrogênio adicionou-se 2,4-pentanodiona (0,100 g; 1 mmol), 1 equivalente hidrazina

(0,108g) e DMSO como solvente. Deixou-se a mistura reacional sob agitação magnética e temperatura de 120 °C durante 4 horas. Após a formação do pirazol intermediário, adicionou-se 1,2 equivalentes de tiofenol, iodeto de cobre (10 mol %) e de bipyridina (10 mol %). Deixou-se reagir por mais 24 horas mantendo a temperatura de 120 °C levando a formação do produto desejado. Ao final do processo, um sólido de coloração amarelo foi obtido com rendimento de 89% (0,115 g). Análise de ^1H RMN (CDCl_3 , 200 MHz) δ =7,49-7,39 (m, 5H), 7,27-7,22 (m, 2H), 7,13-7,03 (m, 3H), 2,34 (s, 3H), 2,29 (s, 3H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , 100 MHz) δ =153,09 (C-N, pirazol), 144,01 (C, pirazol), 139,80 (C-N, benzeno), 138,27 (C-N, pirazol), 136,42 (C-S, benzeno), 129,07 (C-H, benzeno), 128,82 (C-H, benzeno), 127,71 (C-H, benzeno), 125,46 (C-H, benzeno), 124,87 (C-H, benzeno), 124,65 (C-H, benzeno), 106,18 (C-S, pirazol), 11,98 (CH_3), 11,47 (CH_3); IV (ATR, cm^{-1}): ν 3050 (C-H), ν 1581 (C=N), ν 1379 (C=C), ν 1077 (NN).

Apêndice B

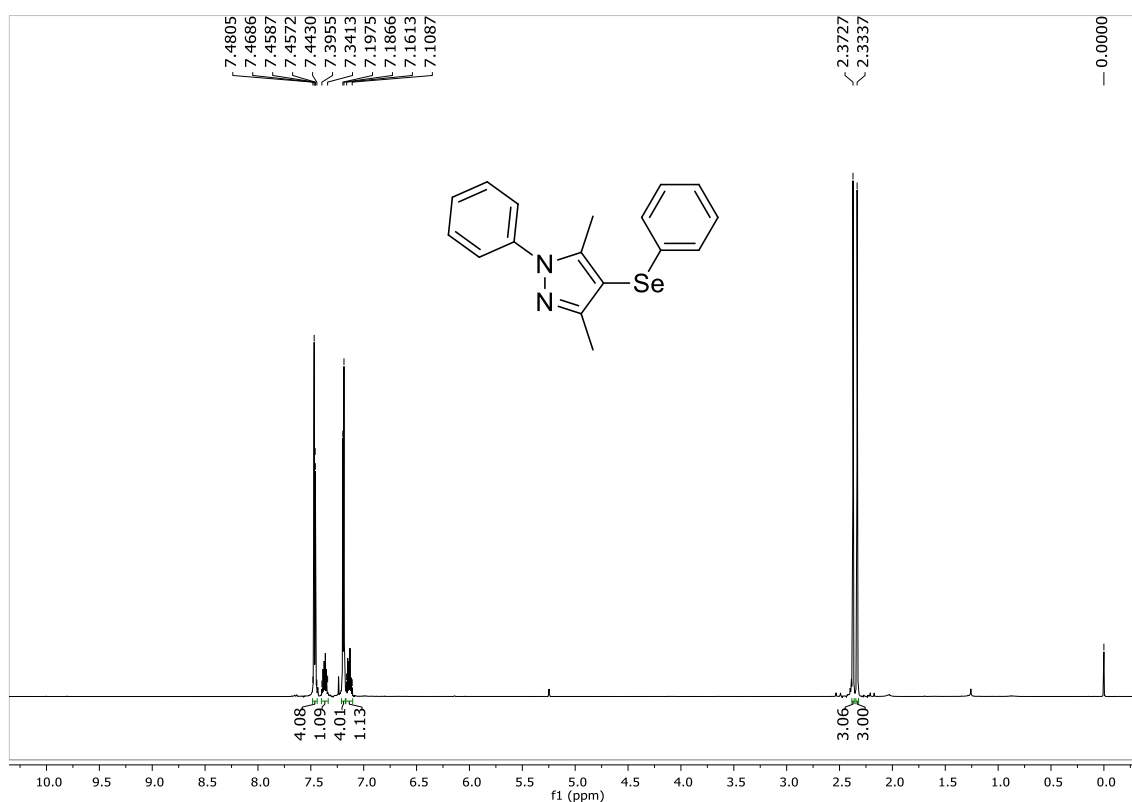


Figura 46- ^1H RMN (200 MHz) espectro do pré-ligante **1a** em CDCl_3 .

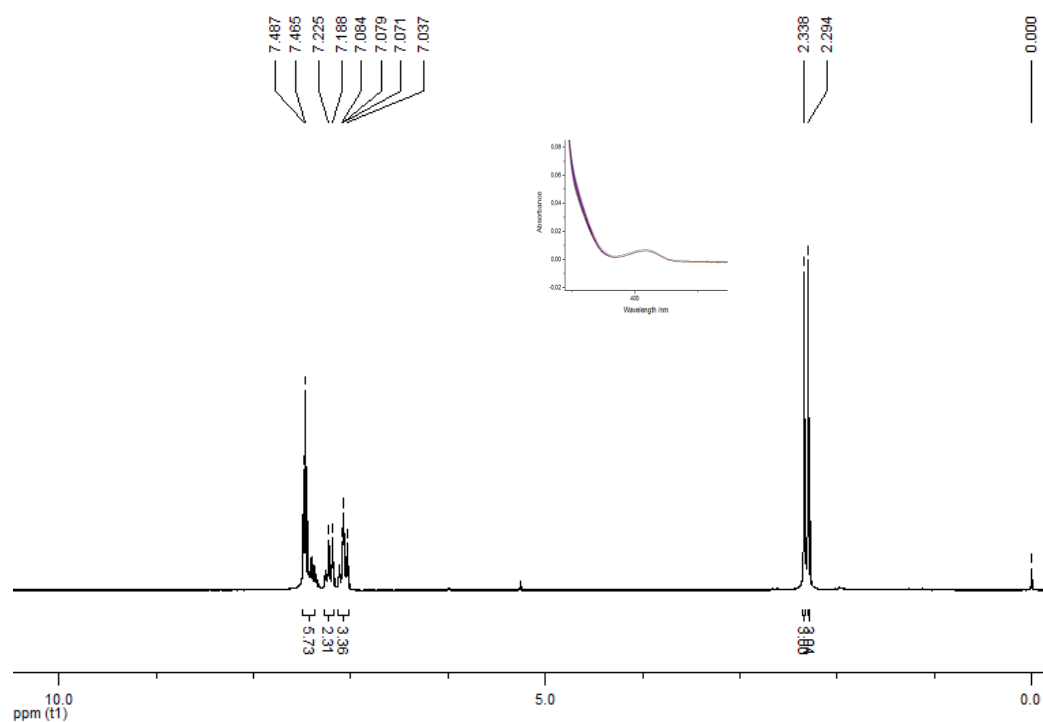


Figura 47- ¹H RMN (400 MHz) espectro do pré-ligante **1b** em CDCl₃.

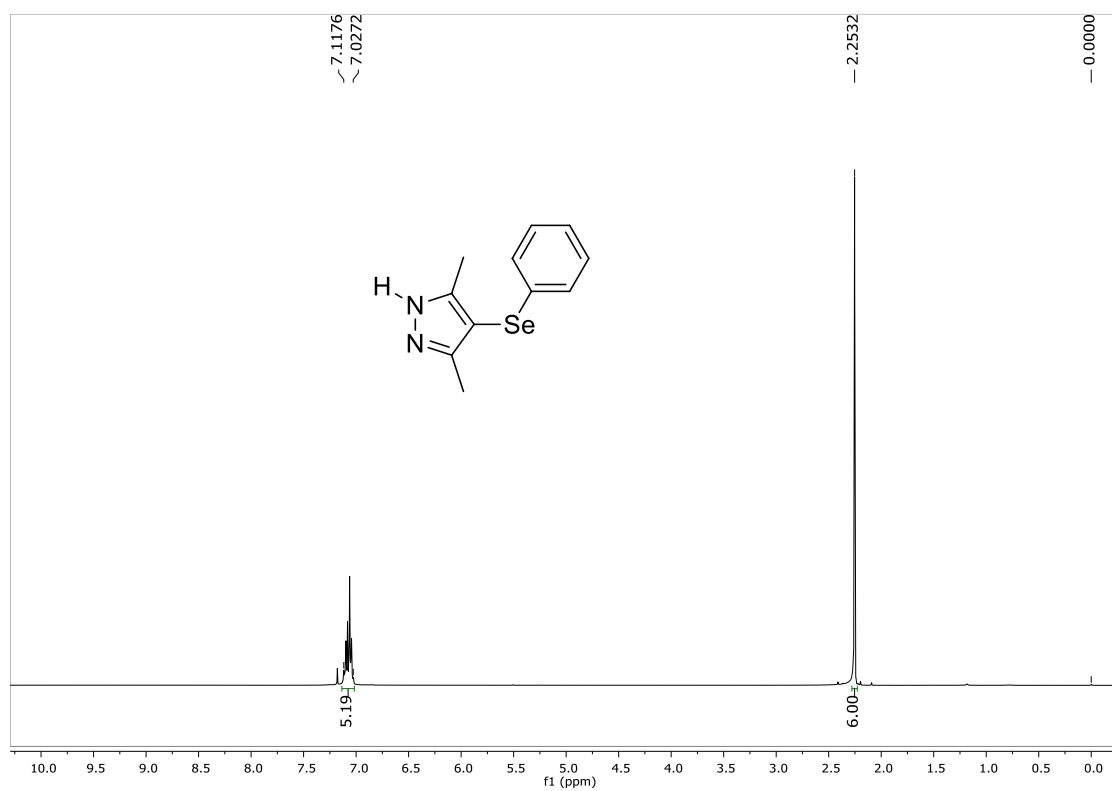


Figura 48- ¹H RMN (200 MHz) espectro do pré-ligante **1c** em CDCl₃.

Apêndice C

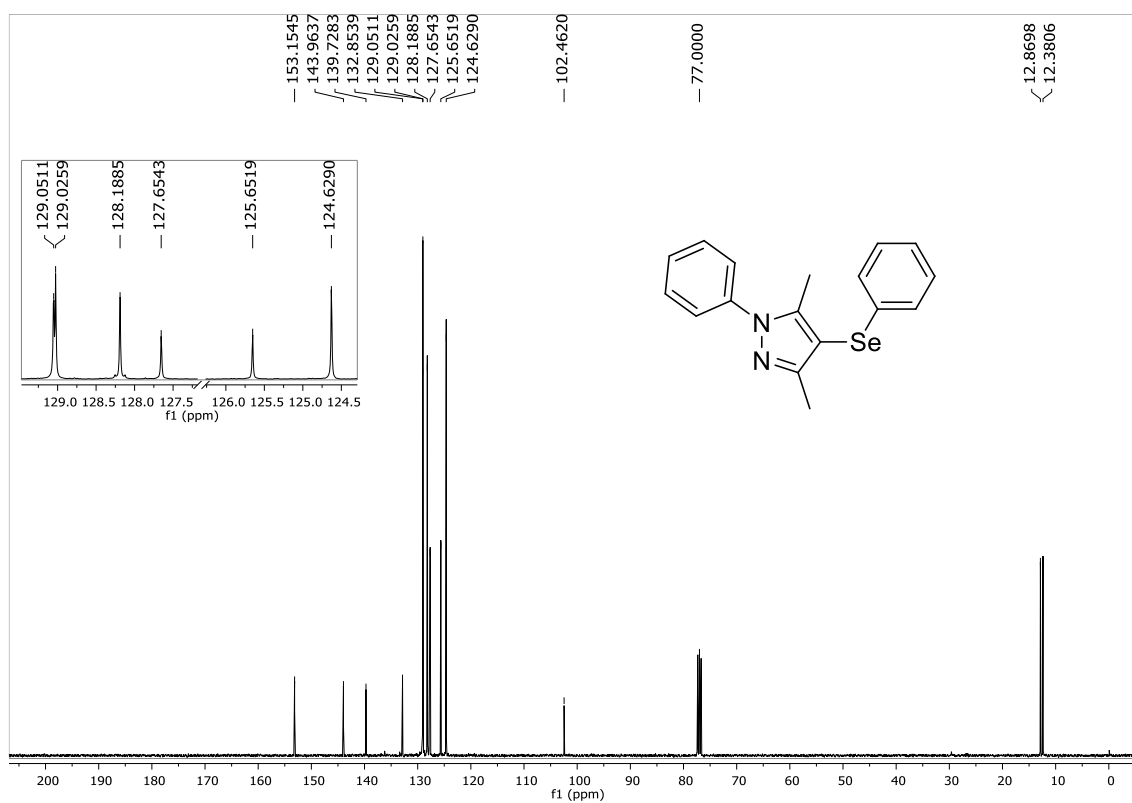


Figura 49- ¹³C RMN (75 MHz) espectro do pré-ligante **1a** em CDCl₃.

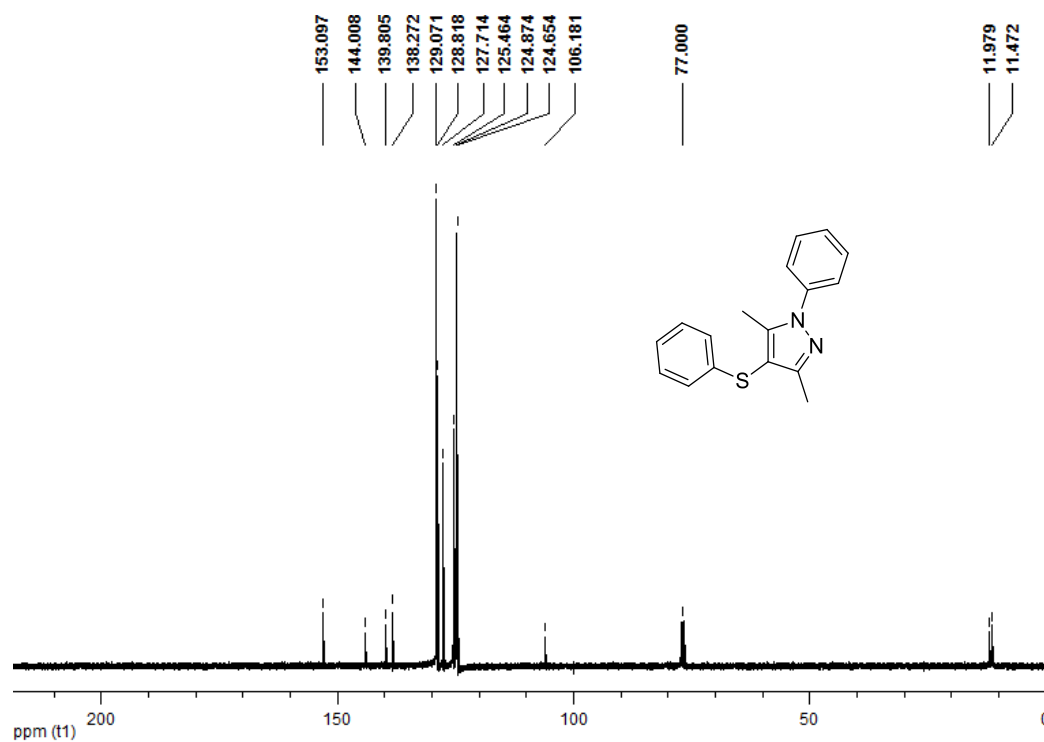


Figura 50- ¹³C RMN (100 MHz) espectro do pré-ligante **1b** em CDCl₃.

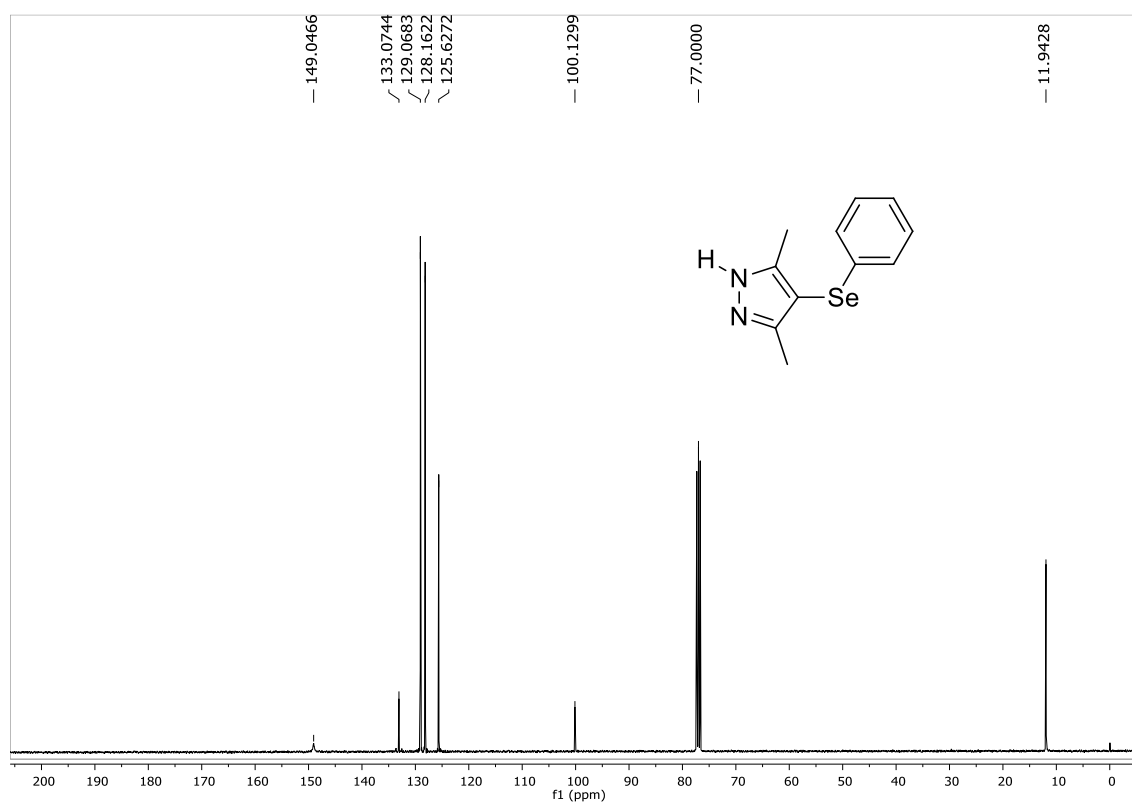
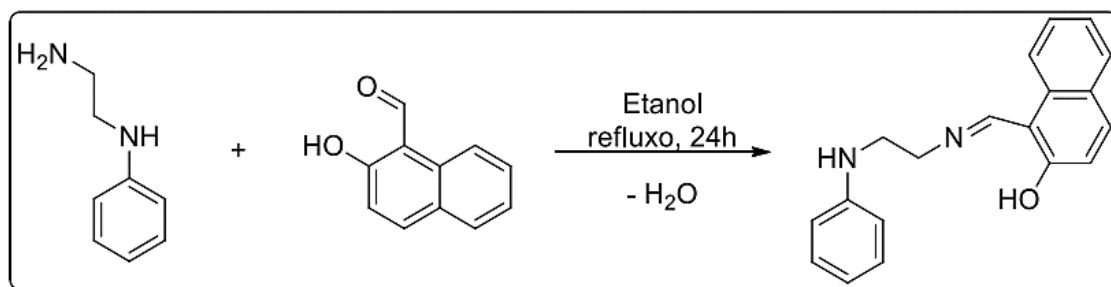


Figura 51- ¹³C RMN (100 MHz) espectro do pré-ligante **1c** em CDCl₃.

Apêndice D

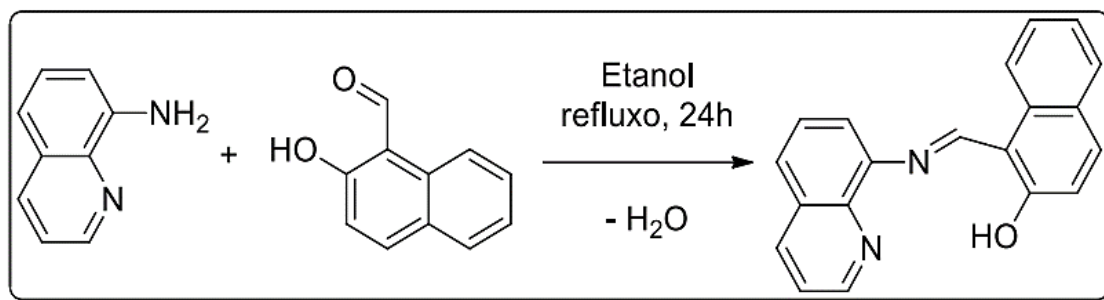
Síntese do $[\text{Ph}(\text{NH})\text{-C}_2\text{H}_4\text{-(N=CH)-2-(OH)C}_{10}\text{H}_6]$ – **1d**



Esquema 8- Reação de síntese do pré-ligante **1d**.

A uma solução de N-feniletilenodiamina (1,15 g, 8,43mmol) em etanol (15 mL) foi adicionada uma solução de 2-hidroxinaftaldeído (1,45 g, 8,43 mmol) em etanol (15 mL). A solução permaneceu em temperatura de refluxo durante 24 h e, posteriormente a mesma foi resfriada à temperatura ambiente. A completa precipitação do pré-ligante ocorreu a -18°C, após um período de 24 h, recristalizando o composto e levando a obtenção do produto puro. O sólido amarelo escuro formado foi filtrado e seco sob vácuo. O rendimento foi de 69% (1,68 g, 5,79 mmol). Análise de RMN 1H: (CDCl₃, 400 MHz, 25 °C): δ RMN 1H (400 MHz, CDCl₃): δ 14,55 (s, 1H), 8,72 (s, 1H), 7,78 (d, 2JHH = 8,4 Hz, 1H), 7,71 (d, 2JHH = 9,3 Hz, 1H), 7,63 (d, 2JHH = 7,9 Hz, 1H), 7,41 (t, 3JHH = 7,7 Hz, 1H), 7,27 – 7,20 (m, 3H), 6,97 (d, 2JHH = 9,3 Hz, 1H), 6,77 47 (t, 3JHH = 7,3 Hz, 1H), 6,46 (d, 2JHH = 9,4 Hz, 2H), 3,96 (s, 1H), 3,83 (t, 3JHH = 5,5 Hz, 2H), 3,55 (d, 2JHH = 4,1 Hz, 2H). RMN 13C: (CDCl₃, 101 MHz): δ 174,72, 159,64, 146,96, 137,13, 133,60, 133,54, 129,60, 129,30, 128,09, 126,56, 124,22, 123,05, 118,29, 118,20, 113,39, 107,09, 52,71, 44,20.

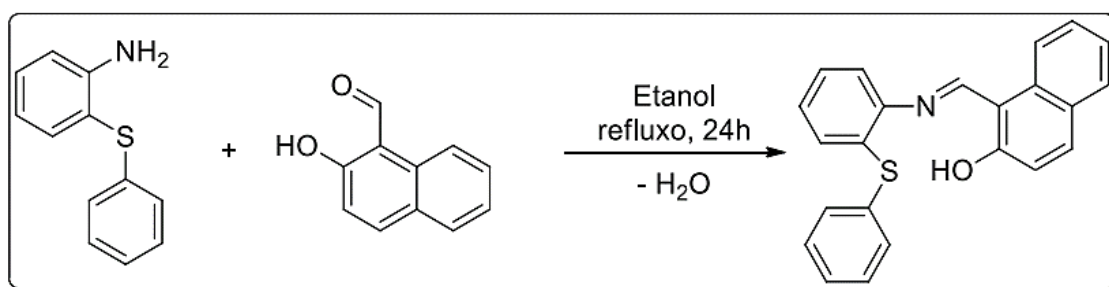
Síntese do $[\text{C}_9\text{H}_6\text{N-8-(N=CH)-2-(OH) C}_{10}\text{H}_6]$ – **1e**



Esquema 9- Reação de síntese do pré-ligante **1e**.

O pré-ligante **1e** foi preparado seguindo um procedimento similar ao descrito para **1d**, iniciando com 8-aminoquinolina (0,20 g, 1,39 mmol) e 2-hidroxi-naftaldeído (0,24 g, 1,39 mmol). 1b resultou em um sólido laranja. O rendimento foi de 62%. Análise de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, 25 °C): δ = RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, 25 °C): δ = 15,98 (s, 1H), 9,30 (d, $2J_{\text{HH}} = 10,9$ Hz, 1H), 9,09 (d, $2J_{\text{HH}} = 5,6$ Hz, 1H), 8,20 (d, $2J_{\text{HH}} = 9,9$ Hz, 1H), 8,0 (d, $2J_{\text{HH}} = 8,2$ Hz, 1H), 7,77 (d, $2J_{\text{HH}} = 7,4$ Hz, 1H), 7,70-7,46 (m, 6H), 7,29 (d, $2J_{\text{HH}} = 7,9$ Hz, 1H), 6,92 (d, $2J_{\text{HH}} = 9,5$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) δ = 181,9, 150,40, 146,3, 140,1, 139,50, 137,70, 136,10, 134,3, 129,60, 128,50, 126,80, 126,7, 124,4, 123,8, 118,5, 113,3, 108,9. Análise elemental para $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$. Calculada (%): C: 80,52; H: 4,73; N: 9,39. Encontrada (%): C: 77,57; H: 5,75; N: 9,51.

Síntese do $[(\text{PhS})\text{Ph}-(\text{N}=\text{CH})-2-(\text{OH})-\text{C}_{10}\text{H}_6]$ – **1f**

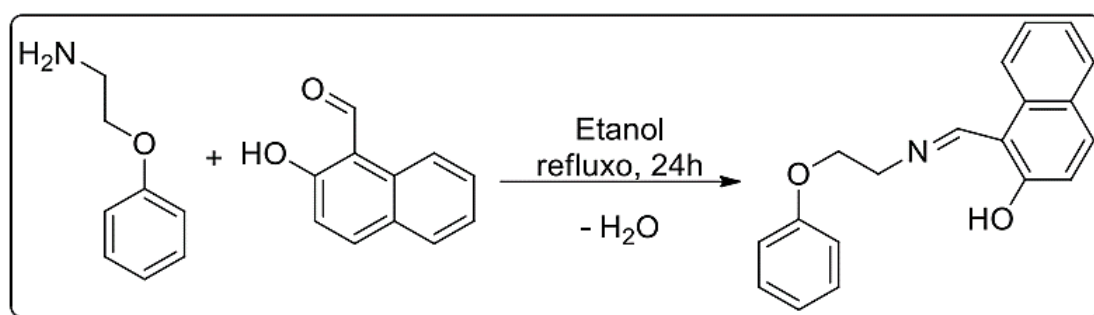


Esquema 10- Reação de síntese do pré-ligante **1f**.

O pré-ligante foi preparado seguindo um procedimento similar ao descrito para o **1d**, iniciando com 2-feniltioanilina (1,0 g, 4,96 mmol) em etanol (30 mL) e

2- hidroxinaftaldeído (0,855 g, 4,96 mmol) resultando em um sólido amarelo escuro. O rendimento foi 60%. RMN de ^1H : (CDCl_3 , 400 MHz, 25 °C): δ 9,35 (s, 1H), 8,08 (d, $2J_{\text{HH}} = 8,5$ Hz, 1H), 7,80 (d, $2J_{\text{HH}} = 9,1$ Hz, 1H), 7,72 (d, $2J_{\text{HH}} = 8,0$ Hz, 1H), 7,42 (d, $2J_{\text{HH}} = 7,13$ Hz, 2H), 7,35–7,23 (m, 8H), 7,13 (d, $2J_{\text{HH}} = 9,1$ Hz, 1H). RMN de ^{13}C (101 MHz, CDCl_3 , 25 °C): δ 167,9, 155,9, 145,9, 136,5, 134,2, 133,2, 132,3, 131,8, 131,2, 129,5, 128,3, 128,1, 127,7, 127,6, 127,1, 123,7, 121,6, 119,2, 118,2, 109,4.

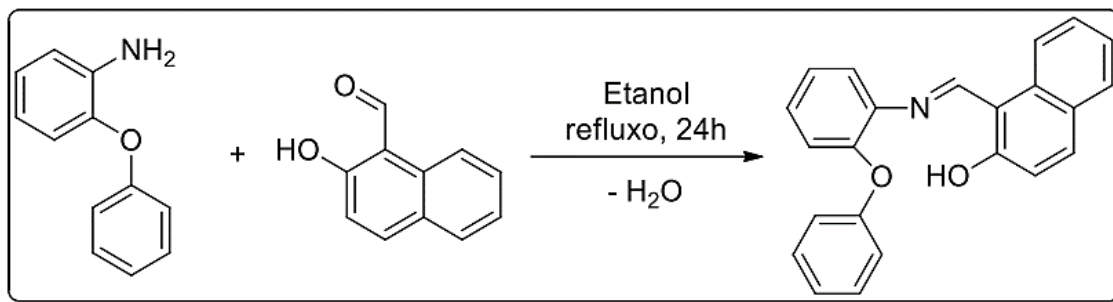
Síntese do $[\text{Ph}(\text{O})\text{C}_2\text{H}_4\text{-(N=CH)-2-(OH)C}_{10}\text{H}_6]$ – **1g**



Esquema 11- Reação de síntese do pré-ligante **1g**

O pré-ligante **1g** foi preparado seguindo um procedimento similar ao descrito para **1d**, iniciando com 2-fenoxietilamina (0,20 g, 1,46 mmol) e 2-hidroxinaftaldeído (0,25 g, 1,46 mmol) resultando em um sólido amarelo. O rendimento foi 75% (1,38 g, 4,74 mmol). Análise de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, 25 °C): δ (ppm) = 14,59 (s, 1H), 8,93 (s, 1H), 7,93 (d, $2J_{\text{HH}} = 8,4$ Hz, 1H), 7,70 (d, $2J_{\text{HH}} = 9,3$ Hz, 1H), 7,64 (d, $2J_{\text{HH}} = 7,1$ Hz, 1H), 7,46 (t, $3J_{\text{HH}} = 8,4,1\text{H}$), 7,30 – 7,25 (m, 4H), 6,98 – 6,91 (m, 4H), 4,26 (t, $3J_{\text{HH}} = 5,3$ Hz, 2H), 4,00 (t, $3J_{\text{HH}} = 5,2$ Hz, 2H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz): δ (ppm) = 174,61, 159,86, 158,35, 137,11, 133,73, 129,72, 129,38, 128,10, 126,63, 124,25, 123,03, 121,52, 118,23, 114,83, 107,23, 66,98, 53,17. Análise elementar para $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NO}_2$. Calculada (%): C: 78,33; H: 5,88; N: 4,81. Encontrada (%): C: 77,27; H: 5,63; N: 4,76.

Síntese do [(PhO)Ph-(N=CH)-2-(OH)-C₁₀H₆] – **1h**

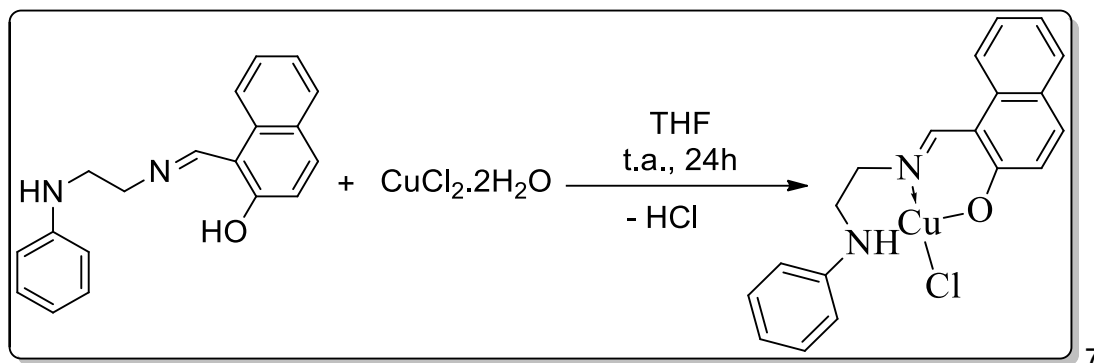


Esquema 12- Reação de síntese do pré-ligante 1h

O pré-ligante 1h foi preparado seguindo um procedimento similar ao descrito para 1d, iniciando com 2-fenoxianilina (1,20 g, 6,49 mmol) em etanol (20 mL), e 2- hidroxinaftaldeído (1,12 g, 6,49 mmol). 1d resultou em um sólido amarelo. O rendimento foi 72,4% (1,59 g, 4,70 mmol). Análise de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, 25 °C): δ 15,40 (s, 1H), 9,35 (d, 2J_{HH} = 5,7 Hz, 1H), 8,0 (d, 2J_{HH} = 8,2 Hz, 1H), 7,73 (d, 2J_{HH} = 9,18 Hz, 1H), 7,66 (d, 2J_{HH} = 8,0 Hz, 1H), 7,48 (t, 3J_{HH} = 7,4 Hz, 2H), 7,36 – 7,28 (m, 3H), 7,23 – 7,19 (m, 2H), 7,13 – 6,97 (m, 4H), 6,98 (d, 2J_{HH} = 9,2 Hz, 1H). RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz, 25 °C): δ 173,26, 156,95, 153,15, 148,84, 137,46, 135,89, 133,55, 129,99, 129,51, 128,25, 127,16, 127,09, 124,55, 123,69, 123,63, 123,46, 120,13, 119,04, 118,60, 108,92. Análise elementar para C₂₃H₁₇NO₂. Calculada (%): C: 81,40; H: 5,05; N: 4,13. Encontrada (%): C: 79,99; H: 4,71; N: 4,05.

Apêndice E

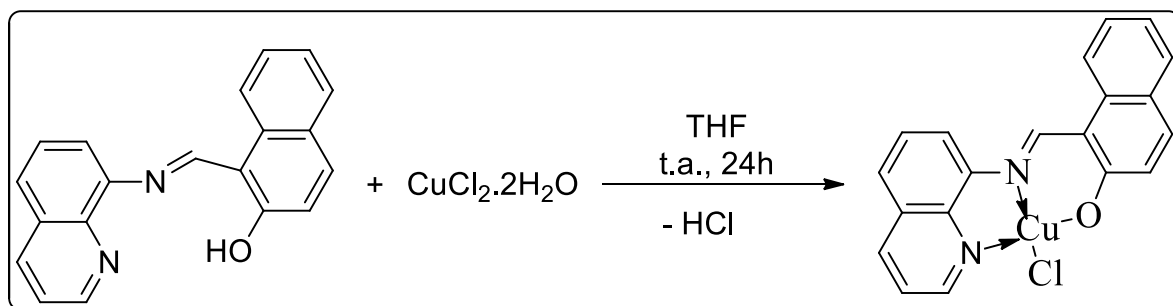
Síntese do $[Cu\{Ph(NH)-C_2H_4-(N=CH)-2-(OC_6H_2)-C_6H_4\}Cl]$ – **2d**



Esquema 13- Reação de síntese do complexo **2d**

A uma solução de $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ (0,03 g, 0,18 mmol) em THF (10 mL), mantida sob agitação constante foi adicionada gota a gota uma solução do pré-ligante **1d** (0,05g, 0,17 mmol) em THF (8 mL). A mistura reacional foi deixada a temperatura ambiente por 24h com agitação constante. Ao término do tempo reacional, o solvente foi evaporado e o complexo **2d** foi lavado ($6 \times 1,6$ mL) com metanol gelado e posteriormente com hexano (HPLC) ($6 \times 1,6$ mL). O complexo **2d** foi obtido como um sólido de cor verde com rendimento de 90%. IV (ATR, cm^{-1}): ν 1624 (C=N). UV-Vis (CH_2Cl_2 , 200 – 700 nm, 25°C): 231; 252 ($\pi-\pi^*$ naftol), 286 ($\pi-\pi^*$ imina), 331 (n- π^*), 403(L-M) e 654 (d-d).

Síntese do $[Cu\{C_9H_2N-8-(N=CH)-2-(OC_6H_2)-C_6H_4\}Cl]$ – **2e**

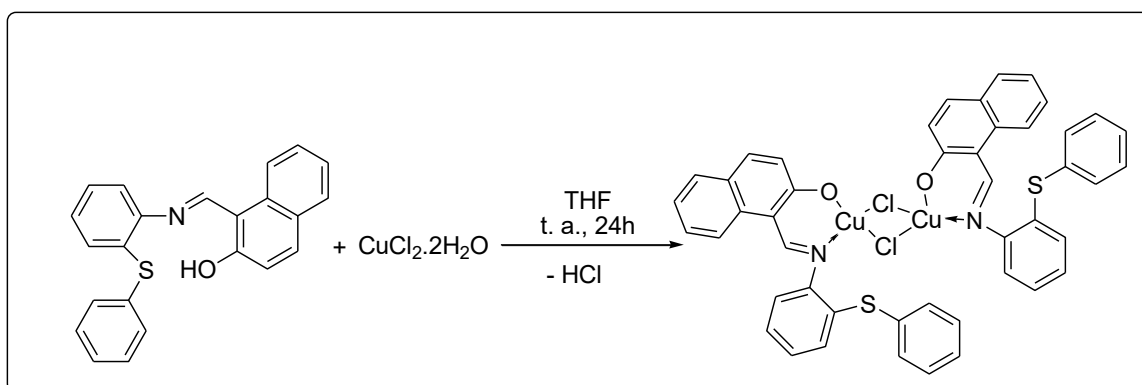


Esquema 14- Reação de síntese do complexo **2e**

A rota de síntese é similar a descrita para o complexo **2d**, iniciando com

1e (0,10 g, 0,34 mmol) e $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,06 g, 0,37 mmol). Ao término do tempo reacional, o solvente foi evaporado e o complexo **2e** foi lavado ($6 \times 1,6$ mL) com metanol gelado e posteriormente com hexano (HPLC) ($6 \times 1,6$ mL). O complexo **2e** foi obtido como um sólido de cor marrom claro com rendimento de 78%. IV (ATR, cm^{-1}): ν 1613 (C=N). UV-Vis (CH_2Cl_2 , 200 – 700 nm, 25°C): 238; 267 (π - π^* naftol), 313 (π - π^* imina), 360 (n- π^*), 456, 482 (L-M) e 567 (d-d).

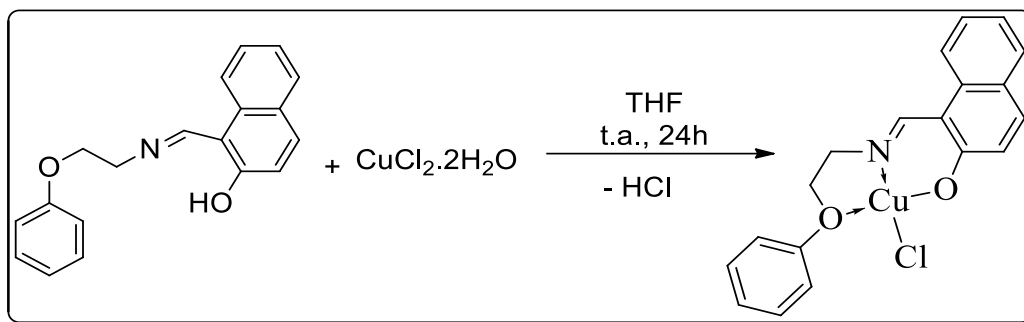
Síntese do $[\text{Cu}\{2\text{-PhS-Ph-CH}_2\text{-(N=CH)-2-(OC}_6\text{H}_2\text{)-C}_6\text{H}_4\}\text{Cl}]\text{-2f}$



Esquema 15. Reação de síntese do complexo **2f**

A rota de síntese é similar a descrita para o complexo **2d**, iniciando com **1f** (0,10 g, 0,28 mmol) e $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,05 g, 0,31 mmol). Ao término do tempo reacional, o solvente foi evaporado e o complexo **2f** foi lavado ($6 \times 1,6$ mL) com metanol gelado e posteriormente com hexano (HPLC) ($6 \times 1,6$ mL). O complexo **2f** foi obtido como um sólido de cor marrom com rendimento de 90%. IV (ATR, cm^{-1}): ν 1612 (C=N). (CH_2Cl_2 , 200 – 700 nm, 25°C): 232; 244 (π - π^* naftol), 316 (π - π^* imina), 435 (n- π^*), 455 (L-M) e 543; 600 (d-d).

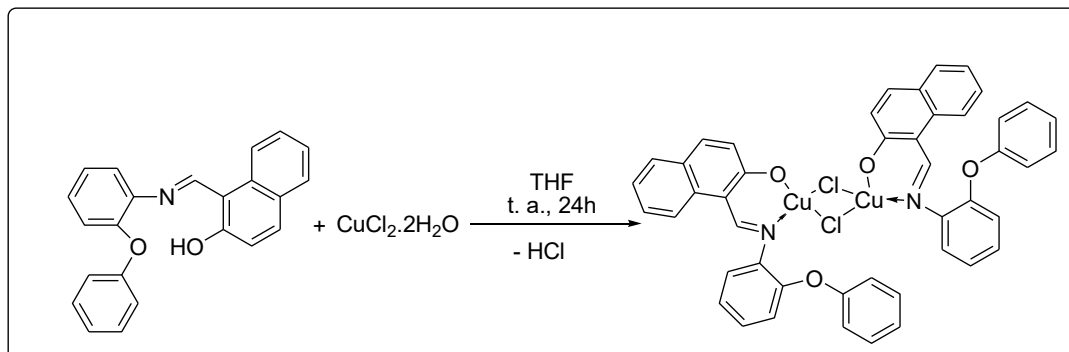
Síntese do $[\text{Cu}\{\text{Ph(O)-C}_2\text{H}_4\text{-(N=CH)-2-(OC}_6\text{H}_2\text{)-C}_6\text{H}_4\}\text{Cl}]\text{-2g}$



Esquema 16- Reação de síntese do complexo **2g**

A rota de síntese é similar a descrita para o complexo **2d**, iniciando com **1g** (0,10 g, 0,34 mmol) e $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,06 g, 0,38 mmol). Ao término do tempo reacional, o solvente foi evaporado e o complexo **2g** foi lavado (6×1,6 mL) com metanol gelado e posteriormente com hexano (HPLC) (6×1,6 mL). O complexo **2h** foi obtido como um sólido de cor marrom com rendimento de 72%. IV (ATR, cm^{-1}): ν 1615 (C=N). UV-Vis (CH_2Cl_2 , 200 – 700 nm, 25°C): 230; 239 (π - π^* naftol), 316 (π - π^* imina), 376 (n- π^*), 401 (L-M) e 655 (d-d).

Síntese do $[\text{Cu}\{2\text{-PhO-Ph-(N=CH)-2-(OC}_6\text{H}_5\text{)-C}_6\text{H}_4\}\text{Cl}] - \mathbf{2h}$



Esquema 17- Reação de síntese do complexo **2h**

A rota de síntese é similar a descrita para o complexo **2d**, iniciando com **1h** (0,05 g, 0,15 mmol) e $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,28 g, 0,16 mmol). Ao término do tempo reacional, o solvente foi evaporado e o complexo **2h** foi lavado (6×1,6 mL) com metanol gelado e posteriormente com hexano (HPLC) (6×1,6 mL). O complexo **2g** foi obtido como um sólido de cor marrom com rendimento de 94%. IV (ATR, cm^{-1}): ν 1615 (C=N). UV-Vis (CH_2Cl_2 , 200 – 700 nm, 25°C): 235; 262 (π - π^* naftol), 320 (π - π^* imina), 386 (n- π^*), 442; 466 (L-M) e 595; 669 (d-d).

Apêndice F

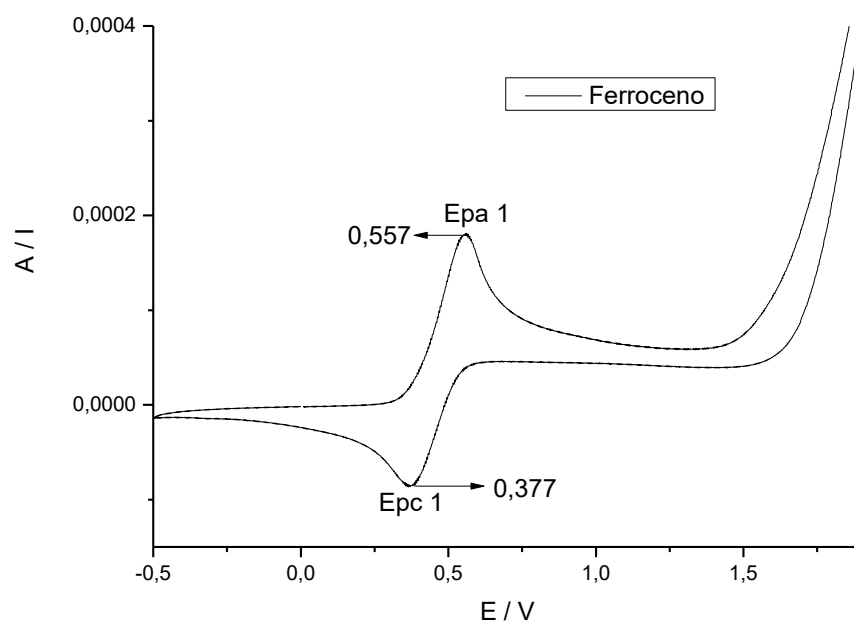


Figura 52- Voltamograma cíclico do ferroceno (Fc^+/Fc) em DMF, LiClO_4 ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$). Velocidade de varredura 100 mV.s^{-1} .

Apêndice G

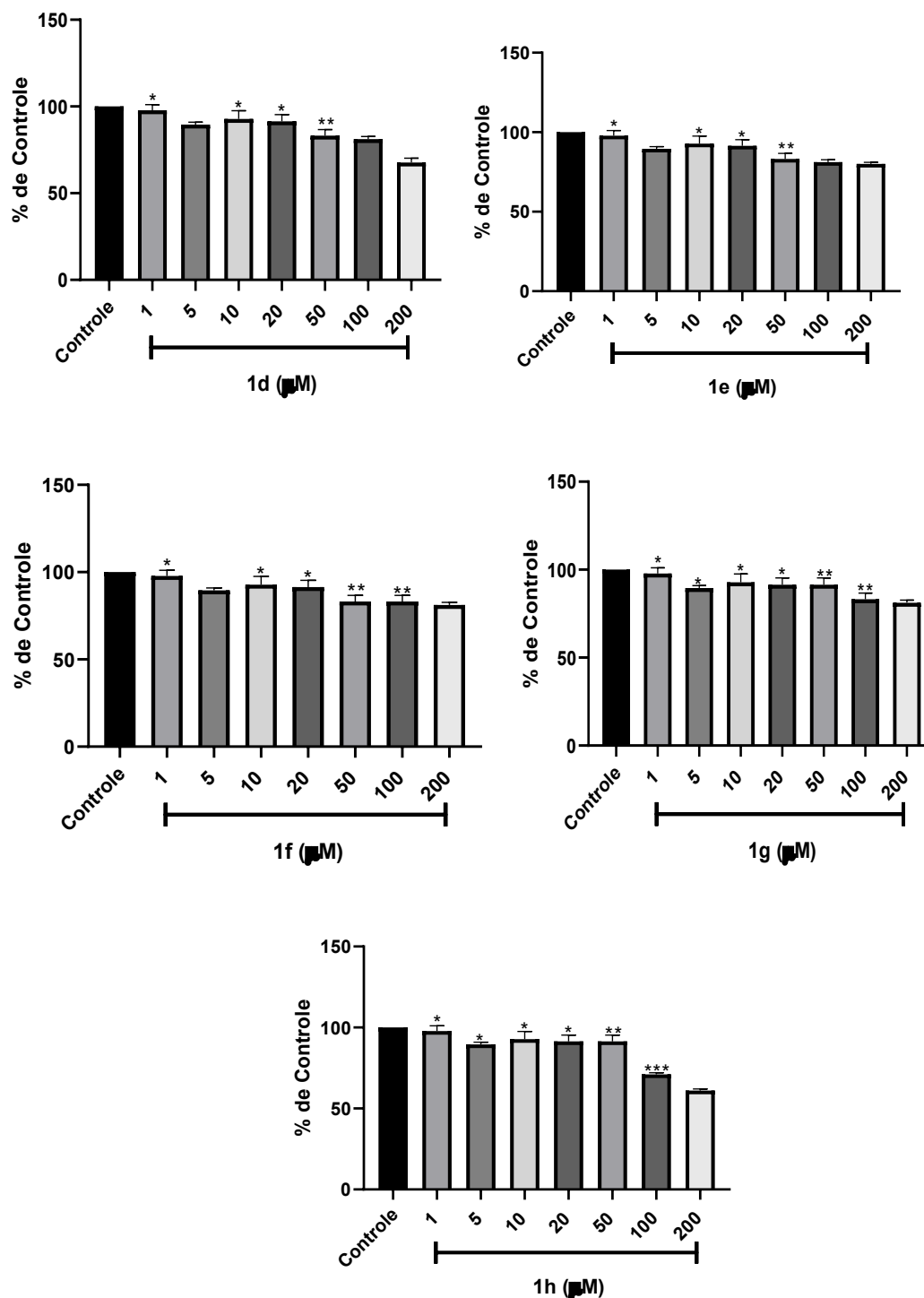


Figura 53. Avaliação da atividade antioxidante dos pré-ligantes **1d-1h** em DPPH. A porcentagem de inibição máxima é representada por $I_{\max}$. Os dados foram analisados por ANOVA de via, seguida pelo teste post hoc de Tukey (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$).

Apêndice H

Tabela 21- Atividade antioxidante para o complexo **2d** no ensaio de captura do radical livre ABTS⁺ nos tempos de 10 – 40 min.

Complexo 2d							
%Controle (ABTS ⁺)							
(μM)	1	5	10	20	50	100	200
(min)							
Veículo	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32
10	97,50±0,2	61,74±0,3	0 ± 0	0 ± 0	0,8±0,13	6,91±0,1	28,05±0,1
20	81,25±2,0	30,03±0,3	0 ± 0	0 ± 0	2,43±0,11	7,71±0,1	27,65±0,03
30	67,52±3,3	16,24±0,1	0 ± 0	0 ± 0	2,84±0,06	10,96±0,2	29,69±0,09
40	57,50±0,5	7,71±0,1	0 ± 0	0 ± 0	6,105±0,1	12,59±0,1	32,54±0,1
I_{Max} (%)	100 ± 0						
IC₅₀ (μM)	2,1 ± 0,8						

Os dados são expressos como média ± erro padrão da média de três experimentos independentes realizados em duplicado. Os valores são apresentados como: porcentagem de inibição dos radicais DPPH e ABTS⁺ quando comparado a um grupo controle sem inibição de radicais (inibição de 0%). O meio inibitório máximo concentração (IC₅₀) indica a concentração de compostos necessária para inibir 50% do radical DPPH e ABTS⁺. A porcentagem de inibição máxima é representada por I_{max}. Os dados foram analisados por ANOVA de via, seguida pelo teste post hoc de Tukey (* p <0,05, ** p <0,01, *** p <0,001 e ****p<0,0001).

Tabela 22- Atividade antioxidante para o complexo **2e** no ensaio de captura do radical livre ABTS⁺ nos tempos de 10 – 40 min.

Complexo 2e							
%Controle (ABTS ⁺)							
(μM)	1	5	10	20	50	100	200
(min)							
Veículo	100 ± 0,3	100 ± 0,3	100 ± 0,3	100 ± 0,3	100 ± 0,3	100 ± 0,3	100 ± 0,3
10	100±0,2	53,0±0,3	17,34 ± 0,8	13,6 ± 0,5	13,3 ± 0,13	66,6 ± 0,1	100 ± 0,1
20	72,86±2,0	19,83±0,3	4,21 ± 1,3	7,0 ± 0,3	23,2±0,11	76,5 ± 0,1	100 ± 0,03
30	52,28±4,6	6,6 ± 0,2	2,1 ± 0,1	5,4 ± 0,3	25,8±0,4	78,0 ± 0,3	100 ± 1,1
40	33,07±0,5	0 ± 0	29,42 ± 1,0	3,4 ± 1,4	25,9±0,1	80,1 ± 0,1	100 ± 0,1
I_{Max} (%)	97,9 ± 0,1						

IC₅₀ (μM) 1,4 ±0,6

Os dados são expressos como média ± erro padrão da média de três experimentos independentes realizados em duplicado. Os valores são apresentados como: porcentagem de inibição dos radicais DPPH e ABTS⁺ quando comparado a um grupo controle sem inibição de radicais (inibição de 0%). O meio inibitório máximo concentração (IC₅₀) indica a concentração de compostos necessária para inibir 50% do radical DPPH e ABTS⁺. A porcentagem de inibição máxima é representada por I_{max}. Os dados foram analisados por ANOVA de via, seguida pelo teste post hoc de Tukey (* p <0,05, ** p <0,01, *** p <0,001 e ****p<0,0001).

Tabela 23- Atividade antioxidante para o complexo **2f** no ensaio de captura do radical livre ABTS⁺ nos tempos de 10 – 40 min.

Complexo 2f							
%Inibição (ABTS ⁺)							
(μM)	1	5	10	20	50	100	200
(min)							
Veículo	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32
10	91,24±0,17	81,7±0,30	68,59±0,08	64,77±0,50	28,16±0,4	0 ± 0	0 ± 0
20	76,31±0,14	61,4±0,35	53,08±0,20	36,17±0,29	0,7±0,06	0 ± 0	0 ± 0
30	61,80±0,29	47,92±0,43	38,15±0,16	19,39±0,03	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
40	53,03±0,23	37,35±0,10	29,17±0,20	10,83±0,14	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
I_{Max} (%)	100 ± 0						
IC₅₀ (μM)	3,47±1,4						

Os dados são expressos como média ± erro padrão da média de três experimentos independentes realizados em duplicado. Os valores são apresentados como: porcentagem de inibição dos radicais DPPH e ABTS⁺ quando comparado a um grupo controle sem inibição de radicais (inibição de 0%). O meio inibitório máximo concentração (IC₅₀) indica a concentração de compostos necessária para inibir 50% do radical DPPH e ABTS⁺. A porcentagem de inibição máxima é representada por I_{max}. Os dados foram analisados por ANOVA de via, seguida pelo teste post hoc de Tukey (* p <0,05, ** p <0,01, *** p <0,001 e ****p<0,0001).

Tabela 24- Atividade antioxidante para o complexo **2g** no ensaio de captura do radical livre ABTS⁺ nos tempos de 10 – 40 min.

Complexo 2g							
%Inibição (ABTS ⁺)							
(μM)	1	5	10	20	50	100	200
(min)							

Veículo	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32
10	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	79,56±0,12	42,04±0,29	14,73±0,07
20	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	86,10±0,28	58,60±0,10	18,66±0,25	13,27±0,1
30	100 ± 0	94,73±0,31	87,08±0,32	69,77±0,57	37,97±0,16	10,60±0,13	13,12±0,2
40	100 ± 0	76,12±0,51	84,98±0,40	59,55±0,43	23,08±0,31	10,60±0,1	12,78±0,13
I_{Max} (%)	89,40±0,13						
IC₅₀ (μM)	32,45±0,75						

Os dados são expressos como média ± erro padrão da média de três experimentos independentes realizados em duplicado. Os valores são apresentados como: porcentagem de inibição dos radicais DPPH e ABTS+ quando comparado a um grupo controle sem inibição de radicais (inibição de 0%). O meio inibitório máximo concentração (IC₅₀) indica a concentração de compostos necessária para inibir 50% do radical DPPH e ABTS⁺. A porcentagem de inibição máxima é representada por I_{max}. Os dados foram analisados por ANOVA de via, seguida pelo teste post hoc de Tukey (* p <0,05, ** p <0,01 e *** p <0,001).

Tabela 25- Atividade antioxidante para o complexo 2h no ensaio de captura do radical livre ABTS⁺ nos tempos de 10 – 40 min.

Complexo 2h							
%Inibição (ABTS ⁺)							
(μM)	1	5	10	20	50	100	200
(min)							
Veículo	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32	100 ± 0,32
10	66,71±0,5	52,49±0,3	45,18±0,59	35,68±0,50	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
20	48,05±0,4	28,10±0,4	18,05±0,5	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
30	36,0±0,4	20,69±0,6	6,69±0,4	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
40	31,30±0,3	5,79±0,5	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
I_{Max} (%)	100 ± 0						
IC₅₀ (μM)	0,8±0,2						

Os dados são expressos como média ± erro padrão da média de três experimentos independentes realizados em duplicado. Os valores são apresentados como: porcentagem de inibição dos radicais DPPH e ABTS+ quando comparado a um grupo controle sem inibição de radicais (inibição de 0%). O meio inibitório máximo concentração (IC₅₀) indica a concentração de compostos necessária para inibir 50% do radical DPPH e ABTS⁺. A porcentagem de inibição máxima é representada por I_{max}. Os dados foram analisados por ANOVA de via, seguida pelo teste post hoc de Tukey (* p <0,05, ** p <0,01, *** p <0,001 e ****p<0,0001).

Tabela 26- Atividade antioxidante para o complexo **2d** no ensaio de captura do radical livre DPPH nos tempos de 10 – 40 min.

Complexo 2d (DPPH)							
%Inibição							
(μ M) (min)	1	5	10	20	50	100	200
Veículo	100 $\pm$ 0,6	100 $\pm$ 0,6	100 $\pm$ 0,6	100 $\pm$ 0,6	100 $\pm$ 0,6	100 $\pm$ 0,6	100 $\pm$ 0,6
10	93,47 $\pm$ 0,8	88,82 $\pm$ 1,7	80,23 $\pm$ 1,2	35,48 $\pm$ 0,9	11,45 $\pm$ 0,4	19,08 $\pm$ 1,0	36,45 $\pm$ 1,3
20	92,61 $\pm$ 0,4	85,73 $\pm$ 1,3	73,87 $\pm$ 1,0	8,59 $\pm$ 1,4	11,86 $\pm$ 0,4	19,6 $\pm$ 0,8	37,06 $\pm$ 1,2
30	92,45 $\pm$ 0,1	84,18 $\pm$ 1,4	70,27 $\pm$ 1,1	8,6 $\pm$ 0,4	11,86 $\pm$ 0,4	20,12 $\pm$ 1,0	37,48 $\pm$ 1,3
40	92,28 $\pm$ 0,3	83,49 $\pm$ 1,6	66,32 $\pm$ 0,9	8,77 $\pm$ 0,1	12,55 $\pm$ 0,6	20,46 $\pm$ 0,8	37,82 $\pm$ 1,54
I_{Max} (%)	91,41 $\pm$ 1,4						
IC₅₀ (μM)	11,32 $\pm$ 0,06						

Os dados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média de três experimentos independentes realizados em duplicado. Os valores são apresentados como: porcentagem de inibição dos radicais DPPH e ABTS+ quando comparado a um grupo controle sem inibição de radicais (inibição de 0%). O meio inibitório máximo concentração (IC₅₀) indica a concentração de compostos necessária para inibir 50% do radical DPPH e ABTS⁺. A porcentagem de inibição máxima é representada por I_{max}. Os dados foram analisados por ANOVA de via, seguida pelo teste post hoc de Tukey (* p <0,05, ** p <0,01, *** p <0,001 e ****p<0,0001).

Tabela 27- Atividade antioxidante para o complexo **2f** no ensaio de captura do radical livre DPPH nos tempos de 10 – 40 min.

Complexo 2f (DPPH)							
%Inibição							
(μ M) (min)	1	5	10	20	50	100	200
Veículo	100 $\pm$ 0,6	100 $\pm$ 0,6	100 $\pm$ 0,6	100 $\pm$ 0,6	100 $\pm$ 0,6	100 $\pm$ 0,6	100 $\pm$ 0,6
10	96,2 $\pm$ 1,43	88,7 $\pm$ 1,67	88,18 $\pm$ 2,95	54,10 $\pm$ 8,34	3,01 $\pm$ 0,34	3,82 $\pm$ 1,0	5,75 $\pm$ 0,4
20	95,5 $\pm$ 1,36	86,43 $\pm$ 1,35	83,69 $\pm$ 2,62	34,89 $\pm$ 9,0	3,55 $\pm$ 1,07	4,44 $\pm$ 2,4	5,53 $\pm$ 0,7
30	93,88 $\pm$ 1,17	85,79 $\pm$ 1,65	80,86 $\pm$ 2,71	25,40 $\pm$ 7,73	2,83 $\pm$ 1,87	3,79 $\pm$ 1,3	5,86 $\pm$ 0,3
40	92,28 $\pm$ 1,0	86,40 $\pm$ 1,58	81,26 $\pm$ 2,50	18,49 $\pm$ 7,36	3,76 $\pm$ 1,6	5,39 $\pm$ 0,9	6,30 $\pm$ 1,48
I_{Max} (%)	97,17 $\pm$ 1,87						
IC₅₀ (μM)	15,21 $\pm$ 0,28						

Os dados são expressos como média $\pm$ erro padrão da média de três experimentos independentes realizados em duplicado. Os valores são apresentados como: porcentagem de inibição dos radicais

DPPH e ABTS+ quando comparado a um grupo controle sem inibição de radicais (inibição de 0%). O meio inibitório máximo concentração (IC₅₀) indica a concentração de compostos necessária para inibir 50% do radical DPPH e ABTS⁺. A porcentagem de inibição máxima é representada por I_{max}. Os dados foram analisados por ANOVA de via, seguida pelo teste post hoc de Tukey (* p <0,05, ** p <0,01, *** p <0,001 e ****p<0,0001).

Tabela 28- Atividade antioxidante para o complexo **2g** no ensaio de captura do radical livre DPPH nos tempos de 10 – 40 min.

Complexo 2g (DPPH)							
%Inibição							
(μM)	1	5	10	20	50	100	200
(min)							
Veículo	100 ± 0,6	100 ± 0,6	100 ± 0,6	100 ± 0,6	100 ± 0,6	100 ± 0,6	100 ± 0,6
10	92,27±4,20	90,51±4,8	86,17±4,5	82,03±7,05	51,96±4,98	15,53±7,77	14,73±0,6
20	91,36±4,22	89,01±4,3	82,10±4,9	71,43±7,23	26,99±6,64	11,16±1,33	14,17±0,3
30	89,88±5,3	88,28±4,2	79,86±4,8	62,70±6,81	18,69±6,18	10,60±1,92	14,16±0,1
40	89,34±5,8	86,79±4,0	77,55±4,3	55,95±5,85	13,96±1,82	9,88±0,8	13,18±0,03
I_{Max} (%)	90,12±0,8						
IC₅₀ (μM)	27,82±1,13						

Os dados são expressos como média ± erro padrão da média de três experimentos independentes realizados em duplicado. Os valores são apresentados como: porcentagem de inibição dos radicais DPPH e ABTS+ quando comparado a um grupo controle sem inibição de radicais (inibição de 0%). O meio inibitório máximo concentração (IC₅₀) indica a concentração de compostos necessária para inibir 50% do radical DPPH e ABTS⁺. A porcentagem de inibição máxima é representada por I_{max}. Os dados foram analisados por ANOVA de via, seguida pelo teste post hoc de Tukey (* p <0,05, ** p <0,01 e *** p <0,001).

Tabela 29- Atividade antioxidante para o complexo **2h** no ensaio de captura do radical livre DPPH nos tempos de 10 – 40 min.

Complexo 2h (DPPH)							
%Inibição							
(μM)	1	5	10	20	50	100	200
(min)							
Veículo	100 ± 0,6	100 ± 0,6	100 ± 0,6	100 ± 0,6	100 ± 0,6	100 ± 0,6	100 ± 0,6
10	74,35±3,9	74,21±3,6	68,02±1,84	31,05±7,62	5,45±0,4	6,76±0,2	8,71±0,1
20	72,16±4,4	73,62±3,8	65,30±2,06	6,99±2,26	5,37±0,2	6,8±0,2	8,96±0,2

30	69,33±7,3	73,59±3,9	62,39±2,29	4,91±1,32	4,83±0,7	8,08±2,16	8,39±0,5
40	67,92±8,4	72,56±3,8	60,46±0,9	4,87±1,29	4,96±0,2	6,25±0,3	12,19±1,13
I_{Max} (%)	95,17±0,7						
IC₅₀ (μM)	11,24±0,34						

Os dados são expressos como média ± erro padrão da média de três experimentos independentes realizados em duplicado. Os valores são apresentados como: porcentagem de inibição dos radicais DPPH e ABTS⁺ quando comparado a um grupo controle sem inibição de radicais (inibição de 0%). O meio inibitório máxima concentração (IC₅₀) indica a concentração de compostos necessária para inibir 50% do radical DPPH e ABTS⁺. A porcentagem de inibição máxima é representada por I_{max}. Os dados foram analisados por ANOVA de via, seguida pelo teste post hoc de Tukey (* p <0,05, ** p <0,01 e *** p <0,001).

Apêndice I

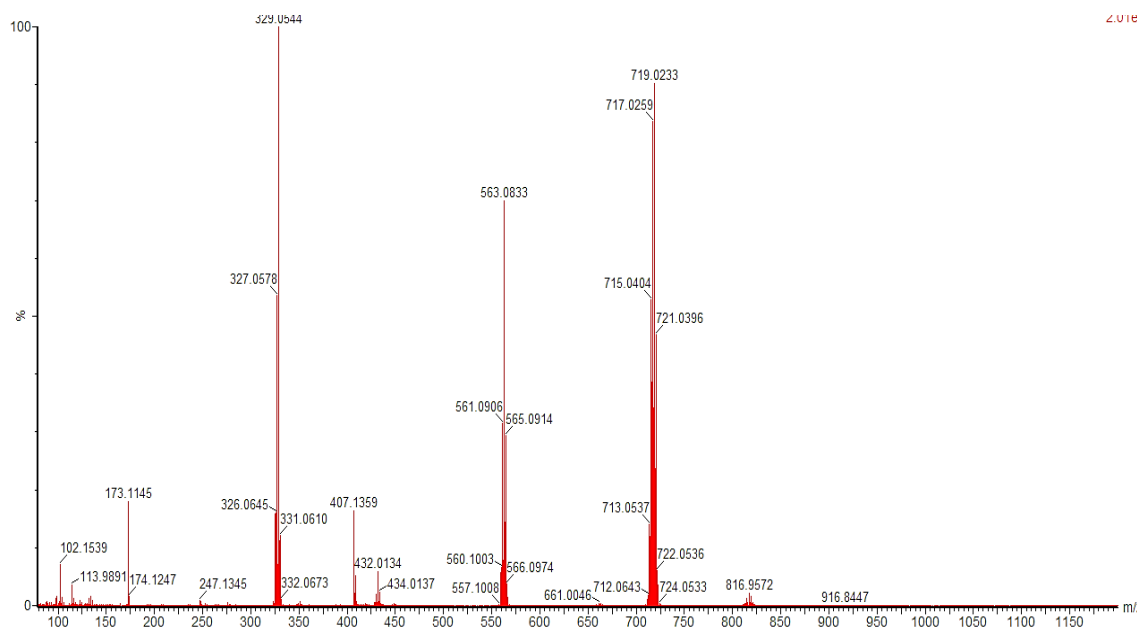


Figura 54- Espectro de HRMS- ESI para o complexo **2a** em metanol.

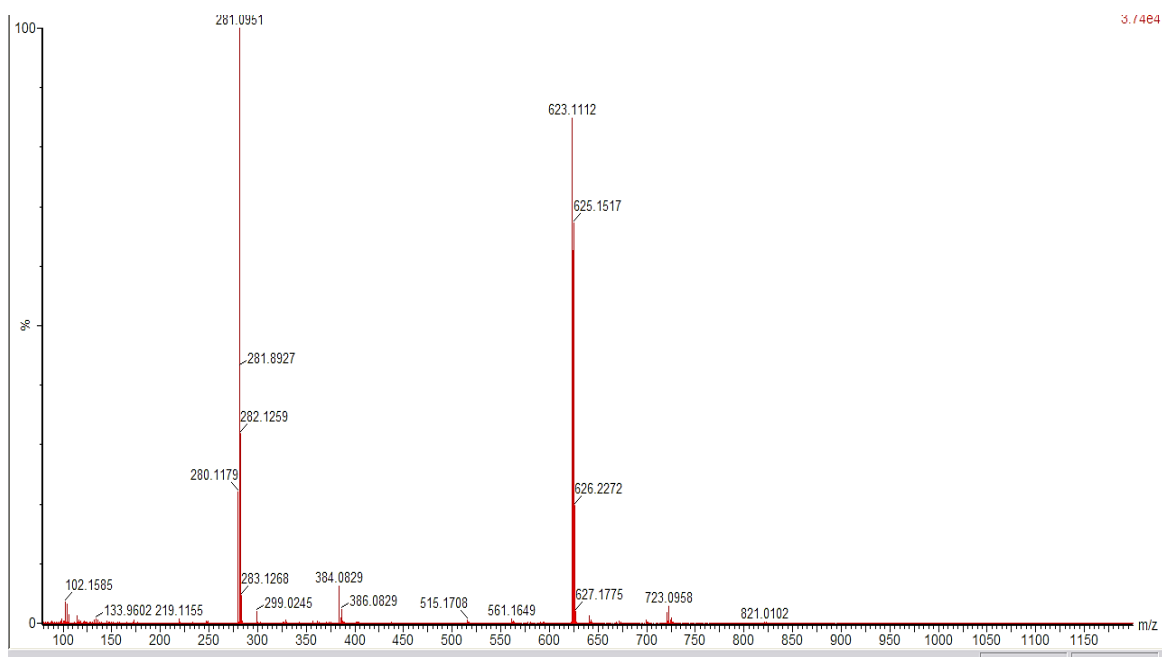


Figura 55- Espectro de HRMS- ESI para o complexo **2b** em metanol.

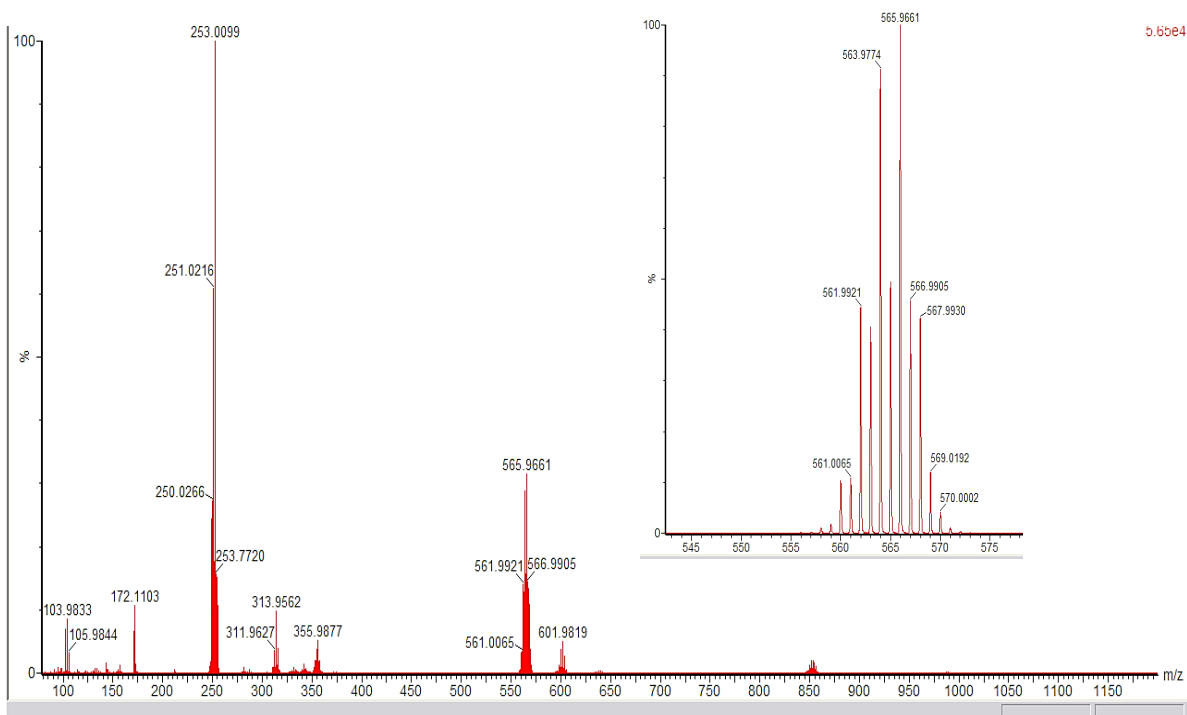


Figura 56- Espectro de HRMS- ESI para o complexo **2c** em metanol.

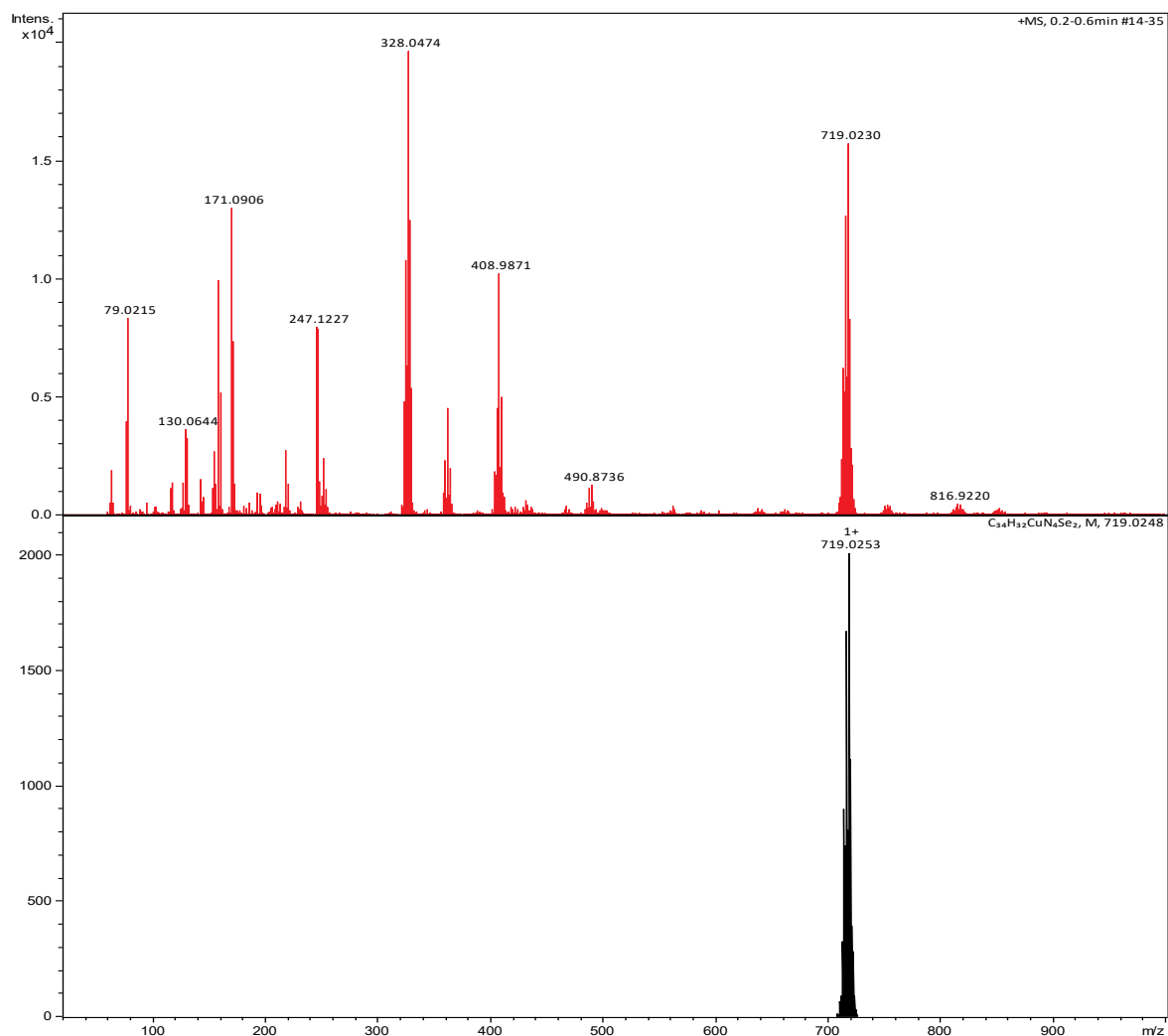


Figura 57- HRMS-ESI espectro para o complexo **2a** em DMSO.

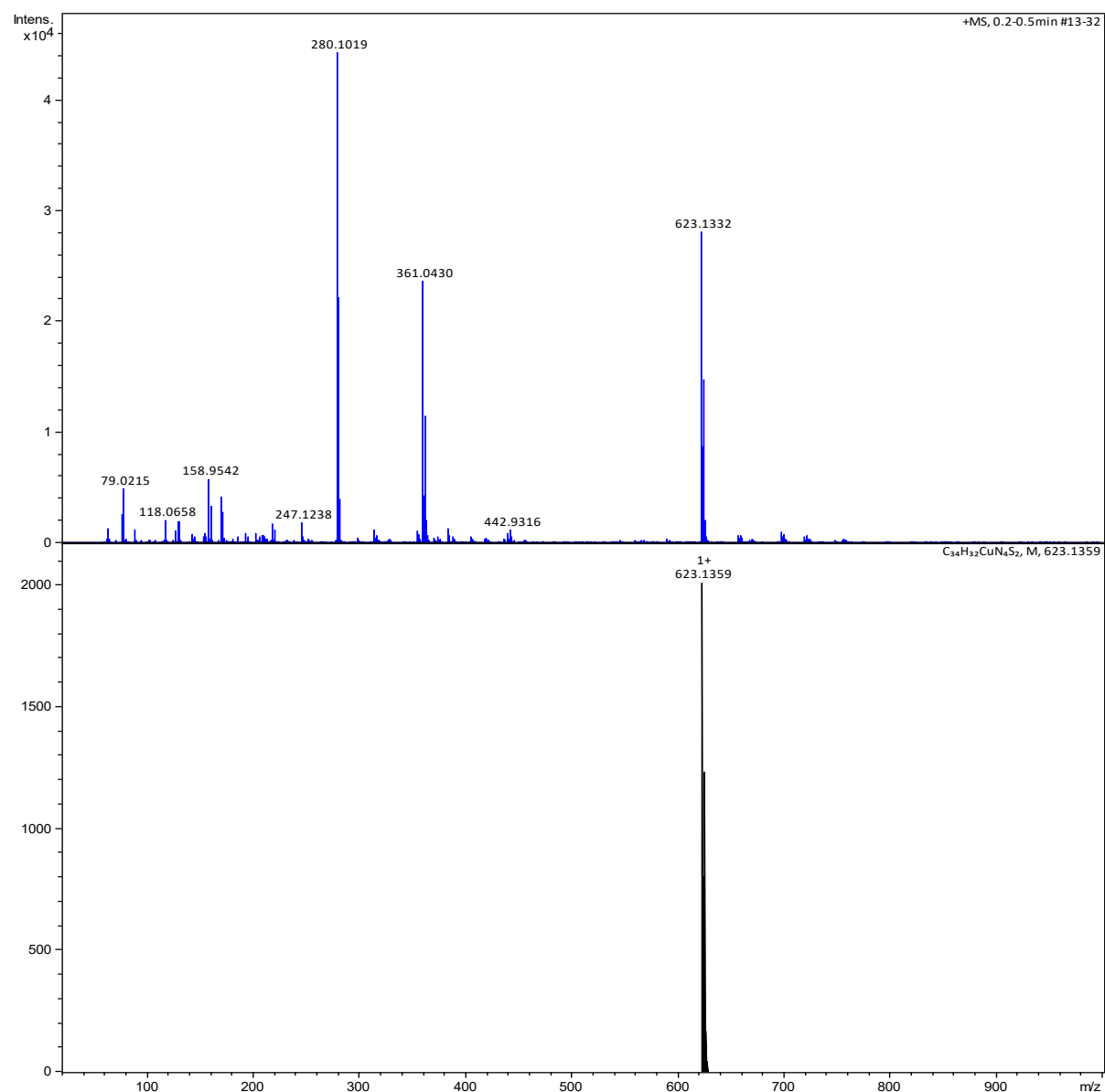


Figura 58- HRMS-ESI espectro para o complexo **2b** em DMSO.

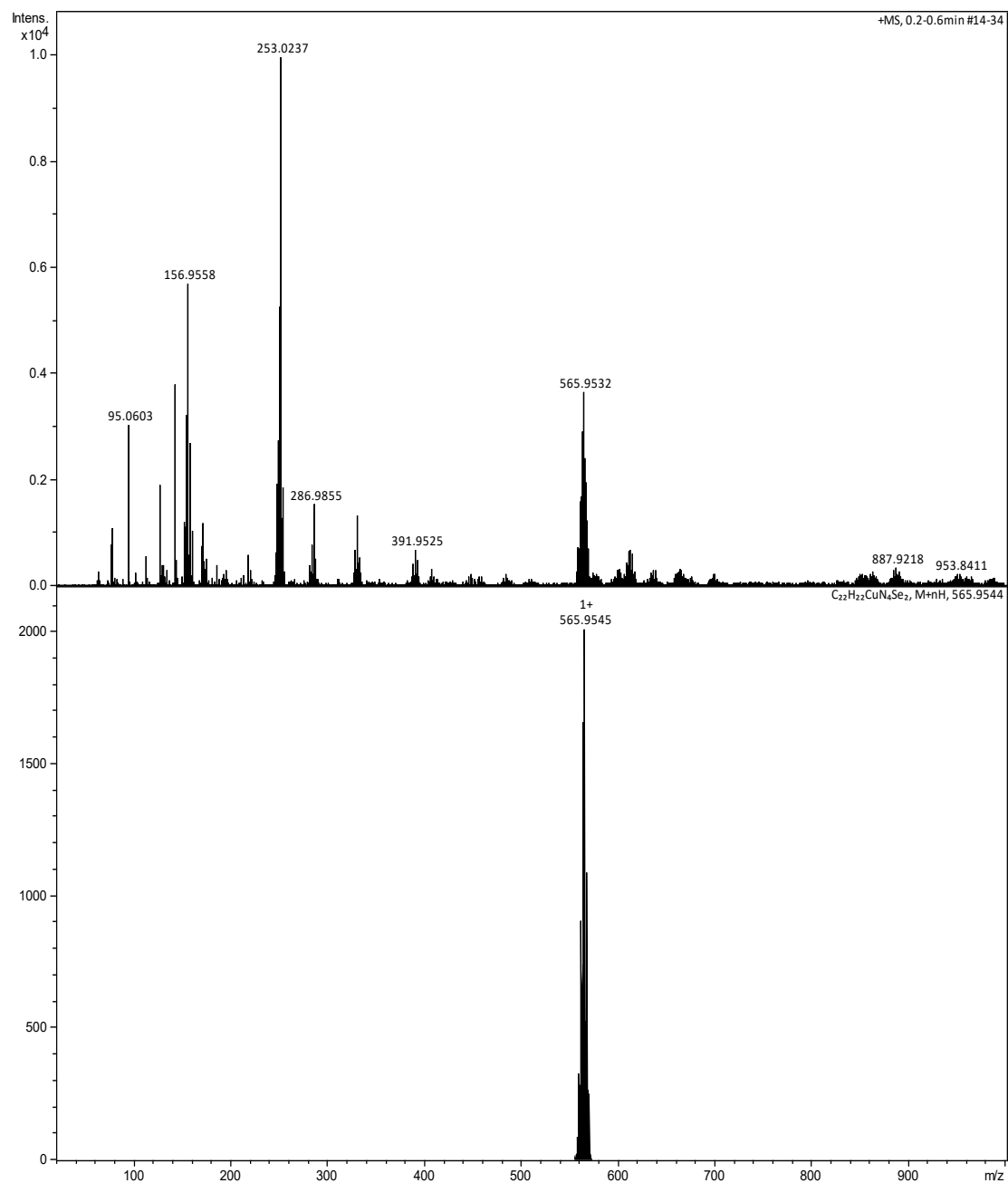


Figura 59- HRMS-ESI espectro para o complexo **2c** em DMSO

Apêndice J

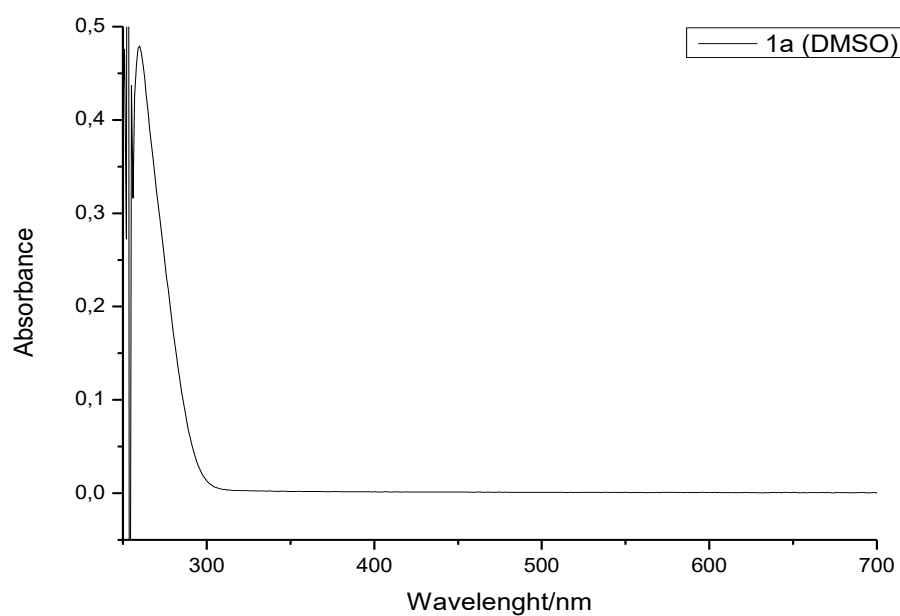


Figura 60- Espectro de UV-Vis do **1a** (1×10^{-5} M) em DMSO (250 – 700 nm).

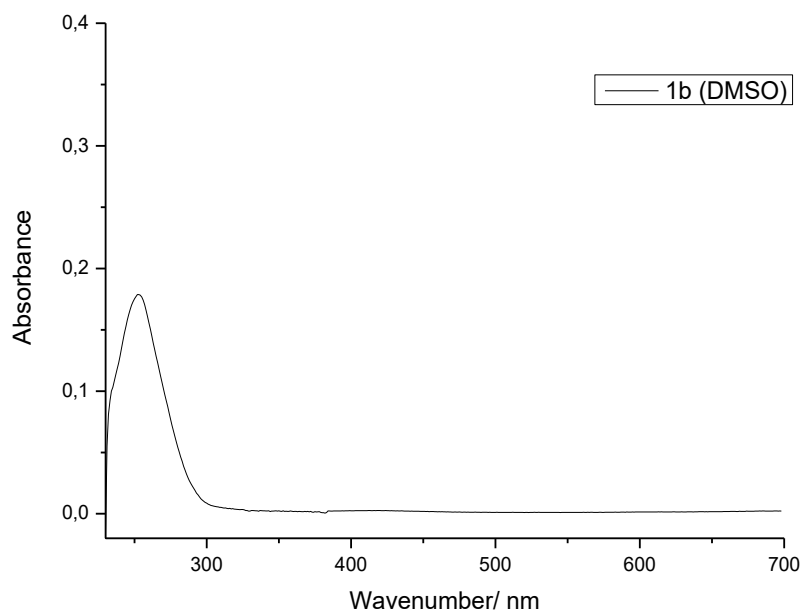


Figura 61- Espectro de UV-Vis do **1b** (1×10^{-5} M) em DMSO (250 – 700 nm).