

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

José Aleixo de Azevedo França

**Síntese e caracterização de híbridos metálicos multialvos com potencial atividade  
leishmanicida**

Juiz de Fora

2023

**José Aleixo de Azevedo França**

**Síntese e caracterização de híbridos metálicos multialvos com potencial atividade  
leishmanicida**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química. Área de concentração: Química.

Orientadora: Profª. Dra. Maribel Navarro

Juiz de Fora

2023

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

de Azevedo França, José Aleixo.

Síntese e caracterização de híbridos metálicos multialvos com potencial atividade leishmanicida / José Aleixo de Azevedo França. -- 2024.

197 p. : il.

Orientadora: Maribel Coromoto Navarro Acosta

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Exatas. Programa de Pós-Graduação em Química, 2024.

1. Doenças Negligenciadas. 2. Leishmaniose. 3. fungos. 4. híbridos metálicos. 5. DNA. I. Coromoto Navarro Acosta, Maribel , orient. II. Título.

**José Aleixo de Azevedo França**

**Síntese e caracterização de híbridos metálicos multialvos com potencial atividade leishmanicida**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Química. Área de concentração: Química.

Aprovada em 23 de janeiro de 2024.

**BANCA EXAMINADORA**

**Profa. Dra. Maribel Coromoto Navarro Acosta**  
- **Orientadora** Universidade Federal de Juiz de  
Fora

**Profa. Dra. Maria Domingues Vargas**  
Universidade Federal Fluminense

**Profa. Dra. Legna Adreina Colina Vegas**  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Profa. Dra. Flávia Cavalieri Machado**  
Universidade Federal de Juiz de Fora

**Prof. Dr. Alexandre Cuin**  
Universidade Federal de Juiz de Fora

Juiz de Fora, 05/01/2024.

---



Documento assinado eletronicamente por **Maribel Coromoto Navarro Acosta, Professor(a)**, em 23/01/2024, às 15:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do **Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020**.

---



Documento assinado eletronicamente por **Flavia Cavalieri Machado, Professor(a)**, em 23/01/2024, às 15:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do **Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020**.

---



Documento assinado eletronicamente por **Alexandre Cuin, Professor(a)**, em 23/01/2024, às 16:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do **Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020**.

---



Documento assinado eletronicamente por **MARIA DOMINGUES VARGAS, Usuário Externo**, em 25/01/2024, às 14:20, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do **Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020**.

---



Documento assinado eletronicamente por **Legna Andreina Colina Vegas, Usuário Externo**, em 26/01/2024, às 10:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do **Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020**.

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf ([www2.ufjf.br/SEI](http://www2.ufjf.br/SEI)) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador 1653137 e o código CRC F5B4B0A2.

---

Dedico este trabalho à memória de meu pai, Walter Aleixo, cuja transitoriedade na vida foi um capricho divino. Em honra a mim mesmo, consagro este esforço, tendo reunido forças para concluí-lo mesmo em meio a eventos que poderiam facilmente ter me levado à desistência. Por último, dedico esta obra às mulheres fundamentais em minha existência: minha mãe, Márcia Olimpia, e minhas irmãs caçulas, Loren e Lorraine. São elas a razão do meu viver, o motivo pelo qual me ergo a cada manhã e decido perseverar por mais um dia.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pois até aqui me ajudou o Senhor.

À querida Mãe Márcia, dedico estas palavras de profundo agradecimento por seu apoio imensurável e fé inabalável nos meus sonhos. Seu constante encorajamento tornou-se o alicerce que impediu qualquer pensamento de desistência. Ao longo dos trinta anos da minha existência, sua presença foi a fonte de apoio constante, amor incondicional e a manifestação sublime da maternidade. Sou imensamente grato por ter uma mãe tão maravilhosa como você ao meu lado.

Às minhas irmãs Loren e Lorraine, expresso meu mais profundo agradecimento por serem a força que me impede de desistir. Vocês são a essência do meu viver, meu maior orgulho e a fonte de um amor que transborda em meu ser, ultrapassando todas as manifestações de afeto que posso expressar. A vida seria incompleta sem a presença e a influência inspiradora de vocês, e por isso, minha gratidão é imensurável.

Ao meu tio e figura paterna, José Roselle de Medeiros, expresso minha profunda gratidão pelo carinho e apoio incansáveis ao longo da minha jornada. Sua influência foi determinante para moldar a pessoa que me tornei e para conduzir-me aos lugares que alcancei. Sem a sua presença, meu caminho teria sido incompleto. Meu amor por você é imensurável.

À orientadora excepcionalmente paciente, Maribel Navarro, expresso minha profunda gratidão pela oportunidade de aprender e aprimorar-me sob sua orientação. Seu comprometimento em abrir portas que eu nunca imaginaria transpor é um testemunho da sua dedicação excepcional. Estou imensamente grato pela inspiração e orientação que você proporcionou, moldando meu percurso de maneiras que transcendem as minhas expectativas.

Ao distinto professor Dr. Luigi Messori, expresso meu profundo agradecimento por sua acolhida calorosa em seu grupo de pesquisa na Itália. Sua generosidade ao abrir as portas de seu laboratório foi fundamental para a minha formação acadêmica, e sua contribuição significativa moldou de maneira notável meu percurso educacional. Agradeço sinceramente por sua orientação valiosa e pelo impacto duradouro que teve em minha trajetória acadêmica.

Aos queridos colegas de laboratório na Itália, Andrea Geri e Lara Massai, expresso minha sincera gratidão pela paciência, apoio e valioso aprendizado compartilhados. Minha profunda apreciação por terem se tornado figuras tão especiais em minha vida. Agradeço também por terem me ensinado o sotaque mais encantador da Itália. Ansioso para nos encontrarmos em breve.

Aos meus estimados tios, Márcia Souza, Ana Paula, Marcelo, Cirlene, Silvia Helena e Adriane Marci, dirijo meu sincero agradecimento pelo constante apoio ao longo da minha jornada. Seu inabalável incentivo sempre me impulsionou a alçar voos mais altos, e por isso,

expresso minha profunda gratidão por cada gesto e palavra de encorajamento que têm sido fundamentais em minha trajetória.

À minha extraordinária e inseparável amiga, Camila Condé, dedico este profundo agradecimento. Em cada momento em que a desistência rondava meus pensamentos, você foi a força que me ergueu. Agradeço por ser parte integral da minha jornada ao longo do mestrado e doutorado. Somente nós compreendemos a dificuldade e hostilidade desse percurso acadêmico. Ninguém melhor do que nós para compreender os desafios da pós-graduação. Sua trajetória de vida é uma fonte constante de inspiração, e sua energia, caráter, dedicação e humor tornam cada dia suportável e digno de ser vivido. Meu amor por você é imensurável.

Ao amigo Vinicius, dedico este sincero agradecimento por ter sido parte essencial da minha jornada, mesmo aparecendo no final. Sua constante presença e apoio, mesmo diante dos altos e baixos, são testemunhos inestimáveis da nossa amizade. É especialmente reconfortante perceber como sua presença se intensificou nos momentos finais, solidificando ainda mais nossa conexão. Agradeço por cada instante compartilhado e por sua inabalável amizade ao longo do percurso.

À minha estimada amiga Camila Kauany, expresso meu profundo agradecimento pela amizade sincera, pelo carinho dedicado e pelos valiosos conselhos que compartilhamos. Sua presença foi e continua sendo de grande importância em minha vida. Obrigado por não ter deixado eu desistir.

Aos meus amigos Nicolas, Wenderson, Bruno e Vitória pela grande amizade nesse em tão pouco tempo, pelo apoio e pela ajuda em vários momentos.

Aos meus estimados pais emprestados Veronica e Roberto, expresso meu mais sincero agradecimento. Obrigado por se tornarem minha família na ausência da minha. Agradeço por terem preenchido meus dias com alegria, por me acolherem em seu círculo familiar, pelas deliciosas degustações de vinho, pelas melhores arepas do mundo e pela incomparável carbonara italiana. Meu amor por vocês é incondicional e eterno.

Aos meus amigos Elisa Guerra e Lorenzo Marchi por terem se tornado meus amigos inseparáveis durante minha trajetória na Itália. Obrigado por todo apoio, pela fé inabalável na minha capacidade e pela amizade que será sem dúvidas duradoura. Eu amo vocês.

Aos meus amigos e colegas de laboratório, Luana, Camilla, Yuliana e Daniel por todo o companheirismo e apoio. Jamais vou esquecer cada um de vocês!

Ao meu caro amigo Álvaro Silva e à estimada dona Belinha, expresso meu profundo agradecimento pela amizade constante, pelos valiosos ensinamentos e pelos momentos agradáveis que compartilhamos juntos. Meu mais sincero e caloroso obrigado a ambos.

Ao Dr. Wilmer José Villarreal Peña por todo apoio e presteza.

Aos Professores, Dra. Flávia Cavalieri e Dr. Alexandre Cuin por todos os ensinamentos e por todos os conselhos que contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional. Vocês são incríveis.

Às magníficas Gleuza e Regina, pela amizade e por todo apoio. Pelos agradáveis momentos de descontração nos corredores da UFJF. Um mundo sem vocês é um mundo sem graça.

À Mariana e a Maristela, meu mais profundo agradecimento pela paciência, educação e presteza exemplares que demonstraram. Agradeço sinceramente por sua constante ajuda, pois reconheço que não teria alcançado este ponto sem o apoio valioso de vocês. Muito obrigado, do fundo do coração.

Aos Professores Dr. Wanderley de Souza, Dra. Juliany Rodrigues e a Dra. Sonia Rozental, pelos ensaios biológicos que foram realizados.

À Dra. Sandra Scapin pelas análises de massas.

Ao Dr. Rodrigo Justo pelas análises de CHN.

À CAPES, CNPq, FAPEMIG (APQ-01543-18), e UFJF, pelo apoio financeiro.

A todos que, de alguma forma, contribuíram e fizeram parte dessa conquista.

Muitíssimo Obrigado!

## RESUMO

Leishmaniose e esporotricose, resultantes de parasitas e fungos, impactam milhões em nações vulneráveis. A falta de vacinas eficazes e opções de tratamento limitadas destaca a urgência de pesquisas para desenvolver novas terapias. Motivados por esses desafios, nesse trabalho foram reportadas as síntese de doze complexos metálicos híbridos de Cu(II), [Cu(phen)(CTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·3H<sub>2</sub>O (**3**), [Cu(diona)(CTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) · 5H<sub>2</sub>O (**4**), [Cu(dppz)(CTZ)(NO<sub>3</sub>)(H<sub>2</sub>O)](NO<sub>3</sub>) · 2H<sub>2</sub>O (**5**), [Cu(phen)(KTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) · 2H<sub>2</sub>O · C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O (**6**), [Cu(diona)(KTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) · 4H<sub>2</sub>O (**7**), [Cu(dppz)(KTZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) · 2H<sub>2</sub>O (**8**) [Cu(phen)(ITZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) · 2,2H<sub>2</sub>O (**9**), [Cu(diona)(ITZ)(NO<sub>3</sub>)(H<sub>2</sub>O)](NO<sub>3</sub>) · 5H<sub>2</sub>O (**10**), [Cu(dppz)(ITZ)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (**11**), {[Cu(phen)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)}<sub>2</sub> · 3H<sub>2</sub>O (**12**), {[Cu(diona)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)}<sub>2</sub> · 3H<sub>2</sub>O (**13**), {[Cu(dppz)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)}<sub>2</sub> · 3CH<sub>3</sub>OH · 2H<sub>2</sub>O (**14**) dois híbridos de Ag(I), [Ag(CTZ)(KTZ)]NO<sub>3</sub> · 2CH<sub>3</sub>CN · H<sub>2</sub>O (**15**) e [Ag(ITZ)(KTZ)]NO<sub>3</sub> · 1,4H<sub>2</sub>O (**16**) e o complexo [Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(ITZ)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub> · 5H<sub>2</sub>O (**17**). Todos os compostos foram caracterizados, quando possível, por meio das espectroscopias nas regiões do infravermelho (IV) e ultravioleta-visível (UV-Vis), massas (ESI-MS), ressonância paramagnética eletrônica (EPR), ressonância magnética nuclear (RMN) de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, e análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN), indicando que todos os complexos de Cu(I) e Cu(II) apresentam geometria octaédrica, enquanto os dois híbridos de Ag(I) apresentam geometria linear. Todos os complexos de Cu(II) demonstraram ser estáveis em solução de DMSO em um intervalo mínimo de 24h, com a exceção notável do composto **4**. Os estudos de interação com o DNA revelaram que todos os complexos de Cu(II) interagem com o DNA por intercalação, sendo capazes de clivar o DNA em uma relação dose-dependente, delineando-o como alvo potencial desses compostos. Os híbridos de Cu(II) **4**, **5**, **8** e **14** exibiram valores de IC<sub>50</sub> de 0,01401 μM, 0,0342 μM, 0,01401 μM e 0,01955 μM respectivamente em amastigotas de *Leishmania (L.) amazonensis*, apresentando índices de seletividade superiores aos ligantes de origem e foram capazes de causar mudanças morfológicas no parasita como arredondamento do corpo celular de acordo com as microscopias eletrônicas. Adicionalmente, os complexos **10**, **11**, **16** e **17** destacaram-se pela excelente atividade frente aos fungos *Candida (C.) albicans*, *Candida (C.) auris*, *Cryptococcus (C.) neoformans*, *Aspergillus (A.) fumigatus* e *Sporothrix (S.) brasiliensis* apresentando valores de MIC menores que 0,5 μM, que foram inferiores às dos antifúngicos convencionais. Ademais, os complexos **16** e **17** sobressaem com os melhores valores de MIC, candidatando-se como promissores agentes antifúngicos.

**Palavras-chave:** Doenças Negligenciadas, Leishmaniose, fungos, híbridos metálicos, DNA.

## ASTRATTO

La leishmaniosi e la sporotrichosi, derivanti da parassiti e funghi, colpiscono milioni di persone nelle nazioni vulnerabili. La mancanza di vaccini efficaci e le limitate opzioni terapeutiche evidenziano l'urgenza della ricerca di sviluppare nuove terapie. Motivati da queste sfide, in questo lavoro abbiamo riportato la sintesi di dodici complessi ibridi di Cu(II), [Cu(phen)(CTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·3H<sub>2</sub>O (**3**), [Cu(diona)(CTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·5H<sub>2</sub>O (**4**), [Cu(dppz)(CTZ)(NO<sub>3</sub>)(H<sub>2</sub>O)](NO<sub>3</sub>)·2H<sub>2</sub>O (**5**), [Cu(phen)(KTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·2H<sub>2</sub>O·C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O (**6**), [Cu(diona)(KTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·4H<sub>2</sub>O (**7**), [Cu(dppz)(KTZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·2H<sub>2</sub>O (**8**) [Cu(phen)(ITZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·2,2H<sub>2</sub>O (**9**), [Cu(diona)(ITZ)(NO<sub>3</sub>)(H<sub>2</sub>O)](NO<sub>3</sub>)·5H<sub>2</sub>O (**10**), [Cu(dppz)(ITZ)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (**11**), {[Cu(phen)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O (**12**), {[Cu(diona)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O (**13**), {[Cu(dppz)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3CH<sub>3</sub>OH·2H<sub>2</sub>O (**14**) due ibridi di Ag(I), [Ag(CTZ)(KTZ)]NO<sub>3</sub>·2CH<sub>3</sub>CN·H<sub>2</sub>O (**15**) e [Ag(ITZ)(KTZ)]NO<sub>3</sub>·1,4H<sub>2</sub>O (**16**) e il complesso [Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(ITZ)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub>·5H<sub>2</sub>O (**17**). Tutti i composti sono stati caratterizzati, quando possibile, mediante spettroscopia nelle regioni infrarosse (IR) e ultravioletto-visibile (UV-Vis), masse (ESI-MS), risonanza paramagnetica elettronica (EPR), risonanza magnetica nucleare (NMR) di <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e analisi elementare di carbonio, idrogeno e azoto (CHN), indicando che tutti i complessi Cu(I) e Cu(II) hanno geometria ottaedrica. mentre i due ibridi Ag(I) hanno geometria lineare. Tutti i complessi di Cu (II) hanno dimostrato di essere stabili in soluzione di DMSO ad un intervallo minimo di 24 ore, con la notevole eccezione del composto **4**. Gli studi sull'interazione del DNA hanno rivelato che tutti i complessi di Cu(II) interagiscono con il DNA per intercalazione, essendo in grado di scindere il DNA in una relazione dose-dipendente, delineandolo come un potenziale bersaglio di questi composti. Gli ibridi di Cu(II) **4**, **5**, **8** e **14** hanno mostrato valori di IC<sub>50</sub> rispettivamente di 0,01401 μM, 0,0342 μM, 0,01401 μM e 0,01955 μM in amastigoti di *Leishmania (L.) amazonensis*, presentavano indici di selettività superiori ai ligandi di origine e sono stati in grado di causare cambiamenti morfologici nel parassita, come l'arrotondamento del corpo cellulare secondo la microscopia elettronica. Inoltre, i complessi **10**, **11**, **16** e **17** si sono distinti per la loro eccellente attività contro i funghi *Candida (C.) albicans*, *Candida (C.) auris*, *Cryptococcus (C.) neoformans*, *Aspergillus (A.) fumigatus* e *Sporothrix (S.) brasiliensis* con valori di MIC inferiori a 0,5 μM, inferiori a quelli degli antimicotici convenzionali. Inoltre, i complessi **16** e **17** si distinguono per i migliori valori di MIC, essendo candidati come promettenti agenti antimicotici.

**Keywords:** Malattie Neglette, Leishmaniosi, funghi, ibridi metallici, DNA.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de reprodução do protozoário <i>Leishmania</i> spp. Alternando em suas fases amastigotas e promastigotas. ....	32
Figura 2 - Estruturas moleculares do pentostam, pentamidina, anfotericina B e miltefosina. .	33
Figura 3 - Estrutura molecular de fármacos antifúngicos.....	35
Figura 4 - Estruturas moleculares da cisplatina (a), e dos derivados de segunda (b) e terceira geração (c). ....	38
Figura 5 - Estruturas moleculares de complexos metálicos em fase clínica. ....	39
Figura 6 - Estrutura molecular do complexo metálico $\text{Ru}(\text{CTZ})_2\text{Cl}_2$ .....	40
Figura 7 - Estruturas moleculares dos complexos metálicos $\text{Ru}(\text{KTZ})_2\text{Cl}_2$ e $\text{Ru}(\text{KTZ})_2(\text{H}_2\text{O})\text{Cl}_3$ . .....	41
Figura 8 - Estruturas moleculares dos complexos de $\text{Zn}(\text{II})$ -ITZ com atividades antiparasitária e antifúngica.....	42
Figura 9 - Estruturas moleculares do nitrato de $\text{Ag}(\text{I})$ e da sulfadiazina de $\text{Ag}(\text{I})$ . ....	42
Figura 10 - Estruturas moleculares dos complexos de $\text{Ag}(\text{I})$ -BZN com atividade frente a <i>Trypanosoma cruzi</i> . ....	43
Figura 11 - Estruturas moleculares dos complexos de $\text{Ag}$ -BZN com atividade frente a <i>Trypanosoma cruzi</i> . ....	43
Figura 12 - Estruturas moleculares dos complexos de $\text{Cu}(\text{II})$ -KTZ testados em esporotricose. .....	45
Figura 13 - Estruturas moleculares dos complexos de $\text{Cu}(\text{I})$ - $\text{PPh}_3$ testados em esporotricose.	45
Figura 14 - Modelo da estrutura do DNA.....	46
Figura 15 - a) cisplatina ligada covalentemente ao DNA, (b) intercalação do $\Delta$ - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$ e (c) inserção e intercalação do $\Delta$ - $\alpha$ - $[\text{Rh}\{(\text{R,R})\text{-Me}_2\text{trien}\}\text{phi}]^{3+}$ com o DNA.....	47
Figura 16 - Estruturas moleculares dos ligantes planos phen, diona e dppz. ....	49
Figura 17 - Estruturas moleculares de complexos metálicos com ligantes planos.....	49
Figura 18 - Estrutura molecular da trioxaferroquina. ....	50
Figura 19 - Estrutura molecular do complexo de ouro(I) contendo Primaquina e Amodiaquina. .....	50
Figura 20 - Espectros vibracionais na região do infravermelho dos complexos metálicos híbridos 3, 4 e 5. ....	73
Figura 21 - Espectros eletrônicos na região do UV-Vis dos complexos metálicos híbridos 3, 4 e 5 em DMSO. ....	74

Figura 22 - Espectro de massas de alta resolução do complexo metálico híbrido 3. ....	76
Figura 23 - Espectros vibracionais na região do infravermelho dos complexos metálicos híbridos 6, 7 e 8. ....	79
Figura 24 - Espectros eletrônicos na região do UV-Vis dos complexos metálicos híbridos 6, 7 e 8 em DMSO. ....	80
Figura 25 - Espectro de massas de alta resolução do complexo metálico híbrido 6. ....	81
Figura 26 - Espectros vibracionais na região do infravermelho dos complexos metálicos híbridos 9, 10 e 11. ....	84
Figura 27 - Espectros eletrônicos na região do UV-Vis dos complexos metálicos híbridos 9, 10 e 11 em DMSO. ....	85
Figura 28 - Espectro de massas de alta resolução do complexo metálico híbrido 9. ....	86
Figura 29 - Espectros vibracionais na região do infravermelho dos complexos metálicos híbridos 12, 13 e 14. ....	89
Figura 30 - Espectros eletrônicos na região do UV-Vis dos complexos metálicos híbridos 12, 13 e 14 em DMSO. ....	90
Figura 31 - Espectro de massas de alta resolução do complexo metálico híbrido 12. ....	91
Figura 32 - Espectros de EPR CW em banda X foram obtidos a T = 300 K em amostras de pó dos complexos metálicos híbridos 3-14. Simulações espectrais são relatadas nos mesmos gráficos. ....	93
Figura 33 - Espectros experimentais e simulados de EPR CW em banda X obtidos em solução congelada de 0,5 mM do complexo metálico híbrido 6 em DMF/EtOH 5:1. ....	95
Figura 34 - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido 8 na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em t = 0h, 5h e 24h. ....	96
Figura 35 - Espectros vibracionais na região do infravermelho do complexo metálico híbrido 15 e dos CTZ e KTZ. ....	99
Figura 36 - Espectros eletrônicos na região do UV-Vis do complexo metálico híbrido 15 em DMSO. ....	100
Figura 37 - Comparação dos espectros de RMN de <sup>1</sup> H dos ligantes CTZ, KTZ e do complexo metálico híbrido 15. ....	101
Figura 38 - Espectros de RMN de <sup>13</sup> C dos ligantes CTZ, KTZ e do complexo metálico híbrido 15 em DMSO-d <sub>6</sub> . ....	102
Figura 39 - Espectros vibracionais na região do infravermelho do complexo metálico híbrido 16 em comparação com os ligantes ITZ e KTZ. ....	104
Figura 40 - Espectros eletrônicos na região do UV-Vis do complexo metálico híbrido 16 e dos ligantes ITZ e KTZ em DMSO. ....	105

Figura 41 - Espectros de RMN de $^1\text{H}$ dos ligantes ITZ, KTZ e do complexo metálico híbrido 16 na região entre 6,6 e 8,6 ppm.....	106
Figura 42 - Mapa HMBC de $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ (400 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ ) do complexo metálico híbrido 16. ....	107
Figura 43 - Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ dos ligantes ITZ, KTZ e do complexo metálico híbrido 16 em em DMSO- $\text{d}_6$ .....	108
Figura 44 - Espectros vibracionais na região do infravermelho do complexo metálico 17 em comparação com o ligante ITZ. ....	111
Figura 45 - Espectros eletrônicos na região do UV-Vis do complexo metálico 17 e do ITZ em DMSO.....	112
Figura 46 - Espectros de RMN $^1\text{H}$ do complexo metálico 17 do ITZ, o complexo precursor $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2]\text{NO}_3$ sobrepostos obtidos em DMSO- $\text{d}_6$ entre 6,0 ppm e 8,8 ppm. ...	113
Figura 47 - Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ em DMSO- $\text{d}_6$ do complexo 17 comparado com o complexo $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2](\text{NO}_3)$ .....	114
Figura 48 - Espectros de RMN de $^{13}\text{C}$ do ligantes ITZ e dos complexos $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2](\text{NO}_3)$ e do complexo metálico 17 em DMSO- $\text{d}_6$ .....	115
Figura 49 - Espectro de massas de alta resolução por ESI-MS do complexo metálico 17. ...	115
Figura 50 - Espectros eletrônicos das titulações espectrofotométricas dos complexos metálicos híbridos 3, 5, 6, 8, 9, 11 e 14 com o CT-DNA. A concentração do DNA variou de 0 a 45 $\mu\text{M}$ .....	117
Figura 51 - Representação do DNA plasmidial em suas três principais formas. ....	122
Figura 52 - Gel de eletroforese do plasmídeo pBR322 (DNA) e do plasmídeo pBR322 após 18h e 37°C de incubação com CDDP e os complexos metálicos híbridos 5, 8, 11 e 14 a: 1) 25 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , 2) 100 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , 3) 200 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ .....	123
Figura 53 - Gel de eletroforese do plasmídeo pBR322 (DNA) e do plasmídeo pBR322 após 18h e 37°C de incubação com CDDP e os complexos metálicos híbridos 3, 4, 6, 7, 9, 10, 12 e 13 a: 1) 5 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , 2) 25 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , 3) 100 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ .....	124
Figura 54 - Espectros de fluorescência dos complexos metálicos híbridos 3 -14 com a adição de alíquotas de ctDNA, onde Condições: tampão PBS pH = 7,4, $\lambda$ excitação = 526 nm. ....	126
Figura 55 - Microscopia eletrônica de varredura-transmissão em microscopia eletrônica de varredura. Células promastigotas de <i>L. amazonensis</i> com 48 h de crescimento. 131	
Figura 56 - Microscopia eletrônica de varredura-transmissão em microscopia eletrônica de varredura com 48 h de tratamento. (A) Células tratadas com diona à 0,1 $\mu\text{M}$ . (B) Células tratadas com o complexo metálico $\text{Cu}(\text{diona})(\text{CTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$ (4) à 1	

μM. (C) Células tratadas com o complexo metálico  $\text{Cu}(\text{diona})(\text{FLZ})(\text{NO}_3)_2(\text{NO}_3)_2$  (13) à 1 μM. (D) Células tratadas com o complexo 2 à 1 μM. Analisando as imagens pode-se observar as seguintes alterações: 1) Protusões de membrana (seta fina); 2) Arredondamento no corpo celular (cabeça de seta); 3) Depressões no corpo celular (seta grossa); e, 4) Presença de vesículas/microvesículas extracelulares (duas cabeças de seta)..... 132

Figura 57 - Microscopia eletrônica de varredura-transmissão em microscopia eletrônica de varredura com 72 h de tratamento. (A) Células tratadas com diona à 0,1 μM. (B) Células tratadas com o complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{CTZ})_2(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$  (4) à 1 μM. (C) Células tratadas com o complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{FLZ})(\text{NO}_3)]_2(\text{NO}_3)_2$  (13) à 1 μM. (D) Células tratadas com o complexo 2 à 1 μM. Analisando as imagens pode-se observar as seguintes alterações: 1) Protusões de membrana (seta fina); 2) Arredondamento no corpo celular (cabeça de seta); 3) Depressões no corpo celular (seta grossa); e, 4) Presença de vesículas/microvesículas extracelulares (duas cabeças de seta)..... 133

Figura 58 - STEM-in-SEM de formas promastigotas de *L. amazonensis* controle com 48 h de cultivo celular. BF- Bolsa flagelar; C- Cinetoplasto; F- Flagelo; M- Mitocôndria; N- Núcleo..... 134

Figura 59 - STEM-in-SEM com 48 horas de tratamento. (A, B) Células tratadas com diona a 0,05 μM e 0,1 μM, respectivamente. (C, D) Células tratadas com os complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{CTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (4) a 0,5 μM e 1 μM, respectivamente. (E, F) Células tratadas com  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{FLZ})(\text{NO}_3)]_2(\text{NO}_3)_2$  (13) a 0,5 μM e 1 μM, respectivamente. Analisando as microscopias, pode-se observar algumas organelas e efeitos em formas promastigotas de *L. amazonensis*, como: presença de corpos lipídicos (\*), protusões de membrana (seta fina), induzidos pela presença de corpos lipídicos, perfis de retículo endoplasmático (cabeça de seta), presença de vacúolos (V), inchaço mitocondrial, má compactação do material genético e alteração no cinetoplasto (C). Além disso, pode-se observar, também, a presença da bolsa flagelar alterada (BF) e flagelo (F). ..... 135

Figura 60 - Efeitos em cepas de *Sporothrix brasiliensis* após exposição ao  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{ITZ})_2]\text{NO}_3$  (17) (A) Imagens de microscopia eletrônica de varredura das cepas tratadas por 48h em concentrações de 0,015 μM do complexo  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{ITZ})_2]\text{NO}_3$  (17) (Aiii) Mostram a indução da filamentação e mudanças na estrutura da parede celular. As cepas analisadas por fluorimetria exibiram acúmulo de lipídios neutros (B) e DNA (C), assim como a diminuição na presença

de quitina (D). Barras: 5 $\mu\text{m}$ . *, $P < 0,05$ ; **, $P < 0,01$ ; ****, $P < 0,0001$ by one-way ANOVA test. ....	142
Figura 61 - Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante CTZ.....	159
Figura 62 - Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante KTZ. ....	159
Figura 63 - Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante ITZ. ....	160
Figura 64 - Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante FLZ.....	160
Figura 65 - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido 3 na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em t = 0h, 5h e 24h. ....	161
Figura 66 - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido 4 na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em t = 0h, 5h e 24h. ....	161
Figura 67 - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido 5 na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em t = 0h, 5h e 24h. ....	162
Figura 68 - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido 6 na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em t = 0h, 5h e 24h. ....	162
Figura 69 - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido 7 na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em t = 0h, 5h e 24h. ....	163
Figura 70 - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido 11 na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em t = 0h, 5h e 24h. ....	163
Figura 71 - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido 12 na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em t = 0h, 5h e 24h. ....	164
Figura 72 - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido 13 na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em t = 0h, 5h e 24h. ....	164
Figura 73 - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido 14 na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em t = 0h, 5h e 24h. ....	165
Figura 74 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ ) do ligante CTZ.....	166
Figura 75 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ ) do ligante KTZ.....	166
Figura 76 - Espectros de RMN de $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ (400 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ ) do ligante KTZ. ....	167
Figura 77 - Espectros de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ ) do ligante ITZ.....	167
Figura 78 - Espectros de RMN de $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ (400 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ ) do ligante ITZ.....	168
Figura 79 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ ) do complexo metálico híbrido 15. ....	168
Figura 80 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ ) do complexo metálico híbrido 16. ....	169
Figura 81 - Espectro de RMN de $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- $\text{d}_6$ ) do complexo metálico 17.....	169

Figura 82 - Espectro de massas de alta resolução por eletrospray do complexo metálico híbrido 5. ....	170
Figura 83 - Espectro de massas de alta resolução por eletrospray do complexo metálico híbrido 8. ....	170
Figura 84 - Espectro de massas de alta resolução por eletrospray do complexo metálico híbrido 10. ....	171
Figura 85 - Espectro de massas de alta resolução por eletrospray do complexo metálico híbrido 13. ....	171
Figura 86 - Microscopia eletrônica de varredura-transmissão com 48 h de tratamento. (A) Células tratadas com Sal de cobre à 15 $\mu$ M. (B) Células tratadas com CTZ à 3 $\mu$ M. (C) Células tratadas com KTZ à 3 $\mu$ M. (D) Células tratadas com FLZ à 200 $\mu$ M. Analisando as imagens pode-se observar as seguintes alterações: 1) Protusões de membrana (seta fina); 2) Arredondamento no corpo celular (cabeça de seta); 3) Depressões no corpo celular (seta grossa); e, 4) Presença de vesículas/microvesículas extracelulares (duas cabeças de seta). ....	183
Figura 87 - Microscopia eletrônica de varredura-transmissão em com 48 h de tratamento. (A) Células tratadas com phen à 9 $\mu$ M. (B) Células tratadas com o complexo metálico [Cu(phen)(CTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> ) (3) à 1 $\mu$ M. (C) Células tratadas com o complexo metálico Cu(phen)(KTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> ) (6) à 1 $\mu$ M. (D) Células tratadas com o complexo [Cu(phen)(NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> ) (1) à 1 $\mu$ M. Analisando as imagens pode-se observar as seguintes alterações: 1) Protusões de membrana (seta fina); 2) Arredondamento no corpo celular (cabeça de seta); 3) Depressões no corpo celular (seta grossa); e, 4) Presença de vesículas/microvesículas extracelulares (duas cabeças de seta). ....	184
Figura 88 - Microscopia eletrônica de varredura-transmissão em microscopia eletrônica de varredura com 72 h de tratamento. (A) Células tratadas com Sal de cobre à 15 $\mu$ M. (B) Células tratadas com CTZ à 3 $\mu$ M. (C) Células tratadas com KTZ à 3 $\mu$ M. (D) Células tratadas com FLZ à 200 $\mu$ M. Analisando as imagens pode-se observar as seguintes alterações: 1) Protusões de membrana (seta fina); 2) Arredondamento no corpo celular (cabeça de seta); 3) Depressões no corpo celular (seta grossa); e, 4) Presença de vesículas/microvesículas extracelulares (duas cabeças de seta). ....	185
Figura 89 - Microscopia eletrônica de varredura-transmissão em microscopia eletrônica de varredura com 72 h de tratamento. (A) Células tratadas com phen à 9 $\mu$ M. (B) Células tratadas com o complexo metálico [Cu(phen)(CTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> (3) à 1 $\mu$ M. (C) Células tratadas com o complexo metálico [Cu(phen)(KTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> (6) à 1	

µM. (D) Células tratadas com o complexo [Cu(phen(NO<sub>3</sub>))]NO<sub>3</sub> (1) à 1 µM. Analisando as imagens pode-se observar as seguintes alterações: 1) Protusões de membrana (seta fina); 2) Arredondamento no corpo celular (cabeça de seta); 3) Depressões no corpo celular (seta grossa); e, 4) Presença de vesículas/microvesículas extracelulares (duas cabeças de seta). ..... 186

Figura 90 - STEM-in-SEM de formas promastigotas de *L. amazonensis* tratadas por 48 h. (A) Células tratadas com sal de cobre à 15 µM. (B) Células tratadas com CTZ à 3 µM. (C) Células tratadas com KTZ à 3 µM. (D) Células tratadas com FLZ à 200 µM. Analisando as micrografias eletrônicas, pode-se observar algumas organelas e alterações em formas promastigotas de *L. amazonensis*, como: presença de corpos lipídicos (\*), Protusões de membrana (seta fina), induzidos pela presença de corpos lipídicos (C), perfis de retículo (cabeça de seta), presença de vacúolos (V), inchaço mitocondrial e possível fragmentação do material genético. Além disso, pode-se observar, também, a presença da bolsa flagelar (BF) e flagelo (F). ..... 187

Figura 91 - STEM-in-SEM após tratamento de formas promastigotas de *L. amazonensis* por 48 h. (A) Células tratadas com phen à 9 µM (B) Células tratadas com os complexo metálico [Cu(phen)(CTZ)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (3) à 1 µM. (C) Células tratadas com [Cu(phen)(KTZ)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (6) à 1 µM. Analisando as microscopias, pode-se observar algumas organelas e efeitos em formas promastigotas de *L. amazonensis*, como: presença de corpos lipídicos (\*), Protusões de membrana (seta fina), induzidos pela presença de corpos lipídicos, perfis de retículo endoplasmático (cabeça de seta), presença de vacúolos (V), inchaço mitocondrial e possível fragmentação do material genético. Além disso, pode-se observar, também, a presença da bolsa flagelar (BF) e flagelo (F). ..... 188

Figura 92 - STEM-in-SEM com 48 horas de tratamento. (A, B) Células tratadas com o complexo metálico [Cu(phen)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (1) a 0,05 µM e 0,1 µM, respectivamente. (C, D) Células tratadas com os complexo metálico [Cu(diona)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (2) a 0,5 µM e 1 µM, respectivamente. Analisando as microscopias, pode-se observar algumas organelas e efeitos em formas promastigotas de *L. amazonensis*, como: protusões de membrana (seta fina), induzidos pela presença de corpos lipídicos, perfis de retículo endoplasmático (cabeça de seta), presença de vacúolos (V), inchaço mitocondrial, má compactação do material genético. Além disso, pode-se observar, também, a presença de flagelo (F) e complexo de golgi (G). ..... 189

- Figura 93 - Microscopia eletrônica de transmissão do controle com 72 horas de cultivo. Pode-se observar a presença de: núcleo (N), mitocôndria (M), corpos lipídicos (CL), bolsa flagelar (BF) e flagelo (F)..... 190
- Figura 94 - Microscopia eletrônica de transmissão com 72 horas de tratamento. (A) Células tratadas com Cobre a 15  $\mu\text{M}$ , respectivamente. (B) Células tratadas com CTZ a 3  $\mu\text{M}$ . (C) Células tratadas com KTZ a 3  $\mu\text{M}$ , respectivamente. (D) Células tratadas com FLZ a 200  $\mu\text{M}$ ..... 190
- Figura 95 - Microscopia eletrônica de transmissão com 72 horas de tratamento. (A, B) Células tratadas com phen a 6  $\mu\text{M}$  e 9  $\mu\text{M}$ , respectivamente. (C, D) Células tratadas com os complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{CTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (3) a 0,5  $\mu\text{M}$  e 1  $\mu\text{M}$ , respectivamente. (E, F) Células tratadas com  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{KTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (6) a 0,5  $\mu\text{M}$  e 1  $\mu\text{M}$ , respectivamente. Analisando as microscopias, pode-se observar algumas organelas e efeitos em formas promastigotas de *L. amazonensis*, como: presença de corpos lipídicos (\*), Protusões de membrana (seta fina), induzidos pela presença de corpos lipídicos, perfis de retículo endoplasmático (cabeça de seta), presença de vacúolos (V), inchaço mitocondrial e possível fragmentação do material genético. Além disso, pode-se observar, também, a presença de flagelo (F) e cinetoplasto (C)..... 191
- Figura 96 - Microscopia eletrônica de transmissão com 48 horas de tratamento. (A, B) Células tratadas com Diona a 0,05  $\mu\text{M}$  e 0,1  $\mu\text{M}$ , respectivamente. (C, D) Células tratadas com os complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{CTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (4) a 0,5  $\mu\text{M}$  e 1  $\mu\text{M}$ , respectivamente. (E, F) Células tratadas com  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{FLZ})(\text{NO}_3)]_2(\text{NO}_3)_2$  (13) a 0,5  $\mu\text{M}$  e 1  $\mu\text{M}$ , respectivamente. Analisando as microscopias, pode-se observar algumas organelas e efeitos em formas promastigotas de *L. amazonensis*, como: presença de corpos lipídicos (\*), protusões de membrana (seta fina), induzidos pela presença de corpos lipídicos, perfis de retículo endoplasmático (cabeça de seta), presença de vacúolos (V), inchaço mitocondrial, má compactação do material genético. Além disso, pode-se observar, também, a presença da bolsa flagelar alterada (BF), flagelo (F) e vesículas extracelulares (VE). ..... 192
- Figura 97 - Microscopia eletrônica de transmissão com 48 horas de tratamento. (A, B) Células tratadas com o complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (1) a 0,05  $\mu\text{M}$  e 0,1  $\mu\text{M}$ , respectivamente. (C, D) Células tratadas com os complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (2) a 0,5  $\mu\text{M}$  e 1  $\mu\text{M}$ , respectivamente. Analisando as microscopias, pode-se observar algumas organelas e efeitos em formas promastigotas de *L. amazonensis*, como: protusões de membrana (seta fina),

induzidos pela presença de corpos lipídicos, perfis de retículo endoplasmático (cabeça de seta), inchaço mitocondrial (M), má compactação do material genético e seu margeamento no núcleo (N). Além disso, pode-se observar, também, a presença de flagelo (F) e cinetoplasto (C). ..... 193

Figura 98 - Artigo publicado durante o doutorado. .... 194

Figura 99 - Artigo publicado durante o doutorado. .... 195

Figura 100 - Artigo publicado durante o doutorado. .... 196

Figura 101 - Artigo publicado durante o doutorado. .... 197

Figura 102 - Artigo publicado durante o doutorado. .... 198

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados analíticos dos complexos metálicos híbridos 3, 4 e 5. ....	77
Tabela 2 - Dados analíticos dos complexos metálicos híbridos 6, 7 e 8. ....	82
Tabela 3 - Dados analíticos dos complexos metálicos híbridos 9, 10 e 11. ....	87
Tabela 4 - Dados analíticos dos complexos metálicos híbridos 12, 13 e 14. ....	92
Tabela 5 - Parâmetros de melhor ajuste obtidos a partir de simulações de espectros CW de banda X dos complexos metálicos híbridos 3-14. A relação $g_z/A_z$ obtida também é relatada. ....	94
Tabela 6 - Parâmetros de melhor ajuste obtidos a partir da simulação da medição de EPR CW em banda X em uma solução congelada de 0,5 mM do complexo metálico híbrido 6 em DMF/EtOH 5:1. ....	96
Tabela 7 - Dados analíticos dos complexos metálicos híbridos 15 e 16. ....	109
Tabela 8 - Dados das titulações: Constantes de interação $K_b$ , comprimento de onda (nm), Hipocromismo (%) e Batocromismo. ....	118
Tabela 9 - Constante de Stern – Volmer ( $K_{SV}$ ), constante de velocidade bimolecular de supressão ( $K_q$ ), constante de ligação aparente ( $K_{app}$ ). ....	127
Tabela 10 - Valores de $IC_{50}$ obtidos após o tratamento das formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> de 48 h. ....	129
Tabela 11 - Valores de $CC_{50}$ , $IC_{50}$ e SI após 48h e 72 <sub>h</sub> de tratamento em formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> com os complexos metálicos híbridos Cu(II). ....	130
Tabela 12 - Capacidade inibitória de complexos metálicos híbridos 3-14 contra fungos de importância médica, comparada aos antifúngicos e aos metais sozinhos. ....	137
Tabela 13 - Atividade antifúngica dos complexos metálicos híbridos 3-14 contra fungos de importância médica. ....	138
Tabela 14 - Capacidade inibitória de complexos metálicos híbridos de Ag(I) contra fungos de importância médica, comparada aos antifúngicos e ao sal de prata. ....	139
Tabela 15 - Atividade antifúngica de azóis complexados a metais contra fungos de importância médica. ....	140
Tabela 16 - Atividade antifúngica do ITZ, seus complexos metálicos e os sais de cobre. ....	141
Tabela 17 - Seletividade do complexo metálico $[Cu(PPh_3)_2(ITZ)_2]NO_3$ (17) frente as células de fungos. ....	143

## LISTA DE ESQUEMAS

- Esquema 1 - Sínteses dos complexos precursores 1 e 2 derivados dos ligantes phen e diona. 70
- Esquema 2 - Sínteses dos complexos precursores derivados dos ligantes azólicos (A): 2CTZ/MeOH/24h, (B): 2KTZ/MeOH/24h, (C): 2ITZ/MeOH/24h e (D): FLZ/MeOH/30min..... 71
- Esquema 3 - Sínteses de novos complexos metálicos híbridos [Cu(phen)(CTZ)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (3) e [Cu(diona)(CTZ)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (4): (a) a partir da reação entre o ligante CTZ e os complexos metálicos precursores (1) e (2) respectivamente; e do [Cu(dppz)(CTZ)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>).3H<sub>2</sub>O (5): (b) a partir da reação do ligante dppz com o complexo metálico Ca. .... 72
- Esquema 4 - Sínteses de novos complexos [Cu(phen)(KTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)]NO<sub>3</sub>.3H<sub>2</sub>O (6) e Cu(diona)(KTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>).5H<sub>2</sub>O (7): (a) a partir da reação entre o ligante KTZ e complexos metálicos precursores (1) e (2) respectivamente; e do [Cu(dppz)(KTZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>).3H<sub>2</sub>O (8): (b) a partir da reação entre o ligante dppz e o complexo metálico Cb..... 78
- Esquema 5 - Sínteses de novos complexos de [Cu(phen)(ITZ)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (9) e [Cu(diona)(ITZ)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (10): (a) a partir da reação entre o ligante ITZ e os complexos metálicos (1) e (2) respectivamente; e do [Cu(dppz)(ITZ)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>).3H<sub>2</sub>O (11): (b) a partir da reação entre o ligante dppz e o complexo Cc. .... 83
- Esquema 6 - Sínteses de novos complexos de [Cu(phen)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)]<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (12) e [Cu(diona)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)]<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (13): (a) a partir da reação entre o ligante FLZ e o complexos metálicos precursores (1) e (2) respectivamente; e do [Cu(dppz)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)]<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O (14): (b) a partir da reação entre o ligante dppz e o complexo Cd. .... 88
- Esquema 7 - Síntese do complexo metálico híbrido [Ag(CTZ)(KTZ)]NO<sub>3</sub> (15) pela complexação do CTZ e do KTZ ao AgNO<sub>3</sub> em acetonitrila por 2h. .... 97
- Esquema 8 - Síntese do complexo metálico híbrido [Ag(ITZ)(KTZ)]NO<sub>3</sub> (16) pela complexação do ITZ e do KTZ ao AgNO<sub>3</sub> em acetonitrila por 2h..... 103
- Esquema 9 - Síntese do complexo precursor [Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub> (Ce). .... 109
- Esquema 10 - Síntese do novo complexo [Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(ITZ)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub> (17). .... 110

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Efeito do aumento da concentração dos complexos metálicos híbridos 5, 8, 11, 14 na viscosidade relativa do CT-DNA a 25 °C. ....	120
Gráfico 2 - Efeito do crescimento da razão $[DNA]/(\epsilon_f - \epsilon_a)$ em função do aumento da concentração do CT-DNA para o complexo metálico híbrido 3. ....	172
Gráfico 3 - Efeito do crescimento da razão $[DNA]/(\epsilon_f - \epsilon_a)$ em função do aumento da concentração do CT-DNA para o complexo metálico híbrido 5. ....	172
Gráfico 4 - Efeito do crescimento da razão $[DNA]/(\epsilon_f - \epsilon_a)$ em função do aumento da concentração do CT-DNA para o complexo metálico híbrido 6. ....	173
Gráfico 5 - Efeito do crescimento da razão $[DNA]/(\epsilon_f - \epsilon_a)$ em função do aumento da concentração do CT-DNA para o complexo metálico híbrido 8. ....	173
Gráfico 6 - Efeito do crescimento da razão $[DNA]/(\epsilon_f - \epsilon_a)$ em função do aumento da concentração do CT-DNA para o complexo metálico híbrido 9. ....	174
Gráfico 7 - Efeito do crescimento da razão $[DNA]/(\epsilon_f - \epsilon_a)$ em função do aumento da concentração do CT-DNA para o complexo metálico híbrido 11. ....	174
Gráfico 8 - Efeito do crescimento da razão $[DNA]/(\epsilon_f - \epsilon_a)$ em função do aumento da concentração do CT-DNA para o complexo metálico híbrido 14. ....	175
Gráfico 9 - Efeito do aumento da concentração dos complexos metálicos híbridos 3,6,9, 12 na viscosidade relativa do CT-DNA a 25 °C. ....	175
Gráfico 10 - Efeito do aumento da concentração dos complexos metálicos híbridos 4,7,10,13 na viscosidade relativa do CT-DNA a 25 °C. ....	176
Gráfico 11 - Gráfico da Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido 3, conforme determinado a partir dos dados espectrais. ....	176
Gráfico 12 - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido 4, conforme determinado a partir dos dados espectrais. ....	177
Gráfico 13 - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido 5, conforme determinado a partir dos dados espectrais. ....	177
Gráfico 14 - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido 6, conforme determinado a partir dos dados espectrais. ....	178

Gráfico 15 - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido 7, conforme determinado a partir dos dados espectrais. ....	178
Gráfico 16 - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido 8, conforme determinado a partir dos dados espectrais. ....	179
Gráfico 17 - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido 9, conforme determinado a partir dos dados espectrais. ....	179
Gráfico 18 - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido 10, conforme determinado a partir dos dados espectrais. ....	180
Gráfico 19 - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido 11, conforme determinado a partir dos dados espectrais. ....	180
Gráfico 20 - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido 12, conforme determinado a partir dos dados espectrais. ....	181
Gráfico 21 - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido 13, conforme determinado a partir dos dados espectrais. ....	181
Gráfico 22 - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido 14, conforme determinado a partir dos dados espectrais. ....	182

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>A. fumigatus</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
CHN	Carbono, hidrogênio e nitrogênio
IC <sub>50</sub>	Concentração inibitória de 50% da viabilidade celular
CTZ	Clotrimazol
<i>C. neoformans</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d <sub>6</sub>	Dimetilsulfóxido deuterado
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dt	Dupleto de tripleto
ESI-MS	Espectrometria de massas com ionização por electrospray
FLZ	Fluconazol
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
IV	Infravermelho
ITZ	Itraconazol
J	Constante de acoplamento
K <sub>b</sub>	Constante de interação
KTZ	Cetoconazol
<i>L.</i>	<i>Leishmania</i>
LC	Leishmaniose cutânea
LMC	Leishmaniose mucocutânea
LV	Leishmaniose Visceral
m	multipleto
MFC	Concentração fungicida mínima
MIC	Concentração inibitória mínima
m/z	razão massa carga
RMN	ressonância magnética nuclear
s	simpleto

<i>S. amazonensis</i>	<i>Sporothrix amazonenses</i>
<i>S. globosa</i>	<i>Sporothrix globosa</i>
<i>S. schenkii</i>	<i>Sporothrix schenkii</i>
t	tripleto
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UV/vis	Ultravioleta – Visível
$\delta$	deslocamento químico
$\Delta$ .	variação
$\Lambda$ M	Condutividade molar

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>29</b>
1.1.	LEISHMANIOSE .....	29
1.1.1.	<b>Ciclo de vida do parasita</b> .....	<b>30</b>
1.1.2.	<b>Epidemiologia</b> .....	<b>32</b>
1.1.3.	<b>Tratamento quimioterápido</b> .....	<b>33</b>
1.2.	ESPOROTRICOSE .....	37
1.3.	COMPLEXOS METÁLICOS EM MEDICINA .....	38
1.3.1.	<b>Complexos de prata</b> .....	<b>42</b>
1.3.2.	<b>Complexos de cobre</b> .....	<b>44</b>
1.4.	O DNA .....	46
1.4.1.	<b>Ligantes planos</b> .....	<b>48</b>
1.5.	HÍBRIDOS METÁLICOS .....	49
<b>2.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>52</b>
<b>3.</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>53</b>
3.1.	ATMOSFERA INERTE .....	53
3.2.	SOLVENTES E REAGENTES .....	53
3.3.	INSTRUMENTAÇÃO .....	53
3.3.1.	<b>Análise Elementar</b> .....	<b>53</b>
3.3.2.	<b>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</b> .....	<b>53</b>
3.3.3.	<b>Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)</b> .....	<b>54</b>
3.3.4.	<b>Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (IV)</b> .....	<b>54</b>
3.3.5.	<b>Espectroscopia de absorção na região do UV-visível (UV-vis)</b> .....	<b>54</b>
3.3.6.	<b>Espectroscopia de Fluorescência</b> .....	<b>54</b>
3.3.7.	<b>Espectrometria de massas</b> .....	<b>55</b>
3.3.8.	<b>Condutimetria</b> .....	<b>55</b>
3.4.	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS METÁLICOS HÍBRIDOS .....	55

<b>3.4.1.</b>	<b>Híbridos de Cu(II)</b> .....	<b>55</b>
3.4.1.1.	$[Cu(phen)(CTZ)_2(H_2O)(NO_3)](NO_3) \cdot 3H_2O$ (3).....	55
3.4.1.2.	$[Cu(diona)(CTZ)_2(H_2O)(NO_3)](NO_3) \cdot 5H_2O$ (4).....	54
3.4.1.3.	$[Cu(dppz)(CTZ)(H_2O)(NO_3)](NO_3) \cdot 2H_2O$ (5).....	55
3.4.1.4.	$[Cu(phen)(KTZ)_2(H_2O)(NO_3)](NO_3) \cdot 2H_2O \cdot C_4H_{10}O$ (6).....	55
3.4.1.5.	$[Cu(diona)(KTZ)_2(H_2O)(NO_3)](NO_3) \cdot 4H_2O$ (7).....	56
3.4.1.6.	$[Cu(dppz)(KTZ)(H_2O)(NO_3)](NO_3) \cdot 2H_2O$ (8).....	56
3.4.1.7.	$[Cu(phen)(ITZ)_2(H_2O)(NO_3)](NO_3) \cdot 2,2H_2O$ (9).....	57
3.4.1.8.	$[Cu(diona)(ITZ)(H_2O)(NO_3)](NO_3) \cdot 5H_2O$ (10).....	57
3.4.1.9.	$[Cu(dppz)(ITZ)(NO_3)](NO_3)$ (11).....	58
3.4.1.10.	$\{[Cu(phen)(FLZ)(H_2O)(NO_3)](NO_3)\}_2 \cdot 3H_2O$ (12):.....	58
3.4.1.11.	$\{[Cu(diona)(FLZ)(H_2O)(NO_3)](NO_3)\}_2 \cdot 3H_2O$ (13).....	58
3.4.1.12.	$\{[Cu(dppz)(FLZ)(H_2O)(NO_3)](NO_3)\}_2 \cdot 3CH_3OH \cdot 2H_2O$ (14).....	59
<b>3.4.2.</b>	<b>Híbridos de Ag(I)</b> .....	<b>59</b>
3.4.2.1.	$[Ag(KTZ)(CTZ)]NO_3 \cdot 2CH_3CN \cdot H_2O$ (15):.....	59
3.4.2.2.	$[Ag(KTZ)(ITZ)]NO_3 \cdot 1,4H_2O$ (16).....	60
3.5.	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO METÁLICO DE Cu(I).....	63
3.5.1.	$[Cu(ITZ)_2(PPh_3)_2]NO_3 \cdot 5H_2O$ (17).....	61
3.6.	ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM DNA.....	63
3.6.1.	Titulações espectrofotométricas.....	63
3.6.2.	Estudos de intercalação com o DNA por medidas de fluorescência.....	63
3.6.3.	Estudos de viscosidade com o DNA.....	64
3.6.4.	Eletroforese de DNA em gel de agarose.....	65
3.7.	ATIVIDADE ANTI-LEISHMANIA.....	67
3.7.1.	Parasita: <i>Leishmania amazonensis</i> .....	63
3.7.2.	Efeitos antiproliferativos sobre promastigotas e amastigotas intracelulares de <i>L. Amazonensis</i> .....	634
3.7.3.	Análise de viabilidade celular e citotoxicidade.....	645
3.7.4.	Determinação de IC <sub>50</sub> , CC <sub>50</sub> e índices de seletividade (IS).....	645

3.7.5.	Efeitos ultraestruturais e morfológicos em formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> através de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e Varredura (MEV) .....	645
3.8.	AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA .....	676
3.8.1.	Microorganismos.....	63
3.8.2.	Preparo das soluções estoque.....	636
3.8.3.	Ensaio de suscetibilidade.....	646
3.8.4.	Microscopia eletrônica de varredura .....	64
3.8.5.	Ensaio de fluorimetria .....	64
3.8.6.	Ensaio de citotoxicidade .....	648
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	69
4.1.	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS HÍBRIDOS DE Cu(II) ..	69
4.1.1.	Síntese e caracterização dos complexos híbridos de derivados do clotrimazol (CTZ).....	70
4.1.2.	Síntese e caracterização dos complexos híbridos de derivados do Cetoconazol (KTZ) .....	77
4.1.3.	Síntese e caracterização dos complexos híbridos de derivados do Itraconazol (ITZ).....	82
4.1.4.	Síntese e caracterização dos complexos híbridos de derivados do Fluconazol (FLZ).....	87
4.1.6.	Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR) .....	96
4.1.6.	Estudos de estabilidade em solução de DMSO.....	96
4.2.	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS HÍBRIDOS DE Ag(I) ..	97
4.2.1.	Complexo Híbrido 15.....	97
4.2.2.	Complexo Híbrido 16.....	102
4.3.	SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO METÁLICO de Cu(I).....	109
4.3.1.	[Cu(ITZ) <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ] · 5H <sub>2</sub> O.....	109
4.4.	ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM DNA .....	116
4.4.1.	Titulação espectrofotométricas.....	116

4.3.2.	Viscosidade .....	119
4.4.3.	Eletroforese de DNA em gel de agarose .....	121
4.4.4.	Ensaio espectroscópico de emissão por fluorescência .....	124
4.5.	AVALIAÇÃO ANTI-LEISHMÂNIA .....	128
4.5.1.	Complexos metálicos híbridos de Cu(II).....	128
4.6.	AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA .....	136
4.6.1.	Complexos metálicos híbridos de Cu(II).....	136
4.6.2.	Complexos metálicos híbridos de Ag(I) .....	139
4.6.3.	Complexo de Cu(I) .....	141
5.	CONCLUSÕES .....	144
	REFERÊNCIAS .....	147
	APÊNDICE A - Espectros vibracionais na região do infravermelho. ....	159
	APÊNDICE B - Espectros eletrônicos na região do UV-vis.....	161
	APÊNDICE C - Espectros de ressonância magnética nuclear de $^1\text{H}$ E $^{13}\text{C}$ e HMBC $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ .....	166
	APÊNDICE D - Espectros de massas de alta resolução por eletrospray. ....	170
	APÊNDICE E - Gráficos inerentes aos estudos de interação com o DNA.....	172
	APÊNDICE F - Microscopias eletrônicas de varredura e transmissão .....	183
	APÊNDICE G - Produção científica durante o doutorado.....	194

## 1. INTRODUÇÃO

Doenças negligenciadas constituem um grupo de enfermidades que impactam predominantemente populações em regiões com baixo desenvolvimento socioeconômico, recebendo escassa atenção da indústria farmacêutica e de pesquisas médicas. Essas condições frequentemente se manifestam em áreas tropicais e subtropicais, onde as condições de vida e saneamento são precárias. Afetando bilhões de indivíduos, essas doenças acarretam uma carga expressiva de morbidade e mortalidade, no entanto, são frequentemente relegadas a segundo plano no que se refere a investimentos em pesquisa, prevenção e tratamento (WHO, 2023).

Destacam-se a leishmaniose e a esporotricose, originadas por parasitas e fungos respectivamente. A falta de aportes em pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos, aliada à limitação no acesso a cuidados básicos de saúde, contribui para a perpetuação dessas condições em comunidades vulneráveis (Ong *et al.*, 2018; WHO, 2023).

### 1.1. LEISHMANIOSE

A leishmaniose é uma doença infecciosa que pode ser causada por várias espécies de protozoários intracelulares pertencentes ao gênero *Leishmania* (Akhoundi *et al.*, 2016). Essa antropozoonose é endêmica em países em vulnerabilidade socioeconômica presentes em continentes como Ásia, África, América Latina e regiões mediterrâneas e por isso é considerada uma doença negligenciada, sendo a doença parasitária mais letal, atrás somente da malária (Ong *et al.*, 2018).

Atualmente, existem mais de 21 espécies de *Leishmania* diferentes responsáveis pelas várias manifestações clínicas de leishmaniose em humanos, das quais podemos destacar *Leishmania (Leishmania) mexicana*, *L. (L.) donovani*, *L. (L.) tropica*, *L. (L.) aethiopica* e *L. (L.) major*; enquanto o subgênero *Viannia* é composto pelos complexos *L. (Viannia) braziliensis* e *L. (V.) guyanensis* (Real *et al.*, 2013). A transmissão pode ser feita por cerca de 166 espécies de insetos comprovados ou relatados como possíveis vetores para o parasito (Akhoundi *et al.*, 2016), dos quais os flebotomíneos dos gêneros *Lutzomyia* e *Phebotomus* se destacam por serem os principais transmissores, podendo utilizar como hospedeiros mamíferos os canídeos selvagens das espécies *Cerdocyon thous* (cachorro-do-mato) e *Speothos venaticus* (cachorro vinagre), os gambás *Didelphis marsupialis* e *D. albiventris*, o cachorro doméstico e principalmente os humanos (Alvar *et al.*, 2012; Paiva-Cavalcanti *et al.*, 2015).

A leishmaniose apresenta diversas manifestações clínicas de elevada complexidade, dividindo-se principalmente em duas categorias nosológicas: leishmaniose visceral (LV) e leishmaniose tegumentar, conhecida como leishmaniose tegumentar americana (LTA) no continente americano (Pace *et al.*, 2015). A LTA, por sua vez, subdivide-se em leishmaniose cutânea localizada (LCL), leishmaniose mucocutânea (LMC) e leishmaniose cutânea difusa.

A Leishmaniose Visceral (LV), também conhecida como calazar, é uma das formas mais graves da doença. A taxa de letalidade é elevada, com aproximadamente 95% dos não tratados vindo ao óbito devido à enfermidade. Mesmo entre os pacientes em tratamento, cerca de 10% não resistem, resultando em uma alta taxa de mortalidade. As espécies *L. donovoni* e *L. infantum* são as principais causadoras da LV. Os sintomas clínicos incluem febre progressiva, perda de peso, esplenomegalia, hipergamaglobulinemia e pancitopenia. Complicações mais severas, como imunossupressão, infecções bacterianas secundárias e anemia, estão associadas a sinais de alto risco de mortalidade, como icterícia, debilidade e coinfeção com HIV (Pace *et al.*, 2014).

A leishmaniose cutânea (LC) é mais comum no Brasil, manifestando-se como lesões cutâneas ulceradas, principalmente em áreas expostas do corpo, como braços ou rosto, podendo cicatrizar espontaneamente, mas deixando marcas permanentes. Estima-se anualmente de 600.000 a 1 milhão de novos casos em todo o mundo, causados principalmente por espécies como *L. major*, *L. braziliensis*, *L. mexicana*, e ocasionalmente, *L. amazonensis* (OPAS *et al.*, 2023).

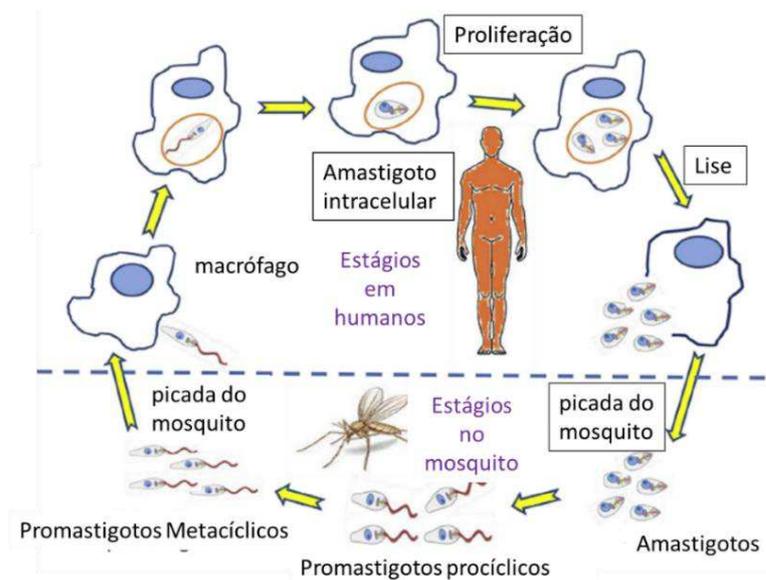
Na leishmaniose mucocutânea (LMC), o parasito tem tropismo pela mucosa oral e nasal, sendo caracterizada por ação mutilante que, além da dor extrema, pode gerar distúrbios psicológicos, incluindo depressão, devido ao estigma social associado à doença (Pace *et al.*, 2014). Espécies como *L. amazonensis*, *L. braziliensis* e *L. major* estão envolvidas na disseminação da LMC. (OPAS *et al.*, 2023).

### **1.1.1. Ciclo de vida do parasita**

O parasita do gênero *Leishmania* é dimórfico e possui um ciclo biológico heterógeno no qual dois hospedeiros são necessários para se completar o ciclo, que envolve um hospedeiro invertebrado e um vertebrado (**Figura 1**). O hospedeiro invertebrado é infectado pelas formas promastigotas flageladas do parasita, enquanto as formas amastigotas intracelulares podem infectar células do sistema imunológico, como macrófagos dos hospedeiros vertebrados (Docampo & Moreno *et al.*, 2011). Além disso, o principal mecanismo de transmissão do

parasito entre os hospedeiros ocorre quando o inseto vetor se alimenta do sangue do hospedeiro vertebrado, como seres humanos, cães, roedores e marsupiais (Burza; Croft; Boelaert, 2018). No hospedeiro, as formas promastigotas do parasita invadem células de macrófagos e diferenciam-se nas formas amastigotas intracelulares que diferem pela perda de seu flagelo além de apresentar corpo celular em formato ovoide, não atuando como estrutura especializada em mobilidade (Coelho *et al.*, 2016).

**Figura 1** - Ciclo de reprodução do protozoário *Leishmania spp.* Alternando em suas fases amastigotas e promastigotas.



Fonte: adaptado de (Handman *et al.*, 2001).

### 1.1.2. Epidemiologia

Conforme dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), as diversas manifestações clínicas da Leishmaniose estão registradas em mais de 98 nações (Alvar *et al.*, 2012).

No caso da leishmaniose cutânea (LC), a estimativa global de incidência varia de 0,6 a 1 milhão de casos. A leishmaniose mucocutânea apresenta uma estimativa anual de cerca de 35.000 casos, concentrando-se principalmente em nações como Brasil, Peru, Etiópia e Bolívia (OMS *et al.*, 2021).

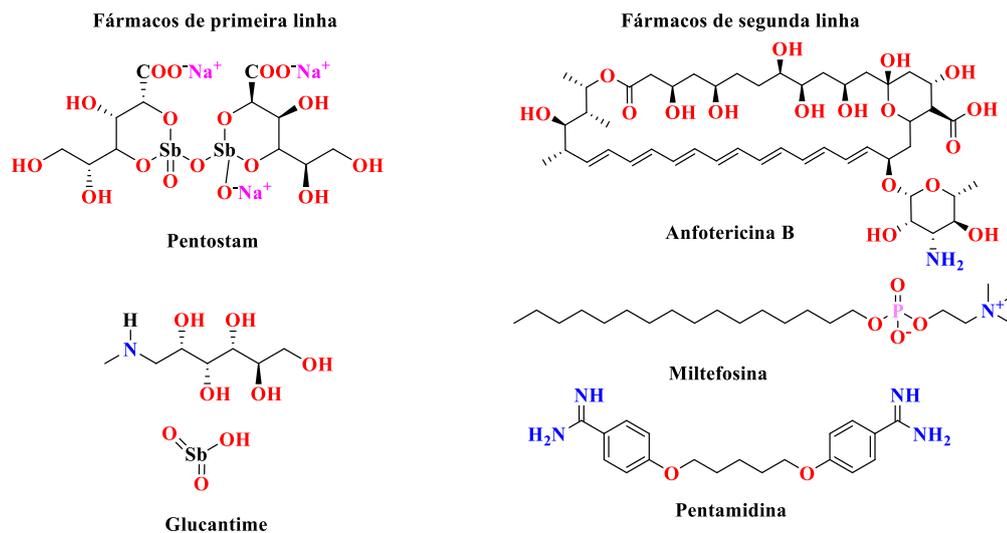
Nesse contexto, essas informações sublinham a urgência e a importância de se aprofundar no estudo dessa condição, considerando que entre 20.000 e 30.000 indivíduos perdem a vida devido a essa enfermidade, e cerca de 1 bilhão de pessoas residem em locais com potencial risco de infecção. Conforme os dados compilados pela Organização Mundial da

Saúde (OMS), a leishmaniose figura como a segunda doença parasitária com maior taxa de mortalidade (Alvar *et al.*, 2012).

### 1.1.3. Tratamento quimioterápido

Atualmente, a quimioterapia para leishmanioses é categorizada em primeira linha de tratamento e drogas de segunda linha. Na primeira linha, destacam-se os antimoniais pentavalentes como o pentostam e glucantime, variando de acordo com o continente e país. Por outro lado, a anfotericina B, a pentamidina e a miltefosina são consideradas fármacos de segunda escolha, indicados para casos de resistência ao primeiro grupo (OPAS *et al.*, 2023) (Figura 2).

**Figura 2** - Estruturas moleculares do pentostam, pentamidina, anfotericina B e miltefosina.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Os antimoniais pentavalentes continuam sendo a abordagem terapêutica principal para leishmanioses em vários países, apesar da variação de eficácia conforme a forma clínica e a espécie causadora (Tiuman *et al.*, 2011). Contudo, seu uso pode acarretar efeitos adversos graves, incluindo desconforto abdominal, arritmias cardíacas, encefalites e anorexia, refletindo a considerável toxicidade. A longa duração e a administração intravenosa dificultam o acesso e aumentam a interrupção do tratamento, favorecendo o surgimento de parasitas resistentes (Sundar *et al.*, 2001; Frézard *et al.*, 2009).

Estudos apontam que esses medicamentos têm múltiplos alvos bioquímicos, como enzimas glicolíticas, fosforilação de ADP e  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos (Sigh *et al.*, 2023).

Embora sejam considerados de primeira escolha para leishmanioses há quase um século, persistem lacunas no entendimento de seus mecanismos de ação (Santos *et al.*, 2008). Os antimoniais pentavalentes, estibogluconato de sódio (Pentostan®) e antimoniato de meglumina (Glucantime®), têm sido a principal opção terapêutica, mas sua eficácia é limitada em regiões de Bihar, Índia, e Nepal, onde há aumento de resistência. Isso destaca a urgência de explorar novas vias metabólicas e regimes terapêuticos (Rijal *et al.*, 2003; Sundar; Chakravarty *et al.*, 2015).

Embora o mecanismo de ação desses fármacos ainda não esteja completamente definido, há indícios de que o Sb(III) seja mais potente que o Sb(V) em amastigotas e promastigotas de pelo menos três espécies de *Leishmania*. Sugere-se que a atividade desses compostos esteja relacionada à redução intramacrofágica do Sb(V) para o Sb(III) (Rath *et al.*, 2003). Apesar de seu sucesso global, esses compostos têm efeitos colaterais graves, incluindo cardiotoxicidade, insuficiência renal reversível, pancreatite, anemia e leucopenia. Além disso, há o risco de resistência ao antimônio pelo parasita, especialmente nas formas visceral e mucocutânea da leishmaniose (ONG *et al.*, 2019).

A anfotericina B é considerada tratamento de segunda linha para leishmanioses. Este fármaco tem afinidade pelo ergosterol presente nas membranas de tripanossomatídeos e fungos, sendo usado também para micoses sistêmicas. Para reduzir toxicidade, desenvolveu-se a anfotericina B lipossomal, mais eficaz, mas de produção onerosa e limitada distribuição em áreas carentes. Além disso, é instável em altas temperaturas (Laniado-laborí; Cabrales-Vargas *et al.*, 2009; Hendrickx *et al.*, 2017). Apesar da eficácia, a administração intravenosa da anfotericina B é nefrotóxica, causando danos aos túbulos renais e acúmulo de sal de Ca(II) (Croft *et al.*, 2003; Coombs *et al.*, 2003).

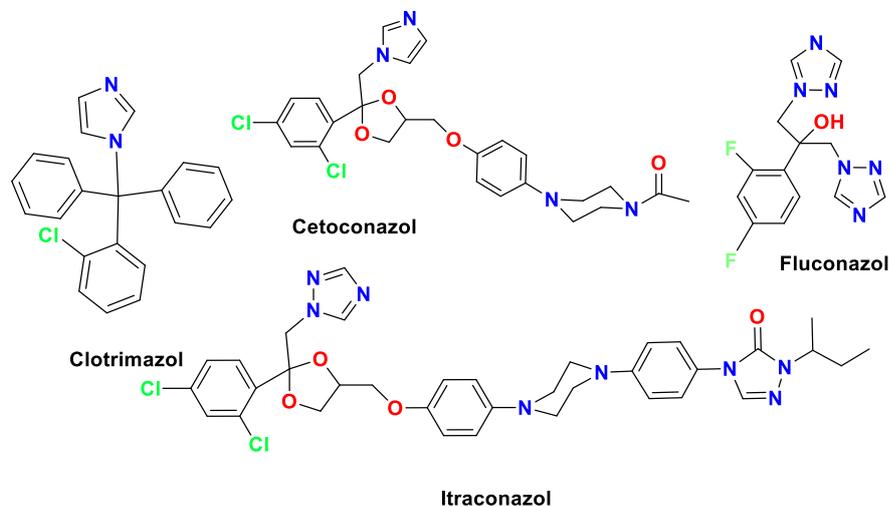
A miltefosina, inicialmente desenvolvida para tratamento de câncer, foi o primeiro fármaco oral utilizado contra leishmanioses na Índia em 2002 (Sundar *et al.*, 2002; Costa Filho *et al.*, 2008). Estudos clínicos de fase III e IV, com doses de 50-100 mg/dia, mostraram mais de 90% de cura, estabelecendo-a como medicamento de primeira escolha por anos. No entanto, resistência rápida ao tratamento, devido ao uso indiscriminado e sua longa meia-vida de aproximadamente 152 horas (Sundar *et al.*, 2012; Boelaert *et al.*, 2018), reduziu sua frequência de uso. Assim como outros tratamentos, a miltefosina causa efeitos colaterais gastrointestinais, hepatotoxicidade e é contraindicada em gestantes devido a suas características teratogênicas (oliveira *et al.*, 2011; Dorlo *et al.*, 2012). A miltefosina inibe a biossíntese de fosfolípidos e esteróis na membrana celular, causando danos severos aos parasitos, como perda da

permeabilidade seletiva da membrana plasmática e comprometimento dos mecanismos de sinalização, levando à morte celular por apoptose (Godinho *et al.*, 2012).

A pentamidina é um medicamento de segunda escolha para leishmanioses, sendo sua seleção baseada no quadro clínico. Seus mecanismos de ação, embora não completamente elucidados, indicam ação na mitocôndria, resultando na diminuição do potencial de membrana mitocondrial (Olliaro *et al.*, 2015). Apesar de seu uso no tratamento, a pentamidina apresenta eficácia limitada e efeitos adversos, incluindo diabetes, miocardite e alta toxicidade renal (Sundar; Chakravarty; Menezes, 2015).

Diante dos desafios no tratamento das leishmanioses, incluindo a resistência do parasita a fármacos de primeira e segunda linha, juntamente com os impactantes efeitos colaterais observados nos pacientes, a pesquisa tem se voltado para alternativas sintéticas de combate a essa enfermidade, considerando a inexistência de uma vacina eficaz (Navarro, *et al.*, 2021). Nesse contexto, destacam-se os derivados azólicos (**Figura 3**) comercializados como antifúngicos que vem apresentando interessantes resultados frente a leishmaniose.

**Figura 3** - Estrutura molecular de fármacos antifúngicos.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Os protozoários pertencentes ao gênero *Leishmania* constituem organismos eucarióticos unicelulares cuja membrana plasmática trilaminar é composta por proteínas, lipídeos e carboidratos, sendo análoga à de outros organismos (DE Souza *et al.*, 2010). Os esteróis desempenham papel crucial na manutenção da estrutura e função da membrana, enquanto os lipídeos apresentam distribuição variada nesta. A família Trypanosomatidae, englobando gêneros como *Leishmania* e *Trypanosoma*, além de fungos, requer a presença de ergosterol e

outros esteróis 24-metilados, ausentes nas células de mamíferos. Embora o colesterol, principal esterol nas células de mamíferos, compartilhe semelhanças estruturais com o ergosterol, existem diferenças significativas entre ambos.

Derivados azólicos são descritos como uma classe de compostos que inibem a enzima C14- $\alpha$  demetilase (CYP51A1), a qual é muito importante e está presente no ciclo da biossíntese de esteróis, tais como o ergosterol, que faz parte da constituição da membrana do parasita do gênero *Leishmania* e alguns fungos, como o *Sporothrix schenckii*, e do colesterol (presente em humanos) (Lepesheva; Waterman, 2011). Tal enzima converte o lanosterol (intermediário na biossíntese do ergosterol) a outros intermediários presentes no ciclo de biossíntese do ergosterol, essencial para a sobrevivência do parasita ou fungo. Tal fato tem sido utilizado como ponto chave no desenvolvimento de fármacos com potencial leishmanicida e fungicida (Ong *et al.*, 2019).

O clotrimazol (CTZ) e o cetoconazol (KTZ) são derivados imidazólicos sintéticos inicialmente empregados no tratamento de micoses sistêmicas. Enfrentaram desafios quando administrados por via oral devido à rápida metabolização hepática, resultando em hepatotoxicidade e redução da eficácia, além de causarem efeitos colaterais como náuseas, alterações neurológicas e complicações gastrointestinais (Crowley *et al.*, 2014; Blum *et al.*, 2009). Ambos atuam como inibidores clássicos reversíveis da biossíntese de ergosterol, inibindo a enzima lanosterol-C14- $\alpha$ -demetilase (CYP51), impedindo a conversão do lanosterol em zimosterol e, assim, a formação final do ergosterol (Rodrigues *et al.*, 2002; Macedo-Silva *et al.*, 2013). O KTZ foi amplamente utilizado em estudos, inclusive em pesquisas sobre a quimioterapia para leishmanioses (Souza, Rodrigues *et al.*, 2009). A abordagem terapêutica combinada surge como uma ferramenta essencial para mitigar a toxicidade e os efeitos adversos. Diversas combinações envolvendo o KTZ por via oral em conjunto com antimoniais intralésionais foram testadas no tratamento de leishmaniose cutânea localizada, embora tenham sido associadas a efeitos colaterais hepáticos e hormonais (McGwire; Satoskar, 2014).

O fluconazol (FLZ) e o itraconazol (ITZ) são compostos pertencentes à classe dos triazóis e são utilizados como fármacos antifúngicos. Seu mecanismo de ação envolve a inibição da enzima lanosterol 14- $\alpha$ -demetilase, um intermediário crucial na biossíntese do ergosterol presente na membrana celular de fungos e tripanossomatídeos (Ishida *et al.*, 2011). A aplicação desses compostos em tripanossomatídeos tem sido investigada devido à sua baixa toxicidade. Além do papel consolidado no tratamento de diversas infecções fúngicas, o ITZ tem sido objeto de estudo para avaliar sua eficácia em tripanossomatídeos, destacando-se por sua baixa toxicidade em comparação com outros agentes antifúngicos. Essa propriedade faz do ITZ uma

alternativa promissora para futuros desenvolvimentos terapêuticos no âmbito das doenças parasitárias (Emad *et al.*, 2011; Sklavos *et al.*, 2010).

## 1.2. ESPOROTRICOSE

A esporotricose, uma condição causada pelo fungo termodimórfico *Sporothrix spp.* representa uma doença cosmopolita presente em áreas tropicais e subtropicais. Destacando-se como a micose subcutânea mais prevalente na América Latina, experimentou um aumento significativo nas últimas duas décadas em países como Brasil, Índia, México e Estados Unidos (Orofino-Costa *et al.*, 2017; Rasamoelina *et al.*, 2017). Em 2007, uma proposta de reclassificação do agente *Sporothrix schenckii*, baseada em análises fenotípicas e genotípicas, identificou a espécie *Sporothrix brasiliensis* como responsável pela esporotricose no Brasil (Marimon *et al.*, 2007).

No estado do Rio de Janeiro, especialmente, a esporotricose humana tem sido associada à transmissão por mordidas e arranhões de gatos infectados, resultando em um considerável número de casos relatados desde 2015. A incidência total de casos suspeitos alcançou cerca de 4722, com 319 casos confirmados no primeiro semestre de 2018, apresentando uma taxa de confirmação de 68,7% (Almeida *et al.*, 2018). Além do Rio de Janeiro, os estados do Rio Grande do Sul e São Paulo lideram as estatísticas de transmissão da doença, afetando predominantemente homens adultos envolvidos em atividades que os expõem ao agente etiológico, como trabalhadores rurais (Chakrabarti *et al.*, 2014).

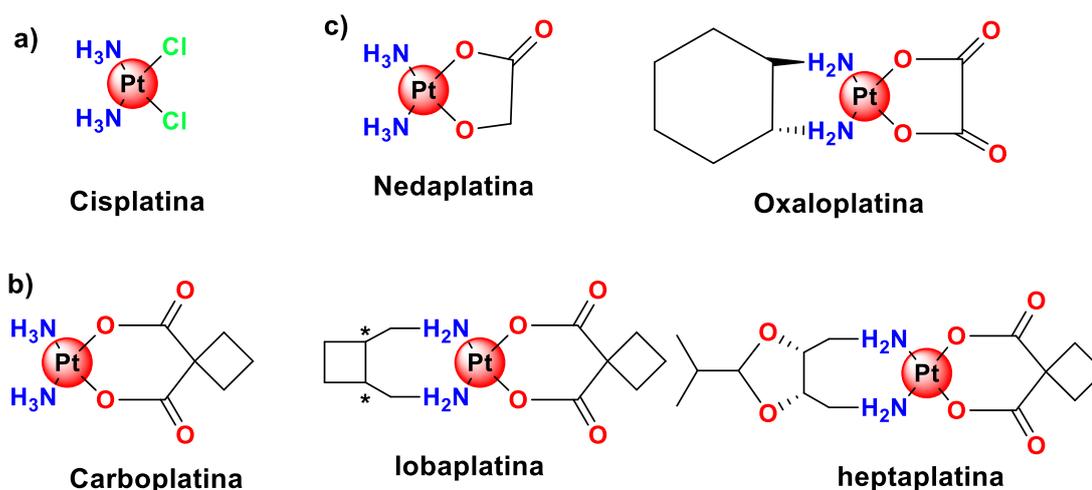
Essa espécie de fungo adota duas formas em seu ciclo de vida: micelial, presente na natureza, e levedura, que assume uma forma parasitária ao infectar humanos e animais. A transmissão ocorre por meio de traumas causados por espinhos, palha, lascas de madeira, contato com vegetais em decomposição, arranhaduras ou mordeduras de animais infectados, sendo os gatos os principais transmissores (Brasil, 2018).

Para o tratamento da esporotricose humana, o **ITZ**, o iodeto de potássio e o complexo lipídico de anfotericina B são as opções disponíveis. O Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil oferece gratuitamente o **ITZ** e o complexo lipídico de anfotericina B. O tratamento pode variar de três a seis meses, ou até um ano, dependendo do paciente (Rasamoelina *et al.*, 2017). Apesar dos tratamentos existentes, os fármacos utilizados apresentam efeitos colaterais significativos, e em casos isolados, alguns pacientes têm mostrado baixa sensibilidade ao **ITZ** (Kauffman *et al.*, 2007). Portanto, há uma busca urgente por agentes antifúngicos mais eficazes contra esse agente etiológico.

### 1.3. COMPLEXOS METÁLICOS EM MEDICINA

Os complexos metálicos têm desfrutado de ampla aplicação no diagnóstico e tratamento de diversas doenças, impulsionados por suas propriedades medicinais. Esses compostos inorgânicos oferecem uma gama diversificada de aplicações na área médica, incluindo o tratamento de enfermidades como câncer e artrite (Lazarević *et al.*, 2017). Um exemplo notável é a cisplatina (**Figura 4a**), um fármaco bem-sucedido no combate ao câncer, embora apresente vários efeitos colaterais. Como resposta a essas limitações, foram desenvolvidos complexos metálicos derivados da cisplatina, conhecidos como fármacos de segunda e terceira gerações (**Figuras 4b e 4c**), que demonstraram ser mais eficazes e menos tóxicos. Essas inovações foram subsequentemente aprovadas para uso clínico (Sigel *et al.*, 2018).

**Figura 4** - Estruturas moleculares da cisplatina (a), e dos derivados de segunda (b) e terceira geração (c).

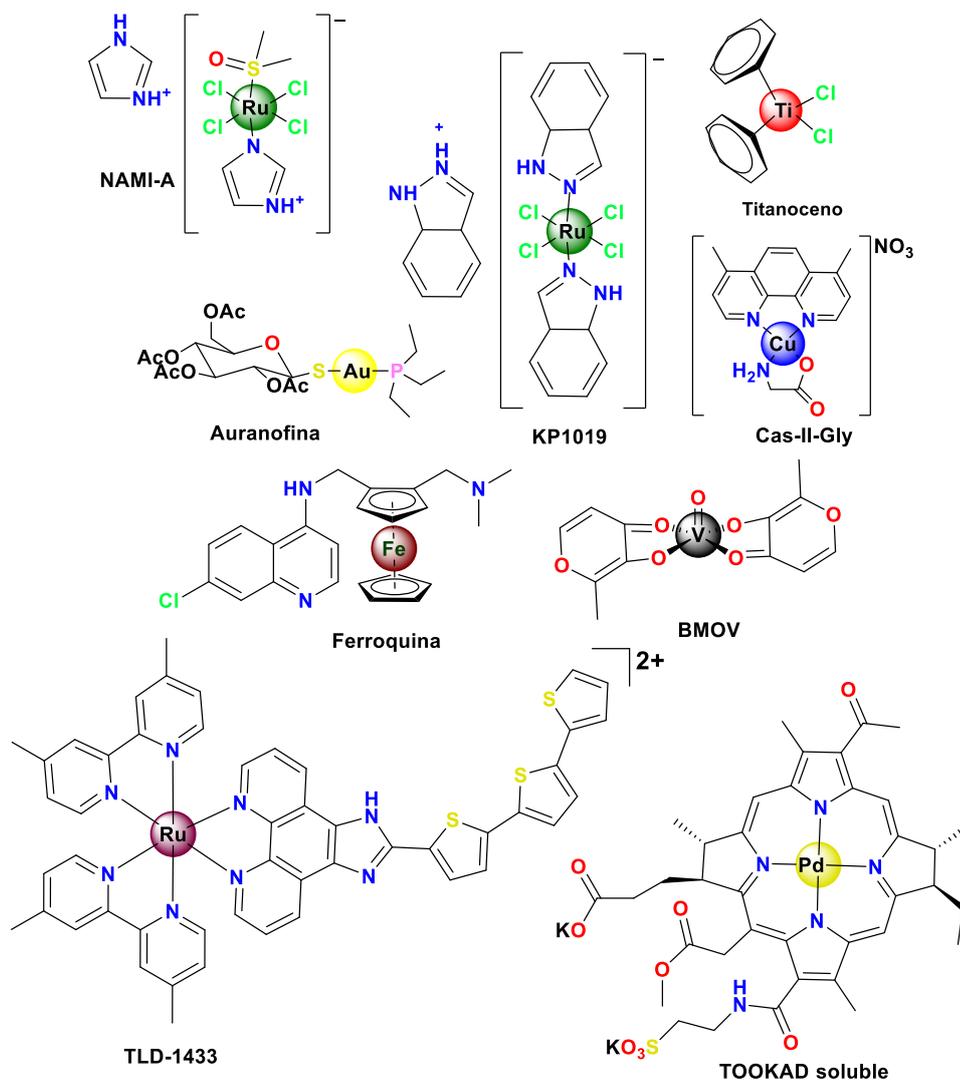


Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Com os notáveis sucessos da cisplatina e suas gerações no tratamento de diversos tipos de câncer, o interesse na pesquisa e desenvolvimento de outros metalofármacos, envolvendo diferentes metais de transição, tem crescido significativamente. Na **Figura 5** encontram-se as estruturas moleculares de diversos complexos metálicos com variadas propriedades biológicas. Complexos de Ru(II) como TLD-1433, e Ru(III) como NAMI-A, KP1019, assim como o titanoceno, um complexo de Ti(IV), são exemplos de compostos de coordenação que avançaram para testes clínicos como candidatos a drogas antitumorais, embora ainda não tenham sido comercializados como fármacos anticancerígenos. A auranofina, originalmente empregada no tratamento da artrite

reumatoide, revelou atividade anticâncer e está atualmente em fase de testes clínicos (Meléndez, 2002; Wee; Dyson, 2006; Cini, *et al.*, 2017, Yeo *et al.*, 2018). Além disso, é importante ressaltar que a Ferroquina avançou para a fase clínica de desenvolvimento como um possível agente antimalárico. e o BMOV tem demonstrado promissoras propriedades no controle da diabetes em estudos pré-clínicos, o que justifica seu avanço para possíveis ensaios clínicos visando a confirmação de sua eficácia e segurança como uma terapia para essa doença metabólica. E por último, sabe-se que o complexo de Pd(II) TOOLAD soluble® foi aprovado para o tratamento do câncer de próstata no México, e atualmente está em fase clínica II e III nos Estados Unidos. Essas descobertas evidenciam a diversidade de aplicações terapêuticas que podem ser exploradas a partir de complexos metálicos, destacando sua importância na pesquisa de novos fármacos (Boros, 2020).

**Figura 5** - Estruturas moleculares de complexos metálicos em fase clínica.



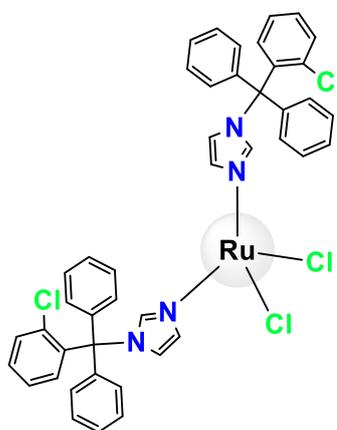
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Embora as pesquisas voltadas para o desenvolvimento de novas terapias para as doenças mencionadas estejam avançadas, é evidente que o uso de metalofármacos como agentes antiparasitários e antifúngicos permanece pouco explorado, destacando a necessidade premente de alternativas não tóxicas e eficazes contra parasitas e fungos (Navarro *et al.*, 2021).

A inibição da biossíntese do ergosterol é um alvo crucial no desenvolvimento de leishmanicidas e antifúngicos, como **KTZ**, **CTZ**, **ITZ** e **FLZ**. Com base no sinergismo metal-fármaco, Sanchez-Delgado e colaboradores (1997) pioneiramente desenvolveram uma série de compostos contendo metais de transição, como rutênio, cobre, ouro, platina e ródio coordenados por **KTZ** e **CTZ** (Sánchez-delgado *et al.*, 1998).

O primeiro complexo metálico do tipo M-**CTZ** relatado foi o  $[\text{Ru}(\text{CTZ})_2\text{Cl}_2]$  (**Figura 6**), o qual é o primeiro registro de um complexo de Ru(II) branco, o que intrigou os autores. No geral, os complexos de Ru(II) apresentam coloração escura como marrom e violeta além de adotarem geometria octaédrica. Porém esse composto de Ru(II), além de apresentar coloração branca, adotou a geometria tetraédrica como a mais estável, apresentando configuração de 14 elétrons e muito estável. Esse novo composto apresentou excepcional atividade antiparasitária, que, ao comparar com o **CTZ** livre, demonstrou inibir o crescimento da forma epimastigota do *Trypanosoma cruzi* em 100% a uma concentração de 10  $\mu\text{M}$ . Os valores de  $\text{IC}_{50}$  foram calculados como 0,1  $\mu\text{M}$  e 1  $\mu\text{M}$  para  $[\text{Ru}(\text{CTZ})_2\text{Cl}_2]$  e **CTZ**, respectivamente, corroborando que, após a coordenação, o complexo metálico contendo **CTZ** exibiu atividade superior ao ligante livre. Subsequentemente, foi relatada a síntese de novos complexos metálicos contendo o **CTZ** coordenado a diferentes metais de transição como o ródio, cobre, platina, ouro e ósmio que demonstraram promissoras atividades antiparasitárias (Ong *et al.*, 2019; Navarro *et al.*, 2021).

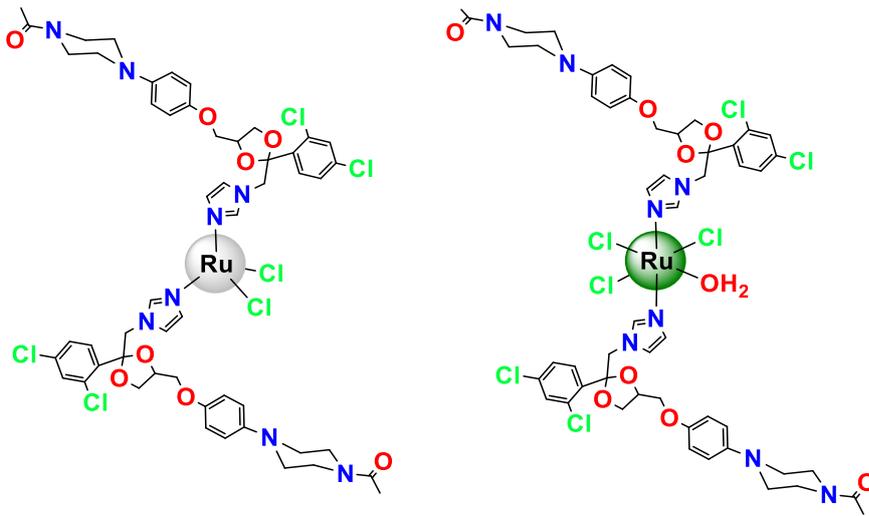
**Figura 6** - Estrutura molecular do complexo metálico  $\text{Ru}(\text{CTZ})_2\text{Cl}_2$ .



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Considerando os promissores resultados obtidos para os complexos derivados do **CTZ** uma série subsequente de compostos de Ru(II) e Ru(III) coordenados por **KTZ** e **CTZ** foi sintetizada por Navarro e colaboradores (2000) (**Figura 7**).

**Figura 7** - Estruturas moleculares dos complexos metálicos Ru(KTZ)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e Ru(KTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)Cl<sub>3</sub>.

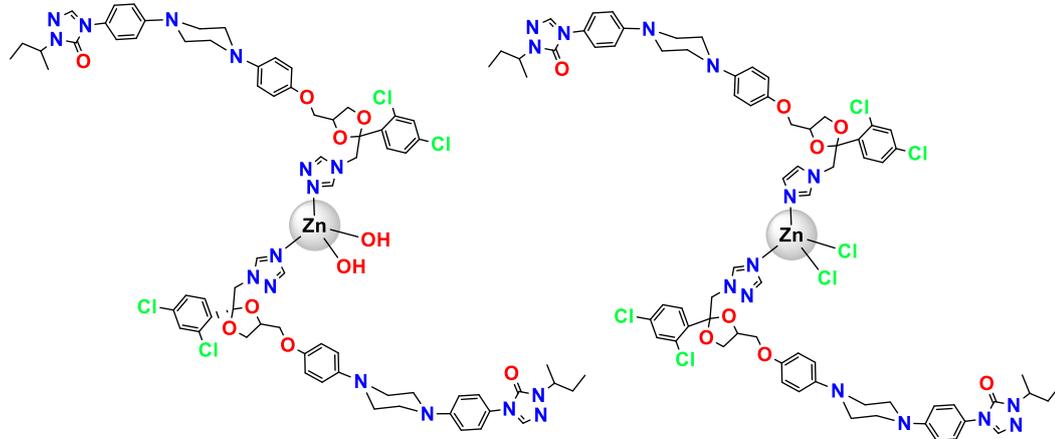


Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Esses complexos metálicos foram avaliados a uma concentração de 1  $\mu\text{M}$  nas células epimastigotas do *T. cruzi*, revelando porcentagens de inibição no crescimento dessa forma do parasita superiores às do **KTZ** livre (20,3%) (Navarro *et al.*, 2000) destacando o aumento da atividade antiparasitária do ligante após a coordenação, evidenciando o efeito sinérgico. Com base nos interessantes resultados obtidos para os complexos de Ru(II) e Ru(III) supramencionados, foram realizadas as sínteses de novos complexos metálicos contendo o **KTZ** e o **CTZ** empregando diferentes metais de transição como o cobre e o ouro, os quais demonstraram promissores resultados, sendo capazes de inibir de forma significativa a proliferação dos parasitas causadores da leishmaniose, sendo mais ativos que os ligantes azólicos livres (Navarro *et al.*, 2021).

Diante dos resultados promissores alcançados com complexos metálicos que incorporam ligantes azólicos, Navarro e colaboradores (2019) sintetizaram dois novos complexos de zinco(II) contendo o **ITZ** (**Figura 8**) que é um potente agente antifúngico usado para o tratamento da esporotricose. Esses complexos demonstraram atividade excepcional frente a doenças parasitárias como leishmaniose, doença de Chagas, toxoplasmose e fúngicas como a esporotricose, exibindo valores de  $\text{IC}_{50}$  em concentrações nano molares. Além disso, destacam-se pela baixa toxicidade e excelentes índices de seletividade (de Azevedo-França, *et al.*, 2019).

**Figura 8** - Estruturas moleculares dos complexos de Zn(II)-ITZ com atividades antiparasitária e antifúngica.

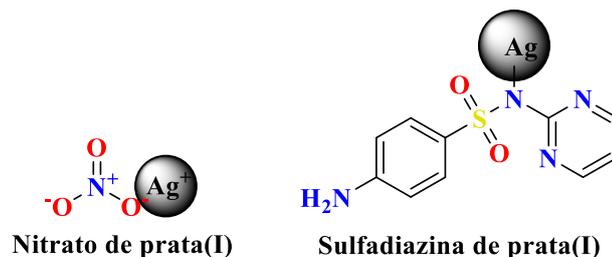


Fonte: adaptado de (de Azevedo-França *et al.* 2019).

### 1.3.1. Complexos de prata

A prata tem sido empregada na medicina há muitos anos, encontrando-se em cateteres, implantes cardíacos, próteses ósseas, suturas, agulhas cirúrgicas, odontologia e tecidos cirúrgicos, entre outros. No que diz respeito às suas propriedades antimicrobianas e antifúngicas, os compostos de prata são conhecidos há séculos, pois os primeiros manuscritos sobre sua utilização descrevem sua aplicação na medicina e na purificação da água. Essas propriedades são atribuídas ao íon  $\text{Ag(I)}$ , que exerce ação bactericida imediata e ação bacteriostática residual, precipitando proteínas e agindo diretamente na membrana citoplasmática desses organismos. Como exemplo, podemos mencionar o uso do nitrato de prata(I) e da sulfadiazina de prata(I) no tratamento de várias infecções (**Figura 9**) (Lansdown, 2006; Banti, Hadjikakou, 2013; Souza, *et al.*, 2013).

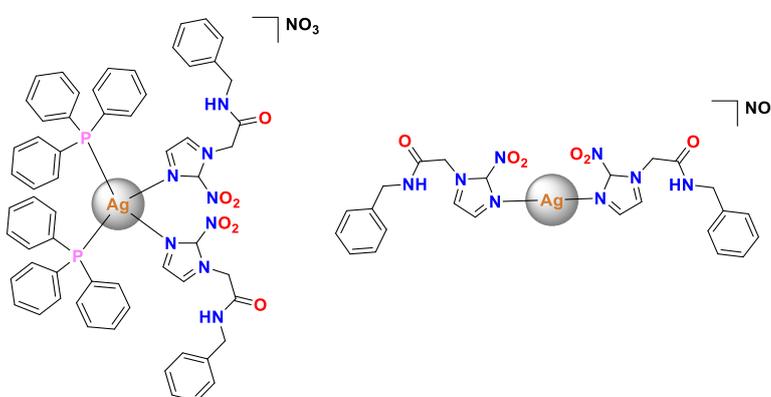
**Figura 9** - Estruturas moleculares do nitrato de  $\text{Ag(I)}$  e da sulfadiazina de  $\text{Ag(I)}$ .



Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

Recentemente, foram sintetizados dois complexos de Ag(I) contendo o Benzimidazol (**BZN**) como ligante nitro-imidazólico: o complexo  $[\text{Ag}(\text{BZN})_2]\text{NO}_3$  e o complexo  $[\text{Ag}(\text{BZN})_2(\text{PPh}_3)_2]\text{NO}_3$  (**Figura 10**). Ambos os compostos foram avaliados frente ao *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas, revelando-se pelo menos cinco vezes mais eficazes que o **BZN**, fármaco utilizado rotineiramente no tratamento dessa patologia. Esses resultados evidenciam as vantagens do efeito sinérgico ao coordenar um fármaco orgânico a um íon metálico (de Souza, *et al.* 2023).

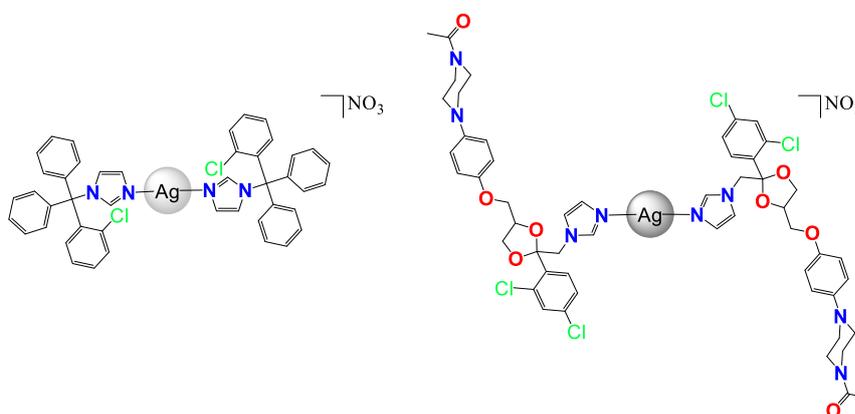
**Figura 10** - Estruturas moleculares dos complexos de Ag(I)-BZN com atividade frente a *Trypanosoma cruzi*.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

De modo similar, Navarro e colaboradores (2023) sintetizaram dois complexos de Ag(I), o  $[\text{Ag}(\text{CTZ})_2]\text{NO}_3$  e o  $[\text{Ag}(\text{KTZ})_2]\text{NO}_3$  que apresentaram promissoras atividades antiproliferativas frente a células cancerígenas.

**Figura 11** - Estruturas moleculares dos complexos de Ag-BZN com atividade frente a *Trypanosoma cruzi*.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

As informações fornecidas desempenham um papel crucial no estímulo à pesquisa e desenvolvimento de novos compostos de coordenação baseados no íon Ag(I). A literatura científica sustenta a versatilidade dos complexos de Ag(I), indicando um vasto espectro de aplicações potenciais desses compostos no campo medicinal. A exploração dessas propriedades abre portas para a concepção e síntese de compostos mais especializados e eficazes, potencialmente apresentando propriedades farmacológicas aprimoradas. Essa abordagem mais aprofundada pode levar a avanços significativos na criação de agentes terapêuticos mais eficazes e específicos, fundamentados na rica química de coordenação do íon Ag(I).

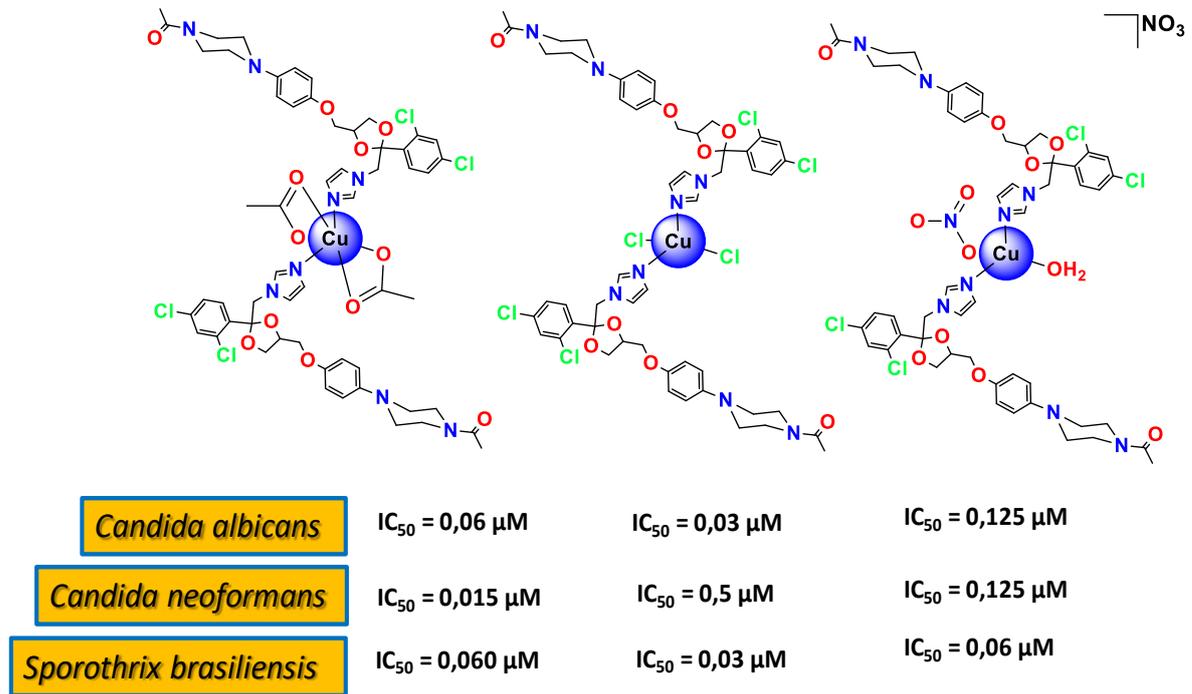
### 1.3.2. Complexos de cobre

O cobre tem sido muito explorado na tentativa de se obter alternativas no tratamento de doenças parasitárias. Esse metal, assim como o zinco, é considerado endógeno, ou seja, já está em diversas biomoléculas, como proteínas no corpo humano e é essencial para a manutenção da vida, além de ser um metal mais barato e menos tóxico (Baran *et al.*, 2005; Gissot *et al.*, 2017; Mokhtaruddin *et al.*, 2017; Navarro *et al.*, 2001, 2003, 2005, 2008).

O cobre apresenta-se nos estados de oxidação Cu(0), Cu(I) e Cu(II), sendo que os estados Cu(I) e Cu(II) são encontrados em sistemas biológicos. A pesquisa tem se voltado para os íons Cu(I) e Cu(II), investigando variações em sua distribuição eletrônica e suas distintas atividades biomédicas (Melnik, Kabesova *et al.*, 2000). Reconhecido como um componente biologicamente ativo, o cobre desempenha um papel crucial em organismos que habitam ambientes ricos em oxigênio (Reedijk *et al.*, 1987). Essencial para diversas enzimas e proteínas, a presença ou ausência de cobre pode estar associada a diferentes condições patológicas, como a doença de Wilson, doença de Menkes e neurodegeneração (Tisato, 2010).

No âmbito do tratamento de infecções causadas por diversos microrganismos, incluindo tripanossomatídeos e fungos, pesquisadores têm desenvolvido complexos metálicos contendo cobre. Essa abordagem é motivada pelo amplo espectro de atividade do cobre em processos essenciais para o metabolismo celular (Navarro *et al.*, 2003). Como exemplo, um recente trabalho demonstrou que os inibidores da biossíntese do ergosterol como o **CTZ** e **KTZ** coordenados aos íons de Cu(II) (**Figura 12**) apresentaram excelentes atividades frente a espécies de fungos, demonstrando serem grandes aliados ao combate a infecções fúngicas (de Azevedo-França *et al.*, 2021).

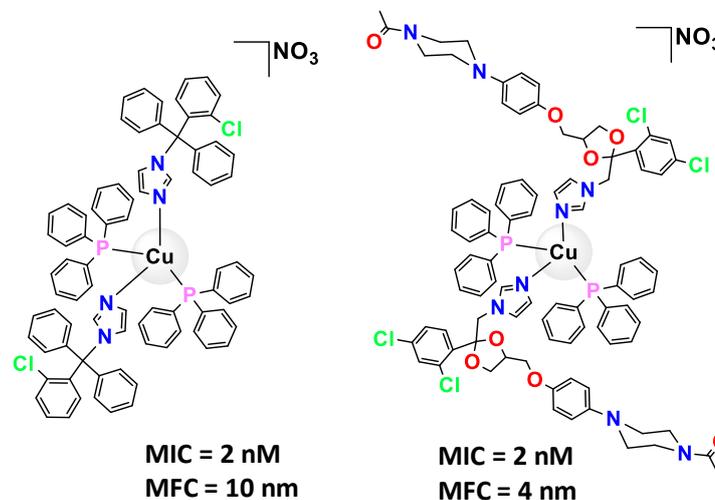
**Figura 12** - Estruturas moleculares dos complexos de Cu(II)-KTZ testados em esporotricose.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Resultados notáveis foram alcançados por meio de complexos fosfínicos de Cu(I) [Cu(KTZ)<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>) e [Cu(CTZ)<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>) (**Figura 13**). Esses complexos apresentaram atividades anti-Sporothrix altamente promissoras, evidenciando índices de seletividade excepcionais. Comparativamente, mostraram-se mais ativos e seletivos em comparação com os ligantes imidazólicos isolados (Gagini *et al.*, 2018).

**Figura 13** - Estruturas moleculares dos complexos de Cu(I)-PPh<sub>3</sub> testados em esporotricose.



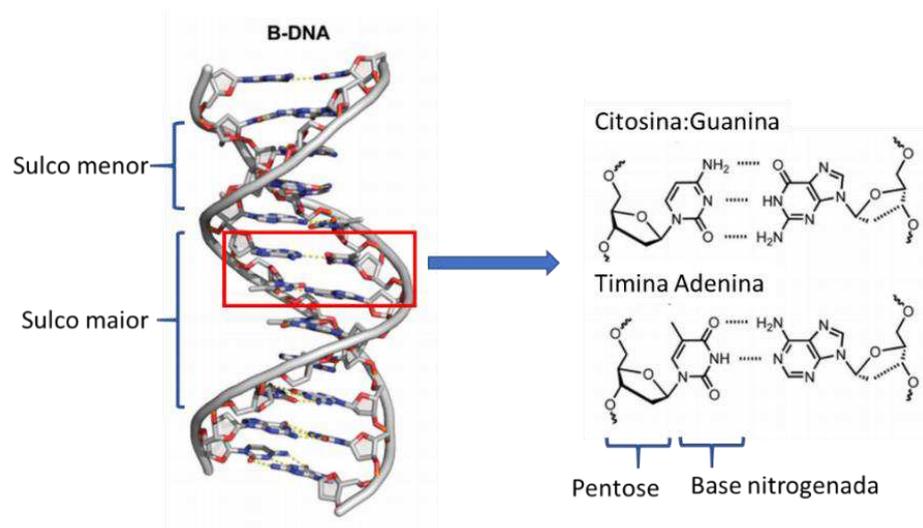
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Em uma abordagem mais contemporânea, um estudo recente revelou que a coordenação do **FLZ** a íons de Cu(II) resultou na formação de polímeros de coordenação com a capacidade notável de inibir o crescimento de parasitas responsáveis pela doença de Chagas. Este efeito inibitório não é observado quando o **FLZ** não está coordenado (de Azevedo-França *et al.*, 2022). Essas descobertas ressaltam a importância da coordenação específica de fármacos a íons metálicos na potencialização de propriedades terapêuticas, abrindo perspectivas significativas para o desenvolvimento de agentes mais eficazes no tratamento de doenças específicas.

#### 1.4. O DNA

O ácido desoxirribonucleico (DNA) é uma macromolécula em configuração de dupla hélice, constituída por unidades repetitivas compostas por uma base nitrogenada, um grupo fosfato e uma molécula de 2'-desoxi-D-ribose (**Figura 14**). Essa estrutura oferece amplas oportunidades para interações com diversas substâncias, incluindo vários complexos metálicos.

**Figura 14** - Modelo da estrutura do DNA



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

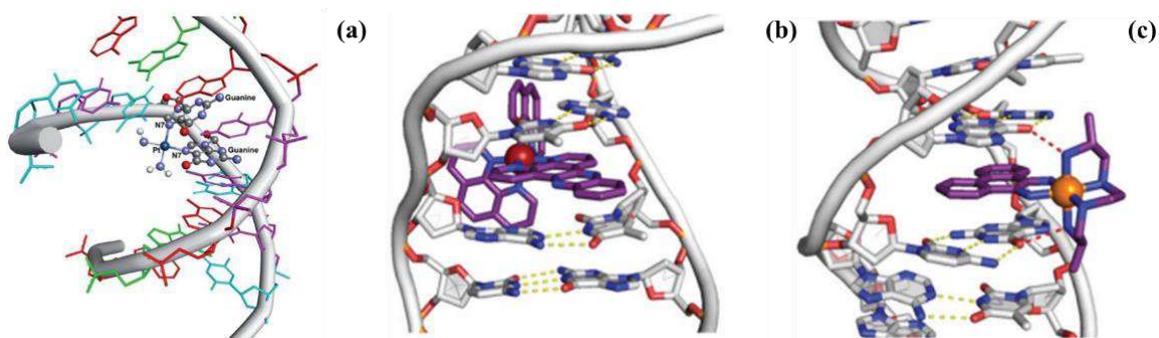
Essas interações podem se manifestar de maneira covalente, ocorrendo a ligação do metal às bases nitrogenadas ou ao grupo fosfato, e de maneira não-covalente, por meio de interações eletrostáticas entre o complexo e o fosfato, intercalação entre os pares de bases do DNA, ou ainda por meio de interações hidrofóbicas (**Figura 15**) (Barra; Netto, 2015; Kellett *et al.*, 2019).

A cadeia de açúcar-fosfato, de natureza aniônica, é hidrofílica e permanece em contato com o meio intracelular aquoso, enquanto as bases nitrogenadas, de caráter mais hidrofóbico e plano,

orientam-se para o interior. Essa orientação propicia a formação de duas cavidades, conhecidas como sulcos maior e menor. O DNA, por sua vez, atua como um repositório de informações genéticas na célula, transmitindo dados cruciais sobre a síntese e funcionamento de proteínas essenciais para a sobrevivência do organismo (Kellett *et al.*, 2019).

Observa-se, conforme ilustrado na figura anterior, que o DNA exibe uma Estrutura molecular complexa, permitindo diversas formas de interação com complexos metálicos. Essas interações, em sua essência, podem ser categorizadas como reversíveis, irreversíveis ou ambas. Em muitos casos, as interações irreversíveis implicam ligações covalentes, como exemplificado pela cisplatina, que, no meio intracelular, sofre hidrólise, perdendo cloretos e permitindo a ligação direta do centro metálico ao DNA (**Figura 15a**) (Kelland, 2007). Por outro lado, as interações reversíveis englobam intercalação (**Figura 15b**), onde uma molécula aromática se insere entre pares de bases do DNA. Além disso, essas interações podem se dar por meio de forças eletrostáticas entre o complexo carregado positivamente e os grupos fosfato carregados negativamente, ou por interação por inserção, na qual o complexo metálico desloca e substitui uma região do DNA (**Figura 15c**) (Kellett *et al.*, 2019).

**Figura 15** - a) cisplatina ligada covalentemente ao DNA, (b) intercalação do  $\Delta$ -[Ru(phen)<sub>2</sub>(dppz)]<sup>2+</sup> e (c) inserção e intercalação do  $\Delta$ - $\alpha$ -[Rh{(R,R)-Me<sub>2</sub>trien}phi]<sup>3+</sup> com o DNA



Fonte: adaptado de (Kellett *et al.*, 2019).

Dessa forma, a investigação das interações entre complexos metálicos e o DNA torna-se de suma importância para compreender os diversos tipos de ligação que esses metalofármacos podem estabelecer com essa macromolécula. Para tal análise, empregam-se diversas técnicas espectroscópicas e analíticas, destacando-se titulações espectrofotométricas, como UV-vis e fluorescência, capazes de evidenciar interações reversíveis com o DNA. Além disso, medidas de viscosidade revelam aumento na viscosidade do DNA na presença de

intercaladores, enquanto a determinação de interações covalentes pode ser realizada por absorção atômica, permitindo a detecção do metal ligado covalentemente ao DNA. Ensaios de mobilidade eletroforética com DNA plasmidial possibilitam a detecção de interações covalentes e intercalativas, entre outras técnicas (Barra; Netto, 2015).

#### 1.4.1. Ligantes planos

Como foi discutido anteriormente, a o grande número de possibilidades de interações com o DNA torna atrativo o desenvolvimento de alternativas sintéticas que atuem diretamente nele, como uma ferramenta poderosa de complexos metálicos como potenciais agentes biológicos. Com isso, o emprego de ligantes orgânicos conhecidos por interagirem com o DNA tem se expandido.

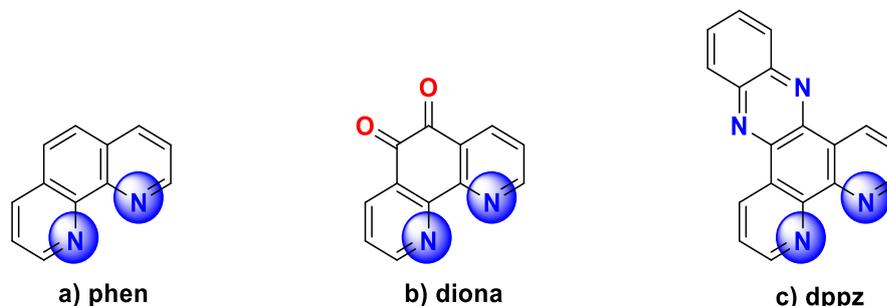
A 1,10-fenantrolina (**phen**) (**Figura 16a**) é uma substância que exibe efeitos biológicos, incluindo atividades imunomoduladoras, antifúngicas e antiparasitárias (Amoscato *et al.*, 1989; Mccann *et al.*, 2004; Lima *et al.*, 2021). As propriedades antiparasitárias, particularmente contra *Leishmania*, representam um aspecto relevante a ser explorado, uma vez que este composto demonstra inibir atividades enzimáticas, metalopeptidases extracelulares e atividades de enzimas de superfície, como a glicoproteína GP63 (Soares *et al.*, 2017). Esta última desempenha um papel crucial no desenvolvimento da leishmaniose, servindo como um mecanismo de reconhecimento entre hospedeiro e parasita (André *et al.* 2022, Santos *et al.*, 2008).

A 1,10-fenantrolina-5,6-diona (**diona**) (**Figura 16b**), um derivado da **phen**, é uma molécula versátil com propriedades quinônicas essenciais para sua atividade redox (Calucci *et al.*, 2006). Além disso, é capaz de atuar como quelante de íons metálicos, influenciar a homeostase, podendo resultar na morte celular de alguns microorganismos (Calderazzo *et al.*, 2002). Ela tem utilizada combinada a metais de transição como cobalto, cobre, rutênio, ósmio e prata, demonstrando efeitos antiparasitários (Subhan *et al.*, 2014; Tay *et al.*, 2015; Ghosh *et al.*, 2006; Oliveira, *et al.*, 2023; Lima *et al.*, 2021).

Um derivado da 1,10-fenantrolina-5,6-diona, obtido pela condensação aldólica de seus grupos carbonílicos com o-fenildiamina, é conhecido como dipiridofenazina (**dppz**) (**Figura 16c**), apresentando características intrigantes. Complexos de cobre ou rutênio contendo esses ligantes exibem atividades no material genético (DNA), causando efeitos hidrolíticos (Stoeffler *et al.*, 1995). Observou-se que esses compostos se intercalam de maneira não específica no DNA, ligando-se a regiões ricas em bases nitrogenadas adenina e timina (Holmlin *et al.*, 1998),

destacando seus efeitos significativos na quimioterapia para leishmanioses e células cancerígenas (Navarro *et al.*, 2003; Roy *et al.*, 2021).

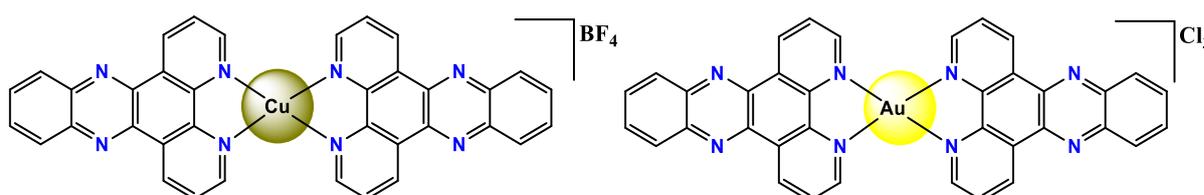
**Figura 16** - Estruturas moleculares dos ligantes planos **phen**, **diona** e **dppz**.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Em estudo conduzido por Navarro e colaboradores (2003), foram sintetizados complexos metálicos contendo **dppz**, coordenados ao Cu(I)  $[\text{Cu}(\text{dppz})_2]\text{BF}_4$  e Au(III)  $[\text{Au}(\text{dppz})_2]\text{Cl}_3$  (**Figura 17**). Esses complexos metálicos demonstraram forte interação com o DNA por intercalação, conforme confirmado por ensaios hidrodinâmicos de viscosidade, e de mobilidade eletroforéticas, os quais confirmaram que esses complexos metálicos interagem com o DNA por intercalação, o que justifica os excelentes efeitos antiproliferativos frente à espécie *Leishmania mexicana* em concentrações nano molares.

**Figura 17** - Estruturas moleculares de complexos metálicos com ligantes planos.



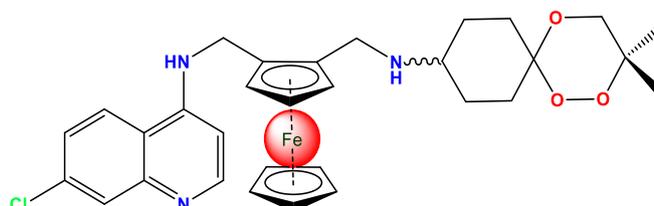
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

### 1.5. HÍBRIDOS METÁLICOS

O propósito deste trabalho é explorar uma abordagem distinta daquelas previamente empregadas em pesquisas anteriores relacionadas à coordenação de ligantes azólicos a metais de transição, impulsionada pelo efeito sinérgico, destacando os híbridos metálicos. Essa categoria de compostos tem ganhado destaque no âmbito da química inorgânica medicinal e consiste em complexos metálicos que englobam mais de um farmacóforo. Um exemplo ilustrativo é a

trioxaferoquina (**Figura 18**), que demonstrou atividade contra o parasita *P. falciparum*, o agente causador da malária, que, adicionalmente, é resistente à cloroquina (Bellot *et al.* 2010). Contudo, é relevante salientar que os farmacóforos encontram-se interligados por meio de ligações covalentes.

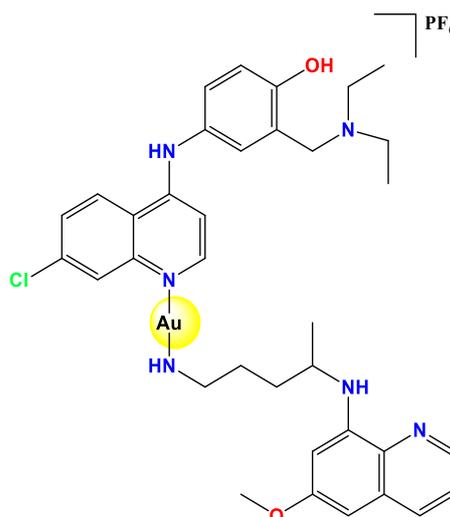
**Figura 18** - Estrutura molecular da trioxaferoquina.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Por outro lado, em uma pesquisa recente conduzida por Navarro e sua equipe (2022), foi sintetizado um composto híbrido de ouro(I) que incorpora simultaneamente os ligantes primaquina e amodiaquina (**Figura 19**). Entretanto, é importante observar que, neste caso, esses ligantes estão conectados através do átomo metálico. Esse complexo metálico híbrido demonstrou notável eficácia antimalárica, revelando-se efetivo em todas as fases de desenvolvimento do parasita devido à presença de ligantes que atuam em diferentes estágios do ciclo parasitário.

**Figura 19** - Estrutura molecular do complexo de ouro(I) contendo Primaquina e Amodiaquina.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

A expectativa decorrente dessa abordagem é a obtenção de complexos metálicos híbridos capazes de direcionar diferentes alvos, proporcionando uma atividade mais robusta em comparação

com os ligantes isolados e seus respectivos complexos metálicos. O foco reside na busca por sinergias entre os ligantes, visando potencializar a eficácia dos compostos resultantes em relação às atividades anti-*Leishmania* e antifúngica. Este enfoque detalhado visa não apenas ampliar o conhecimento na área, mas também oferecer contribuições significativas para o desenvolvimento de agentes terapêuticos mais eficientes.

Adicionalmente, serão conduzidas análises para investigar os potenciais mecanismos de ação desses compostos, através da avaliação de suas interações com diversas biomoléculas, associadas à sua avaliação como agentes antineoplásicos.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

O presente trabalho propõe a síntese e a caracterização de complexos metálicos híbridos de Cu(II) e Ag(I) coordenados por ligantes azólicos **KTZ**, **CTZ**, **FLZ** e **ITZ** e os ligantes planos **phen**, **diona** e **dppz**, o estudo de suas interações com o DNA e a avaliação biológica como anti-leishmania e antifúngicos.

### 2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar complexos metálicos híbridos de Cu(II) utilizando como ligantes os derivados azólicos como **CTZ**, **KTZ**, **ITZ** e **FLZ**, e ligantes planos como **phen**, **diona** e **dppz** e caracterizá-los utilizando espectroscopia no infravermelho (IV), espectroscopia no UV/vis., condutimetria, análise elementar e ressonância paramagnética eletrônica (EPR) e espectrometria de massas;
- Sintetizar complexos metálicos híbridos de Ag(I) utilizando como ligantes os derivados azólicos como **CTZ**, **KTZ**, **ITZ** e caracterizá-los utilizando espectroscopia no infravermelho (IV), espectroscopia no UV/vis., condutimetria, análise elementar e ressonância magnética nuclear (RMN);
- Sintetizar um novo complexo de Cu(I) utilizando como ligantes o **ITZ** e a trifetilfosfina e caracterizá-lo utilizando espectroscopia no infravermelho (IV), espectroscopia no UV/vis., condutimetria, análise elementar e ressonância magnética nuclear (RMN);
- Avaliar o potencial leishmanicida dos compostos obtidos em colaboração com pesquisadores da área.
- Examinar as possíveis interações desses compostos com o DNA, através dos experimentos de titulação espectrofotométrica, viscosidade, eletroforese e titulações espectralfluorimétricas.
- Avaliar o potencial fungicida de todos os compostos obtidos em colaboração com pesquisadores da área.

### 3. PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1. ATMOSFERA INERTE

As sínteses dos complexos metálicos híbridos de prata(I) e do complexo de cobre(I) foram realizadas sob atmosfera de nitrogênio, por meio de técnicas padrão da linha de Schlenk, enquanto os híbridos de cobre(II) foram sintetizados sob atmosfera ambiente.

#### 3.2. SOLVENTES E REAGENTES

Os solventes utilizados nas sínteses, diclorometano, acetonitrila e metanol, foram previamente destilados. Nos experimentos de RMN foram utilizados o dimetilsulfóxido (DMSO-d<sub>6</sub>) deuterado.

Os reagentes itraconazol (**ITZ**), fluconazol (**FLZ**) e cetoconazol (**KTZ**) foram obtidos da Calêndula farmacêutica enquanto o clotrimazol (**CTZ**) foi obtido da MP Biomed. O nitrato de prata(I) utilizado é da marca Sigma-Aldrich. Todos os reagentes foram utilizados sem purificação prévia. O nitrato de cobre trihidratado utilizado foi adquirido da VETEC (Rio de Janeiro, Brasil). As sínteses dos complexos de Cu(II) contendo ITZ foram realizadas em refluxo enquanto todas as demais foram realizadas à temperatura ambiente.

#### 3.3. INSTRUMENTAÇÃO

##### 3.3.1. Análise Elementar

A determinação dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN) dos complexos metálicos híbridos de Cu(I), Cu(II) e de Ag(I) foi realizada por meio de um analisador CHNS-O modelo Flash 2000 da marca ThermoScientific, com fluxo de gases nitrogênio/oxigênio a 140 mL/min, temperatura do forno à 900°C e tempo de análise de doze minutos na UFJF.

##### 3.3.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C dos ligantes e dos complexos de Ag(I) e Cu(I) foram obtidos em um espectrômetro Bruker Ascend 400, sendo os compostos

solubilizados em dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d<sub>6</sub>) com frequência de 400 MHz no Departamento de Química da UFRGS.

### **3.3.3. Espectroscopia de Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)**

Os espectros de EPR de todos os compostos de Cu(II) foram obtidos em um espectrômetro Bruker Elexsys E500 equipado com uma cavidade SHQ ( $\nu = 9.43$  GHz). As amostras foram pesadas (5-8 mg), macerados e medidas a temperatura ambiente (300 K). Medidas a baixa temperatura foram obtidos em um Oxford Instruments ESR900 continuous-flow helium cryostat. As amostras líquidas foram preparadas congelando uma solução 0,5mM do composto em DMF/EtOH (5:1) sob N<sub>2</sub> garantindo assim a formação da matriz de vidro. Todos os espectros de EPR foram simulados usando o Easyspin (versão 6.0.0 dev 26) (STOLL, SCHWEIGER, 2006). Todos os experimentos foram realizados na Universidade de Florença, Itália.

### **3.3.4. Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (IV)**

Para a obtenção dos espectros de absorção na região do infravermelho foi utilizado um espectrofotômetro Alpha Bruker FTIR através de um acessório de refletância total atenuada (ATR) Eco ATR com cristal de ZnSe, na região de 4000-400 cm<sup>-1</sup>, resolução espectral de 4 cm<sup>-1</sup>, com 128 varreduras.

### **3.3.5. Espectroscopia de absorção na região do UV-visível (UV-vis)**

Para a obtenção dos espectros de absorção nas regiões do ultravioleta e visível, foi utilizado um espectrofotômetro Shimadzu UV-1800 com largura de banda espectral de 1 nm, cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm e região de varredura 1100-200 nm.

### **3.3.6. Espectroscopia de Fluorescência**

Os espectros de emissão dos compostos foram obtidos em um espectrofluorímetro Varian Cary Eclipse no Departamento de Química da UFMG. As análises foram realizadas em cubetas de quartzo com 1,0 cm de caminho óptico,  $\lambda_{\text{excitação}} = 526$  nm e fendas de excitação e emissão de 601 nm.

### 3.3.7. Espectrometria de massas

Os espectros de massas de alta resolução dos complexos de Cu(II) e Cu(I) foram obtidos pela Dra. Sandra Scapin no Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), onde trabalhou-se com o método de injeção direta no espectrômetro Synapt G1 (Waters, UK) e os espectros foram adquiridos na faixa de 50-2000 *m/z*.

### 3.3.8. Condutimetria

As medidas de condutividade de cada composto foram realizadas através do condutivímetro MS Tecnopon NI-CVM, utilizando dimetilsulfóxido como solvente. As concentrações das amostras foram 1mM.

## 3.4. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS METÁLICOS HÍBRIDOS

### 3.4.1. Híbridos de Cu(II)

Para a síntese dos complexos metálicos **[Cu(phen)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (1)** e **[Cu(diona)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (2)** seguiu-se metodologia reportada (Zheng, Sun, Lin, 2003).

Uma vez obtidos os complexos metálicos precursores, deu-se a início a síntese dos complexos Cu(PL)(L) **(3-14)** (PL = **phen, diona ou dppz**; L = **CTZ, KTZ, ITZ ou FLZ**).

#### 3.4.1.1. **[Cu(phen)(CTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·3H<sub>2</sub>O (3):**

Solubilizaram-se (99 mg, 0,29 mmol) do complexo **1** em 15 mL de metanol. Em seguida, (200 mg, 0,58 mmol) de **CTZ** foram solubilizados em 20 mL de metanol e adicionados à solução do complexo **1**. Imediatamente houve mudança de coloração e a reação foi mantida sob agitação por 2 horas a temperatura ambiente. Após o tempo de reação, evaporou-se o solvente até um quarto de seu volume e adicionou-se éter dietílico. Observou-se de imediato a formação de precipitado, que foi filtrado e lavado com éter dietílico para remover impurezas e solventes menos voláteis e seco a vácuo. Sólido azul. Rendimento: 84%. Análise elementar (%) calculada para C<sub>56</sub>H<sub>50</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>8</sub>O<sub>10</sub>Cu: %C 59,51, %N 9,92, H 3,89. Obtida: %C 59,41, %N 9,76, H 3,64. IV

[cm<sup>-1</sup> (atribuição)]: 3056 ν(C–H), 1585 ν(C=N), 1491 ν(C=C), 1312, 846 ν(NO<sub>3</sub>). ESI-MS (*m/z*) exp. (calc.): [Cu(phen)(CTZ)(NO<sub>3</sub>)]<sup>+</sup> = 649,07 (649,09). Λ (Scm<sup>2</sup>mol<sup>-1</sup>): 69,50.

3.4.1.2.  $[Cu(diona)(CTZ)_2(H_2O)(NO_3)](NO_3) \cdot 5H_2O$  (**4**):

Solubilizaram-se (50 mg, 0,12 mmol) do complexo **2** em 15 mL de metanol. Em seguida, (88 mg, 0,24 mmol) de **CTZ** foram solubilizados em 20 mL de metanol e adicionados à solução do complexo **2**. Observou-se mudança de coloração e a reação foi mantida sob agitação por 2 horas a temperatura ambiente. Após o tempo de reação, evaporou-se o solvente até um quarto de seu volume e adicionou-se éter dietílico. Observou-se de imediato a formação de precipitado, que foi filtrado e lavado com éter dietílico para remover impurezas e solventes menos voláteis e seco a vácuo. Sólido verde. Rendimento: 62%. Análise elementar (%) calculada para C<sub>56</sub>H<sub>62</sub>N<sub>8</sub>O<sub>14</sub>Cl<sub>2</sub>Cu: %C 57,90, %N 9,53, H 4,25. Obtida: %C 57,25, %N 9,80, H 4,02. IV [cm<sup>-1</sup> (atribuição)]: 3066 ν(C–H<sub>anel aromático</sub>), 1702 ν(C=O), 1579 ν(C=N), 14832 ν(C=C), 1316, 824 ν(NO<sub>3</sub>). [Λ (Scm<sup>2</sup>mol<sup>-1</sup>): 69,53.

3.4.1.3.  $[Cu(dppz)(CTZ)(H_2O)(NO_3)](NO_3) \cdot 2H_2O$  (**5**):

Solubilizaram-se (100 mg, 0,107 mmol) do complexo **Ca** em 15 mL de metanol. Em seguida, (30 mg, 0,107 mmol) de **dppz** foram solubilizados em 20 mL de metanol e adicionados à solução do complexo **2**. Observou-se mudança de coloração e a reação foi mantida sob agitação por 2 horas a temperatura ambiente. Após o tempo de reação, evaporou-se o solvente até um quarto de seu volume e adicionou-se éter dietílico. Observou-se de imediato a formação de precipitado, que foi filtrado e lavado com éter dietílico para remover impurezas e solventes menos voláteis e seco a vácuo. Sólido marrom. Rendimento: 56%. Análise elementar (%) calculada para C<sub>56</sub>H<sub>56</sub>N<sub>8</sub>O<sub>11</sub>Cl<sub>2</sub>Cu: %C 55,34, %N 12,91, H 3,11. Obtido: %C 54,72, %N 13,86, H 3,28. IV [cm<sup>-1</sup> (atribuição)]: 3059 ν(C–H<sub>anel aromático</sub>), 1581 ν(C=N), 1496 ν(C=C), 1321, 824 ν(NO<sub>3</sub>). ESI-MS (*m/z*) exp. (calc.): [Cu(dppz)(CTZ)]<sup>+</sup> = 689,10 (689,13), [Cu(dppz)(NO<sub>3</sub>)]<sup>+</sup> = 407,00 (407,01). Λ (Scm<sup>2</sup>mol<sup>-1</sup>): 59,32.

3.4.1.4.  $[Cu(phen)(KTZ)_2(H_2O)(NO_3)](NO_3) \cdot 2H_2O \cdot C_4H_{10}O$  (**6**):

Solubilizaram-se (35,6 mg, 0,09 mmol) do complexo **1** em 15 mL de metanol. Em seguida, (102 mg, 0,19 mmol) de **KTZ** foram solubilizados em 20 mL de metanol e adicionados

à solução do complexo **1**. Imediatamente houve mudança de coloração e a reação foi mantida sob agitação por 2 horas a temperatura ambiente. Após o tempo de reação, evaporou-se o solvente até um quarto de seu volume e adicionou-se éter dietílico. Observou-se de imediato a formação de precipitado, que foi filtrado e lavado com éter dietílico para remover impurezas e solventes menos voláteis e seco a vácuo. Sólido verde claro. Rendimento: 94%. Análise elementar (%) calculada para  $C_{68}H_{82}Cl_4N_{12}O_{19}Cu$ : %C 51,80, %N 10,66, H 4,44. Obtida: %C 52,17, %N 10,12, H 4,15. IV [ $cm^{-1}$  (atribuição)]: 3404  $\nu(OH)$ , 3129  $\nu(C-H)$ , 2889–2820  $\nu(C-H)$ , 1623  $\nu(C=O)$ , 1586  $\nu(C=N)$ , 1512  $\nu(C=C)$ , 1329, 826  $\nu(NO_3)$ . ESI-MS ( $m/z$ ) exp. (calc.):  $[Cu(phen)(KTZ)(NO_3)]^+ = 835,15$  (835,13),  $\Lambda$  ( $Scm^2mol^{-1}$ ): 68,20.

#### 3.4.1.5. $[Cu(diona)(KTZ)_2(H_2O)(NO_3)](NO_3) \cdot 4H_2O$ (**7**):

Solubilizaram-se (36 mg, 0,079 mmol) do complexo **2** em 15 mL de metanol. Em seguida, (100 mg, 0,18 mmol) de **KTZ** foram solubilizados em 20 mL de metanol e adicionados à solução do complexo **2**. Imediatamente houve mudança de coloração e a reação foi mantida sob agitação por 2 horas a temperatura ambiente. Após o tempo de reação, evaporou-se o solvente até um quarto de seu volume e adicionou-se éter dietílico. Observou-se de imediato a formação de precipitado, que foi filtrado e lavado com éter dietílico para remover impurezas e solventes menos voláteis e seco a vácuo. Sólido verde escuro. Rendimento: 63%. Análise elementar (%) calculada para  $C_{64}H_{82}N_{12}O_{26}Cu$ : %C 49,58, %N 10,84, H 4,64. Obtida: %C 49,58, %N 11,23, H 4,02. IV [ $cm^{-1}$  (atribuição)]: 3066  $\nu(C-H)$ , 1629  $\nu(C=O)$ , 1583  $\nu(C=N)$ , 1509  $\nu(C=C)$ , 1321, 814  $\nu(NO_3)$ .  $\Lambda$  ( $Scm^2mol^{-1}$ ): 68,18.

#### 3.4.1.6. $[Cu(dppz)(KTZ)(H_2O)(NO_3)](NO_3) \cdot 2H_2O$ (**8**):

Solubilizaram-se (105 mg, 0,085 mmol) do complexo **Cb** em 15 mL de metanol. Em seguida, (25 mg, 0,085 mmol) de **dppz** foram solubilizados em 20 mL de metanol e adicionados à solução do complexo **Cb**. Imediatamente houve mudança de coloração e a reação foi mantida sob agitação por 2 horas a temperatura ambiente. Após o tempo de reação, evaporou-se o solvente até um quarto de seu volume e adicionou-se éter dietílico. Observou-se de imediato a formação de precipitado, que foi filtrado e lavado com éter dietílico para remover impurezas e solventes menos voláteis e seco a vácuo. Sólido marrom escuro. Rendimento: 58%. Análise elementar (%) calculado para  $C_{64}H_{78}N_{12}O_{24}Cu$ : %C 50,96, %N 13,50, H 4,05. Obtido: %C 50,45, %N 14,06, H 3,32. IV [ $cm^{-1}$  (atribuição)]: 3393  $\nu(OH)$ , 3126–3087  $\nu(C-H)$ , 1618  $\nu(C=O)$ ,

1584  $\nu(\text{C}=\text{N})$ , 1506  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 1321, 818  $\nu(\text{NO}_3)$ . ESI-MS ( $m/z$ ) exp. (calc.):  $[\text{Cu}(\text{dppz})(\text{KTZ})(\text{NO}_3)]^+ = 937,19$ ,  $[\text{Cu}(\text{dppz})(\text{KTZ})]^+ = 875,18$  (875,17),  $\Lambda$  ( $\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$ ): 58,32.

3.4.1.7.  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{ITZ})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3) \cdot 2,2\text{H}_2\text{O}$  (**9**):

Solubilizaram-se (50 mg, 0,14 mmol) do complexo **1** em 15 mL de metanol. Em seguida, (200 mg, 0,28 mmol) de **ITZ** foram solubilizados em 20 mL de metanol e adicionados à solução do complexo **1**. A reação foi mantida sob refluxo e imediatamente houve mudança de coloração. Após 2 horas sob agitação, evaporou-se o solvente até um quarto de seu volume e adicionou-se éter dietílico. Observou-se de imediato a formação de precipitado, que foi filtrado e lavado com éter dietílico para remover impurezas e solventes menos voláteis e seco a vácuo. Sólido azul claro. Rendimento: 48%. Análise elementar (%) calculada para  $\text{C}_{82}\text{H}_{90}\text{Cl}_2\text{N}_{20}\text{O}_{17}\text{Cu}$ : %C 53,56, %N 15,24, H 4,57. Obtida: %C 53,07, %N 15,91, H 4,79. (130 mg, R %). IV [ $\text{cm}^{-1}$  (atribuição)]: 3050-2825  $\nu(\text{C}-\text{H})$ , 1693  $\nu(\text{C}=\text{O})$ , 1583  $\nu(\text{C}=\text{N})$ , 1509  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 1224, 819  $\nu(\text{NO}_3)$ . ESI-MS ( $m/z$ ) exp. (calc.):  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{ITZ})(\text{NO}_3)]^+ = 1009,23$  (1009,23),  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{ITZ})]^+ = 947,25$  (947,24).  $\Lambda$  ( $\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$ ): 66,30.

3.4.1.8.  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{ITZ})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3) \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (**10**):

Solubilizaram-se (28 mg, 0,14 mmol) do complexo **2** em 15 mL de metanol. Em seguida, (105,6 mg, 0,29 mmol) de **ITZ** foram solubilizados em 20 mL de metanol e adicionados à solução do complexo **2**. A reação foi mantida sob refluxo quando houve mudança de coloração imediatamente. Após 2 horas sob agitação, evaporou-se o solvente até um quarto de seu volume e adicionou-se éter dietílico. Observou-se de imediato a formação de precipitado, que foi filtrado e lavado com éter dietílico para remover impurezas e solventes menos voláteis e seco a vácuo. Sólido verde escuro. Rendimento: 61%. Análise elementar (%) calculada para  $\text{C}_{47}\text{H}_{64}\text{Cl}_2\text{N}_{12}\text{O}_{27}\text{Cu}$ : %C 45,26, %N 13,48, H 4,17. Obtida: %C 44,59, %N 12,89, H 3,57. IV [ $\text{cm}^{-1}$  (atribuição)]: 3120-2825  $\nu(\text{C}-\text{H})$ , 1696  $\nu(\text{C}=\text{O})$ , 1585  $\nu(\text{C}=\text{N})$ , 1512  $\nu(\text{C}=\text{C})$ , 1225, 826  $\nu(\text{NO}_3)$ . ESI-MS ( $m/z$ ) exp. (calc.):  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{ITZ})(\text{NO}_3) + \text{MeOH}]^+ = 1041,30$  (1041,23),  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{ITZ}) + \text{MeOH}]^+ = 1009,30$  (1009,24).  $\Lambda$  ( $\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$ ): 69,53.

3.4.1.9.  $[\text{Cu}(\text{dppz})(\text{ITZ})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**11**):

Solubilizaram-se (79,0 mg, 0,048 mmol) do complexo **Cc** em 15 mL de metanol. Em seguida, (14,0 mg, 0,048 mmol) de **dppz** foram solubilizados em 20 mL de metanol e adicionados à solução do complexo **Cc**. A reação foi mantida sob refluxo quando houve mudança de coloração imediatamente. Após 2 horas sob agitação, evaporou-se o solvente até um quarto de seu volume e adicionou-se éter dietílico. Observou-se de imediato a formação de precipitado, que foi filtrado e lavado com éter dietílico para remover impurezas e solventes menos voláteis e seco a vácuo. Sólido marrom. Rendimento: 65%. Análise elementar (%) calculada para  $C_{47}H_{52}Cl_2N_{12}O_{21}Cu$ : %C 54,34 %N 16,74, H 4,61. Obtida: %C 54,79, %N 16,74, H 34,25. IV [ $cm^{-1}$  (atribuição)]: 3123-2827  $\nu(C-H)$ , 1693  $\nu(C=O)$ , 1583  $\nu(C=N)$ , 1508  $\nu(C=C)$ , 1222, 8  $\nu(NO_3)$ .  $\Lambda$  ( $Scm^2mol^{-1}$ ): 40,16.

3.4.1.10.  $[Cu(phen)(FLZ)(H_2O)(NO_3)]_2(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$  (**12**):

Solubilizaram-se (100 mg, 0,27 mmol) do complexo **1** em 15 mL de metanol. Em seguida, (83,4 mg, 0,27 mmol) de **FLZ** foram solubilizados em 20 mL de metanol e adicionados à solução do complexo **1**. A coloração da reação foi de azul para azul escuro e a reação foi mantida sob agitação por 2 horas a temperatura ambiente. Após o tempo de reação, evaporou-se o solvente até um quarto de seu volume e adicionou-se éter dietílico. Observou-se de imediato a formação de precipitado, que foi filtrado e lavado com éter dietílico para remover impurezas e solventes menos voláteis e seco a vácuo. Sólido azul claro. Rendimento: 79%. Análise elementar (%) calculada para  $C_{50}H_{50}F_4N_{20}O_{19}Cu$ : %C 41,76, %N 19,49, H 3,48. Obtida: %C 42,07, %N 18,73, H 2,93. IV [ $cm^{-1}$  (atribuição)]: 3135  $\nu(C-H)$ , 1616  $\nu(C=N)$ , 1531  $\nu(C=C)$ , 1282, 848  $\nu(NO_3)$ . ESI-MS ( $m/z$ ) exp. (calc.):  $\{[Cu(phen)(FLZ)(NO_3)]_2 + MeOH\}^+ = 1009,3044$  (1009,24).  $[Cu(phen)(FLZ)] + MeOH - H\}^+ = 672,0137$  (672,07).  $\Lambda$  ( $Scm^2mol^{-1}$ ): 129,08.

3.4.1.11.  $[Cu(diona)(FLZ)(H_2O)(NO_3)]_2(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$  (**13**):

Solubilizaram-se (45 mg, 0,11 mmol) do complexo **2** em 15 mL de metanol. Em seguida, (37 mg, 0,11 mmol) de **FLZ** foram solubilizados em 20 mL de metanol e adicionados à solução do complexo **2**. A coloração da reação foi de azul para azul escuro e a reação foi mantida sob agitação por 2 horas a temperatura ambiente. Após o tempo de reação, evaporou-se o solvente até um quarto de seu volume e adicionou-se éter dietílico. Observou-se de imediato a formação de precipitado, que foi filtrado e lavado com éter dietílico para remover impurezas e solventes

menos voláteis e seco a vácuo. Sólido azul claro. Rendimento: 65%. Análise elementar (%) calculada para  $C_{50}H_{48}F_4N_{20}O_{32}Cu_2 \cdot 5H_2O$ : %C 39,15, %N 18,27, H 3,26. Obtido: %C 38,76, %N 18,82, H 2,78. IV [ $cm^{-1}$  (atribuição)]: 3129  $\nu(C-H)$ , 1619  $\nu(C=O)$ , 1601  $\nu(C=N)$ , 1535  $\nu(C=C)$ , 1279, 848  $\nu(NO_3)$ . ESI-MS ( $m/z$ ) exp. (calc.):  $[Cu(phen)(FLZ)(NO_3)] + H]^+ = 642,14$  (642,07).  $\Lambda$  ( $Scm^2mol^{-1}$ ): 100,32.

#### 3.4.1.12. $\{[Cu(dppz)(FLZ)(H_2O)(NO_3)](NO_3)\}_2 \cdot 3CH_3OH \cdot 2H_2O$ (**14**):

Solubilizaram-se (322 mg, 0,326 mmol) do complexo **Cd** em 15 mL de metanol. Em seguida, (91,0 mg, 0,326 mmol) de **dppz** foram solubilizados em 20 mL de metanol e adicionados à solução do complexo **Cd**. A coloração da reação foi de azul para azul escuro e a reação foi mantida sob agitação por 2 horas a temperatura ambiente. Após o tempo de reação, observou-se a formação de um sólido cinza que foi filtrado e lavado com metanol e éter dietílico para remover impurezas e solventes menos voláteis e seco a vácuo. Sólido cinza. Rendimento: 73%. Análise elementar (%) calculada para  $C_{53}H_{58}F_4N_{20}O_{34}Cu_2$ : %C 45,38 %N 19,55, H 3,72. Obtida: %C 44,99, %N 18,78, H 3,09. IV [ $cm^{-1}$  (Atribuição)]: 3456  $\nu(OH)$ , 3107  $\nu(C-H)$ , 1613  $\nu(C=N)$ , 1499  $\nu(C=C)$ , 1281, 819  $\nu(NO_3)$ .  $\Lambda$  ( $Scm^2mol^{-1}$ ): 121,30.

#### 3.4.2. Híbridos de Ag(I)

Os híbridos de prata foram sintetizados em acetonitrila a 25°C sob atmosfera ambiente. O sal de prata  $AgNO_3$  foi solubilizado em acetonitrila e em seguida, solubilizou-se o **KTZ** em 10 mL de acetonitrila e adicionou-se ao balão contendo o  $AgNO_3$ . Manteve-se sob agitação por 2h em atmosfera ambiente. Solubilizou-se então o **CTZ** (**15**) ou o **ITZ** (**16**) em 20 mL de acetonitrila e adicionou-se à mistura reacional. Tanto o  $AgNO_3$  quanto os ligantes foram utilizados mantendo uma estequiometria equimolar. Manteve-se sob agitação por 1h. Durante toda a reação, as soluções permaneceram incolores e transparentes, não apresentando formação de precipitado. Após o tempo de reação, reduziu-se o solvente até um quarto de seu volume e adicionou-se éter dietílico. Observou-se que um sólido branco foi precipitado, o qual foi filtrado e lavado com éter dietílico para remover resquícios de acetonitrila e água de hidratação, e seco a vácuo.

3.4.2.1.  $[Ag(KTZ)(CTZ)]NO_3 \cdot 2CH_3CN \cdot H_2O$  (**15**):

Sólido branco. (31,99 mg, 0,19 mmol) de  $AgNO_3$  (64,8 mg, 0,19 mmol) de **CTZ** e (100 mg, 0,19 mmol) de **KTZ**. Rendimento: 89%. Análise elementar (%) calculado para  $C_{52}H_{53}Cl_3N_8O_8Ag$ : %C 54,44, %N 10,99, H 4,62. Obtido: %C 54,03, %N 11,08, H 4,62. IV [ $cm^{-1}$  (atribuição)]: 3126-3080  $\nu(C-H_{\text{anel aromático}})$ , 2880-2815  $\nu(C-H)$ , 1631  $\nu(C=O)$ , 1585  $\nu(C=N)$ , 1508  $\nu(C=C)$ , 1222  $\nu(NO_3)$ . RMN de  $^1H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 2,02 (s, 3H,  $H_{33}$ ), 2,94 (dt,  $J = 28$  Hz, 4Hz, 4H,  $H_{28}$ ,  $H_{30}$ ), 3,53 (m, 4H,  $H_{16}$ ,  $H_{29}$ ), 3,64 (m, 3H,  $H_{31}$ ,  $H_{31'}$ ,  $H_{18'}$ ), 3,89 (m, 1H,  $H_{18}$ ), 4,36 (m, 1H,  $H_{15}$ ), 4,65 (m,  $H_6$ ), 6,81 (d,  $J = 8$  Hz, 2H,  $H_{21}$ ,  $H_{25}$ ), 6,88 (d,  $J = 8$  Hz, 2H,  $H_{22}$ ,  $H_{24}$ ), 6,94 (d,  $J = 8$  Hz, 1H,  $H_d$ ), 7,06 (s, 1H,  $H_4$ ), 7,06-7,09 (m, 5H,  $H_f$ ,  $H_k$ ,  $H_m$ ,  $H_p$ ,  $H_r$ ), 7,17 (s, 1H,  $H_e$ ), 7,25 (s, 1H,  $H_5$ ) 7,42-7,61 (m, 12H,  $H_8$ ,  $H_j$ ,  $H_l$ ,  $H_n$ ,  $H_o$ ,  $H_q$ ,  $H_s$ ,  $H_7$ ,  $H_g$ ,  $H_h$ ,  $H_i$ ), 7,71 (d,  $J = 4$  Hz, 1H,  $H_{10}$ ), 7,84 (s, 1H,  $H_b$ ), 7,88 (s, 1H,  $H_2$ ). RMN de  $^{13}C$  (125 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (ppm):  $\delta$  ppm (atribuição): 168,21 ( $C_{32}$ ), 152,03 ( $C_4$ ), 145,53 ( $C_{20}$ ), 140,51 ( $C_{25}$ ), 139,83 - 122,25 ( $C_2$ ,  $C_5$ ,  $C_7$ ,  $C_8$ ,  $C_9$ ,  $C_{10}$ ,  $C_{11}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_e$ ,  $C_g$ ,  $C_h$ ,  $C_i$ ,  $C_j$ ,  $C_k$ ,  $C_l$ ,  $C_m$ ,  $C_n$ ,  $C_o$ ,  $C_p$ ,  $C_q$ ,  $C_r$ ,  $C_s$ ,  $C_t$ ,  $C_u$ ,  $C_v$ ), 117,88 - 115,13 ( $C_{21}$ ,  $C_{22}$ ,  $C_{23}$ ,  $C_{24}$ ), 107,38 ( $C_{13}$ ), 75,31 - 66,44 ( $C_{15}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$ ), 50,96 - 45,61 ( $C_6$ ,  $C_{28}$ ,  $C_{29}$ ,  $C_{30}$ ,  $C_{31}$ ), 21,33 ( $C_{33}$ ).  $\Lambda$  ( $Scm^2mol^{-1}$ ): 32,54.

3.4.2.2.  $[Ag(KTZ)(ITZ)]NO_3 \cdot 1,4H_2O$  (**16**):

Sólido cinza claro. (32 mg, 0,19 mmol) de  $AgNO_3$ , (102 mg, 0,19 mmol) de **KTZ** e (134 mg, 0,19 mmol) de **ITZ**. Rendimento: 96%. Análise elementar (%) calculado para  $C_{61}H_{69}Cl_4N_{13}O_{12}Ag$ : %C 50,24, %N 12,74, H 4,81. Obtido: %C 50,79, %N 13,26, H 4,61. IV [ $cm^{-1}$  (atribuição)]: 3124  $\nu(C-H_{\text{anel aromático}})$ , 2825-2970  $\nu(C-H)$ , 1699  $\nu(C=O)$ , 1635  $\nu(C=O)$ , 1585  $\nu(C=N)$ , 1510  $\nu(C=C)$ , 1226, 825  $\nu(NO_3)$ . RMN de  $^1H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 0,80 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3H,  $H_{45'}$ ), 1,28 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H,  $H_{46'}$ ), 1,67 (m, 2H,  $H_{44'}$ ), 2,02 (s, 3H,  $H_{33}$ ), 2,94 (dt,  $J = 27,6$  Hz, 4,8 Hz, 4H,  $H_{28}$ ,  $H_{30}$ ), 3,17 (m, 4H,  $H_{27'}$ ,  $H_{31'}$ ), 3,31 (m, 4H,  $H_{28'}$ ,  $H_{30'}$ ), 3,54 (m, 4H,  $H_{16}$ ,  $H_{29}$ ), 3,64 (m, 3H,  $H_{31a}$ ,  $H_{31b}$ ,  $H_{18b}$ ), 3,76 (m, 3H,  $H_{15'}$ ,  $H_{18a'}$ ,  $H_{18b'}$ ), 3,91 (m, 2H,  $H_{18}$ ), 4,11 (m, 1H,  $H_{16'}$ ), 4,35 (m, 2H,  $H_{15}$ ,  $H_{15'}$ ), 4,66 (m,  $H_6$ ), 4,84 (m, 2H  $H_6'$ ), 6,80 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H,  $H_{22}$ ,  $H_{24}$ ), 6,86 (m, 4H,  $H_{21}$ ,  $H_{25}$ ,  $H_{22'}$ ,  $H_{24'}$ ), 6,96 (d,  $J = 9,2$  Hz, 2H,  $H_{21'}$ ,  $H_{25'}$ ), 6,99 (s, 1H,  $H_4$ ), 7,10 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H,  $H_{33'}$ ,  $H_{37'}$ ), 7,26 (s, 1H,  $H_5$ ), 7,42 (dd,  $J = 8,4$  Hz, 1,6 Hz, 1H,  $H_8'$ ), 7,49 (m, 4H,  $H_{7'}$ ,  $H_8$ ,  $H_{34'}$ ,  $H_{36'}$ ), 7,59 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H,  $H_7$ ), 7,67 (d,  $J = 2$  Hz, 1H,  $H_{10'}$ ), 7,71 (d,  $J = 1,6$  Hz, 1H,  $H_{10}$ ), 7,87 (s, 1H,  $H_2$ ), 7,9 (s, 1H,  $H_2'$ ), 8,32 (s, 1H,  $H_{42'}$ ), 8,45 (s, 1H,  $H_5'$ ). RMN de  $^{13}C$  (125 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 168,21 ( $C_{32}$ ), 152,02 ( $C_{20}$ ,  $C_{20'}$ ), 151,32-145,54 ( $C_{25}$ ,  $C_{2'}$ ,  $C_5'$ ,  $C_{23'}$ ,  $C_{32'}$ ,  $C_{39'}$ ), 140,60 ( $C_2$ ), 135,12 - 115,12 ( $C_4$ ,  $C_5$ ,  $C_{7-12}$ ,

C<sub>21-24</sub>, C<sub>2'</sub>, C<sub>5'</sub>, C<sub>7'-12'</sub>, C<sub>21'</sub>, C<sub>22'</sub>, C<sub>24'</sub>, C<sub>25</sub>, C<sub>33'-37'</sub>, C<sub>42'</sub>, 107,38-107,15 (C<sub>13</sub>, C<sub>13'</sub>), 74,75 - 66,50 (C<sub>15</sub>, C<sub>16</sub>, C<sub>18</sub>, C<sub>15'</sub>, C<sub>16'</sub>, C<sub>18'</sub>), 53,23 - 45,61 (C<sub>6</sub>, C<sub>27</sub>, C<sub>28</sub>, C<sub>30</sub>, C<sub>31</sub>, C<sub>27'</sub>, C<sub>28'</sub>, C<sub>30'</sub>, C<sub>31</sub>, C<sub>43'</sub>), 27,93 (C<sub>44'</sub>), 21,33 (C<sub>33</sub>), 19,28 (C<sub>46'</sub>), 10,37 (C<sub>45'</sub>). RMN de <sup>15</sup>N {<sup>1</sup>H} (DMSO-d<sub>6</sub>), δ (ppm): -61,50 – (-)65,9 (N<sub>26</sub>, N<sub>26'</sub>, N<sub>29'</sub>), -199,65 (N<sub>3'</sub>), -199,65 (N<sub>3'</sub>), -237,37 (N<sub>1</sub>, N<sub>1'</sub>, N<sub>41</sub>), -318, 98 (N<sub>40'</sub>), -348,08 (N<sub>38'</sub>, N<sub>3</sub>), -383,42 (N<sub>29'</sub>, N<sub>3</sub>). Λ (Scm<sup>2</sup>mol<sup>-1</sup>): 35,54.

### 3.5. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO METÁLICO DE Cu(I)

Para realizar a síntese do complexo **17** foi sintetizado o complexo precursor [Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>NO<sub>3</sub> (**Ce**) de acordo com metodologia reportada (JARDINE *et al.*, 1971).

Na síntese do complexo **17**, o **ITZ** foi dissolvido em 25 mL de acetonitrila sob refluxo. Em seguida, adicionou-se o complexo **Ce** previamente dissolvido em 10 mL de acetonitrila. A reação foi mantida sob refluxo por 6 horas. Em seguida, deixou-se esfriar lentamente. Um sólido branco foi observado e foi centrifugado, lavado 3 vezes com acetonitrila e 3 vezes com éter dietílico o qual foi seco a vácuo.

#### 3.5.1. [Cu(ITZ)<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>NO<sub>3</sub> · 5H<sub>2</sub>O (**17**):

Sólido branco. (78 mg, 0,12 mmol) de [Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>), (171 mg, 0,24 mmol) de **ITZ**. Rendimento: 57%. Análise elementar (%) calculada para C<sub>106</sub>H<sub>116</sub>Cl<sub>4</sub>N<sub>17</sub>O<sub>16</sub>P<sub>2</sub>Cu, C, 60,69; H, 4,04; N, 11,25. Encontrado: C, 60,92; H, 3,11; N, 11,28 %. ESI-MS (m/z): [Cu(PPh<sub>3</sub>)(ITZ)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> = 1735,51(1735,50) m/z, [Cu(PPh<sub>3</sub>)(ITZ)]<sup>+</sup> = 1031,27 (1031,26) m/z, [ITZ]<sup>+</sup> = 705,25 (705,24) m/z. IV [cm<sup>-1</sup> (atribuição)]: ν (C=O) 1701, ν (C=N) 1586, ν (C=C) 1452, RMN de <sup>1</sup>H (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>), δ (ppm): 0,78 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H, H<sub>45'</sub>), 1,28 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H, H<sub>46'</sub>), 1,68 (m, 2H, H<sub>44'</sub>), 3,16 (t, *J* = 5 Hz, 4H, H<sub>27'</sub>, H<sub>31'</sub>), 3,31 (t, *J* = 5 Hz, 4H, H<sub>28'</sub>, H<sub>30'</sub>), 3,75- 3,92 (m, 4H, H<sub>15'</sub>, H<sub>18'</sub>), 4,12 (m, 1H, H<sub>16'</sub>), 4,36 (m, 1H, H<sub>43</sub>), 4,84 (m, 2H, H<sub>6'</sub>), 6,84, (d, *J* = 9 Hz, 2H, H<sub>21'</sub>, H<sub>25'</sub>), 6,95 (d, *J* = 9 Hz, 2H, H<sub>22'</sub>, H<sub>24'</sub>), 7,09 (d, *J* = 9 Hz, 2H, H<sub>33'</sub>, H<sub>37'</sub>), 7,22 (6H, PPh<sub>3</sub>), 7,36 (8H, PPh<sub>3</sub>), 7,45-7,51 (5H, H<sub>7'</sub>, H<sub>8'</sub>, H<sub>34'</sub>, H<sub>36'</sub>, PPh<sub>3</sub>), 7,64 (d, *J* = 2 Hz, 1H, H<sub>10</sub>), 7,82 (s, 1H, H<sub>2'</sub>), 8,33 (s, 1H, H<sub>42'</sub>), 8,42 (s, 1H, H<sub>5'</sub>). RMN de <sup>13</sup>C (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>), δ (ppm): 10,63 (C<sub>45</sub>), 19,22 (C<sub>46</sub>), 27,91 (C<sub>44</sub>), 48,27 (C<sub>28</sub>/C<sub>30</sub>), 49,55 (C<sub>27</sub>/C<sub>31</sub>), 51,75 (C<sub>43</sub>), 53,54 (C<sub>6</sub>), 66,64 (C<sub>16</sub>), 67,83 (C<sub>18</sub>), 74,79 (C<sub>15</sub>), 107,47 (C<sub>13</sub>), 115,16 (C<sub>21</sub>/C<sub>25</sub>), 115,78 (C<sub>33</sub>/C<sub>37</sub>), 117,62 (C<sub>22</sub>/C<sub>24</sub>), 115,78 (C<sub>33</sub>/C<sub>37</sub>), 122,92 (C<sub>34</sub>/C<sub>36</sub>), 125,53 (C<sub>35</sub>), 127,05 (C<sub>5</sub>), 128,92 (C<sub>6</sub>, C<sub>PPh3</sub>), 129,87 (C<sub>3</sub>), 130,58 (C<sub>2</sub>), 131,48 (C<sub>4</sub>), 132,50 (C<sub>42</sub>), 132,45 (C<sub>PPh3</sub>), 132,24 (C<sub>PPh3</sub>), 134,51

(C<sub>1</sub>), 134,75 (C<sub>10</sub>), 135,05 (C<sub>23</sub>), 145,63 (C<sub>12</sub>), 149,79 (C<sub>32</sub>), 151,31 (C<sub>39</sub>), 151,95 (C<sub>20</sub>). RMN de <sup>35</sup>P {<sup>1</sup>H} (DMSO-d<sub>6</sub>), δ (ppm): -3,58 (s, PPh<sub>3</sub>). Λ (Scm<sup>2</sup>mol<sup>-1</sup>): 25,40

### 3.6. ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM DNA

Em todas as medidas utilizou-se DNA de timo de vitela (*Calf-timus*) e foram realizadas em DMSO para as titulações espectrofotométricas e em tampão Tris-HCl 5 mM (pH 7.4), 50 mM NaCl. Calculou-se a razão entre as absorvâncias em 260 e 280 e verificou-se que estava entre 1,8-1,9, o que indica que o DNA estava suficientemente puro. A concentração deste por nucleotídeo foi determinada por análise espectrofotométrica utilizando o coeficiente de absorvidade molar 6600 mol<sup>-1</sup> dm<sup>3</sup> cm<sup>-1</sup> em 260 nm (Vegas, 2013).

#### 3.6.1. Titulações espectrofotométricas

As titulações espectrofotométricas foram realizadas adicionando sucessivas alíquotas da solução de DNA à cubeta de quartzo contendo o complexo diluído em tampão trisma HCl e então foram obtidos os espectros de UV-Vis após cada adição. A absorção do DNA foi subtraída pela adição das mesmas quantidades deste ao branco. Construiu-se o gráfico [DNA]/(ε<sub>a</sub> - ε<sub>f</sub>) em função de [DNA] onde [DNA] é a concentração do DNA em pares de base e os coeficientes de absorção ε<sub>a</sub>, ε<sub>f</sub> e ε<sub>b</sub> correspondem a Abs/[M], o coeficiente de extinção para o complexo livre e o coeficiente de extinção do complexo na sua forma totalmente associada ao DNA, respectivamente. Os dados foram substituídos na **Equação 1** com o coeficiente angular sendo igual a 1/(ε<sub>a</sub> - ε<sub>f</sub>) e o coeficiente linear igual a 1/[K<sub>b</sub>(ε<sub>a</sub> - ε<sub>f</sub>)]. Obteve-se então K<sub>b</sub> pela razão entre o coeficiente angular e o coeficiente linear (Vegas, 2013).

$$\text{Equação 1: } [DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_f) = [DNA]/(\epsilon_b - \epsilon_f) + 1/[K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)] \quad (1)$$

#### 3.6.2. Estudos de intercalação com o DNA por medidas de fluorescência

Foram preparadas soluções estoques de concentrações entre 1,48 e 3,04 mM em DMSO dos compostos **3-14** para os estudos de competição contra o brometo de etídio, pelos sítios de interação do DNA, por intercalação entre as bases nitrogenadas. Uma solução 50 μM de DNA (tampão PBS pH = 7,4) foi colocada em contato com brometo de etídio (BE, 5 μM, água) durante uma hora a uma temperatura constante de 25 °C. Em seguida, os estudos foram

realizados por meio da adição gradual de 2µL da solução estoque à cubeta de quartzo (4 faces polidas, com caminho óptico de 1,0 cm) contendo BE (5 µM) e DNA (50 µM) a aproximadamente 37 °C (Oliveira *et al.*, 2020) de forma que proporção final de DMSO não ultrapassasse 2%. A cada adição, deixou-se 5 min em repouso para alcançar o equilíbrio. A adição das alíquotas de complexo foi acompanhada por espectroscopia de fluorescência, uma vez que o brometo de etídio livre não tem a mesma intensidade de emissão que o complexo BE-DNA, que tem  $\lambda_{exc}$  em 526 nm, emitindo em 601 nm. Observou-se a região de 550- 750 nm.

Os valores das intensidades de fluorescência na ausência e na presença de quantidades progressivas de complexos foram utilizados no modelo de Stern-Volmer (**Equação 2**) para supressão de fluorescência, utilizado para determinação das constantes Ksv (constante de Stern-Volmer).

$$\text{Equação 2: } \frac{F_0}{F} = 1 + K_q \cdot \tau_0 [Q] = 1 + K_{sv} \cdot [Q]$$

em que  $F_0$  e  $F$  são as intensidades relativas de fluorescência do aduto BE-CT-DNA em ausência e em presença dos complexos, respectivamente;  $k_q$  é a constante de velocidade bimolecular de supressão;  $\tau_0$  é o tempo de vida de fluorescência médio do aduto BE-CT-DNA ( $23,0 \times 10^{-9}$  s) (Heller; Greenstock; 1994) em ausência dos compostos em estudo;  $[Q]$  é a concentração dos compostos; e  $K_{SV}$  é a constante de Stern-Volmer, resultado do produto  $k_q \cdot \tau_0$  (Lakowicz, 2006).

Utilizou-se uma equação simplificada (Icel; Yilmaz, 2013; Singh; Srivastava; Patra, 2016) para determinação do  $K_{app}$  (constante de ligação aparente), baseada no valor da constante de ligação do brometo de etídio,  $K_{EB}$ :

$$\text{Equação 3: } K_{EB} \cdot [EB] = K_{app} \cdot [Composto]$$

onde  $K_{EB} = 1,0 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ ,  $[EB] = 5 \text{ µM}$ ,  $K_{app}$  é a constante de ligação aparente e  $[composto]$  é a concentração de composto que suprime 50% da fluorescência do complexo BE-DNA. (Possato; da Silva, 2020).

### 3.6.3. Estudos de viscosidade com o DNA

As medidas de viscosidade foram realizadas utilizando-se um viscosímetro Ostwald imerso em banho-maria, mantido a 25°C. A concentração de DNA no tampão Tris·HCl foi mantida constante em todas as amostras, porém a concentração dos compostos foi incrementada

de 1 para 12  $\mu\text{M}$ . O tempo de fluxo foi medido em triplicata com um cronômetro digital e a média desses valores foi utilizada. Os dados foram apresentados como  $(\eta/\eta_0)^{1/3}$  versus a razão [complexo]/[DNA], onde  $\eta$  e  $\eta_0$  são a viscosidade específica do DNA na presença e na ausência do composto de interesse, respectivamente. Os valores de viscosidade específicos foram calculados utilizando-se  $(t - t_b)/t_b$ , onde  $t$  é o tempo de fluxo observado e  $t_b$  é o tempo de fluxo do tampão (Navarro *et al.*, 2009).

#### 3.6.4. Eletroforese de DNA em gel de agarose

Ensaio de mobilidade eletroforética foram realizados para investigar o efeito dos complexos metálicos híbridos de Cu(II) (**3-14**) na estrutura do DNA plasmidial. Resumidamente, após incubação de DNA plasmídico (100 ng) com os compostos testados durante 18 horas a 37°C, adicionou-se tampão de carga (0,01% azul de bromofenol, 50% glicerol) à mistura para extinguir a reação. As amostras foram carregadas em gel de agarose a 1% e submetidas à eletroforese em tampão TAE 1X a uma voltagem constante de 100 mV por 45 minutos. Posteriormente, os géis foram corados em solução de brometo de etídio (2,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) por 45 min e registrados sob luz ultravioleta (Villarreal, *et al.*; 2017).

### 3.7. ATIVIDADE ANTI-LEISHMANIA

#### 3.7.1. Parasita: *Leishmania amazonensis*

A cepa de *Leishmania amazonensis* WHON/BR/75/JOSEFA foi utilizada neste estudo. Os parasitos foram cultivados em meio Warren (Merck®) suplementado com 10% de soro bovino selvagem (Cultlab®) a 25°C. Para a obtenção de formas amastigotas intracelulares, macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c foram infectados com formas promastigotas metacíclicas infecciosas de culturas em fase estacionária.

#### 3.7.2. Efeitos antiproliferativos sobre promastigotas e amastigotas intracelulares de *L. Amazonensis*

O efeito antiproliferativo das formas promastigotas de *L. amazonensis* foi iniciado com inóculo inicial de  $1,0 \times 10^6$  células/mL em meio de cultura Warren (Merck®) suplementado com 10% de soro fetal bovino (Cultlab®). Após 24 h de cultivo, os compostos foram introduzidos e

a densidade celular foi monitorada a cada 24 h com contagem em câmara de Neubauer sob microscópio óptico por 96 h para obtenção dos valores de IC<sub>50</sub>. Para os ensaios amastigotas intracelulares, após 24 h de interação entre promastigotas metacíclicos e macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c (MOI 10:1), diferentes concentrações de compostos foram adicionadas ao meio de cultura, que foram trocadas diariamente durante 3 dias. Após 48 h e 72 h de tratamento, as culturas foram processadas e contadas para obtenção dos valores de IC<sub>50</sub>.

### **3.7.3. Análise de viabilidade celular e citotoxicidade**

Para avaliar a detecção celular de macrófagos RAW 264.7 tratados com diferentes concentrações dos compostos, foi utilizado o ensaio CellTiter 96® Aqueous MTS Assay (Promega, EUA). Os macrófagos foram cultivados em meio RPMI (Gibco®) com inóculo inicial de  $3,0 \times 10^5$  células/mL. Após 24 h de crescimento, os compostos foram introduzidos no meio de cultura e, após 48 h de tratamento, as predições celulares foram avaliadas utilizando um leitor de microplacas SpectraMax na faixa de 490 nm para quantificar a ocorrência do ensaio MTS/PMS (Molecular Devices, EUA). Para o controle negativo, as células foram incluídas por 10 min em formaldeído 0,4% em PBS. Cada condição foi testada em triplicata em três experimentos independentes.

### **3.7.4. Determinação de IC<sub>50</sub>, CC<sub>50</sub> e índices de seletividade (IS)**

A concentração de compostos para inibir 50 % do crescimento parasitário (IC<sub>50</sub>) e reduzir 50 % da viabilidade celular) de macrófagos murinos RAW 264.7 foi determinada por análise de regressão linear utilizando o software GraphPad, versão 8.0. Os índices de seletividade (IS) dos compostos foram determinados considerando a seguinte equação: CC<sub>50</sub> em macrófagos murinos RAW 264.7 dividido por IC<sub>50</sub> em formas amastigotas intracelulares de *L. amazonensis* após 48 e 72 h de tratamento.

### **3.7.5. Efeitos ultraestruturais e morfológicos em formas promastigotas de *L. amazonensis* através de Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) e Varredura (MEV)**

Após 48 e 72 h de tratamento, as células foram coletadas, lavadas em tampão PBS, fixadas em solução de glutaraldeído 2,5% (grau I) em tampão cacodilato de sódio 0.1 M pH 7.2 por 1 hora. Em seguida, as células foram pós-fixação em solução de tetróxido de ósmio 1% e ferrocianeto de potássio 1,25% por 40 minutos no abrigo da luz. Posteriormente, as células foram lavadas em tampão cacodilato de sódio 0,1 M e desidratadas em bateria crescente de etanol para a MEV, e acetona para MET. Para MEV, as células em seguida foram secas pela técnica do ponto crítico, montadas em suporte e metalizadas com ouro. Já para MET, após a desidratação a acetona foi substituída por resina epóxi e posteriormente emblocadas em fôrmas plásticas onde foram polimerizadas em estufa a 60°C por 72 h. Em seguida, as amostras foram ultraseccionadas com espessura de 60 nanômetros e coletados em grades de cobre. Por fim, as amostras foram contrastadas utilizando acetato de uranila 5% e solução de citrato de chumbo 1%. Para ambas as técnicas as amostras foram observadas em microscópio eletrônico TESCAN VEGA 3 LMU.

### 3.8. AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA

#### 3.8.1. Microorganismos

A atividade antifúngica dos complexos foi avaliada contra os isolados de referência *S. brasiliensis* ATCC MYA 4823, *S. schenckii* ATCC 32286 e *S. globosa* CBS 130104. Os isolados foram inicialmente cultivados na forma micelial em ágar Sabouraud (Kasvi, Brasil) a 25°C por 7 dias. Posteriormente, as amostras foram inoculadas em ágar infusão cérebro-coração (BD Difco™, EUA) e cultivadas a 35°C em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> por 7 dias, para conversão para a fase de levedura. A fase de levedura parasita foi utilizada em todos os experimentos.

#### 3.8.2. Preparo das soluções estoque

Os complexos metálicos e ITZ (Sigma Chemical Co., EUA) foram dissolvidos em DMSO para obtenção de soluções-estoque de 10 e 1 mM e mantidos a -20°C. Imediatamente antes dos testes, as soluções foram diluídas para obter soluções de 16 µM em meio RPMI 1640 suplementado (RPMI 1640 suplementado com 2% de glicose e tamponado a pH 7,2, com ácido propano sulfônico 0,165 M 3-(N-morfolina) (Sigma Chemical Co., EUA).

### 3.8.3. Ensaio de suscetibilidade

As atividades antifúngicas dos complexos metálicos, **ITZ** e os sais foram avaliadas de acordo com as concentrações inibitórias mínimas (MIC) e concentrações fungicidas mínimas (MFC). Os valores de MIC foram determinados pela técnica de microdiluição em caldo, adaptada para células de *Sporothrix* (EUCAST-AFST, 2020). Os ensaios de atividade foram realizados em placas de microtitulação de 96 poços contendo 200 µL/poço de meio com fármacos variando de 0,008 a 4 µM, e  $1 \times 10^5$  UFC/mL de leveduras. As amostras foram incubadas a 35°C por 48h em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>. O crescimento fúngico foi analisado por inspeção visual utilizando microscópio de luz invertida (Axiovert 100, ZEISS) e quantificado por leituras espectrofotométricas a 492 nm (leitor de placas Emax Plus, Molecular Devices). A MIC foi definida como a concentração que inibiu pelo menos 50% do crescimento fúngico, obtida pela seguinte equação:  $I = 100 - (A \times 100/C)$ , onde A foi a absorbância dos poços tratados e C foi a absorbância dos poços não tratados. Os valores de MIC foram determinados pela coleta de alíquotas de 50 µL das amostras de MIC ao final da leitura visual e plaqueamento em ágar BHI sem drogas. As amostras foram incubadas a 35°C por 7 dias. A menor concentração de compostos que não produziram crescimento fúngico foi definida como MFC. Os resultados são representativos de dois experimentos independentes realizados em duplicata.

### 3.8.4. Microscopia eletrônica de varredura

As alterações morfológicas de *S. brasiliensis* após exposição aos complexos  $[\text{Cu}(\text{ITZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**Cc**) e  $[\text{Cu}(\text{ITZ})_2(\text{PPh}_3)_2](\text{NO}_3)$  (**17**) foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Leveduras ( $1 \times 10^5$  UFC/ml) de *S. brasiliensis* ATCC MYA 4823 foram expostas à MIC, por 48 h. As células não tratadas e tratadas foram lavadas em PBS e fixadas em glutaraldeído 2,5% e formaldeído 4% em tampão cacodilato 0,1M, por 1 h. Em seguida, as células foram lavadas em tampão cacodilato, aderidas a lamínulas de vidro revestidas com poli-L-lisina e pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1% em tampão cacodilato 0,1 M contendo ferrocianeto de potássio a 1,25% e CaCl<sub>2</sub> 5 mM por 30 min. As amostras foram desidratadas em série de etanol graduado, secas com ponto crítico em CO<sub>2</sub>, e revestido com ouro. As imagens foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura FEI Quanta 250 (FEI, Holanda). As imagens foram processadas no software Photoshop (Adobe, EUA).

### 3.8.5. Ensaio de fluorimetria

Alterações nos teores de lipídios neutros, DNA e quitina foram avaliadas após exposição de leveduras de *S. brasiliensis* ( $1 \times 10^5$  UFC/mL) às concentrações de MIC dos complexos  $[\text{Cu}(\text{ITZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**Cc**) e  $[\text{Cu}(\text{ITZ})_2(\text{PPh}_3)_2](\text{NO}_3)$  (**17**), por 48 h. As amostras não tratadas e tratadas foram lavadas em solução salina estéril, contadas, e  $1 \times 10^7$  células foram incubadas por 30 min à temperatura ambiente no escuro com os seguintes fluorocromos: 20  $\mu\text{M}$  SYTOX™ Blue (Thermo Fisher Scientific), 20  $\mu\text{M}$  Nile red (Sigma-Aldrich) ou 25  $\mu\text{g/mL}$  calcofluor white (Sigma-Aldrich®®). As amostras foram lavadas em solução salina, fixadas em formaldeído a 2%, padronizadas novamente, e 100  $\mu\text{L}$ /poço foram adicionados a uma microplaca de fundo claro de 96 poços. As suspensões de leveduras foram novamente padronizadas, e 100  $\mu\text{L}$  /poço foi adicionado a uma microplaca de fundo claro de 96 poços do lado escuro. A intensidade da fluorescência foi medida utilizando-se um leitor de microplacas Spectra-MAX 340 (Molecular Devices), de acordo com os seguintes parâmetros: 480 nm (excitação a 444 nm) para SYTOX™ Blue; 636 nm (excitação a 552 nm) para o vermelho do Nilo; e 432 nm (excitação a 350 nm) para calcofluor branco. Os resultados são representativos de três experimentos independentes realizados em triplicata.

### 3.8.6. Ensaio de citotoxicidade

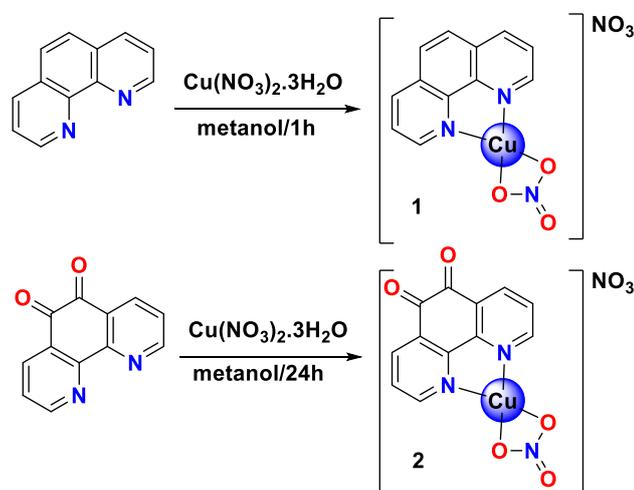
Monocamadas de BalbC/3T3 clone A31 (fibroblasto de camundongos) e HepG2 foram cultivadas em meio de Eagle modificado por Dulbecco com 4 mM de L-glutamina ajustado para conter 1,5 g/L de bicarbonato de sódio e 4,5 g/L de glicose e suplementado com 5 mM de HEPES e soro de bezerro até uma concentração final de 10%. As células foram cultivadas a uma densidade de  $10^4$  células/mL e expostas a várias concentrações do complexo **17** (variando de 0,0005 a 50  $\mu\text{M}$ ) por 48 h a 37 °C e 5% de  $\text{CO}_2$ . As concentrações que provocaram 50% de citotoxicidade ( $\text{CC}_{50}$ ) foram estimadas de acordo com o ensaio WST-1. O índice de seletividade (IS) foi calculado de acordo com a fórmula:  $\text{IS} = \text{CC}_{50}/\text{mediana da MIC}$

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS HÍBRIDOS DE Cu(II)

Para a síntese dos complexos metálicos híbridos de Cu(II) foram sintetizados os complexos precursores de Cu(II), [Cu(phen)(NO<sub>3</sub>)]NO<sub>3</sub> (**1**) e [Cu(diona)(NO<sub>3</sub>)]NO<sub>3</sub> (**2**), derivados dos ligantes **phen** e **diona** conforme metodologia reportada (Zheng; Sun; Lin; 2003) (**Esquema 1**).

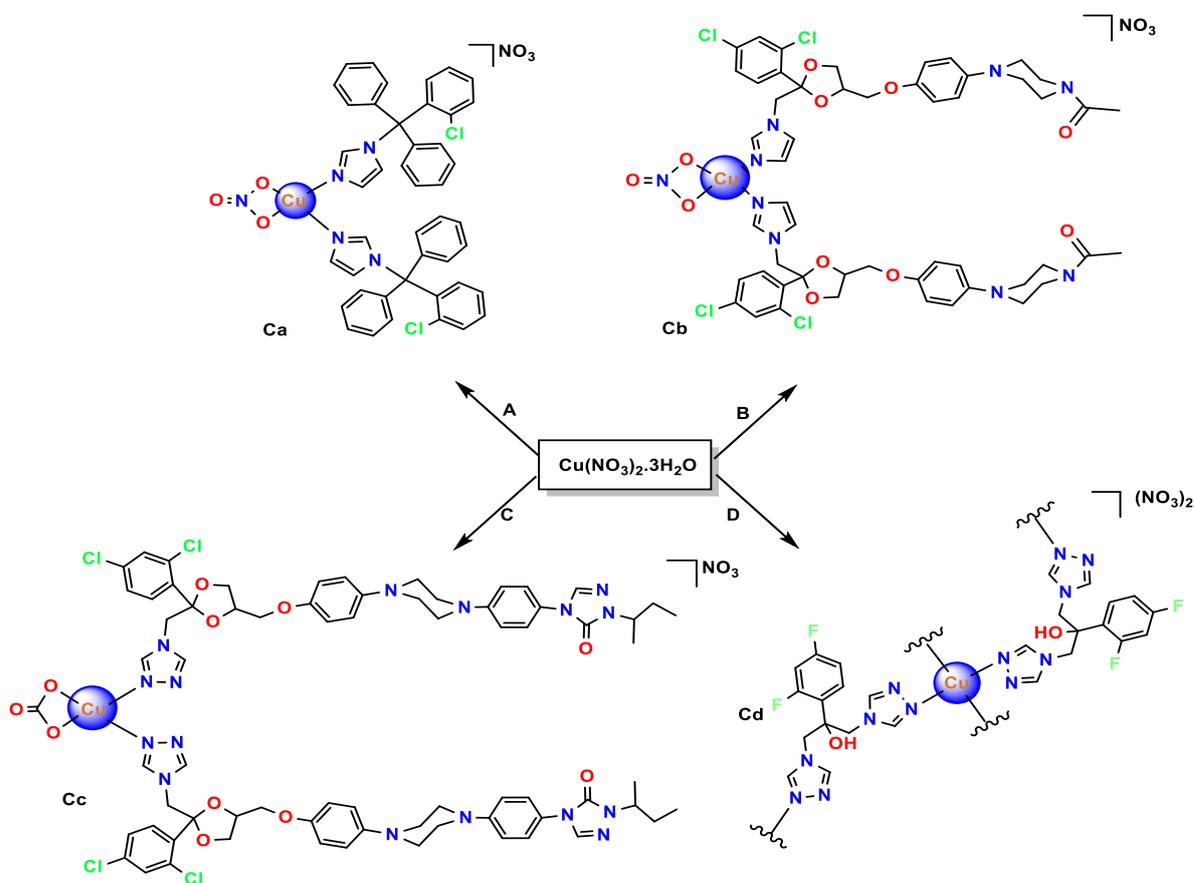
**Esquema 1** - Sínteses dos complexos precursores **1** e **2** derivados dos ligantes **phen** e **diona**.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Também foram sintetizados quatro complexos precursores de Cu(II) [Cu(CTZ)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)]NO<sub>3</sub> (**Ca**), [Cu(KTZ)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)]NO<sub>3</sub> (**Cb**), [Cu(ITZ)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)]NO<sub>3</sub> (**Cc**) e {[Cu(FLZ)(NO<sub>3</sub>)]NO<sub>3</sub>]<sub>m</sub> (**Cd**) derivados dos ligantes **CTZ**, **KTZ**, **ITZ** e **FLZ** que foram sintetizados através da reação entre o Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O e o ligante azólico em metanol conforme descrito em dissertação de mestrado (de Azevedo França, 2019) (**Esquema 2**).

**Esquema 2** - Sínteses dos complexos precursores derivados dos ligantes azólicos (A): 2CTZ/MeOH/24h, (B): 2KTZ/MeOH/24h, (C): 2ITZ/MeOH/24h e (D): FLZ/MeOH/30min.



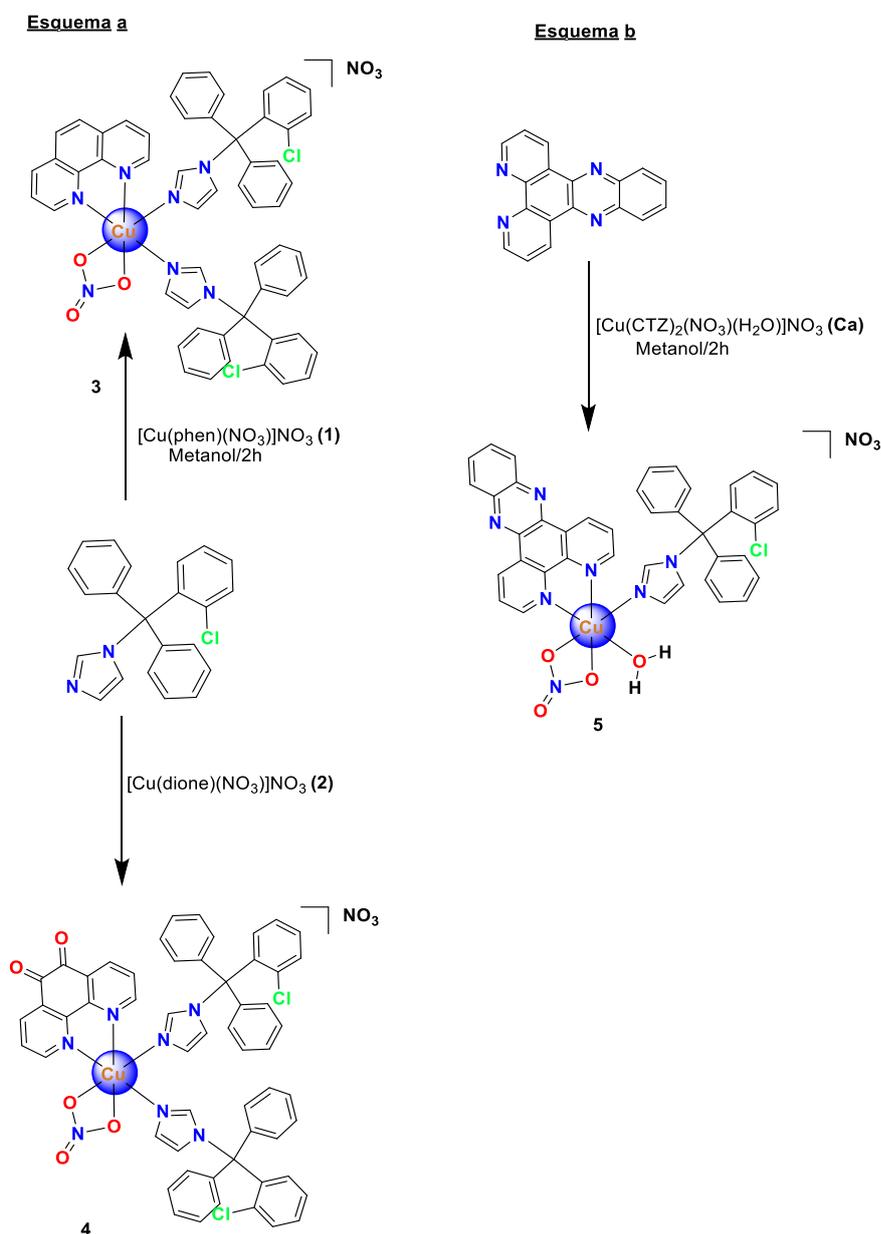
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Após a síntese dos complexos de Cu(II) precursores, seguiu-se a síntese de um total de 12 complexos metálicos híbridos de Cu(II) contendo os ligantes planos **phen**, **diona**, **dppz**, além dos ligantes imidazólicos **CTZ**, **KTZ** e os ligantes triazólicos **ITZ** e **FLZ**. As séries foram categorizadas com base nos ligantes azólicos para facilitar a discussão de suas caracterizações.

#### 4.1.1. Síntese e caracterização dos complexos híbridos de derivados do clotrimazol (CTZ)

Foram sintetizados três complexos metálicos híbridos de Cu(II), nomeadamente  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{CTZ})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**3**) e  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{CTZ})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3) \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (**4**) (**Esquema 3a**), obtidos pela reação entre o ligante **CTZ** e os complexos precursores de Cu(II) **1** e **2**, e  $[\text{Cu}(\text{dppz})(\text{CTZ})(\text{NO}_3)]\text{NO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**5**) (**Esquema 3b**), obtido pela reação entre o ligante **dppz** e o complexo metálico (**Ca**) os quais foram detalhadamente caracterizados por meio de técnicas espectroscópicas e analíticas adequadas.

**Esquema 3** - Sínteses de novos complexos metálicos híbridos  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{CTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**3**) e  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{CTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**4**): (a) a partir da reação entre o ligante **CTZ** e os complexos metálicos precursores (**1**) e (**2**) respectivamente; e do  $[\text{Cu}(\text{dppz})(\text{CTZ})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**5**): (b) a partir da reação do ligante **dppz** com o complexo metálico **Ca**.



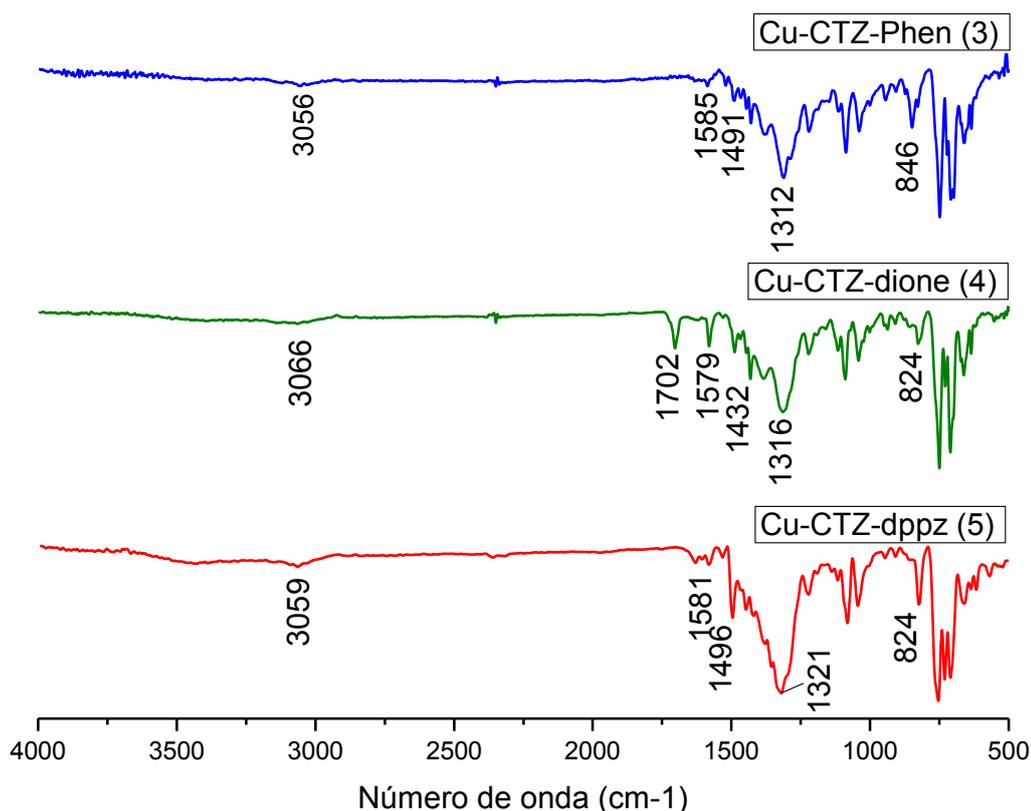
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Na síntese dos compostos **3** e **4**, os complexos metálicos precursores **1** e **2** foram inicialmente solubilizados em metanol, resultando em soluções de coloração azul e verde, respectivamente. A adição de **CTZ** provocou uma alteração imediata na coloração, indicando a formação de um novo composto. Em contrapartida, o complexo **5** foi sintetizado a partir de

uma solução metanólica azul contendo o complexo **Ca**, ao qual se adicionou uma solução metanólica contendo **dppz** dissolvido. A mistura reacional assumiu uma coloração marrom escuro, sugerindo a formação de um novo composto. Os compostos **3**, **4** e **5** foram precipitados mediante a adição de éter dietílico após a evaporação de um quarto do volume do solvente. Posteriormente, esses precipitados foram filtrados e lavados com éter dietílico para remoção do excesso de metanol e água. Finalmente, foram submetidos à secagem a vácuo e, em seguida, passaram pelo processo de caracterização.

Para se obter informações a respeito dos grupos funcionais característicos do composto, foram obtidos os espectros vibracionais na região do infravermelho dos híbridos de Cu(II) **3**, **4** e **5** apresentados na **Figura 20**.

**Figura 20** - Espectros vibracionais na região do infravermelho dos complexos metálicos híbridos **3**, **4** e **5**.



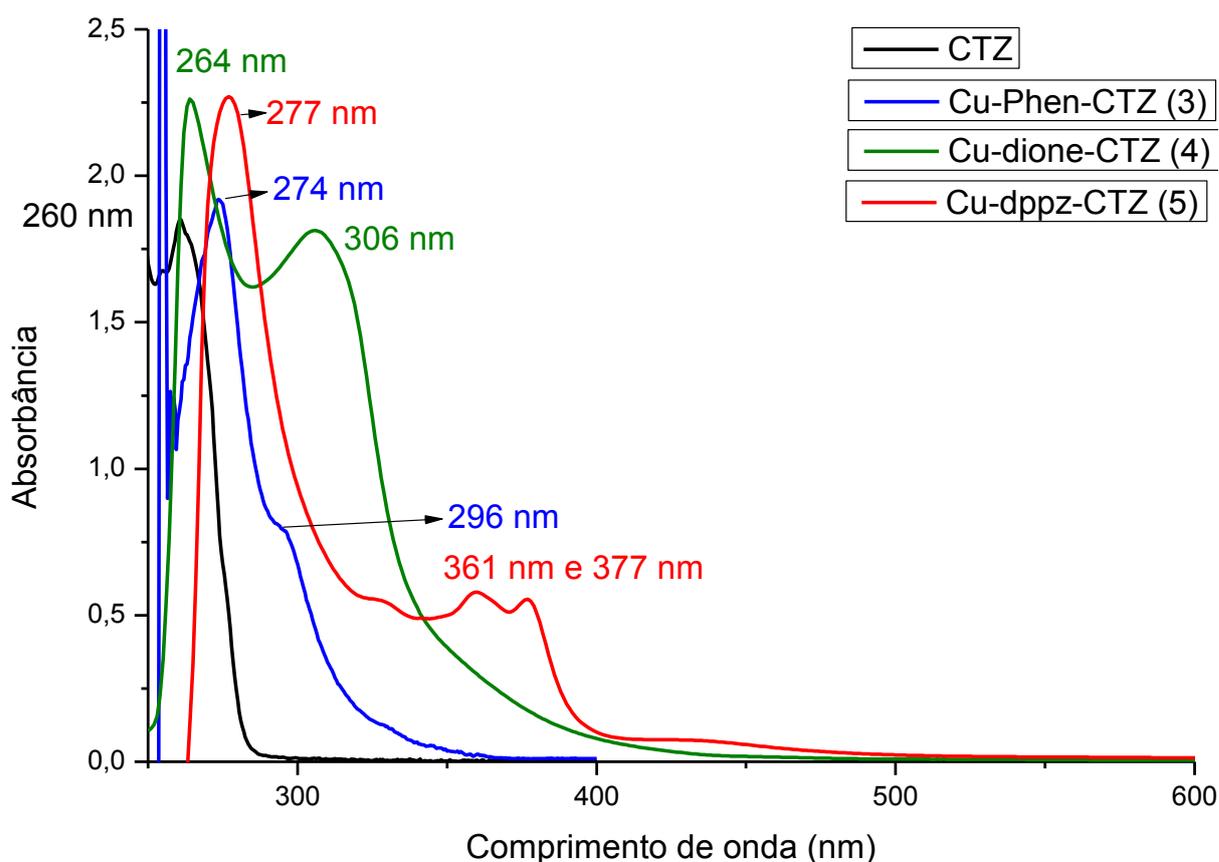
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

As bandas atribuídas aos estiramentos ( $\nu_{C-H}$ ) foram observadas na faixa entre 3056 e 3066  $\text{cm}^{-1}$ . Os estiramentos ( $\nu_{C=N}$ ), atribuídos às bandas na faixa de 1579-1585  $\text{cm}^{-1}$ , não apresentaram deslocamentos significativos em comparação com o espectro do ligante **CTZ**

(Apêndice A – Figura 59), comportamento observado em complexos semelhantes já sintetizados (de Azevedo-França, 2021). Além disso, na faixa entre 1432-1496  $\text{cm}^{-1}$ , foram identificadas bandas características de estiramento ( $\nu\text{C}=\text{C}$ ). Também é notável o surgimento de uma banda centrada em 1702  $\text{cm}^{-1}$  no espectro do composto **4**, ausente nos espectros dos compostos **3** e **5** que foi atribuída a banda de estiramento ( $\nu\text{C}=\text{O}$ ) característico do ligante **diona**, evidenciando a presença desse ligante na estrutura do complexo de Cu(II). Os espectros também exibem bandas intensas na faixa de 1312-1321  $\text{cm}^{-1}$ , relacionadas aos grupos nitratos como contra-íons, enquanto entre 824-846  $\text{cm}^{-1}$  (Nakamoto, 2009), bandas de menor intensidade sugerem a presença de nitratos coordenados ao íon Cu(II).

Os espectros eletrônicos na região do UV-Vis dos híbridos **3**, **4** e **5** foram obtidos em DMSO. Na Figura 21 encontram-se as sobreposições das curvas obtidas em DMSO.

**Figura 21** - Espectros eletrônicos na região do UV-Vis dos complexos metálicos híbridos **3**, **4** e **5** em DMSO.



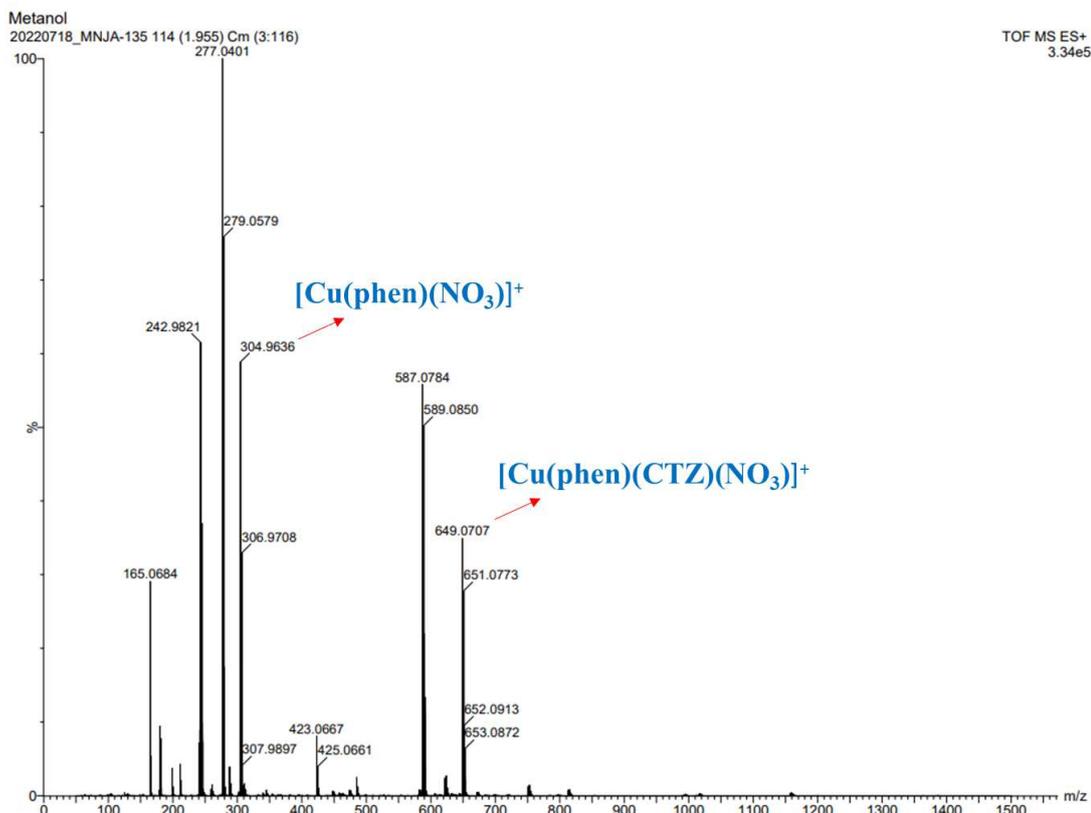
Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

O espectro eletrônico do **CTZ** exibe uma banda bastante intensa na região do vermelho (260 nm), atribuída às transições  $\pi\text{-}\pi^*$ , frequentemente associadas a moléculas orgânicas que

contêm cromóforos específicos, como anéis aromáticos ou duplas ligações conjugadas. O deslocamento batocrômico observado para o complexo metálico híbridos **3**, de 14 nm, confirma que, de fato, o ligante **CTZ** se coordenou ao íon de Cu(II), diminuindo a energia das transições eletrônicas  $\pi-\pi^*$ , causando um deslocamento para a região do vermelho. Também foi observado o aparecimento de um ombro em 294 nm que pode estar associado às transferências de carga do ligante para o metal LMCT (do inglês, *Ligand-to-Metal Charge Transfer*), uma vez que o íon de Cu(II) está deficiente em elétrons, podendo receber os elétrons do ligante. No espectro do complexo metálico híbridos **4** e **5**, os deslocamentos batocrômicos da banda atribuída às transições  $\pi-\pi^*$  observados foram de 4 nm e 17 nm, respectivamente. Além disso, observou-se o aparecimento de outra banda em 306 nm no espectro do composto **4**, que foi atribuída às transições  $\pi-\pi^*$  dos grupos carbonílicos presentes no ligante **diona**. Por fim, o composto **5** exibe duas bandas centradas em 361 nm e 377 nm, também atribuídas às transições  $\pi-\pi^*$  características do ligante **dppz**, o que evidencia que o **dppz** encontra-se coordenado ao Cu(II). Além disso, observa-se a presença de uma banda de baixa intensidade centrada em 673 nm, que foi atribuída às transições eletrônicas do tipo *d-d* (**Apêndice B – Figuras 65-67**) (Prisecaru, 2015), corroborando que os complexos de Cu(II) apresentam coloração.

Foram adquiridos os espectros de massa dos complexos metálicos híbridos de Cu(II)-PL **3**, **4** e **5**. A título exemplificativo, na **Figura 22**, apresenta-se o espectro de massa de alta resolução do composto **3**. Embora não tenha sido identificado o pico relativo ao íon molecular, destaca-se um pico significativo correspondente a um fragmento importante do complexo metálico, centrado em 649,0707 (649,09) m/z. Esse fragmento,  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{CTZ})(\text{NO}_3)]^+$ , evidencia a presença do **phen** e do **CTZ**, confirmando também a coordenação do nitrato ao Cu(II). Esses resultados corroboram a formação do composto **3**. Os espectros de massas de alta resolução obtidos para os complexos metálicos híbridos de Cu(II) **4** e **5** estão disponíveis no **Apêndice D – Figura 82**. Nesses espectros, não se identificam os picos relacionados aos íons moleculares, entretanto, observam-se fragmentos que indicam a presença do **CTZ**, bem como dos ligantes **diona** e **dppz** na estrutura dos complexos de Cu(II). Essas observações sugerem a formação desses complexos metálicos híbridos.

**Figura 22** - Espectro de massas de alta resolução do complexo metálico híbrido **3**.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Adicionalmente às análises discutidas nesta seção, os resultados experimentais referentes aos teores de carbono, nitrogênio e hidrogênio (**Tabela 1**) para os três novos complexos metálicos híbridos de Cu(II) estão em conformidade com os valores calculados para as fórmulas moleculares propostas para esses compostos. Além disso, os valores de condutividade molar obtidos sugerem que, de fato, os complexos metálicos híbridos são catiônicos em uma proporção eletrolítica 1:1. De fato, nos espectros de massas, é possível inferir que um dos grupos nitratos encontram-se dentro da esfera de coordenação, sugerindo que o segundo nitrato atua como contraíon. Além disso, esta congruência sugere que os três complexos de Cu(II) são hexacoordenados, podendo adotar geometria octaédrica distorcida devido ao efeito Jahn-Teller, fenômeno comumente observado em complexos de Cu(II), que exibe uma configuração eletrônica  $d^9$ .

**Tabela 1** - Dados analíticos dos complexos metálicos híbridos **3**, **4** e **5**.

Composto	Análise Elementar			Geary	Faixa (1:1)
	%C (%C*)	%N (%N*)	%H (%H*)	$\Lambda$ (DMSO)**	
C <sub>56</sub> H <sub>50</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>8</sub> O <sub>10</sub> Cu ( <b>3</b> )	59,51 (59,41)	9,92 (9,76)	3,89 (3,64)	69,50	50-70
C <sub>56</sub> H <sub>62</sub> N <sub>8</sub> O <sub>14</sub> Cl <sub>2</sub> Cu ( <b>4</b> )	57,19 (57,25)	9,53 (9,80)	4,25 (4,02)	69,53	
C <sub>56</sub> H <sub>56</sub> N <sub>8</sub> O <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> Cu ( <b>5</b> )	55,34 (54,72)	12,91 (13,86)	3,11 (3,28)	59,32	

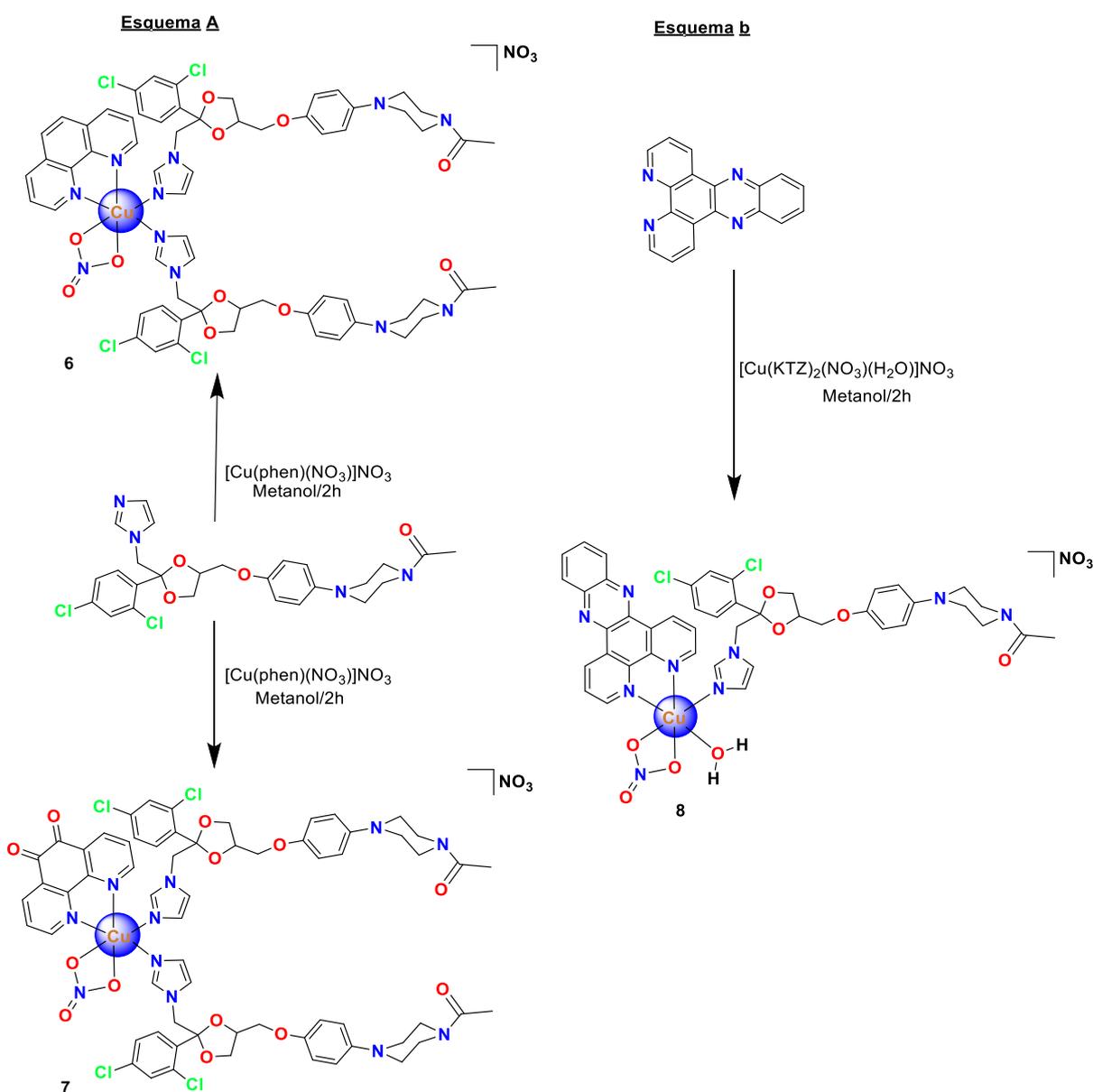
\*experimental (calculado); \*\*ohm<sup>-1</sup> cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>.

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

#### 4.1.2. Síntese e caracterização dos complexos híbridos de derivados do Cetoconazol (KTZ)

De maneira análoga aos complexos metálicos híbridos obtidos na seção 4.1.1, os complexos metálicos híbridos de Cu(II) [Cu(phen)(KTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)]NO<sub>3</sub>·3H<sub>2</sub>O (**6**) e Cu(diona)(KTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·5H<sub>2</sub>O (**7**) (**Esquema 4a**) foram sintetizados pela reação entre o ligante **KTZ** e os complexos precursores **1** e **2**. Em contrapartida, o complexo [Cu(dppz)(KTZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·3H<sub>2</sub>O (**8**) (**Esquema 4b**) foi obtido pela reação entre o ligante **dppz** e o complexo **Cb**. Todas as sínteses foram realizadas em metanol sob atmosfera ambiente.

**Esquema 4** - Sínteses de novos complexos  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{KTZ})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)]\text{NO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**6**) e  $\text{Cu}(\text{diona})(\text{KTZ})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3) \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (**7**): (a) a partir da reação entre o ligante **KTZ** e complexos metálicos precursores (**1**) e (**2**) respectivamente; e do  $[\text{Cu}(\text{dppz})(\text{KTZ})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**8**): (b) a partir da reação entre o ligante **dppz** e o complexo metálico **Cb**.



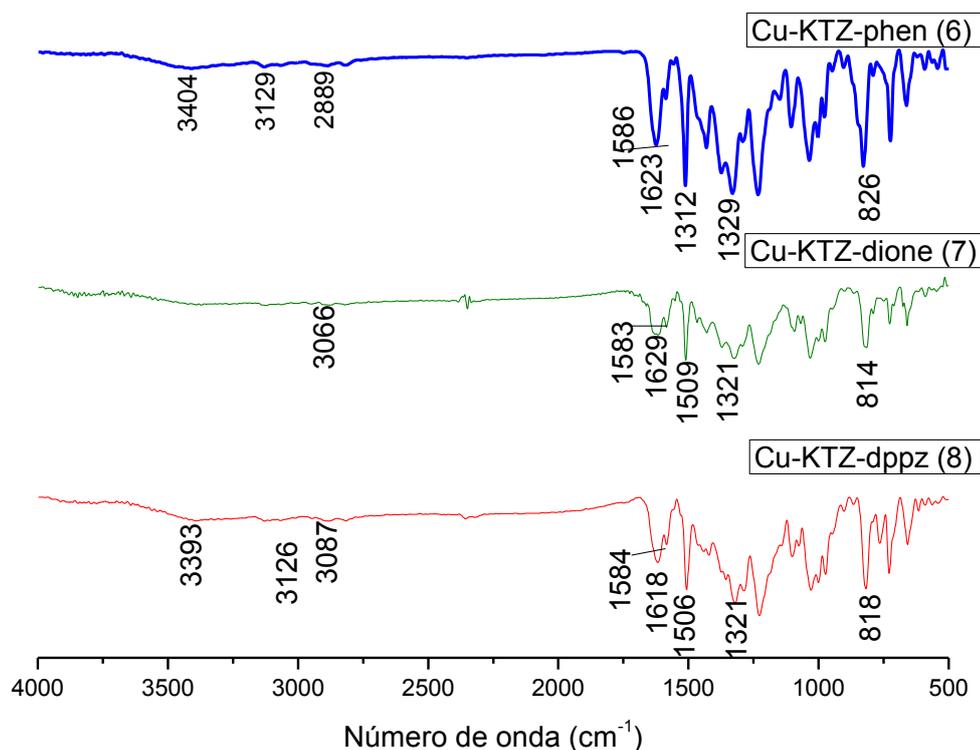
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Durante as sínteses dos compostos **6** e **7**, os precursores **1** e **2** foram primeiramente dissolvidos em metanol, resultando em soluções de tonalidades verde e verde musgo, respectivamente. A introdução de **KTZ** nessas soluções ocasionou uma rápida mudança de coloração, indicando a formação dos híbridos de  $\text{Cu}(\text{II})$ . Por outro lado, o composto **8** foi obtido

a partir da adição de uma solução metanólica azul, contendo o complexo **Cb**, à uma solução metanólica na qual o **dppz** foi previamente dissolvido. A reação resultante apresentou uma coloração preta, sugerindo a formação de um novo produto. Os compostos **6**, **7** e **8** foram precipitados pela adição de éter dietílico após redução de um quarto do volume do solvente por evaporação. Em seguida, os precipitados foram filtrados e lavados com éter dietílico para eliminar resíduos de metanol e água. Por fim, passaram por secagem a vácuo antes de serem submetidos à caracterização.

Na **Figura 23**, encontram-se os espectros vibracionais na região do infravermelho dos complexos de Cu(II) **6**, **7** e **8**.

**Figura 23** - Espectros vibracionais na região do infravermelho dos complexos metálicos híbridos **6**, **7** e **8**.



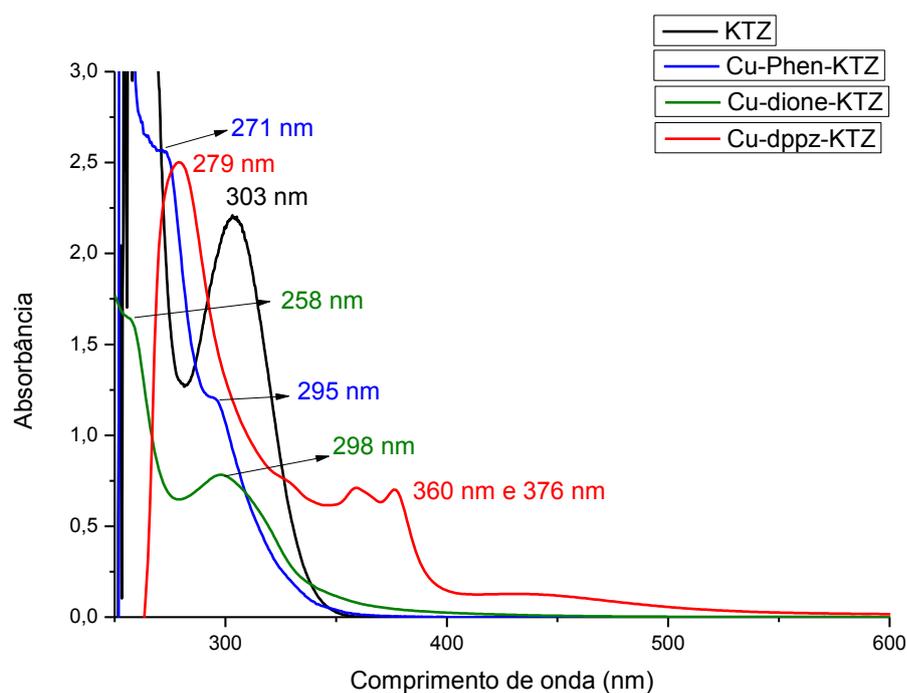
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

As bandas atribuídas aos estiramentos ( $\nu_{C-H}$ ) em torno de 3129-2887  $\text{cm}^{-1}$  são notáveis, juntamente com bandas intensas centradas em 1618-1629  $\text{cm}^{-1}$ , caracterizando o estiramento ( $\nu_{C=O}$ ) de grupos carbonílicos, os quais no complexo **7** podem se sobrepor devido à presença tanto do ligante **KTZ** quanto do ligante **diona**. A análise também evidencia a presença do **KTZ** nos complexos metálicos híbridos **6**, **7** e **8**. Observam-se pequenas bandas parcialmente sobrepostas às bandas dos estiramentos ( $\nu_{C=O}$ ) entre 1583-1586  $\text{cm}^{-1}$  em todos os compostos,

com deslocamentos leves associados à coordenação de ambos os ligantes ao íon de Cu(II). A confirmação da presença dos anéis aromáticos é feita pelas bandas localizadas entre 1506-1512  $\text{cm}^{-1}$ , indicativas dos estiramentos ( $\nu\text{C}=\text{C}$ ). Além disso, bandas intensas centradas entre 1321-1329  $\text{cm}^{-1}$  estão relacionadas à presença do íon nitrato não coordenado, enquanto na faixa entre 814-826  $\text{cm}^{-1}$ , evidencia-se a presença de nitratos coordenados ao íon de Cu(II).

Os espectros eletrônicos dos complexos **6**, **7** e **8**, obtidos em DMSO (**Figura 24**), revelam bandas características do ligante **KTZ** em todos os compostos. No espectro do complexo metálico híbrido **6**, destaca-se uma banda centrada em 271 nm, associada às transições  $\pi-\pi^*$  relacionadas aos elétrons  $\pi$  do ligante **phen**, além de uma banda em 295 nm que se sobrepõe à banda em 271 nm e apresenta um deslocamento de 8 nm em relação à banda do **KTZ**. O composto **7** exibe uma banda em 258 nm deslocada e outra em 298 nm, atribuídas às mesmas transições eletrônicas observadas para o composto **6**. Entretanto, a banda centrada em 298 nm está deslocada em 5 nm, evidenciando a coordenação. Em contraste, no espectro do composto **8**, são observadas 3 bandas: uma centrada em 279 nm e duas em 360 e 376 nm, atribuídas ao ligante **dppz**. Isso confirma a presença desse ligante na estrutura do novo complexo metálico híbrido. No **APÊNDICE B** também são observadas as bandas referentes as transições do tipo  $d-d$  (Prisecaru, 2015).

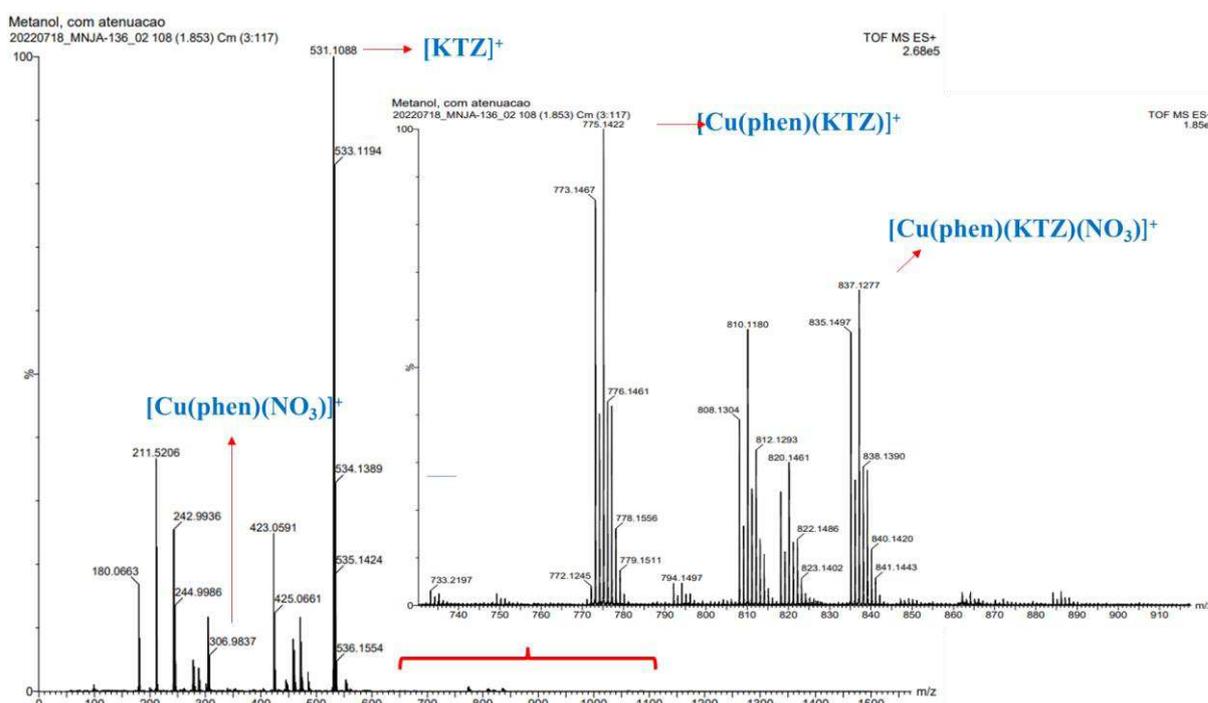
**Figura 24** - Espectros eletrônicos na região do UV-Vis dos complexos metálicos híbridos **6**, **7** e **8** em DMSO.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Foram também obtidos os espectros de massas dos complexos metálicos híbridos **6**, **7** e **8**. A título de exemplificação, observa-se na **Figura 25** o espectro de massas de alta resolução do complexo **6**, no qual é possível observar um pico importante inerente ao fragmento  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{KTZ})(\text{NO}_3)]^+ = 835,1497$  ( $835,13$ )  $m/z$  que sugere a presença dos ligantes **phen** e **KTZ** na esfera de coordenação. Além disso, é possível observar a presença do ligante nitrato, que corrobora que um grupo nitrato está dentro da esfera de coordenação como foi analisado no espectro de IV. A notável presença do ligante **phen** também pode ser confirmada ao observar o pico correspondente ao  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{NO}_3)]^+$  centrado em  $304,9636$  ( $304,99$ )  $m/z$  e o íon molecular do ligante **KTZ** em  $531,1066$  ( $531,15$ )  $m/z$ , o que sugere a formação do composto de interesse. Por conseguinte, no espectro do compostos **8** (**Apêndice D – Figura 83**) também não foram observados os íons moleculares, mas os fragmentos que indicam fortemente a sua formação.

**Figura 25** - Espectro de massas de alta resolução do complexo metálico híbrido **6**.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Além das análises abordadas nesta seção, os resultados experimentais relativos aos teores de carbono, nitrogênio e hidrogênio (**Tabela 2**) para os três novos complexos metálicos híbridos de Cu(II) estão em concordância com os valores previamente calculados para as fórmulas moleculares propostas desses compostos. A consistência observada sugere que os três complexos de Cu(II) possuem uma estrutura hexacoordenada, e geometria octaédrica distorcida

devido à influência do efeito Jahn-Teller. Os valores de condutividade molar também indicam que esses complexos são catiônicos e encontram-se dentro da faixa no qual são considerados eletrólitos do tipo 1:1, fato que corrobora aos espectros de massas que indicam que um dos grupos nitratos encontra-se coordenado ao íon de Cu(II), sugerindo que o outro nitrato atua como contra-íon.

**Tabela 2** - Dados analíticos dos complexos metálicos híbridos **6**, **7** e **8**.

Composto	Análise Elementar			$\Lambda$ (DMSO)**	Geary Faixa (1:1)
	%C (%C*)	%N (%N*)	%H (%H*)		
C <sub>68</sub> H <sub>82</sub> Cl <sub>4</sub> N <sub>12</sub> O <sub>19</sub> Cu ( <b>6</b> )	51,80 (52,17)	10,66 (10,12)	4,44 (4,15)	68,2	50-70
C <sub>64</sub> H <sub>82</sub> N <sub>12</sub> O <sub>26</sub> Cu ( <b>7</b> )	49,58 (49,58)	10,84 (11,23)	4,64 (4,02)	68,18	
C <sub>64</sub> H <sub>78</sub> N <sub>12</sub> O <sub>24</sub> Cu ( <b>8</b> )	50,96 (50,45)	13,50 (14,06)	4,05 (3,32)	58,32	

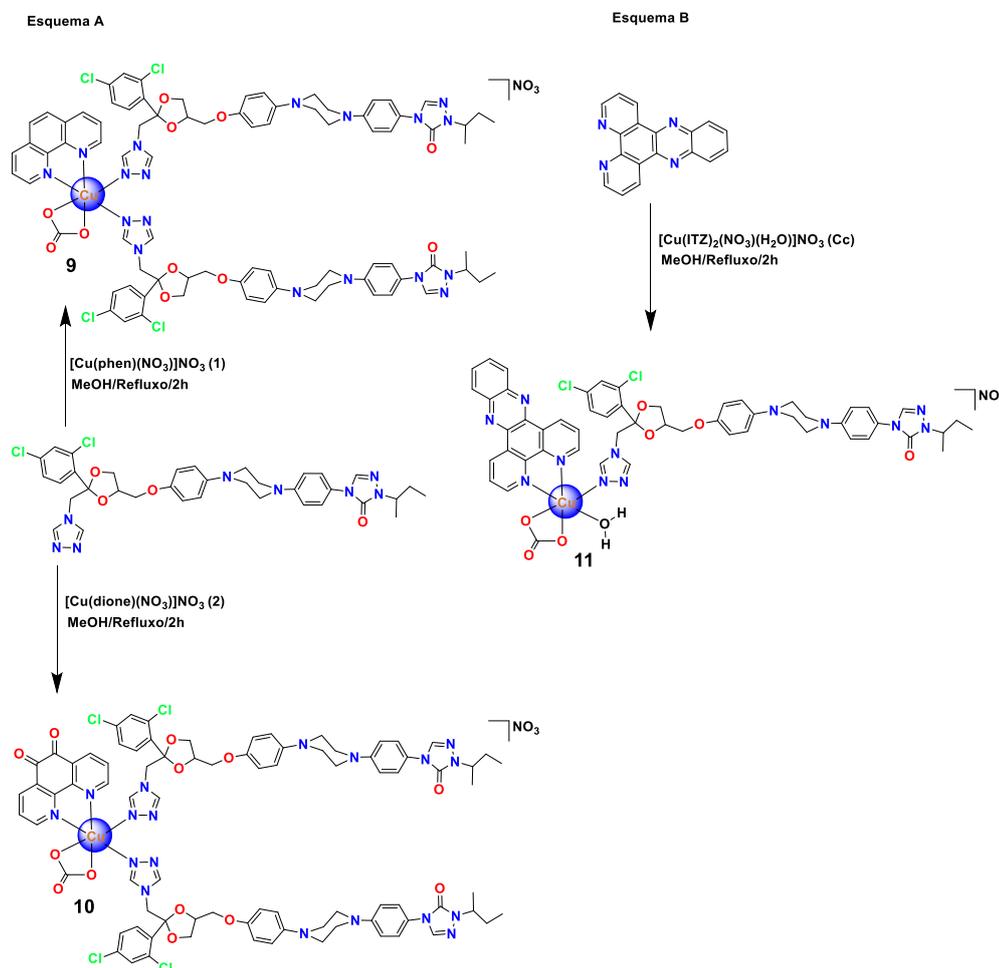
\*experimental (calculado); \*\*ohm<sup>-1</sup> cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>.

Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

#### 4.1.3. Síntese e caracterização dos complexos híbridos de derivados do Itraconazol (ITZ)

Três novos híbridos de Cu(II) foram sintetizados contendo o **ITZ** em suas estruturas, o [Cu(phen)(ITZ)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>).4H<sub>2</sub>O (**9**), Cu(diona)(ITZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>).5H<sub>2</sub>O (**10**) (**Esquema 5a**) através da reação entre o **ITZ** e os complexos metálicos precursores **1** e **2** respectivamente, e o [Cu(dppz)(ITZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>).2H<sub>2</sub>O (**11**) (**Esquema 5b**) obtido pela reação entre o ligante **dppz** e o complexo **Cc**. Nesse caso, todas as sínteses foram realizadas em refluxo por 2h sob atmosfera ambiente.

**Esquema 5** - Sínteses de novos complexos de  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{ITZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**9**) e  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{ITZ})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**10**): (a) a partir da reação entre o ligante **ITZ** e os complexos metálicos (**1**) e (**2**) respectivamente; e do  $[\text{Cu}(\text{dppz})(\text{ITZ})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**11**): (b) a partir da reação entre o ligante **dppz** e o complexo **Cc**.



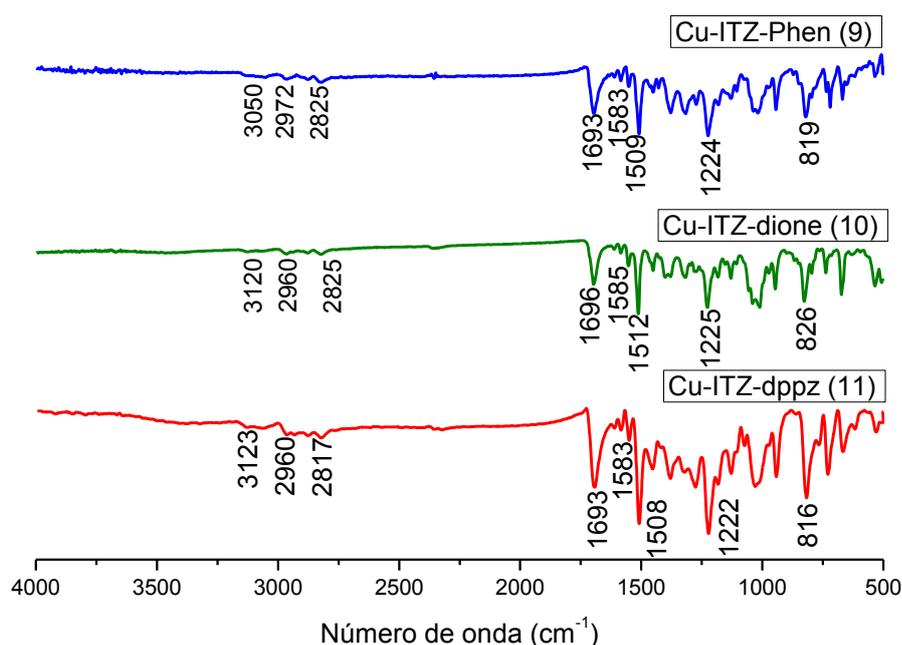
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

As sínteses foram conduzidas com a dissolução total dos precursores **1** e **2** em metanol, seguida pela adição do **ITZ** às soluções resultantes, que exibiam coloração verde e verde musgo, respectivamente. A reação ocorreu sob refluxo, resultando em mudanças de coloração para azul claro e marrom nos complexos metálicos híbridos **9** e **10**, respectivamente, indicando a formação dos híbridos de Cu(II). Por outro lado, o composto **11** foi sintetizado pela adição de uma solução metanólica do **dppz** à uma solução metanólica verde escuro, contendo o complexo **Cc**. A reação resultante apresentou uma coloração marrom escuro, sugerindo a formação de um novo produto. Os compostos **9**, **10** e **11** foram precipitados pela adição de éter dietílico após a evaporação de um quarto do volume total do solvente. Em seguida, os precipitados foram

filtrados e lavados com éter dietílico para a remoção de resíduos de metanol e água. Finalmente, os produtos foram submetidos à secagem a vácuo antes da caracterização.

Na **Figura 26** se encontram os espectros vibracionais na região do infravermelho dos híbridos de Cu(II) **9**, **10** e **11** nos quais podem ser observados os estiramentos ( $\nu$ C-H) em torno de 3050-2972  $\text{cm}^{-1}$ . Bandas intensas centradas em 1693-1696  $\text{cm}^{-1}$  em todos os espectros foram atribuídas ao estiramento ( $\nu$ C=O) característico dos grupos carbonílicos presentes no ligante **ITZ**, evidenciando a presença desse ligante na estrutura dos complexos metálicos, e no caso do complexo **7** também sugere a presença do ligante **diona** na esfera de coordenação. Pequenas bandas parcialmente sobrepostas às bandas dos estiramentos ( $\nu$ C=O) são observadas entre 1583-1585  $\text{cm}^{-1}$  associadas aos estiramentos ( $\nu$ C=N) porém não se observam deslocamentos significativos em relação aos ligantes. A presença dos anéis aromáticos também é confirmada pelas bandas localizadas entre 1508-1512  $\text{cm}^{-1}$  relacionadas aos estiramentos ( $\nu$ C=C). Além disso, bandas intensas centradas na faixa de 1222-1225  $\text{cm}^{-1}$  estão relacionadas a presença do íon nitrato não coordenado, assim como na faixa de 816-826  $\text{cm}^{-1}$  referente a presença de nitratos coordenados ao íon de Cu(II) (Nakamoto, 2009). O que concorda com os valores de condutividade molar obtidos indicando a formação de compostos catiônicos na proporção eletrolítica 1:1 (GEARY, W.J., 1971), de forma semelhante ao complexo metálico precursor  $[\text{Cu}(\text{ITZ})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**Cc**) (de Azevedo França, 2019).

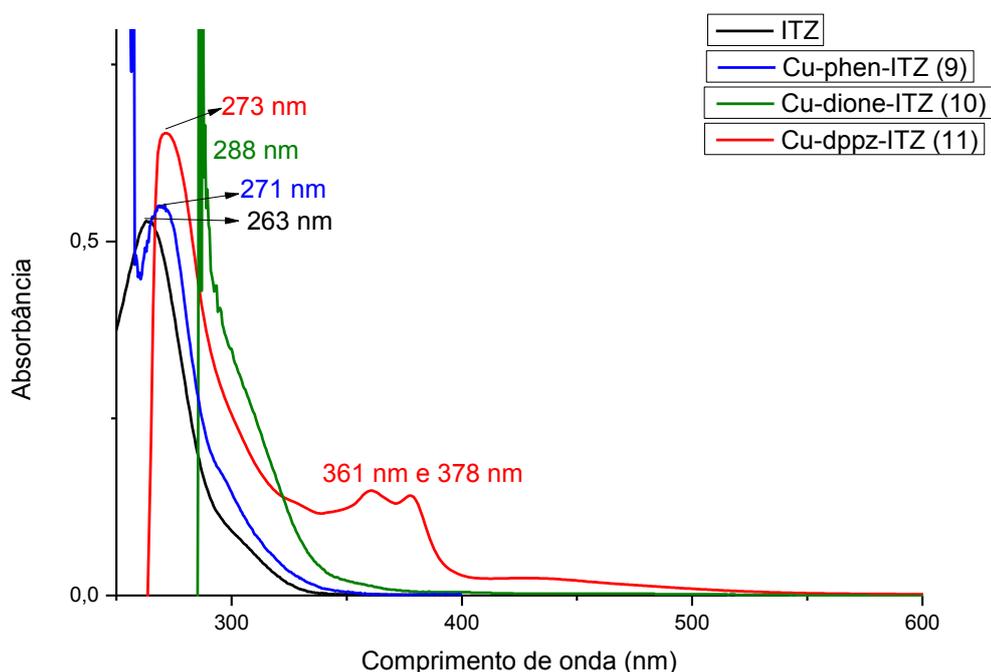
**Figura 26** - Espectros vibracionais na região do infravermelho dos complexos metálicos híbridos **9**, **10** e **11**.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Os espectros eletrônicos na região do UV-Vis dos híbridos de Cu(II) **9**, **10** e **11**, obtidos em DMSO (**Figura 27**), mostram para o complexo **9**, uma banda em 271 nm atribuída as transições do tipo  $\pi$ - $\pi^*$  características do ligante **ITZ**, que no espectro dos complexos **10** e **11** encontram-se em 288 nm e 273 nm respectivamente, e todas elas apresentam-se deslocadas em 8 nm, 25 nm e 10 nm, confirmando que o ligante **ITZ** coordenou-se ao íon de cobre(II). Além disso, observam-se duas bandas centradas em 361 nm e 378 nm no espectro do complexo **11**, que indicam a presença do ligante **dppz** na estrutura do composto de coordenação. Todos os complexos metálicos híbridos de Cu(II) apresentam coloração em solução, o que condiz com o fato de serem observadas bandas de baixa intensidade na região do visível que são atribuídas as transições  $d-d$  (**APENDICE B – Figura 70**) conhecidas por serem proibidas por Laporte (Prisecaru, 2015).

**Figura 27** - Espectros eletrônicos na região do UV-Vis dos complexos metálicos híbridos **9**, **10** e **11** em DMSO.

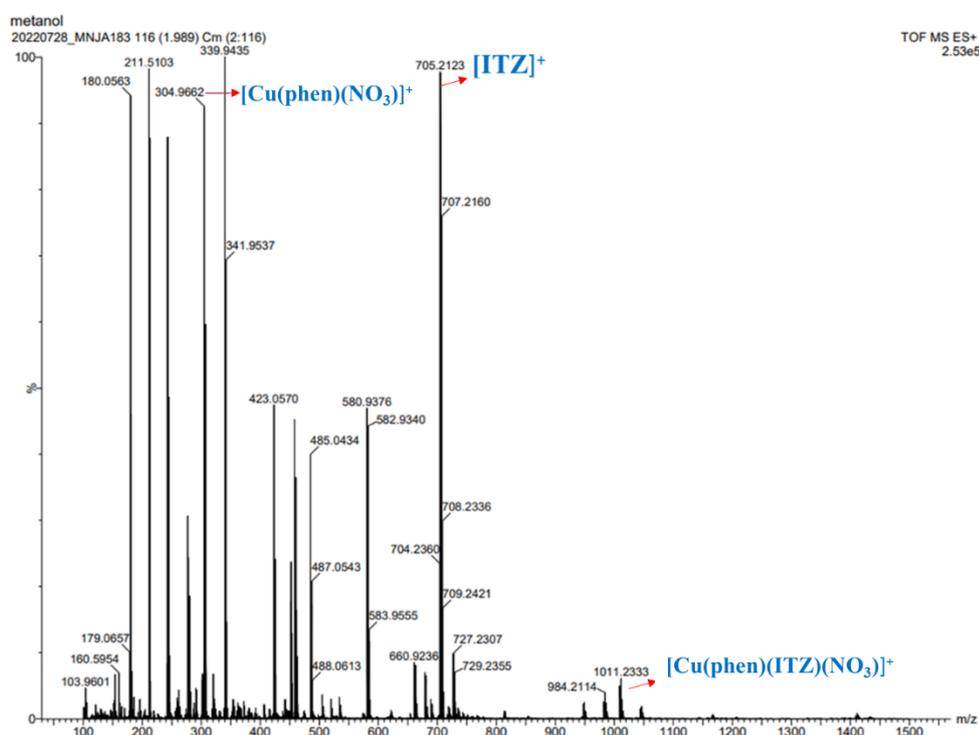


Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Foram também obtidos os espectros de massas de alta resolução dos complexos metálicos híbridos **9**, **10** e **11**. A título de exemplificação, observa-se na **Figura 28** o espectro do complexo metálico híbridos **9**, no qual é possível observar picos referentes a fragmentos importantes do complexo metálico como o fragmento  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{ITZ})(\text{NO}_3)]^+ = 1011,2333$

(1009,23)  $m/z$  além do fragmento  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{NO}_3)]^+$  em 304,9636 (304,99)  $m/z$  que indicam a presença da **phen** e do **ITZ** na estrutura do composto. Além disso, ambos fragmentos sugerem que um grupo nitrato atua como ligante auxiliar contido na esfera de coordenação. Tais observações corroboram que o composto de interesse foi obtido. Ademais, o espectro do composto **10** encontra-se no **Apêndice D -Figura 84** onde são observados picos inerentes a fragmentos do composto.

**Figura 28** - Espectro de massas de alta resolução do complexo metálico híbrido **9**.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

De forma análoga aos complexos metálicos híbridos discutidos nas sessões anteriores, os resultados experimentais relativos aos teores de carbono, nitrogênio e hidrogênio (**Tabela 3**) obtidos para os três novos complexos metálicos híbridos de Cu(II) derivados do **ITZ** estão em acórdância com os valores previamente calculados para as fórmulas moleculares propostas, sugerindo que os três complexos de Cu(II) são hexacoordenados octaédricos distorcidos por influência do efeito Jahn-Teller. Além disso, em solução são catiônicos como indicam os valores de condutividade molar que se encontram em uma faixa na qual considera-se eletrólito 1:1, o que já foi evidenciado pelo espectro de massas que indica que um dos nitratos atua como ligante auxiliar, o que sugere que o segundo nitrato balanceia a carga do complexo de cobre.

**Tabela 3** - Dados analíticos dos complexos metálicos híbridos **9**, **10** e **11**.

Composto	Análise Elementar			Geary	Faixa (1:1)
	%C (%C*)	%N (%N*)	%H (%H*)	$\Lambda$ (DMSO)**	
C <sub>82</sub> H <sub>90</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>20</sub> O <sub>17</sub> Cu ( <b>9</b> )	53,56 (53,07)	15,24 (15,91)	4,57 (4,79)	66,3	50-70
C <sub>47</sub> H <sub>64</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>12</sub> O <sub>27</sub> Cu ( <b>10</b> )	45,26 (44,59)	13,48 (12,89)	4,17 (3,57)	69,53	
C <sub>47</sub> H <sub>52</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>12</sub> O <sub>21</sub> Cu ( <b>11</b> )	54,34 (54,79)	16,74 (16,35)	4,61 (4,25)	40,16	

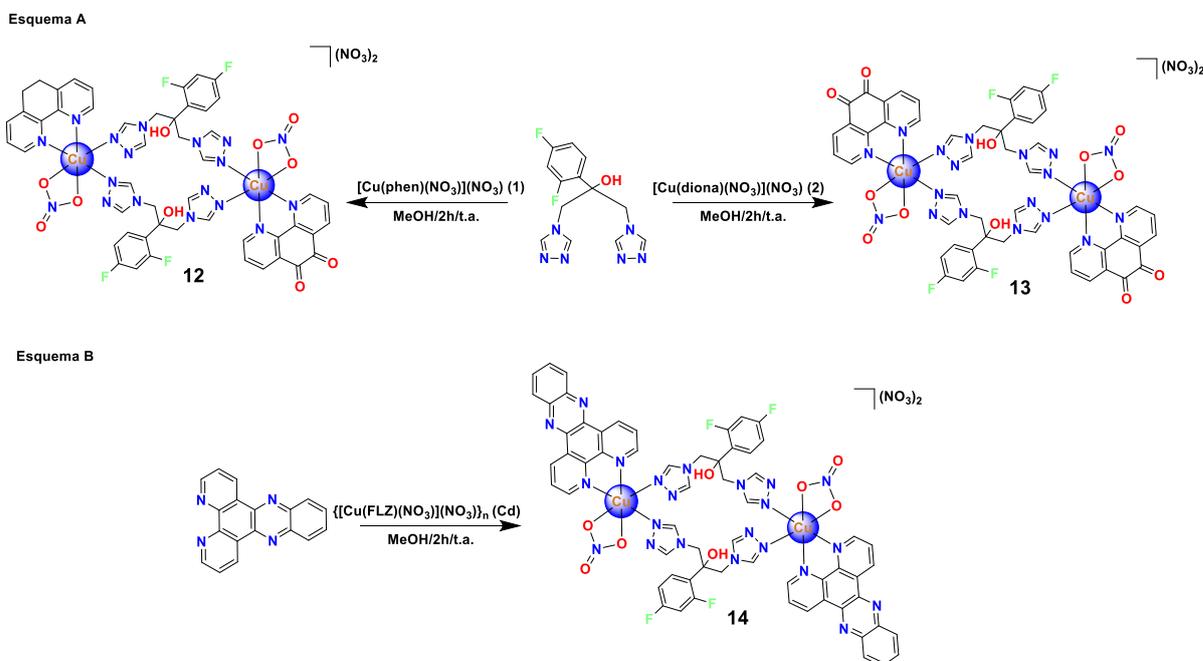
\*experimental (calculado); \*\*ohm<sup>-1</sup> cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>.

Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

#### 4.1.4. Síntese e caracterização dos complexos híbridos de derivados do Fluconazol (FLZ)

Por último, foram sintetizados 3 novos complexos metálicos híbridos derivados do **FLZ**, sendo o [Cu(phen)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O (**12**), Cu(diona)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·5H<sub>2</sub>O (**13**) (**Esquema 6a**) obtidos através da reação entre o **FLZ** e os complexos metálicos precursores (**1**) e (**2**) respectivamente; e o complexo metálico híbrido [Cu(dppz)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O (**14**) (**Esquema 6b**) que foi sintetizado através da reação entre o ligante **dppz** e o complexo {[Cu(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)}<sub>n</sub> (**Cd**).

**Esquema 6** - Sínteses de novos complexos de  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{FLZ})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)_2(\text{NO}_3)_2$  (**12**) e  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{FLZ})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)_2(\text{NO}_3)_2$  (**13**): (a) a partir da reação entre o ligante **FLZ** e o complexos metálicos precursores (**1**) e (**2**) respectivamente; e do  $[\text{Cu}(\text{dppz})(\text{FLZ})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**14**): (b) a partir da reação entre o ligante **dppz** e o complexo **Cd**.



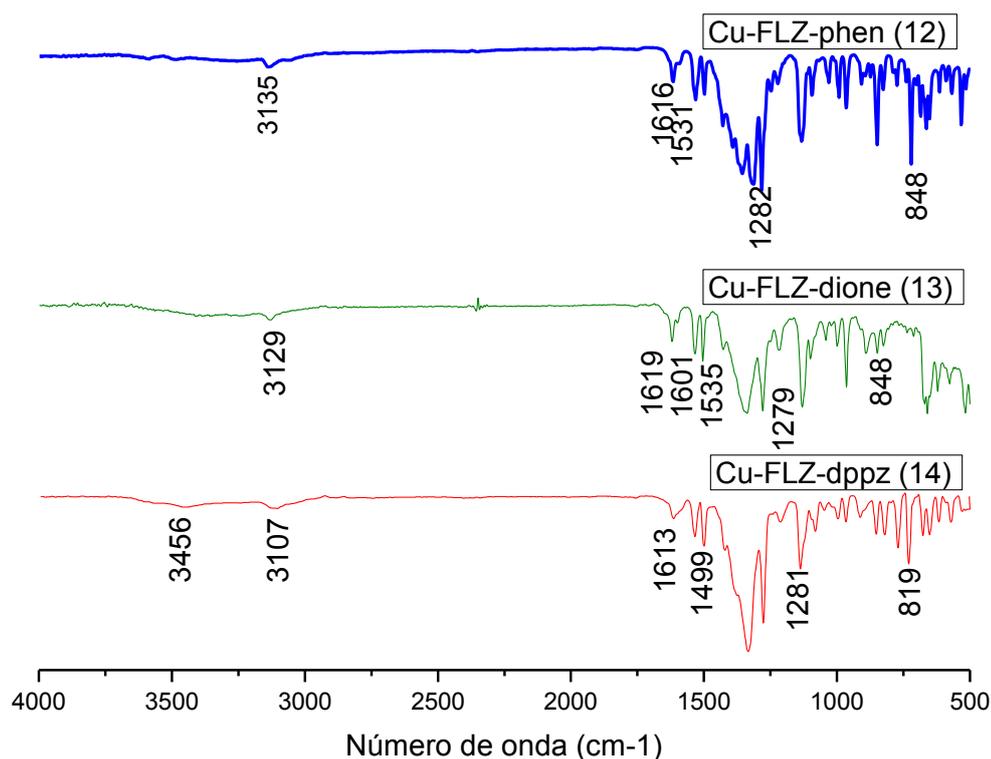
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

As sínteses foram conduzidas inicialmente pela dissolução dos precursores **1** e **2** em metanol, seguida pela adição equimolar do **FLZ** às soluções resultantes, as quais apresentavam coloração verde e verde musgo, respectivamente. A reação prosseguiu em condições ambientes, ocasionando alterações de coloração para azul e azul claro nos complexos metálicos híbridos **12** e **13**, respectivamente, indicando a formação dos híbridos de Cu(II). Por outro lado, o composto **14** foi obtido através da adição de uma solução metanólica do **dppz** a uma solução metanólica de coloração azul, contendo o complexo **Cd**. A reação subsequente gerou uma coloração marrom, seguida do aparecimento de precipitado cinza, sugerindo a obtenção de um novo produto. Os compostos **12**, **13** foram precipitados pela adição de éter dietílico após a evaporação de um quarto do volume do solvente. Posteriormente, os precipitados foram submetidos à filtração e lavagem com éter dietílico para eliminação de resíduos de metanol e água. Por fim, os produtos foram submetidos à secagem a vácuo antes de serem caracterizados.

Nos espectros vibracionais na região do infravermelho dos híbridos de Cu(II) **12**, **13** e **14** (Figura 29) foram observadas as bandas dos estiramentos ( $\nu\text{C-H}$ ) em torno de 3107-3135

$\text{cm}^{-1}$ . Na faixa entre 1613 e 1619  $\text{cm}^{-1}$  observou-se uma banda pouco intensa que foi atribuída aos estiramentos ( $\nu\text{C}=\text{N}$ ), caracterizados por deslocamentos em comparação com o ligante livre **FLZ**. A presença dos anéis aromáticos também é confirmada pelas bandas localizadas entre 1499-1531  $\text{cm}^{-1}$  atrelados aos estiramentos ( $\nu\text{C}=\text{C}$ ). E por fim, bandas intensas centradas na faixa de 1279 a 1282  $\text{cm}^{-1}$  foram associadas a presença do íon nitrato não coordenado como observado para o polímero de coordenação  $\{[\text{Cu}(\text{FLZ})_2](\text{NO}_3)_2\}_n$  assim como na faixa de 819-848  $\text{cm}^{-1}$  (Nakamoto, 2009) referente a presença de nitratos coordenados ao íon de Cu(II). Esses dados corroboram aos valores observados a complexos metálicos semelhantes os complexos de Cu(II)  $[\text{Cu}(\text{CTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**Ca**), e  $[\text{Cu}(\text{KTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**Cb**) (DE Azevedo-França *et al.*, 2020, 2021).

**Figura 29** - Espectros vibracionais na região do infravermelho dos complexos metálicos híbridos **12**, **13** e **14**.

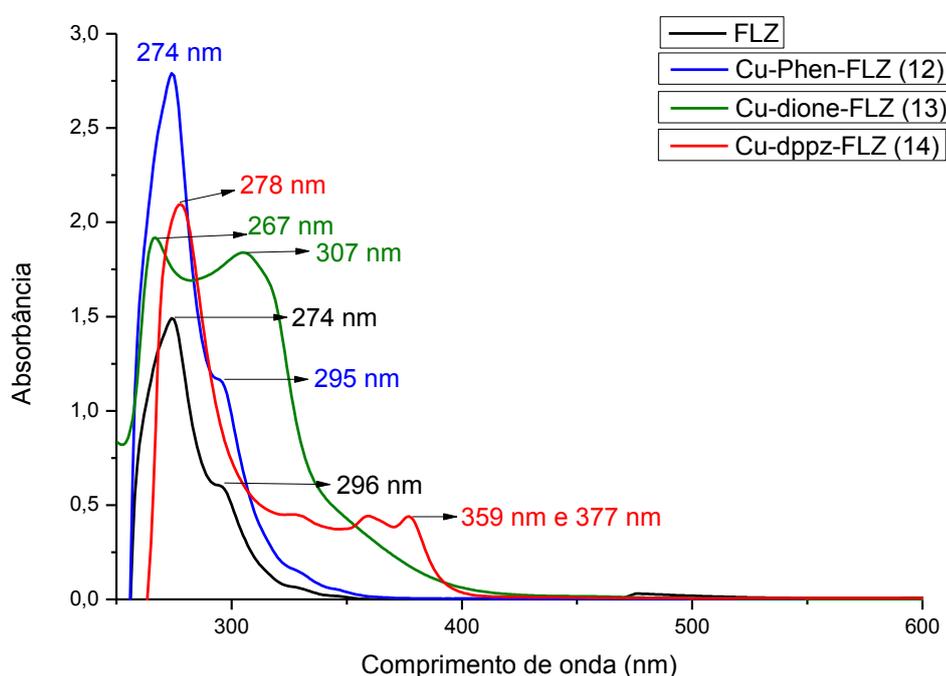


Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

Os espectros eletrônicos na região do UV-Vis dos híbridos **12**, **13** e **14**, obtidos em DMSO (**Figura 29**), mostraram para o complexo **12**, uma banda centrada em 274 nm atribuída as transições do tipo  $\pi-\pi^*$  que não se apresentou deslocada em comparação com o espectro do **FLZ**, mas nos espectros dos complexos **13** e **14** apresentam-se em 267 nm e 278 nm

respectivamente, deslocadas em 7 nm e 4 nm respectivamente, confirmando que o ligante **FLZ** coordenou-se ao íon de Cu(II). Além disso, observaram-se duas bandas centradas em 359 nm e 377 nm no espectro do complexo **14** também atribuídas as transições  $\pi$ - $\pi^*$ , que indicam a presença do ligante **dppz** na estrutura do complexo. Conforme demonstrado na literatura (Prisecaru, 2015), também podem ser observadas bandas de baixa intensidade inerentes as transições do tipo  $d-d$  (APENDICE B – Figuras 71-73).

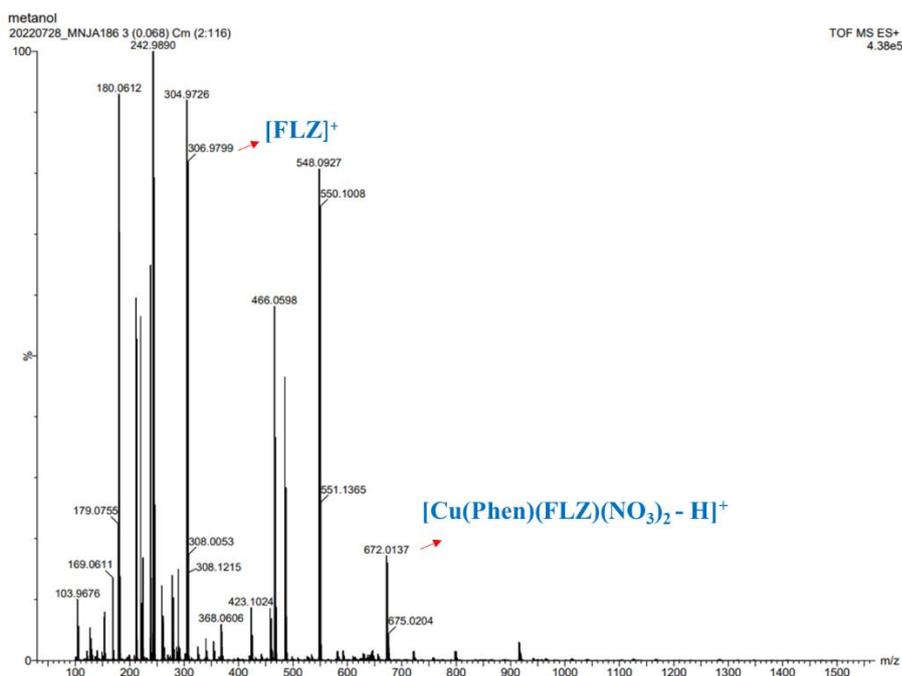
**Figura 30** - Espectros eletrônicos na região do UV-Vis dos complexos metálicos híbridos **12**, **13** e **14** em DMSO.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Foram também obtidos os espectros de massas dos complexos metálicos híbridos **12**, **13** e **14**. A título de exemplificação, observa-se na **Figura 31** o espectro de massas do complexo **12**, no qual são observados picos referentes aos fragmentos  $[\text{Cu}(\text{Phen})(\text{FLZ})(\text{NO}_3)_2 + \text{H}]^+$  em 672,0137 (672,07)  $m/z$ , além do íon molecular do ligante **FLZ** centrado em 306,9769 (307,11)  $m/z$  que propõe a presença do ligante plano **phen** e do **FLZ** na estrutura do complexo. Os espectros dos compostos **13** e **14** encontram-se no **Apêndice D**. Os fragmentos também indicam a presença de um nitrato coordenado ao Cu(II), sugerindo que o segundo nitrato encontra-se fora na esfera de coordenação, atuando como contra-íon.

**Figura 31** - Espectro de massas de alta resolução do complexo metálico híbrido **12**.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Os resultados experimentais relativos aos teores de carbono, nitrogênio e hidrogênio (**Tabela 4**) obtidos para os três novos complexos metálicos híbridos de Cu(II) derivados do **FLZ** estão em concordância com os valores previamente calculados para as fórmulas moleculares propostas, sugerindo que os três complexos metálicos híbridos de Cu(II) apresentam estruturas diméricas de forma coerente ao fato de que o ligante **FLZ** possui dois anéis imizadólicos possibilitando a coordenação por ambos os anéis e isso facilita a polimerização desse ligante. Além disso, os valores de condutividade molar indicam que os dímeros são catiônicos, apresentando 2 nitratos como contra-íons. Outrossim, os íons de Cu(II) são hexacoordenados octaédricos distorcidos por influência do efeito Jahn-Teller, uma vez que o Cu(II) apresenta uma configuração eletrônica  $d^9$ .

**Tabela 4** - Dados analíticos dos complexos metálicos híbridos **12**, **13** e **14**.

Composto	Análise Elementar			$\Lambda$ (DMSO)**	Geary Faixa (1:1)
	%C (%C*)	%N (%N*)	%H (%H*)		
$C_{50}H_{50}F_4N_{20}O_{19}Cu_2$ ( <b>12</b> )	41,76 (42,07)	19,49 (18,73)	3,48 (2,93)	129,08	50-70
$C_{50}H_{48}F_4N_{20}O_{32}Cu_2$ ( <b>13</b> )	39,15 (38,76)	18,27 (18,82)	3,26 (2,78)	100,32	
$C_{53}H_{58}F_4N_{20}O_{34}Cu_2$ ( <b>14</b> )	45,38 (44,99)	19,55 (18,78)	3,72 (3,09)	121,3	

\*experimental (calculado); \*\* $\text{ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$ .

Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

#### 4.1.5. Ressonância Paramagnética Eletrônica (EPR)

Para aprofundar a caracterização de todos esses compostos de Cu(II) paramagnéticos, foram conduzidas medidas de EPR em amostras em pó numeradas de **3** a **14**. Todos os espectros foram adquiridos na frequência da banda X (aproximadamente 9,4 GHz) e à temperatura ambiente, conforme detalhado na seção experimental. Os espectros experimentais, apresentados na **Figura 32** junto com suas simulações, exibem a estrutura fina característica do íon Cu(II) ( $d^9$ ,  $S = 1/2$ ), revelada pela anisotropia do tensor  $g$ , onde  $g_z > g_x \approx g_y > g_e$ , consistente com um orbital magnético  $dx^2-y^2$ .

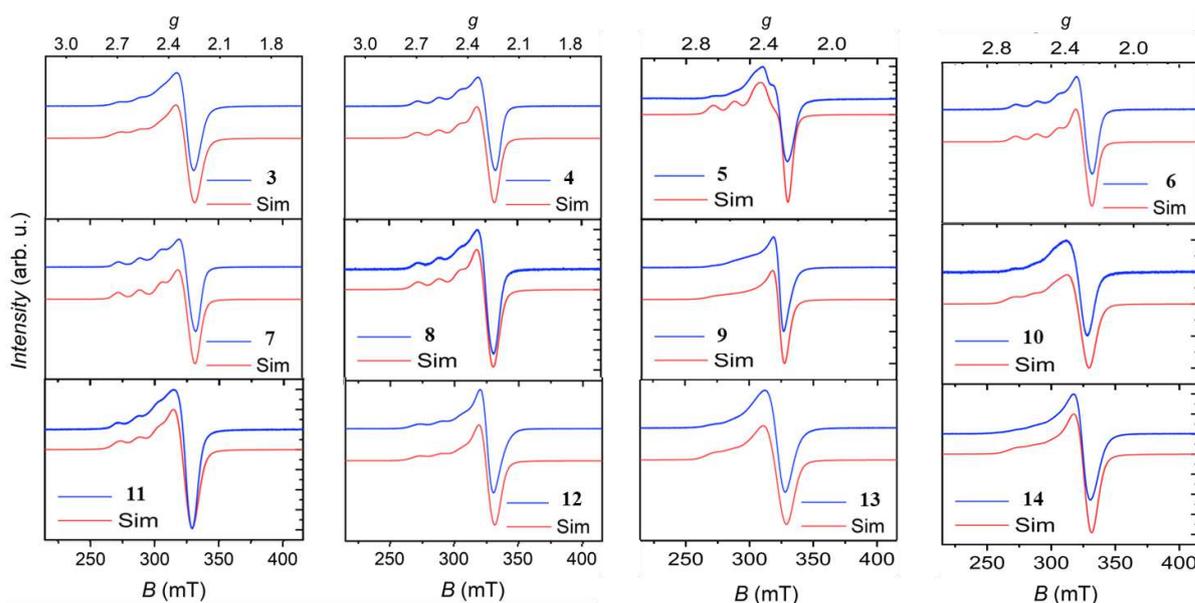
Cada um dos três componentes é influenciado pelo efeito do acoplamento hiperfino entre o spin não pareado e os núcleos ativos de cobre ( $^{63}\text{Cu}$ ,  $I = 3/2$ , abundância natural = 69,17%;  $^{65}\text{Cu}$ ,  $I = 3/2$ , n.d. = 30,83%), resultando em uma estrutura hiperfina resolvida. Esse acoplamento é mais evidente para as transições  $g_z$ , situadas entre 260 e 330 mT. Para os compostos **3**, **4**, **6**, **7**, **8**, **10** e **11**, três dos quatro componentes ( $2ICu + 1 = 4$ ) são claramente resolvidos, enquanto o quarto componente apresenta uma distorção na região das transições  $g_x$  e  $g_y$ , para as quais não há resolução de estrutura hiperfina.

Essa distorção pode ser atribuída à similaridade nos componentes do tensor de acoplamento hiperfino ( $A$ ) em relação ao tensor  $g$ , ou seja,  $A_z > A_x \approx A_y$ . Uma observação ligeiramente distinta é feita para as espécies **5**, **9**, **12**, **13** e **14**, que exibem uma estrutura

hiperfina pouco resolvida. Essa evidência é consistente com uma estrutura dimérica para esses três complexos, podendo surgir devido a i) efeitos de amplificação decorrentes de interações intramoleculares dipolares entre os íons de cobre ou ii) uma contribuição mais fraca dos componentes  $A_z$ , atribuível a um ambiente de coordenação octaédrica mais simétrico.

O quarto pico apresenta complicações adicionais devido a uma segunda banda larga centrada em 320 mT, atribuída à convolução dos componentes  $g_x$  e  $g_y$ . Neste caso, a estrutura hiperfina não pôde ser discernida devido aos efeitos de amplificação. Em geral, a tendência  $A_z > A_x \approx A_y$  parece ser consistente ao longo da série, em concordância com observações anteriores para compostos análogos.

**Figura 32** - Espectros de EPR CW em banda X foram obtidos a  $T = 300$  K em amostras de pó dos complexos metálicos híbridos **3-14**. Simulações espectrais são relatadas nos mesmos gráficos.



Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

A análise direta dos valores de  $g_z$  e  $A_z$  entre os diversos complexos de Cu(II) pode proporcionar informações valiosas sobre a geometria de coordenação do centro spin-ativo. Nesse sentido, foram empregadas simulações espectrais (Stoll, Schweiger, 2006) para uma estimativa precisa dos parâmetros hamiltonianos de spin, visando obter informações mais detalhadas sobre a geometria de coordenação. Um spin hamiltoniano na forma  $H_S = -\mu_B B \cdot g \cdot S + S \cdot A \cdot S$  foi utilizado, sendo o primeiro termo associado à interação Zeeman e o segundo à interação de acoplamento hiperfino. Uma discreta distorção oblíqua ( $x \neq y$ ) foi incorporada ao

modelo para uma reprodução mais precisa das formas das linhas espectrais. A **Tabela 5** apresenta os melhores parâmetros de simulação para todos os compostos investigados. A avaliação quantitativa desses parâmetros confirma as interpretações qualitativas dos espectros mencionados anteriormente.

De forma intrigante, embora parâmetros hamiltonianos de spin muito semelhantes caracterizem os complexos **3-14**, desvios mais significativos são observados no complexo **13**. Esse padrão é congruente com uma geometria mais próxima de um octaedro regular (Bonomo; Riggi; di Bilio, 1988) ou com uma alteração de um átomo doador de nitrogênio de uma posição equatorial para uma posição axial. Vale ressaltar que a razão  $g_z/A_z$  situa-se na faixa esperada para sistemas mistos  $CuN_xO_y$  (Neuman, *et al.*, 2012; Folli, *et al.*, 2021; Gala, *et al.* 2014; Tabbi, 2013) em todos os complexos, adicionando consistência às observações realizadas.

**Tabela 5** - Parâmetros de melhor ajuste obtidos a partir de simulações de espectros CW de banda X dos complexos metálicos híbridos **3-14**. A relação  $g_z/A_z$  obtida também é relatada.

Compostos	$g_x$	$g_y$	$g_z$	$A_x$ (MHz)	$A_y$ (MHz)	$A_z$ (MHz)	$g_z/A_z$ (GHz <sup>-1</sup> )
<b>3</b>	2,065(2)	2,080(2)	2,265(1)	40(4)	55(4)	500(2)	4,53
<b>4</b>	2,065(2)	2,073(2)	2,270(1)	55(4)	65(4)	510(2)	4,45
<b>5</b>	2.09	2.1	2.27	110	120	510	0.00445
<b>6</b>	2,065(2)	2,070(2)	2,265(1)	45(4)	50(4)	510(2)	4,44
<b>7</b>	2,067(2)	2,076(2)	2,265(1)	55(4)	65(4)	515(2)	4,40
<b>8</b>	2.075	2.07	2.265	40	40	500	0.00453
<b>9</b>	2.082	2.74	2.31	25	20	385	0.006
<b>10</b>	2.08	2.098	2.285	65	120	485	0.00471
<b>11</b>	2.08	2.085	2.275	55	65	465	0.00489
<b>12</b>	2,065(2)	2,070(2)	2,260(1)	35(4)	45(4)	515(2)	4,39
<b>13</b>	2,085(2)	2,090(2)	2,285(1)	90(4)	95(4)	380(2)	6,01
<b>14</b>	2.055	2.065	2.285	40	45	450	0.00508

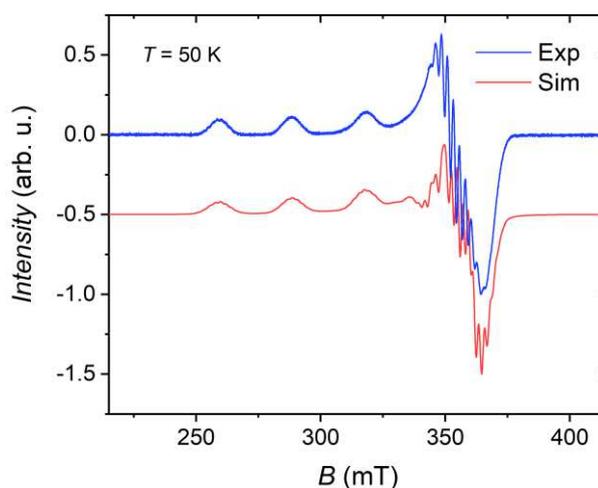
Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

A confirmação da presença de quatro núcleos doadores de nitrogênio é derivada dos espectros de EPR obtidos em uma solução congelada contendo 0,5 mM do complexo **6** em DMF/EtOH 5:1 (**Figura 33**). Nesses espectros, evidencia-se uma estrutura super-hiperfina

resultante da interação de acoplamento com dois pares de átomos de  $^{14}\text{N}$  não equivalentes. A simulação do espectro da solução congelada foi conduzida considerando um Hamiltoniano de Spin na forma  $HS = -\mu\text{B}\mathbf{B}\cdot\mathbf{g}\cdot\mathbf{S} + \mathbf{S}\cdot\mathbf{A}\cdot\mathbf{I} +$ , em que o último termo descreve a interação hiperfina com os 4 núcleos de  $^{14}\text{N}$ .

Dada a ausência de experimentos específicos de EPR para caracterizar melhor essas interações, como experimentos com  $^{14}\text{N}$ -ENDOR ou HYSCORE (Scholl; Huettermann, *et al.*, 1992; Ritterskamp, 2017; Oryan, Akbari, 2016), a simulação espectral foi simplificada assumindo simetria axial para o íon e contribuições hiperfinas isotrópicas dos núcleos de  $^{14}\text{N}$ . As posições simuladas das linhas correspondem bem às do espectro experimental, e as constantes de acoplamento hiperfino resultantes para o  $^{14}\text{N}$  são comparáveis às relatadas na literatura para complexos de Cu(II) contendo imidazol e **phen** (Oryan; Akbari, 2016, Godlewska *et al.*, 2013; Blagosklonny, 2013; de Macedo-Silva *et al.*, 2015). A semelhança dos parâmetros do Hamiltoniano de Spin obtidos na solução congelada com aqueles obtidos no estado sólido sugere que, na solubilização, a geometria de coordenação é pouco afetada (Garribba, Micera, 2006). As pequenas discrepâncias observadas indicam uma estrutura octaédrica ligeiramente mais alongada explicada pelo efeito Jahn-Teller de alongamento, sem alterações no número ou modo de coordenação, um resultado que é consistente com as observações da espectroscopia UV-Vis (**Apêndice B**).

**Figura 33** - Espectros experimentais e simulados de EPR CW em banda X obtidos em solução congelada de 0,5 mM do complexo metálico híbrido **6** em DMF/EtOH 5:1.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Tabela 6** - Parâmetros de melhor ajuste obtidos a partir da simulação da medição de EPR CW em banda X em uma solução congelada de 0,5 mM do complexo metálico híbrido **6** em DMF/EtOH 5:1.

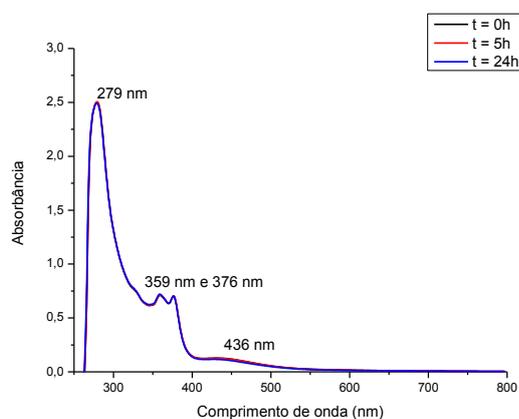
	$g_x$	$g_y$	$g_z$	$A_x$ (MHz)	$A_y$ (MHz)	$A_z$ (MHz)	$^N A_{iso}$ (MHz)
<b>Cu</b>	2.065(2)	2.065(2)	2.267(1)	40(2)	40(2)	538(2)	
<b>N<sub>1</sub>,</b>							41(1)
<b>N<sub>2</sub></b>							
<b>N<sub>3</sub>,</b>							39(1)
<b>N<sub>4</sub></b>							

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

#### 4.1.6. Estudos de estabilidade em solução de DMSO

A avaliação do comportamento dos doze complexos metálicos híbridos de Cu(II) foi conduzida minuciosamente em solução de dimetilsulfóxido (DMSO), o solvente empregado nos ensaios *in vitro*, sendo monitorada por meio de espectroscopia na região de UV-Vis. Cada composto foi submetido à obtenção de espectros de absorção em diferentes intervalos de tempo, especificamente em  $t = 0$  horas, 5 horas e 24 horas. A análise detalhada revelou que a maioria dos compostos investigados não apresentou alterações nos espectros ao longo desses períodos como observado para o composto de coordenação **8** (**Figura 34**).

**Figura 34** - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido **8** na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em  $t = 0$ h, 5h e 24h.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Essa observação sugere a estabilidade dos complexos estudados em DMSO durante o intervalo de tempo examinado. A fim de proporcionar uma documentação abrangente, todos os espectros de UV-Vis adquiridos para cada complexo estão disponíveis no **Apêndice B**.

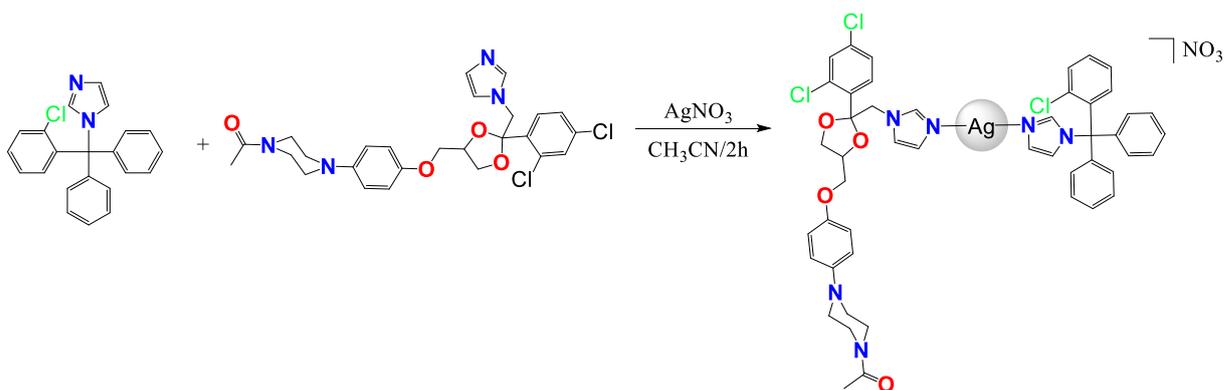
## 4.2. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS HÍBRIDOS DE Ag(I)

Ao longo dessa sessão, serão abordadas a síntese e caracterização dos 2 híbridos de Ag(I) contendo os ligantes **CTZ**, **KTZ** e **ITZ**. Nesse caso, uma abordagem diferente foi empregada. No caso dos dois híbridos de Ag(I), combinaram-se dois inibidores da biossíntese do ergosterol diferentes coordenados ao mesmo íon de Ag(I).

### 4.2.1. Complexo Híbrido 15

O híbrido de Ag(I) [Ag(CTZ)(KTZ)]NO<sub>3</sub> (**15**) foi sintetizado de acordo com o **Esquema 7** o qual mostra a complexação dos ligantes **CTZ** e **KTZ** ao sal AgNO<sub>3</sub> em acetonitrila ao abrigo da luz por 2h.

**Esquema 7** - Síntese do complexo metálico híbrido [Ag(CTZ)(KTZ)]NO<sub>3</sub> (**15**) pela complexação do **CTZ** e do **KTZ** ao AgNO<sub>3</sub> em acetonitrila por 2h. .



Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

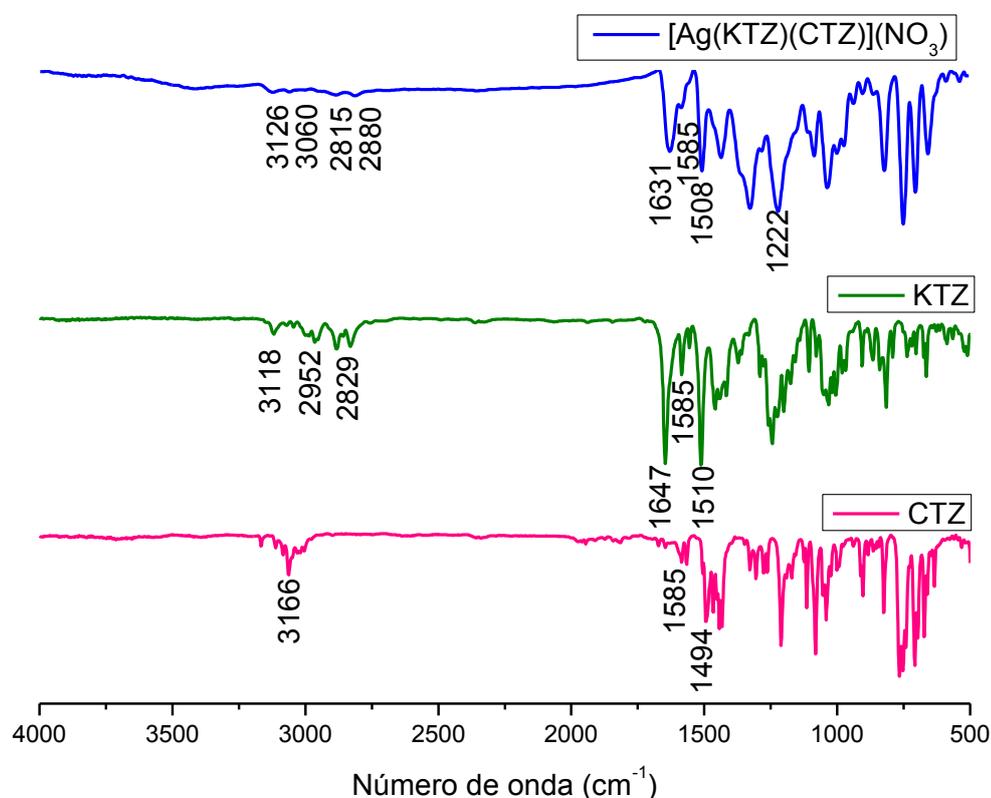
Na síntese do complexo metálico híbridos **15**, solubilizou-se o AgNO<sub>3</sub> em acetonitrila destilada. Em seguida, uma quantidade equimolar de **CTZ** foi solubilizada em acetonitrila destilada e em seguida adicionada à solução de AgNO<sub>3</sub>. A reação foi mantida sob agitação por 1h e durante esse tempo, nenhuma mudança visual foi observada. Após 1h de agitação, solubilizou-se um equivalente de **KTZ** em acetonitrila destilada, que foi posteriormente

adicionada à reação. Manteve-se a agitação por mais 1h e evaporou-se o solvente até um quarto de seu volume. Um sólido branco foi observado ao adicionar éter dietílico. Esse sólido foi filtrado e lavado com mais éter dietílico para que se removesse qualquer resquício de acetonitrila e outros solventes pouco voláteis. Por fim, o sólido foi seco a vácuo. Durante todo o processo de síntese, a reação foi mantida ao abrigo da luz e sob atmosfera de nitrogênio.

Após sintetizado e devidamente purificado, o híbrido **15** foi caracterizado pelas mesmas técnicas analíticas e espectroscópicas já mencionadas na sessão anterior, porém foi empregado o uso da ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  uma vez que a  $\text{Ag(I)}$  tem configuração diamagnética.

Na **Figura 35**, encontram-se os espectros de absorção na região do infravermelho dos ligantes **CTZ** e **KTZ** tanto quanto o espectro do híbrido **15**. Com base nesses espectros é possível observar que as bandas características tanto do **CTZ** quanto do **KTZ** estão presentes no espectro do complexo metálico híbrido, como na região de  $3060\text{-}3026\text{ cm}^{-1}$  referente aos estiramentos ( $\nu\text{C-H}$  aromático) e em  $2815\text{-}2880$  associadas aos estiramentos ( $\nu\text{C-H}$  alifático). Além disso, nota-se em  $1631\text{ cm}^{-1}$  uma banda intensa inerente ao estiramento ( $\nu\text{C=O}$ ) que corresponde aos grupamentos carbonílicos presentes no ligante **KTZ**, o que evidencia a sua presença na estrutura do híbrido **15**. Em  $1586\text{ cm}^{-1}$  nota-se uma banda de baixa intensidade que foi atribuída ao estiramento ( $\nu\text{C=N}$ ) presente nos anéis imidazólicos que em comparação com o espectro dos ligantes **CTZ** e **KTZ** não se observaram deslocamentos significativos. Em  $1508\text{ cm}^{-1}$  observa-se uma banda intensa inerente aos estiramentos ( $\nu\text{C=C}$ ) de ambos os ligantes. A presença do grupo nitrato como contra-íon pode ser confirmada pela presença de uma banda em  $1226\text{ cm}^{-1}$  característica de íons nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) não coordenados (Nakamoto, 2009). A presença do íon nitrato como contra-íon, evidencia que o composto é catiônico o que também está de acordo com o valor de condutividade molar obtido em DMSO para complexos cuja proporção eletrolítica é 1:1. Esses dados corroboram àqueles obtidos para similares complexos de prata(I) como o  $[\text{Ag}(\text{CTZ})_2]\text{NO}_3$  e o  $[\text{Ag}(\text{KTZ})_2]\text{NO}_3$  sintetizados por Navarro e colaboradores (2023) contendo os mesmos ligantes imidazólicos coordenados ao íon de  $\text{Ag(I)}$  de forma linear, sugerindo também a mesma geometria para o híbrido **15**.

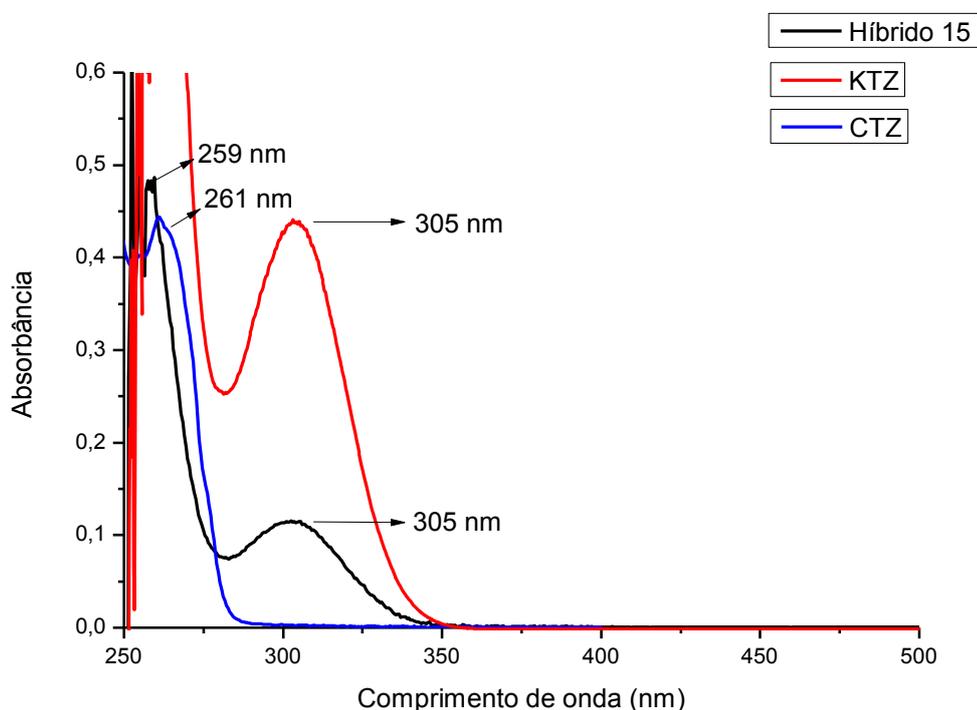
**Figura 35** - Espectros vibracionais na região do infravermelho do complexo metálico híbrido **15** e dos **CTZ** e **KTZ**.



Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

Na **Figura 36**, encontram-se espectros eletrônicos na região do UV-Vis do composto híbrido **15**, e dos ligantes **CTZ** e **KTZ** obtidos em DMSO, nos quais é possível observar duas bandas, a primeira centrada em 259 nm de alta intensidade e outra em 303 nm de menor intensidade, que foram atribuídas as bandas do **CTZ** e **KTZ** respectivamente com base nos espectros deles no mesmo solvente. Além disso, essas bandas estão associadas as transições do tipo  $\pi$ - $\pi^*$  que são relacionadas as transições eletrônicas que ocorrem nas duplas ligações dos anéis aromáticos desses ligantes. Em relação aos ligantes, não se observam deslocamentos significativos.

**Figura 36** - Espectros eletrônicos na região do UV-Vis do complexo metálico híbrido **15** em DMSO.

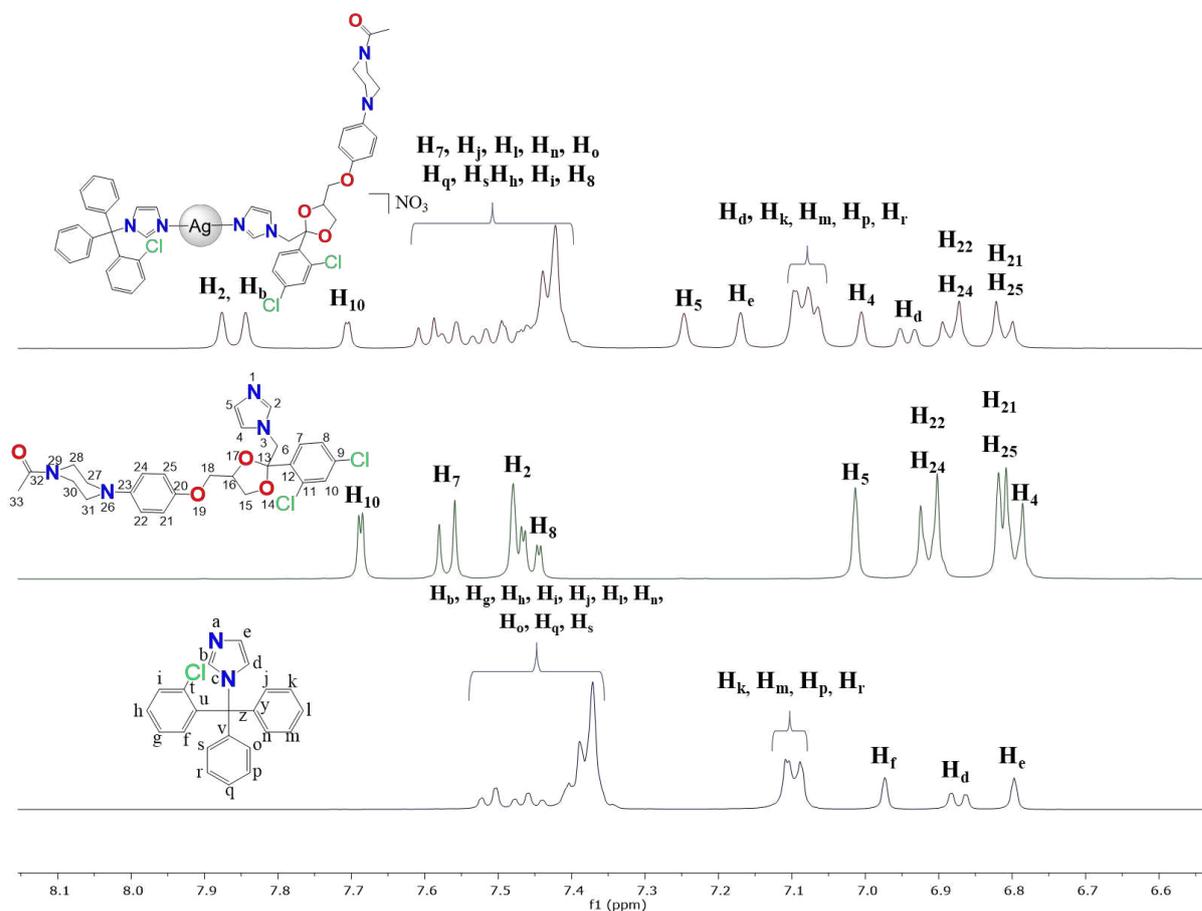


Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

O complexo metálico híbrido **15** e os ligantes **CTZ** e **KTZ** foram solubilizados em DMSO- $d_6$  e essas soluções foram submetidas a espectroscopia de RMN de  $^1H$  e  $^{13}C$ . A **Figura 37** mostra os espectros de  $^1H$  do composto **15** e dos ligantes **CTZ** e **KTZ**. Percebe-se que no espectro do híbrido **15** foram observados todos os sinais característicos dos ligantes **CTZ** e **KTZ**. Para facilitar a elucidação, os hidrogênios do **KTZ** foram numerados seguindo os números ordinais, enquanto os hidrogênios do **CTZ** foram numerados com letras e nesse caso, os hidrogênios  $H_2$ ,  $H_4$  e  $H_5$ , correspondem a  $H_b$ ,  $H_d$  e  $H_e$ .

Ao analisar minuciosamente o espectro do híbrido **15**, verificou-se que os prótons imidazólicos para do **CTZ** e do **KTZ** apresentaram significativos deslocamentos químicos uma região mais desblindada do espectro em relação aos ligantes livres, sendo essa variação de 0,47 ppm, 0,25 ppm e 0,24 ppm para o  $H_2$ ,  $H_5$  e  $H_4$  respectivamente e 0,31 ppm, 0,20 ppm e 0,21 ppm para  $H_b$ ,  $H_d$  e  $H_e$  respectivamente. Essa observação indica fortemente que ocorreu a coordenação ao íon de  $Ag(I)$  tanto do **KTZ** quando do **CTZ** pelo átomo de nitrogênio imidazólico  $N_1$ , fato que também é observado para os complexos de  $[Ag(KTZ)_2]NO_3$  e  $[Ag(CTZ)_2]NO_3$  reportados na literatura (Condé *et al.*, 2023). Adicionalmente, as integrais corroboram que um ligante **CTZ** e um **KTZ** estão coordenados ao íon  $Ag(I)$ .

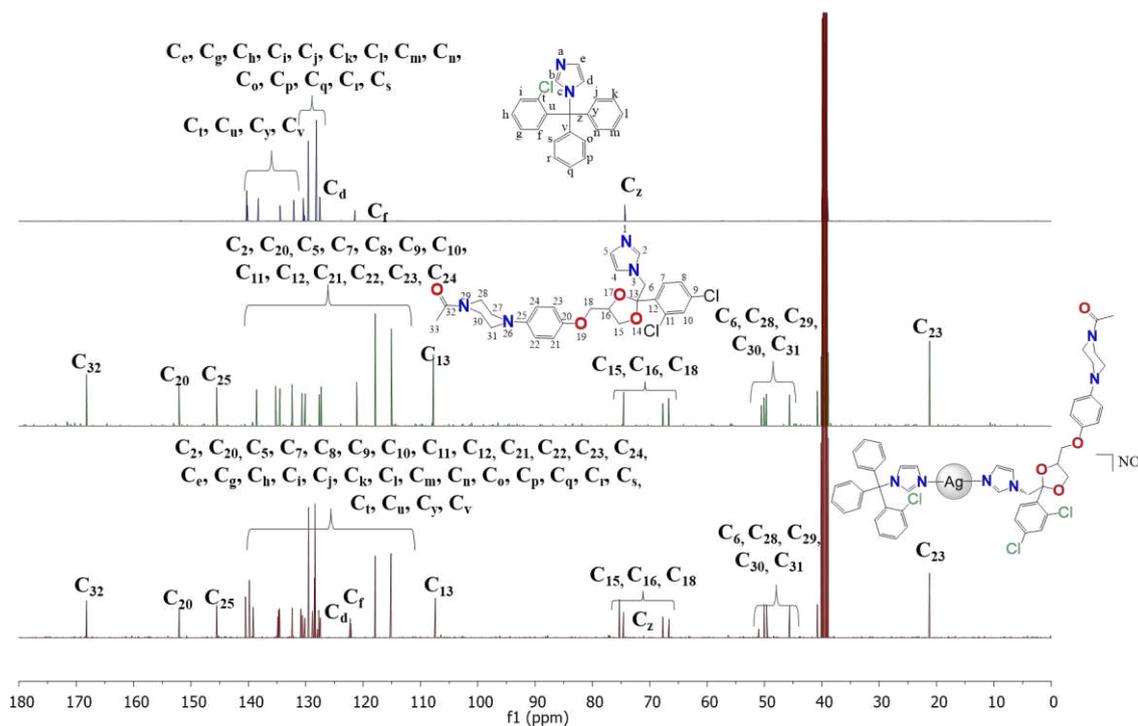
**Figura 37** - Comparação dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos ligantes **CTZ**, **KTZ** e do complexo metálico híbrido **15**.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Em relação aos espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos ligantes **CTZ**, **KTZ** e do complexo metálico híbridos de  $\text{Ag(I)}$  **15** atribuíram-se os mesmos sinais de ressonância encontrados no espectro do **CTZ** e **KTZ** (**Figura 38**), além disso, os carbonos vicinais ao nitrogênio  $\text{N}_1$  sofrem deslocamento para região mais desblindada do espectro, confirmando a coordenação.

**Figura 38** - Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos ligantes **CTZ**, **KTZ** e do complexo metálico híbrido **15** em  $\text{DMSO-d}_6$ .



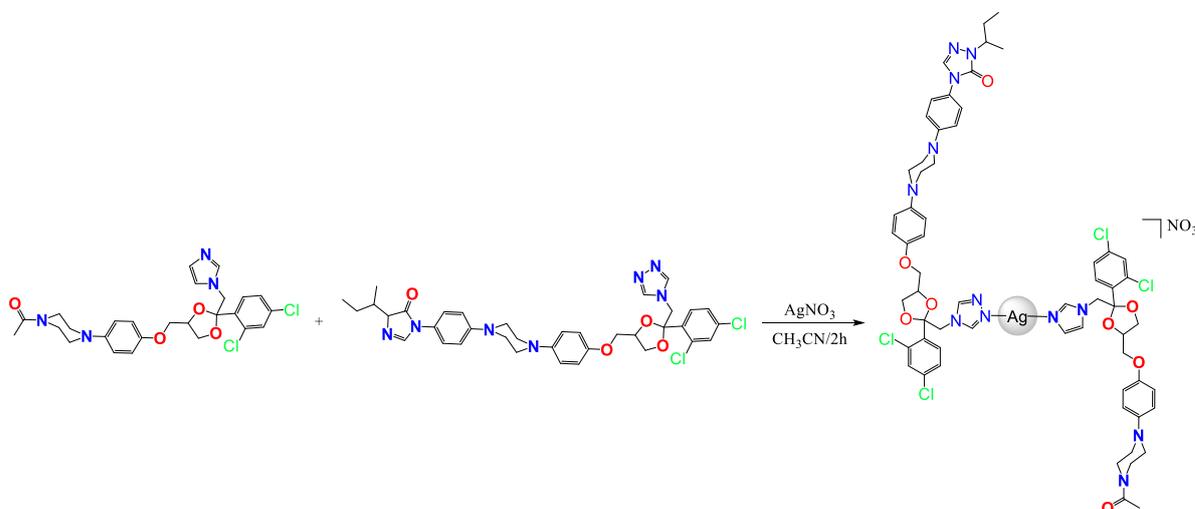
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Além disso, de acordo com os dados obtidos experimentalmente, observou-se que os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio estão de acordo com a estrutura proposta para este complexo metálico híbrido, cujos valores são menores que 1% em relação aos calculados. O valor de condutividade molar indica que o composto é catiônico, no qual o nitrato atua como contra-íon. Com isso, com base em todas as caracterizações já discutidas ao longo dessa sessão, foi possível propor um complexo metálico híbrido de  $\text{Ag(I)}$  de geometria linear, comum aos complexos de  $\text{Ag(I)}$  como os complexos diamagnéticos ( $d^{10}$ )  $[\text{Ag}(\text{KTZ})_2]\text{NO}_3$  e  $[\text{Ag}(\text{CTZ})_2]\text{NO}_3$  (Condé *et al.*, 2023).

#### 4.2.2. Complexo Híbrido 16

De maneira similar, o híbrido  $[\text{Ag}(\text{ITZ})(\text{KTZ})]\text{NO}_3$  (**16**) foi sintetizado como mostra o **Esquema 8**, porém a obtenção do composto dá-se através da complexação do ligante **ITZ** ao íon de  $\text{Ag(I)}$  ao invés do ligante **CTZ**.

**Esquema 8** - Síntese do complexo metálico híbrido [Ag(ITZ)(KTZ)]NO<sub>3</sub> (**16**) pela complexação do **ITZ** e do **KTZ** ao AgNO<sub>3</sub> em acetonitrila por 2h.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

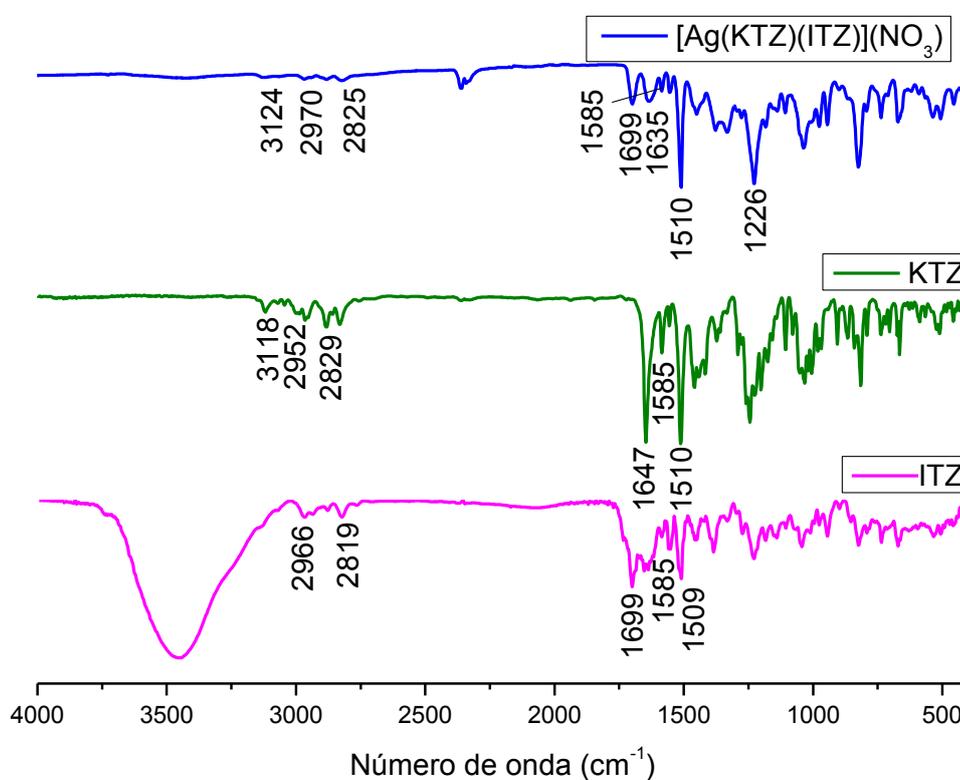
Durante a síntese do complexo metálico híbridos **16**, primeiramente dissolveu-se AgNO<sub>3</sub> em acetonitrila purificada. Em seguida, uma quantidade equimolar de **KTZ** foi dissolvida na mesma acetonitrila e adicionada à solução de AgNO<sub>3</sub>. A mistura reacional foi agitada por uma hora, sem observar quaisquer mudanças visíveis. Após este período, adicionou-se **ITZ** dissolvido em acetonitrila purificada à mistura, mantendo a agitação por mais uma hora. O solvente foi então evaporado até reduzir para um quarto de seu volume inicial. Ao adicionar éter dietílico, um precipitado branco se formou. Este precipitado foi filtrado e lavado com mais éter dietílico para remover resíduos de acetonitrila e outros solventes menos voláteis. Por fim, o sólido obtido foi seco sob vácuo. Durante todo o processo de síntese, precauções foram tomadas para evitar a exposição à luz e à atmosfera de nitrogênio foi mantida.

Uma vez obtido o composto e devidamente purificado, o híbrido **16** foi caracterizado de forma similar ao composto **15**.

Na **Figura 39** encontram-se os espectros de vibraçionais na região do infravermelho obtidos para o híbrido **16** e os ligantes **ITZ** e **KTZ**. No espectro do híbrido **16**, as bandas na região de 3124-2825 cm<sup>-1</sup> foram atribuídas aos estiramentos (νC-H), e observam-se em 1699 e 1635 cm<sup>-1</sup> duas bandas intensas inerentes ao estiramento (νC=O) referentes aos grupamentos carbonílicos característicos dos ligantes **ITZ** e **KTZ**, indicando a presença de ambos na estrutura do híbrido **16**. Em 1585 cm<sup>-1</sup> nota-se uma banda de baixa intensidade que foi atribuída ao estiramento (νC=N) presente nos anéis imidazólico e triazólico que em comparação com o espectro dos ligantes **ITZ** e **KTZ** não se deslocaram significativamente.

Uma banda intensa em  $1510\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída aos estiramentos ( $\nu\text{C}=\text{C}$ ) dos ligantes. A presença do íon nitrato pode ser confirmada pela presença de uma banda em  $1226\text{ cm}^{-1}$  característica de íons nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) não coordenado (Nakamoto, 2009), o que está de acordo com o valor de condutividade molar obtido para o híbrido **16**, confirmando que o composto também é catiônico na proporção eletrolítica 1:1 como o observado também para os complexo  $[\text{Ag}(\text{ITZ})_2](\text{NO}_3)$  e  $[\text{Ag}(\text{KTZ})_2](\text{NO}_3)$  que são dois complexos metálicos de  $\text{Ag}(\text{I})$  lineares e catiônicos reportados na literatura (Stevanović; 2021; Condé *et al.*, 2023).

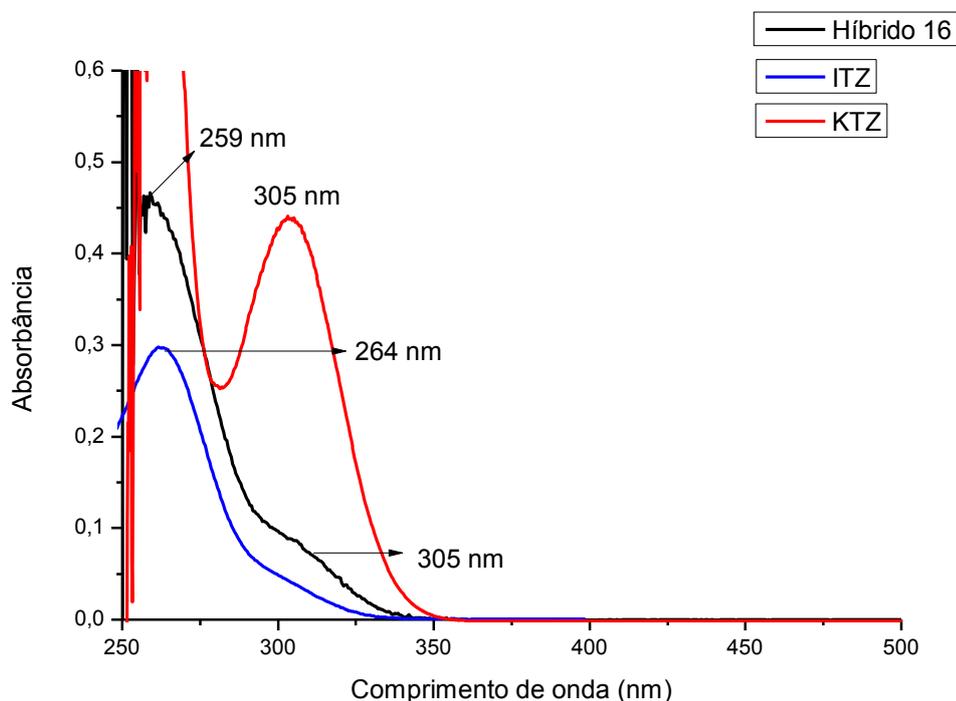
**Figura 39** - Espectros vibracionais na região do infravermelho do complexo metálico híbrido **16** em comparação com os ligantes **ITZ** e **KTZ**.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Os espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido **16** e dos ligantes **ITZ** e **KTZ** obtidos em DMSO (**Figura 40**) mostram uma banda intensa larga em 261 nm com o aparecimento de um ombro em torno de 306 nm. Essas bandas estão associadas as bandas dos ligantes **ITZ** e **KTZ** respectivamente atribuídas ambas as transições  $\pi\text{-}\pi^*$  que, assim como o complexo metálico híbridos **16**, estão atreladas à presença de elétrons  $\pi$  provenientes de duplas ligações dos anéis aromáticos presentes nos ligantes, o que evidencia a presença deles na espera de coordenação do íon de  $\text{Ag}(\text{I})$ .

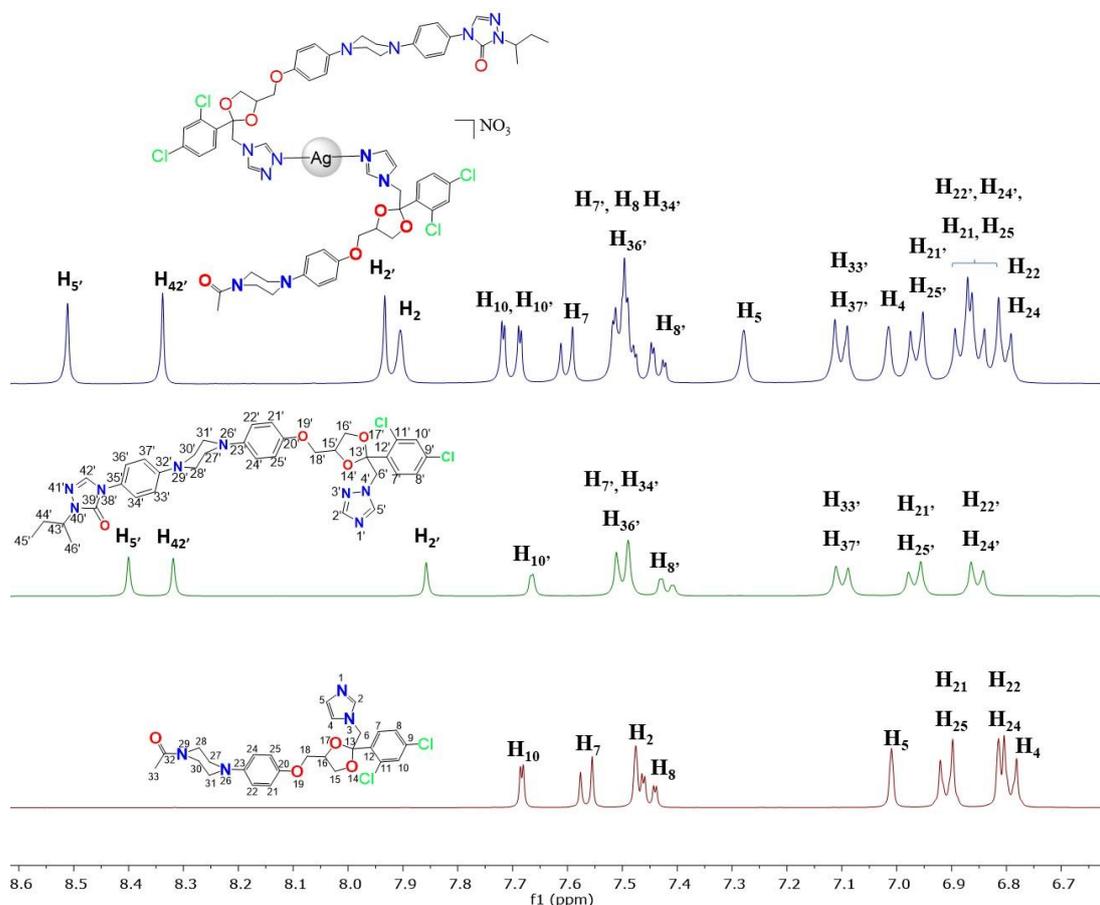
**Figura 40** - Espectros eletrônicos na região do UV-Vis do complexo metálico híbrido **16** e dos ligantes **ITZ** e **KTZ** em DMSO.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Ao analisar os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  obtidos em  $\text{DMSO-d}_6$ , (**Figura 41**) notou-se todos os sinais correlacionados aos ligantes **KTZ** e **ITZ**. Para um melhor entendimento, os hidrogênios do **KTZ** e **ITZ** foram numerados com números ordinais, porém os hidrogênios do **ITZ** representados como  $\text{H}_n'$ . Em sequência, verificaram-se significativos deslocamentos químicos dos prótons imidazólicos  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_4$  e  $\text{H}_5$  para uma região mais desblindada do espectro em relação ao ligante livre, sendo essa variação de 0,42 ppm, 0,26 ppm e 0,21 ppm respectivamente e 0,11 ppm, 0,07 ppm para os hidrogênios triazólicos  $\text{H}_2'$ ,  $\text{H}_5'$  respectivamente. O deslocamento dos sinais inerentes aos hidrogênios azólicos vicinais ao nitrogênio  $\text{N}_1$  indica que tanto o **KTZ** quanto o **ITZ** se coordenaram ao íon de  $\text{Ag(I)}$ , indicando fortemente a formação do híbrido **16**. Por conseguinte, a somatória das integrais relativas aos sinais dos prótons do **KTZ** e **ITZ** sugerem que, de forma análoga ao híbrido **15**, o composto **16** também contém um ligante **KTZ** e um ligante **ITZ** coordenados ao  $\text{Ag(I)}$ .

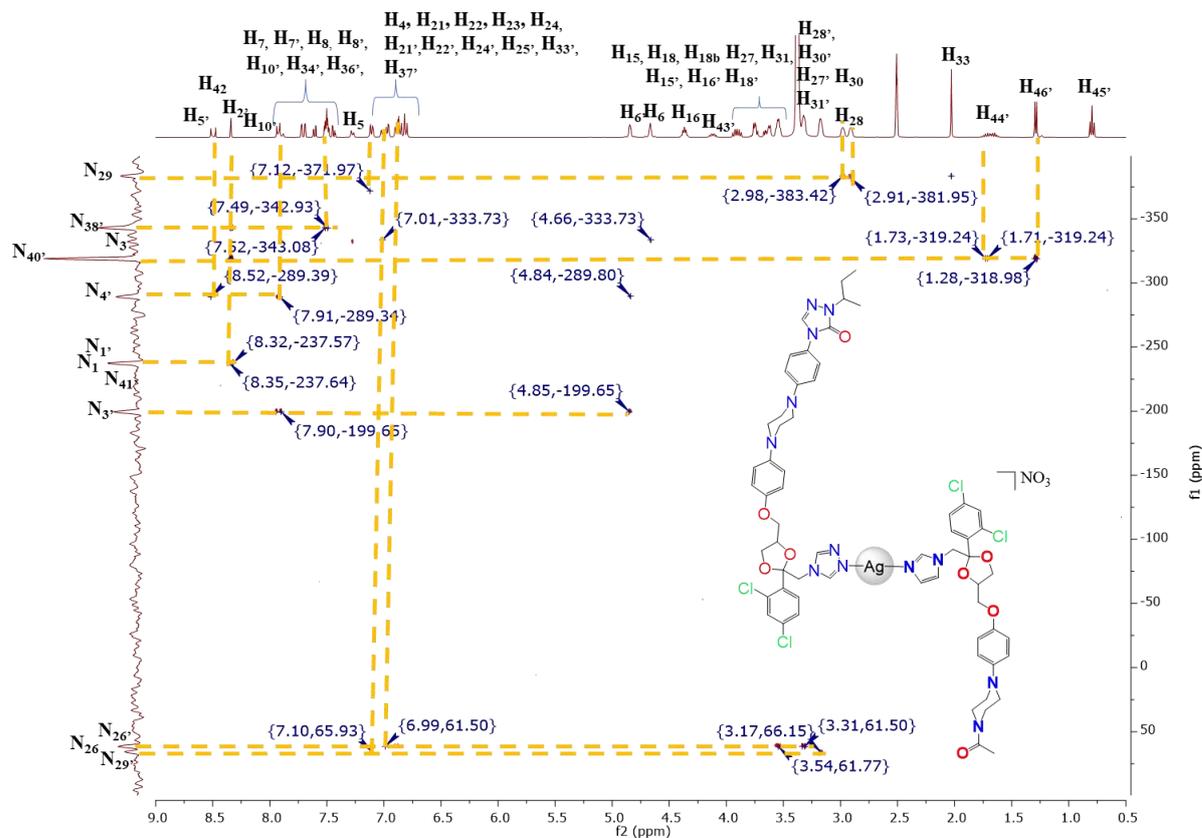
**Figura 41** - Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos ligantes **ITZ**, **KTZ** e do complexo metálico híbrido **16** na região entre 6,6 e 8,6 ppm.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

O mapeamento HMBC de  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  foi realizado com a finalidade de auxiliar na elucidação dos prótons atribuídos para o composto metálico híbrido **16**. A **Figura 42** mostra os espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{15}\text{N}$  onde é possível observar as correlações entre os hidrogênios do complexo metálico híbrido **16** e os átomos de nitrogênio. Notou-se então que os hidrogênios imidazólicos  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_4$  e  $\text{H}_5$  do **KTZ** acoplam com os nitrogênios  $\text{N}_1$  e  $\text{N}_3$  ao comparar com os espectros dos ligantes livres que se encontram no **Apêndice C**. Adicionalmente, percebeu-se que os prótons dos anéis triazólicos do **ITZ**  $\text{H}_2'$  e  $\text{H}_5'$  acoplam com os nitrogênios  $\text{N}_1'$ ,  $\text{N}_3'$  e  $\text{N}_4'$ . Embora foram observados deslocamentos significativos dos sinais inerentes aos hidrogênios azólicos nos espectros de RMN de  $^1\text{H}$ , não são observáveis deslocamentos significativos dos sinais dos nitrogênios ao comparar com os espectros dos ligantes.

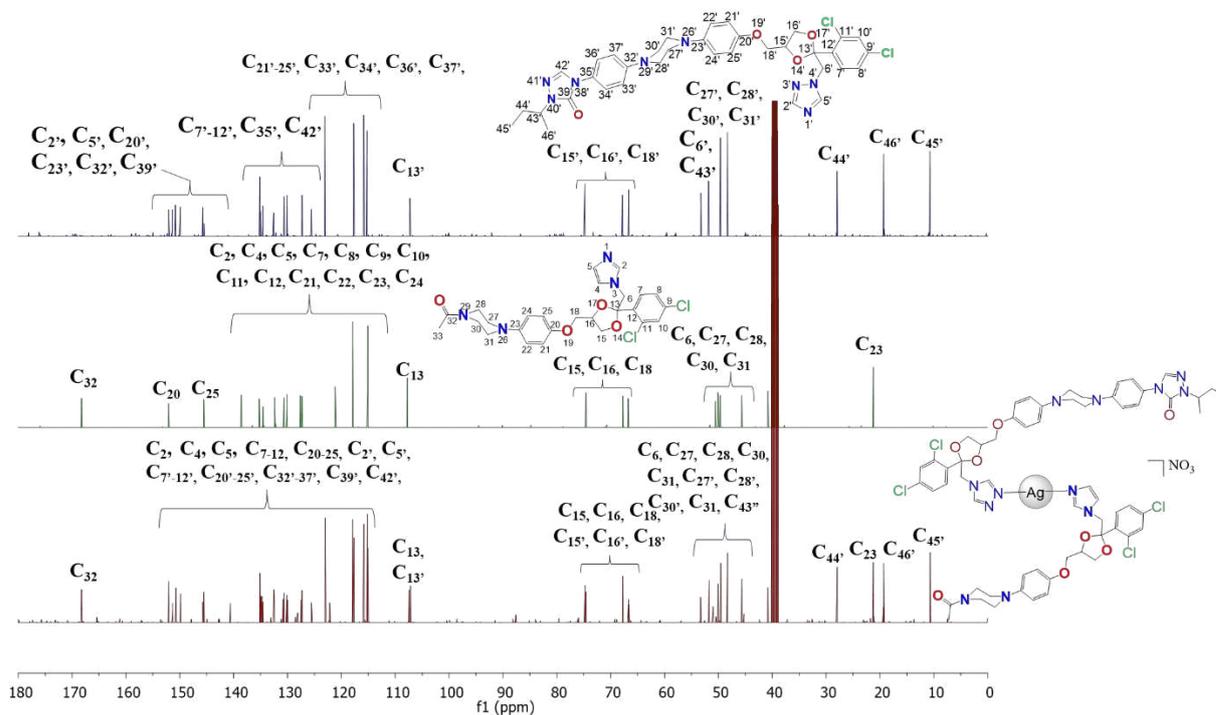
**Figura 42** - Mapa HMBC de  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) do complexo metálico híbrido **16**.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Na **Figura 43** podem ser encontrados os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  do híbrido **16**, além dos respectivos ligantes **ITZ** e **KTZ**. Após analisar os espectros cuidadosamente, observou-se todos os sinais de ressonância dos ligantes **KTZ** e **ITZ** encontram-se também no espectro do composto **16** os quais foram devidamente atribuídos, além de apresentarem deslocamentos significativos dos carbonos  $\text{C}_2$ ,  $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_2'$  e  $\text{C}_5'$  para uma região menos blindada do espectro, indicando que houve a formação do complexo metálico híbridos **16**.

**Figura 43** - Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  dos ligantes **ITZ**, **KTZ** e do complexo metálico híbrido **16** em em DMSO- $d_6$ .



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

A partir dos dados analíticos de teor de carbono, hidrogênio e oxigênio (CHN) que foram obtidos para esses dois híbridos de Ag(I) (**15** e **16**) e os quais apresentam diferença inferior a 0,90% entre os valores calculados e os obtidos, verificou-se que eles convergem para os valores teóricos e calculados para a fórmula molecular sugerida (**Tabela 7**). Com isso, proporam-se dois complexos metálicos híbridos nos quais, para o composto **15** temos uma estrutura linear com os ligantes **CTZ** e **KTZ** coordenados ao íon Ag(I) enquanto para o composto **16** os ligantes **KTZ** e **ITZ** estão coordenados ao íon metálico. No que tange aos valores apresentados para os híbridos **15** e **16** através da condutividade molar desses compostos, eles também corroboram as estruturas sugeridas, confirmando a proposta de duas estruturas catiônicas nas quais o íon nitrato atua como contraíon desses compostos de coordenação, sendo então eletrólitos 1:1 como os complexos  $[\text{Ag}(\text{CTZ})_2](\text{NO}_3)$ ,  $[\text{Ag}(\text{KTZ})_2](\text{NO}_3)$  e  $[\text{Ag}(\text{ITZ})_2](\text{NO}_3)$  mencionados nas sessões anteriores que estão reportados na literatura (Stevanović; 2021; Condé *et al.*, 2023).

**Tabela 7** - Dados analíticos dos complexos metálicos híbridos **15** e **16**.

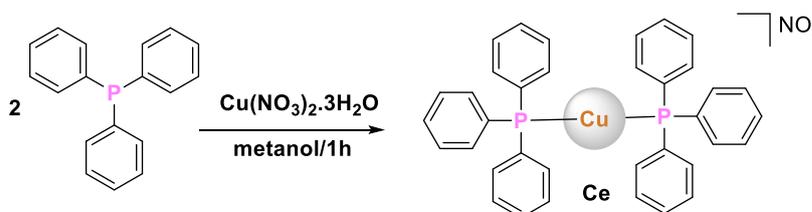
Composto	Análise Elementar			$\Lambda$ (DMSO)**	Geary Faixa (1:1)
	%C (%C*)	%N (%N*)	%H (%H*)		
C <sub>52</sub> H <sub>53</sub> Cl <sub>3</sub> N <sub>9</sub> O <sub>8</sub> Ag ( <b>15</b> )	54,44 (54,03)	4,62 (4,62)	10,99 (11,08)	32,54	50-70
C <sub>61</sub> H <sub>69</sub> Cl <sub>4</sub> N <sub>13</sub> O <sub>11</sub> Ag ( <b>16</b> )	50,24 (50,79)	4,81 (4,61)	12,74 (13,26)	35,54	

\*experimental (calculado); \*\* $\text{ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$ ;

Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

#### 4.3. SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DO COMPLEXO METÁLICO de Cu(I)

Para a síntese do complexo de Cu(I) foi sintetizado o complexo precursor de Cu(I),  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2](\text{NO}_3)$  (**Ce**) sintetizado a partir da redução do Cu(II) numa reação entre a trifenilfosfina ( $\text{PPh}_3$ ) e o nitrato de cobre(II) trihidratado de acordo com o **Esquema 9**.

**Esquema 9** - Síntese do complexo precursor  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2]\text{NO}_3$  (**Ce**).

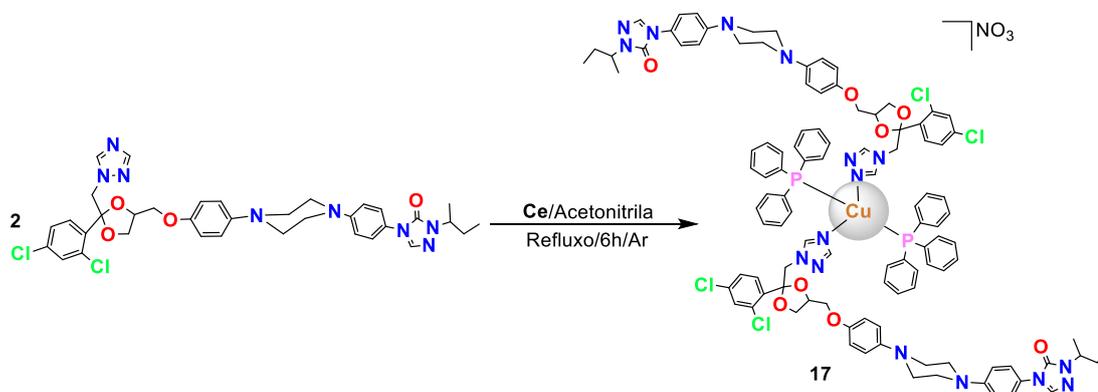
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

##### 4.3.1. $[\text{Cu}(\text{ITZ})_2(\text{PPh}_3)_2] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Na literatura, foram descritos trabalhos sobre a síntese de complexos fosfínicos de Cu(I), nomeadamente  $[\text{Cu}(\text{CTZ})_2(\text{PPh}_3)_2]\text{NO}_3$  e  $[\text{Cu}(\text{KTZ})_2(\text{PPh}_3)_2]\text{NO}_3$ , que exibiram atividades fungicidas promissoras (Gagini *et al.*, 2018). Além disso, o complexo  $[\text{Cu}(\text{BZN})_2(\text{PPh}_3)_2]\text{NO}_3$  demonstrou atividade trypanosomicida (de Souza *et al.*, 2022). Considerando que os complexos fosfínicos contendo ligantes imidazólicos exibiram notáveis propriedades, este estudo inclui a

síntese de  $[\text{Cu}(\text{ITZ})_2(\text{PPh}_3)_2]\text{NO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (**17**). Esse complexo foi obtido por meio da complexação do **ITZ** com o complexo  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{NO}_3)]$ , conforme indicado no **Esquema 10**.

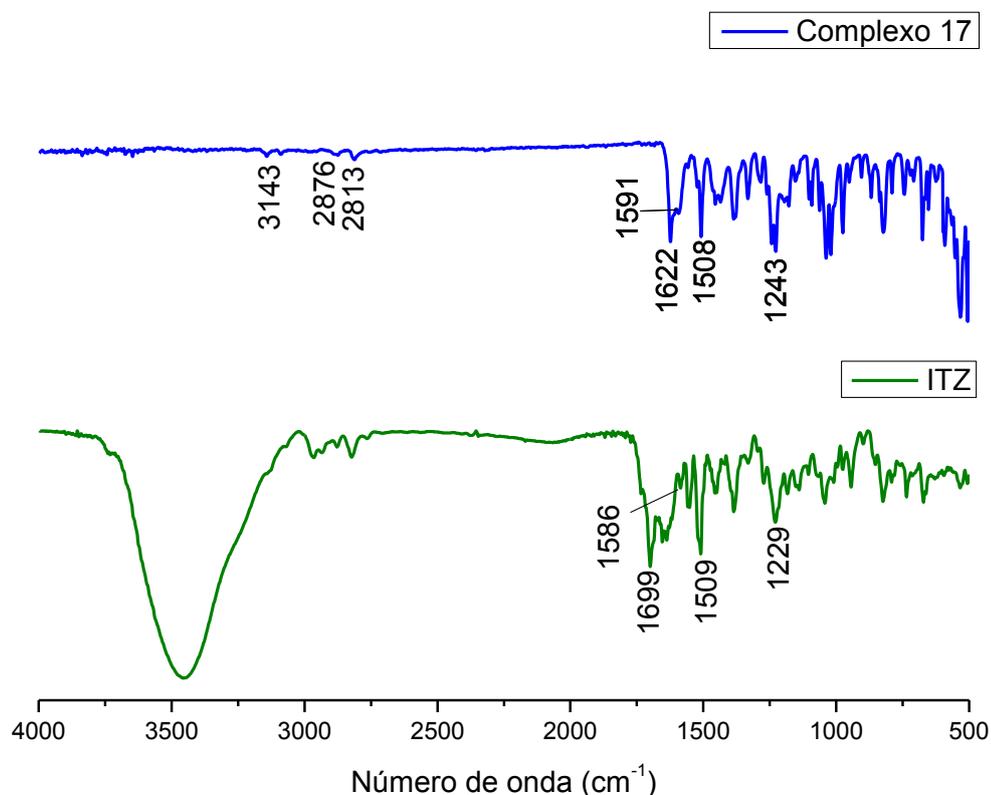
**Esquema 10** - Síntese do novo complexo  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{ITZ})_2]\text{NO}_3$  (**17**).



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

O espectro vibracional do complexo **17** (**Figura 44**) mostra frequências claramente associadas aos grupos funcionais característicos do ligante **ITZ**. As bandas na região de  $3124\text{--}2970\text{ cm}^{-1}$  foram atribuídas aos estiramentos ( $\nu\text{C-H}$  aromático) e em  $2825\text{ cm}^{-1}$  aos estiramentos ( $\nu\text{C-H}$  alifático). Além disso, observa-se em  $1699\text{ cm}^{-1}$  e uma banda intensa inerente ao estiramento ( $\nu\text{C=O}$ ) referente aos grupamentos carbonílicos que são característicos do ligante **ITZ**, que sugere a presença dele na estrutura do complexo **17**. Em  $1585\text{ cm}^{-1}$  nota-se uma banda de baixa intensidade que foi atribuída ao estiramento ( $\nu\text{C=N}$ ) presente nos anéis imidazólicos e triazólicos que em comparação com o espectro do ligante **ITZ** não se deslocaram significativamente. Uma banda intensa em  $1510\text{ cm}^{-1}$  foi atribuída aos estiramentos ( $\nu\text{C=C}$ ) dos ligantes. Já a presença do grupo nitrato como contra-íon pode ser confirmada pela presença de uma banda em  $1226\text{ cm}^{-1}$  característica de íons nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) não coordenados (Nakamoto, 2009), o que está em acordo com o valor de condutividade molar obtido para o complexo **17**, confirmando que o composto também é catiônico na proporção eletrolítica 1:1 como o observado também para complexos de Cu(I) contendo ligantes imidazólicos onde o composto é um complexo de geometria tetraédrica e apresenta características semelhantes (Vilarreal, *et al.*; 2021).

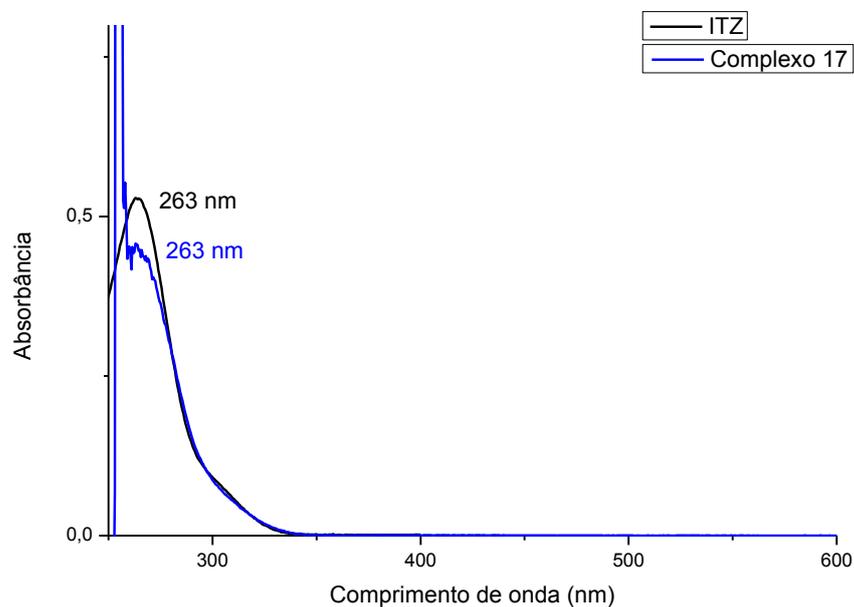
**Figura 44** - Espectros vibracionais na região do infravermelho do complexo metálico **17** em comparação com o ligante **ITZ**.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Os espectros eletrônicos do complexo **17** são essencialmente análogos ao do ligante livre e são caracterizados por intensas bandas de absorção em 263 nm típicas das transições  $\pi$ - $\pi^*$  que foram atribuídas ao ligante **ITZ** e a trifenilfosfina (**Figura 45**). Embora não se observaram diferenças nas bandas, pode-se inferir que tanto o **ITZ** quanto a trifenilfosfina estão presentes na estrutura do complexo.

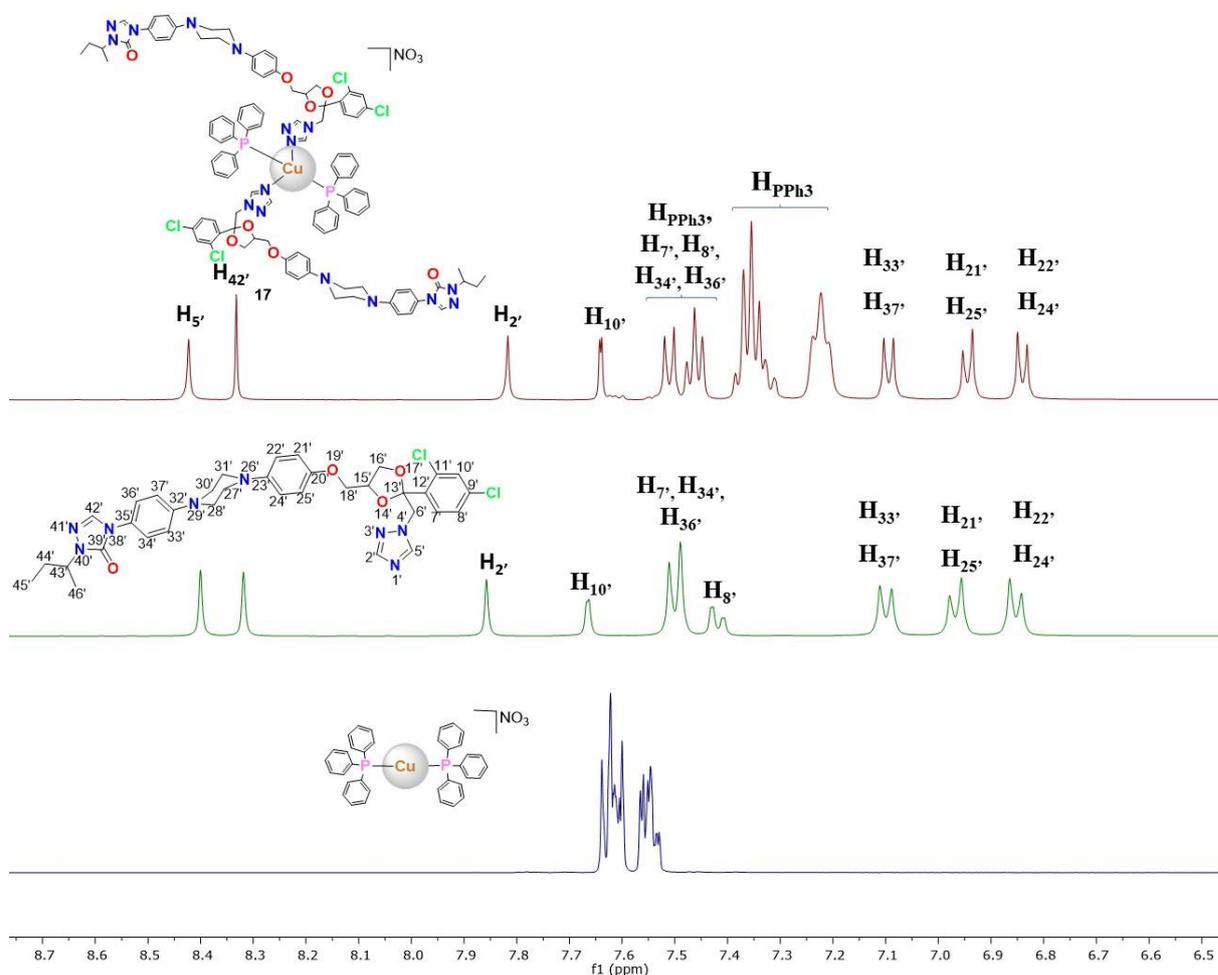
**Figura 45** - Espectros eletrônicos na região do UV-Vis do complexo metálico **17** e do **ITZ** em DMSO.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  do complexo **17** mostra os sinais característicos do **ITZ** coordenado ao íon de Cu(I) pelo átomo  $\text{N}_1$  não substituído, um bom átomo doador nesta molécula. As maiores variações ( $\Delta\delta$ ) são sempre observadas para os prótons localizados nas proximidades do átomo de nitrogênio coordenado ao metal. É importante ressaltar que os hidrogênios triazólicos  $\text{H}_2$  e  $\text{H}_5$  são deslocados para uma região mais desblindada do espectro em 0,03 e 0,02 ppm, respectivamente, em comparação com a **ITZ** livre. Além disso, a integral relativa dos sinais para os prótons fenílicos dos ligantes fosfínicos indica que a razão  $\text{PPh}_3:\text{ITZ}$  é de 2:2. (**Figura 46**).

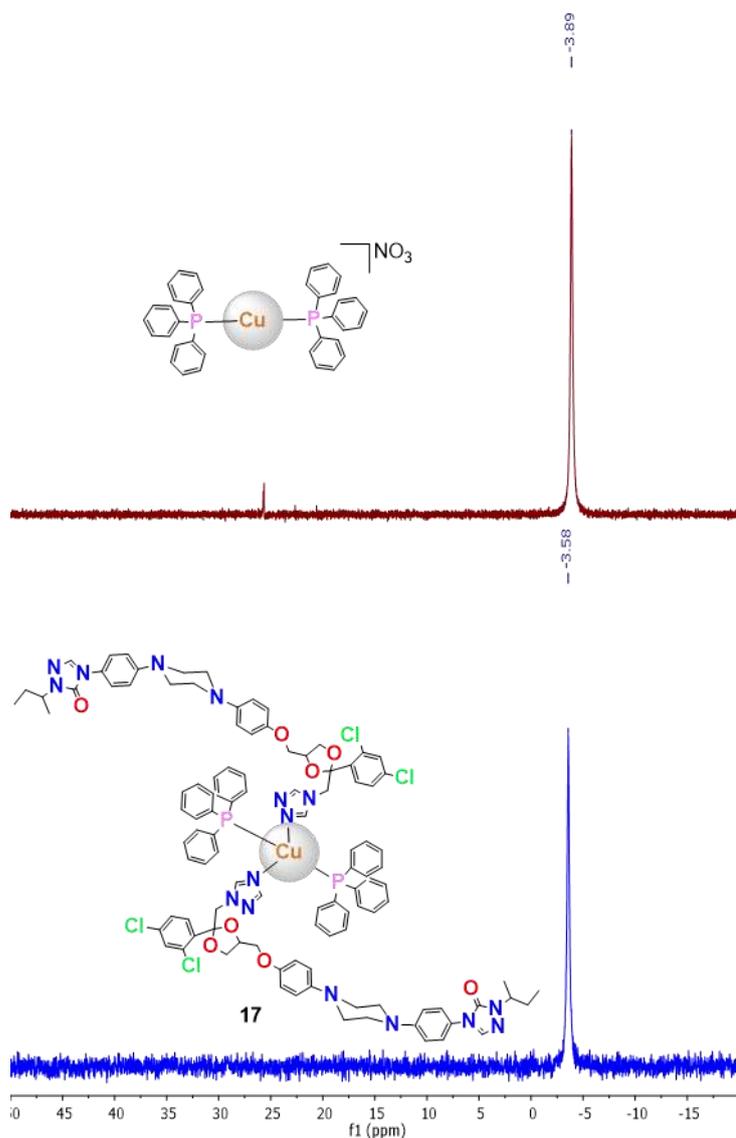
**Figura 46** - Espectros de RMN  $^1\text{H}$  do complexo metálico **17** do ITZ, o complexo precursor  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2]\text{NO}_3$  sobrepostos obtidos em  $\text{DMSO-d}_6$  entre 6,0 ppm e 8,8 ppm.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Na **Figura 47** encontram-se os espectros de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo metálico híbrido **17** e do complexo de partida  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2]\text{NO}_3$ . Ao analisar o espectro, observou-se um sinal centrado em -3,58 ppm. Esse sinal foi atribuído ao átomo de fósforo presente nos dois ligantes trifenilfosfina presente no composto. Ao compará-lo ao espectro do complexo de partida  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2]\text{NO}_3$ , notou-se que esse sinal aparece deslocado em 0,31 ppm o que indica a formação do composto. Além disso, não são observados outros sinais no espectro, o que indica que o complexo metálico híbrido **17** não apresenta traços de óxido de trifenilfosfina.

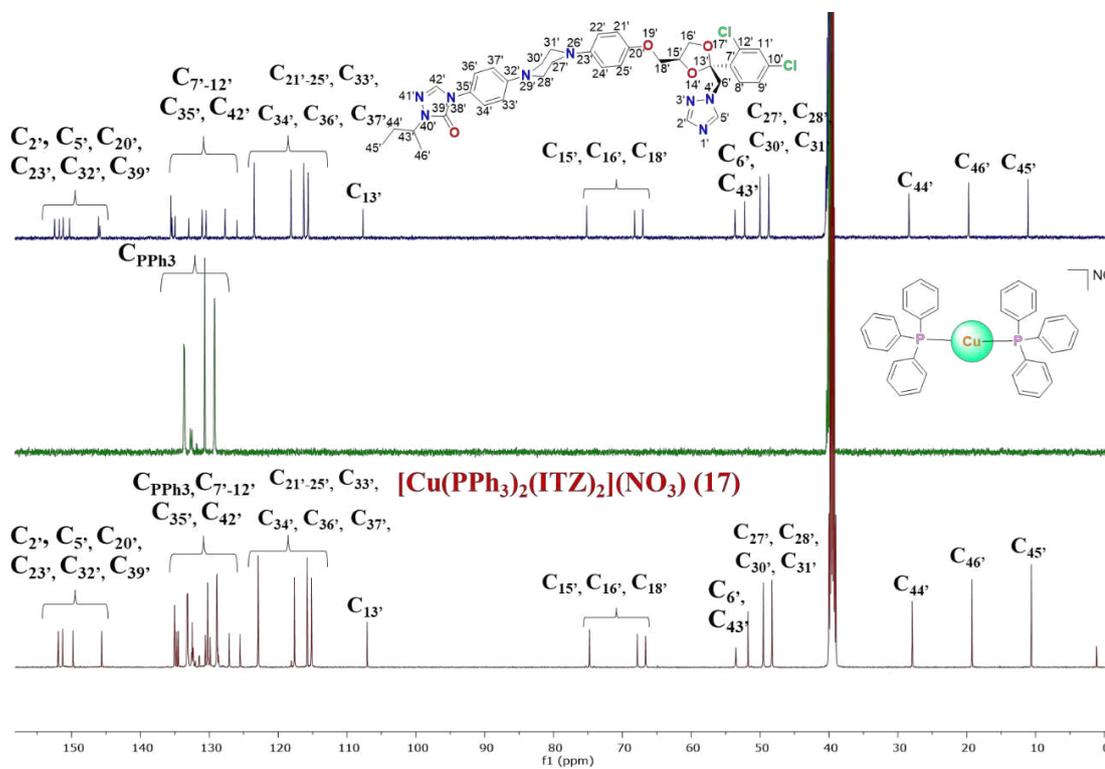
**Figura 47** - Espectros de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  em  $\text{DMSO-}d_6$  do complexo **17** comparado com o complexo  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2](\text{NO}_3)$ .



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Na **Figura 48** podem ser encontrados os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  do complexo **17** além dos espectros dos respectivos ligantes **ITZ** e **PPh<sub>3</sub>**. Após analisar os espectros cuidadosamente, observaram-se todos os sinais de ressonância dos ligantes **ITZ** e **PPh<sub>3</sub>** os quais foram devidamente atribuídos, além de apresentarem deslocamentos significativos dos carbonos  $\text{C}_2$  e  $\text{C}_5$  para uma região menos blindada do espectro, indicando que houve a formação do complexo fosfínico **17**.

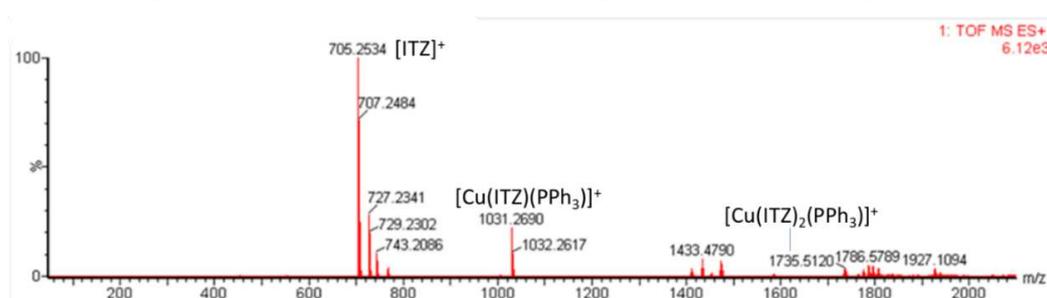
**Figura 48** - Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  do ligantes ITZ e dos complexos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2](\text{NO}_3)$  e do complexo metálico **17** em  $\text{DMSO-d}_6$ .



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Além disso, o espectro de ESI-MS do complexo **17** foi obtido para ajudar a elucidar sua estrutura. Na **Figura 49**, embora não foi observado o pico do íon molecular, pode-se obter informações importantes sobre a estrutura do complexo analisando os picos relacionados a fragmentos importantes do composto. Em 1735,51(1735,50)  $m/z$  e 1031,2690 (1031,26)  $m/z$  são observados os fragmentos  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)(\text{ITZ})_2]^+$  e  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)(\text{ITZ})]^+$  respectivamente, que indicam fortemente a presença de pelo menos um ligante fosfínico e um ITZ, indicando que o composto pode ter sido obtido da forma esperada.

**Figura 49** - Espectro de massas de alta resolução por ESI-MS do complexo metálico **17**.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Com base nos dados obtidos através das caracterizações apresentadas, sugere-se que o complexo **17** é um composto tetracoordenado, contendo dois ligantes **PPh<sub>3</sub>** e dois ligantes **ITZ** coordenados ao íon de Cu(I) compatível com uma geometria tetraédrica, típica de íons metálicos com todos os orbitais d preenchidos. Além disso, os valores observados partir dos valores de análise elementare (CHN) estão de acordo com a fórmula molecular proposta para o complexo o qual apresenta valores de condutividade molar obtidos em DMSO na faixa de eletrólito 1:1, e indicam que um íon nitrato está fora da esfera de coordenação como nos complexos [Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(CTZ)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>NO<sub>3</sub>, [Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(KTZ)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>NO<sub>3</sub> e [Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(BZN)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>NO<sub>3</sub> (Gagini *et al.*, 2018; de Souza *et al.*, 2022).

#### 4.4. ESTUDOS DE INTERAÇÃO COM DNA

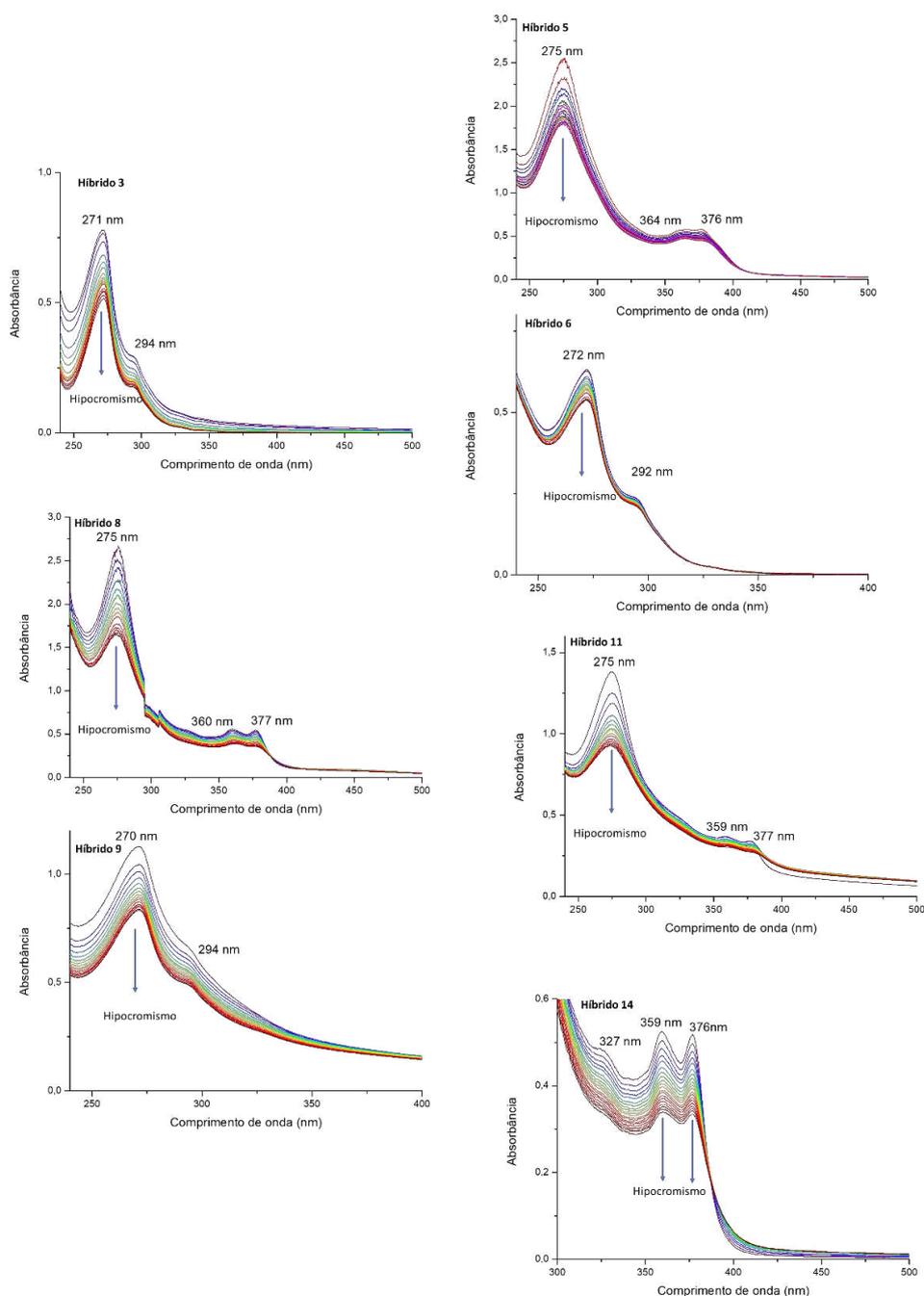
Sabe-se que compostos como a 1,10-fenantrolina (**phen**), e a dipiridofenazina (**dppz**) são moléculas orgânicas planas que possuem a capacidade de intercalarem com o DNA pelas bases nitrogenadas através de interações de empacotamento  $\pi$ - $\pi$ . Tal propriedade já foi demonstrada em trabalhos anteriores nos quais esses ligantes foram combinados a íons metálicos como Ru(II), Au(III), Ir(II), Cu(I) e Cu(II) (Haq *et al.*, 1995; Navarro *et al.*, 2007; Schafer, Sheldrick, 2007; Rajendiran *et al.*, 2007; Jia, 2016). Dessa maneira, neste trabalho foram realizados os estudos de interação dos híbridos de cobre(II) contendo ligantes planos (**3-14**), através de técnicas espectroscópicas como titulações espectrofotométricas e fluorescência, ensaios hidrodinâmicos (viscosidade) e mobilidade eletroforética.

##### 4.4.1. Titulação espectrofotométricas

As titulações espectrofotométricas foram empregadas para investigar mudanças espectrais quando soluções contendo os complexos metálicos híbridos de Cu(II) entram em contato com o DNA. Entretanto, com essa técnica é possível apenas avaliar possíveis interações reversíveis entre essa biomolécula e os compostos aqui apresentados. Dessa forma, foi possível avaliar o comportamento dos híbridos [Cu(phen)(CTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·3H<sub>2</sub>O (**3**), [Cu(dppz)(CTZ)(NO<sub>3</sub>)(H<sub>2</sub>O)](NO<sub>3</sub>)·2H<sub>2</sub>O (**5**), [Cu(phen)(KTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·2H<sub>2</sub>O·C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O (**6**), [Cu(dppz)(KTZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·2H<sub>2</sub>O (**8**), [Cu(phen)(ITZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·2,2H<sub>2</sub>O (**9**), [Cu(dppz)(ITZ)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (**11**), {[Cu(phen)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O (**12**), {[Cu(dppz)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·

$3\text{CH}_3\text{OH} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**14**) em presença de DNA variando sua concentração, em tampão trisma HCl em pH 7,4. A cada adição, foram obtidos os espectros de absorção por UV-vis de 200 a 500 nm. Tais espectros se encontram na **Figura 50**.

**Figura 50** - Espectros eletrônicos das titulações espectrofotométricas dos complexos metálicos híbridos **3**, **5**, **6**, **8**, **9**, **11** e **14** com o CT-DNA. A concentração do DNA variou de 0 a  $45 \mu\text{M}$ .



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Os espectros de absorção apresentados anteriormente mostram que para todos os híbridos metálicos de Cu(II), foi observado um efeito hipocrômico, que define-se como a diminuição da absorbância com o acréscimo das concentração de CT-DNA. Após a realização do experimento, foi possível calcular as constantes de interação  $K_b$  que se encontram na **Tabela 8** utilizando a **Equação 1**.

**Tabela 8** - Dados das titulações: Constantes de interação  $K_b$ , comprimento de onda (nm), Hipocromismo (%) e Batocromismo.

Complexo	$K_b$ ( $10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L}$ )	$\lambda$ (nm)	Hipocromismo (%)	Batocromismo (nm)
<b>3</b>	3,22	272	33,95	0,4
<b>5</b>	8,4	274	37,28	1,4
<b>6</b>	2,25	272	16,90	1,2
<b>8</b>	2,09	274	38,21	1,8
<b>9</b>	11,1	270	27,2	1,2
<b>11</b>	5,85	275	32,76	1,6
<b>12</b>	-	271	4,79	0
<b>14</b>	2,21	360	29,71	3,0

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Com base nesses dados, observou-se que o híbrido **8** apresentou o maior efeito de hipocromismo da banda centrada em 274 nm. Além disso, notou-se um ponto isobéptico nos espectros dos híbridos **5**, **8**, **11** e **14** que sugere que o composto passa por uma espécie intermediária neste ponto, e tal fato pode evidenciar a presença de uma interação reversível complexo-DNA. A fim de se obter um parâmetro mensurável para definir a presença ou ausência de interação reversível entre os híbridos metálicos de Cu(II) e o CT-DNA, as constantes de interação ( $K_b$ ) foram calculadas para cada híbrido metálico utilizando-se a equação **1** que encontra-se na sessão experimental.

Todos os compostos analisados frente a técnica apresentaram valores de constantes de interação intrínseca  $K_b$  superiores a  $10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ , que são consistentes com interações moderadas entre complexo metálico-DNA, comparável com o que foi observado para o complexo  $[\text{Cu}(\text{dppz})_2]^+$  (Navarro, *et al.*; 2003) o que pode estar relacionado com o fato de que todos os híbridos de Cu(II) possuem ligantes que atuam diretamente no DNA. Além disso, os híbridos

**5, 9 e 11** apresentaram os maiores valores de constantes. As constantes  $K_b$  calculadas mostram a seguinte tendência  $9 > 5 > 11 > 3 > 6 > 14 > 8$ .

No presente trabalho, não foi possível obter as constantes de interação intrínsecas  $K_b$  dos complexos metálicos híbridos **4, 7, 10, 12 e 13** pois não foi possível realizar o experimento pela ausência de uma banda que fosse adequada para ser monitorada.

De acordo com esses dados, é possível sugerir que os híbridos metálicos de Cu(II) aqui apresentados interagem de forma reversível com o DNA, porém não se pode inferir de forma definitiva qual é o modo de interação deles com este biopolímero. Como foi anteriormente dito, informações retiradas de titulações espectroscópicas fornecem dados importantes e essenciais no que diz respeito a ocorrência da interação de complexos metálicos com o DNA. Entretanto, outras metodologias são necessárias para fornecer maiores evidências sobre os possíveis modos de interação, como ensaios hidrodinâmicos que permitem mensurar a viscosidade do DNA assim como ensaios de mobilidade eletroforética que serão discutidos a seguir.

#### **4.3.2. Viscosidade**

Os experimentos que permitem medir as variações de viscosidade relativa do DNA em solução têm sido utilizados com sucesso e se trata de técnicas muito sensíveis às mudanças na dupla hélice desta biomolécula. Além de ser uma técnica de baixo custo, por meio deste experimento, é possível identificar, na maioria dos casos, interações do tipo intercalativas devido ao alongamento deste biopolímero, assim como seu enrijecimento e abertura da dupla hélice (Biebricher *et al.*, 2015). Entretanto em alguns casos, como a cisplatina, a viscosidade do DNA diminui devido a ligações covalentes que causam o empacotamento da estrutura do DNA. Interações pelos sulcos tendem a não alterar a viscosidade do DNA, porém em alguns casos, interações eletrostáticas e interações pelos fosfatos podem diminuir a viscosidade do DNA (Kellet *et al.*, 2019).

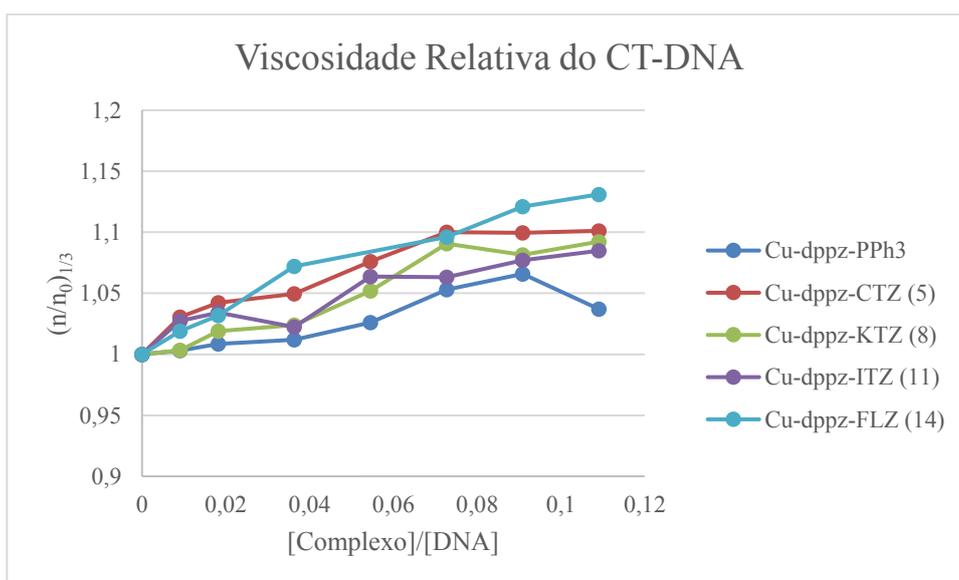
As medidas de viscosidade foram realizadas em tampão Tris-HCl 5 mM (pH 7.2), 50 mM NaCl de maneira que se mantenham condições fisiológicas. Utilizou-se DNA de timo de vitelo (CT-DNA), devido à sua semelhança com o DNA humano, quando se considera a proporção dos pares de bases nitrogenadas e devido à sua estrutura enovelada, o que permite observar com maior sensibilidade mudanças físico-químicas na solução de DNA.

Para os experimentos utilizou-se o composto  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{dppz})](\text{NO}_3)$  como composto de referência, conhecido por ser um excelente intercalador (Reha *et al.*, 2003). Foram

preparadas soluções estoque dos complexos metálicos [Cu(phen)(CTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·3H<sub>2</sub>O (**3**), [Cu(diona)(CTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·5H<sub>2</sub>O (**4**), [Cu(dppz)(CTZ)(NO<sub>3</sub>)(H<sub>2</sub>O)](NO<sub>3</sub>)·2H<sub>2</sub>O (**5**), [Cu(phen)(KTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·2H<sub>2</sub>O·C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O (**6**), [Cu(diona)(KTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·4H<sub>2</sub>O (**7**), [Cu(dppz)(KTZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·2H<sub>2</sub>O (**8**) [Cu(phen)(ITZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·2,2H<sub>2</sub>O (**9**), [Cu(diona)(ITZ)(NO<sub>3</sub>)(H<sub>2</sub>O)](NO<sub>3</sub>)·5H<sub>2</sub>O (**10**), [Cu(dppz)(ITZ)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (**11**), {[Cu(phen)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O (**12**), {[Cu(diona)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O (**13**), {[Cu(dppz)(FLZ)(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3CH<sub>3</sub>OH·2H<sub>2</sub>O (**14**) em DMSO à uma concentração de 10<sup>-2</sup>M. O experimento foi realizado de forma que a concentração dos complexos metálicos híbridos foi incrementada mantendo-se a concentração do CT-DNA constante.

Após isso, avaliou-se o tempo de escoamento, pelo qual a solução leva para passar entre os dois meniscos do viscosímetro pelo menos 5 vezes. Obtidos então os tempos de escoamento ao incrementar-se a concentração do composto em questão, construiu-se o gráfico de viscosidade relativa pela razão das concentrações do composto em estudo e o DNA (**Gráfico 1**).

**Gráfico 1** - Efeito do aumento da concentração dos complexos metálicos híbridos **5, 8, 11, 14** na viscosidade relativa do CT-DNA a 25 °C.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Ao observar o gráfico, percebe-se que a viscosidade relativa do CT-DNA aumentou conforme incrementou-se a concentração dos híbridos **5**, **8**, **11** e **14**, como resultado do alongamento da dupla hélice devido a intercalação desses complexos metálicos híbridos pelos pares de base. O aumento da viscosidade do DNA causado pelos complexos metálicos híbridos **5**, **8**, **11** e **14** sugere que ocorre a intercalação desses compostos com esse biopolímero, o que também foi observado para o composto de referência  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{dppz})](\text{NO}_3)$ . O mesmo experimento foi realizado para os demais complexos metálicos híbridos (**Apêndice D**), e foi observado que a viscosidade relativa do DNA aumenta com o tempo, porém uma diminuição da viscosidade é observada para concentrações mais altas, que pode estar associado à clivagem do DNA causada pelos complexos metálicos híbridos de Cu(II) (Kellett, *et al.* 2019). O mesmo padrão tem sido reportado para outros complexos metálicos contendo ligantes planos como os de Ru(II), Au(III), Ir(II), Cu(I) e Cu(II) (Haq *et al.*, 1995; Navarro *et al.*, 2007; Schafer, Sheldrick, 2007; Rajendiran *et al.*, 2007; Jia, 2016). Estes resultados indicam que os complexos metálicos híbridos aqui estudados **3-14** podem intercalar entre os pares de bases, o que está consistente com os resultados obtidos através das titulações espectrofotométricas.

#### 4.4.3. Eletroforese de DNA em gel de agarose

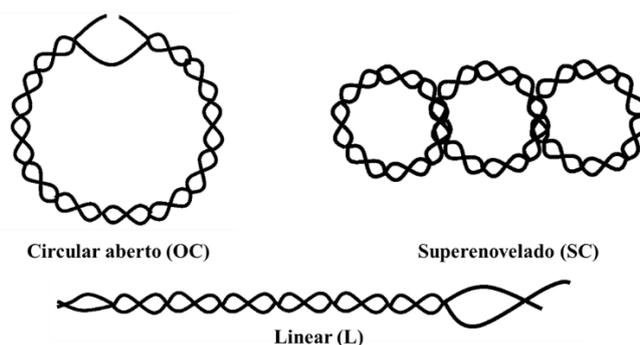
Continuando a investigação das interações entre os complexos metálicos de Cu(II), realizou-se o experimento de mobilidade eletroforética. Essa técnica consiste na separação de macromoléculas, principalmente ácidos nucleicos e proteínas. Essas macromoléculas são submetidas a um campo elétrico, na qual migram para um polo positivo ou negativo de acordo com a sua carga. No caso de uma carga positiva, seguirá para o polo negativo e se for negativa, irá na direção do polo positivo. O fluxo migratório é determinado pelo peso molecular, na qual moléculas de menor peso migram mais rápido que as de maior peso, formando as bandas características que serão visualizadas posteriormente.

Partindo-se dessa premissa, sabe-se que o DNA apresenta uma estrutura tridimensional volumosa e rica em heteroátomos que possibilitam uma variedade de interações com outras moléculas, como os complexos metálicos. Assim, como nas sessões anteriores foram realizados estudos preliminares com o intuito de investigar possíveis interações, utilizou-se o CT-DNA pelo seu tamanho e semelhança ao DNA humano possibilitando a observação dessas interações com os complexos metálicos híbridos. Entretanto, para o uso da eletroforese em gel de agarose é necessário o emprego de um tipo de DNA mais adequado: o DNA de plasmídeo. Neste caso

foi utilizado o pBR322 que apresenta 2830kDaltons, o equivalente a 4361 pares de base e massa molar média de  $2,83 \times 10^6$  g/mol.

Visto que a migração do DNA plasmidial está intrínseca ao tamanho e formato da molécula, a sua análise pode ser útil pela variedade de conformações que ele pode assumir, como a forma superenovelada (SC), circular aberta (OC), e linear (L), como representado na **Figura 49**. A forma OC, por apresentar formato não compacto e mais volumoso, tem maior resistência ao migrar pelo gel e conseqüentemente sua mobilidade relativa é mais lenta. A forma L também tem baixa mobilidade por ser mais alongada, porém apresenta uma retenção um pouco menor em relação a forma circular. O DNA é mais compacto, como é o caso da forma SC, apresenta pouca retenção no gel tendo a maior mobilidade em relação as demais formas, de modo que a tendência geral de mobilidade eletroforética deve ser:  $SC > L > OC$ .

**Figura 51** - Representação do DNA plasmidial em suas três principais formas.



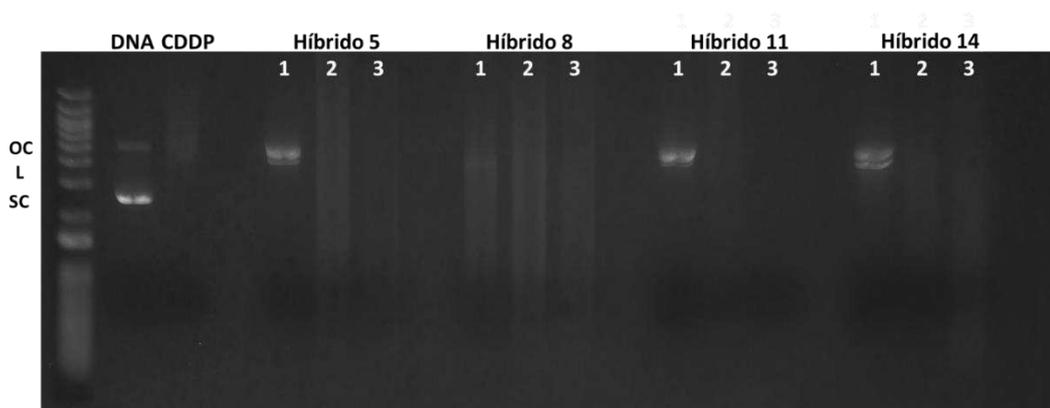
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Com isso, a mobilidade eletroforética causada pelos complexos metálicos híbridos de Cu(II) **3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 e 14** foi avaliada.

Em um primeiro momento, com a finalidade de se encontrarem as concentrações ótimas para a realização do experimento, foram testados os compostos **5, 8, 11 e 14**, contendo **dppz** em suas estruturas, conhecidos como excelentes intercaladores de DNA (Navarro *et. al*, 2003). Eles foram incubados a  $25 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ,  $100 \mu\text{mol.L}^{-1}$  e  $200 \mu\text{mol.L}^{-1}$  com DNA plasmidial circular pBR322 (100 ng) por 18h a  $37^\circ\text{C}$  e sua mobilidade eletroforética do gel foi monitorada em uma corrida a 100 mV por 45 min seguida de imagem. A cisplatina (CDDP), que é um conhecido clivador de DNA e um importante metalofármaco contra doenças cancerígenas, foi utilizada como controle positivo.

Conforme mostrado na **Figura 52**, observou-se que o DNA teve sua mobilidade eletroforética alterada pela presença desses complexos metálicos híbridos de Cu(II), comparando com a amostra de DNA controle, sendo possível observar que os compostos **5**, **11** e **14** induziram a forma OC do DNA já em concentrações inferiores a  $25 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , indicando uma possível interação por intercalação com o DNA do pBR322. Tais interações estão de acordo com o fato de que esses compostos possuem ligantes planos conhecidos intercaladores de DNA, tal fato já foi observado em trabalhos anteriores com ligantes similares (Navarro, *et al.*; 2007, Villarreal, *et al.*; 2017). A partir de  $100 \mu\text{mol.L}^{-1}$  todos os compostos foram capazes de clivar o DNA ao comparar com o mesmo efeito causado pela CDDP. De maneira interessante, observou-se também que o composto **8** induziu a clivagem do DNA a partir de  $25 \mu\text{mol.L}^{-1}$ . Dessa forma, nota-se que os dados obtidos para estes compostos são semelhantes àqueles obtidos para complexos de Cu(I) contendo ligantes polipiridínicos como phen e dppz reportados em trabalhos anteriores, que também induzem a forma OC em concentrações moderadas e clivam o DNA a 25% da concentração do DNA (Villarreal, *et al.*; 2017).

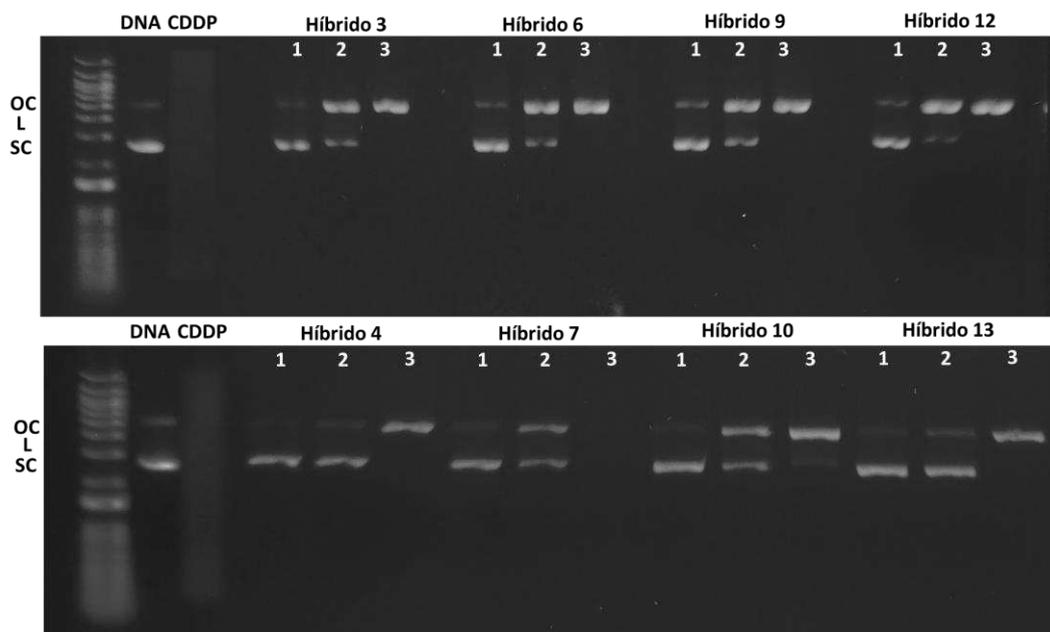
**Figura 52** - Gel de eletroforese do plasmídeo pBR322 (DNA) e do plasmídeo pBR322 após 18h e  $37^\circ\text{C}$  de incubação com CDDP e os complexos metálicos híbridos **5**, **8**, **11** e **14** a: 1)  $25 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , 2)  $100 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , 3)  $200 \mu\text{mol.L}^{-1}$ .



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Após observar que a partir da concentração de  $25 \mu\text{mol.L}^{-1}$  os complexos já foram capazes de induzir a forma circular aberta (OC) do DNA plasmidial ou até clivá-lo, para os complexos metálicos híbridos **3**, **4**, **6**, **7**, **9**, **10**, **12** e **13** manteve-se essa concentração como intermediária, e variou-se as demais de forma que fossem incubados a uma concentração de  $5 \mu\text{mol.L}^{-1}$  até  $100 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , mantendo-se as mesmas condições do experimento anterior, seguido da obtenção da imagem como mostra a **Figura 53**.

**Figura 53** - Gel de eletroforese do plasmídeo pBR322 (DNA) e do plasmídeo pBR322 após 18h e 37°C de incubação com CDDP e os complexos metálicos híbridos **3, 4, 6, 7, 9, 10, 12 e 13** a: 1) 5  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , 2) 25  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , 3) 100  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ .



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Nesse caso, observou-se que todos os compostos já começam a induzir a forma circular do DNA em concentrações de 5  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ . Em 25  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , para os complexos metálicos híbridos Cu(II)-Phen **3, 6, 9, e 12**, observa-se uma presença mais expressiva da forma OC do plasmídeo, o que só é observado para os complexos Cu(II)-Phendiona **4, 7, 10 e 13** acima dessa concentração sugerindo que esses compostos não apresentam uma intercalação tão efetiva em relação aos demais, o que pode estar atrelado à presença dos grupos carbonílicos presente nos ligantes planos desses complexos que podem fazer ligações de hidrogênio e restringir sua interação (Galdino, *et al.*; 2022). Entretanto, observa-se que o híbrido **6** clivou o DNA a 100  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ .

Em resumo, estes resultados indicam que as atividades leishmanicidas e antifúngicas dos híbridos metálicos **3-14** podem estar atreladas ao fato de que eles interagem de forma moderada a forte com o DNA.

#### 4.4.4. Ensaios espectroscópicos de emissão por fluorescência

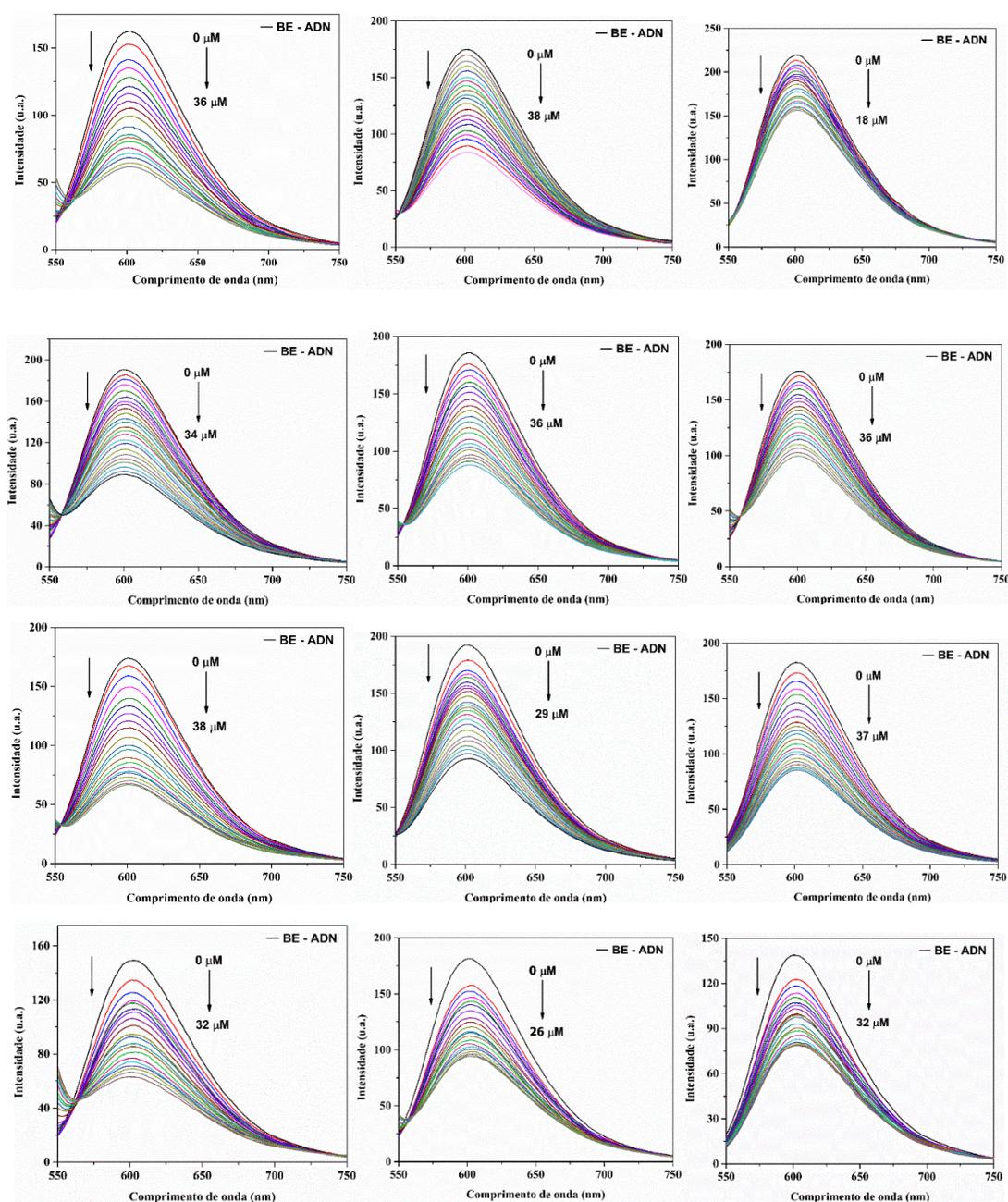
Com o intuito de confirmar que os complexos metálicos híbridos de Cu(II) **3-14** interagem com o DNA através da intercalação, conduziu-se uma análise mais aprofundada, explorando a capacidade desses compostos em deslocar o brometo de etídio (BE), uma sonda fluorescente intercalativa, após a formação do complexo BE-DNA.

A fluorescência é um fenômeno onde uma substância absorve energia de uma fonte externa, como luz ultravioleta ou visível, e a emite em forma de luz de comprimento de onda maior. Isso acontece em moléculas com certas propriedades eletrônicas, como ligações duplas conjugadas. Os elétrons da substância absorvem energia da luz incidente, ficam excitados e depois retornam ao seu estado original, liberando a energia absorvida como luz emitida. A luz emitida geralmente tem um comprimento de onda maior que a luz absorvida, frequentemente resultando em luz visível após absorção de luz ultravioleta. Esse fenômeno é observado quando o brometo de etídio (BE), que é uma molécula plana rica em elétrons  $\pi$  conjugados, intercala-se entre as bases nitrogenadas do DNA devido a sua grande afinidade com a estrutura helicoidal (Icsel; Yilmaz; 2013; Singh; Srivastava; Patra; 2016; Li, *et al.*; 2019).

Como o DNA emite fluorescência apenas na presença do BE, a presença de outras moléculas intercaladoras pode prejudicar essa fluorescência se forem capazes de deslocar o BE. Caso essa molécula não emita fluorescência na presença do DNA, ao deslocar o BE a emissão de fluorescência do DNA diminui (Kelly, *at al.*; 1985). A avaliação da mudança na intensidade de fluorescência associada ao aduto DNA-BE é uma abordagem comum para analisar a interação molécula-DNA (Loganathan, *et al.*; 2012; Ganeshpandian, *et al.*; 2013).

A fim de investigar a capacidade intercalativa dos complexos metálicos híbridos de Cu(II), foram conduzidos experimentos de ligação competitiva com BE, utilizando espectroscopia de fluorescência e adicionando os compostos **3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 e 14** à solução previamente preparada de DNA-EB. No geral, todos os complexos exibiram uma significativa diminuição na intensidade da fluorescência (**Figura 54**), evidenciando que esses compostos foram eficazes em deslocar moléculas de EB das cavidades do CT-DNA, assim como complexos similares, como o composto  $[\text{Cu}(\text{dppz})_2\text{DA}](\text{ClO}_4)_2$  (Nagaraj, *et al.*, 2019) que também causou a diminuição da emissão de fluorescência do DNA.

**Figura 54** - Espectros de fluorescência dos complexos metálicos híbridos **3-14** com a adição de alíquotas de ctDNA, onde Condições: tampão PBS pH = 7,4,  $\lambda$  excitação = 526 nm.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Após a aquisição dos espectros, procedeu-se ao cálculo da constante de Stern-Volmer ( $K_{sv}$ ), da constante de velocidade bimolecular de supressão ( $k_q$ ) e da constante de ligação aparente ( $K_{app}$ ) utilizando as equações especificadas na seção experimental. Os dados referentes aos espectros emissivos dos novos complexos metálicos híbridos (**3-14**) foram minuciosamente registrados e são apresentados em detalhes na **Tabela 9**, fornecendo uma análise abrangente das propriedades espectroscópicas desses complexos metálicos. Esses

parâmetros são fundamentais para compreender a dinâmica e a eficácia das interações entre os complexos e as moléculas-alvo, contribuindo significativamente para a caracterização dos compostos e a interpretação dos resultados obtidos.

**Tabela 9** - Constante de Stern – Volmer ( $K_{SV}$ ), constante de velocidade bimolecular de supressão ( $K_q$ ), constante de ligação aparente ( $K_{app}$ ).

Composto	$\Delta I$ (%)	$K_{SV}$ ( $M^{-1}$ )	$K_q$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$K_{app}$ ( $M^{-1}$ )
[Cu(phen)(CTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>3</b> )	62,01	4,48 x 10 <sup>4</sup>	1,95 x 10 <sup>12</sup>	1,92 x 10 <sup>6</sup>
[Cu(diona)(CTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>4</b> )	53,27	3,04 x 10 <sup>4</sup>	1,32 x 10 <sup>12</sup>	1,53 x 10 <sup>6</sup>
[Cu(dppz)(CTZ)(NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>5</b> )	53,24	3,27 x 10 <sup>4</sup>	1,42 x 10 <sup>12</sup>	1,57 x 10 <sup>6</sup>
[Cu(phen)(KTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>6</b> )	52,08	2,39 x 10 <sup>4</sup>	1,04 x 10 <sup>12</sup>	1,38 x 10 <sup>6</sup>
[Cu(diona)(KTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>7</b> )	43,43	2,04 x 10 <sup>4</sup>	8,87 x 10 <sup>12</sup>	-
[Cu(dppz)(KTZ)(NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>8</b> )	57,79	4,05 x 10 <sup>4</sup>	1,76 x 10 <sup>12</sup>	1,98 x 10 <sup>6</sup>
[Cu(phen)(ITZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>9</b> )	28,77	2,32 x 10 <sup>4</sup>	1,01 x 10 <sup>12</sup>	-
[Cu(diona)(ITZ)(NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> ) ( <b>10</b> )	61,53	4,45 x 10 <sup>4</sup>	1,93 x 10 <sup>12</sup>	1,99 x 10 <sup>6</sup>
[Cu(dppz)(ITZ)(NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>11</b> )	49,99	3,37 x 10 <sup>4</sup>	1,46 x 10 <sup>12</sup>	1,92 x 10 <sup>6</sup>
[Cu(phen)(FLZ)(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ( <b>12</b> )	50,04	2,81 x 10 <sup>4</sup>	1,22 x 10 <sup>12</sup>	1,47 x 10 <sup>6</sup>
[Cu(diona)(FLZ)(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ( <b>13</b> )	45,95	2,49 x 10 <sup>4</sup>	1,08 x 10 <sup>12</sup>	-
[Cu(dppz)(FLZ)(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ( <b>14</b> )	43,64	2,30 x 10 <sup>4</sup>	1,00 x 10 <sup>12</sup>	-

Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

Os complexos metálicos híbridos **3-14** não apresentam bandas de emissão de fluorescência em solução ou na presença de CT-DNA ou BE nas mesmas condições experimentais ( $\lambda_{ex} = 526$  nm). Os resultados demonstraram que todos os complexos metálicos híbridos apresentam valores de constante de  $K_{SV}$  superiores a  $10^4 M^{-1}$ . Estes dados estão de acordo com os resultados experimentais de titulação acompanhada de espectros de absorção (sessão de titulação espectroscópica). Loganathan e coautores (2017) relataram estudos semelhantes com um complexo Cu-dppz [Cu(dppz)<sub>2</sub>Cl]Cl apresentando baixo  $K_{sv}$  ( $7,88 \times 10^3 M^{-1}$ ) na presença de ct-DNA-BE, sugerindo uma fraca interação intercalativa com o DNA. Os resultados sugerem que, nos complexos **3-14**, a substituição do ligante dppz pelos ligantes CTZ, KTZ ou FLZ são responsáveis pelo aumento da capacidade de deslocamento da BE, apresentando alta interação quando comparada à [Cu(dppz)<sub>2</sub>Cl]Cl.

Observa-se que a ordem crescente da supressão fluorescente dos complexos metálicos híbridos de **3** a **14** ficou determinada conforme a sequência: **6** < **12** < **3** < **2** < **8** < **4** < **5** < **9** < **11** < **10** < **1** < **7**. A eficiência desse processo de extinção fluorescente foi delineada utilizando as constantes de supressão fluorescente, considerando os valores encontrados para a intensidade de emissão relativa ( $F_0/F$ ) versus a concentração dos complexos metálicos híbridos ( $Q$ ) (Lakowicz, 2006) (**Apêndice F**). Essa abordagem detalhada proporciona uma compreensão aprofundada da dinâmica dessas interações e da eficácia relativa dos compostos avaliados.

Os valores de  $K_{app}$  de **7**, **9**, **13** e **14** não puderam ser determinados porque não atingem 50% de supressão da fluorescência do aduto ct-DNA-EB, devido à precipitação do composto em concentração superior a 32  $\mu\text{M}$  nas condições estudadas. Os valores de  $K_{app}$  ficaram na faixa de  $10^6 \text{ M}^{-1}$ , sendo maiores para o complexo **8** e **10**. Estes resultados são comparáveis aos complexos de cobre contendo grupos dppz e derivados de fenantrolina modificados, com valores variando de  $10^5$  a  $10^7$  (Mcgiver, *et al.*; 2018; Villarreal, *et al.*; 2017; Barret, *et al.*; 2020; Ude, *et al.*; 2019). Os valores de  $K_{app}$  serem inferiores à ordem de  $10^7$  mostram que, apesar de deslocar o brometo de etídio, nenhum deles é um intercalador mais forte. De acordo com os valores de  $K_{app}$  e  $K_{SV}$ , os complexos **3-14** apresentam características de intercaladores, corroborando os resultados obtidos por espectroscopia UV e eletroforese.

Diante disso, os resultados obtidos mediante o uso desse conjunto de técnicas, combinadas, foram importantes para racionalizar as excelentes atividades antiparasitárias e antifúngicas apresentados pelos compostos de Cu(II) em ensaios antiproliferativos, indicando que o DNA é um dos alvos primários desses compostos.

#### 4.5. AVALIAÇÃO ANTI-LEISHMÂNIA

A avaliação das atividades frente aos parasitas causadores da leishmaniose foi realizada pela Profa. Dra. Julianny Cola Fernandes Rodrigues e seu grupo de pesquisa, no Núcleo Multidisciplinar de Pesquisa em Biologia (NUMPEX-Bio), da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Campus Duque de Caxias, Rio de Janeiro.

##### 4.5.1. Complexos metálicos híbridos de Cu(II)

Em estudos prévios, foram alcançados resultados promissores ao empregar os ligantes imizadólicos e triazólicos **CTZ**, **KTZ**, **ITZ** e **FLZ** na síntese de diversos complexos metálicos com propriedades antiparasitárias e antifúngicas (de Azevedo França, 2019; de Azevedo-França

2020, 2021, 2022). Com base nestas conclusões, os complexos metálicos de Cu(II) propostos neste estudo foram elaborados, incorporando não apenas os ligantes anteriormente mencionados, mas também moléculas planas, com o intuito de conferir aos novos compostos um alvo biológico distinto, resultando assim em aprimoradas atividades biológicas.

Em um primeiro momento, foram avaliados os efeitos antiproliferativos induzidos pelos compostos **3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 13 e 14**) em três experimentos independentes frente as formas promastigotas da espécie *L. amazonenses*. Observou-se que os compostos foram capazes de inibir o crescimento das formas promastigotas de forma acentuada, exceto o composto fluconazol, conhecido por não apresentar atividade em formas promastigotas e o sal de cobre, que apresentou um IC<sub>50</sub> superior a 15 µM (**Tabela 10**).

**Tabela 10** - Valores de IC<sub>50</sub> obtidos após o tratamento das formas promastigotas de *L. amazonensis* de 48 h .

COMPOSTOS	IC <sub>50</sub> - 48 h Promastigota
Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .3H <sub>2</sub> O	>15 µM
Clotrimazol ( <b>CTZ</b> )	2,706 µM
Cetoconazol ( <b>KTZ</b> )	3,102 µM
Fluconazol ( <b>FLZ</b> )	>100 µM
Fenantrolina ( <b>PHEN</b> )	9,121 µM
Fendiona ( <b>DIONA</b> )	0,581 µM
Dipirofenazina ( <b>DPPZ</b> )	0,807 µM
[Cu(phen)(NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> ) ( <b>1</b> )	10,25 µM
[Cu(diona)(NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> ) ( <b>2</b> )	0,821 µM
[Cu(phen)(CTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> )( <b>3</b> )	0,925 µM
[Cu(diona)(CTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> )( <b>4</b> )	0,327 µM
[Cu(dppz)(CTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> )( <b>5</b> )	0,593 µM
[Cu(phen)(KTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> )( <b>6</b> )	0,467 µM
[Cu(diona)(KTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> )( <b>7</b> )	0,381 µM
[Cu(dppz)(KTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> )( <b>8</b> )	0,675 µM
[Cu(phen)(FLZ)(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ]( <b>12</b> )	0,914 µM
[Cu(diona)(FLZ)(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ]( <b>13</b> )	0,638 µM
[Cu(dppz)(FLZ)(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ]( <b>14</b> )	0,614 µM

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Com isso, esse estudo demonstrou que os complexos metálicos híbridos apresentaram atividades anti-*Leishmania* superior quando comparados aos compostos de partida testados de forma isolada, evidenciando o potencial terapêutico desses novos compostos em formas promastigotas de *L. amazonensis*. Em seguida, foram realizados os estudos dos efeitos antiproliferativos desses compostos em amastigotas intracelulares de *L. amazonenses*, e avaliou-se a citotoxicidade deles utilizando macrófagos murinos RAW 264.7. Na **Tabela 11** encontram-se os valores de IC<sub>50</sub>, de CC<sub>50</sub> e os índices de seletividade (SI) obtidos nos ensaios de viabilidade celular com o MTS/PMS.

**Tabela 11** - Valores de CC<sub>50</sub>, IC<sub>50</sub> e SI após 48h e 72h de tratamento em formas promastigotas de *L. amazonensis* com os complexos metálicos híbridos Cu(II).

COMPOSTOS	CC <sub>50</sub> *	IC <sub>50</sub> *	IS	IC <sub>50</sub> *	IS
	48h	48h	48 h	72h	72h
Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .3H <sub>2</sub> O	59,9	20,421	2,93	13,63	4,39
Clotrimazol (CTZ)	22,1	1,459	15,14	0,8149	27,11
Cetoconazol (KTZ)	31,76	1,929	16,46	1,087	29,21
Fluconazol (FLZ)	417,5	76,01	5,49	56,48	7,39
Fenantrolina (PHEN)	70,56	3,975	17,75	2,1027	33,17
Fendiona (DIONA)	1	0,0151	66,22	0,00887	112,73
Dipirofenazina (DPPZ)	2,325	0,1130	20,57	0,09514	24,43
[Cu(phen)(NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> ) (1)	7,251	0,3416	21,22	0,18640	38,46
[Cu(diona)(NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> )(2)	4,586	0,1218	37,65	0,03767	121,74
[Cu(phen)(CTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> )(3)	1,01	0,0534	18,93	0,04147	24,37
[Cu(diona)(CTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> ) (4)	1	0,0149	67,11	0,01401	71,37
[Cu(dppz)(CTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> )(5)	2,03	0,4569	3,76	0,0342	50,29
[Cu(phen)(KTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> )(6)	0,65	0,0462	14,06	0,02824	23,04
[Cu(diona)(KTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> )(7)	0,974	1,5530	0,64	0,04256	23,52
[Cu(dppz)(KTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> )(8)	0,447	0,0559	21,82	0,01401	86,51
[Cu(phen)(FLZ)(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (12)	1	0,1275	7,84	0,05416	18,46
[Cu(diona)(FLZ)(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (13)	0,987	0,0786	12,72	0,13870	7,2
[Cu(dppz)(FLZ)(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (14)	1,089	0,0204	49,01	0,01955	51,15

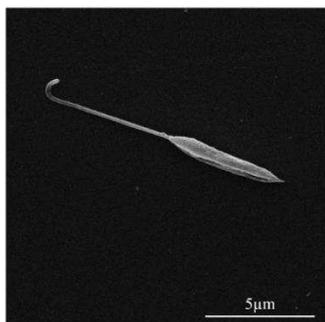
\* μM

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Com base nos dados obtidos, observou-se que os compostos **4**, **5**, **8** e **14** apresentaram os menores valores de  $IC_{50}$ , além de exibirem os maiores valores de SI. Esses compostos são caracterizados pela presença dos ligantes **diona** e **dppz** em sua estrutura. No entanto, é relevante destacar que, de maneira intrigante, o ligante **diona** isolado demonstrou um valor de  $IC_{50}$  consideravelmente baixo, acompanhado de um índice de seletividade bastante elevado, o qual foi ainda mais aprimorado ao ser coordenado ao íon de Cu(II).

Após a determinação dos valores de  $IC_{50}$ ,  $CC_{50}$  e dos índices de seletividade, constatou-se que os complexos metálicos híbridos de Cu(II) exibiram baixos valores de  $IC_{50}$ . Diante desse contexto, os compostos que manifestaram os mais elevados índices de seletividade foram escolhidos para os experimentos de microscopia eletrônica de varredura, visando a observação detalhada da morfologia do corpo celular e da superfície celular com maior resolução. Para atingir esse objetivo, diferentes concentrações dos complexos metálicos híbridos e dos materiais de partida foram empregadas no tratamento das formas promastigotas de *L. amazonensis*, durante períodos de 48 e 72 horas. Essa abordagem permitirá uma análise detalhada das alterações morfológicas e estruturais causadas pelos compostos, contribuindo para a compreensão dos mecanismos de ação e potencializando a interpretação dos resultados obtidos nos ensaios de citotoxicidade e seletividade. Após a aplicação dos complexos metálicos híbridos, foi possível observar uma variedade de alterações morfológicas nas células promastigotas tratadas em relação ao parasito não tratado (**Figura 55**).

**Figura 55** - Microscopia eletrônica de varredura-transmissão em microscopia eletrônica de varredura. Células promastigotas de *L. amazonensis* com 48 h de crescimento.

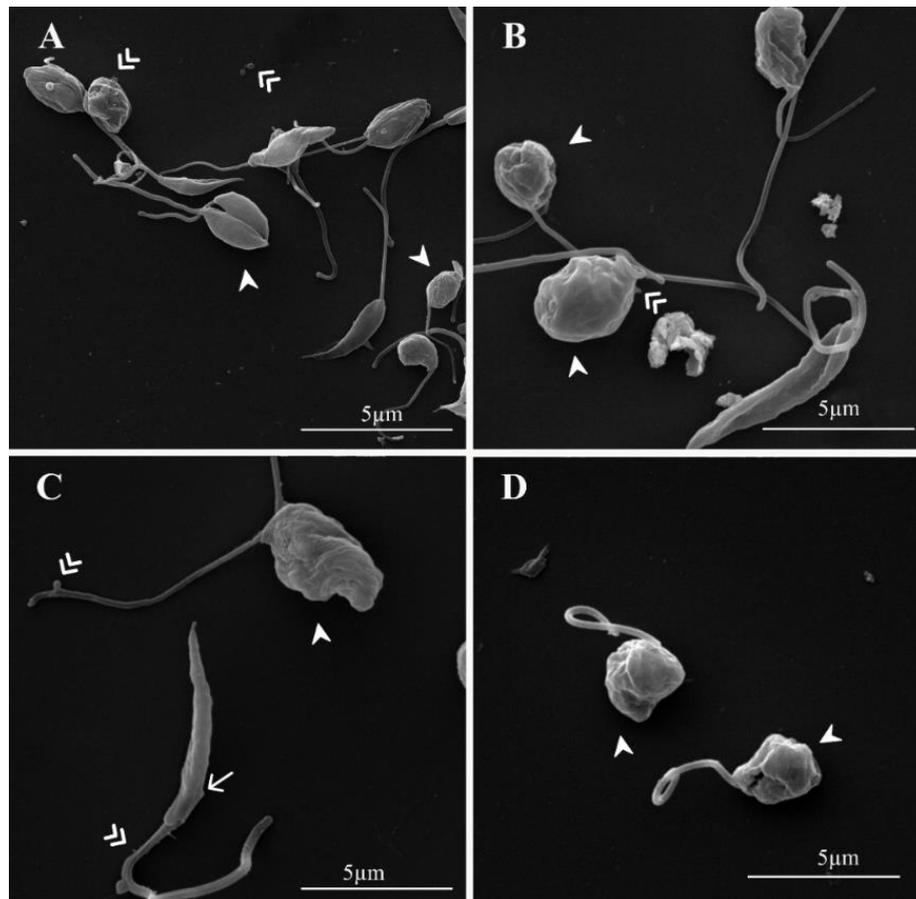


Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

As alterações morfológicas incluíram protusões de membrana, evidenciadas por setas finas nas **Figuras 56-C**; e (**Apêndice F: 107-110**). Além disso, observou-se um arredondamento no corpo celular, indicado por uma cabeça de seta nas **Figuras 57A, B, C, D**;

**57-A, B, C, D; (Apêndice F: 107-110).** Notavelmente, houve também a indução da secreção de vesículas extracelulares, evidenciada por duas cabeças de seta.

**Figura 56** - Microscopia eletrônica de varredura-transmissão em microscopia eletrônica de varredura com 48 h de tratamento. (A) Células tratadas com **diona** à 0,1  $\mu\text{M}$ . (B) Células tratadas com o complexo metálico  $\text{Cu}(\text{diona})(\text{CTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**4**) à 1  $\mu\text{M}$ . (C) Células tratadas com o complexo metálico  $\text{Cu}(\text{diona})(\text{FLZ})(\text{NO}_3)]_2(\text{NO}_3)_2$  (**13**) à 1  $\mu\text{M}$ . (D) Células tratadas com o complexo **2** à 1  $\mu\text{M}$ . Analisando as imagens pode-se observar as seguintes alterações: 1) Protusões de membrana (seta fina); 2) Arredondamento no corpo celular (cabeça de seta); 3) Depressões no corpo celular (seta grossa); e, 4) Presença de vesículas/microvesículas extracelulares (duas cabeças de seta).

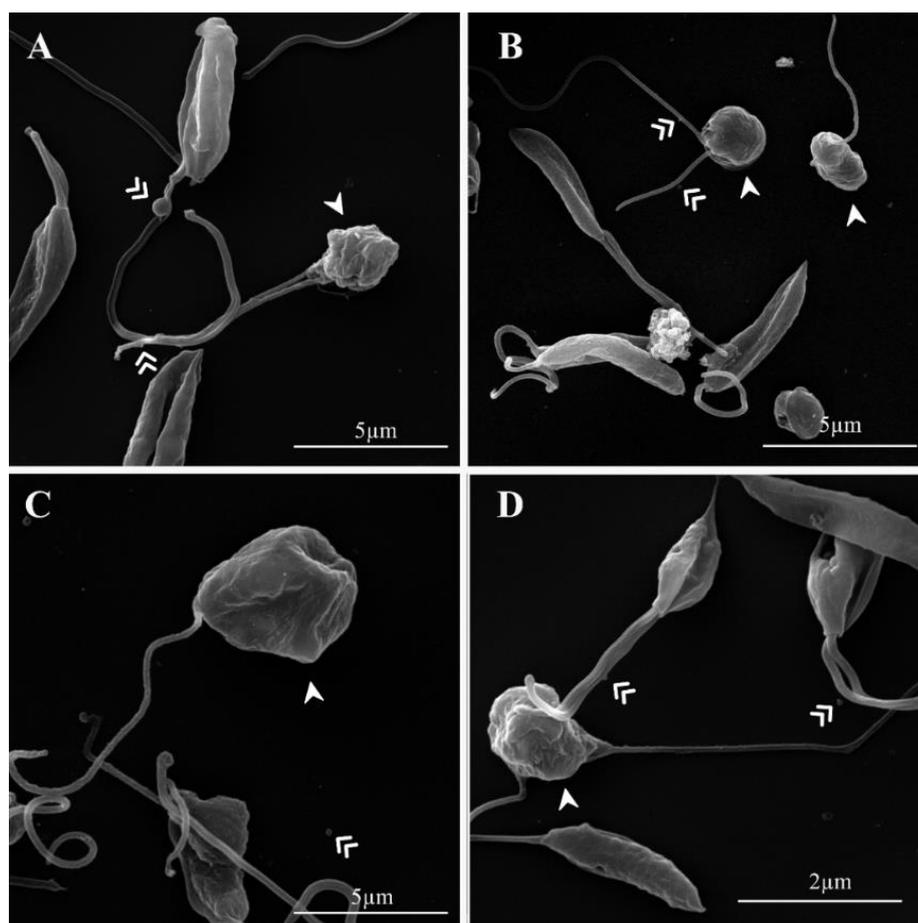


Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Essas observações detalhadas da morfologia celular fornecem entendimentos valiosos sobre os efeitos dos complexos metálicos híbridos nas células promastigotas de *L. amazonensis*. As protusões de membrana, o arredondamento do corpo celular e a indução de vesículas

extracelulares são indicadores potenciais de alterações nas funções celulares e processos biológicos. A análise morfológica complementa os dados de citotoxicidade e seletividade, contribuindo para uma compreensão abrangente do impacto dos compostos no contexto parasitário.

**Figura 57** - Microscopia eletrônica de varredura-transmissão em microscopia eletrônica de varredura com 72 h de tratamento. (A) Células tratadas com **diona** à 0,1  $\mu\text{M}$ . (B) Células tratadas com o complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{CTZ})_2(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$  (**4**) à 1  $\mu\text{M}$ . (C) Células tratadas com o complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{FLZ})(\text{NO}_3)]_2(\text{NO}_3)_2$  (**13**) à 1  $\mu\text{M}$ . (D) Células tratadas com o complexo **2** à 1  $\mu\text{M}$ . Analisando as imagens pode-se observar as seguintes alterações: 1) Protusões de membrana (seta fina); 2) Arredondamento no corpo celular (cabeça de seta); 3) Depressões no corpo celular (seta grossa); e, 4) Presença de vesículas/microvesículas extracelulares (duas cabeças de seta).

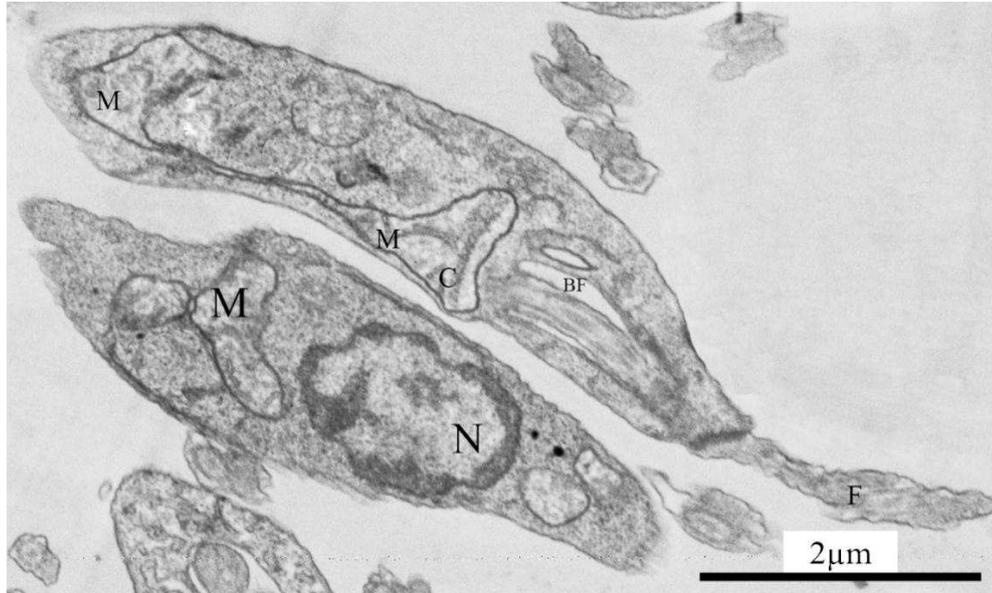


Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Posteriormente, realizou-se a microscopia eletrônica de transmissão-varredura em microscópio eletrônico de varredura (STEM-in-SEM) após 48 e 72 horas de tratamento. Na

**Figura 58** podem-se observar o parasito na forma promastigota da *L. amazonensis* não tratado, como controle.

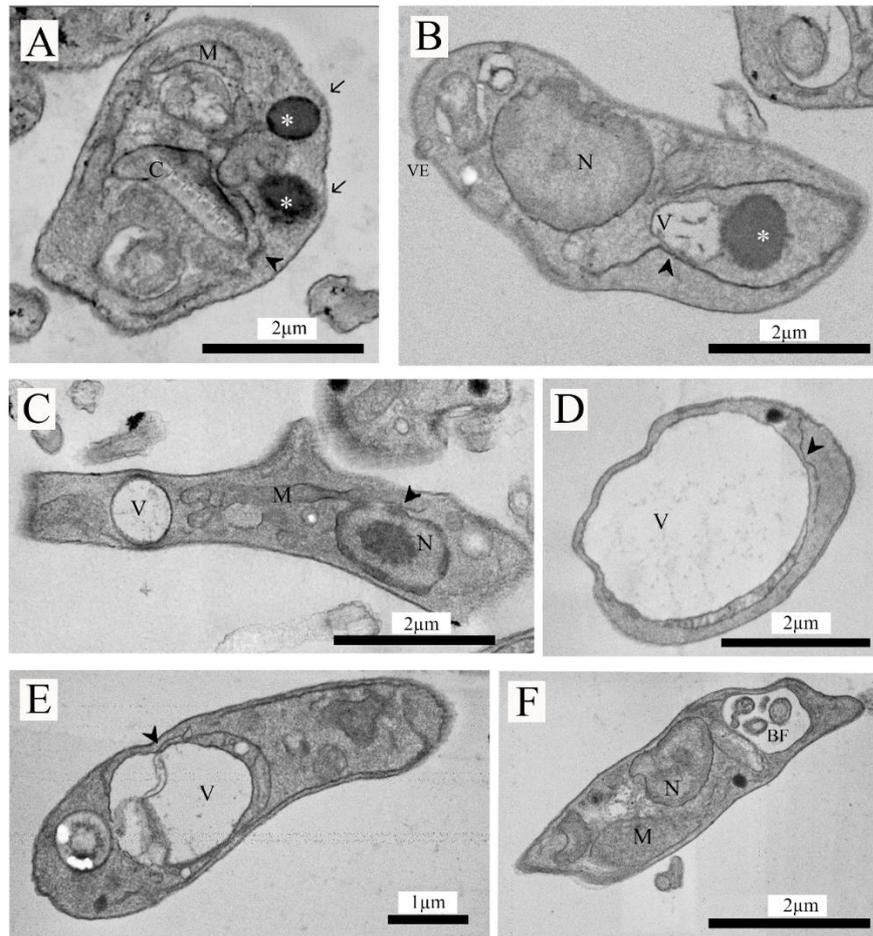
**Figura 58** - STEM-in-SEM de formas promastigotas de *L. amazonensis* controle com 48 h de cultivo celular. BF- Bolsa flagelar; C- Cinetoplasto; F- Flagelo; M- Mitocôndria; N- Núcleo.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Porém, após serem tratados com os híbridos de Cu(II) (**Figura 59; Apêndice F:111-118**) revelaram-se efeitos notáveis na ultraestrutura desses parasitos: (a) Verificou-se a presença de corpos lipídicos distribuídos pelo citosol dos parasitos, possivelmente decorrente do acúmulo de intermediários endógenos no mecanismo de biossíntese de ergosterol, devido à inibição dessa biossíntese (Macedo-Silva *et al.*, 2015). (b) Foram observados perfis de retículo endoplasmático associados a glicossomos, núcleo, mitocôndria e corpos lipídicos, além da formação de vacúolos autofágicos. Essa associação sugere a degradação de corpos lipídicos e organelas com perda de função, evidenciando a tentativa do parasito de manter a homeostase e reduzir o estresse causado pelo tratamento. Esse processo, comumente observado em situações de privação de nutrientes, presença de toxinas e estresse oxidativo, pode ter uma dupla função, atuando como mecanismo de citoproteção ou, quando em excesso ou desregulado, induzindo à morte celular. (c) Observou-se inchaço mitocondrial, indicativo de disfunção mitocondrial causada por estresse oxidativo ou perda do potencial de membrana mitocondrial [ $\Delta\Psi_m$ ]. (d) Verificou-se a fragmentação da cromatina nuclear, um fenômeno associado à morte celular por apoptose em organismos multicelulares e unicelulares (Rodrigues *et al.*, 2008)

**Figura 59** - STEM-in-SEM com 48 horas de tratamento. (A, B) Células tratadas com **diona** a 0,05  $\mu\text{M}$  e 0,1  $\mu\text{M}$ , respectivamente. (C, D) Células tratadas com os complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{CTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**4**) a 0,5  $\mu\text{M}$  e 1  $\mu\text{M}$ , respectivamente. (E, F) Células tratadas com  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{FLZ})(\text{NO}_3)]_2(\text{NO}_3)_2$  (**13**) a 0,5  $\mu\text{M}$  e 1  $\mu\text{M}$ , respectivamente. Analisando as microscopias, pode-se observar algumas organelas e efeitos em formas promastigotas de *L. amazonensis*, como: presença de corpos lipídicos (\*), protusões de membrana (seta fina), induzidos pela presença de corpos lipídicos, perfis de retículo endoplasmático (cabeça de seta), presença de vacúolos (V), inchaço mitocondrial, má compactação do material genético e alteração no cinetoplasto (C). Além disso, pode-se observar, também, a presença da bolsa flagelar alterada (BF) e flagelo (F).



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Todos os híbridos de Cu(II) apresentados neste trabalho foram enviados para testes biológicos para que fossem avaliadas as suas atividades frente ao parasita causador da

leishmaniose. Entretanto, ainda não foram realizadas as avaliações biológicas dos complexos metálicos híbridos **9**, **10** e **11** frente a esse parasita.

Com base em todas as observações realizadas, é possível inferir que os complexos metálicos manifestam uma notável atividade biológica, estabelecendo-se como uma contribuição significativa nos estudos voltados para a quimioterapia das leishmanioses. Vale destacar que a leishmania depende da presença de metais para manter um equilíbrio nutricional adequado. Quando os ligantes bioativos estão coordenados ao metal, a leishmania realiza a absorção simultânea dos complexos metálicos, um processo que difere da absorção quando os compostos são utilizados de forma isolada. Assim, a leishmania demonstra uma maior absorção do complexo na busca pelo metal, resultando em efeitos potencializados comparados aos azóis e ao próprio metal em suas formas livres. Essa compreensão reforça a relevância dos complexos metálicos como agentes terapêuticos promissores para o tratamento das leishmanioses. Notavelmente, o tratamento com os complexos metálicos híbridos **4**, **7** e **2** revelou um aumento significativo desse mecanismo de morte celular em comparação com os demais compostos após 72 horas.

#### 4.6. AVALIAÇÃO ANTIFÚNGICA

A avaliação das atividades antifúngicas foi realizada pela Profa. Dra. Sônia Rozental e seu grupo de pesquisa, no Laboratório de Biologia Celular de Fungos, Centro de Pesquisa em Medicina de Precisão, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

##### 4.6.1. Complexos metálicos híbridos de Cu(II)

Todos os complexos metálicos híbridos de Cu(II) foram avaliados quanto as suas atividades antifúngicas *in vitro* e foram determinadas contra isolados de referência de *Candida (C.) albicans*, *Candida (C.) auris*, *Cryptococcus (C.) neoformans*, *Aspergillus (A.) fumigatus* e *Sporothrix (S.) brasiliensis*, comparando com os resultados frente aos azóis (provenientes da Sigma e aqueles utilizados para síntese dos complexos metálicos) e dos sais metálicos. Inicialmente, foi avaliada a capacidade dos compostos em inibir o crescimento dos fungos utilizando a concentração de 1 l  $\mu$ M (**Tabela 12**).

**Tabela 12** - Capacidade inibitória de complexos metálicos híbridos **3-14** contra fungos de importância médica, comparada aos antifúngicos e aos metais sozinhos a 1.

Compostos	% Inibição [1 $\mu$ M]				
	<i>C. albicans</i>	<i>C. auris</i>	<i>C. neoformans</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>S. brasiliensis</i>
Anfotericina B*(AMB)	97	47	96	96	86
<b>CTZ *</b>	95	43	97	63	81
Fluconazol*(FLZ)	89	1	20	0	20
Itraconazol*(ITZ)	95	95	93	96	78
Cetoconazol*(KTZ)	96	95	93	0	82
Voriconazol*(VRZ)	96	68	96	100	74
[Cu(phen)(NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>1</b> )	0	7	21	0	4
[Cu(diona)(NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> )( <b>2</b> )	0	1	31	0	17
[Cu(phen)(CTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>3</b> )	93	42	91	98	88
[Cu(diona)(CTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>4</b> )	89	93	86	0	89
[Cu(dppz)(CTZ)(NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>5</b> )	96	0	89	41	72
[Cu(phen)(KTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>6</b> )	95	97	87	43	87
[Cu(diona)(KTZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>7</b> )	100	28	94	89	90
[Cu(dppz)(KTZ)(NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>8</b> )	96	89	92	0	78
[Cu(phen)(ITZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>9</b> )	94	96	93	71	77
[Cu(diona)(ITZ)(NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> ) ( <b>10</b> )	95	95	94	89	81
[Cu(dppz)(ITZ)(NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>11</b> )	94	95	94	99	80
[Cu(phen)(FLZ)(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ( <b>12</b> )	25	6	30	0	2
[Cu(diona)(FLZ)(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ( <b>13</b> )	96	4	70	0	6
[Cu(dppz)(FLZ)(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ( <b>14</b> )	92	6	37	2	76
Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .3 H <sub>2</sub> O	5	1	33	0	0
<b>diona</b>	0	5	20	0	45
<b>dppz</b>	1	8	19	6	50
<b>phen</b>	0	6	9	0	3
Clotrimazol** (CTZ)	93	36	98	67	78
Fluconazol** (FLZ)	80	6	27	2	7
Itraconazol** (ITZ)	95	92	95	94	80
Cetoconazol** (KTZ)	94	95	97	0	81

\*Proveniente da **Sigma-Aldrich®** . \*\*Provenientes da Calêndula Farmacêutica. Média de 2 experimentos independentes realizados em duplicata (n=4). Isolados de referência utilizados nos testes: *C. albicans* 5314, *C. auris* CBS 12766, *C. neoformans* H99, *A. fumigatus* ATCC 46645 e *S. brasiliensis* ATCC MYA 4823.

Posteriormente, a concentração inibitória mínima (MIC) dos compostos capazes de inibir o crescimento das espécies *C. albicans*, *C. auris*, *C. neoformans*, *A. fumigatus* e *S. brasiliensis* foi determinada pelo ensaio de microdiluição em caldo, utilizando concentrações que variaram de 0.002 a 1  $\mu$ M (Documento E.DEF 7.3.2., EUCAST-AFST, 2020) (**Tabela 13**).

**Tabela 13** - Atividade antifúngica dos complexos metálicos híbridos **3-14** contra fungos de importância médica.

Compostos	Concentração inibitória mínima ( $\mu$ M)				
	<i>C. albicans</i>	<i>C. auris</i>	<i>C. neoformans</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>S. brasiliensis</i>
Fluconazol* ( <b>FLZ</b> )	1	>1	1	>1	1
Cetoconazol** ( <b>CTZ</b> )	0,03	0,25	0,25	1	>1
Itraconazol** ( <b>ITZ</b> )	0,25	0,5	0,25	1	0,25
Voriconazol* ( <b>VRZ</b> )	0,03	1	0,125	1	0,5
[Cu(phen)(ITZ) <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>9</b> )	0,25	0,5	0,25	1	0,5
[Cu(diona)(ITZ)(NO <sub>3</sub> )]NO <sub>3</sub> ( <b>10</b> )	0,06	0,5	0,06	1	0,5
[Cu(dppz)(ITZ)(NO <sub>3</sub> )](NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ( <b>11</b> )	0,06	0,5	0,06	1	0,5

\*Proveniente da **Sigma-Aldrich®** . \*\*Antifúngico utilizado para produção do complexo. Resultados representativos de 2 experimentos independentes realizados em duplicata. Concentração inibitória mínima, correspondeu a menor concentração capaz de inibir a partir de 50% do crescimento das leveduras, em comparação ao fungo não tratado.

A partir dos resultados obtidos, destaca-se que, entre todos os híbridos de Cu(II) analisados, os complexos **9**, **10** e **11** apresentaram valores MIC promissores em relação às cepas dos fungos *C. albicans*, *C. auris*, *C. neoformans* e *S. brasiliensis*. Notavelmente, os complexos **10** e **11** demonstraram ser aproximadamente **17** vezes mais eficazes que o **FLZ** e 5 vezes mais eficazes que o **ITZ** contra a espécie de fungo *C. albicans*. Além disso, esses complexos exibiram valores de MIC 5 vezes menor em relação ao do **ITZ** no caso de *S. brasiliensis*, que é o fármaco utilizado no tratamento dessa micose. Esses resultados indicam

que os complexos **10** e **11** se destacam como agentes antifúngicos promissores, reforçando sua potencial aplicação terapêutica diante dessas cepas fúngicas específicas.

#### 4.6.2. Complexos metálicos híbridos de Ag(I)

De maneira análoga, os dois híbridos de Ag(I) foram minuciosamente avaliados quanto às suas atividades antifúngicas *in vitro* em relação às mesmas espécies mencionadas anteriormente. Esses resultados foram comparados com as respostas obtidas para os azóis, provenientes tanto da Sigma quanto os utilizados na síntese dos complexos metálicos, bem como o sal de Ag(I).

A capacidade inibitória dos híbridos de Ag(I) em relação ao crescimento dos fungos foi investigada utilizando uma concentração de 1  $\mu\text{M}$ , cujos resultados estão detalhados de forma abrangente na **Tabela 14**. Essa análise permitirá uma compreensão mais detalhada da eficácia dos híbridos de Ag(I) em comparação com os azóis e o sal de prata(I), oferecendo ideias cruciais sobre o potencial desses compostos como agentes antifúngicos.

**Tabela 14** - Capacidade inibitória de complexos metálicos híbridos de Ag(I) contra fungos de importância médica, comparada aos antifúngicos e ao sal de prata.

Compostos	% Inibição [1 $\mu\text{M}$ ]				
	<i>C. albicans</i>	<i>C. auris</i>	<i>C. neoformans</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>S. brasiliensis</i>
<b>Anfotericina B*(AMB)</b>	97	47	96	96	86
<b>Clotrimazol*(CTZ)</b>	95	43	97	63	81
<b>Fluconazol*(FLZ)</b>	89	1	20	0	20
<b>Itraconazol*(ITZ)</b>	95	95	93	96	78
<b>Cetoconazol*(KTZ)</b>	96	95	93	0	82
<b>Voriconazol*(VRZ)</b>	96	68	96	100	74
<b>[Ag(CTZ)(KTZ)](NO<sub>3</sub>) (15)</b>	96	95	98	100	95
<b>[Ag(ITZ)(KTZ)](NO<sub>3</sub>) (16)</b>	95	96	100	100	99
<b>AgNO<sub>3</sub></b>	3	1	37	16	81
<b>Clotrimazol** (CTZ)</b>	93	36	98	67	78
<b>Fluconazol** (FLZ)</b>	80	6	27	2	7
<b>Itraconazol** (ITZ)</b>	95	92	95	94	80

<b>Cetoconazol** (KTZ)</b>	94	95	97	0	81
----------------------------	----	----	----	---	----

\*Proveniente da **Sigma-Aldrich®** . \*\*Proveniente da Calêndula Farmacêutica. Média de 2 experimentos independentes realizados em duplicata (n=4). Isolados de referência utilizados nos testes: *C. albicans* 5314, *C. auris* CBS 12766, *C. neoformans* H99, *A. fumigatus* ATCC 46645 e *S. brasiliensis* ATCC MYA 4823.

Com base nos dados apresentados na tabela, é notável que ambos os complexos **15** e **16** foram capazes de inibir o crescimento de todas as espécies de fungos testadas em pelo menos 95%. Esses resultados promissores para os complexos de Ag(I) motivaram a determinação da MIC dos compostos, a qual foi realizada por meio do ensaio de microdiluição em caldo. Nesse procedimento, foram utilizadas concentrações que variaram de 0,002 a 1 µM, conforme estabelecido pelo Documento E.DEF 7.3.2., EUCAST-AFST, 2020 (**Tabela 15**).

Essa abordagem detalhada permite uma análise mais aprofundada da eficácia dos complexos de Ag(I) em termos de MIC, proporcionando percepções valiosas sobre a concentração necessária para inibir o crescimento das espécies fúngicas testadas. Essa informação é crucial para avaliar a aplicabilidade prática desses complexos como agentes antifúngicos e fornece dados relevantes para futuras investigações e desenvolvimentos na área.

**Tabela 15** - Atividade antifúngica de azóis complexados a metais contra fungos de importância médica.

Compostos	Concentração inibitória mínima (µM)				
	<i>C. albicans</i>	<i>C. auris</i>	<i>C. neoformans</i>	<i>A. fumigatus</i>	<i>S. brasiliensis</i>
Fluconazol* (FLZ)	1	>1	1	>1	1
Cetoconazol** (KTZ)	0,03	0,25	0,25	1	>1
Itraconazol** (ITZ)	0,25	0,5	0,25	1	0,25
Voriconazol* (VRZ)	0,03	1	0,125	1	0,5
[Ag(CTZ)(KTZ)]NO <sub>3</sub> ( <b>15</b> )	0,03	0,25	0,06	1	0,25
[Ag(ITZ)(KTZ)]NO <sub>3</sub> ( <b>16</b> )	0,03	0,125	0,03	0,5	0,25

\*Proveniente da **Sigma-Aldrich®** . \*\*Antifúngico utilizado para produção do complexo. Resultados representativos de 2 experimentos independentes realizados em duplicata. Concentração inibitória mínima, correspondeu a menor concentração capaz de inibir a partir de 50% do crescimento das leveduras, em comparação ao fungo não tratado.

Esses valores revelam que os híbridos **15** e **16** apresentaram MIC menores ou inferiores

aos obtidos para os antifúngicos testados, destacando-se o composto **16** que apresentou os menores valores de MIC para todas as espécies de fungos testadas.

#### 4.6.3. Complexo de Cu(I)

A avaliação da atividade antifúngica do complexo **17** *in vitro* contra os fungos responsáveis pela esporotricose, especificamente as espécies *S. brasiliensis*, *S. schenckii* e *S. globosa*, foi conduzida com base nos valores de MIC e MFC. Esses resultados foram comparados com aqueles obtidos para o **ITZ** e sais de cobre, conforme apresentado na Tabela **16**.

Esse complexo demonstrou ser capaz de inibir o crescimento das cepas de *S. brasiliensis* e *S. schenckii* em concentrações inferiores às do **ITZ**. Essa abordagem detalhada permite uma compreensão mais precisa da eficácia do complexo **17** em relação aos agentes antifúngicos de referência. A análise dos valores de MIC e MFC fornece informações cruciais sobre a concentração necessária para inibir e eliminar o crescimento dessas cepas fúngicas, contribuindo para uma avaliação abrangente do potencial antifúngico do complexo **17**.

**Tabela 16** - Atividade antifúngica do **ITZ**, seus complexos metálicos e os sais de cobre.

Compostos	Atividade antifúngica (µM)					
	<i>S. brasiliensis</i>		<i>S. schenckii</i>		<i>S. globosa</i>	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
<b>ITZ</b>	0,25	>4	0,5	>4	0,06	1
[Cu(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (ITZ) <sub>2</sub> ]NO <sub>3</sub> ( <b>17</b> )	0,015	>4	0,06	>4	0,06	2
Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	>4	>4	>4	>4	>4	>4
[Cu(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ]NO <sub>3</sub>	>4	>4	>4	>4	>4	>4

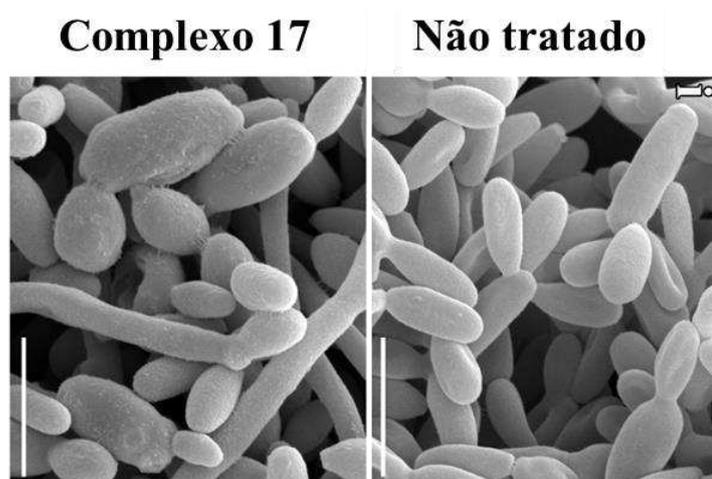
Fonte: Elaborada pelo autor (2023).

Ao analisar minuciosamente os resultados, destaca-se que o [Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(ITZ)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub> (**17**), apresentou valores significativos de MIC e MFC. Em comparação com o **ITZ** utilizado como fármaco de referência, o complexo metálico **17** revelou um MIC 17 vezes menor em *S. brasiliensis* e 8 vezes menor em *S. schenckii*.

As cepas de *S. brasiliensis* foram submetidas a tratamento com o complexo **17** (na concentração de 0,015 µM) por um período de 48 horas. As análises foram conduzidas por

microscopia eletrônica de varredura (SEM) e fluorimetria (**Figura 60**). As imagens de SEM revelaram que o tratamento com o complexo (**17**) (**Figura 60**) induziu a filamentação das células de *S. brasiliensis* e provocaram alterações superficiais na parede celular. Utilizando corantes específicos como Nile red, SYTOX™ Blue e Calcofluor White, investigou-se o acúmulo de lipídios neutros, DNA e o conteúdo de quitina na parede celular. Notou-se que o complexo **17** promoveu o acúmulo de DNA e a redução dos níveis de quitina. A diminuição do conteúdo genético pode estar relacionada à filamentação fúngica ou à interrupção do ciclo celular, enquanto a redução nos níveis de quitina pode estar associada às mudanças observadas nos aspectos da parede celular observados por SEM. Essas observações detalhadas fornecem uma compreensão mais completa dos efeitos dos compostos no nível celular e molecular, contribuindo para a avaliação abrangente de sua ação antifúngica.

**Figura 60** - Efeitos em cepas de *Sporothrix brasiliensis* após exposição ao  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{ITZ})_2]\text{NO}_3$  (**17**) (A) Imagens de microscopia eletrônica de varredura das cepas tratadas por 48h em concentrações de  $0,015 \mu\text{M}$  do complexo  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{ITZ})_2]\text{NO}_3$  (**17**) (Aiii) Mostram a indução da filamentação e mudanças na estrutura da parede celular. As cepas analisadas por fluorimetria exibiram acúmulo de lipídios neutros (B) e DNA (C), assim como a diminuição na presença de quitina (D). Barras:  $5 \mu\text{m}$ . \*,  $P < 0,05$ ; \*\*,  $P < 0,01$ ; \*\*\*\*,  $P < 0,0001$  by one-way ANOVA test.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Também foram avaliados a mutagenicidade e citotoxicidade dos dois complexos metálicos (**Tabela 17**) com a finalidade de estimar a seletividade pelas células de fungos. Ambos não mostraram atividade de mutagenicidade até  $5 \mu\text{M}$  enquanto apresentou efeitos

citotóxicos frente as células de mamíferos em concentrações superiores àquelas encontradas para os que demonstraram eficácia antifúngica. De acordo com os índices de seletividade ( $CC_{50}/MIC$  médio), eles foram pelo menos 100 vezes mais seletivos frente as células de *Sporothrix* em relação as linhagens de célula BALB/3T3 ou HepG2 (Tabela 17).

**Tabela 17** - Seletividade do complexo metálico  $[Cu(PPh_3)_2(ITZ)_2]NO_3$  (17) frente as células de fungos.

Compostos	Efeito		Efeito citotóxico			
	antifúngico  MIC <sub>médio</sub>	Efeito mutagenicidade	BALB/3T3		HepG2	
			CC <sub>50</sub>	SI	CC <sub>50</sub>	SI
$[Cu(PPh_3)_2(ITZ)_2]NO_3$ (17)	0,06	>5	16,2	270	6,4	107

Resultados expressos em  $\mu M$ . MIC<sub>médio</sub>, Média dos valores obtidos de MIC para *S. brasiliensis*, *S. schenckii*, e *S. globosa*. CC<sub>50</sub>, a concentração que representa 50% da citotoxicidade. SI, índice de seletividade calculado pela razão entre CC<sub>50</sub> e MIC<sub>média</sub>.

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

## 5. CONCLUSÕES

Neste trabalho foi apresentado e discutido a síntese de 12 novos híbridos de Cu(II), nomeados  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{CTZ})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**3**),  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{CTZ})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3) \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (**4**),  $[\text{Cu}(\text{dppz})(\text{CTZ})(\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})](\text{NO}_3) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**5**),  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{KTZ})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3) \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot \text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$  (**6**),  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{KTZ})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3) \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (**7**),  $[\text{Cu}(\text{dppz})(\text{KTZ})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**8**)  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{ITZ})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**9**),  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{ITZ})(\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})](\text{NO}_3) \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (**10**),  $[\text{Cu}(\text{dppz})(\text{ITZ})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**11**),  $\{[\text{Cu}(\text{phen})(\text{FLZ})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)\}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**12**),  $\{[\text{Cu}(\text{diona})(\text{FLZ})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)\}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (**13**),  $\{[\text{Cu}(\text{dppz})(\text{FLZ})(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)\}_2 \cdot 3\text{CH}_3\text{OH} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (**14**) os quais foram caracterizados pelas espectroscopias vibracional na região do infravermelho (IV) e de absorção por UV-Vis (UV), análise elementar, condutividade molar, espectrometria de massas (ESI-MS) e de ressonância paramagnética eletrônica (EPR). Com base nas caracterizações mencionadas, observou-se que os complexos metálicos híbridos de Cu(II) apresentam geometrias octaédricas, levemente distorcidas uma vez que o íon de Cu(II) apresenta configuração  $d^9$  podendo apresentar efeito Jahn-Teller. De maneira intrigante, o híbrido **7** contém apenas um ligante **ITZ** coordenado ao íon de Cu(II), assim como todos os híbridos **5**, **8**, e **11**, o que pode estar relacionado a um impedimento estereoquímico causado pelo ligante **ITZ** por ser muito volumoso.

Foram sintetizados e caracterizados dois híbridos de Ag(I) contendo ligantes azólicos **CTZ**, **KTZ** e **ITZ**, sendo eles  $[\text{Ag}(\text{KTZ})(\text{CTZ})]\text{NO}_3 \cdot 2\text{CH}_3\text{CN} \cdot \text{H}_2\text{O}$  (**15**) e  $[\text{Ag}(\text{KTZ})(\text{ITZ})]\text{NO}_3 \cdot 1,4\text{H}_2\text{O}$  (**16**) pelas técnicas pelas espectroscopias vibracional na região do infravermelho (IV) e de absorção por UV-Vis (UV), análise elementar, condutividade molar, de ressonância magnética nuclear (RMN). Conforme os dados obtidos através dessas caracterizações, foi possível elucidar as estruturas dos dois híbridos de Ag(I), o qual é um metal de configuração orbital  $d^{10}$ , que apresentam geometria linear a qual é comum para os complexos de Ag(I).

Adicionalmente foi sintetizado o complexo  $[\text{Cu}(\text{PPh}_3)_2(\text{ITZ})_2]\text{NO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (**17**) o qual também foi caracterizado pelas mesmas técnicas analíticas e espectroscópicas dos híbridos **15** e **16**. De acordo com os dados coletados a partir dessas caracterizações, definiu-se que o complexo **17** é um complexo de 18 elétrons, branco, tetraédrico e catiônico.

Os estudos de interação entre os híbridos de Cu(II) (**3-14**) e o DNA foram detalhadamente apresentados e discutidos, utilizando diversas técnicas analíticas. Titulações

espectrofotométricas, medidas de viscosidade, ensaios de mobilidade eletroforética, e competição pelo brometo de etídio por fluorescência foram empregados para investigar essa interação complexa. Nas titulações espectrofotométricas, foram obtidas as constantes de interação intrínsecas, revelando que os compostos **3**, **5**, **6**, **8**, **9**, **11** e **14** interagem de maneira reversível com o DNA, apresentando constantes de associação ( $K_b$ ) superiores a  $10^4 \text{ mol}^{-1}\text{L}$ . Contudo, para os demais complexos, a falta de uma banda adequada limitou a avaliação das interações reversíveis por meio dessa técnica. A viscosidade relativa dos compostos aumentou proporcionalmente à concentração dos complexos metálicos híbridos, indicando fortemente a intercalação. Esse aumento foi seguido por uma diminuição da viscosidade, sugerindo possíveis clivagens do DNA. Esses resultados foram corroborados pela mobilidade eletroforética, evidenciando a indução da forma circular do DNA plasmidial pela maioria dos compostos, indicando fortemente a intercalação. No entanto, em concentrações mais elevadas, observou-se a clivagem do DNA pelos complexos de Cu(II). A confirmação da intercalação foi obtida através da competição pelo brometo de etídio, monitorada por fluorescência. A diminuição progressiva da fluorescência do complexo BE-DNA com a adição dos complexos metálicos híbridos destaca que o DNA é um dos principais alvos desses compostos de Cu(II). Essas constatações reforçam a relevância da interação entre os complexos de Cu(II) e o DNA, evidenciando implicações significativas na compreensão das avaliações frente a atividade anti-Leishmania e antifúngica estudados nesse trabalho.

Conforme mencionado ao longo deste trabalho, inibidores da biossíntese do ergosterol, como **CTZ**, **KTZ**, **ITZ** e **FLZ**, coordenados a metais de transição, como Zn(II) e Cu(II), têm demonstrado notável eficácia contra doenças negligenciadas, tais como leishmaniose, doença de Chagas e esporotricose. Motivados por esses resultados, foram sintetizados novos compostos que incorporam ligantes planos, como **phen**, **diona** e **dppz**, visando atingir o DNA como alvo primário. Desse modo, foram desenvolvidos 12 híbridos de Cu(II) com a capacidade de impactar simultaneamente ambos os alvos mencionados anteriormente.

Os compostos **3-5**, **6-8**, **12-14** foram avaliados em colaboração com a Prof. Dr. Julianny Cola na UFRJ frente aos parasitas causadores da leishmaniose, revelando atividades antiproliferativas promissoras. Destacam-se os compostos **4**, **5**, **8** e **14**, os quais apresentaram baixíssimos valores de  $IC_{50}$ , além de índices de seletividade superiores aos ligantes de origem, indicando potencial como agentes leishmanicidas.

Adicionalmente, foram conduzidas avaliações antifúngicas dos doze complexos metálicos híbridos de Cu(II) contra fungos clinicamente relevantes, em colaboração com a Prof.

Dra. Sônia Rozental na UFRJ. Destacam-se os híbridos **9**, **11** e **12**, que, de forma notável, contêm **ITZ** e apresentaram valores de MIC inferiores às dos antifúngicos convencionais.

Seguindo a mesma lógica, foram obtidos dois complexos metálicos híbridos de Ag(I) com dois inibidores da biossíntese do ergosterol coordenados. Esses híbridos, testados em colaboração com a Prof. Dra. Sônia Rozental na UFRJ, exibiram excelentes atividades antifúngicas, destacando-se o híbrido **16** pela sua notável eficácia contra todos os fungos examinados. O complexo metálico híbrido **16**, contendo **KTZ** e **ITZ** coordenados pelo íon de Ag(I), apresentou uma atividade antifúngica excepcional em comparação com os ligantes isolados, posicionando-se como um promissor agente antifúngico.

Esses resultados corroboram a ideia de que os híbridos metálicos que contêm ligantes atuando em diferentes alvos simultaneamente oferecem uma abordagem promissora para o tratamento de doenças negligenciadas.

Os resultados do trabalho de doutorado foram aplicados na elaboração de um artigo científico, o qual já foi publicado. Adicionalmente, estão em andamento a redação de outros três artigos com o propósito de aprofundar e ampliar as contribuições do estudo para a literatura científica. Esse processo de escrita representa uma etapa significativa na disseminação dos achados e na consolidação do impacto da pesquisa. Simultaneamente, a execução do doutorado contribuiu para o enriquecimento substancial tanto no âmbito profissional quanto pessoal, favorecendo o aprimoramento das habilidades acadêmicas e o desenvolvimento de uma perspectiva mais abrangente na área de estudo. Esses avanços serão compartilhados e discutidos em um contexto nacional e internacional, com a apresentação dos resultados em eventos científicos, proporcionando assim a interação e a troca de conhecimento com outros especialistas na área.

## REFERÊNCIAS

- AKHOUNDI, M. *et al.* A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of *Leishmania* parasites and sandflies. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 3, p. e0004349, 2016.
- ALMEIDA, P.; GIORDANO, C. Gerência de doenças transmitidas por vetores e zoonoses – Gdtvz. Boletim Epidemiológico Esporotricose 001 / 2018 Vigilância E Cenário. **Net**, Rio de Janeiro, 2018, maio. Disponível em: <http://www.riocomsaude.rj.gov.br/Publico/MostrarArquivo.aspx?C=mgfY3RQJkek%3D>. Acesso em: 14 de fev. 2024.
- ALVAR, J. *et al.* Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PloS one**, v. 7, n. 5, 2012.
- ANDRÉ, L. S. *et al.* Decoding the anti-*Leishmania braziliensis* activity of 1,10-phenanthroline-5,6-dione and its silver- and copper-based complexes: In vitro and in vivo approaches. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 6, p. 100093, 2022.
- BANTI, C. N.; HADJIKAKOU, S. K. Anti-proliferative and anti-tumor activity of silver(I) compounds. **Metallomics**, v. 6, p. 569, 2013.
- BARAN, E. Suplementação de Elementos-Traços. **Química Nova na Escola**, v. 6, p. 7–12, 2005.
- BARRA, C. V.; NETO, A. V. G. Antitumour Complexes and DNA Interactions and their Tools of Analysis: an Approach to Metalointercalators. **Revista Virtual de Química**, v. 7, p. 1998–2016, 2015.
- BARRET, S. *et al.* Anticancer activity, DNA binding and cell mechanistic studies of estrogen-functionalized Cu(II) complexes. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 25, p. 49-60, 2020.
- BLAGOSKLONNY, M. V.; DIXON, S. C.; FIGG, W. D. Efficacy of microtubule-active drugs followed by ketoconazole in human metastatic prostate cancer cell lines. **Journal of Urology**, v. 163, p. 1022–1026, 2000.
- BOELAERT, M. Why miltefosine—a life-saving drug for leishmaniasis—is unavailable to people who need it the most. **BMJ global health**, v. 3, n. 3, p. e000709, 2018.
- BONOMO, R. P.; RIGGI, F. and DI BILIO, A. J. EPR reinvestigation of the copper(II)-imidazole system. **Inorganic Chemistry**, v. 27, n. 14, p. 2510-2512, 1988.
- BOROS, E.; DYSON, P. J.; GASSER, G. Classification of Metal-Based Drugs according to Their Mechanisms of Action. **Chem**, v. 6, n. 1, p. 41-60, 2020.
- BURZA, S.; CROFT, S. L.; BOELAERT, M. Leishmaniasis. **The Lancet**, v. 392, n. 10151, p. 951-970, 2018.

CALDERAZZO, F.; PAMPALONI, G.; PASSARELLI, V. 1,10-phenanthroline-5,6-dione as a building block for the synthesis of homo- and heterometallic complexes. **Inorganica Chimica Acta**, v. 330, n. 1, p. 136–142, 2002.

CALUCCI, L. *et al.* Transition metal derivatives of 1,10-phenanthroline-5,6-dione: controlled growth of Coordination polynuclear derivatives. **Inorganica Chimica Acta**, v. 359, n. 12, p. 3911–3920, 2006.

CHAKRABARTI, A. *et al.* Global epidemiology of sporotrichosis. **Medical Mycology**, v. 53, n. 1, p. 3-14, 2015.

CHAKRAVARTY, M. *et al.* Pentamidine rescues contractility and rhythmicity in a *Drosophila* model of myotonic dystrophy heart dysfunction. **Disease Models & Mechanisms**, v. 8, n. 12, p. 1569-1578, 2015.

CINI, M.; BRADSHAW, T. D.; WOODWARD, S. Using titanium complexes to defeat cancer: the view from the shoulders of titans. **Chemical Society Review**, v. 46, p. 1040-1051, 2017.

COELHO, W. M. D; BUZETTI, W. A. S; BRESCIANI, K. D. S. Histochemical and molecular evaluation of the prevalence of *Leishmania* spp. in hematophagous insects. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 1, n. 2, p. 85-89. 2016.

VEGAS, Legna Adreina Vegas. **Síntese de complexos semi-sanduíche  $\eta^6$ -p-cimeno-Ru(II) contendo ligantes binitrogenados, interação com o DNA e potenciais atividades farmacológicas**. 2013. Tese (Doutorado em Química) – Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2013.

CONDÉ, C.A.S.R., *et al.* Synthesis, characterization and antileishmanial activity of copper(II) and zinc(II) complexes with diamine ligands. **Transition Metal Chemistry**, v. 47, p. 147–156, 2022.

COOMBS, G. H. Leishmaniasis—current chemotherapy and recent advances in the search for novel drugs. **Trends in parasitology**, v. 19, n. 11, p. 502-508, 2003.

COSTA FILHO, A. V.; LUCAS, I. C.; SAMPAIO, R. N. R. Estudo comparativo entre miltefosina oral e antimoniato de N-metil glucamina parenteral no tratamento da leishmaniose experimental causada por *Leishmania (Leishmania) amazonensis* [Comparative study between oral miltefosine and parenteral N-metil glucamine antimoniate for the treatment of experimental leishmaniasis caused *Leishmania (Leishmania) amazonensis*]. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 4, p. 424-427, 2008.

CROFT, S. L.; YARDLEY, V. Chemotherapy of leishmaniasis. **Current Pharmaceutical Design**, v. 8, n. 4, p. 319-42, 2003.

CROWLEY, P. D.; GALLAGHER, H. C. Clotrimazole as a pharmaceutical: past, present and future. **Journal of Applied Microbiology**, v. 117, n. 3, p. 611-617, 2014.

DA SILVA, C. F. N. *et al.* Anticancer and antitrypanosomal activities of trinuclear ruthenium compounds with orthometalated phenazine ligands. **Dalton Transactions**, v. 49, p. 16440-16452, 2020.

DE AZEVEDO-FRANÇA, J. A. *et al.* Synthesis and Biological Activity of Novel Zinc-Itraconazole Complexes in Protozoan Parasites and *Sporothrix* spp. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 64, n. 5, p. e01980-19, 2019.

DE AZEVEDO-FRANÇA, J. A. *et al.* Promising fluconazole based zinc(II) and copper(II) coordination polymers against Chagas disease. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 233, p. 111834, 2022.

DE AZEVEDO-FRANÇA, J. A. *et al.* Antifungal promising agents of zinc(II) and copper(II) derivatives based on azole drug. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 219, p. 111401, 2021.

DE MACEDO-SILVA, S. T. *et al.* Potent In Vitro Antiproliferative Synergism of Combinations of Ergosterol Biosynthesis Inhibitors against *Leishmania amazonenses*, **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 10, p. 6402–6418, 2015.

DE PAIVA-CAVALCANTI, M. *et al.* Leishmaniasis diagnosis: an update on the use of immunological and molecular tools. **Cell BioSciences**, v. 5, n. 31, p. 1-12, 2015.

DE SOUZA, C. C. *et al.* Silver and copper-benzimidazole derivatives as potential antiparasitic metallodrugs: Synthesis, characterization, and biological evaluation. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 239, p. 112047, 2023.

DE SOUZA PEREIRA, *et al.* A Hybrid of Amodiaquine and Primaquine Linked by Gold(I) Is a Multistage Antimalarial Agent Targeting Heme Detoxification and Thiol Redox Homeostasis. **Pharmaceutics**, v. 14, p. 1251, 2022.

DE SOUZA, W.; ATTÍAS, M. Subpellicular microtubules in Apicomplexa and trypanosomatids. In: *Structures and Organelles in Pathogenic Protists*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2010. p. 27-62.

DOCAMPO, R.; MORENO, S. N. J. Acidocalcisomes. **Cell calcium**, v. 50, n. 2, p. 113-119, 2011.

DORLO, T. P. C. *et al.* Miltefosine: a review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of leishmaniasis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n. 11, p. 2576-2597, 2012.

DOS SANTOS, P. V. P. *et al.* Promising Ag(I) complexes with N-acylhydrazones from aromatic aldehydes and isoniazid against multidrug resistance in tuberculosis. **Journal of Molecular Structure**, v. 1234, p. 130193, 2021.

EMAD, H. F.; FALLAHZADEH, M. K.; NAMAZI, M. R. Superior efficacy of oral fluconazole 400 mg daily versus oral fluconazole 200 mg daily in the treatment of cutaneous leishmania major infection: a randomized clinical trial. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 64, n. 3, p. 606-8, 2011.

EUCAST-AFST. Method for the determination of minimum inhibitory concentrations of broth dilution of yeast antifungal agents - document E.DEF 7.3.2; European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing: Växjö, Suécia, 2020; pp. 1-21.

FARRELL, N. *et al.* Biomedical uses and applications of inorganic chemistry. An overview. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 232, n. 1–2, p. 1–4, 2002.

FOLLI, A. *et al.* Angle-selected ENDOR spectroscopy. 2. Determination of proton coordinates from a polycrystalline sample of bis(2,4-pentanezionate)copper(II), **Journal of Catalysis**, v. 394, p. 220-227, 2021.

FRANÇA, José Aleixo de. **Síntese e caracterização de complexos de zinco e cobre contendo ligantes azólicos: estudos de interação com DNA e avaliação de suas atividades antiparasitárias e antifúngicas**. 2019. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2019.

FRÉZARD, F.; DEMICHELI, C.; RIBEIRO, R. R. Pentavalent antimonials: new perspectives for old drugs. **Molecules**, v. 14, n. 7, p. 2317-2336, 2009.

GAGINI, T. *et al.*; Metal–azole fungistatic drug Complexes as anti-Sporothrix spp. Agents. **New Journal of Chemistry**, 2018,42, 13641-13650.

GALA L. *et al.* EPR spectroscopy of a clinically active (1:2) copper(II)histidine complex used in the treatment of Menkes disease: a Fourier transform analysis of a CW-EPR fluid spectrum. **Molecules**, v. 19, p. 980-991, 2014.

GALDINO, A. C. M, *et al.* Copper(II) and silver(I)-1,10-phenanthroline-5,6-dione complexes interact with double-stranded DNA: further evidence of their apparent multi-modal activity towards *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 27, n. 1, p. 201-213, 2022.

GARCIA-RAMOS, J. C. *et al.* Metal-Based Drug-DNA Interactions. **Journal of the Mexican Chemical Society**, v. 57, p. 245–259, 2013.

GANESHPANDIAN, M., *et al.* Interaction of mixed ligand copper(II) complexes with CT DNA and BSA: Effect of primary ligand hydrophobicity on DNA and protein binding and cleavage and anticancer activities. **Polyhedron**, v. 52, p. 929-938, 2013.

GARRIBBA, E. AND G. MICERA. The Determination of the Geometry of Cu(II) Complexes: A Spectroscopy Experiment EPR. **Journal of Chemical Education**, v. 83, n. 8, p. 1229, 2006.

GEARY, W.J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, p. 81-122, 1971.

GHOSH, S.; *et al.* Synthesis, characterisation, Xray structure and DNA photocleavage by cis-dichloro bis(diimine)Co(III) complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.100, n.3, p.331–343, 2006.

GISSOT, M. *et al.* An evolutionary conserved zinc finger protein is involved in *Toxoplasma gondii* mRNA nuclear export. **Cell Microbiology**, v. 19, n. 2, p. e12644, 2017.

GODINHO, J. L. P. Efficacy of miltefosine treatment in *Leishmania amazonensis*-infected BALB/c mice. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 39, n. 4, p.326-31, 2012.

GODLEWSKA, S. *et al.* Copper(II) complexes with substituted imidazole ligands and chloride: X-rays, UV–Vis, magnetic and RPE and chemotherapeutic potential. **Polyhedron**, v. 65, p. 288-297, 2013.

GUPTA, T. *et al.* Bis(dipyridophenazine)copper(II) complex as major groove directing synthetic hydrolase. **Dalton Transactions**, n. 12, p. 1896, 2004.

HANDMAN, E. Leishmaniasis: Current Status of Vaccine Development. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 229–243, n. 14 (2), p. 229-43, 2001.

HAQ, I. *et al.* Interaction of  $\Delta$ - and  $\Lambda$ -[Ru(phen)<sub>2</sub>DPPZ]<sub>2</sub><sup>+</sup> with DNA: A Calorimetric and Equilibrium Binding Study. **Journal of American Chemical Society**, v. 117, p. 4788–4796, 1995.

HELLER, D. P. and GREENSTOCK, C. L. Fluorescence lifetime analysis of DNA intercalated ethidium bromide and quenching by free dye. **Biophysical Chemistry**, v. 50, n. 3, p. 305-312, 1994.

HENDRICKX, S. *et al.* Combined treatment of miltefosine and paromomycin delays the onset of experimental drug resistance in *Leishmania infantum*. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 5, p. e0005620, 2017.

HOLMLIN, R. E.; STEMP, E. D. A.; BARTON, J. K. [Ru(phen)<sub>2</sub>dppz]<sub>2</sub><sup>+</sup> Luminescence: Dependence on DNA Sequences and Groove-Binding Agents. **Inorganic Chemistry**, v. 37, n. 1, p. 29-34. 1998.

ICSEL, C.; YILMAZ, V. T. DNA Binding and Cleavage Studies of Two Palladium(II) Saccharinate Complexes with Terpyridine. **DNA and Cell Biology**, v. 32, n. 4, p. 165–172, 2013.

ISHIDA, K. *et al.* Two squalene synthase inhibitors, E5700 and ER-119884, interfere with cellular proliferation and induce ultrastructural and lipid profile alterations in a *Candida tropicalis* strain resistant to fluconazole, itraconazole, and amphotericin B. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 17, n. 4, p. 563-570, 2011.

JARDINE, F. H.; VOHRA, A. G.; YOUNG, F. J. Copper(I) nitrate and nitrate complexes. **Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry**, v. 33, p. 2941–2945, 1971.

JIA, L. *et al.* Synthesis, characterization, and antitumor activity of three ternary dinuclear copper (II) complexes with a reduced Schiff base ligand and diimine coligands in vitro and in vivo. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 159, p. 107–119, 2016.

KAUFFMAN, C. *a et al.* Infectious Diseases Society of America. Clinical practice guidelines

for the management of sporotrichosis: 2007 update by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 15, n. 45(10), p. 1255-1265, 2007.

KELLAND, L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. **Nature Reviews Cancer**, v.7, p. 573–584, 2007.

KELLETT, A. *et al.* Molecular methods for assessment of non-covalent metallodrug-DNA interactions. **Chemical Society Reviews**, v. 48, p. 971–988, 2019.

KELLY, J. M. *et al.* A study of the interactions of some polypyridylruthenium (II) complexes with DNA using fluorescence spectroscopy, topoisomerisation and thermal denaturation. **Nucleic Acids Research**, v. 13, p. 6017– 6034, 1985.

LAKOWICZ, J. R. Principles of Fluorescence Spectroscopy. 3<sup>a</sup> ed. Springer Science, 2006.

LANIADO-LABORÍN, R.; CABRALES-VARGAS, M. N. Amphotericin B: side effects and toxicity. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 26, n. 4, p. 223- 227, 2009.

LANSDOWN, A. B. G. Silver in Health Care: Antimicrobial Effects and Safety in Use. **Current Problems in Dermatology**, v. 33, p. 17-34, 2006.

LAZAREVIĆ, T.; RILAK, A.; BUGARČIĆ, Ž. D. Platinum, palladium, gold and ruthenium complexes as anticancer agents: Current clinical uses, cytotoxicity studies and future perspectives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 142, p. 8-31, 2017.

LEPESHEVA, G. I. *et al.* Sterol 14 $\alpha$ -demethylase as a potential target for antitrypanosomal therapy: enzyme inhibition and parasite cell growth. **Chemical Biology**, v. 14, n. 11, p. 1283-1293, 2007.

LI, Z. *et al.* DNA binding and in vitro antineoplastic activity of neotype water-soluble Cu(II)-complexes based on fluorinated benzoylhydrazone porphyrin ligands. **Dyes and Pigments**, v. 163, p. 647-655, 2019.

LIMA, A. K. C. *et al.* Anti-Leishmania braziliensis activity of 1,10-phenanthroline-5,6-dione and its Cu(II) and Ag(I) complexes. **Parasitology Research**, v. 120, n. 9, p. 3273-3285, 2021.

LOGANATHAN, R. *et al.* DNA and protein binding, double-strand DNA cleavage and cytotoxicity of mixed ligand copper(II) complexes of the antibacterial drug nalidixic acid. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 174, p. 1-13, 2017.

LOGANATHAN, R. *et al.* Mixed Ligand Copper(II) Complexes of N,N-Bis(benzimidazol-2-ylmethyl)amine (BBA) with Diimine Co-Ligands: Efficient Chemical Nuclease and Protease Activities and Cytotoxicity. **Inorganic Chemistry**, v. 51, p. 5512–5532, 2012.

MACEDO-SILVA, S. T. *et al.* In vitro activity of the antifungal azoles itraconazole and posaconazole against *Leishmania amazonensis*. **PLoS One**, v. 23, n. 8(12), p. e832472013, 2013.

Marimon, R. *et al.* *Sporothrix brasiliensis*, *S. globosa*, and *S. mexicana*, three new *Sporothrix* species of clinical 394 interest. **Journal of Clinical Microbiology**, v.45, p. 3198-3206, 2007.

MCCANN, B. *et al.* Synthesis and X-ray crystal structure of [Ag(phendio)<sub>2</sub>]ClO<sub>4</sub> (phendio ¼ 1,10-phenanthroline-5,6-dione) and its effects on fungal and mammalian cells. **Biometals**, v. 7, p. 635–645, 2004.

MCGIVERN, T. J. P.; *et al.* Innovative DNA-Targeted Metallo-prodrug Strategy Combining Histone Deacetylase Inhibition with Oxidative Stress. **Molecula Pharmaceutics**, v. 15, n. 11, p. 5058-5071, 2018.

MCGWIRE, B. and SATOSKAR, A. R. Leishmaniasis: clinical syndromes and treatment. **QJM: An International Journal of Medicine**, v. 107, n. 1, p. 7-14, 2014.

MELÉNDEZ E. Titanium complexes in cancer treatment. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 42, n. 3, p. 309-15, 2002.

MELNIK, M.; KABESOVA, M. Copper (II) coordination compounds: classification and analysis of crystallographic and structural data V. polymeric compounds. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 50, p. 177-322, 2000.

MOKHTARUDDIN, N. S. M. *et al.* Unusual saccharin-N,O (carbonyl) coordination in mixed-ligand copper(II) complexes: Synthesis, X-ray crystallography and biological activity. **Journal of Molecular Structure**, v. 1139, p. 1–9, 2017.

MOSCATO, A.A.; ALEXANDER, J. W.; BABCOCK, G. F. Surface aminopeptidase activity of human lymphocytes. I. Biochemical and biologic properties of intact cells. **Journal of Immunology**, v. 142, n 4, p; 1245–1252, 1989.

NAGARAJ, K. *et al.* Nucleic acid binding study of surfactant copper(II) complex containing dipyrido[3,2-*a*:2'-3'-*c*]phenazine ligand as an intercalator: *in vitro* antitumor activity of complex in human liver carcinoma (HepG2) cancer cells. **RSC Advances**, v. 4, p. 56084-56094, 2014.

NAVARRO, M, *et al.* Synthesis, characterization, DNA binding study and biological activity against *Leishmania mexicana* of [Cu(dppz)<sub>2</sub>]BF<sub>4</sub>. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 1, n. 97(4), p. 364-9, 2003.

NAVARRO, M. *et al.* Design of copper DNA intercalators with leishmanicidal activity. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 8, n. 4, p. 401–408, 2003.

NAVARRO, M. *et al.* Syntheses, characterization, and biological evaluation of new zinc-and gold-chloroquine diphosphate complexes. **Transition Metal Chemistry**, v. 33, n. 7, p. 893–898, 2008.

NAVARRO, M. *et al.* Synthesis and characterization of [Au(dppz)<sub>2</sub>]Cl<sub>3</sub>. DNA interaction studies and biological activity against *Leishmania (L) mexicana*. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 101, p. 111–116, 2007.

NAVARRO, M. *et al.* Synthesis and characterization of new copper– and zinc–chloroquine complexes and their activities on respiratory burst of polymorphonuclear leukocytes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 99, n. 8, p. 1630–1636, 2005.

NAVARRO, M. *et al.* Toward a novel metal-based chemotherapy against tropical diseases. Part 5. Synthesis and characterization of new Ru(II) and Ru(III) clotrimazole and ketoconazole complexes and evaluation of their activity against *Trypanosoma cruzi*. **Polyhedron**, v. 19, n. 22–23, pp. 2319-2325, 2000.

NAVARRO, M. *et al.* Toward a Novel Metal-Based Chemotherapy against Tropical Diseases. 6. Synthesis and Characterization of New Copper(II) and Gold(I) Clotrimazole and Ketoconazole Complexes and Evaluation of Their Activity against *Trypanosoma cruzi*. **Inorganic Chemistry**, v. 40, n. 27, p. 6879–6884, 2001.

NAVARRO, M. *et al.* Metallodrugs for the Treatment of Trypanosomatid Diseases: Recent Advances and New Insights. **Current Pharmaceutical Design**, v. 27, p. 1763-1789, 2021.

NEUMAN, N. I. *et al.* Transition from isolated to interacting copper(II) pairs in extended lattices evaluated by single crystal EPR spectroscopy. **Inorganic Chemistry Frontiers**, v. 116, n. 50, p. 12314-12320, 2012.

OLIVEIRA S. S. C. The Anti-*Leishmania amazonensis* and Anti-*Leishmania chagasi* Action of Copper(II) and Silver(I) 1,10-Phenanthroline-5,6-dione Coordination Compounds. **Pathogens**, v. 1, n. 12(1), p. 70, 2023.

OLIVEIRA, M. *et al.* Miltefosine induces programmed cell death in *Leishmania amazonensis* promastigotes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, p. 507-509, 2011.

OLIVEIRA, V. A. *et al.* Evaluation of DNA-binding and DNA-photocleavage ability of tetra-cationic porphyrins containing peripheral [Ru(bpy)<sub>2</sub>Cl]<sup>+</sup> complexes: Insights for photodynamic therapy agentes. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 2011, n. 111991, p. 1-13, 2020.

OLLIARO, P. L. *et al.* Treatment options for visceral leishmaniasis: a systematic review of clinical studies done in India, 1980–2004. **Lancet Infectious Disease**, v. 5, n. 12, p. 763-774, 2005.

ONG, Y. C; *et al.* Metal Compounds against Neglected Tropical Diseases. **Chemical Reviews**, v. 119, n. 730–796, 2019.

Organização Pan-Americana de Saúde. OPAS. Leishmaniasis. **Net**, 2023. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose/leishmaniose-visceral>. Acesso em: 16 jul. 2023.

Organização Pan-Americana de Saúde. OPAS. Leishmaniasis. **Net**, 2023. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose/leishmaniose-cutanea-e-mucosa>. Acesso em: 16 jul. 2023.

Organização Pan-Americana de Saúde. OPAS. Leishmaniasis. **Net**, 2023. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose>. Acesso em: 16 jul. 2023.

OROFINO-COSTA, R. *et al.* Sporotrichosis: An update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 92, n. 5, p. 606-620, 2017.

ORYAN, A., AKBARI, M. Worldwide risk factors in leishmaniasis. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 9, p. 925–932, 2016.

PACE, D. Leishmaniasis: diagnostic issues in Europe. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 13, n. 9, p. 1123-1138, 2015.

RAJENDIRAN, V. *et al.* Mixed-Ligand Copper(II)-phenolate Complexes: Effect of Coligand on Enhanced DNA and Protein Binding, DNA Cleavage, and Anticancer Activity. **Inorganic Chemistry**, v. 46, p. 8208–8221, 2007.

POSSATO, B. *et al.* Anticancer activity and DNA interaction of ruthenium acetate clusters bearing azanaphthalene ancillary ligands. **Polyhedron**, v. 176, n. 114261, p. 1-8, 2020.

PRISECARU, Andreea. **Metallo drugs as inducers and inhibitors of chemical nuclease activity**. 2015. Tese (Doutorado em filosofia) – School of Chemical Sciences, Dublin City University, Dublin, 2015.

RASAMOELINA, T. *et al.* Chromoblastomycosis and sporotrichosis, two endemic but neglected fungal infections in Madagascar. **Journal of Medical Mycology**, v. 27, n. 3, p. 312-324, 2017.

RATH, S. *et al.* Antimoniais Empregados No Tratamento Da Leishmaniose: Estado Da Arte. **Quimica Nova**, v. 26, p. 550-555, 2003.

REAL, F. *et al.* The Genome Sequence of *Leishmania (Leishmania) amazonensis*: Functional Annotation and Extended Analysis of Gene Models. **DNA Research**, v. 20, n. 6, p. 567–581, 2013.

REEDIJUK, J. *et al.* Medicinal applications of heavy-metal compounds. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 3, n 2, p 236-40, 1999

RIJAL, S. *et al.* Treatment of visceral leishmaniasis in south-eastern Nepal: decreasing efficacy of sodium stibogluconate and need for a policy to limit further decline. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, n. 3, p. 350–354, 2003.

RITTERSKAMP, N. *et al.* Understanding the Coordination Modes of [(acac)<sub>2</sub>(imidazole)<sub>n</sub>=1, 2] Adducts by EPR, ENDOR, HYSCORE and DFT Analysis. **Inorganic Chemistry**, v. 56, n. 19, p. 11862-11875, 2017.

RODRIGUES, J. C. *et al.* Ultrastructural and biochemical alterations induced by 22, 26-azasterol, a  $\Delta^{24}$  (25)-sterol methyltransferase inhibitor, on promastigote and amastigote forms of *Leishmania amazonensis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 46, n. 2, p. 487-499, 2002.

RODRIGUES, J. C. F. *et al.* In vitro activities of ER-119884 and E5700, two potent squalene synthase inhibitors, against *Leishmania amazonensis*: antiproliferative, biochemical, and ultrastructural effects. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, n. 11, p. 4098-4114, 2008.

ROY, N. *et al.* Mitochondria specific highly cytoselective iridium(III)-Cp\* dipyridophenazine

(dppz) complexes as cancer cell imaging agents. **Dalton Transactions**, v. 14, n. 50, p. 2268-2283, 2021.

SÁNCHEZ-DELGADO, R. A. *et al.* Toward a novel metal based chemotherapy against tropical diseases 4. Synthesis and characterization of new metal-clotrimazole complexes and evaluation of their activity against *Trypanosoma cruzi*, **Inorganica Chimica Acta**, v. 275–276, p. 528-540, 1998.

SANTOS, D. O. *et al.* Leishmaniasis treatment: a challenge that remains: a review. **Parasitology Research**, v. 103, n. 1, p. 1-10, 2008.

SCHAFER, S.; SHELDRIK, W. S. Coligand tuning of the DNA<sup>-</sup> binding properties of half-sandwich organometallic intercalators: Influence of polypyridyl (pp) and monodentate ligands (L = Cl, (NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CS, (NMe<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CS) on the intercalation of (η<sup>5</sup>-pentamethylcyclopentadienyl)-iridium(III)-dipyridoquinoxaline and -dipyridophenazine complexes. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 692, p. 1300–1309, 2007.

SCHOLL, H. J. and HUETTERMANN, E. J. ESR and ENDOR of copper(II) complexes with nitrogen donors: probing parameters for modeling of prosthetic groups of superoxide dismutase. **Journal of Physical Chemistry**, v. 96, n. 24, p. 9684-9691, 1992.

SIGEL, A.; SIGEL, H.; FREISINGER, E. AND SIGEL, R. K.O. Metallo-Drugs: Development and Action of Anticancer Agents. *In*: SCHMIDBAUR, H. **Metal Ions in Life Sciences series**. Edição 2018. Berlin, Boston: **De Gruyter**, 2018, v. 18, p. 355-357.

SINGH, K. M.; SRIVASTAVA, P.; MANNA, P. P. Recent Advances in Chemotherapeutics for Leishmaniasis: Importance of the Cellular Biochemistry of the Parasite and Its Molecular Interaction with the Host. **Pathogens**, v. 12, n. 12, p. 706, 2023.

SINGH, K.; SRIVASTAVA, P.; PATRA, A. K. Binding interactions with biological targets and DNA photocleavage activity of Pr(III) and Nd(III) complexes of dipyridoquinoxaline. **Inorganica Chimica Acta**, v. 451, p. 73–81, 2016.

SKLAVOS, W. T.; WEBBER, M. T. & WATSON, A. B. Cutaneous leishmaniasis in a child treated with oral fluconazole. **Australasian Journal of Dermatology**, v. 51, n. 3, p.195-7, 2010.

SOARES, E. *et al.* In vitro inhibition of Leishmania attachment to sandfly midguts and LL-5 cells by divalent metal chelators, anti-gp63 and phosphoglycans. **Protist**, v. 168, p. 326–334, 2017.

SOUSA, F. M. S *et al.* High-dose oral fluconazole therapy effective for cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Vianna) braziliensis*. **Clinical Infectious Diseases**, v. 53, n. 7, p.693-5, 2011.

SOUZA, G. D. *et al.* Prata: Breve histórico, propriedades e aplicações. **Educación Química**, v. 24. p. 14-16, 2013.

STOEFFLER, H. D., THORNTON, N. B., TEMKIN, S. L., SCHANZE, K. S. Unusual

Photophysics of a Rhenium(I) Dipyridophenazine Complex in Homogenous Solution and Bound to DNA. **Journal of American Chemical Society**, v. 117, n. 27, p.7119-7128, 1995.

STOLL, S.; SCHWEIGER, A. EasySpin, a comprehensive software package for spectral simulation and analysis in EPR. **Journal of Magnetic Resonance**, v. 178, n. 1, p. 42-55, 2006.

SUBHAN, M.A. *et al.* Spectroscopic analysis, DNA binding and antimicrobial activities of metal complexes with phendiona and its derivative. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 118, p. 944-50, 2014.

SUNDAR, S. and CHAKRAVARTY, J. An update on pharmacotherapy for leishmaniasis. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 16, n. 2, p. 237-252, 2015.

TABBÌ, G.; GIUFFRIDA, A. and BONOMO, R. P. Determination of formal redox potentials in aqueous solution of copper(II) complexes with ligands having nitrogen and oxygen donor atoms and comparison with their EPR and UV–Vis spectral features. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 128, p. 137-145, 2013.

TAY, C.X. *et al.* Matrix Metalloproteinase Inhibitor as an Antimicrobial Agent to Eradicate *Enterococcus faecalis* Biofilm. **Journal of Endodontics**, v. 41, n. 6, p.858-863, 2015.

TISATO, F. *et al.* Copper in diseases and treatments, and copper-based anticancer strategies. **Medicinal Research Reviews**, v. 30, n.4, p. 708-749, 2010.

TIUMAN, T. S. *et al.* Recent advances in leishmaniasis treatment. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 15, n. 8, p. e525-e532, 2011.

UDE, Z. *et al.* A new class of prophylactic metallo-antibiotic possessing potent anti-cancer and anti-microbial Properties. **Dalton Transactions**, v. 48, p. 8578-8593, 2019.

URBINA, J. A. *et al.* Modification of the sterol composition of *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi* epimastigotes by delta 24(25)-sterol methyl transferase inhibitors and their combinations with ketoconazole. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 73, p. 199–210, 1995.

VILLARREAL, W. *et al.* Copper(I)–Phosphine Polypyridyl Complexes: Synthesis, Characterization, DNA/HSA Binding Study, and Antiproliferative Activity. **Inorganic Chemistry**, v. 56, n. 7, p. 3781–3793, 2017.

WEE, H. A. AND DYSON, P. J. Classical and non-classical ruthenium-based anticancer drugs: Towards targeted chemotherapy. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 20, p. 4003–4018, 2006.

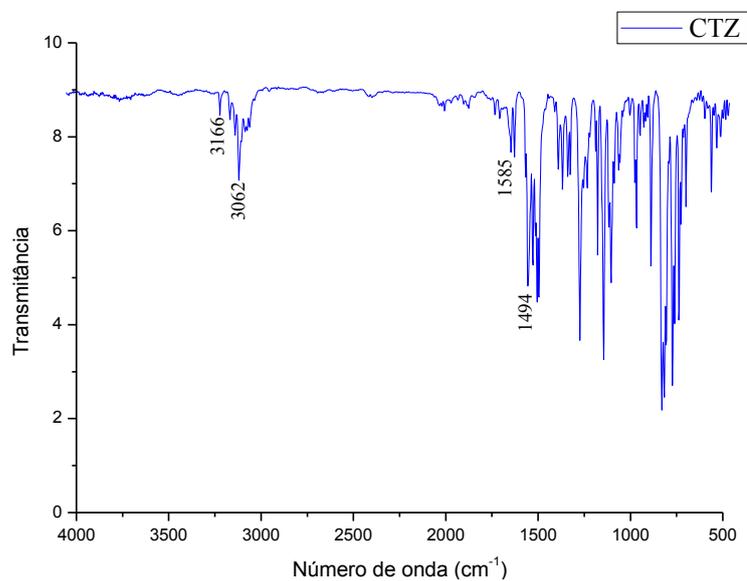
WHO, 2023. Leishmaniose. **Net**. 2023 Disponível em: [https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1). Acesso em: 07 jul. 2023.

WHO, 2023. Neglected tropical diseases. **Net**. 2023. Disponível em: [https://www.who.int/neglected\\_diseases/diseases/en/](https://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/). Acesso em: 05 dez. 2023.

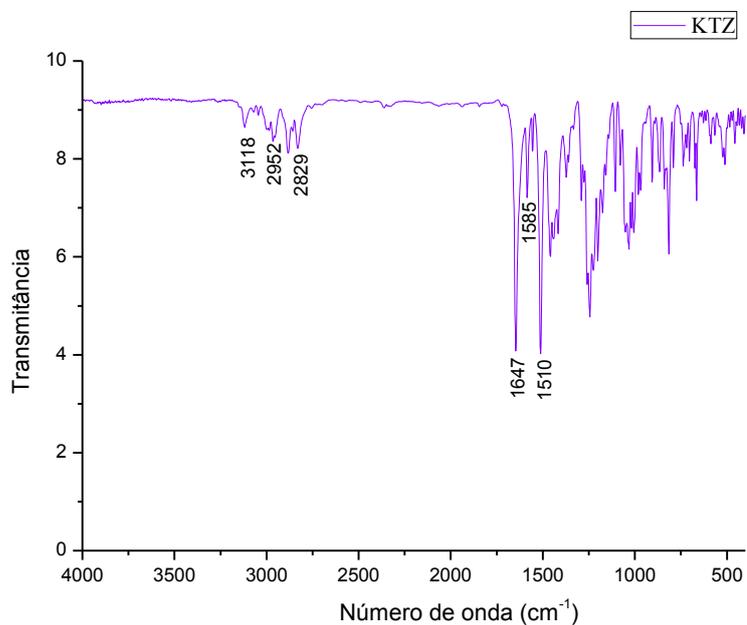
WHO. World Health Organization. **Control of the leishmaniases**. World Health Organization Technical Report Series, Edição 949, Genebra, WHO technical report series, 2010.

YEO, C. I.; KAH K. O.; AND EDWARD, R.T. TIEKINK. Gold-based medicine: A paradigm shift in anti-cancer therapy?. **Molecules**, v. 23, p. 14–23, 2018.

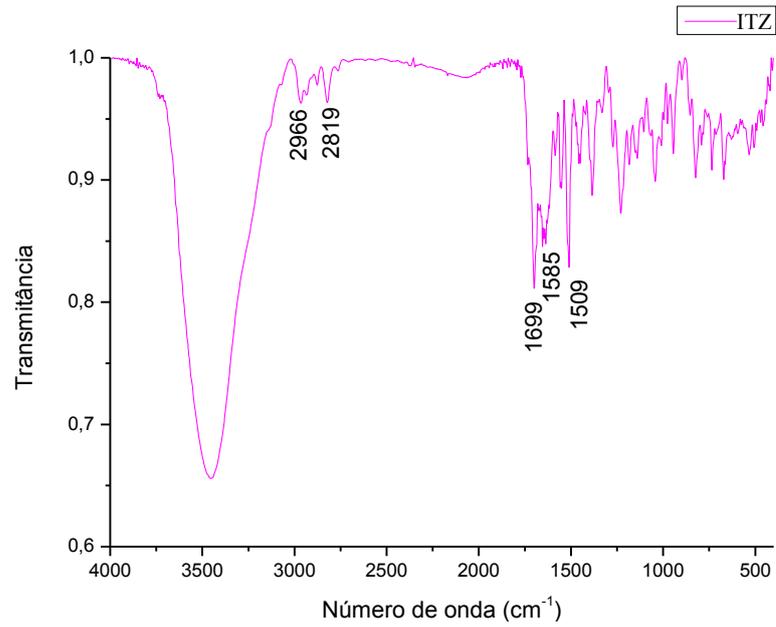
ZHENG, Y. Q.; SUN, J. AND LIN, J. L. Crystal structure of diaquanitrato(1,10-phenanthroline-N,N')copper(II) nitrate,  $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$ . **Zeitschrift für Kristallographie - New Crystal Structures**, v. 217, n. JG, p. 193-194, 2002.

**APÊNDICE A - Espectros vibracionais na região do infravermelho.****Figura 61 - Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante CTZ.**

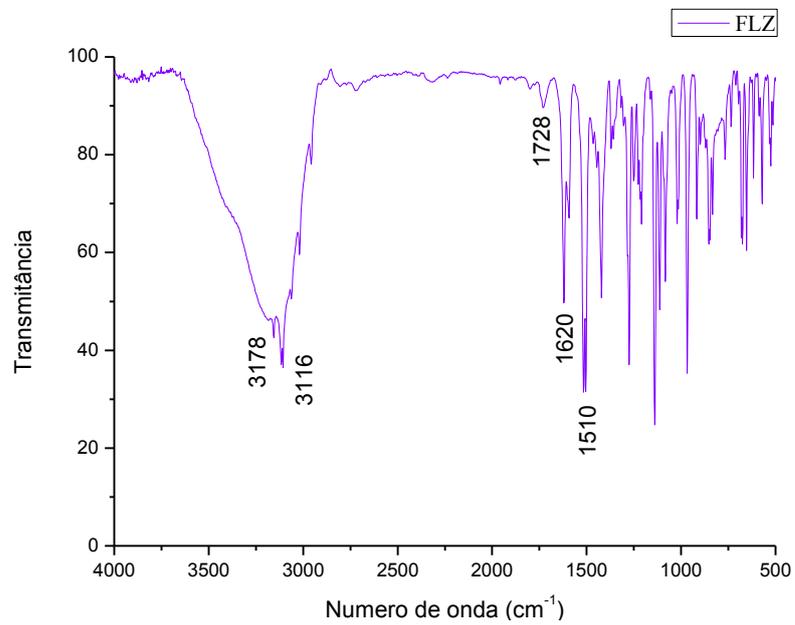
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 62 - Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante KTZ.**

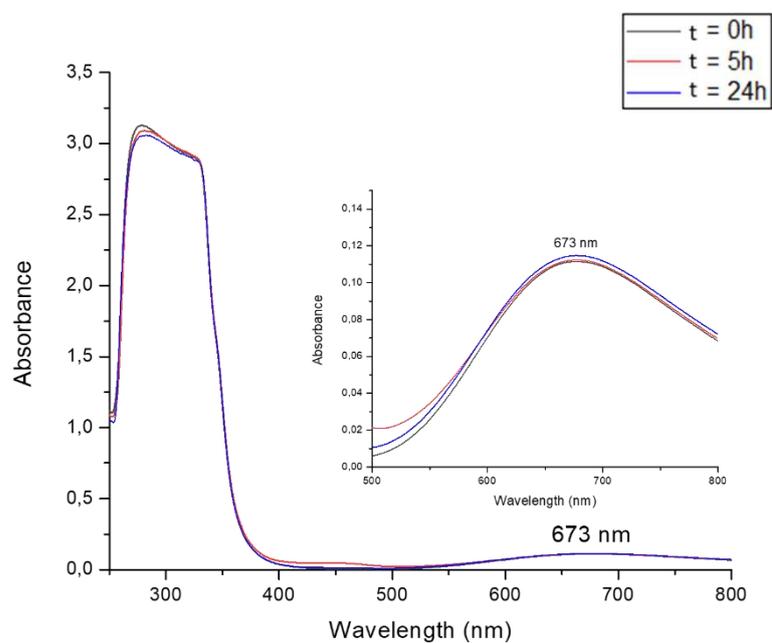
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 63** - Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante **ITZ**.

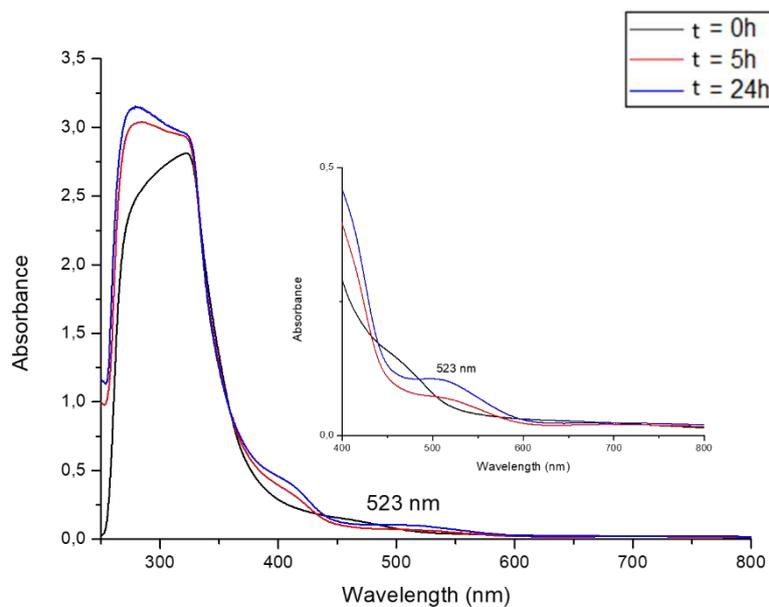
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 64** - Espectro vibracional na região do infravermelho do ligante **FLZ**.

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

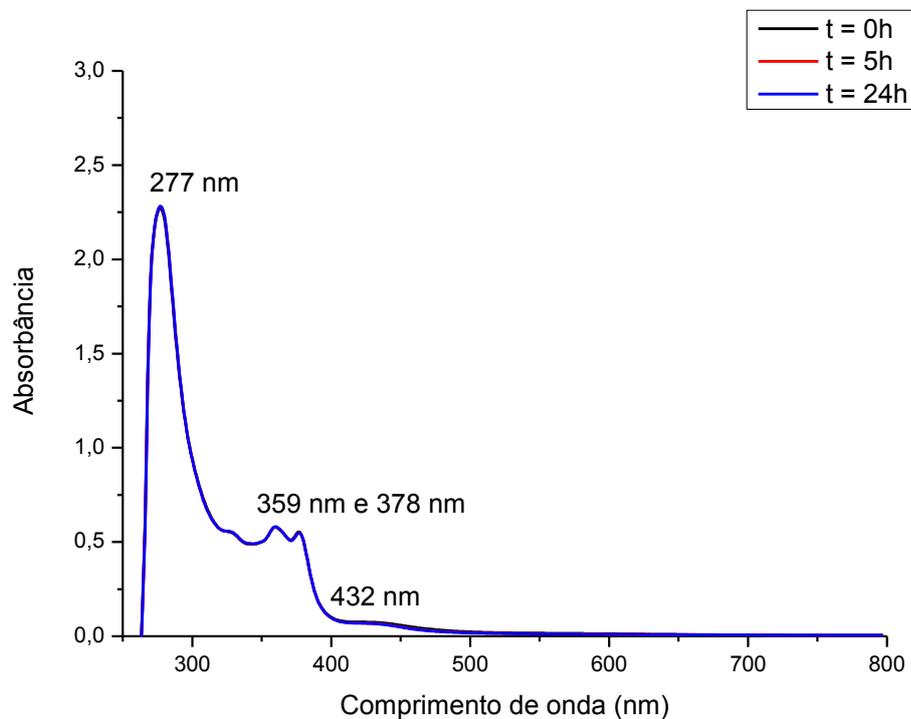
**APÊNDICE B - Espectros eletrônicos na região do UV-vis.****Figura 65** - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido **3** na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em  $t = 0h$ , 5h e 24h.

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 66** - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido **4** na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em  $t = 0h$ , 5h e 24h.

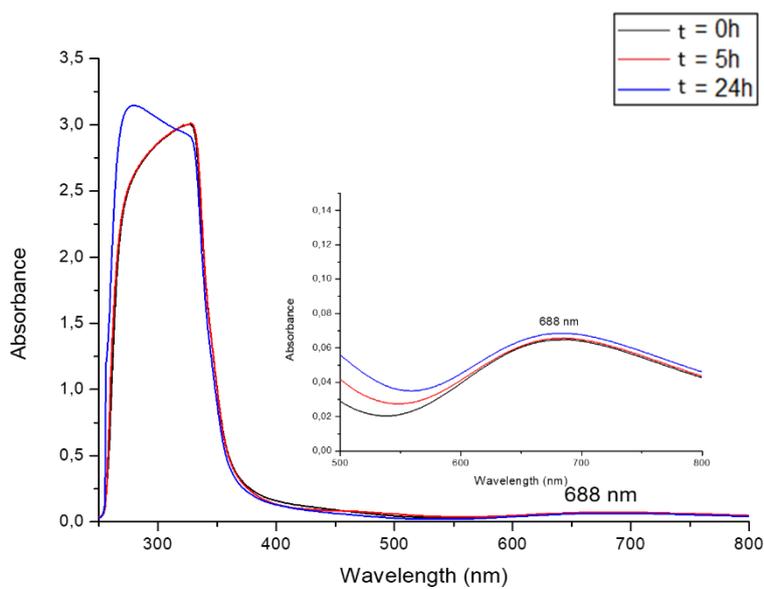
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 67** - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido **5** na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em  $t = 0h$ , 5h e 24h.



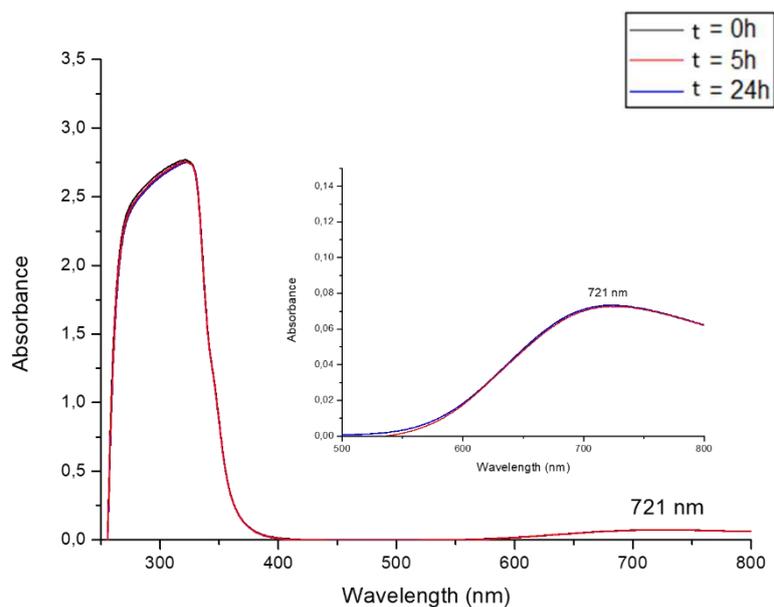
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 68** - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido **6** na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em  $t = 0h$ , 5h e 24h.



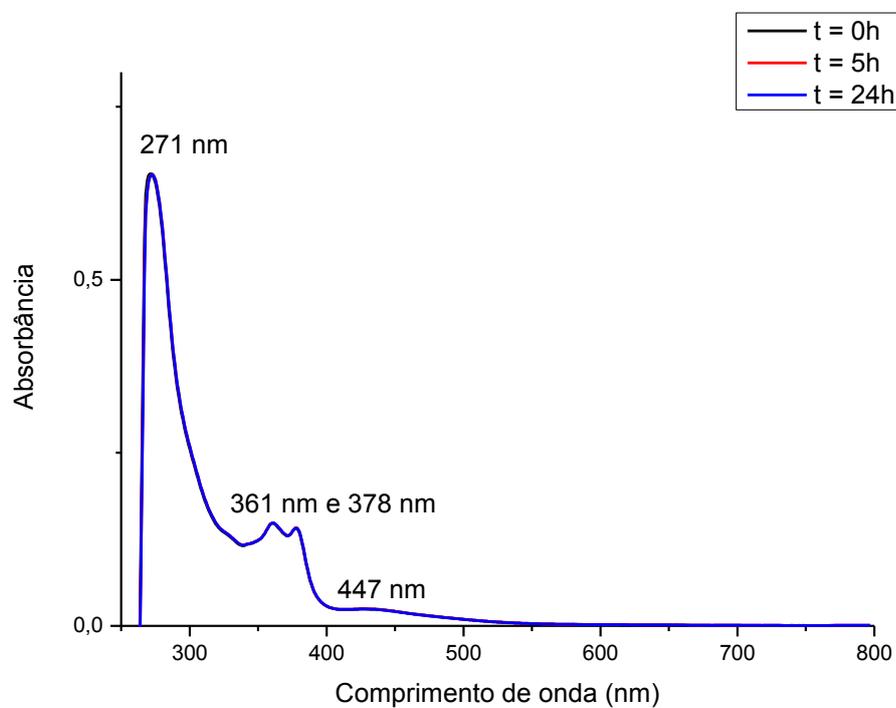
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 69** - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido **7** na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em  $t = 0h$ , 5h e 24h.



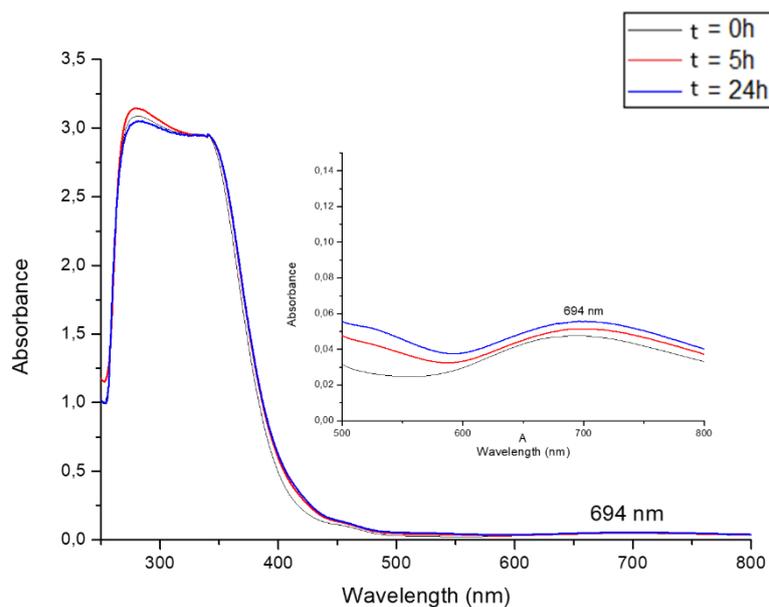
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 70** - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido **11** na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em  $t = 0h$ , 5h e 24h.



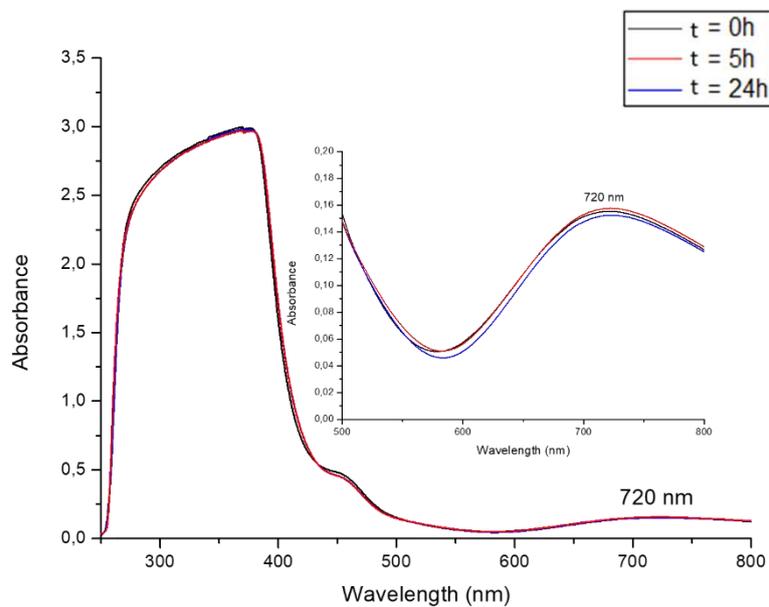
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 71** - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido **12** na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em  $t = 0h$ , 5h e 24h.



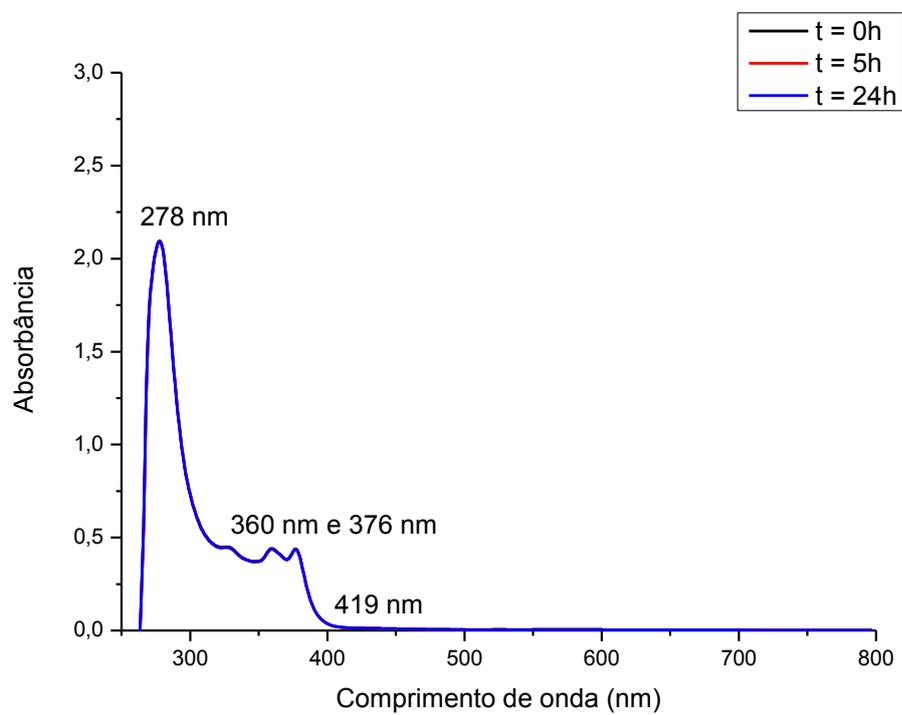
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 72** - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido **13** na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em  $t = 0h$ , 5h e 24h.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

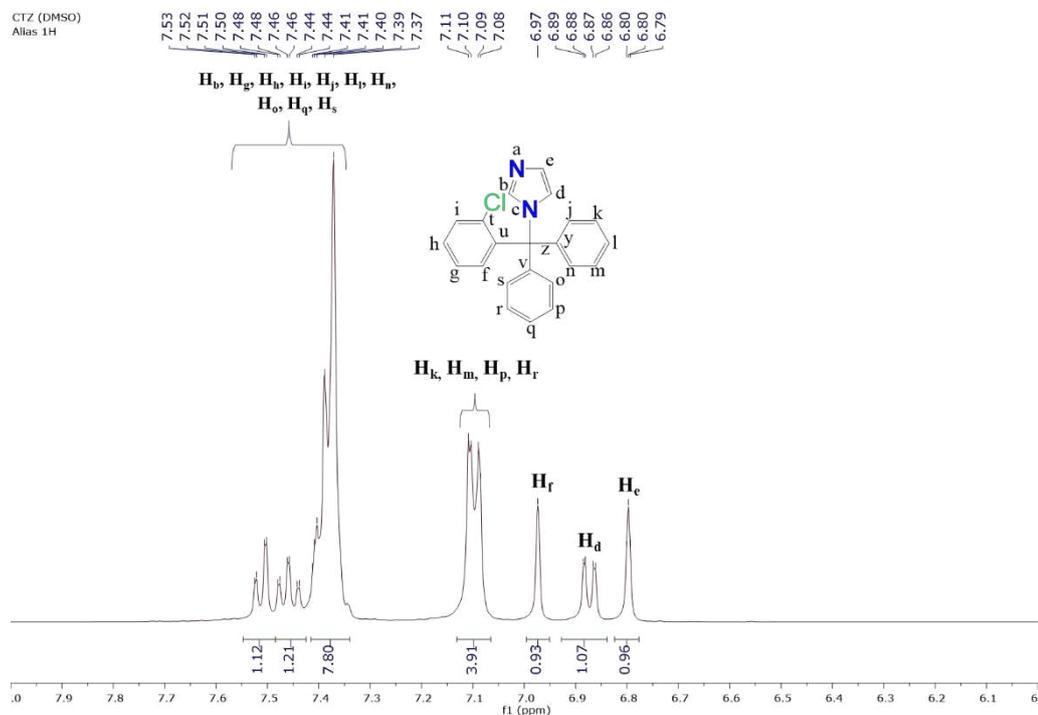
**Figura 73** - Espectros eletrônicos do complexo metálico híbrido **14** na faixa de 250-800 nm registrados em DMSO em  $t = 0\text{h}$ , 5h e 24h.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

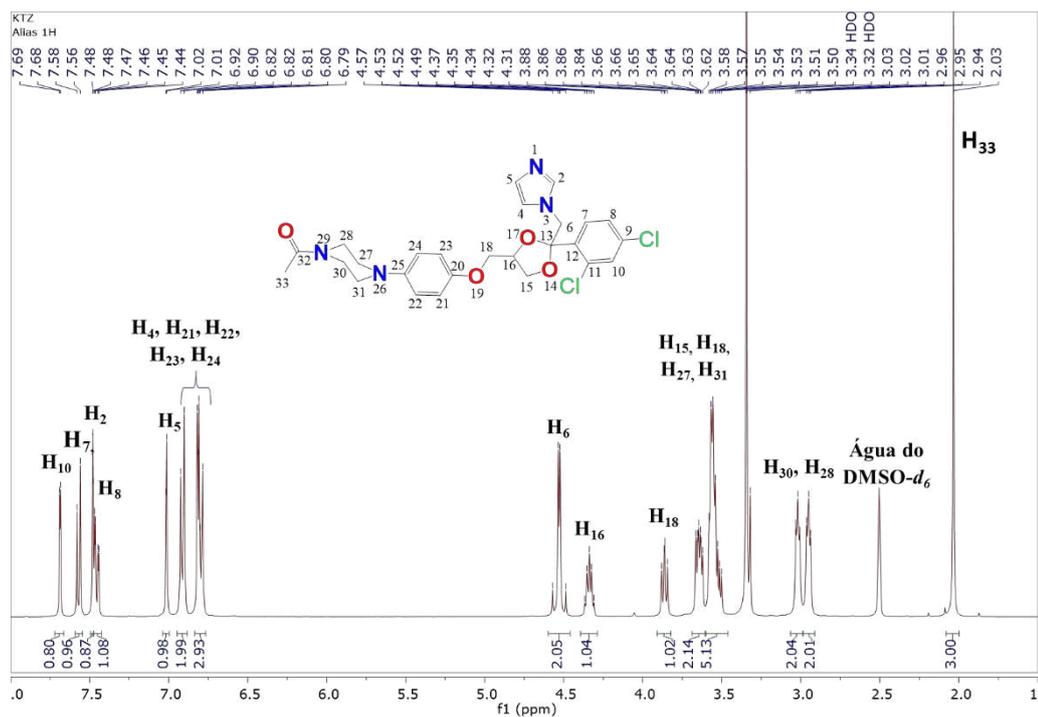
APÊNDICE C - Espectros de ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e HMBC  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ .

Figura 74 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do ligante CTZ.



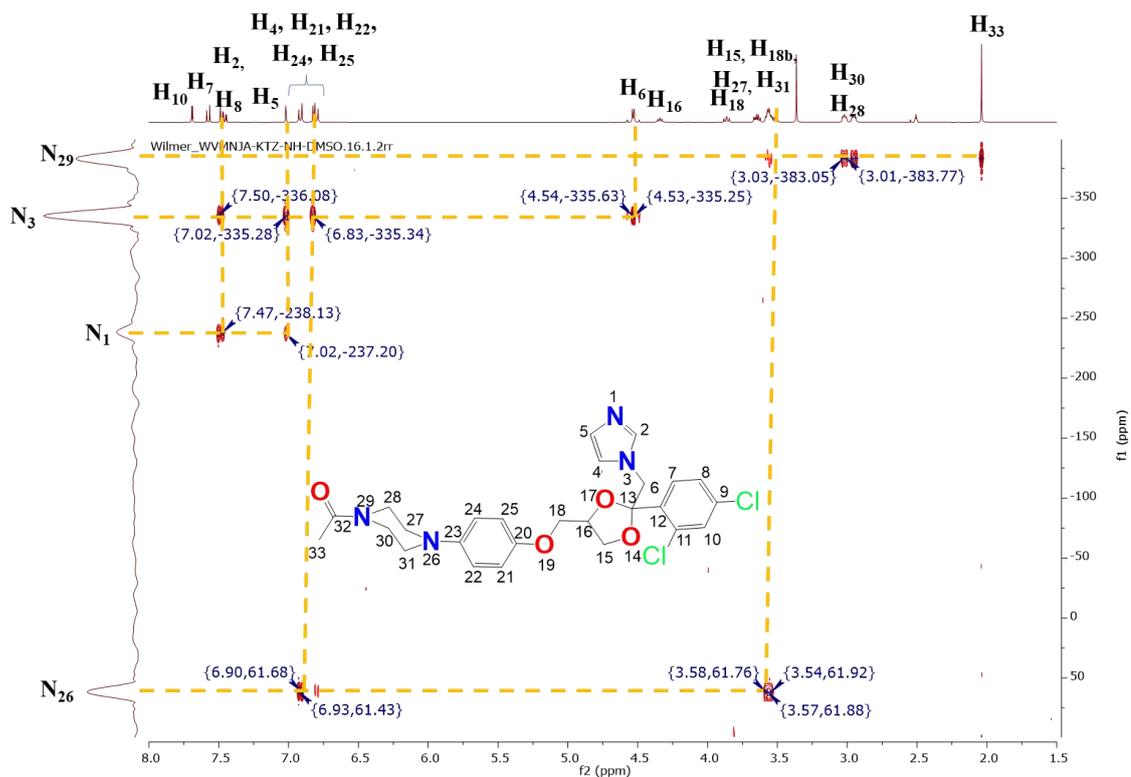
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Figura 75 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do ligante KTZ.



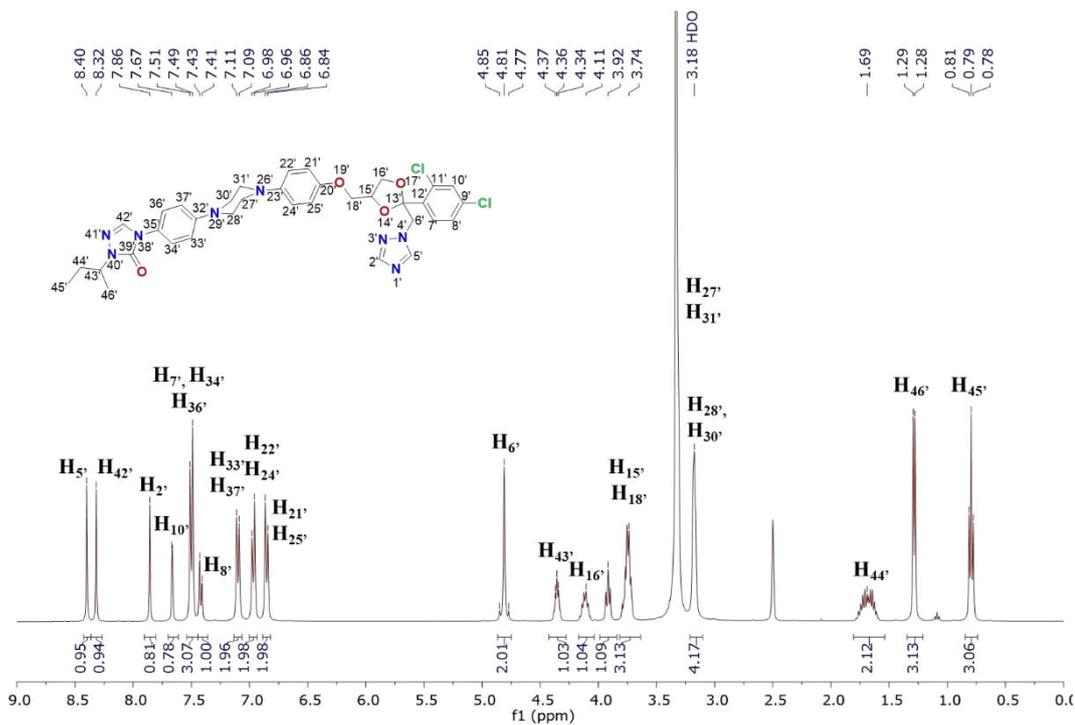
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Figura 76 - Espectros de RMN de  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do ligante KTZ.



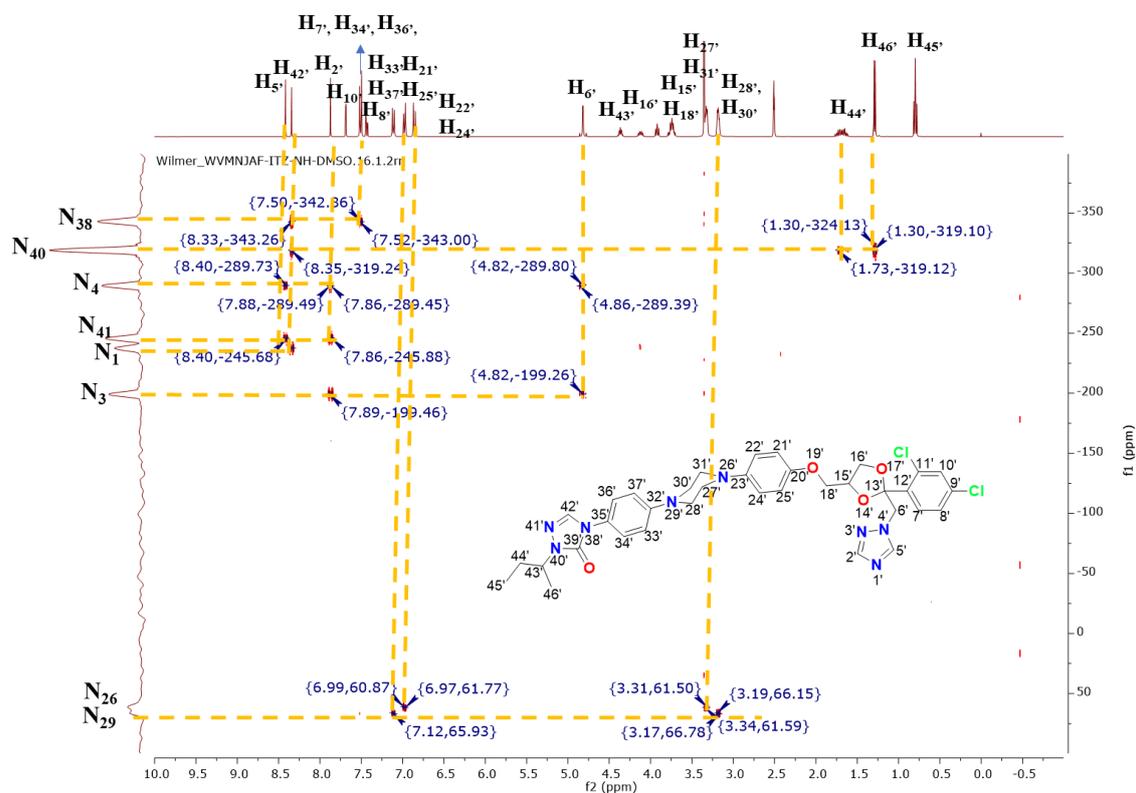
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Figura 77 - Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do ligante ITZ.



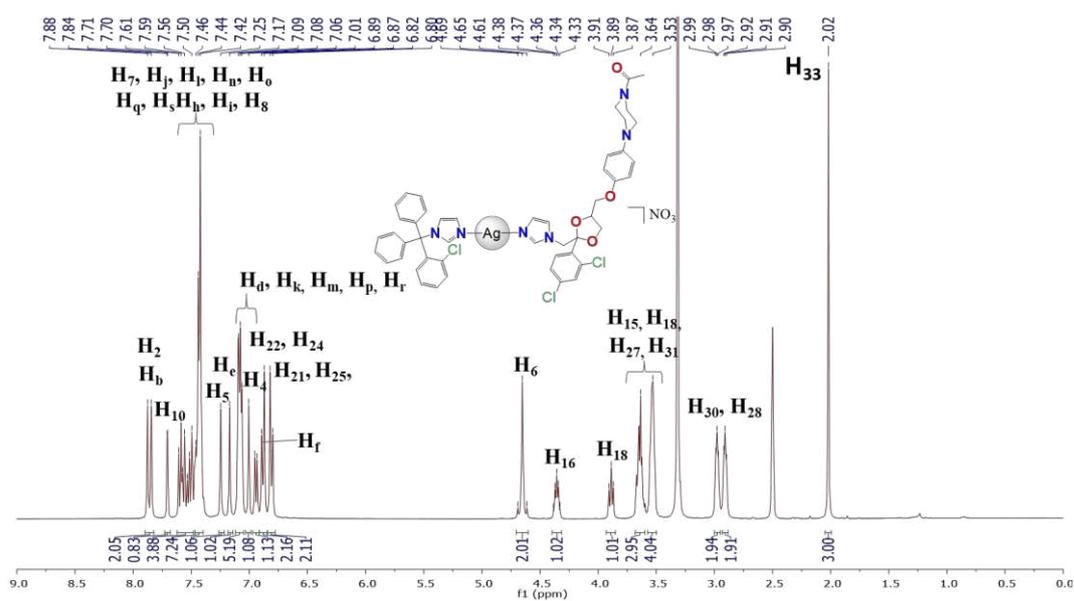
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Figura 78 - Espectros de RMN de  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do ligante ITZ.



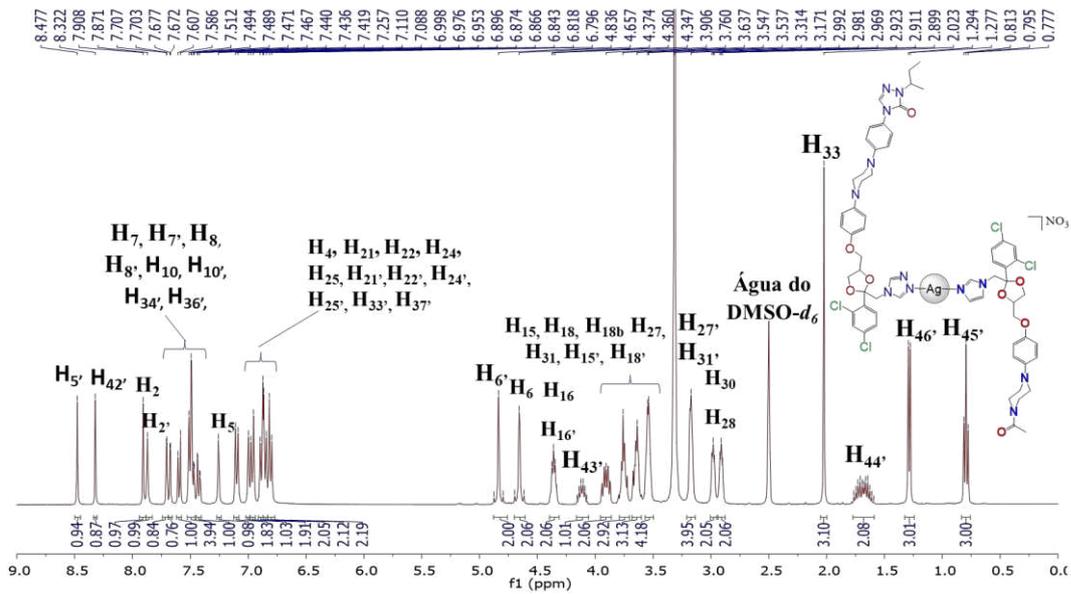
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Figura 79 - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do complexo metálico híbrido 15.



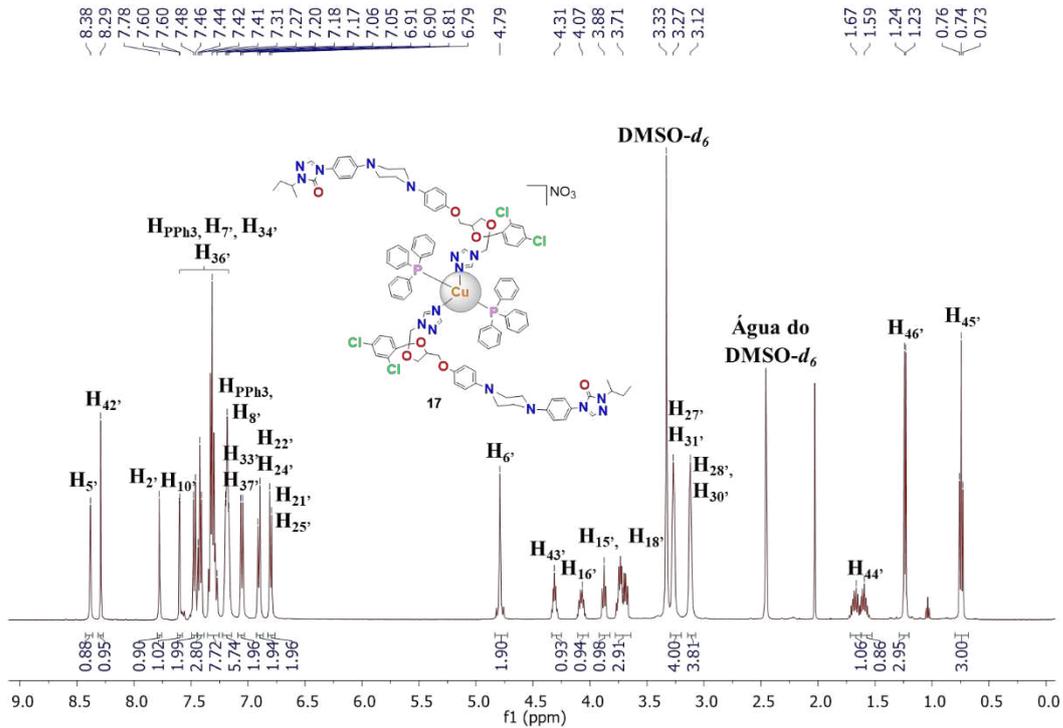
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 80** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) do complexo metálico híbrido **16**.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

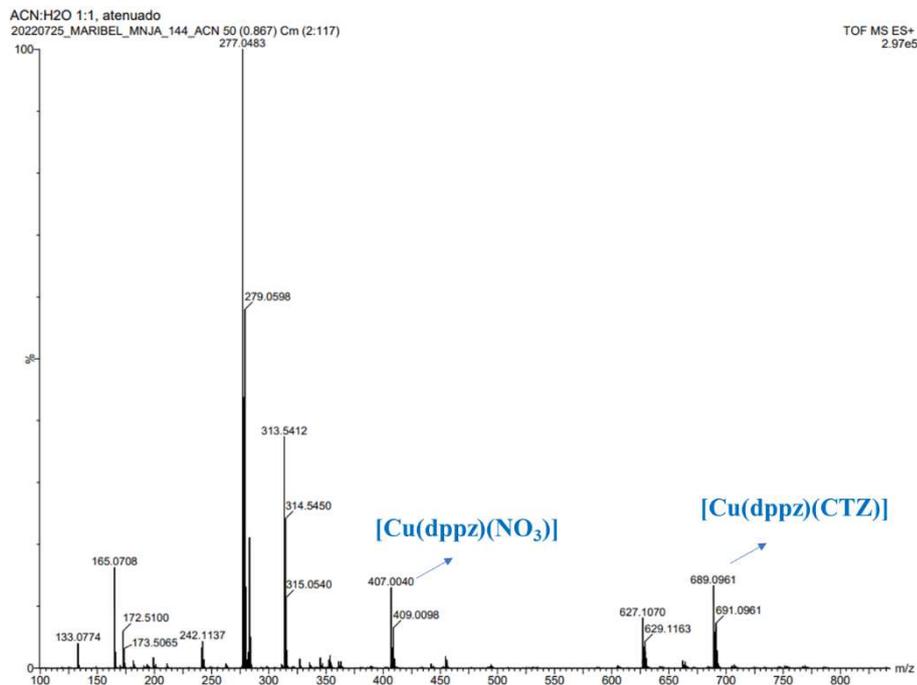
**Figura 81** - Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ) do complexo metálico **17**.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

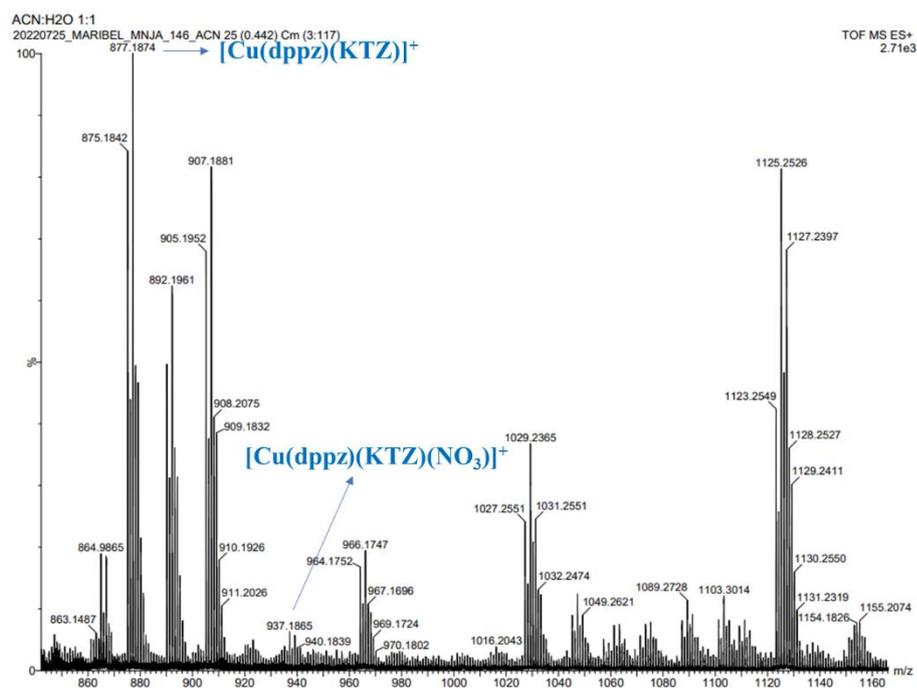
## APÊNDICE D - Espectros de massas de alta resolução por eletrospray.

**Figura 82** - Espectro de massas de alta resolução por eletrospray do complexo metálico híbrido 5.



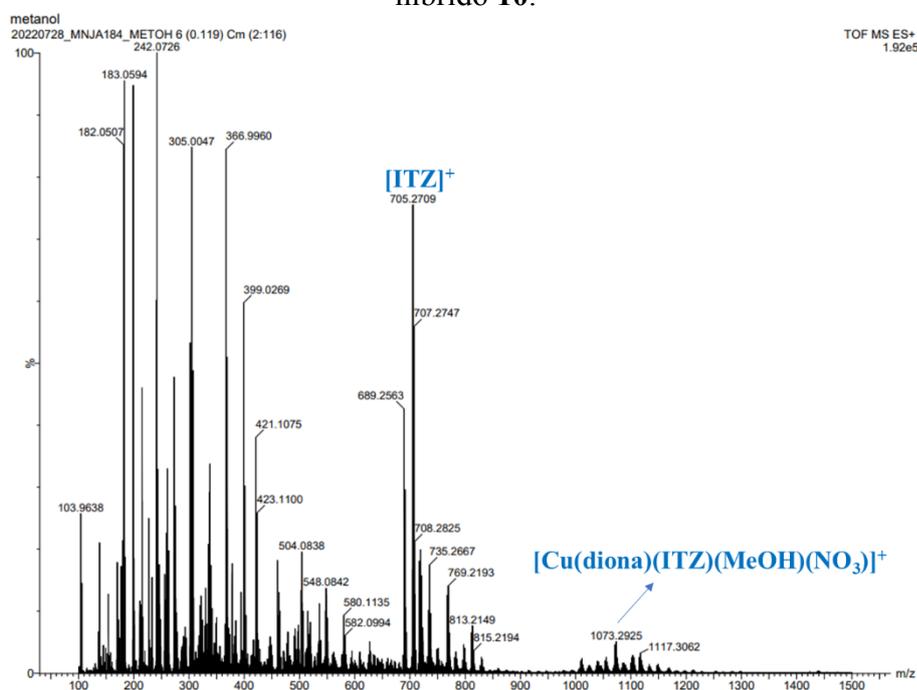
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 83** - Espectro de massas de alta resolução por eletrospray do complexo metálico híbrido 8.



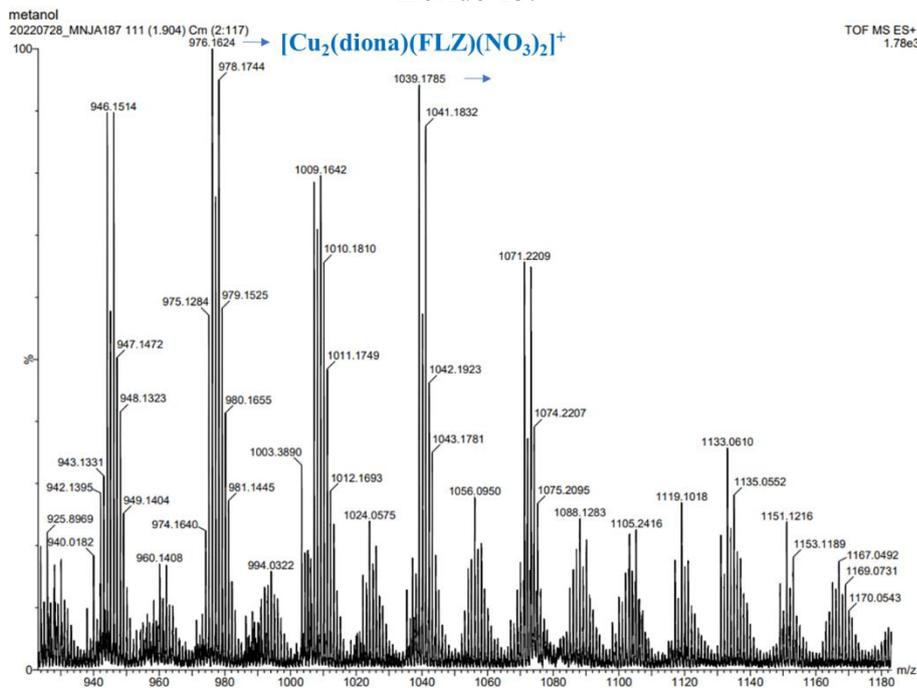
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 84** - Espectro de massas de alta resolução por eletrospray do complexo metálico híbrido **10**.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

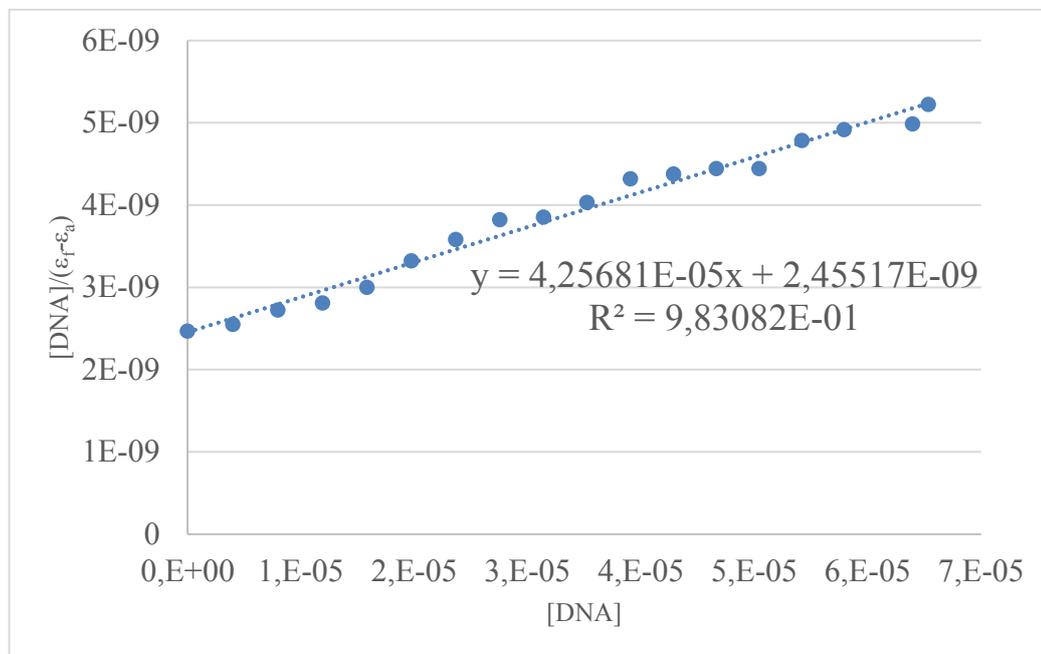
**Figura 85** - Espectro de massas de alta resolução por eletrospray do complexo metálico híbrido **13**.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

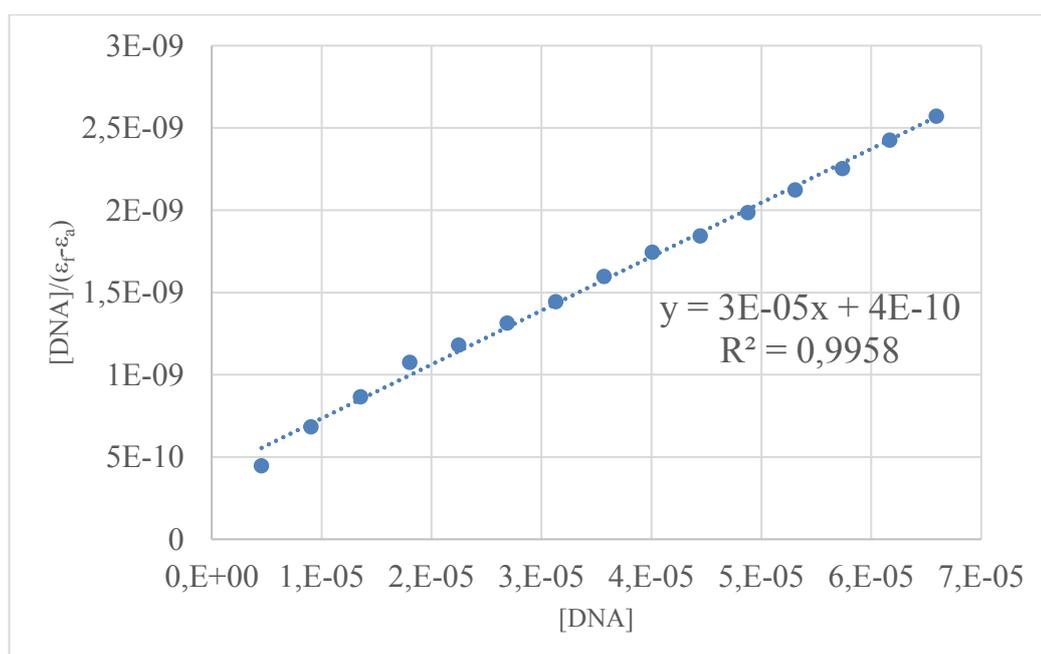
## APÊNDICE E - Gráficos inerentes aos estudos de interação com o DNA.

**Gráfico 2** - Efeito do crescimento da razão  $[DNA]/(\epsilon_f - \epsilon_a)$  em função do aumento da concentração do CT-DNA para o complexo metálico híbrido **3**.



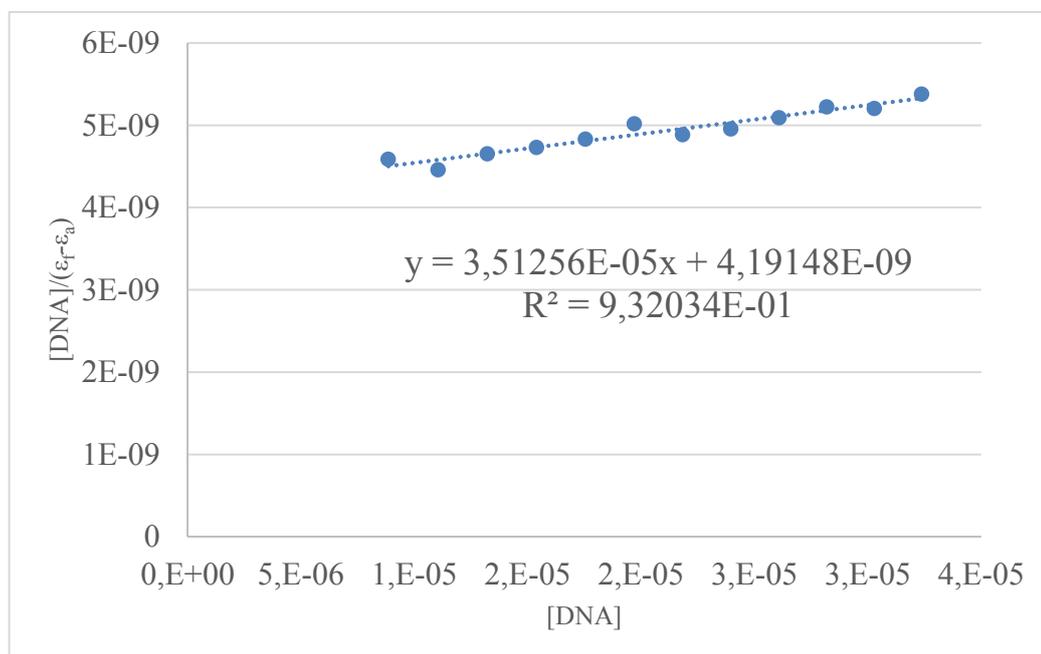
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 3** - Efeito do crescimento da razão  $[DNA]/(\epsilon_f - \epsilon_a)$  em função do aumento da concentração do CT-DNA para o complexo metálico híbrido **5**.



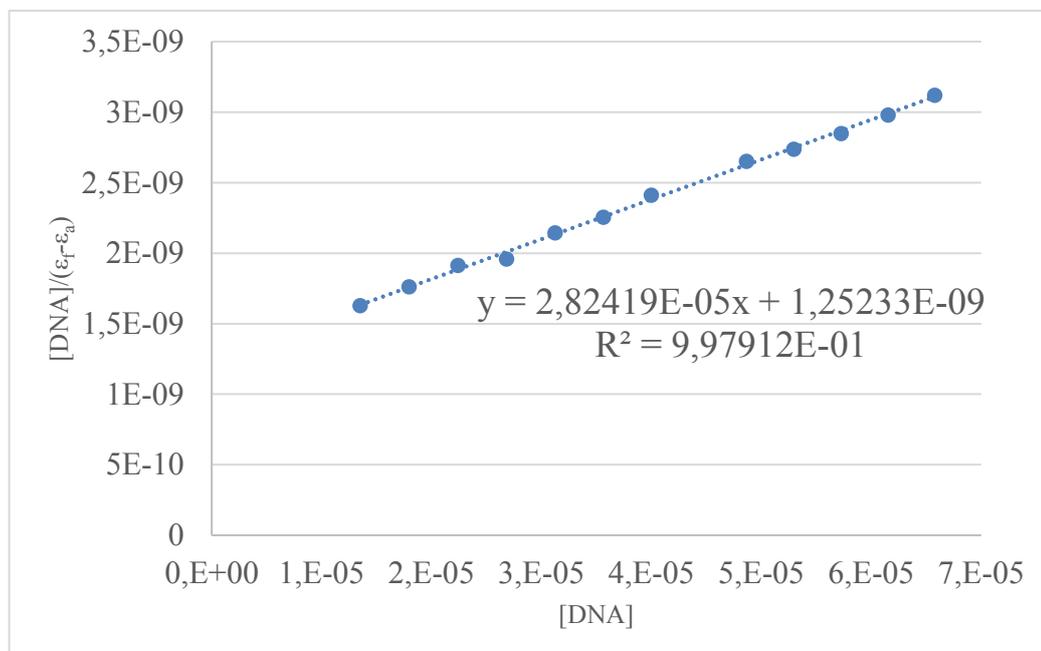
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 4** - Efeito do crescimento da razão  $[DNA]/(\epsilon_f - \epsilon_a)$  em função do aumento da concentração do CT-DNA para o complexo metálico híbrido **6**.



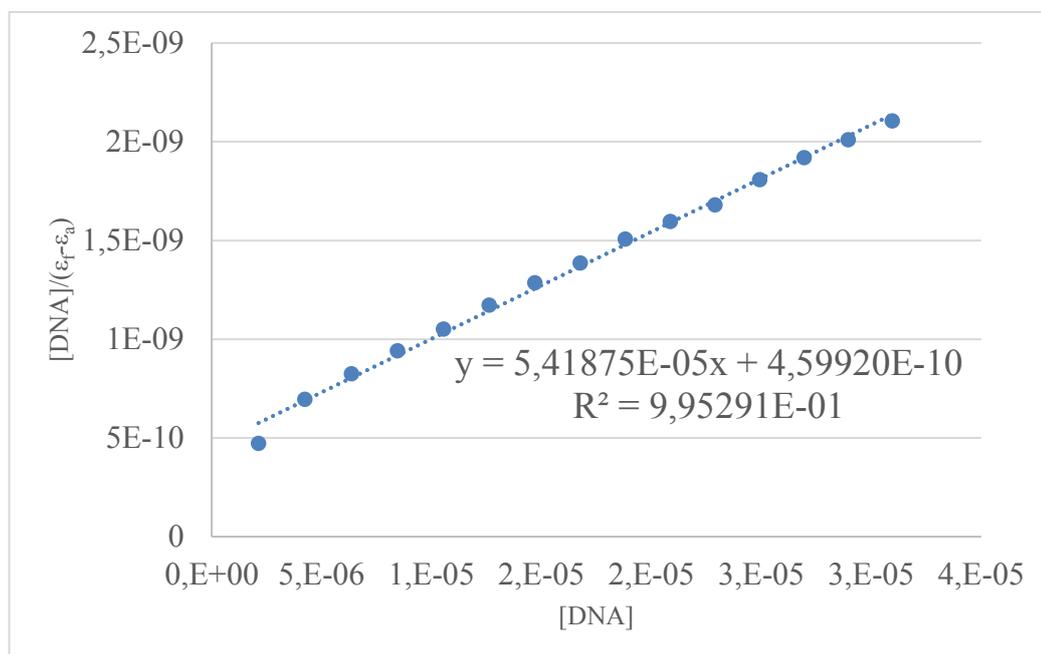
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 5** - Efeito do crescimento da razão  $[DNA]/(\epsilon_f - \epsilon_a)$  em função do aumento da concentração do CT-DNA para o complexo metálico híbrido **8**.



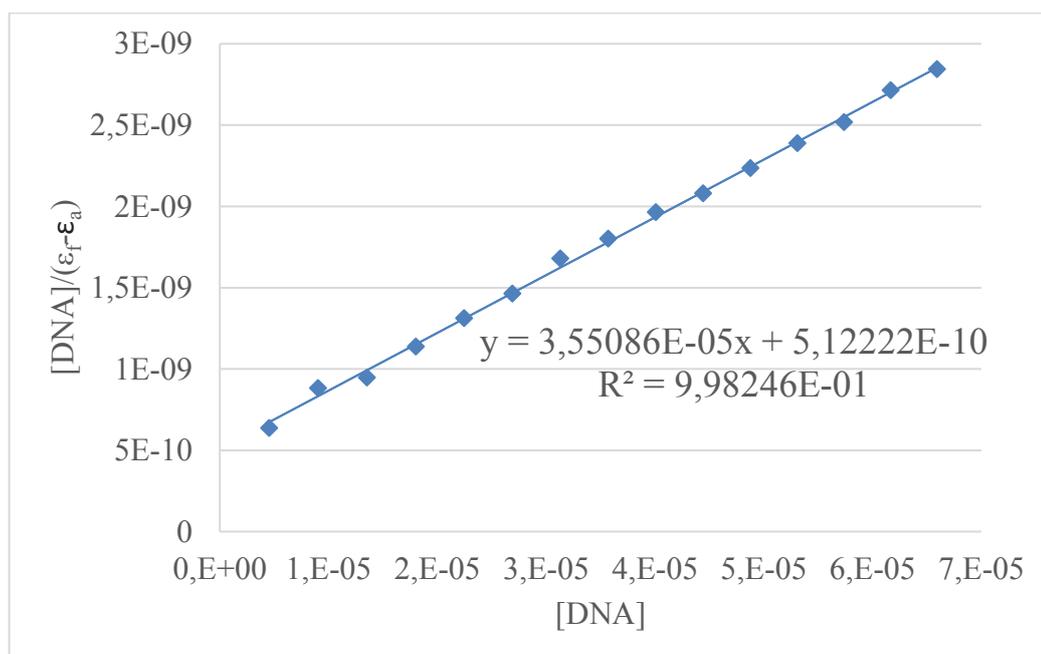
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 6** - Efeito do crescimento da razão  $[DNA]/(\epsilon_f - \epsilon_a)$  em função do aumento da concentração do CT-DNA para o complexo metálico híbrido **9**.



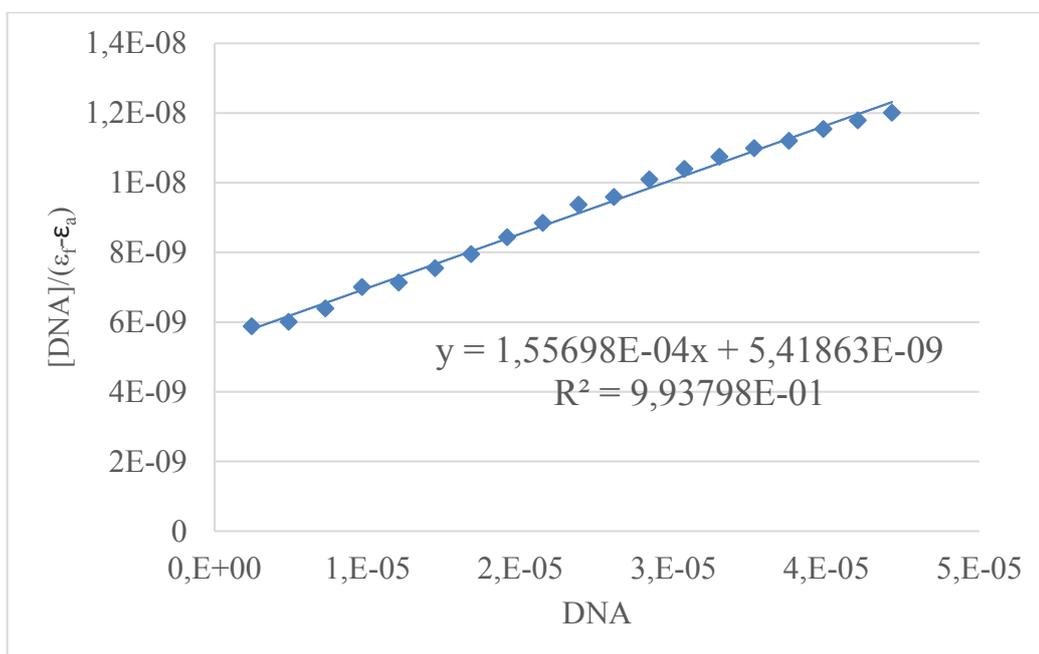
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 7** - Efeito do crescimento da razão  $[DNA]/(\epsilon_f - \epsilon_a)$  em função do aumento da concentração do CT-DNA para o complexo metálico híbrido **11**.



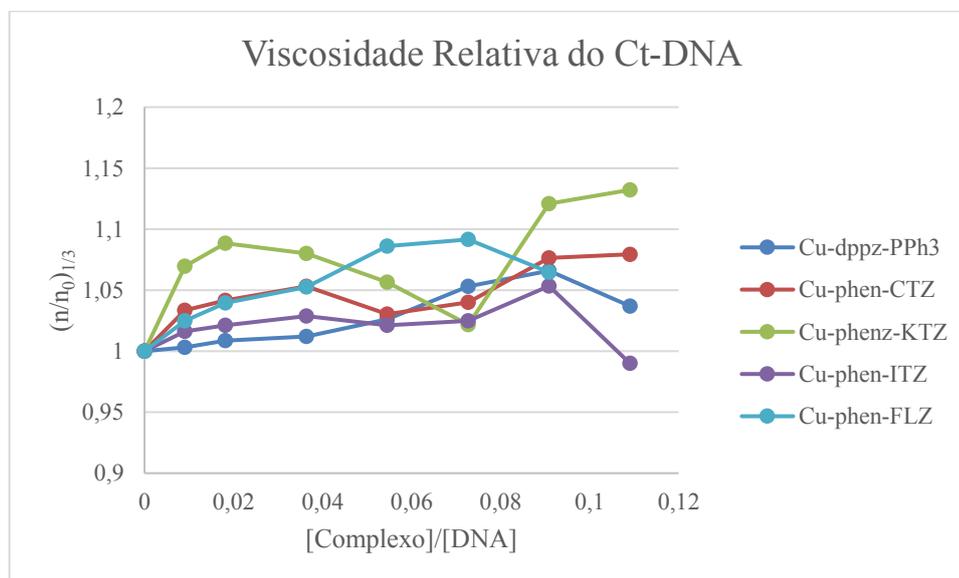
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 8** - Efeito do crescimento da razão  $[DNA]/(\epsilon_f - \epsilon_a)$  em função do aumento da concentração do CT-DNA para o complexo metálico híbrido 14.



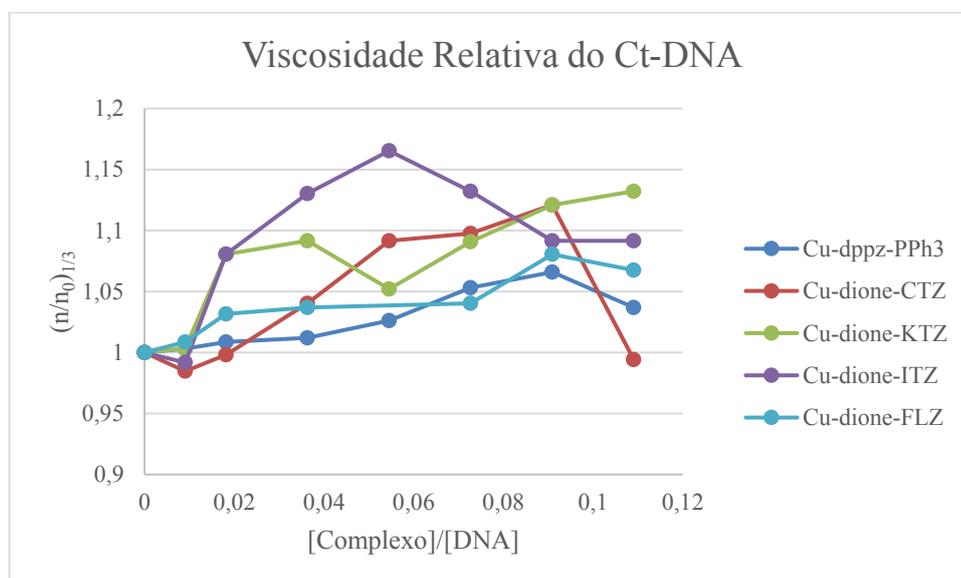
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 9** - Efeito do aumento da concentração dos complexos metálicos híbridos 3,6,9, 12 na viscosidade relativa do CT-DNA a 25 °C.



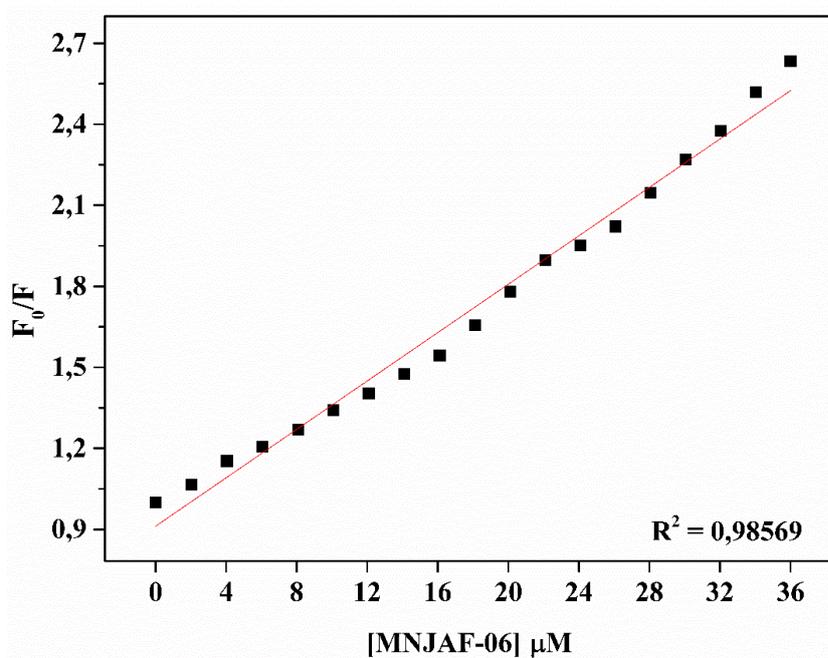
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 10** - Efeito do aumento da concentração dos complexos metálicos híbridos **4,7,10,13** na viscosidade relativa do CT-DNA a 25 °C.



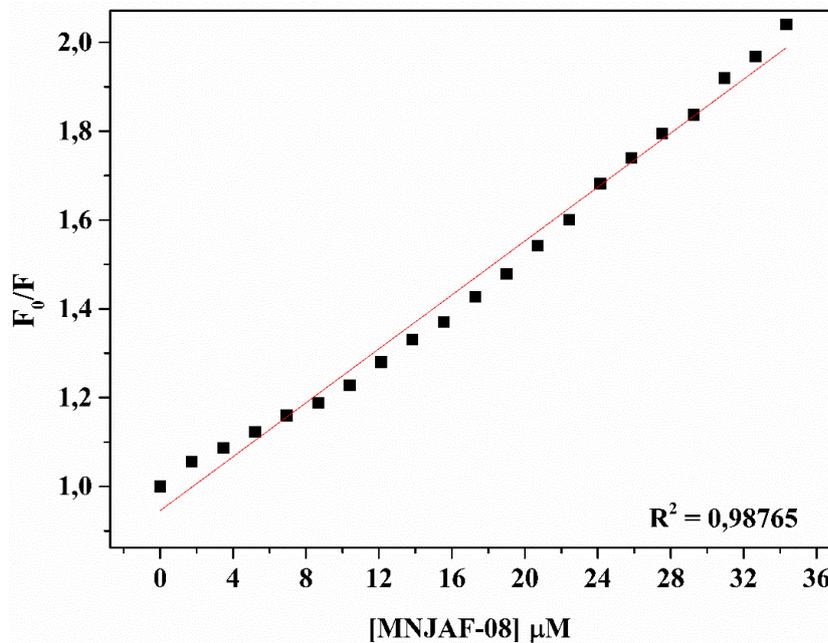
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 11** - Gráfico da Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido **3**, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



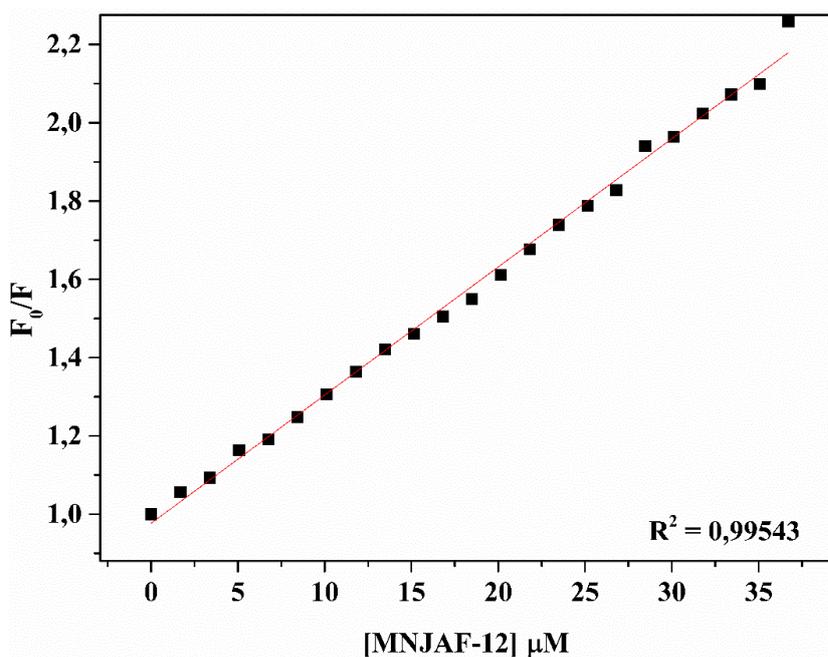
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 12** - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido **4**, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



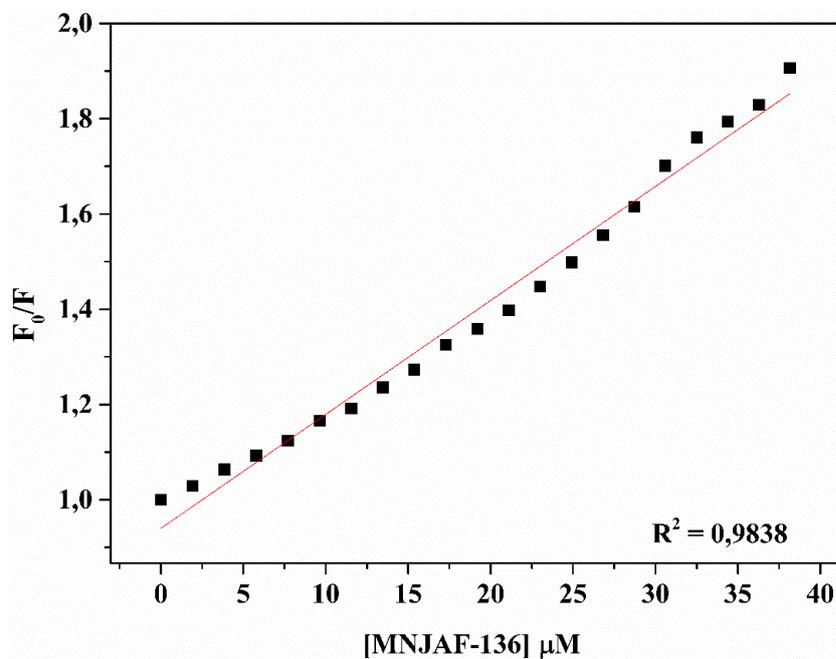
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 13** - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido **5**, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



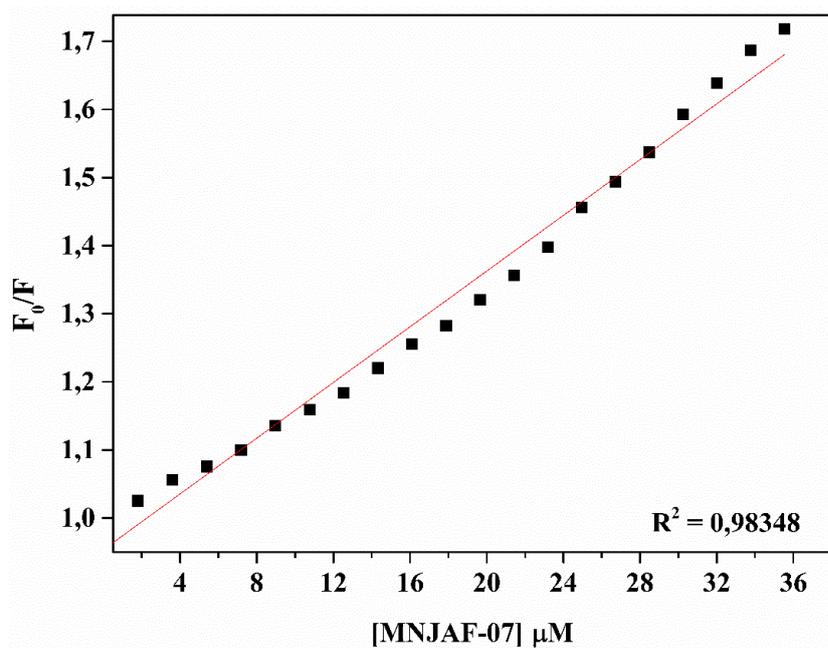
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 14** - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido **6**, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



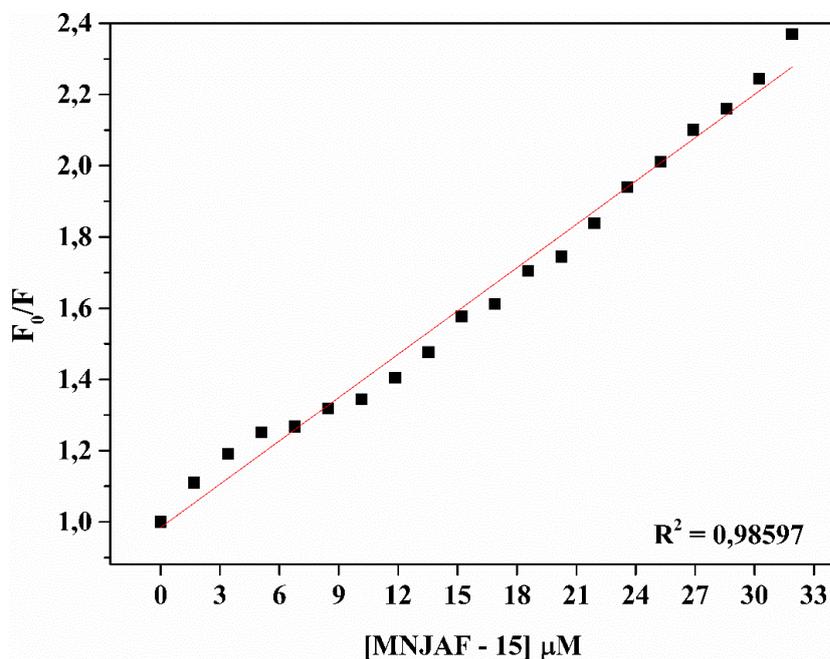
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 15** - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido **7**, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



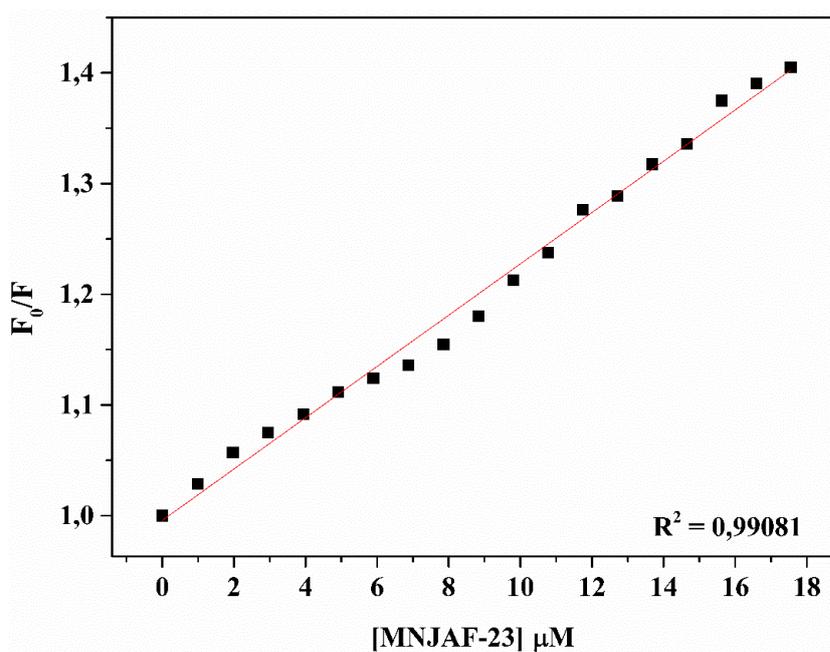
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 16** - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido **8**, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



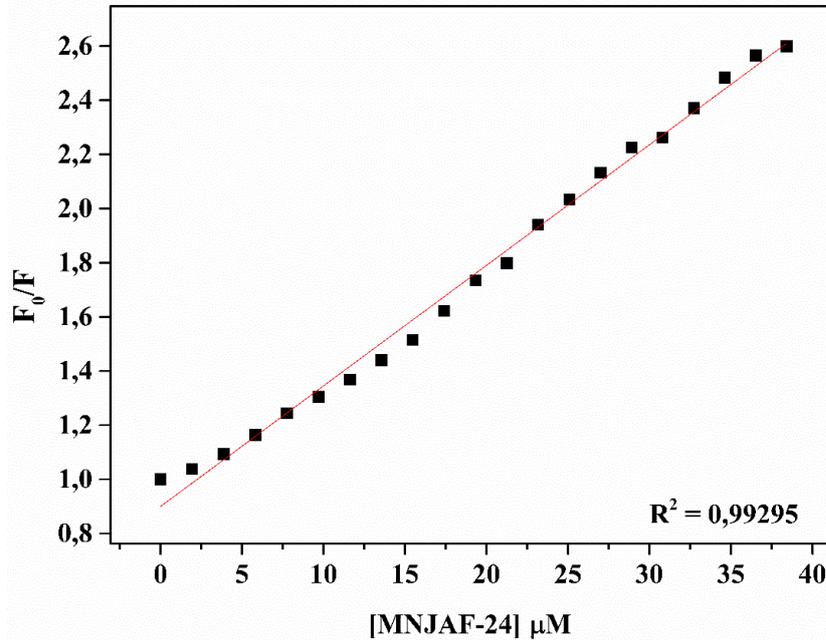
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 17** - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido **9**, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



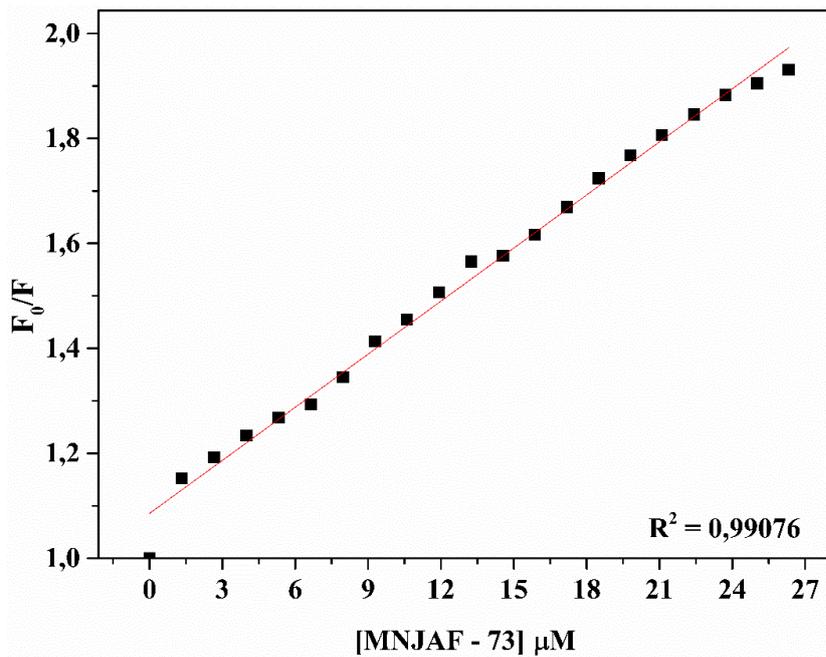
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 18** - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido **10**, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



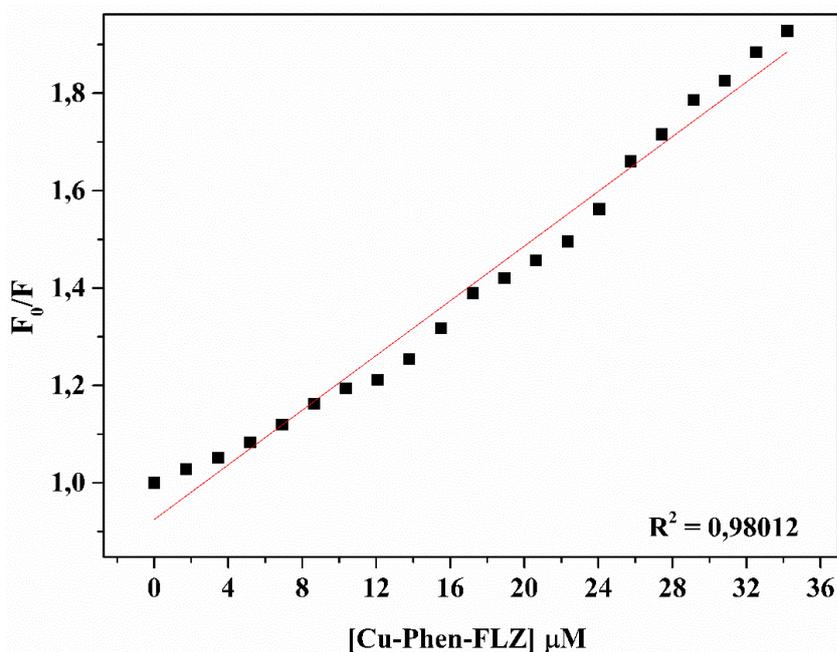
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 19** - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido **11**, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



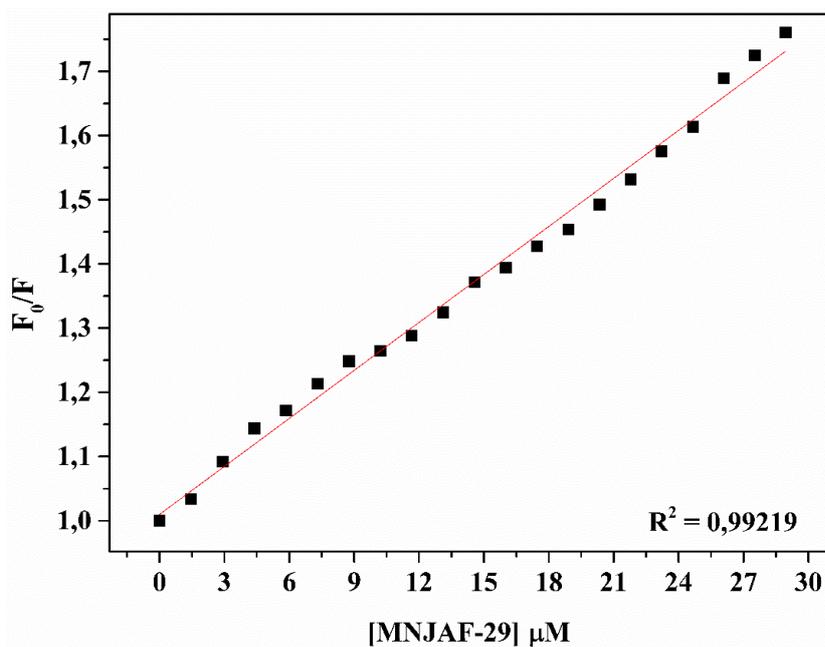
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 20** - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido **12**, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



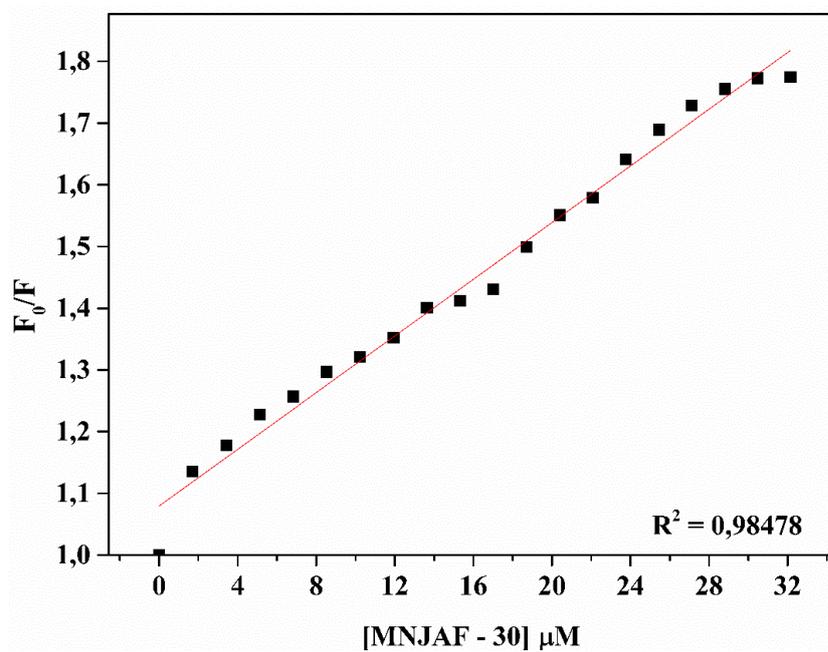
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Gráfico 21** - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido **13**, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

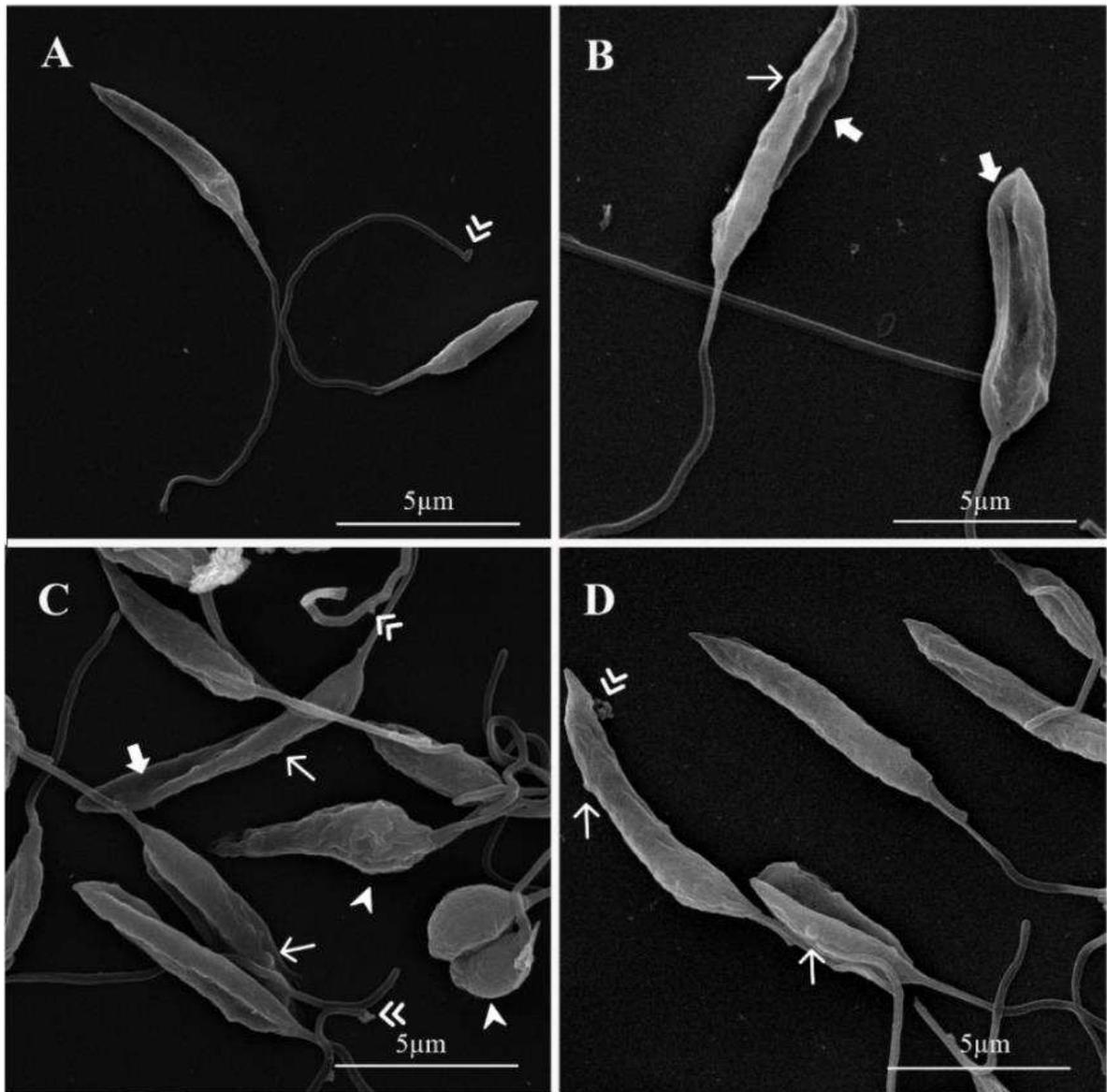
**Gráfico 22** - Supressão de Stern-Volmer da intensidade de supressão relativa ( $F_0/F$ ) em função da concentração do complexo metálico híbrido **14**, conforme determinado a partir dos dados espectrais.



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

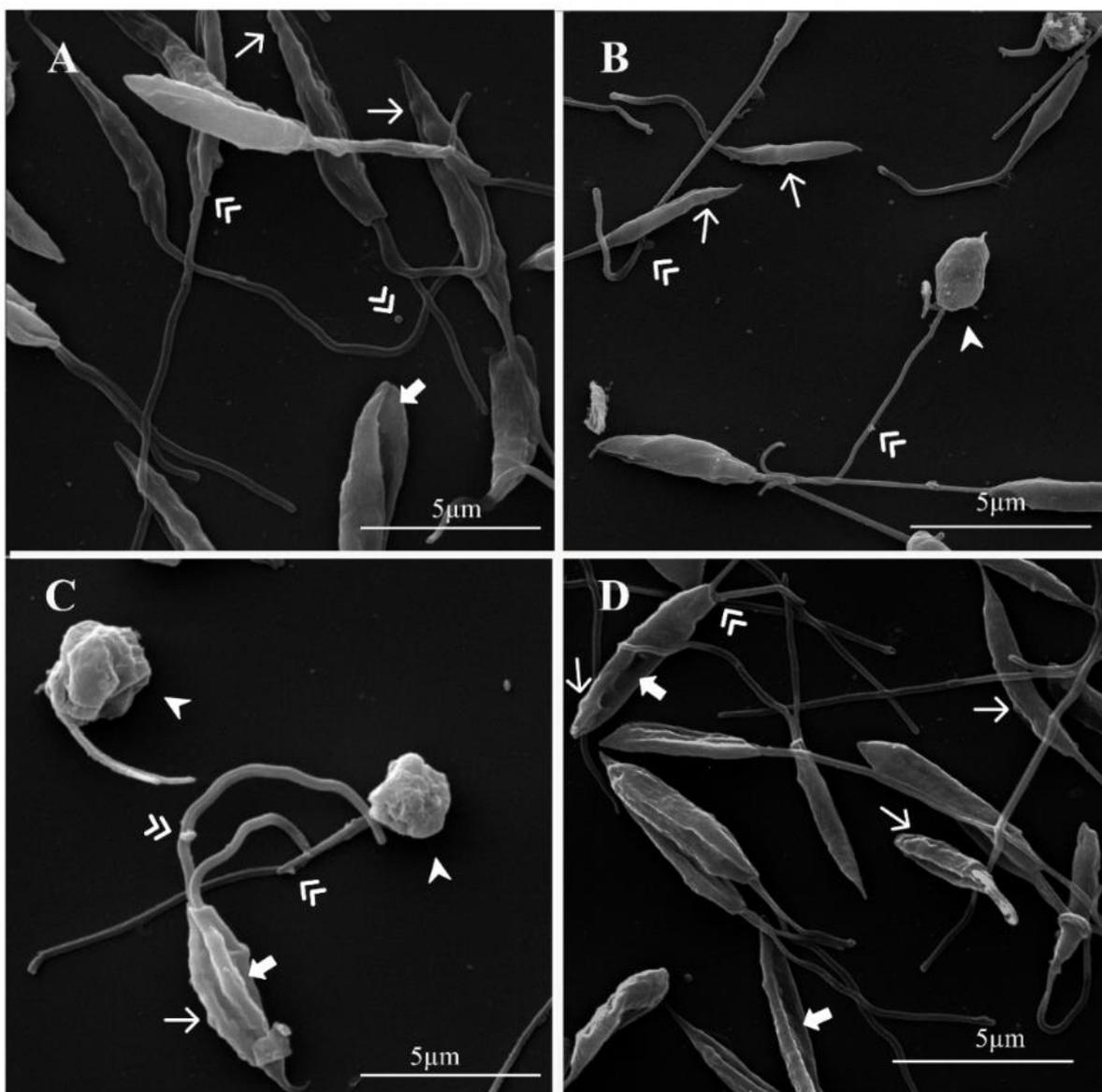
### APÊNDICE F - Microscopias eletrônicas de varredura e transmissão

**Figura 86** - Microscopia eletrônica de varredura-transmissão com 48 h de tratamento. (A) Células tratadas com Sal de cobre à 15  $\mu\text{M}$ . (B) Células tratadas com **CTZ** à 3  $\mu\text{M}$ . (C) Células tratadas com **KTZ** à 3  $\mu\text{M}$ . (D) Células tratadas com **FLZ** à 200  $\mu\text{M}$ . Analisando as imagens pode-se observar as seguintes alterações: 1) Protusões de membrana (seta fina); 2) Arredondamento no corpo celular (cabeça de seta); 3) Depressões no corpo celular (seta grossa); e, 4) Presença de vesículas/microvesículas extracelulares (duas cabeças de seta).



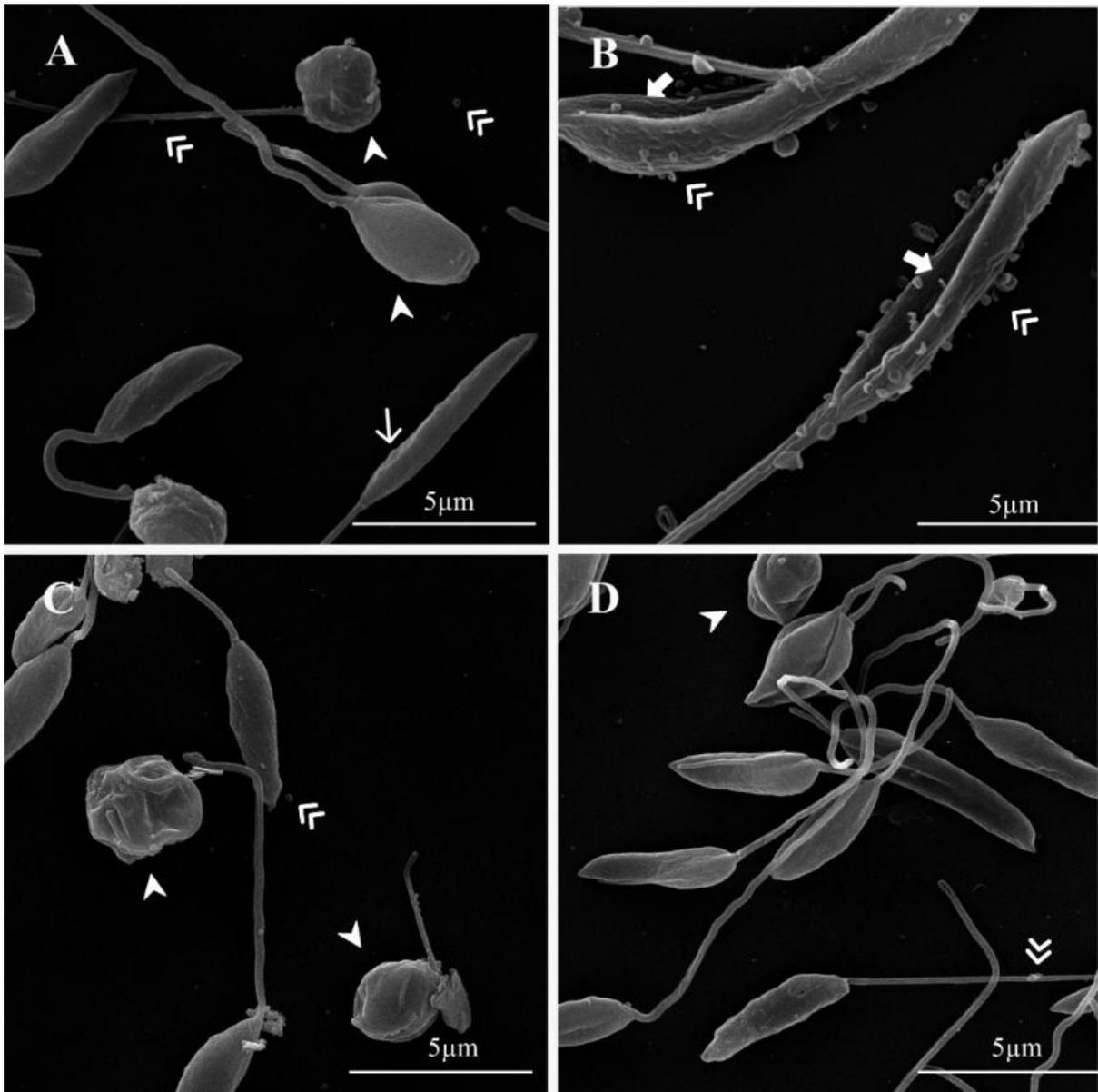
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 87** - Microscopia eletrônica de varredura-transmissão em com 48 h de tratamento. (A) Células tratadas com **phen** à 9  $\mu\text{M}$ . (B) Células tratadas com o complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{CTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**3**) à 1  $\mu\text{M}$ . (C) Células tratadas com o complexo metálico  $\text{Cu}(\text{phen})(\text{KTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**6**) à 1  $\mu\text{M}$ . (D) Células tratadas com o complexo  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**1**) à 1  $\mu\text{M}$ . Analisando as imagens pode-se observar as seguintes alterações: 1) Protusões de membrana (seta fina); 2) Arredondamento no corpo celular (cabeça de seta); 3) Depressões no corpo celular (seta grossa); e, 4) Presença de vesículas/microvesículas extracelulares (duas cabeças de seta).



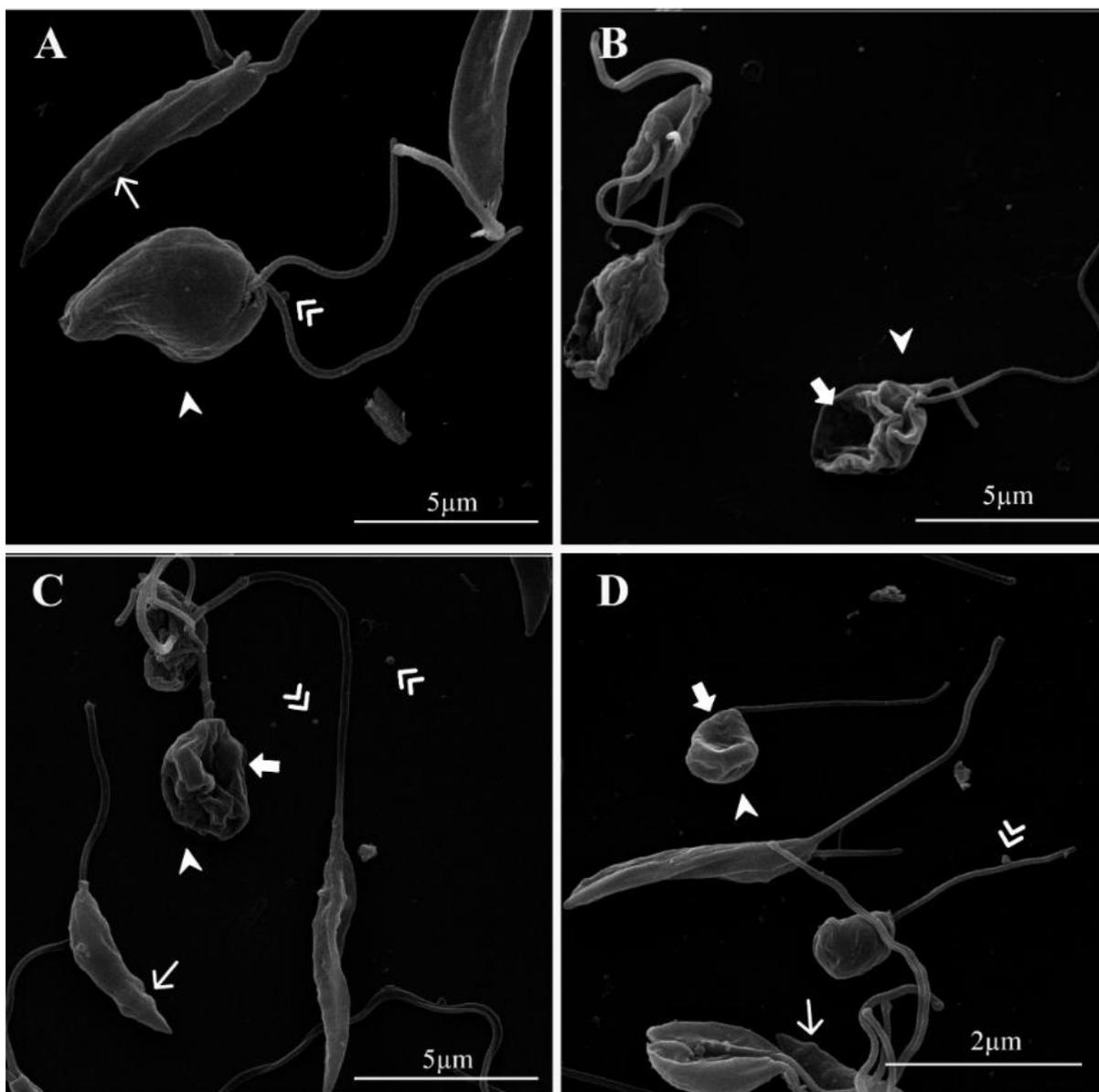
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 88** - Microscopia eletrônica de varredura-transmissão em microscopia eletrônica de varredura com 72 h de tratamento. (A) Células tratadas com Sal de cobre à 15  $\mu\text{M}$ . (B) Células tratadas com CTZ à 3  $\mu\text{M}$ . (C) Células tratadas com KTZ à 3  $\mu\text{M}$ . (D) Células tratadas com FLZ à 200  $\mu\text{M}$ . Analisando as imagens pode-se observar as seguintes alterações: 1) Protusões de membrana (seta fina); 2) Arredondamento no corpo celular (cabeça de seta); 3) Depressões no corpo celular (seta grossa); e, 4) Presença de vesículas/microvesículas extracelulares (duas cabeças de seta).



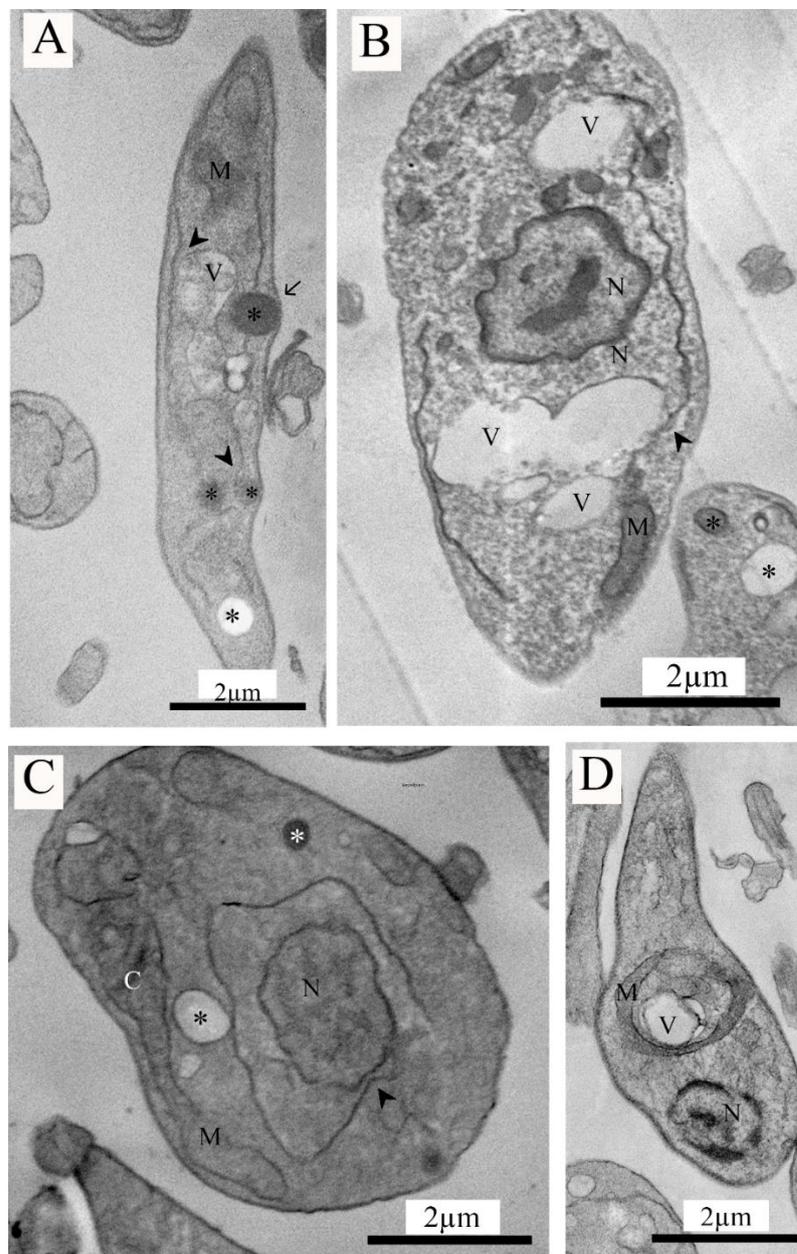
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 89** - Microscopia eletrônica de varredura-transmissão em microscopia eletrônica de varredura com 72 h de tratamento. (A) Células tratadas com phen à 9  $\mu\text{M}$ . (B) Células tratadas com o complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{phen}(\text{CTZ})_2(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$  (**3**) à 1  $\mu\text{M}$ . (C) Células tratadas com o complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{phen}(\text{KTZ})_2(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$  (**6**) à 1  $\mu\text{M}$ . (D) Células tratadas com o complexo  $[\text{Cu}(\text{phen}(\text{NO}_3)]\text{NO}_3$  (**1**) à 1  $\mu\text{M}$ . Analisando as imagens pode-se observar as seguintes alterações: 1) Protusões de membrana (seta fina); 2) Arredondamento no corpo celular (cabeça de seta); 3) Depressões no corpo celular (seta grossa); e, 4) Presença de vesículas/microvesículas extracelulares (duas cabeças de seta).



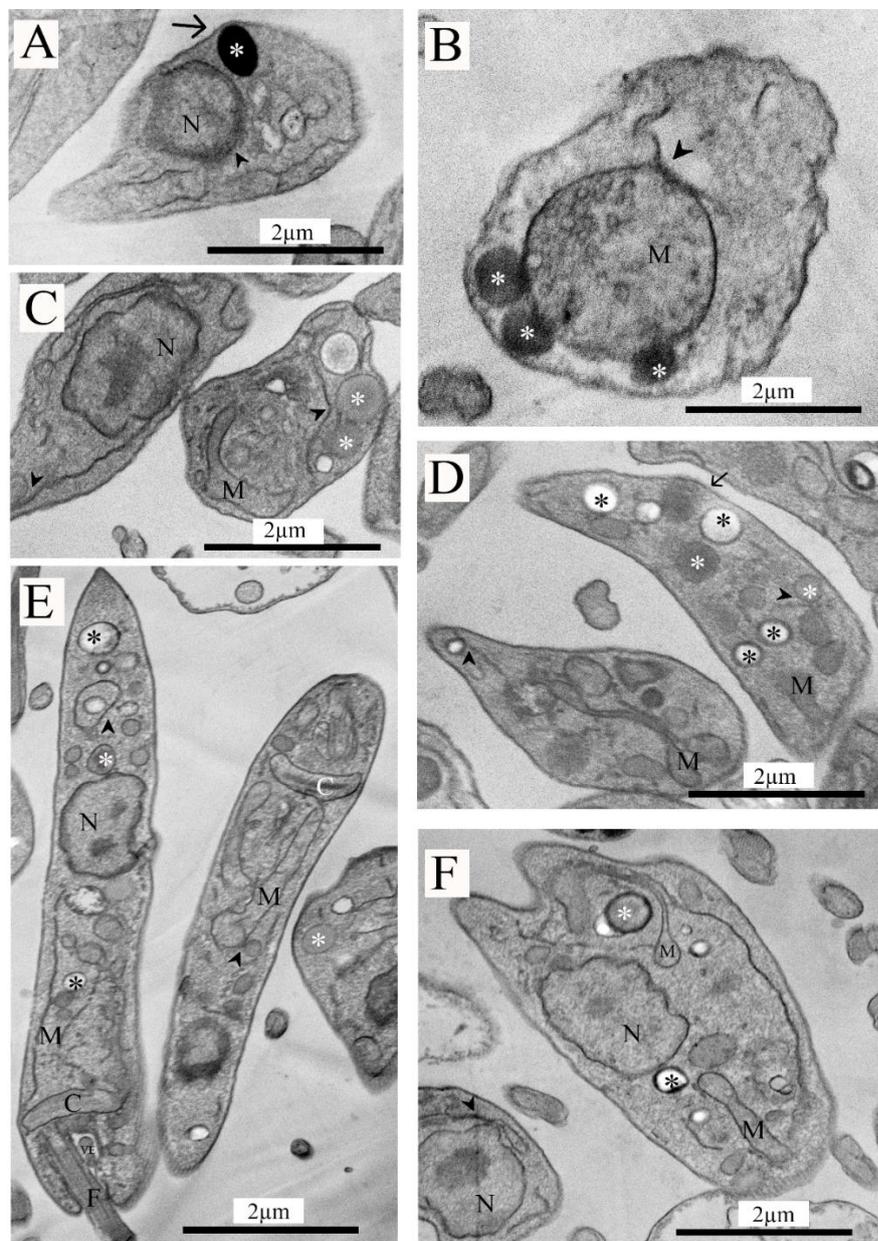
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 90** - STEM-in-SEM de formas promastigotas de *L. amazonensis* tratadas por 48 h. (A) Células tratadas com sal de cobre à 15  $\mu\text{M}$ . (B) Células tratadas com **CTZ** à 3  $\mu\text{M}$ . (C) Células tratadas com **KTZ** à 3  $\mu\text{M}$ . (D) Células tratadas com **FLZ** à 200  $\mu\text{M}$ . Analisando as micrografias eletrônicas, pode-se observar algumas organelas e alterações em formas promastigotas de *L. amazonensis*, como: presença de corpos lipídicos (\*), Protusões de membrana (seta fina), induzidos pela presença de corpos lipídicos (C), perfis de retículo (cabeça de seta), presença de vacúolos (V), inchaço mitocondrial e possível fragmentação do material genético. Além disso, pode-se observar, também, a presença da bolsa flagelar (BF) e flagelo (F).



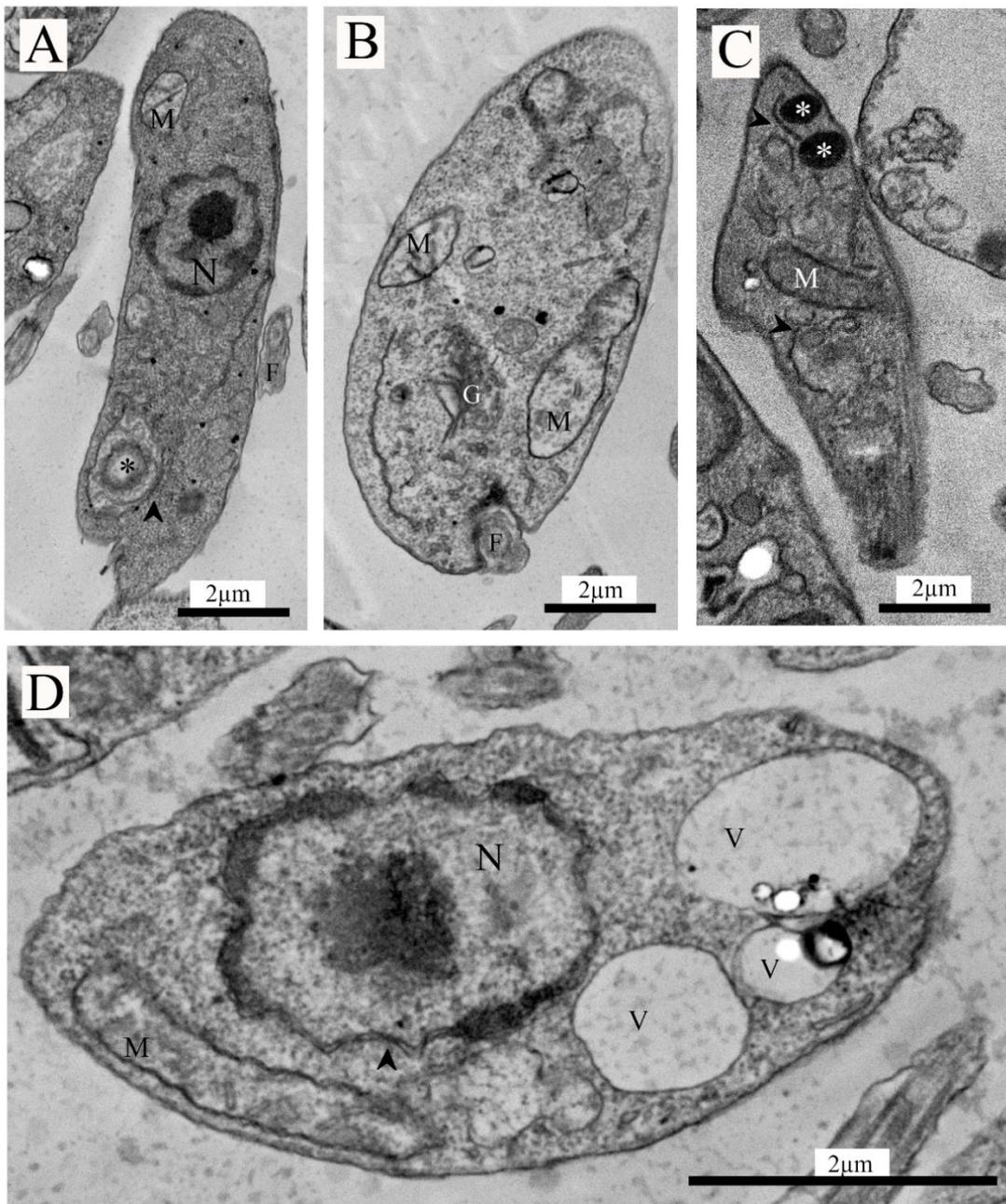
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 91** - STEM-in-SEM após tratamento de formas promastigotas de *L. amazonensis* por 48 h. (A) Células tratadas com phen à 9  $\mu\text{M}$  (B) Células tratadas com os complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{CTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**3**) à 1  $\mu\text{M}$ . (C) Células tratadas com  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{KTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**6**) à 1  $\mu\text{M}$ . Analisando as microscopias, pode-se observar algumas organelas e efeitos em formas promastigotas de *L. amazonensis*, como: presença de corpos lipídicos (\*), Protusões de membrana (seta fina), induzidos pela presença de corpos lipídicos, perfis de retículo endoplasmático (cabeça de seta), presença de vacúolos (V), inchaço mitocondrial e possível fragmentação do material genético. Além disso, pode-se observar, também, a presença da bolsa flagelar (BF) e flagelo (F).



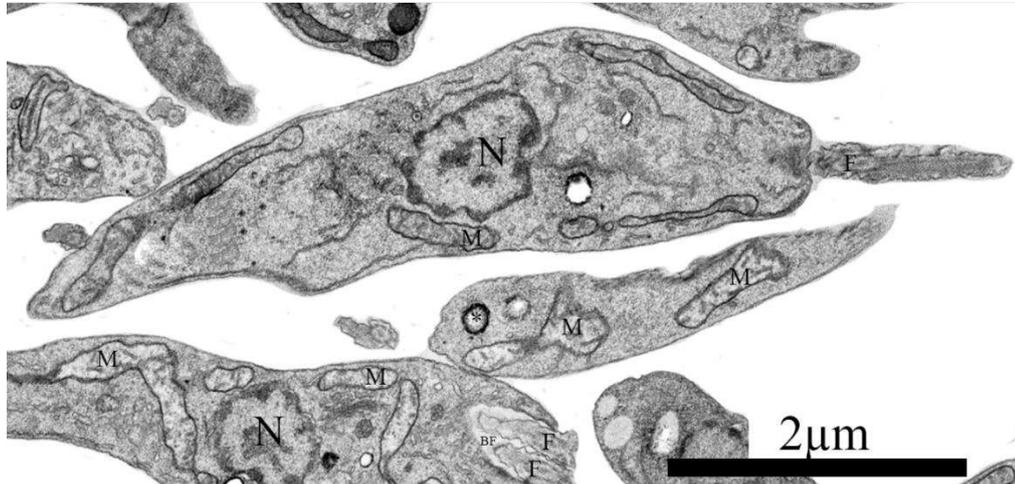
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 92** - STEM-in-SEM com 48 horas de tratamento. (A, B) Células tratadas com o complexo metálico [Cu(phen)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (1) a 0,05 μM e 0,1 μM, respectivamente. (C, D) Células tratadas com os complexo metálico [Cu(diona)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (2) a 0,5 μM e 1 μM, respectivamente. Analisando as microscopias, pode-se observar algumas organelas e efeitos em formas promastigotas de *L. amazonensis*, como: protusões de membrana (seta fina), induzidos pela presença de corpos lipídicos, perfis de retículo endoplasmático (cabeça de seta), presença de vacúolos (V), inchaço mitocondrial, má compactação do material genético. Além disso, pode-se observar, também, a presença de flagelo (F) e complexo de golgi (G).



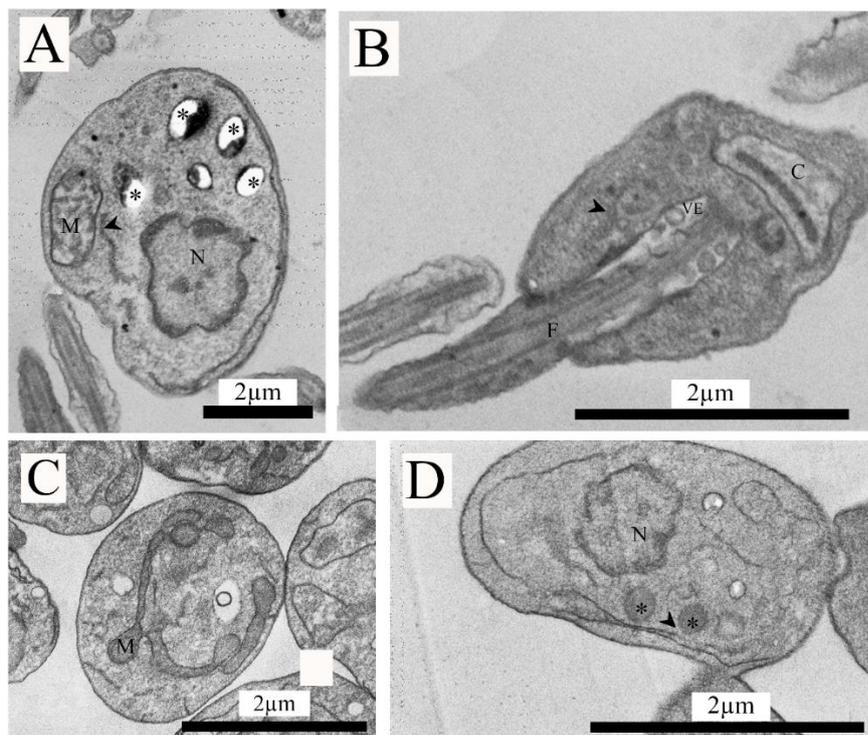
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 93** - Microscopia eletrônica de transmissão do controle com 72 horas de cultivo. Pode-se observar a presença de: núcleo (N), mitocôndria (M), corpos lipídicos (CL), bolsa flagelar (BF) e flagelo (F).



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

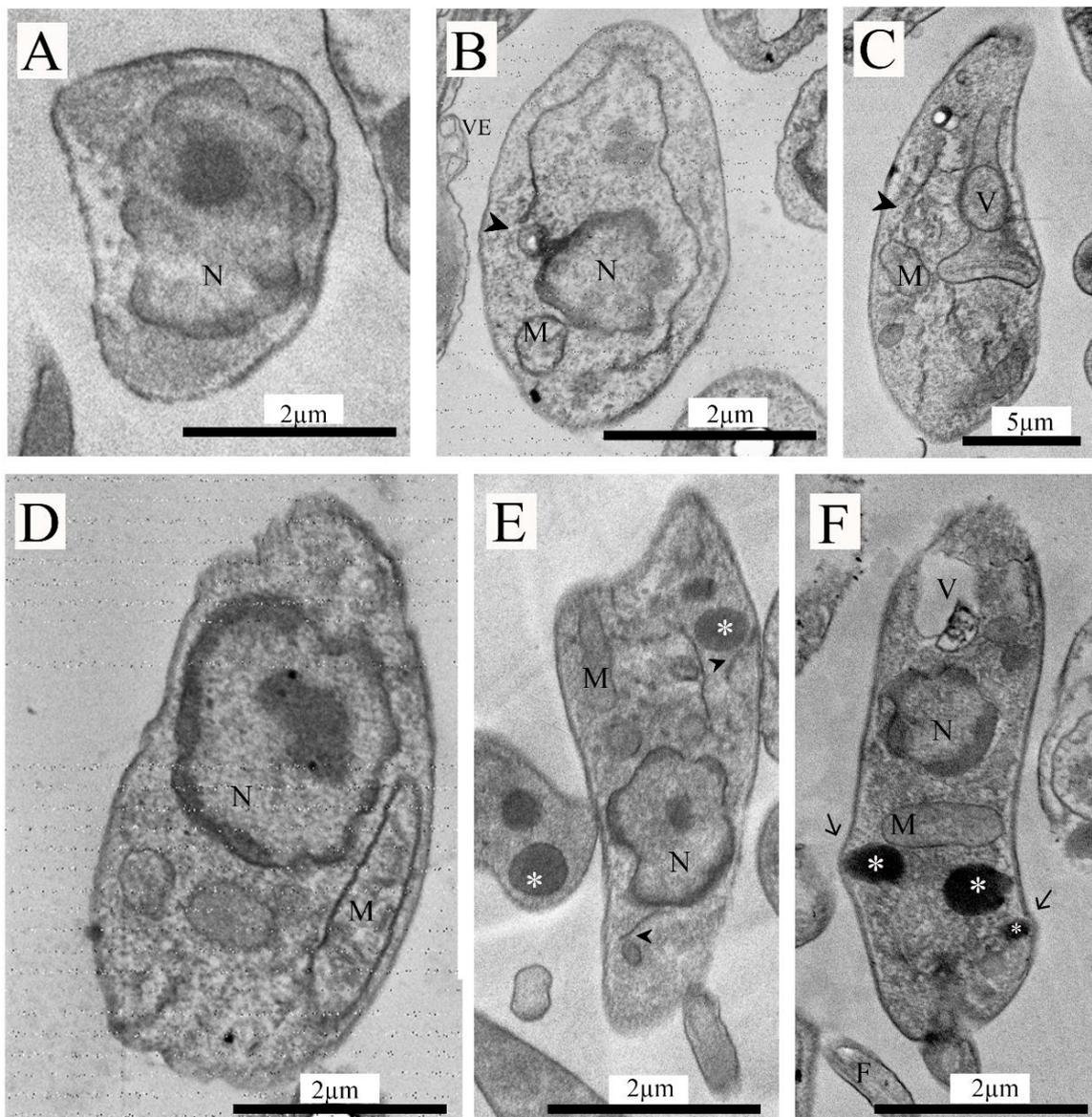
**Figura 94** - Microscopia eletrônica de transmissão com 72 horas de tratamento. (A) Células tratadas com Cobre a 15  $\mu\text{M}$ , respectivamente. (B) Células tratadas com CTZ a 3  $\mu\text{M}$ . (C) Células tratadas com KTZ a 3  $\mu\text{M}$ , respectivamente. (D) Células tratadas com FLZ a 200  $\mu\text{M}$ .



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

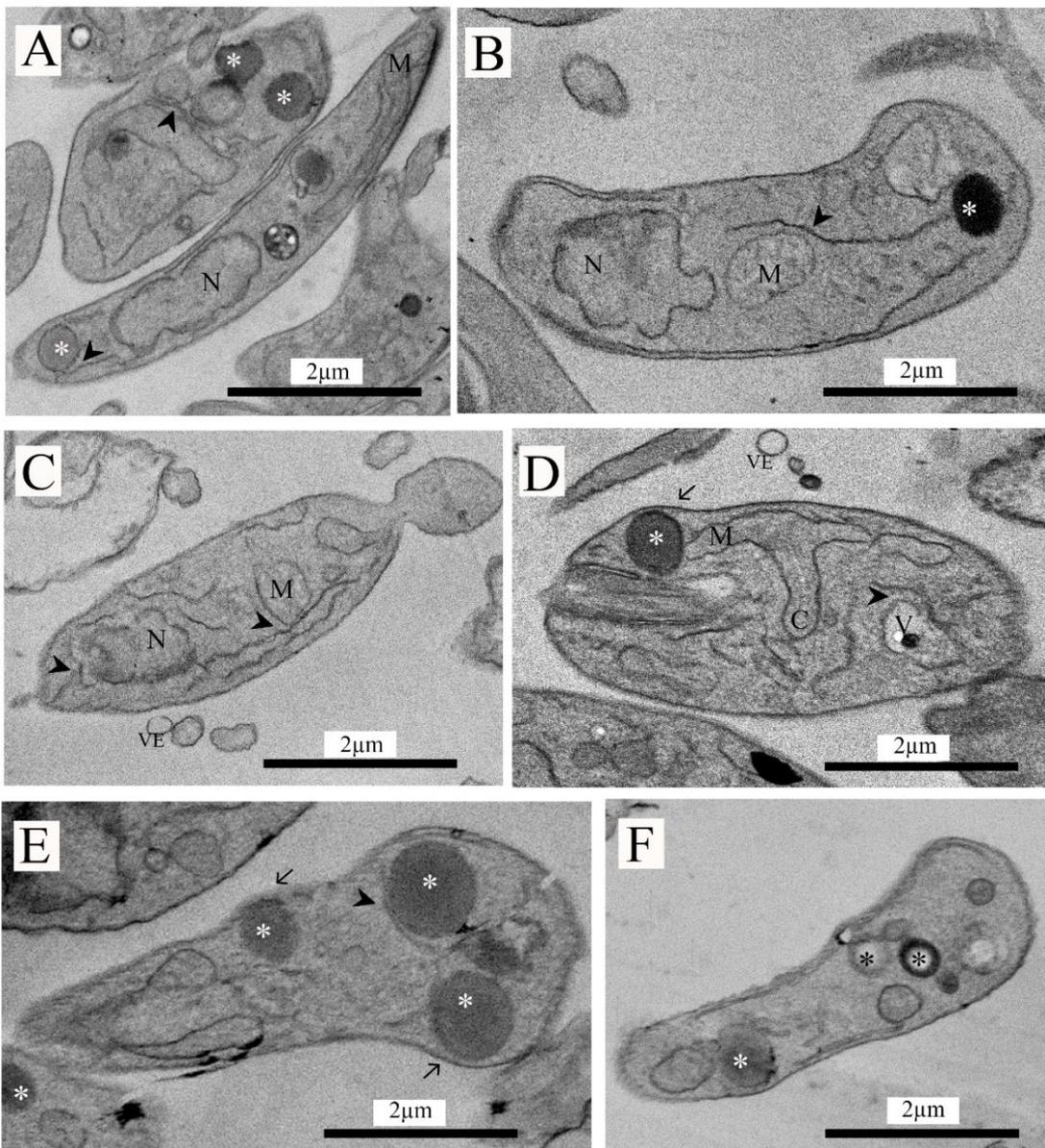
**Figura 95** - Microscopia eletrônica de transmissão com 72 horas de tratamento. (A, B) Células tratadas com phen a 6  $\mu\text{M}$  e 9  $\mu\text{M}$ , respectivamente. (C, D) Células tratadas com os complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{CTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**3**) a 0,5  $\mu\text{M}$  e 1  $\mu\text{M}$ , respectivamente. (E, F) Células tratadas com  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{KTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**6**) a 0,5  $\mu\text{M}$  e 1  $\mu\text{M}$ , respectivamente.

Analisando as microscopias, pode-se observar algumas organelas e efeitos em formas promastigotas de *L. amazonensis*, como: presença de corpos lipídicos (\*), Protusões de membrana (seta fina), induzidos pela presença de corpos lipídicos, perfis de retículo endoplasmático (cabeça de seta), presença de vacúolos (V), inchaço mitocondrial e possível fragmentação do material genético. Além disso, pode-se observar, também, a presença de flagelo (F) e cinetoplasto (C).



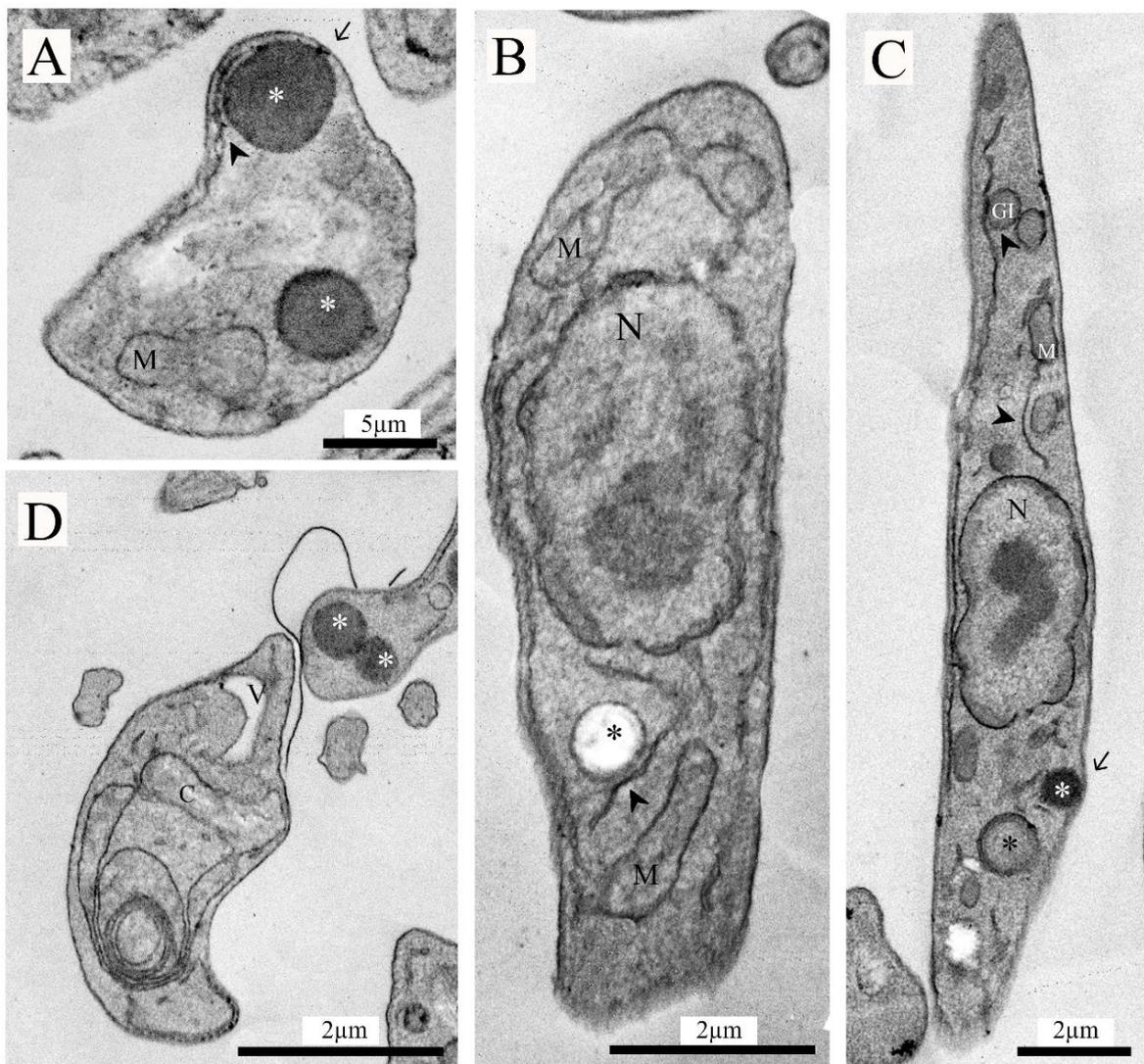
Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 96** - Microscopia eletrônica de transmissão com 48 horas de tratamento. (A, B) Células tratadas com Diona a 0,05  $\mu\text{M}$  e 0,1  $\mu\text{M}$ , respectivamente. (C, D) Células tratadas com os complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{CTZ})_2(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (**4**) a 0,5  $\mu\text{M}$  e 1  $\mu\text{M}$ , respectivamente. (E, F) Células tratadas com  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{FLZ})(\text{NO}_3)]_2(\text{NO}_3)_2$  (**13**) a 0,5  $\mu\text{M}$  e 1  $\mu\text{M}$ , respectivamente. Analisando as microscopias, pode-se observar algumas organelas e efeitos em formas promastigotas de *L. amazonensis*, como: presença de corpos lipídicos (\*), protusões de membrana (seta fina), induzidos pela presença de corpos lipídicos, perfis de retículo endoplasmático (cabeça de seta), presença de vacúolos (V), inchaço mitocondrial, má compactação do material genético. Além disso, pode-se observar, também, a presença da bolsa flagelar alterada (BF), flagelo (F) e vesículas extracelulares (VE).



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

**Figura 97** - Microscopia eletrônica de transmissão com 48 horas de tratamento. (A, B) Células tratadas com o complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{phen})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (1) a  $0,05 \mu\text{M}$  e  $0,1 \mu\text{M}$ , respectivamente. (C, D) Células tratadas com os complexo metálico  $[\text{Cu}(\text{diona})(\text{NO}_3)](\text{NO}_3)$  (2) a  $0,5 \mu\text{M}$  e  $1 \mu\text{M}$ , respectivamente. Analisando as microscopias, pode-se observar algumas organelas e efeitos em formas promastigotas de *L. amazonensis*, como: protusões de membrana (seta fina), induzidos pela presença de corpos lipídicos, perfis de retículo endoplasmático (cabeça de seta), inchaço mitocondrial (M), má compactação do material genético e seu margeamento no núcleo (N). Além disso, pode-se observar, também, a presença de flagelo (F) e cinetoplasto (C).



Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

## APÊNDICE G - Produção científica durante o doutorado.

Figura 98 - Artigo publicado durante o doutorado.



Antimicrobial Agents  
and Chemotherapy®

SUSCEPTIBILITY



### Synthesis and Biological Activity of Novel Zinc-Itraconazole Complexes in Protozoan Parasites and *Sporothrix* spp.

Jose Aleixo de Azevedo-França,<sup>a</sup> Renato Granado,<sup>b</sup> Sara Teixeira de Macedo Silva,<sup>c</sup> Gabrielle dos Santos-Silva,<sup>c,d</sup> Sandra Scapin,<sup>b</sup> Luana P. Borba-Santos,<sup>e</sup> Sonia Rozental,<sup>e</sup> Wanderley de Souza,<sup>c</sup> Érica S. Martins-Duarte,<sup>f</sup> Emile Barrias,<sup>b</sup>  Juliany Cola Fernandes Rodrigues,<sup>c,d</sup> Maribel Navarro<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Química, ICE, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Brazil

<sup>b</sup>Diretoria de Metrologia Aplicada a Ciências da Vida, Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia, INMETRO, Xerem, Brazil

<sup>c</sup>Laboratório de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>d</sup>Núcleo Multidisciplinar de Pesquisa em Biologia, NUMPEX-Bio, Campus UFRJ-Duque de Caxias prof. Geraldo Cidade, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>e</sup>Laboratório de Biologia Celular de Fungos, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>f</sup>Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, Brazil

**ABSTRACT** The new complexes Zn(ITZ)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1) and Zn(ITZ)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub> (2) were synthesized by a reaction of itraconazole with their respective zinc salts under reflux. These Zn-ITZ complexes were characterized by elemental analyses, molar conductivity, mass spectrometry, <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} nuclear magnetic resonance, and UV-vis and infrared spectroscopies. The antiparasitic and antifungal activity of Zn-ITZ complexes was evaluated against three protozoans of medical importance, namely, *Leishmania amazonensis*, *Trypanosoma cruzi*, and *Toxoplasma gondii*, and two fungi, namely, *Sporothrix brasiliensis* and *Sporothrix schenckii*. The Zn-ITZ complexes exhibited a broad spectrum of action, with antiparasitic and antifungal activity in low concentrations. The strategy of combining zinc with ITZ was efficient to enhance ITZ activity since Zn-ITZ-complexes were more active than the azole alone. This study opens perspectives for future applications of these Zn-ITZ complexes in the treatment of parasitic diseases and sporotrichosis.

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

## Figura 99 - Artigo publicado durante o doutorado.

Journal of Inorganic Biochemistry 239 (2023) 112047

---

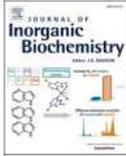


ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

### Journal of Inorganic Biochemistry

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jinorgbio](http://www.elsevier.com/locate/jinorgbio)



---



### Silver and copper-benznidazole derivatives as potential antiparasitic metallodrugs: Synthesis, characterization, and biological evaluation<sup>☆</sup>

Cassiano Cunha de Souza<sup>a,1</sup>, José Aleixo de Azevedo-França<sup>a,1</sup>, Emile Barrias<sup>b</sup>,  
Stephany C.F. Cavalcante<sup>b</sup>, Eduardo Guimarães Vieira<sup>c</sup>, Ana Maria Da Costa Ferreira<sup>c</sup>,  
Wanderley de Souza<sup>d</sup>, Maribel Navarro<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Laboratório de Química Bioinorgânica e Catálise, Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brazil  
<sup>b</sup> Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia, INMETRO, Xerém, RJ, Brazil  
<sup>c</sup> Laboratório de Bioinorgânica, Catálise e Farmacologia, Departamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil  
<sup>d</sup> Laboratório de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INBB) and Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagem, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brazil

---

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><b>Keywords:</b> Benznidazole Copper Silver Metallodrug <i>Trypanosoma cruzi</i>, Chagas disease</p>	<p>Currently the only drug available to treat Chagas disease in Brazil is benznidazole (BZN). Therefore, there is an urgent need to discover and develop new anti- <i>Trypanosoma cruzi</i> candidates. In our continuous effort to enhance clinical antiparasitic drugs using synergistic strategy, BZN was coordinated to silver and copper ions to enhance its effectiveness to treat that illness. In this work, the syntheses of four novel metal-BZN complexes, [Ag(BZN)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O (1), [CuCl<sub>2</sub>(BZN)(H<sub>2</sub>O)]·1/2CH<sub>3</sub>CN (2), [Ag(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(BZN)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O (3), and [Cu(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(BZN)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub>·2H<sub>2</sub>O (4), and their characterization using multiple analytical and spectroscopic techniques such as Infrared (FTIR), Nuclear Magnetic Resonance (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>31</sup>P), UV-Visible (UV-Vis), Electron Paramagnetic Resonance (EPR), conductivity and elemental analysis are described. IC<sub>50</sub> (Half-maximal inhibitory concentration) values of Ag-BZN compounds are about five to ten times lower than benznidazole itself in both proliferation stages of the parasite (epimastigotes and amastigotes). The cytotoxicity of both compounds in human cells (fibroblasts and hepatocytes) are comparable to BZN, indicating that Ag-BZN complexes can be more selective than BZN.</p>

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

## Figura 100 - Artigo publicado durante o doutorado.



## Antifungal promising agents of zinc(II) and copper(II) derivatives based on azole drug

Jose Aleixo de Azevedo-França<sup>a</sup>, Luana Pereira Borba-Santos<sup>b</sup>, Giovana de Almeida Pimentel<sup>a</sup>, Chris Hebert Jesus Franco<sup>a</sup>, Cassiano Souza<sup>a</sup>, Jaqueline de Almeida Celestino<sup>a</sup>, Emanuella Figueiredo de Menezes<sup>b</sup>, Nathalia Pinheiro dos Santos<sup>b</sup>, Eduardo Guimarães Vieira<sup>c</sup>, Ana Maria Da Costa Ferreira<sup>c</sup>, Wanderley de Souza<sup>d</sup>, Sonia Rozental<sup>b</sup>, Maribel Navarro<sup>a,e,\*</sup>

<sup>a</sup> Laboratório de Química Bioinorgânica e Catalise, Departamento de Química, ICE, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brazil

<sup>b</sup> Laboratório de Biologia Celular de Fungos, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>c</sup> Laboratório de Bioinorgânica, Catalise e Farmacologia, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

<sup>d</sup> Laboratório de Ultraestrutura Celular Hertha Meyer, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia (INBEB) and Centro Nacional de Biologia Estrutural e Bioimagens, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

<sup>e</sup> Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia, INMETRO, Xerêm, RJ, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Metal complexes  
Ketoconazole  
Clotrimazole  
*Sporothrix brasiliensis*  
*Candida albicans*  
*Cryptococcus neoformans*

### ABSTRACT

A series of new metal complexes, [Zn(KTZ)<sub>2</sub>(Ac)<sub>2</sub>]-H<sub>2</sub>O (1), [Zn(KTZ)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]-0.4CH<sub>3</sub>OH (2), [Zn(KTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>) (3), [Cu(KTZ)<sub>2</sub>(Ac)<sub>2</sub>]-H<sub>2</sub>O (4), [Cu(KTZ)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]-3.2H<sub>2</sub>O (5), [Cu(KTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)-H<sub>2</sub>O (6), were synthesized by a reaction of ketoconazole (KTZ) with their respective zinc or copper salts under mild conditions. Similarly, six corresponding metal-CTZ (clotrimazole) complexes [Zn(CTZ)<sub>2</sub>(Ac)<sub>2</sub>]-4H<sub>2</sub>O (7), [Zn(CTZ)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>] (8), [Zn(CTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)-4H<sub>2</sub>O (9), [Cu(CTZ)<sub>2</sub>(Ac)<sub>2</sub>]-H<sub>2</sub>O (10), [Cu(CTZ)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]-2H<sub>2</sub>O (11), [Cu(CTZ)<sub>2</sub>(H<sub>2</sub>O)(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)-2H<sub>2</sub>O (12), were obtained. These metal complexes were characterized by elemental analyses, molar conductivity, <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} nuclear magnetic resonance, UV/Vis, and infrared spectroscopies. Further, the crystal structure for complexes 7 and 10 was determined by single-crystal X-ray diffraction. The antifungal activity of these metal complexes was evaluated against three fungal species of medical relevance: *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, and *Sporothrix brasiliensis*. Complexes 1 and 3 exhibited the greatest antifungal activity with a broad spectrum of action at low concentrations and high selectivity. Some morphological changes induced by these metal complexes in *S. brasiliensis* cells included yeast-hyphae conversion, an increase in cell size and cell wall damage. The strategy of coordination of clinic drugs (KTZ and CTZ) to zinc and copper was successful, since the corresponding metal complexes were more effective than the parent drug. Particularly, the promising antifungal activities displayed by Zn-KTZ complexes make them potential candidates for the development of an alternative drug to treat mycoses.

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

## Figura 101 - Artigo publicado durante o doutorado.

Journal of Inorganic Biochemistry 233 (2022) 111834

---

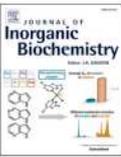


ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](https://www.sciencedirect.com)

### Journal of Inorganic Biochemistry

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jinorgbio](http://www.elsevier.com/locate/jinorgbio)



---

### Promising fluconazole based zinc(II) and copper(II) coordination polymers against Chagas disease

José Aleixo de Azevedo-França<sup>a</sup>, Emile Barrias<sup>b</sup>, Chris Hebert Jesus Franco<sup>a,c</sup>, Wilmer Villarreal<sup>c</sup>, Eduardo Guimarães Vieira<sup>d</sup>, Ana Maria Da Costa Ferreira<sup>d</sup>, Wanderley de Souza<sup>f</sup>, Maribel Navarro<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Laboratório de Química Bioinorgânica e Catálise, Departamento de Química, ICE, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brazil  
<sup>b</sup> Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia, INMETRO, Xerêm, RJ, Brazil  
<sup>c</sup> Grupo de Química Inorgânica Medicinal e Reações Aplicadas, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil  
<sup>d</sup> Laboratório de Bioinorgânica, Catálise e Farmacologia, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil  
<sup>e</sup> Centro de Química Estrutural, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, Portugal  
<sup>f</sup> Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Biologia Estrutural e Bioimagem, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil



---

**ARTICLE INFO**

**Keywords:**  
 Coordination polymers  
 Fluconazole  
 Copper(II)  
 Zinc(II)  
*Trypanosoma cruzi*

**ABSTRACT**

A series of new transition metal coordination polymers, [Zn(Ac)<sub>2</sub>(FLZ)<sub>2</sub>]<sub>n</sub> (**1**), [Zn(FLZ)<sub>2</sub>(Cl)<sub>2</sub>]<sub>n</sub> (**2**), {[Zn(FLZ)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sub>n</sub> (**3**), [Cu(FLZ)<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>COO)<sub>4</sub>]<sub>n</sub> (**4**), {[Cu(FLZ)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]<sub>n</sub> (**5**) and {[Cu(FLZ)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]<sub>n</sub> (**6**), were synthesized by the reaction of fluconazole (FLZ) with the respective zinc or copper salts under mild conditions. The molecular structure of these compounds was elucidated by several analytical and spectroscopy techniques such as elemental analyses, <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} nuclear magnetic resonance, electronic paramagnetic resonance, and infrared spectroscopy. Single-crystal X-ray diffraction confirmed the structure of the compounds **2**, **4**, **5** and **6** in solid state. The antichagasic activity of these compounds was evaluated against different forms of *Trypanosoma cruzi*. Compound **2** exhibited the highest activity against intracellular amastigotes. The ultrastructural changes in epimastigotes and intracellular amastigotes were investigated. These promising biological results demonstrated that the zinc or copper coordination polymers can form very active anti-parasitic compounds. The resulting compounds are more effective than the freeazole drug and, consequently, great candidates for the treatment of Chagas disease.

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).

Figura 102 - Artigo publicado durante o doutorado.

NJC



PAPER

[View Article Online](#)  
[View Journal](#)



Cite this: DOI: 10.1039/d3nj04608g

## Synthesis, characterization, and biological evaluation of hybrid copper(II) complexes containing azole drugs and planar ligands against neglected diseases†

José Aleixo de Azevedo-França,<sup>‡a</sup> Victor Feliciano dos Santos Ramos,<sup>‡b</sup> Luigi Messori,<sup>‡c</sup> Fabio Santanni,<sup>‡d</sup> Lorenzo Sorace,<sup>‡d</sup> Luana Pereira Borba-Santos,<sup>e</sup> Sonia Rozental,<sup>e</sup> Juliany Cola Fernandes Rodrigues<sup>b</sup> and Maribel Navarro<sup>‡\*a</sup>

Motivated by the urgent need to find new agents for the treatment of leishmaniasis and fungal infections, six copper(II) coordination complexes containing well-known azole drugs with antifungal and antiparasitic properties, *i.e.*, ketoconazole (KTZ), clotrimazole (CTZ), and fluconazole (FLZ), were synthesized. By reacting copper(II) complexes containing a bidentate planar ligand, either 1,10-phenanthroline (phen) or 1,10-phenanthroline-5,6-dione (dione), with azole drugs under mild conditions, we synthesized the set of compounds investigated in this work, *i.e.*, [Cu(phen)(CTZ)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·4H<sub>2</sub>O (**1**), [Cu(phen)(KTZ)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·3H<sub>2</sub>O·C<sub>2</sub>H<sub>10</sub>O (**2**), [Cu(phen)(FLZ)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·5H<sub>2</sub>O (**3**), [Cu(dione)(CTZ)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·5H<sub>2</sub>O (**4**), [Cu(dione)(KTZ)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)](NO<sub>3</sub>)·5H<sub>2</sub>O (**5**), and [Cu(phen)(FLZ)(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·5H<sub>2</sub>O (**6**). Chemical composition and structural features of the copper(II) complexes were characterized in depth using multiple analytical and spectroscopic techniques, *i.e.*, conductivity measurements, elemental analysis, infrared (FT-IR), UV-Visible (UV-Vis), and electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopies. Furthermore, the stability of these complexes was validated through spectrophotometric measurements of aqueous solutions. Antileishmanial and antifungal properties were analyzed *in vitro*. Our results pointed out a remarkable anti-leishmanial activity for some of the investigated systems and a promising anti-*Sporothrix* activity for the complex [Cu(phen)(KTZ)<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)]NO<sub>3</sub>.

Received 2nd October 2023,  
Accepted 23rd December 2023  
DOI: 10.1039/d3nj04608g

rsc.li/njc

Fonte: Elaborado pelo autor (2023).