

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

**“AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES QUÍMICA E  
CITOTÓXICAS DE NOVOS COMPOSTOS  
ORGANOMETÁLICOS DE Ru(II) COM ACILTIOUREIAS”**

**Beatriz Nogueira da Cunha\***

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

**Orientadora: Profa. Dra. Wânia da Conceição Moreira**  
**Coorientador: Alzir Azevedo Batista**

**\* bolsista CNPQ**

**São Carlos - SP**  
**2018**

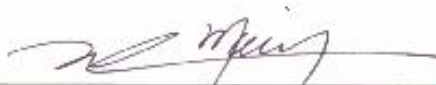


UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

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


Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado da candidata Beatriz Nogueira da Cunha, realizada em 16/08/2018:



---

Prof. Dra. Wania da Conceição Moreira  
UFSCar



---

Prof. Dr. Tiago Venâncio  
UFSCar



---

Prof. Dra. Dulce Helena Ferreira de Souza  
UFSCar



---

Prof. Dr. Pedro Ivo da Silva Maia  
UFTM



---

Prof. Dr. Roberto Sartana da Silva  
USP



*Ao meu pai, Orley Sena da Cunha  
(in memoriam), pessoa com quem eu  
pude conviver muito pouco,  
infelizmente, mas que foi suficiente  
para tornar sua existência  
inesquecível.*



## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao meu esposo, amigo e colega de trabalho, Rafael Gomes da Silveira, que tem me fortalecido em todos os aspectos da minha vida.

Agradeço aos meus familiares e à minha amiga Ana Cristina de Jesus que me proporcionaram apoio e condições que contribuíram para minha formação.

Agradeço ao Instituto Federal Goiano, campus Ceres, juntamente com políticas federais, que me permitiram completa dedicação para a realização do doutorado.

À Profa. Dr. Wânia da Conceição Moreira pela atenção demandada, que com certeza foi além do necessário.

Ao Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista por me proporcionar um ambiente totalmente favorável para a realização desta pesquisa, sempre se prontificando a discutir e mediar parcerias para o desenvolvimento do projeto, bem como os momentos de convivência que contribuíram para meu crescimento profissional e pessoal.

À Profa. Dra. Márcia Regina Cominetti (Gerontologia-UFSCar), pela disponibilidade da sua estrutura para a realização dos testes biológicos.

À Dra. Legna Colina A. Vegas e à Msc. Katia Mara de Oliveira pelos ensinamentos oferecidos, os quais me possibilitaram a realização dos ensaios biológicos.

Ao Prof. Dr. Eduardo Ernesto Castellano, o qual considero um coorientador, não só pela resolução das estruturas cristalográficas deste trabalho e ainda outras que não foram incluídas aqui, mas também pelo auxílio na redação de artigos.

Ao Prof. Antônio Gilberto Ferreira pela realização de algumas medidas de RMN mais específicas.

Ao Departamento de Química da UFSCar, especialmente aos servidores Ademir Sartori, Luciana Vizotto e Paulo Lambertucci e ao Programa

de Pós-Graduação em Química, em especial às secretárias Ariane, Cristina e Luciani, pela disponibilidade e ajuda prestada.

Ao Msc. João Honorato de Araujo Neto pelo suporte gráfico prestado.

À Profa. Dra. Ana Maria Plutin, ao Msc. Raúl Ramos Cairo e a Msc. Tamires Donizete de Oliveira pelas sínteses dos ligantes utilizados neste trabalho.

Aos colegas de laboratório que se tornaram grandes amigos ao longo deste processo e me contemplaram com suporte afetivo e científico: Adriana, Angélica, Claudia, Celis, Gabriel, Gregory, João, Katia, Legna, Luciano, Marília, Maria José, Monize, Rafael, Rodrigo, Taíse, Tamires e Wilmer.

Ao CNPq, pela bolsa concedida.

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

---

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1 – Valores de IC <sub>50</sub> (μM) de complexos Ru(II)-areno nas linhagens tumorais humanas de pulmão (A549) e mama (MDA-MB-231).....	18
TABELA 4.1 - Dados de análise elementar e condutividade molar (Λ) dos complexos.....	39
TABELA 4.2 -Comprimentos de ligação (Å) selecionados das estruturas cristalinas dos complexos <b>4</b> , <b>4a</b> , <b>4m</b> e <b>4b</b> e seus respectivos ligantes aciltioureia. .....	50
TABELA 4.3 - Comprimento de onda de absorção máxima (λ, nm) e coeficientes de absorvidade molar (logε, M <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> ) dos complexos.....	53
TABELA 4.4- Proposta de atribuição das principais bandas características nos espectros de absorção na região do infravermelho dos ligantes aciltioureias.....	57
TABELA 4.5 – Proposta de atribuição das principais bandas características nos espectros de IV dos complexos.....	58
TABELA 4.6 - Deslocamento químico dos hidrogênios dos grupos N-H dos ligantes aciltioureias e dos complexos. ....	61
TABELA 4.7 - Deslocamentos químicos para os sinais referentes aos carbonos dos grupos C=O e C=S dos ligantes aciltioureias e dos respectivos complexos, em acetona-d <sub>6</sub> (experimental) e teórico.....	69
TABELA 4.8 - Valores de IC <sub>50</sub> (μM) em diferentes linhagens tumorais e não tumorais e índices de seletividade (IS).....	75

---

TABELA 4.9 - Valores das constantes de Stern-Volmer ( $K_{sv}$ ), constante de ligação ( $K_b$ ), número de sítios de ligação ( $n$ ) e parâmetros termodinâmicos ( $\Delta H^\circ$ , $\Delta S^\circ$ e $\Delta G^\circ$ ) dos complexos em diferentes temperaturas.....	102
--	-----

---

**LISTA DE FIGURAS**

FIGURA 1.1 - Tumores malignos: localizado (estágio inicial do câncer) e a metástase (estágio avançado). .....	3
FIGURA 1.2 - Estrutura química do composto cisplatina, diaminodichloridoplatina(II). .....	6
FIGURA 1.3 - Esquema representativo do modo de ação proposto para o cisplatina (adaptado de BENEDETTI <sup>12</sup> ). .....	8
FIGURA 1.4 - Estruturas químicas de compostos à base de platina relacionados à terapia do câncer.....	9
FIGURA 1.5 - Estruturas químicas de compostos de rutênio: NAMI-A, KP418 e KP1019/NKP1339.....	10
FIGURA 1.6 - Estruturas químicas de compostos organometálicos Ru(II)-areno: 1) $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-benzeno})\text{Cl}_2(\text{metrodonidazol})]$ ; 2) $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-benzeno})\text{Cl}(\text{en})]^+$ , representante da série RAED; 3) RAPTA-C, representante da série RAPTA....	13
FIGURA 1.7 - Estrutura básica dos compostos aciltioureas. ....	14
FIGURA 1.8 - Complexos de rutênio com atividade antitumoral. ....	16
FIGURA 1.9 - Complexos Ru(II)-areno com atividade antitumoral. ....	17
FIGURA 4.1 - Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo <b>1</b> (série 1) em acetona com capilar externo de $\text{D}_2\text{O}$ . ....	40

---

FIGURA 4.2 - Espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo <b>1</b> em diferentes misturas de solventes, em temperatura ambiente, com capilar $\text{D}_2\text{O}$ nos tempos de 24 h e 7 dias (o sinal referente ao $\text{PF}_6^-$ em -144,5 foi omitido). .....	41
FIGURA 4.3 - Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo <b>1a</b> (série 1) em acetona com capilar externo de $\text{D}_2\text{O}$ . .....	42
FIGURA 4.4 - Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo <b>2</b> em metanol/ $\text{H}_2\text{O}$ com capilar $\text{D}_2\text{O}$ em diferentes tempos (o sinal referente ao $\text{PF}_6^-$ foi omitido)..	43
FIGURA 4.5 - Espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos <b>1m</b> e <b>1b</b> , em acetona com capilar externo de $\text{D}_2\text{O}$ . .....	45
FIGURA 4.6 – Estruturas cristalinas dos complexos <b>1-5</b> , <b>1a</b> e <b>4a</b> (série 1).....	47
FIGURA 4.7 – Estruturas cristalinas dos complexos <b>1m-6m</b> , <b>1b</b> , <b>2b</b> e <b>4b-6b</b> (série 2).....	48
FIGURA 4.8 - Principais conformações das moléculas aciltioureas.....	51
FIGURA 4.9 - Espectro de absorção na região do UV-visível do complexo <b>1</b> , em $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . .....	52
FIGURA 4.10 - Espectros de absorção na região do IV em pastilha de KBr do ligante <b>1*</b> (série 1) e complexos <b>1</b> e <b>1a</b> .....	54
FIGURA 4.11 - Espectros de absorção na região do IV em pastilha de KBr do ligante <b>4**</b> (série 2) e complexos <b>4m</b> e <b>4b</b> . .....	55
FIGURA 4.12 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ do precursor, em acetona- $\text{d}_6$ . .....	59
FIGURA 4.13 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ do complexo <b>1</b> , em acetona- $\text{d}_6$ .....	60
FIGURA 4.14- Espectro de RMN $^1\text{H}$ do complexo <b>1a</b> , em acetona- $\text{d}_6$ .....	61

---

---

FIGURA 4.15- Espectro de RMN $^1\text{H}$ do complexo <b>4b</b> , em acetona- $\text{d}_6$ . .....	62
FIGURA 4.16- Experimento de RMN - COSY $^1\text{H}$ , ampliado, do complexo <b>1</b> , em acetona- $\text{d}_6$ . .....	63
FIGURA 4.17- Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ do complexo <b>1</b> , em acetona- $\text{d}_6$ .....	64
FIGURA 4.18- Experimento de RMN - HSQC do complexo <b>1</b> , em acetona- $\text{d}_6$ .	66
FIGURA 4.19- Experimento de RMN - HMBC do complexo <b>1</b> , em acetona- $\text{d}_6$ . .....	67
FIGURA 4.20- Sinais de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ referentes aos grupos C=S e C=O dos espectros dos complexos <b>1</b> , <b>4b</b> e <b>1a</b> , em acetona- $\text{d}_6$ . .....	70
FIGURA 4.21- Espectros de RMN de $^1\text{H}$ do complexo <b>1a</b> em acetona- $\text{d}_6$ , a temperatura ambiente em diferentes tempos, com ampliação para o sinal referente ao grupo $\text{CH}_2$ . .....	71
FIGURA 4.22- Espectros de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo <b>1a</b> , em acetona- $\text{d}_6$ , a temperatura ambiente em diferentes tempos, com ampliação para os sinais referentes aos grupos C=S, C=O e $\text{CH}_2$ . .....	72
FIGURA 4.23 - Mistura racêmica das estruturas cristalinas dos complexos <b>1</b> , <b>4</b> , <b>1a</b> e <b>4a</b> . .....	73
FIGURA 4.24- Esquema que ilustra a inversão de configuração do átomo de nitrogênio assimétrico. ....	74
FIGURA 4.25- Estruturas dos complexos $[\text{Ru}(\text{N}'\text{-(benzoil)-N}'\text{N}'\text{-dimetiltiourea})(4\text{-metilpiridina})]\text{PF}_6$ ( <b>1c</b> ) e <b>2b</b> com seus respectivos valores de $\text{IC}_{50}$ nas linhagens tumorais de pulmão (A549) e mama (MDA-MB-231).....	78

---

---

FIGURA 4.26 - Estrutura dos complexos Ru(II)-areno com seus respectivos valores de IC <sub>50</sub> (μM) na linhagem tumoral de leucemia HL60. <sup>71</sup> .....	79
FIGURA 4.27- Morfologia das células MDA-MB-231 e MCF-10A após tratamento com o complexo <b>6b</b> nos tempos de 0, 24 e 48 h .....	81
FIGURA 4.28 - Ensaio da formação de colônia após tratamento das células MDA-MB-231 com o complexo <b>6b</b> , em diferentes concentrações e quantificação do número e tamanho das colônias. ....	83
FIGURA 4.29- Ensaio de migração <i>Wound Healing</i> dos complexos <b>1</b> e <b>1a</b> (linhagem A549), <b>6m</b> e <b>6b</b> (linhagem MDA-MB-231) em concentrações correspondentes aos seus respectivos IC <sub>50</sub> (48 h) durante 24 h. ....	84
FIGURA 4.30- Ensaio de migração câmara de Boyden do complexo <b>6b</b> na linhagem MDA-MB-23, em diferentes concentrações (0,75, 1,50 e 2,00 μM) e controles com FBS (FBS+) e sem FBS (FBS-). ....	85
FIGURA 4.31- Representação esquemática do ciclo celular. ....	86
FIGURA 4.32- Efeito no ciclo celular da linhagem MDA-MB-231, incubadas 24 h com o complexo <b>6b</b> em diferentes concentrações. ....	87
FIGURA 4.33- Representação esquemática da morfologia celular dos mecanismos de morte, apoptose e necrose. ....	88
FIGURA 4.34- Ensaio de apoptose PE-AnexinaV - 7AAD na linhagem MDA-MB-231, incubadas 24 h com diferentes concentrações do complexo <b>6b</b> . ....	89
FIGURA 4.35- Representação dos possíveis modos de interação de complexos com o DNA. <sup>85</sup> .....	91

---



---

FIGURA 4.36- Efeito da concentração dos complexos <b>1</b> , <b>1a</b> , <b>2</b> , <b>3</b> , <b>4</b> , <b>4a</b> , <b>5</b> , cisplatina (CP) e cloroquina na viscosidade relativa do DNA a 25 °C.....	93
FIGURA 4.37 - Formas mais comuns do DNA plasmidial com suas respectivas bandas no gel de agarose.....	94
FIGURA 4.38- Efeito da concentração dos complexos <b>5m</b> , <b>6m</b> , <b>5b</b> e <b>6b</b> na eletroforese do plasmídeo pBR322 em diferentes Ri (0,25, 0,50, 1,00 e 1,50). Marcador de peso molecular (MW) e DNA em DMSO (DNA).....	95
FIGURA 4.39 – Estrutura cristalina de um fragmento de DNA contendo o Hoechst 33258 interagindo pelo sulco menor (PDB-8bna) e estrutura química do Hoechst 33258.....	96
FIGURA 4.40- Espectro de emissão do Hoechst (5,0 µM) /CT-DNA (175 µM) ( $\lambda_{ex}$ =343 nm) com diferentes concentrações (0-50 µM) dos complexos <b>6m</b> e <b>6b</b> . .....	97
FIGURA 4.41- Interação do Tiazol laranja com o DNA e a estrutura química do Tiazol laranja.....	98
FIGURA 4.42- Espectro de emissão do TO (5,0 µM) /CT-DNA (175 µM) ( $\lambda_{ex}$ =480 nm) com diferentes concentrações (0-50 µM) dos complexos <b>6m</b> e <b>6b</b> . .....	99
FIGURA 4.43 - Estrutura secundária da HSA com os respectivos subdomínios <sup>96</sup> e espectro da supressão da fluorescência da HSA em diferentes concentrações do complexo <b>6b</b> a 298 K .....	100

---

FIGURA 4.44- Estrutura secundária da HSA com os respectivos subdomínios e sítios de ligação I (subdomínio IIA) e II (subdomínio IIIA). ....	105
FIGURA 4.45 - Espectro da supressão da fluorescência do aduto dansilglicina-HSA em diferentes concentrações do complexo <b>6b</b> a 298 K.....	106

**LISTA DE ESQUEMAS**

ESQUEMA 4.1 - Rota sintética para a obtenção dos complexos da série 1.....	37
ESQUEMA 4.2 - Rota sintética para a obtenção dos complexos da série 2.....	38
ESQUEMA 4.3 - Esquema proposto para as espécies detectadas no espectro de RMN de $^{31}\text{P}$ (estudo de estabilidade em $\text{H}_2\text{O}$ , conforme ilustrada na Figura 4.1) para os complexos <b>1</b> e <b>4</b> (série 1). .....	44

## RESUMO

“AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ANTICÂNCER DE COMPOSTOS ORGANOMETÁLICOS DE Ru(II) COM ACILTIOUREIAS” Esta tese apresenta um estudo baseado na síntese, caracterização e avaliação biológica de 19 novos complexos organometálicos de Ru(II) com aciltioureas. Os complexos apresentam fórmula geral  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}(\text{PPh}_3)\text{Tu}]\text{PF}_6$  e  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{PPh}_3)\text{Tu}]\text{PF}_6$  onde  $\text{PPh}_3$  = trifenilfosfina e Tu = *N*-(metilfuroil)-*N'*-2-furoiltiourea (**1** e **1a**); T = *N*-(metiltiofenil)-*N'*-2-tiofeniltiourea (**2**); *N*-(metilfuroil)-*N'*-2-furoiltiourea; *N*-(metilfuroil)-*N'*-2-tiofeniltiourea (**3**); *N*-(metil-1,3-benzodioxolil)-*N'*-2-furoiltiourea (**4** e **4a**); *N*-(metil-1,3-benzodioxolil)-*N'*-2-tiofeniltiourea (**5**); *N,N*-(dimetil)-*N'*-benzoiltiourea (**1m** e **1b**); *N,N*-(dietil)-*N'*-benzoiltiourea (**2m** e **2b**); *N,N*-(dimetil)-*N'*-2-furoiltiourea (**3m** e **3b**); *N,N*-(dietil)-*N'*-2-furoiltiourea (**4m** e **4b**); *N,N*-(dimetil)-*N'*-2-tiofeniltiourea (**5m** e **5b**); *N,N*-(dietil)-*N'*-2-tiofeniltiourea (**6m** e **6b**). A caracterização dos complexos foi realizada mediante análise elementar, condutividade molar, espectroscopia de absorção na região do infravermelho, ressonância magnética nuclear de  $^{31}\text{P}$   $\{^1\text{H}\}$ ,  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$  e difração de raios X (monocristal). Três distintos modos de coordenação dos ligantes aciltiourea, monodentado via átomo de S (**1-5** e **1m-6m**), e bidentados via átomos de S e O (**1b-6b**) ou via átomos de S e N (**1a** e **4a**), foram obtidos a partir de diferentes rotas sintéticas. Uma das rotas sintéticas baseia-se na reação de hidrólise dos complexos monodentados, que propicia a conversão do modo de coordenação dos ligantes aciltioureas para o bidentado. A citotoxicidade dos complexos foi avaliada nas linhagens tumorais de mama (MDA-MB-231), pulmão (A549) e próstata (DU-145) e linhagens não tumorais de mama (MCF-10A) e pulmão (MRC-5). Os valores de  $\text{IC}_{50}$  dos complexos **1-5**, **1a** e **4a**, na linhagem A549 que corresponde a faixa de 0,25 a 0,61  $\mu\text{M}$ , após 48 h de incubação, indicam uma pronunciada citotoxicidade dos complexos com valores significativamente menores do que o observado para o fármaco de referência, cisplatina (11,84  $\mu\text{M}$ ).

Para os complexos **1m-6m** e **1b-6b**, os valores de  $IC_{50}$  para a linhagem de próstata (2,89-7,49  $\mu\text{M}$ ), apesar de indicarem a inibição da proliferação celular, apresentaram menor citotoxicidade do que o cisplatina (2,00  $\mu\text{M}$ ). Para as linhagens tumorais de mama ( $IC_{50}= 0,28-0,74 \mu\text{M}$ ) e pulmão ( $IC_{50}= 0,51-1,83 \mu\text{M}$ ), os complexos **1m-6m** e **1b-6b** foram notavelmente mais ativos do que a cisplatina, também apresentaram expressiva seletividade frente à linhagem tumoral de mama ( $IS= 4,66-19,34$ ). Baseando-se na atividade e seletividade, os complexos **1a**, **5b** e **6b**, bem como seus respectivos complexos análogos na coordenação monodentada **1**, **5m** e **6m**, foram selecionados para a continuidade das investigações biológicas na linhagens tumorais de pulmão (**1** e **1a**) e mama (**5m**, **6m**, **5b** e **6b**). Esses complexos induziram alterações morfológicas nas respectivas linhagens, como também foram capazes de inibir a formação de colônias e migração celular. Além disso, os complexos promoveram acúmulo na fase Sub- $G_1$  do ciclo celular e induziram morte por apoptose. Os Estudos de interação com o DNA realizados por meio de medidas de viscosidade, mobilidade eletroforética e ensaio de competitividade, sugerem a interação dos complexos com o DNA via sulco menor. Os complexos também apresentaram alta afinidade à proteína HSA ( $K_b= 10^4$  a  $10^6$ ). O ensaio competitivo com o dansilglicina sugere interação com o sítio II (subdomínio IIIA) desta proteína.

**ABSTRACT**

"EVALUATION OF ANTICANCER PROPERTIES OF ORGANOMETALLIC Ru(II) COMPLEXES WITH ACYLTHIOUREAS" This thesis shows a study based on the synthesis, characterization and biological evaluation of 19 new organometallic Ru(II) complexes with acylthioureas. The complexes have general formula  $\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})\text{Cl}(\text{PPh}_3)\text{Tu}]\text{PF}_6$  e  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})(\text{PPh}_3)\text{Tu}]\text{PF}_6$  where  $\text{PPh}_3$ = triphenylphosphine and Tu= *N*-(methylfuroyl)-*N'*-2-furoylthiourea (**1** e **1a**); *N*-(methyltiophenyl)-*N'*-2-tiophenylthiourea (**2**); *N*-(methylfuroyl)-*N'*-2-furoylthiourea; *N*-(methylfuroyl)-*N'*-2-tiophenylthiourea (**3**); *N*-(methyl-1,3-benzodioxolyl)-*N'*-2-furoylthiourea (**4** e **4a**); *N*-(methyl-1,3-benzodioxolyl)-*N'*-2-tiophenylthiourea (**5**); *N,N*-(dimethyl)-*N'*-benzoylthiourea (**1m** e **1b**); *N,N*-(diethyl)-*N'*-benzoylthiourea (**2m** e **2b**); *N,N*-(dimethyl)-*N'*-2-furoylthiourea (**3m** e **3b**); *N,N*-(diethyl)-*N'*-2-furoylthiourea (**4m** e **4b**); *N,N*-(dimethyl)-*N'*-2-tiophenylthiourea (**5m** e **5b**); *N,N*-(diethyl)-*N'*-2-tiophenylthiourea (**6m** e **6b**). Complexes characterization was carried out by elemental analysis, molar conductivity, absorption spectroscopy in infrared region,  $^{31}\text{P}$  { $^1\text{H}$ },  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  { $^1\text{H}$ } nuclear magnetic resonance and single crystal X-ray diffraction. Three different coordination modes of the acylthiourea ligands, monodentate via S atom (**1-5** e **1m-6m**), bidentate via S and O atoms (**1b-6b**) or via S and N atoms (**1a** e **4a**), were obtained from different synthetic routes. One of the synthetic routes base on hydrolysis reaction of monodentate complexes, which promotes the conversion of coordination mode of acylthioureas to bidentate. The cytotoxicity of the complexes was evaluated in breast (MDA-MB-231), lung (A549) and prostate (DU-145) human tumor cell lines and breast (MCF-10A) and lung (MRC-5) human nontumorigenic cell lines.  $\text{IC}_{50}$  values of the complexes **1-5**, **1a** e **4a**, in A549 cells, which correspond the range from 0.25 to 0.61  $\mu\text{M}$ , after 48 h incubation, indicate a considerable cytotoxicity with values significantly lower than the reference drug, cisplatin (11.84  $\mu\text{M}$ ). For the complexes **1m-6m** e **1b-**

**6b**, the  $IC_{50}$  values in the prostate cell line (2.89-7.49  $\mu M$ ), despite indicating cell proliferative inhibition, showed lower cytotoxicity than cisplatin (2.00  $\mu M$ ). For breast (2.89-7.49  $\mu M$ ), and lung ( $IC_{50}$ = 0.51-1.83  $\mu M$ ) cell lines, the complexes **1m-6m** e **1b-6b** were notably more active than cisplatin, as also showed expressive selectivity ( $IS$ = 4.66-19.34) toward breast tumor cell line. Base on both activity and selectivity, the complexes **1a**, **5b** e **6b**, as well as their respective analogous complexes in monodentate coordination **1**, **5m** e **6m**, were chosen to continuity of biological investigations in the breast (**5m**, **6m**, **5b** e **6b**) and lung (**1** e **1a**) tumor cell lines. These complexes induced morphology changes in their respective cell lines, were able to inhibit the colony formation, and cell migration. In addition, the complexes promoted cell cycle arrest at Sub- $G_1$  phase and induced apoptosis cell death. Interaction studies carried out by viscosity measurements, electrophoretic mobility and competitive assays suggest the interaction between the complexes and DNA is via minor groove. The complexes also showed high HSA protein affinity ( $K_b$ =  $10^4$ - $10^6$ ). The competitive assay using dansylglycine indicates complexes interaction with HSA site II (subdomain IIIA).

---

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1 - Câncer: aspectos gerais .....	2
1.2 - Metalofármacos na terapia do câncer .....	6
1.2.1 - Complexos organometálicos de rutênio .....	11
1.3 - Ligantes Aciltioureias .....	13
<b>CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS.....</b>	<b>19</b>
2.1 - Objetivo geral.....	20
2.2 - Objetivos específicos .....	20
<b>CAPÍTULO 3 – PARTE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>23</b>
3.1 - Obtenção da atmosfera de Argônio .....	24
3.2 - Solventes .....	24
3.3 - Reagentes químicos em geral .....	24
3.4 -Sínteses .....	24
3.4.1 - Síntese dos ligantes.....	24
3.4.2 - Síntese dos precursores.....	25
3.4.2.1 - Síntese dos precursores $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}_2]_2$ .....	25
3.4.2.2 - Síntese do precursor $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}_2(\text{PPh}_3)]$ .....	25
3.4.3 - Síntese dos complexos $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}(\text{PPh}_3)(\text{Tu-}\kappa\text{S})]\text{PF}_6$ (Série 1- complexos 1 a 5, Série 2- complexos 1m a 6m).....	25



---

3.4.4 - Síntese dos complexos $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{PPh}_3)(\text{Tu-}\kappa\text{S},\text{N})]\text{PF}_6$ (Série 1- complexos 1a e 4a) .....	26
3.4.5 - Síntese dos complexos $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{PPh}_3)(\text{Tu-}\kappa\text{S},\text{O})]\text{PF}_6$ (Série 2- complexos 1b e 6b) .....	26
3.4.5.1 - Rota 1 .....	26
3.4.5.2 - Rota 2 .....	26
3.5 - Instrumentação .....	27
3.5.1 - Condutância Molar .....	27
3.5.2 - Espectroscopia vibracional na região do infravermelho .....	27
3.5.3 - Espectroscopia de absorção eletrônica UV-Vis .....	27
3.5.4 - Análise elementar (C, H, N e S) .....	27
3.5.5 - Espectroscopia de ressonância magnética nuclear .....	27
3.5.6 - Difração de raios X .....	28
3.5.7 - Cálculos teóricos .....	28
3.6 - Avaliação Biológica .....	29
3.6.1 - Cultura celular .....	29
3.6.2 - Ensaio de proliferação celular .....	29
3.6.3 - Morfologia celular .....	30
3.6.4 - Formação de colônias .....	30
3.6.5 - Migração celular .....	31
3.6.5.1 - <i>Wound Healing</i> .....	31

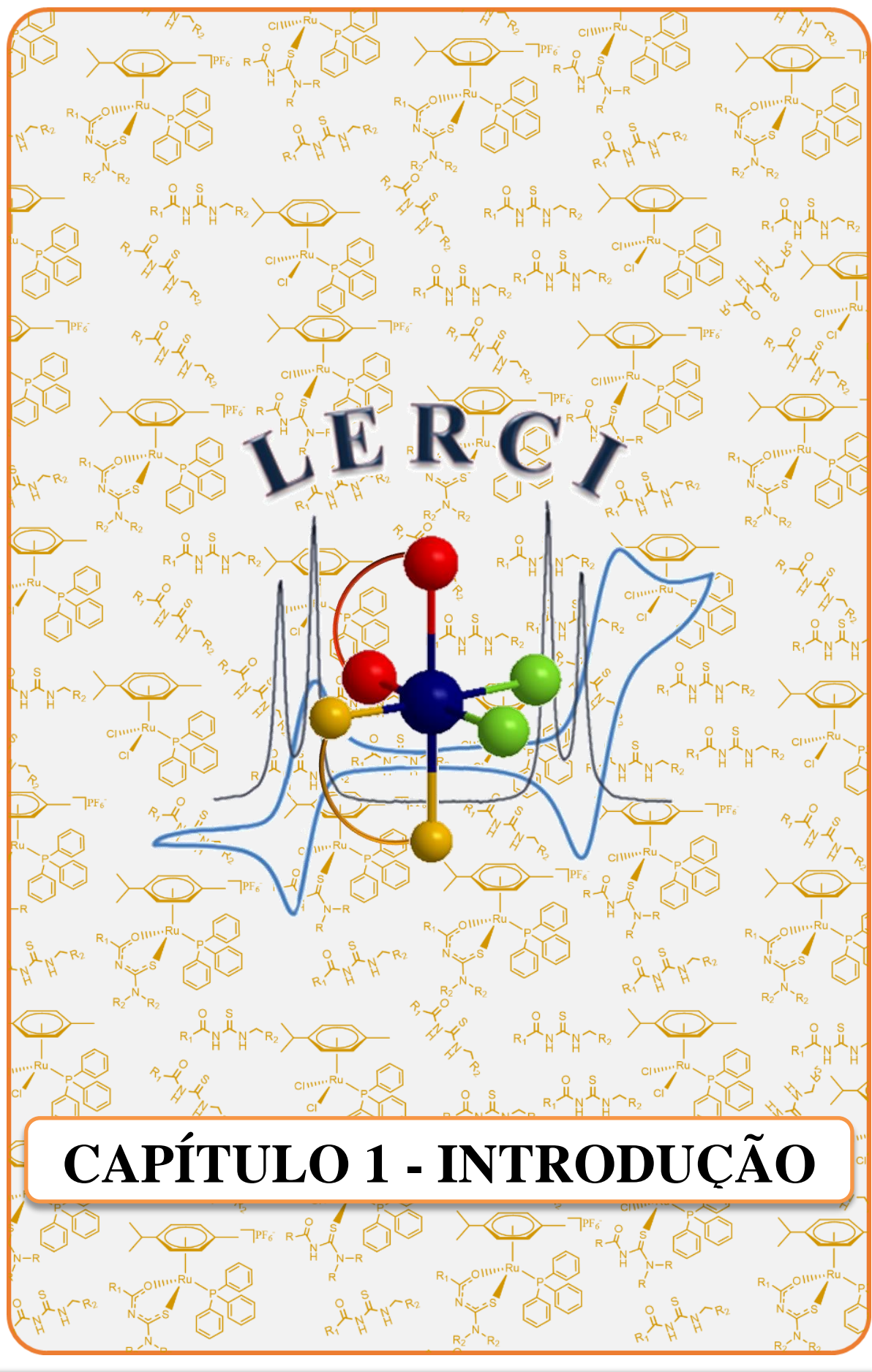
---

---

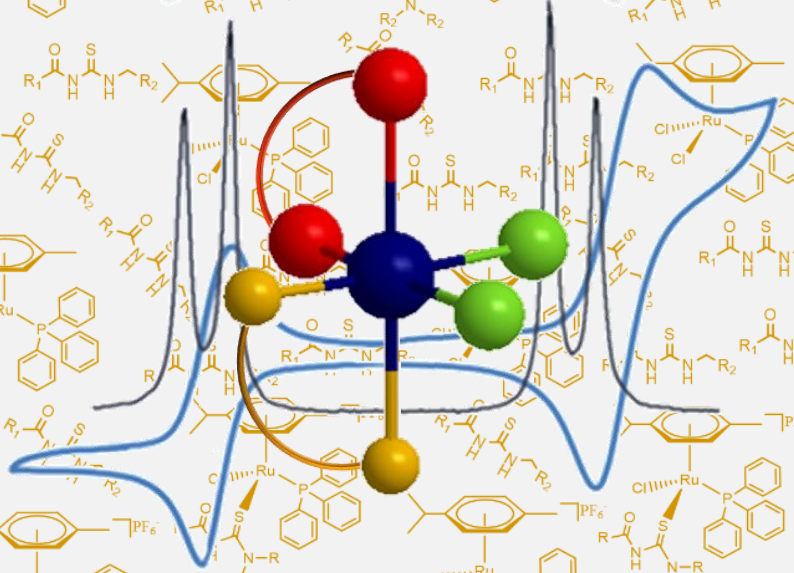
3.6.5.2 - Câmara de Boyden.....	31
3.6.6 - Ciclo celular.....	32
3.6.7 - Apoptose .....	32
3.7 - Estudos de interação dos complexos com o DNA.....	33
3.7.1 - Viscosidade.....	33
3.7.2 -Eletroforese em gel .....	33
3.7.3 - Ensaio de competitividade.....	34
3.8 - Estudo de interação dos complexos com a HSA .....	34
<b>CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
4.1 - Síntese e Caracterização dos Complexos .....	36
4.2- Avaliação Biológica dos Complexos .....	74
4.2.1 - Ensaio de Citotoxicidade .....	74
4.2.2 - Ensaio Morfológico .....	80
4.2.3 - Ensaio de Formação de Colônias.....	82
4.2.4 - Ensaio de Migração Celular.....	83
4.2.5 - Ciclo Celular .....	85
4.2.6 -Apoptose .....	87
4.2.7 - Interação dos complexos com DNA .....	90
4.2.7.1 - Viscosidade.....	91
4.2.7.2 – Eletroforese em gel .....	93
4.2.7.3 - Ensaio de competitividade com o Hoechst 33258.....	95

---

4.2.7.4 - Ensaio de competitividade com o Tiazol Laranja .....	97
4.2.8 - Avaliação da interação dos complexos com HSA.....	99
<b>CAPÍTULO 5 - CONCLUSÕES .....</b>	<b>107</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>107</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>107</b>



LE R C I



**CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO**

Nesta tese se descreve uma investigação acerca de complexos organometálicos de Ru(II) coordenados a ligantes aciltioureas e trifenilfosfina e exploração de seus potenciais citotóxicos. Assim, neste capítulo se discutirá tópicos de relevância do ponto de vista desse estudo.

## **1.1 - Câncer: aspectos gerais**

O câncer é uma doença de impacto global, constituindo um complexo cenário que abrange esferas epidemiológica, social e econômica. Integra o núcleo das doenças e agravos não transmissíveis (DANT) que são responsáveis pela maior parte dos óbitos em escala mundial. No ano de 2008 estimou-se que 21% dos óbitos ocorreram em decorrência do câncer, sendo que estimativas futuras apontam para uma pior tendência, tanto em relação ao número de novos casos, quanto às taxas de mortalidade.<sup>1</sup>

A alta complexidade do câncer relaciona-se a elevados níveis de especificidade, englobando um conjunto de mais de 100 doenças que possuem em comum o crescimento celular desordenado. A origem desse processo, conhecido como carcinogênese, é a mutação genética ocasionada por fatores internos e externos. Se os fatores internos estão relacionados a condições genéticas pré-determinadas, os externos estão associados ao ambiente e ao estilo de vida, compreendendo hábitos e aspectos socioculturais. Assim, a multiplicação celular, que é um processo intrínseco à manutenção da vida, passa a ser um processo desregulado que possibilita a formação de um número indiscriminado de células anormais, que originam os tumores. Tais células são autossuficientes em relação aos sinais de crescimento, são insensíveis a sinais inibitórios de crescimento, capazes de burlar o mecanismo de morte celular e invadir tecidos vizinhos.<sup>2,3</sup>

Os tumores são classificados como benignos e malignos. Tumores benignos caracterizam-se por um crescimento celular, de certa forma mais ordenado com expansão lenta, também não são capazes de invadir tecidos

vizinhos. Já os tumores malignos (Figura 1.1), possuem autonomia quase irrestrita, onde seu crescimento é bem pronunciado, possuindo a capacidade de se infiltrar em tecidos diferentes ao de origem, o que corresponde ao processo de metástase. A metástase é uma severa característica dos tumores malignos que após um estágio inicial, em que a disseminação das células cancerígenas restringe-se a seus tecidos de origem, adquire a capacidade de migrar via corrente sanguínea para diferentes tecidos. O processo metastático é a principal característica do câncer, estando intimamente relacionado às taxas de mortalidade desta doença.<sup>4</sup>

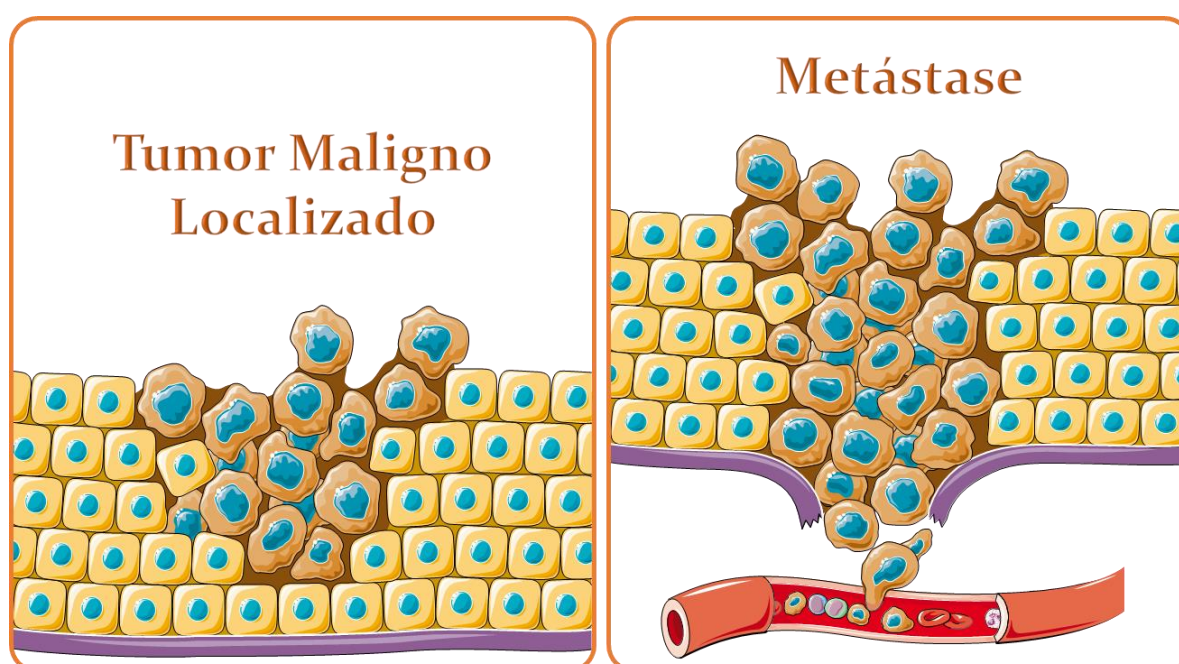


FIGURA 1.1 - Tumores malignos: localizado (estágio inicial do câncer) e a metástase (estágio avançado).

Em âmbito mundial os tipos de câncer mais incidentes compreendem ao de pulmão, mama, intestino e próstata. Considerando o sexo masculino os tipos mais frequentes são pulmão, 16,7% dos casos, e próstata, 15%, enquanto que para as mulheres o câncer de mama é o mais incidente (25,2%). No Brasil esta tendência é mantida, estimando-se para os anos de 2018-2019 a ocorrência de mais de 600 mil novos casos anualmente, sendo os cânceres de próstata, pulmão e mama feminina os mais incidentes.<sup>1</sup>

O câncer de próstata é o segundo tipo mais incidente entre o sexo masculino no mundo, enquanto que no Brasil é o tipo mais frequente. De modo geral, é um tipo com bom prognóstico, entretanto, taxas de mortalidade são maiores em países de baixa renda, quando comparado a países de alta renda. O avanço da idade (acima de 50 anos) e histórico familiar são os principais fatores associado a este tipo de câncer. Os subtipos de câncer de próstata mais recorrentes são o adenocarcinoma, sarcoma, carcinoma e o tumor endócrino que corresponde ao subtipo mais raro e mais agressivo.<sup>1</sup>

O câncer de pulmão é um dos tipos mais agressivos, tendo como consequência sua alta taxa de mortalidade, que corresponde cerca de 90% dos casos incidentes. Tal letalidade associa-se ao diagnóstico tardio, uma vez que os sintomas geralmente não são manifestados no estágio inicial da doença. O tabagismo está intimamente relacionado a esse tipo de câncer, sendo a causa de 85% dos casos diagnosticados e por este motivo tornou-se uma das principais causas de mortes evitáveis do mundo todo. A neoplasia de pulmão subdivide-se em duas principais classes: os carcinomas de células pequenas e os carcinomas de células não pequenas. Nesta última classe estão incluídos o adenocarcinoma, o carcinoma de células escamosas e o carcinoma de grandes células.<sup>1,5</sup>

O câncer de mama é o tipo mais incidente em mulheres, sendo também a principal causa de morte entre elas devido a câncer, com taxas que representam 14,7% dos óbitos. Um conjunto de fatores apresenta influência neste tipo de câncer, a destacar: herança genética, sexo feminino, idade superior a 45 anos, menarca precoce, nuliparidade, menopausa tardia, uso prolongado de anticoncepcionais, terapias de reposição hormonal, sedentarismo, alcoolismo dentre outros. Muitos são os subtipos de câncer de mama que compreendem ao ductal ou lobular nas formas *in situ* (não invasiva) e invasiva e o câncer de mama “triplo negativo”, onde tal nomenclatura se deve à ausência de receptores de estrogênio (RE), progesterona (RP) e proteínas associadas ao crescimento tumoral



---

(HER-2). O câncer de mama triplo negativo é o subtipo mais agressivo apresentando as maiores taxas de mortalidade, também é altamente metastático.<sup>1,6</sup>

As principais formas de tratamento do câncer baseiam-se na cirurgia, radioterapia e quimioterapia, mas avanços científicos e tecnológicos têm possibilitado a utilização de novas modalidades terapêuticas como a terapia alvo. A etapa de diagnóstico é particularmente determinante na eficácia do tratamento, onde de modo geral, o diagnóstico precoce está intimamente correlacionado ao processo curativo da doença. Assim, a depender do estágio e tipo de câncer o tratamento pode se restringir a um único procedimento ou a uma combinação deles. Mas atualmente, a combinação de terapias são as formas de tratamento mais empregadas.

A cirurgia é um tratamento efetivo para tumores localizados, os quais encontram-se em estágio anterior à metástase. Também indicada ao tratamento de tumores locais, a radioterapia trata-se da irradiação de uma área alvo do organismo. Esta modalidade pode ser empregada objetivando a cura do paciente, a diminuição do tumor ou a erradicação de focos de tumores microscópicos, e ainda a um tratamento paliativo destinado à minimização de sintomas vinculados à doença.<sup>3,7</sup>

A quimioterapia é um tratamento sistêmico com maior efetividade, uma vez que é adequado tanto para tumores localizados, quanto para metastáticos. Os medicamentos utilizados nesta modalidade são conhecidos como quimioterápicos, os quais são administrados, geralmente, por via oral ou intravenosa. Assim como na radioterapia, a quimioterapia pode ser utilizada em várias etapas do tratamento com o intuito de curar, melhorar a sobrevida ou promover efeito paliativo. Apesar dos avanços alcançados em diversas formas de tratamento, um velho empecilho é recorrente, os severos efeitos colaterais causados pelo uso de quimioterápicos e aquisição de resistência ao longo do



tratamento, são os principais limitantes, sobretudo para o tratamento quimioterápico, o qual é o mais abrangente.<sup>7</sup>

## 1.2- Metalofármacos na terapia do câncer

Apesar da química inorgânica medicinal ser uma área recente do conhecimento, a utilização de metais em porções farmacêuticas remete à antigas civilizações da Mesopotâmia, Egito, Índia e China. Mas o composto de maior destaque, o qual se tornou símbolo desta área do conhecimento é o cisplatina. As propriedades anticâncer do cisplatina foi descoberta acidentalmente, em 1965, enquanto Barnett Rosenberg e Loretta VanCamp estudavam o efeito de uma corrente elétrica em bactérias *Escherichia coli*. O que se descobriu foi que o composto diaminodicloridoplatina(II), cisplatina (Figura 1.2) inibiu a divisão celular destas bactérias e posteriormente as investigações permitiram verificar que tal propriedade se estendia à células tumorais. Estudos mais avançados foram realizados culminando na aprovação do uso clínico do cisplatina, pela FDA (*Food and Drug Administration*) em 1978. Assim, o cisplatina foi o primeiro agente medicinal à base de metal a entrar em uso clínico mundial para o tratamento do câncer.<sup>8</sup>

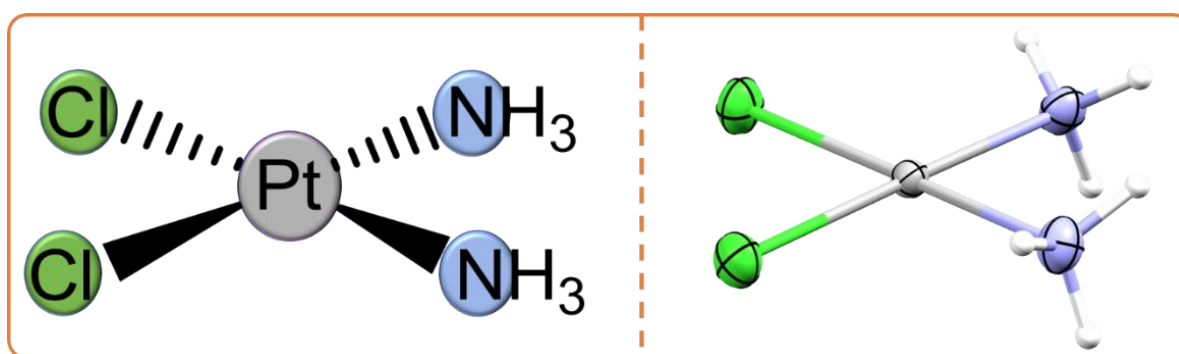


FIGURA 1.2 - Estrutura química do composto cisplatina, diaminodicloridoplatina(II).

Desde sua aprovação o cisplatina tem sido utilizado sozinho ou combinado com outras drogas, no tratamento quimioterápico de primeira linha,

estando associado ao tratamento de câncer de bexiga, cervical, pulmão, ovário, testículo, bem como carcinomas de cabeça e pescoço.<sup>9</sup> Especificamente, no que tange ao câncer de testículo, após a utilização do cisplatina como quimioterápico, a taxa de cura deste câncer saltou de 10% para em torno de 90%.<sup>10</sup> O cisplatina também pode estar associado ao tratamento de outros tipos de câncer, nos quais o tratamento indicado para a primeira linha não obtiveram resultados satisfatórios. Assim, estima-se que 70% de todos os pacientes com câncer fazem uso do cisplatina em seus tratamentos.<sup>11</sup>

É bem aceito que a atividade antitumoral do cisplatina está relacionada à sua interação com o DNA. Esse processo é iniciado por reações de hidrólise que ocorrem em meio intracelular. Sabe-se que na corrente sanguínea a concentração de íons cloretos é elevada, o que mantém o cisplatina em sua estrutura original. Entretanto, no interior da célula a concentração dos íons cloretos diminui drasticamente (3-4 mM), o que favorece a aquação do composto, como demonstrado na Figura 1.3. Após a permeação no núcleo celular, as moléculas de água são labilizadas para a formação de ligações covalentes entre a  $Pt^{2+}$ , e mais especificamente ao N-7 da guanina (G) ou adenina (A) (bases nitrogenadas do DNA) (Figura 1.3). Tais adutos estão diretamente relacionados às respostas fisiológicas que ocasionam a parada do ciclo celular, reparo do DNA e apoptose.<sup>8</sup>

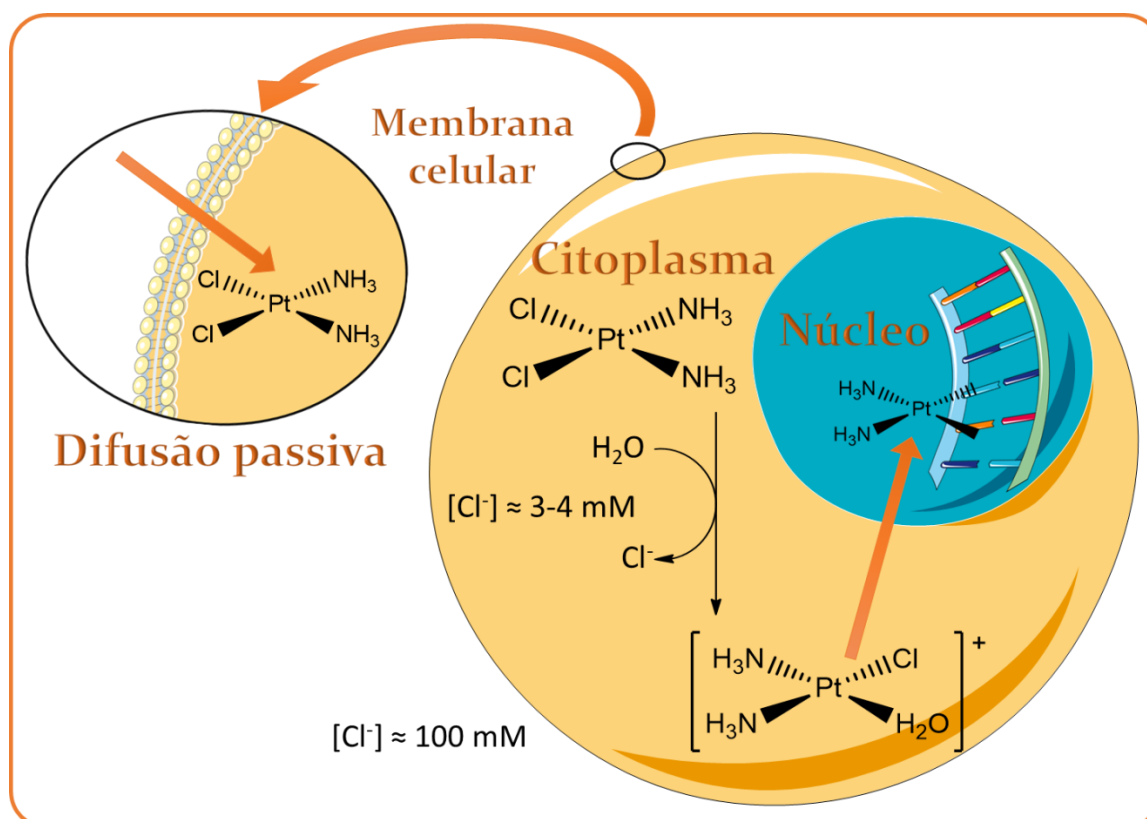


FIGURA 1.3 - Esquema representativo do modo de ação proposto para o cisplatina (adaptado de BENEDETTI <sup>12</sup>).

Mas apesar do inquestionável avanço na terapia do câncer, com metalofármacos, desencadeado pelo cisplatina, uma série de efeitos colaterais e a aquisição de resistência, problemas que não são exclusivos deste composto, têm limitado consideravelmente o tratamento da doença. Nesse âmbito, pesquisas pautadas na busca por metalodrogas mais efetivas têm despertado interesse da comunidade científica. Nesse sentido, uma segunda geração de compostos de platina, carboplatina e oxaliplatina, também foi aprovada pela FDA (Figura 1.4). Em uma linha similar os compostos nedaplatina, lobaplatina e heptaplatina encontram-se na etapa de ensaios clínicos nos Estados Unidos, mas estão em uso clínico no Japão, China e Coreia do Sul, respectivamente (Figura 1.4). Novas formulações de nanopartículas de lipossomos de cisplatina (lipoplatina) e oxaliplatina (lipoxal) reduzem significativamente as reações adversas dos respectivos medicamentos, estando também em fase de ensaios clínicos. A

satraplatina (Figura 1.4), composto com núcleo de platina (IV), tem como principal vantagem sua disponibilidade oral, que permite sua administração via oral, sendo um procedimento mais confortável para pacientes além do custo mais baixo.<sup>13</sup>

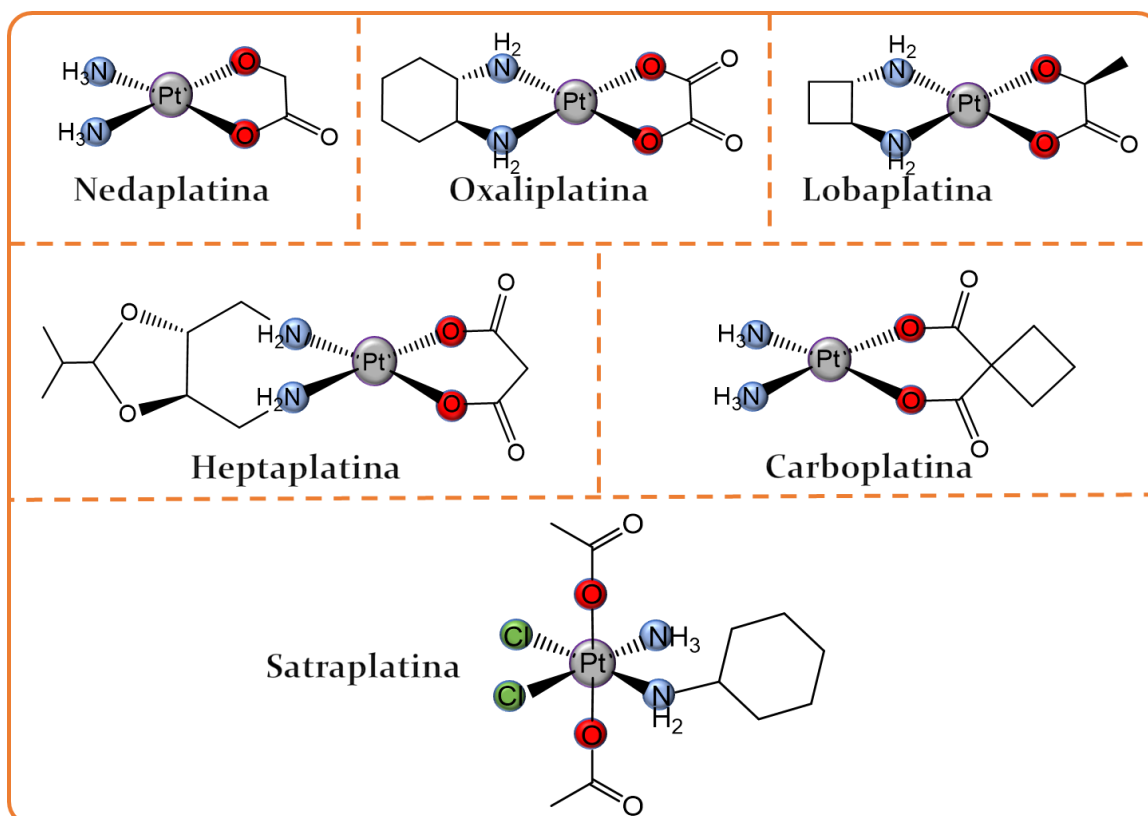


FIGURA 1.4 - Estruturas químicas de compostos à base de platina relacionados à terapia do câncer.

É evidente que um maior número de investigações, no cenário de desenvolvimento de quimioterápicos, está pautado na platina, mas pesquisas com complexos com outros centros metálicos, como o rutênio, também tem recebido considerável atenção. Por apresentar propriedades químicas similares ao ferro, metal que desempenha inúmeras funções biológicas, investigações com rutênio foram impulsionadas visando a obtenção de compostos com menor toxicidade e estabilidade em relação à complexos não só à base de platina.

Os dois compostos de rutênio que promoveram considerável destaque para estudos com rutênio, são o NAMI-A, (Him)[RuCl<sub>4</sub>(DMSO)(Him)] (Him=imidazol) e o KP1019, (indH)[*trans*-RuCl<sub>4</sub>(ind)<sub>2</sub>] (ind=indazol), os quais alcançaram a etapa de ensaios clínicos (Figura 1.5). Ambos compostos foram inspirados pelo complexo KP418 (Figura 1.5), o qual teve seu estudo divulgado por Keppler e colaboradores na década de 80, que evidenciou sua atividade terapêutica contra leucemia de murinho e melanoma.

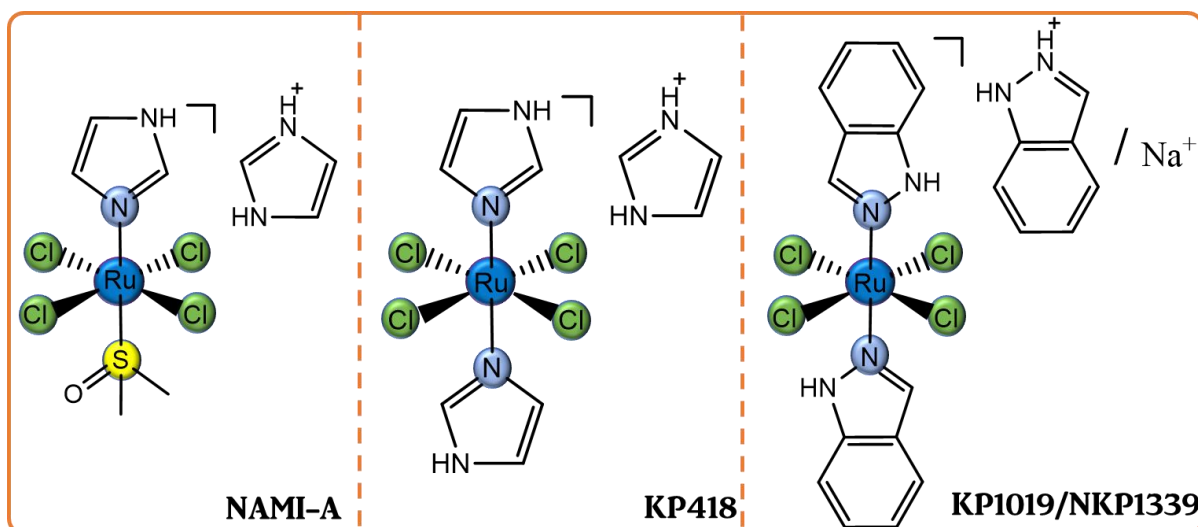


FIGURA 1.5 - Estruturas químicas de compostos de rutênio: NAMI-A, KP418 e KP1019/NKP1339.

Os primeiros estudos relatando as propriedades anticâncer do complexo NAMI-A datam de 1992. A característica principal desse composto é sua excelente atividade e seletividade contra tumores metastáticos. Resultados baseados em estudos de modelos *in vivo* evidenciaram significativa redução de metástase pulmonar, alcançando redução de até 100%. Assim, sua atividade aliada à sua baixa toxicidade foram descobertas particularmente interessantes, já que um dos maiores desafios do tratamento do câncer concentra-se no processo de metástase. Investigações com o NAMI-A prosseguiram até a etapa II de ensaios clínicos.<sup>14,15</sup>

O composto KP1019 mostrou pronunciada atividade contra câncer de colón. Em modelos animais, o tratamento com KP1019 promoveu eficácia com redução de até 95% do volume tumoral, sem ocasionar mortalidade. Seu mecanismo de ação, de forma similar ao NAMI-A, envolve a etapa de ativação do composto no meio intracelular que compreende a redução do Ru(III) para Ru(II). Uma das principais limitações que dificultou o prosseguimento da realização de estudos na etapa I de ensaio clínico se desencadeou em torno da solubilidade do composto. Desta forma, visando à continuidade dos testes o composto NKP-1339,  $\text{Na}[\text{RuCl}_4(\text{ind})_2]$ , (Figura 1.5), análogo ao KP1019, foi sintetizado. A substituição do contraíon imidazol pelo íon sódio conferiu ao NKP-1339 significativo aumento da solubilidade, quando comparado à apresentada pelo KP1019.<sup>16,17</sup> Os estudos clínicos fase I do NKP-1339 foram completados satisfatoriamente contra tumores sólidos, mas a terapia combinatória segue como uma das vertentes a ser investigada.<sup>18,19</sup>

### 1.2.1 - Complexos organometálicos de rutênio

A química organometálica se desenvolveu consideravelmente após a elucidação estrutural do ferroceno, na década de 1950.<sup>20</sup> A partir daí, houve a inserção das terminologias “sanduíche” e “semi-sanduíche” na área, que permitiu classificar os complexos onde o metal liga-se paralelamente a dois anéis planos (sanduíche) ou a apenas um (semi-sanduíche). Nesses complexos a ligação é estabelecida através dos orbitais  $\pi$  e  $\pi^*$  do anel aromático com orbitais apropriados do metal. Considerando os ligantes que apresentam o anel de seis membros em suas estruturas, arenos, os números de ligações possíveis são  $\eta^2$ ,  $\eta^4$  ou  $\eta^6$ , sendo descritas pela notação hapto ( $\eta$ ).<sup>21</sup> Tratando especificamente aos complexos Ru(II)-areno, a ligação é mantida pela ligação  $\sigma$ , formada pela interação dos orbitais moleculares  $\pi$  ligantes cheios, do areno, com o orbital  $\sigma$  aceitador, vazio, do Ru. E devido os arenos serem ligantes  $\pi$ -ácido/ $\pi$ -aceptores, a

retrodoação  $\pi$  da ligação compreende a interação de um orbital  $4d^6$  do metal com o orbital  $p\pi^*$ , vazio, do areno.

Particularmente, para pesquisas focadas em metalofármacos com aplicabilidade no câncer, os compostos organometálicos Ru(II)-areno tem sido identificados como uma promissora classe de compostos. O primeiro estudo de um metal de transição-areno com atividade citotóxica foi reportado por Tocher e colaboradores em 1992.<sup>22</sup> Nesse estudo, o antibiótico metronidazol foi incorporado como ligante para a formação do complexo  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-benzenoCl}_2(\text{metronidazol}))]$  (Figura 1.6), o qual apresentou citotoxicidade e seletividade superiores ao metronidazol livre. Entretanto, estudos futuros com este composto não foram divulgados. Uma nova perspectiva para os compostos de rutênio vem sendo estabelecida pelos grupos de pesquisa dos Professores Dyson e Sadler. Suas investigações são pautadas em complexos organometálicos semi-sanduíches de Ru(II)-areno, onde as séries RAPTA e RAED tem apresentado resultados animadores.<sup>23</sup>

Os compostos da série RAED,  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-areno)Cl(en)}]^+$ , (Figura 1.6) tem em comum o ligante etilenodiamina (en) e apresentam citotoxicidade em diversos tipos de linhagens celulares que incluem cisplatina resistentes. Já a série RAPTA, descrita por Dyson *et. al*, caracteriza-se pela estrutura “piano-stool”, onde três dos seis sítios de coordenação do rutênio são ocupados por  $\eta^6$ -areno, tal ligante confere alta estabilização do estado de oxidação do Ru(II). Outro sítio é ocupado pelo ligante PTA (1,3,5-triaza-7-fosfoadamantano), que desempenha fundamental papel na solubilidade dos compostos desta série, e o sítio remanescente é ocupado, normalmente, por ligantes lábeis como o cloro. Desta série o composto RAPTA-C,  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno)Cl}_2(\text{PTA})]$  (Figura 1.6), se destaca apresentando similaridades ao NAMI-A; ambos apresentam baixa citotoxicidade *in vitro*, mas são capazes de inibir metástase em ensaios *in vivo*. Estudos realizados com carcinoma de ovário humano (A2780) apontaram que o RAPTA-

C inibiu o desenvolvimento do tumor em 75% e ainda revelou alta atividade antiangiogênica. Além disso, estudos *in vivo* não evidenciaram toxicidade associada a tratamentos com o RAPTA-C. Também, resultados muito promissores têm sido obtidos a partir de estudos combinatórios do RAPTA-C com outras drogas já aprovadas.<sup>23,24</sup>

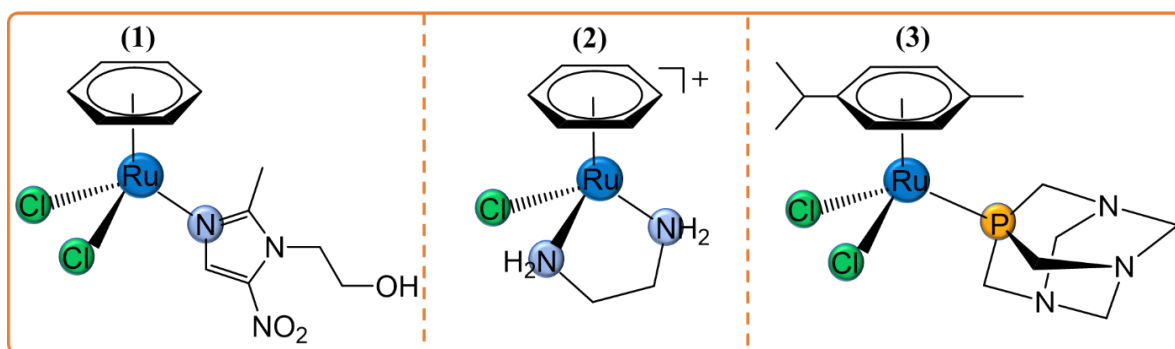


FIGURA 1.6 - Estruturas químicas de compostos organometálicos Ru(II)-areno:

- 1)  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-benzeno})\text{Cl}_2(\text{metrodonidazol})]$ ; 2)  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-benzeno})\text{Cl}(\text{en})]^+$ , representante da série RAED; 3) RAPTA-C, representante da série RAPTA.

O mecanismo de ação de complexos Ru(II)-areno envolve, de maneira geral, a reação de hidrólise da ligação Ru-X para a formação de espécies Ru-OH<sub>2</sub>. Similarmente ao processo de hidrólise do cisplatina, a aquação ocorre em meio intracelular, consistindo em uma via de ativação seletiva. Assim como para a grande parte das metalodrogas com atividade antitumoral, o DNA é o alvo primário para os complexos Ru(II)-areno, e a interação complexo-DNA pode ser estabelecida por ligações covalentes, preferencialmente ao N7 da guanina. Entretanto, ligações não covalentes tais como ligações de hidrogênio e intercalação são também especialmente importantes para esta classe de complexos.<sup>25</sup>

### 1.3- Ligantes Aciltioureias

A classe de compostos das aciltioureias, que corresponde a um dos derivados das tioureias, tem como requisito estrutural a presença de uma carbonila



ligada ao cerne da tioureia,  $-\text{C}(\text{O})\text{NC}(\text{S})\text{N}-$ , como mostrado na Figura 1.7. Uma infinidade de substituintes (R) pode ser conectada na estrutura principal, permitindo uma enorme diversidade de compostos. A depender dos substituintes, as aciltioureias são classificadas como monossubstituídas ou dissustituídas. Esta classe de compostos é bem estabelecida na literatura, sendo que o primeiro relato de síntese data a mais de um século.<sup>26</sup> Entretanto, um vasto leque de aplicações das aciltioureias tem despertado o interesse científico de muitos pesquisadores, justificando o considerável número de publicações recentes, compreendendo tais compostos. Suas aplicações englobam uma grande variedade de áreas a se destacar: medicina, agricultura, química e ciência de materiais.<sup>27-29</sup>

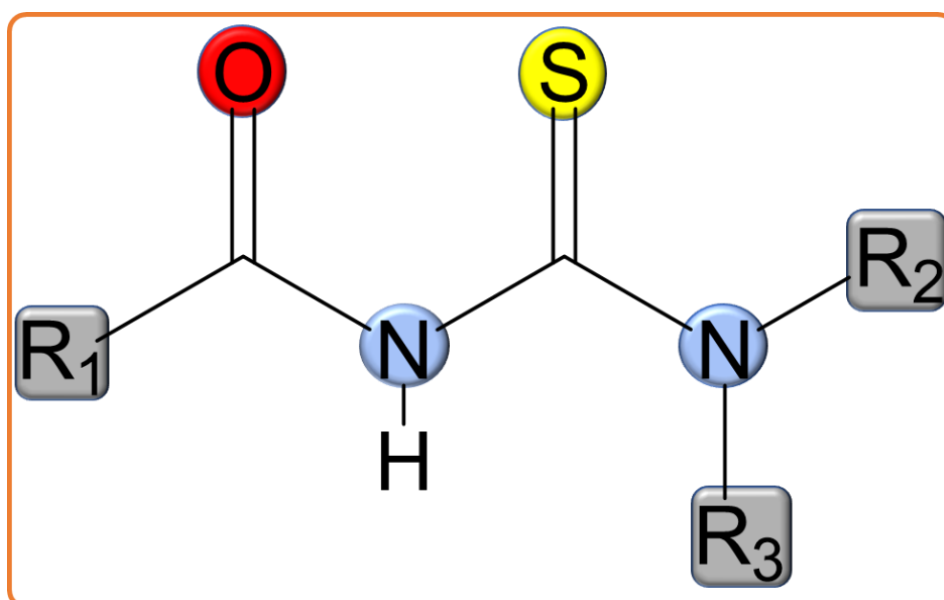


FIGURA 1.7 - Estrutura básica dos compostos aciltioureias.

No que tange à química de coordenação, as aciltioureias podem atuar como ligantes versáteis, uma vez que em sua estrutura há a presença de diferentes átomos doadores de elétrons, O, N e S. As aciltioureias são capazes de assumir diferentes formas como ligantes, incluindo a neutra, monoaniônica e bianiônica. Como decorrência de tais características, variados modos de coordenação com diferentes centros metálicos são relatados para esta classe de compostos: 1) coordenação (aniônica) bidentada, via átomos de O e S;<sup>30</sup> 2) coordenação (neutra) monodentada, via átomo de S;<sup>31</sup> 3) coordenação (neutra) monodentada, via átomo

de N;<sup>32</sup> 4) coordenação (aniônica) bidentada, via átomos de O e N;<sup>33</sup> 5) coordenação (aniônica) bidentada, via átomos de O e S, e em ponte (aniônica) via átomo de N;<sup>34</sup> 6) coordenação (aniônica) bidentada, via átomos de S e N.<sup>35</sup>

Uma das vertentes de investigações do nosso grupo de pesquisa, Laboratório de Estrutura e Reatividade de Compostos Inorgânicos (LERCI), baseia-se em estudos que compreendem a síntese, caracterização e aplicação de complexos metálicos coordenados a ligantes de interesse biológico, como a classe das aciltioureas. Nesse sentido, diferentes complexos de Pd(II) coordenados aos ligantes bis(difenilfosfina)ferroceno (dppf) e aciltioureas dissubstituídas, demonstraram resultados promissores contra tuberculose e Chagas.<sup>36</sup> Todos os compostos sintetizados apresentaram atividade consideravelmente superior aos respectivos ligantes aciltioureas livres, bem como para as drogas de referência de ambas as doenças. Complexos similares de Pt(II) também foram avaliados *in vitro* contra *M. tuberculosis* H37Rv, onde a atividade dos mesmos foram comparáveis a agentes comumente utilizados para o tratamento da tuberculose.<sup>37</sup> Estudos realizados com compostos de Pd(II) com ligantes, trifenilfosfina (PPh<sub>3</sub>) e aciltioureas, evidenciaram satisfatórios resultados para diferentes linhagens tumorais, DU-145 (câncer de próstata) e MDA-MB-231 (câncer de mama). O complexo com o substituinte furoil do ligante aciltiourea foi o mais ativo e seletivo da série de compostos, indicando que substituintes que apresentam átomos doadores não coordenado podem ter influência na atividade.<sup>38</sup>

Mas, a maior parte das investigações do LERCI foca em complexos de rutênio. Diferentes ligantes aciltioureas (Tu) compuseram os complexos com fórmula geral [Ru(bipy)(Tu)(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, onde bipy= 2,2'-bipiridina (Figura 1.8). Nos ensaios *in vitro* os complexos demonstraram expressiva citotoxicidade em linhagens de câncer de pulmão (IC<sub>50</sub>= 0,28-0,93 μM) e próstata (IC<sub>50</sub>= 0,22-0,46 μM). O composto mais ativo, com o substituinte benzoil, na linhagem de pulmão, foi em torno de 50 vezes mais ativo do que o fármaco de referência, cisplatina.

Além disso, todos os complexos apresentaram maior atividade do que os respectivos ligantes livres.<sup>39</sup> Tal observação vem sendo constatada repetidamente em nossas investigações, o que nos permite afirmar que a complexação dos ligantes potencializa suas atividades. Complexos de Ru(II) coordenados a ligantes bifosfínicos, bipyridínicos e aciltioureas, com forma geral  $[\text{Ru}(\text{bipy})(\text{dppb})(\text{Tu})]\text{PF}_6$  (Figura 1.8) também seguiram a mesma tendência, sendo significativamente mais ativos do que a cisplatina e os ligantes livres.<sup>40</sup>

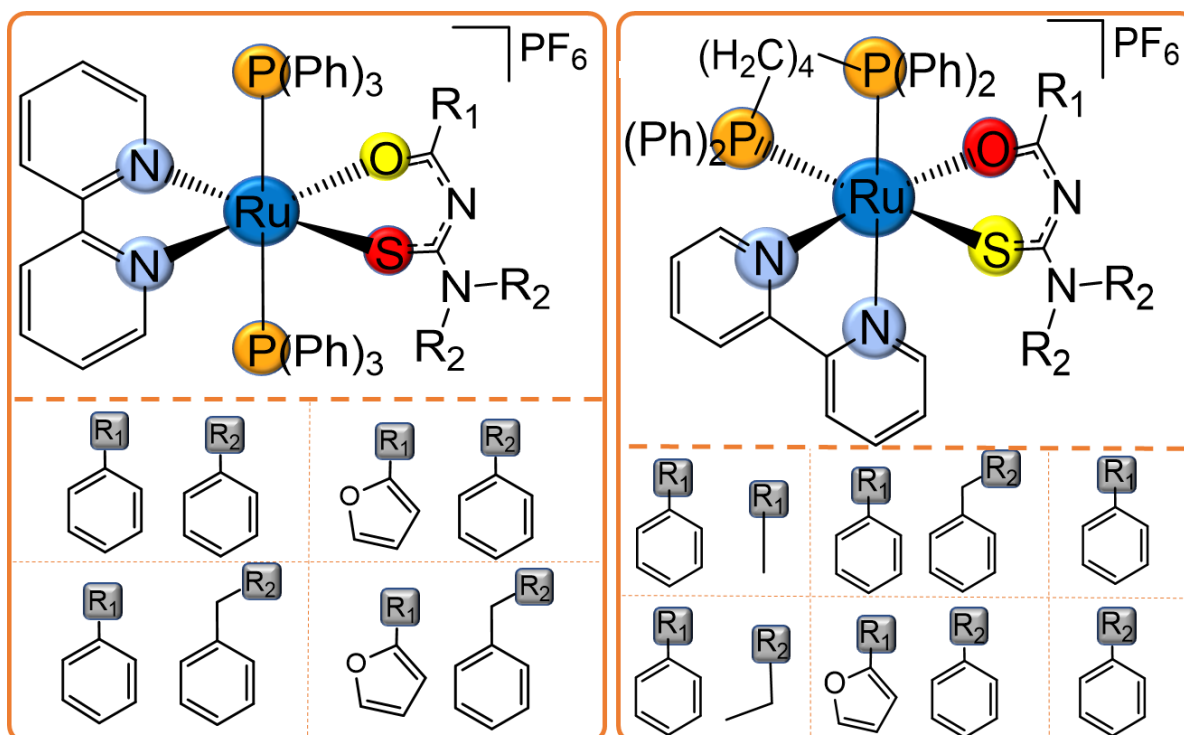


FIGURA 1.8 - Complexos de rutênio com atividade antitumoral.

De modo geral, todos os compostos coordenados a aciltioureas estudados pelo LERCI exibem o modo de coordenação bidentado, via átomos de enxofre e oxigênio, o qual é o modo mais comum dessa classe de ligantes. Mas o distinto modo de coordenação monodentado (S), bem como o bidentado (S,O) foram observados em complexos Ru(II)-areno coordenados a aciltioureas monossustituídas e dissustituídas, respectivamente (Figura 1.9). A citotoxicidade dos complexos foi avaliada frente à linhagens tumorais de mama e pulmão, e apesar dos compostos apresentarem maior atividade do que os ligantes

livres e o precursor, em geral, não superaram a citotoxicidade do fármaco de referência, cisplatina (Tabela 1.1).<sup>41</sup>

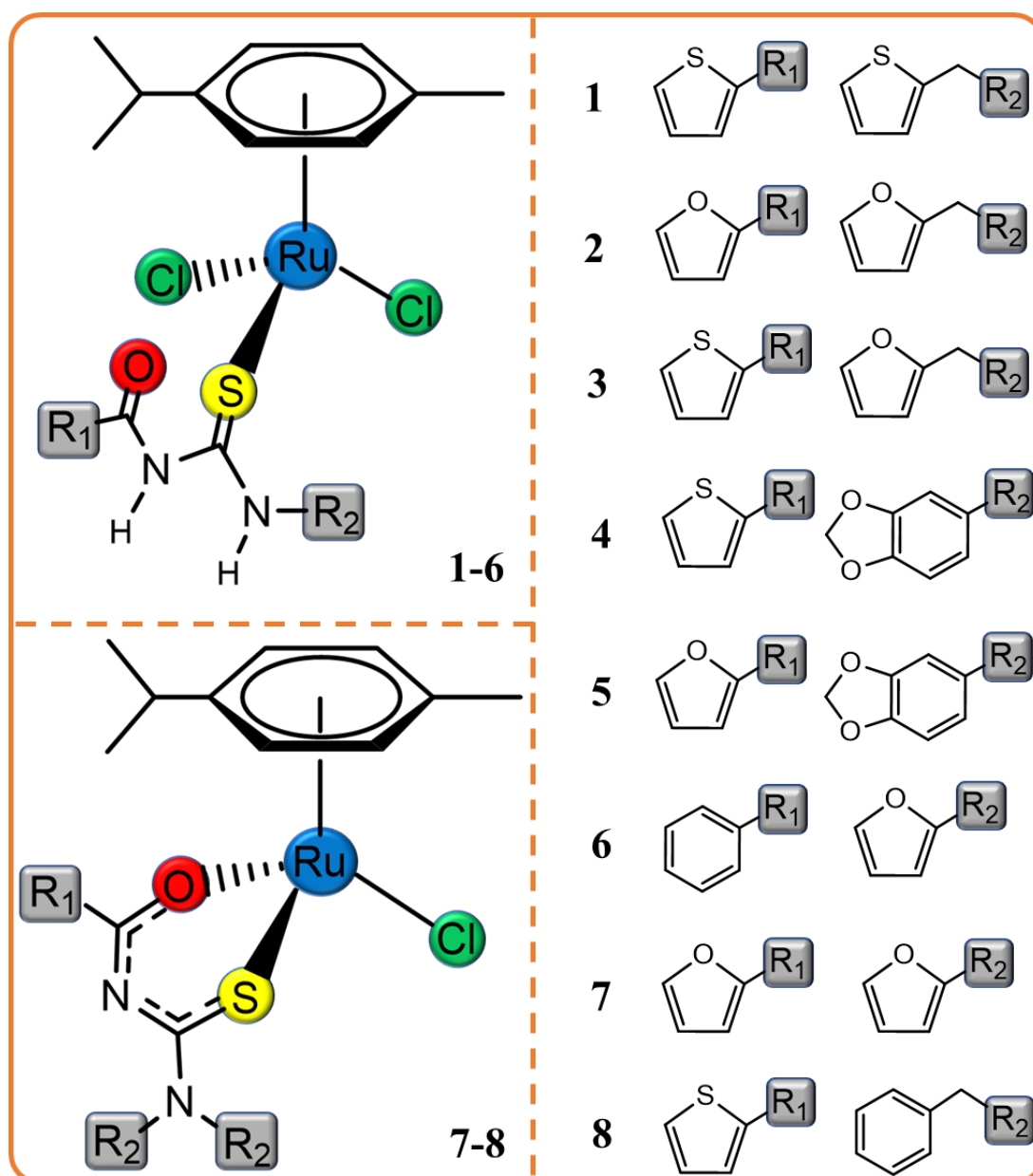


FIGURA 1.9 - Complexos Ru(II)-areno com atividade antitumoral.

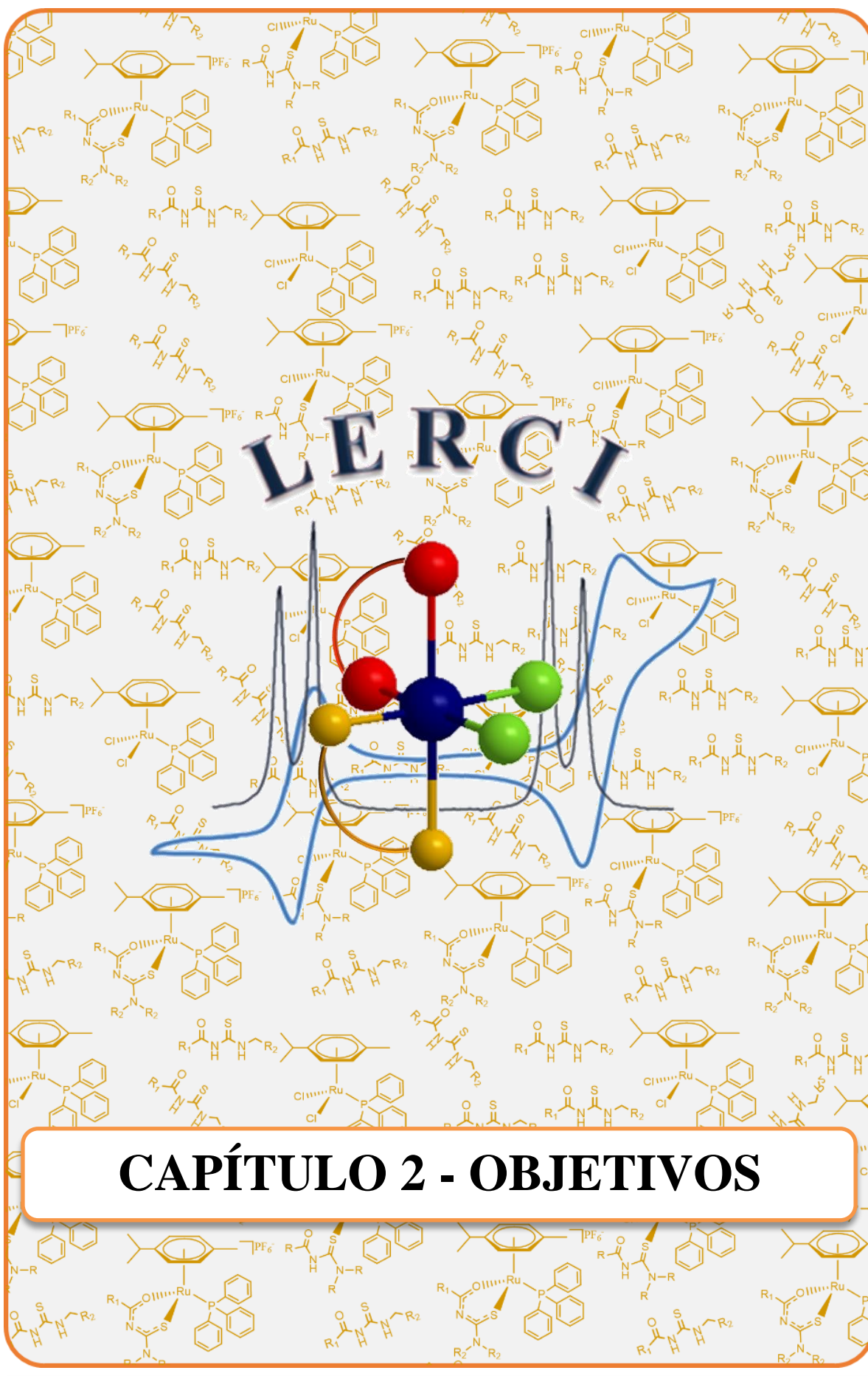
TABELA 1.1 – Valores de IC<sub>50</sub> (μM) de complexos Ru(II)-areno nas linhagens tumorais humanas de pulmão (A549) e mama (MDA-MB-231).

Compostos	A549	MDA-MB-231
<b>1</b>	44,2 ± 2,4	11,9 ± 0,8
<b>2</b>	38,0 ± 4,9	8,1 ± 0,7
<b>3</b>	45,3 ± 1,9	12,4 ± 1,2
<b>4</b>	44,1 ± 2,0	37,1 ± 1,6
<b>5</b>	22,6 ± 1,0	6,2 ± 0,7
<b>6</b>	25,4 ± 0,6	6,6 ± 0,9
<b>7</b>	10,8 ± 0,8	5,8 ± 0,8
<b>8</b>	16,1 ± 0,7	5,9 ± 1,2
<b>Ligantes 1-8</b>	>100	>100
<b>Precursor</b>	>100	>100
<b>Cisplatina</b>	14,4 ± 1,4	2,4 ± 0,2

Os complexos organometálicos investigados pelo LERCI apresentaram citotoxicidade menos pronunciada, quando comparado aos demais complexos, que incluem tanto o rutênio como outros centros metálicos. Entretanto, a coordenação do ligante fosfínico estava presente nos demais complexos. Tal observação nos instiga a continuar o estudo com o sistema organometálico com ligantes aciltioureias, bem como com o ligante fosfínico, que parece indicar considerável influência na atividade citotóxica dos compostos de coordenação, permitindo-nos assim uma melhor compreensão da atividade de tais complexos.

# LE RCI

## CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS



## 2.1 - Objetivo geral

A fim de aprofundar nossos conhecimentos no âmbito da classe de compostos das aciltioureas e verificar a influência do ligante fosfínico na atividade biológica, este trabalho visou estudar as propriedades estruturais e biológicas de complexos Ru(II)-areno coordenados tanto a aciltioureas monossustituídas, quanto dissustituídas. Assim, o objetivo principal deste trabalho foi sintetizar e caracterizar novos complexos organometálicos de rutênio(II) coordenados a ligantes aciltioureas (subdivididos em duas séries, 1-aciltioureas monossustituídas e 2-aciltiourea dissustituídas) e a trifenilfosfina, bem como avaliar suas propriedades citotóxicas frente à diferentes linhagens celulares. Estudar as possíveis interações dos complexos com biomoléculas e o mecanismo de morte celular ocasionado por eles também foram focos deste trabalho.

## 2.2 - Objetivos específicos

Para alcançar o objetivo geral foram cumpridos os seguintes objetivos específicos:

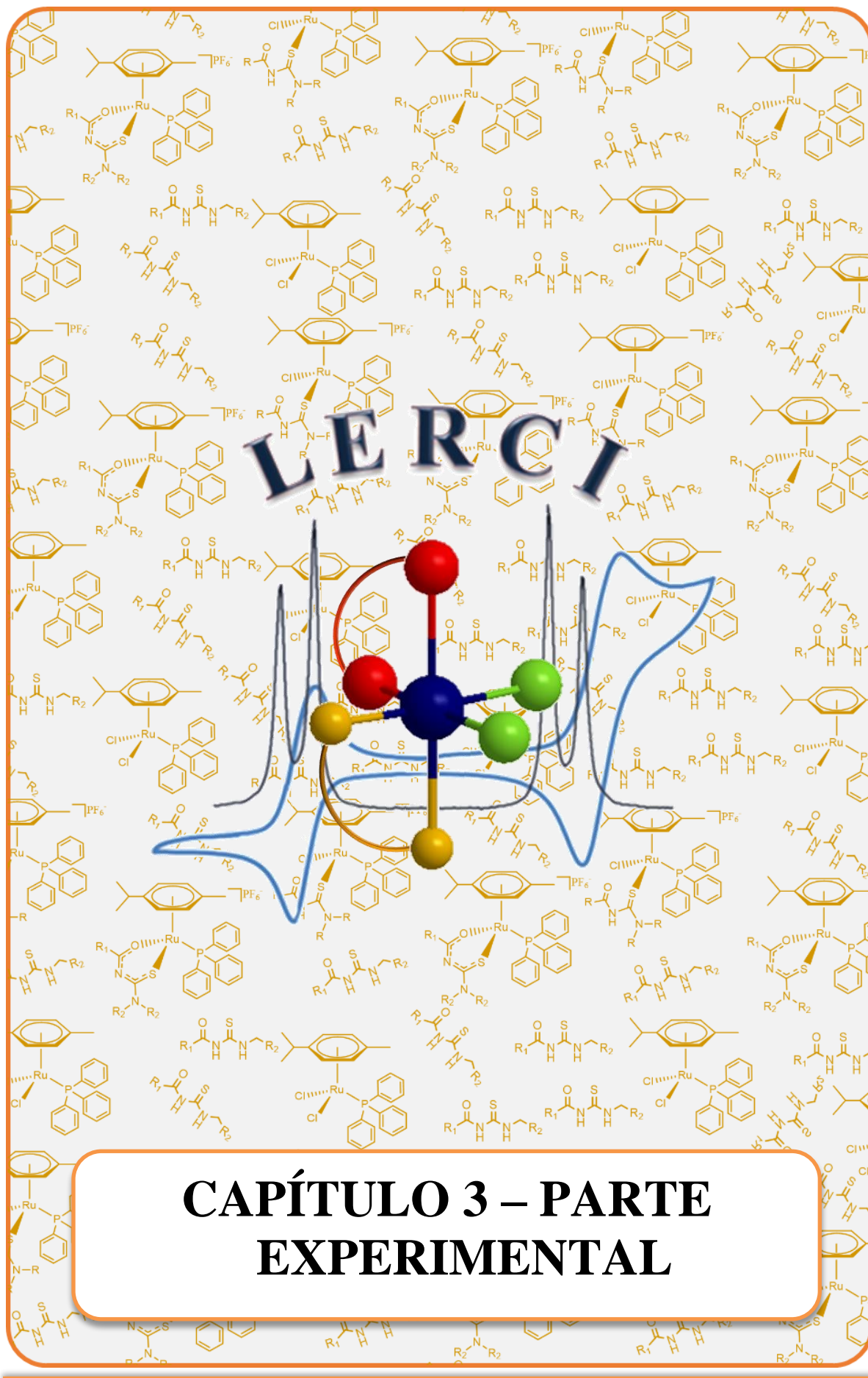
- Sintetizar os complexos de fórmula geral  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}(\text{PPh}_3)(\text{Tu})]\text{PF}_6$  e  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{PPh}_3)(\text{Tu})]\text{PF}_6$  onde  $\text{PPh}_3$ = trifenilfosfina e  $\text{Tu}$ = *N*-(metilfuroil)-*N'*-2-furoiltiourea (**1** e **1a**);  $\text{T}$ = *N*-(metiltiofenil)-*N*-2-tiofeniltiourea (**2**); *N*-(metilfuroil)-*N'*-2-furoiltiourea; *N*-(metilfuroil)-*N'*-2-tiofeniltiourea (**3**); *N*-(metil-1,3-benzodioxolil)-*N'*-2-furoiltiourea (**4** e **4a**); *N*-(metil-1,3-benzodioxolil)-*N'*-2-tiofeniltiourea (**5**); *N,N*-(dimetil)-*N'*-benzoiltiourea (**1m** e **1b**); *N,N*-(dietil)-*N'*-benzoiltiourea (**2m** e **2b**); *N,N*-(dimetil)-*N'*-2-furoiltiourea (**3m** e **3b**); *N,N*-(dietil)-*N'*-2-furoiltiourea (**4m** e **4b**); *N,N*-(dimetil)-*N'*-2-tiofeniltiourea (**5m** e **5b**); *N,N*-(dietil)-*N'*-2-tiofeniltiourea (**6m** e **6b**).



- 
- Caracterizar os complexos mediante diversas técnicas espectroscópicas (RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  e  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  e IV), análise elementar, condutividade e difração de raios X de monocristal (quando possível a obtenção dos mesmos).
  - Determinar a citotoxicidade dos complexos frente à linhagens tumorais humanas de pulmão (A549), próstata (DU-145) e mama (MDA-MB-231), e não tumorais humanas, pulmão (MRC-5) e mama (MCF-10A);
  - Avaliar o mecanismo de morte celular por meio dos ensaios de morfologia e migração celular, sobrevivência clonogênica (formação de colônias), ciclo celular e apoptose;
  - Realizar testes de interação dos complexos com DNA ( *calf thymus* e plasmídeo pBR322) por meio de ensaios de eletroforese em gel, viscosidade e competitividade com Hoescht 33258 e Tiazol Laranja (TO);
  - Avaliar a interação dos complexos com HSA (albumina do soro humano) por meio da técnica de espectroscopia de fluorescência.







Neste capítulo estão descritos os materiais utilizados, as sínteses e caracterizações dos compostos organometálicos de rutênio com ligantes aciltioureas, bem como a descrição de procedimentos referente aos estudos a cerca da atividade biológica dos complexos.

### 3.1- Obtenção da atmosfera de Argônio

Todos os procedimentos experimentais foram realizados sob atmosfera de Argônio, de procedência AGA, para garantir atmosfera inerte. O gás é conduzido por uma coluna com sílica gel e posteriormente para uma coluna com catalisador BTS-R-3-11 (Fluka Chemika), aquecida a 60°C para eliminação de oxigênio.

### 3.2- Solventes

Os solventes orgânicos utilizados neste trabalho foram submetidos à purificação prévia, segundo os métodos usuais. A acetona deuterada foi utilizada como fornecida (Aldrich).

### 3.3- Reagentes químicos em geral

O sal base  $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  e os ligantes  $\alpha$ -felandreno e trifenilfosfina ( $\text{PPh}_3$ ) são de procedência Aldrich.

### 3.4-Sínteses

#### 3.4.1 - Síntese dos ligantes

A síntese dos ligantes foi realizada como reportado previamente.<sup>40-43</sup> O respectivo cloreto de acila (30 mmol) dissolvido em acetona (50 mL) foi gotejado em uma suspensão de KSCN (30 mmol) do mesmo solvente. O precipitado formado, cloreto de amônio, indica a formação do isotiocianato de acila. A solução foi resfriada em banho de gelo e a amina de interesse (40 mmol), previamente dissolvida em acetona (5 mL), foi adicionada, lentamente, sob constante agitação. A agitação foi mantida durante 2-9 h, até a completa formação

do produto, a qual foi monitorada por meio de cromatografia de camada delgada. Adicionou-se água gelada para a precipitação do sólido de interesse, que foi filtrado e recristalizado em etanol.

### 3.4.2 - Síntese dos precursores

#### 3.4.2.1 - Síntese dos precursores $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}_2]_2$

Dissolveu-se 1,00 g (3,50 mmol) de  $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  em 80 mL de metanol desaerado e adicionou-se 5 mL de  $\alpha$ -felandreno (35 mmol). A solução resultante foi refluxada por 4 h, mediante constante agitação. A solução foi concentrada, sob pressão reduzida, até a precipitação do sólido vermelho escuro. A mistura foi resfriada e o sólido foi filtrado, lavado com etanol (3 x 5 mL), éter dietílico (3 x 5 mL) e seco sob vácuo.

#### 3.4.2.2 - Síntese do precursor $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}_2(\text{PPh}_3)]$

Solubilizou-se 1,00 g (1,63 mmol) de  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}_2]_2$  em 80 mL de metanol desaerado e adicionou-se 0,94 g de trifenilfosfina (3,59 mmol). A mistura foi refluxada, sob agitação, durante 4 h. A solução foi concentrada, sob pressão reduzida, e o sólido vermelho filtrado. O produto foi lavado com etanol (3 x 5 mL), éter dietílico (3 x 5 mL) e seco sob vácuo.

#### 3.4.3 - Síntese dos complexos $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}(\text{PPh}_3)(\text{Tu-}\kappa\text{S})]\text{PF}_6$ (Série 1- complexos 1 a 5, Série 2- complexos 1m a 6m)

O respectivo ligante aciltiourea (0,19 mmol) foi adicionado a 50 mL de uma solução do precursor  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}_2(\text{PPh}_3)]$  (0,18 mmol; 0,10 g) em metanol. A mistura foi mantida, em atmosfera inerte, em agitação por 1 h. Em seguida, adicionou-se 0,05 g de  $\text{NH}_4\text{PF}_6$  (0,30 mmol) e concentrou-se a solução, por meio de pressão reduzida, até a precipitação do sólido de coloração laranja. O sólido foi lavado com água (3 x 5 mL), metanol gelado (3 x 5 mL) e seco sob vácuo.

### 3.4.4 - Síntese dos complexos $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{PPh}_3)(\text{Tu-}\kappa\text{S},\text{N})]\text{PF}_6$ (Série 1- complexos 1a e 4a)

O respectivo ligante aciltiourea (0,190 mmol) foi dissolvido em 25 mL de uma solução do precursor  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}_2(\text{PPh}_3)]$  (0,18 mmol; 0,10 g) em metanol. Após agitação de 0,5 h, em atmosfera inerte, foi adicionado 25 mL de água previamente desaerada. A solução resultante foi refluxada, sob agitação, durante 3 h. Para a precipitação do sólido amarelo, adicionou-se 0,50 g de  $\text{NH}_4\text{PF}_6$  (0,30 mmol). O sólido foi lavado com água (3 x 5 mL), metanol gelado (3 x 5 mL) e seco sob vácuo.

### 3.4.5 - Síntese dos complexos $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{PPh}_3)(\text{Tu-}\kappa\text{S},\text{O})]\text{PF}_6$ (Série 2- complexos 1b e 6b)

#### 3.4.5.1 - Rota 1

O respectivo ligante aciltiourea (0,19 mmol) e o sal  $\text{NaHCO}_3$  (0,198 mmol; 0,017 g) foram dissolvidos em 20 mL de metanol desaerado. Em seguida, 0,10 g (0,18 mmol) do precursor  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}_2(\text{PPh}_3)]$  solubilizado em metanol, foi adicionado. O sistema foi mantido em agitação por 3 h, em atmosfera inerte. Para a precipitação do sólido amarelo, adicionou-se 0,05 g de  $\text{NH}_4\text{PF}_6$  (0,30 mmol). O sólido foi lavado com água (3 x 5 mL), éter dietílico (3 x 5 mL) e seco à vácuo.

#### 3.4.5.2 - Rota 2

O respectivo ligante aciltiourea (0,19 mmol) foi adicionado em 20 mL de uma solução do precursor  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}_2(\text{PPh}_3)]$  (0,180 mmol; 0,100 g) em metanol desaerado. Após agitação de 0,5 h, em atmosfera inerte, adicionou-se 20 mL de água desaerada. A solução resultante foi agitada por 15 h, sendo o produto de interesse obtido após adição do  $\text{NH}_4\text{PF}_6$  (0,300 mmol; 0,050 g). O sólido de coloração amarela foi lavado com água (3 x 5 mL), éter dietílico (3 x 5 mL) e seco sob vácuo.

## 3.5- Instrumentação

### 3.5.1 - Condutância Molar

As medidas de condutância foram feitas utilizando um aparelho Meter Lab., modelo CDM230. As medidas foram realizadas mediante soluções dos complexos em acetona na concentração de  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>. As faixas de valores foram previamente tabeladas por VELHO <sup>44</sup>.

### 3.5.2 - Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Os espectros vibracionais de absorção na região do infravermelho foram obtidos utilizando-se o espectrofotômero Bomem Michelson FT MB-102, na região compreendida entre 4000 e 240 cm<sup>-1</sup>. As amostras sólidas foram diluídas com KBr (mantido em estufa a 120°C) e preparadas minutos antes das análises.

### 3.5.3 –Espectroscopia de absorção eletrônica UV-Vis

Os espectros na região do ultravioleta e visível foram obtidos por meio de um espectrofotômetro de arranjo de diodo da Hewlett Packard, modelo 8452A ou Cary 500 de duplo feixe, Varian. Os espectros foram obtidos a partir de soluções dos complexos em diclorometano. Utilizou-se celas de quartzo com caminho óptico de 1 cm e 4 mL de capacidade volumétrica.

### 3.5.4 -Análise elementar (C, H, N e S)

Os teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre dos complexos foram determinados em um analisador CHN modelo EA 1108 da FISIONS, no Laboratório de Análise Elementar do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos.

### 3.5.5 - Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz), <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} (100 MHz) e <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} (162 MHz) foram registrados a partir de análises realizadas no equipamento BRUKER 9.4 T, modelo AVANCE III. Utilizou-se solvente deuterado (acetona) para as medidas relacionadas aos experimentos de <sup>1</sup>H,

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ , COSY, HSQC e HMBC, enquanto que para os experimentos de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  usou-se capilar  $\text{D}_2\text{O}$  (referência externa).

### 3.5.6 - Difração de raios X

As estruturas cristalinas obtidas foram resolvidas pelo Professor Dr. Eduardo Ernesto Castellano do Grupo de Cristalografia do Instituto de Física de São Carlos (IFSC-USP). As medidas foram realizadas em difratômetros do tipo automático Enraf-Nonius Kappa-CCD e Apex II Duo, ambos utilizando radiação da linha  $\text{K}\alpha$  do molibdênio (0,71070 Å). O refinamento das estruturas foi realizado mediante o programa SHELXS 97 usando métodos diretos. Sucessivos mapas de Fourier-Diferença permitiram a localização dos átomos não hidrogênicos. Excetuando-se os átomos de hidrogênio, todos os demais foram refinados anisotropicamente. Detalhes específicos sobre coleta de dados e os parâmetros para cada complexo são fornecidos na seção de apêndice.

### 3.5.7 – Cálculos teóricos

A otimização e obtenção dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  teóricos dos compostos **1**, **1a**, **1m-6m**, **1b-6b**, bem como dos seus respectivos ligantes, foram calculados pelos métodos de estrutura eletrônica com objetivo de comparar com os deslocamentos químicos experimentais de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  principalmente para os carbonos dos grupos  $\text{C}=\text{O}$  e  $\text{C}=\text{S}$ . Para as otimizações realizadas busca-se sempre a melhor relação entre precisão e esforço computacional, usando DFT/SVWN5 com funções de base 6-31G+(d,p) para C, H, N, O, P e para o centro metálico, Ru foi usada LANL2DZ com pseudo potencial (ECP), pois este nível de teoria apresenta com boa concordância com dados experimentais para muitos complexos de rutênio disponíveis na literatura.<sup>45-47</sup>

Os arquivos de input foram gerados a partir das coordenadas cristalográficas para otimização, exceto para o composto **3b**, para a obtenção dos espectros teóricos usou-se o pacote de programas Gaussian 09. Para as otimizações não foram impostas restrições de simetria e as frequências harmônicas foram verificadas quanto a ausência de frequências imaginárias. Para

a obtenção dos deslocamentos químicos de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  teórico, usou-se o método GIAO e comparados com os dados experimentais usando a Equação 1.<sup>48</sup>

$$\delta_{iso,calc} = \sigma_{ref} - \sigma_{iso} \quad (1)$$

Onde  $\sigma_{ref} = 182.4254$  ppm é usado para o RMN  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  calculado (TMS). A estrutura cristalina do TMS foi otimizada a partir das coordenadas cristalográficas disponíveis na base de dados cristalográficos CCDC 678366, sendo então otimizada no mesmo nível de teoria das estruturas dos complexos.

### 3.6-Avaliação Biológica

#### 3.6.1 - Cultura celular

As linhagens celulares humanas MDA-MB-231 (ATCC No. HTB-26), câncer de mama, A549 (ATCC No. CCL-185), câncer de pulmão, e a MRC-5 (ATCC No.CCL-171), não tumoral de pulmão, foram mantidas em meio de cultura DMEM suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS). A linhagem DU-145 (ATCC No.HTB-81), tumoral de próstata humano, foi mantida em meio de cultura RPMI-1640, também suplementado com 10% de FBS. Já a linhagem não tumoral de mama humano, MCF-10A (ATCC No. CRL-10317), foi cultivada em meio DMEM/F12 contendo 5% de soro de cavalo, fator de crescimento epidermal humano (EGF) (0.02 mg/mL); hidrocortisona (0.05 mg/mL); insulina (0.01 mg/mL); penicillina e estreptomicina (1%) e L-glutamina (2mM). Todas as linhagens foram mantidas em estufa de cultura de células com atmosfera de 5%  $\text{CO}_2$  e 95%  $\text{O}_2$  a 37 °C.

#### 3.6.2 - Ensaio de proliferação celular

A avaliação da citotoxicidade dos complexos em células tumorais MDA-MB-231, A549 e DU-145 e não tumorais MCF-10A e MRC-5, foi realizada através do ensaio de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil brometo de



tetrazolium).<sup>49</sup> Este ensaio consiste em um método colorimétrico amplamente utilizado para determinar proliferação celular e citotoxicidade. Neste ensaio o MTT apenas é reduzido à formazan, cristais de coloração violeta, por células viáveis, sendo que o número de células é proporcional ao número de cristais formados. Para a realização do ensaio, uma densidade de  $1,5 \times 10^4$  células/poço, em 150  $\mu\text{L}$  de meio suplementado, foram plaqueadas em placas de 96 poços. Após 24 h de incubação (5% de  $\text{CO}_2$  a  $37^\circ\text{C}$ ), as células foram tratadas com diferentes concentrações dos compostos (dissolvidos em DMSO estéril) e incubadas novamente por 48 h. Um volume de 30  $\mu\text{L}$  de uma solução de MTT (1 mg/mL) foi adicionado em cada poço e após 4 h de incubação, os cristais de formazan foram solubilizados em 100  $\mu\text{L}$  de isopropanol. A atividade óptica (medidas de absorbância) foi determinada a 540 nm em um leitor de microplacas. Os controles receberam 0,5 % do solvente DMSO. Os valores de  $\text{IC}_{50}$  (concentração que inibe 50% da proliferação celular) dos complexos foram determinados a partir de uma curva de concentração utilizando o *software* GraphPad Prism®.

### 3.6.3 - Morfologia celular

Para analisar a capacidade dos complexos em induzir alterações morfológicas nas células A549, MDA-MB-231, MCF-10A e MRC-5,  $1,0 \times 10^5$  células/poço foram plaqueadas e incubadas, em estufa de cultura de células, em meio suplementado por 24 h. Diferentes concentrações dos complexos foram adicionadas e a morfologia celular foi examinada mediante imagens capturadas, com o auxílio de um microscópio invertido (Nikon Eclipse TS 100) acoplado a uma câmera fotográfica (Moticam 1000), em intervalos de tempo de 0 h, 24 h e 48 h.

### 3.6.4 - Formação de colônias

Para avaliar os efeitos ocasionados pelos complexos na formação de colônias e/ou tamanho das mesmas, as células tumorais das linhagens A549 e MDA-MB-231 foram plaqueadas ( $3,0 \times 10^2$ ) em placas de Petri de 6 cm ou em

placas de 6 poços e incubadas a 37°C e 5% CO<sub>2</sub> por 24 h, em estufa de cultura de células. Após o período de incubação, as células foram tratadas com diferentes concentrações dos complexos e mantidas em estufa, nas condições apropriadas, por mais 48 h. O meio foi substituído por um novo meio, sem a adição dos complexos, e as células foram novamente incubadas durante 10 dias. As células foram lavadas, delicadamente, com tampão fosfato salino (PBS) e fixadas com solução de metanol e ácido acético (3:1) durante cinco minutos e em seguida, coradas com uma solução de metanol e cristal violeta a 5% por 30 minutos. O número de colônias e seu tamanho foram determinados por meio do *software* Image J.

### **3.6.5 - Migração celular**

#### **3.6.5.1 - *Wound Healing***

O ensaio de *wound healing* é comumente utilizado para o estudo das características da migração celular. Células das linhagens A549 e MDA-MB-231 ( $1,5 \times 10^5$ ) foram semeadas em placas de 12 poços e incubadas em estufa úmida com 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C até a cultura atingir uma confluência próxima a 100%. Em seguida, um risco central foi feito, com o auxílio de uma ponteira de 100µL e uma régua, em cada poço. Cuidadosamente, cada poço foi lavado com PBS para remover fragmentos celulares e células desaderidas da área riscada. Os complexos, na respectiva concentração do IC<sub>50</sub> (48 h), foram adicionados. Imagens foram capturadas nos tempos de 0 h e 24 h com o auxílio de um microscópio invertido (Nikon Eclipse TS 100) acoplado a uma câmera fotográfica (Moticam 1000).

#### **3.6.5.2 - Câmara de Boyden**

O comportamento da migração celular também foi verificado pelo ensaio de câmara de Boyden. Neste ensaio  $5,0 \times 10^4$  células/poço (A549 e MDA-MB-231) foram plaqueadas em insertos com membranas de polietileno tereftalato microporosas de 8 µm (BD Biosciences) de placas de 24 poços. As células foram

distribuídas em 350  $\mu$ L de meio sem adição de FBS, juntamente com diferentes concentrações dos complexos. Nos poços da placa onde foram mergulhados os insertos, foram adicionado 750  $\mu$ L de meio de cultura com de 10% de FBS, o soro atua como um quimioatraente para a migração. No controle positivo houve a adição de meio com FBS (sem complexo), enquanto que o controle negativo não foi adicionado complexo nem o FBS. As placas foram incubadas por 22 h a 37°C, 5% CO<sub>2</sub>. As células que não migraram foram removidas do interior do inserto com auxílio de hastes flexíveis de algodão, já as que penetraram através dos poros foram fixadas em metanol e coradas com uma solução de azul de toluidina (1%). As membranas dos insertos foram recortadas e montadas em lâminas histológicas. A contagem das células foi realizada manualmente, com o auxílio de um microscópio invertido (Nikon Eclipse TS100).

### 3.6.6 - Ciclo celular

A análise do ciclo celular foi realizada por meio da técnica de citometria de fluxo. Para esta análise uma densidade de  $4,0 \times 10^5$  células/poço (A549 e MDA-MB-231) foram semeadas em placas de 6 poços em 2 mL de DMEM suplementado com FBS. Após 24 h de incubação, as células foram tratadas com variadas concentrações dos complexos e camptotecina, utilizada neste ensaio como controle positivo, seguido de nova incubação (37°C, 5% CO<sub>2</sub>) por mais 24 h. As células foram coletadas e lavadas duas vezes com PBS e posteriormente ressuspensas e fixadas, durante 12 h, com etanol gelado (70%). As células foram novamente lavadas com PBS e incubadas com RNaseA (0,2 mg/mL) durante 30 min a 37°C. Em seguida, as células foram marcadas com iodeto de propídeo (PI) uma hora antes da realização da medida. As amostras foram analisadas no citômetro BD Accuri C6.

### 3.6.7 - Apoptose

A atividade apoptótica dos complexos em linhagens tumorais A549 e MDA-MB-231 foi avaliada por citometria de fluxo utilizando o kit PE - Annexin V Apoptosis Detection Kit (BD Biosciences). As células foram plaqueadas (7,0 x

$10^4$ ) em placas de 12 poços e incubadas (  $37^\circ\text{C}$  e  $5\% \text{ CO}_2$ ) durante 24 horas. Os complexos, em diferentes concentrações, foram adicionados nos poços e as placas novamente incubadas por 24 h. As células foram lavadas com PBS e ressuspensas em  $200 \mu\text{L}$  de tampão de ligação (10 mM HEPES\NaOH; 140 mM NaCl; 2,5 mM  $\text{CaCl}_2$ ), proveniente do kit. As células foram incubadas com  $6 \mu\text{L}$  de ambos compostos, 7AAD e PE Anexina V, por 20 min, no escuro. Após a incubação, o sobrenadante foi removido e  $200 \mu\text{L}$  de tampão de ligação adicionado aos poços. As células foram transferidas para tubos de citometria para a realização das medidas no citômetro BD Accuri C6 e a fluorescência foi quantificada com o *software* CSampler.

### **3.7- Estudos de interação dos complexos com o DNA**

#### **3.7.1 - Viscosidade**

O ensaio de viscosidade foi realizado utilizando o viscosímetro de Ostwald mantendo-se a temperatura em  $25^\circ\text{C}$ . A concentração da solução de CT-DNA (*Calf Thymus*), em tampão Trizma (5 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl, pH 7.4) foi fixada ( $250 \mu\text{M}$ ), enquanto a concentração dos complexos, solubilizados em DMSO (a concentração final do DMSO correspondeu a 10% em todas as medidas) variaram, afim de se obter diferentes relações complexo/DNA. O tempo das medidas, que foram repetidas cinco vezes, foi determinado com cronômetro digital. Os valores de viscosidade específica  $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ , onde  $\eta$  corresponde a viscosidade relativa do DNA na presença dos complexos e  $\eta_0$  é a viscosidade relativa do DNA, foram plotados versus [complexo]/[DNA].

#### **3.7.2 -Eletroforese em gel**

Neste ensaio, diferentes concentrações dos complexos foram incubados com o plasmídeo pBR322 ( $38 \mu\text{M}$ ) a  $37^\circ\text{C}$  por 18 h. As medidas de mobilidade eletroforética foram realizadas em gel de agarose 1%, em tampão TAE (0.45 M Tris-HCl, 0.45 M ácido acético, 10 mM EDTA), marcado com brometo de etídeo ( $2 \mu\text{L}/50 \text{ mL}$ ). Uma cuba de eletroforese horizontal (BioRad) foi utilizada e os

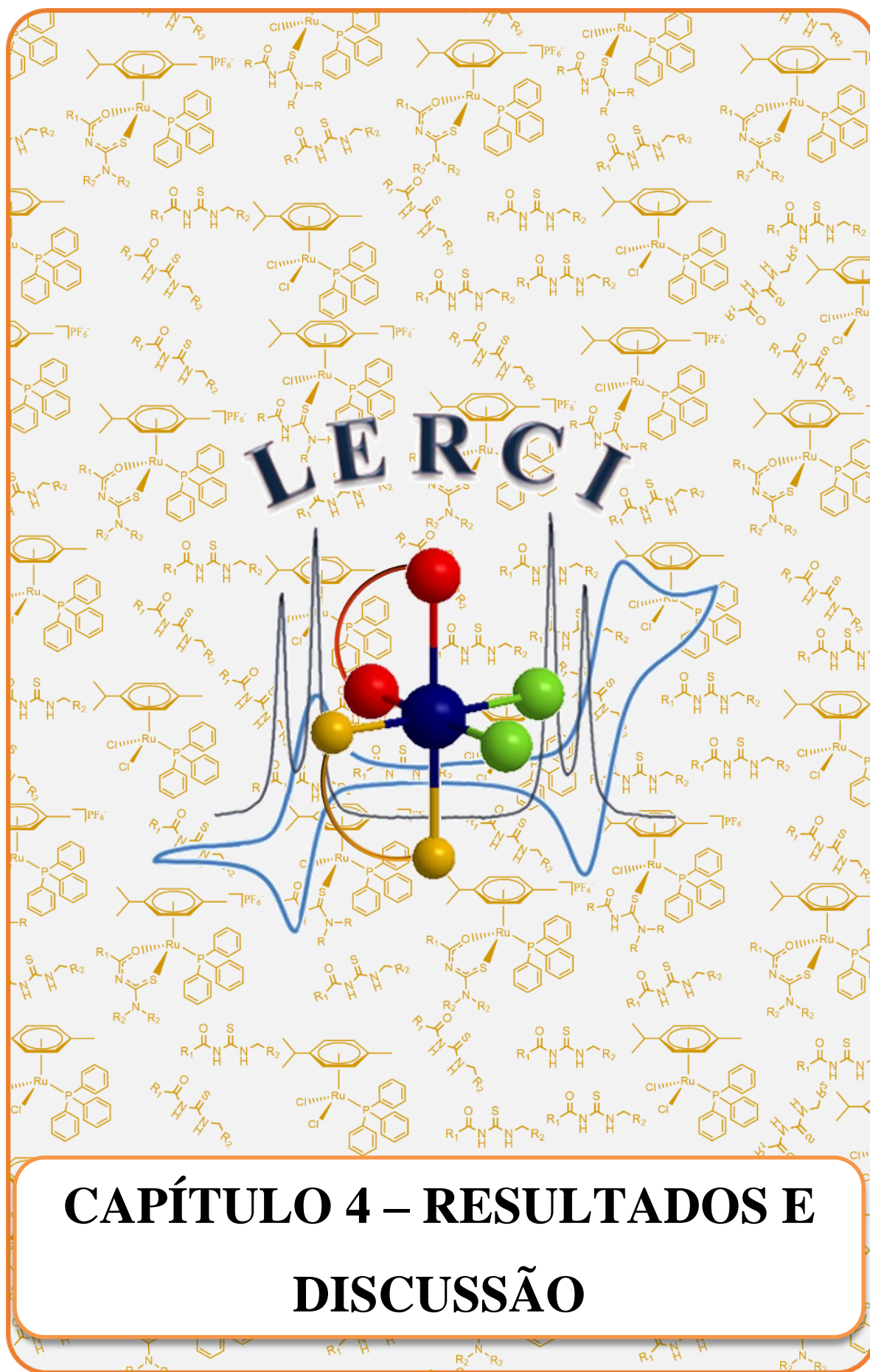
parâmetros de corrida corresponderam a 80 V durante 1,5 h. Os géis foram revelados usando um transluminador ChemiDoc.

### 3.7.3 - Ensaio de competitividade

O ensaio de competitividade utilizando os compostos fluorescentes Hoechst 33258 e Tiazol Laranja (TO) foi realizado mediante experimentos de supressão de fluorescência do complexo Hoechst (5,0  $\mu\text{M}$ )/CT-DNA (175  $\mu\text{M}$ ) ou TO (5,0  $\mu\text{M}$ )/CT-DNA (175  $\mu\text{M}$ ) em tampão Trizma (pH=7,4). A extinção da intensidade de emissão do Hoechst/DNA em 495 nm (comprimento de onda de excitação 343 nm) ou TO/DNA em 530 nm (comprimento de onda de excitação 480 nm) foi monitorada utilizando os complexos, em diferentes concentrações (0-50  $\mu\text{M}$ ), dissolvidos em DMSO, como supressores. O experimento foi realizado em triplicata usando placas opacas de 96 poços.

### 3.8 - Estudo de interação dos complexos com a HSA

Os estudos de interação dos complexos com a HSA foram realizados através de experimentos de supressão de fluorescência, onde a concentração da HSA em tampão Trizma (pH 7,4) foi mantida constante (5  $\mu\text{M}$ ), enquanto que a concentração dos complexos, dissolvidos em DMSO, variaram entre 5 a 50  $\mu\text{M}$ . A extinção da intensidade de emissão dos resíduos de triptofano da HSA, em 305 nm (comprimento de onda de excitação 270 nm) foi monitorada a 25 °C e 37 °C. Para a avaliação da interação entre o sítio II da HSA com os complexos, o experimento de competitividade utilizando o composto fluorescente dansilglicina, foi realizado. O ensaio foi realizado por meio de sucessivas adições de variadas concentrações dos complexos (0-50  $\mu\text{M}$ ) a um mistura de HSA (5  $\mu\text{M}$ ) e dansilglicina (5  $\mu\text{M}$ ) em tampão Trizma (pH 7.4). A extinção da intensidade de emissão do dansilglicina/HSA em 470 nm (comprimento de onda de excitação 340 nm) foi monitorada a 25 °C.





A fim de situar o leitor acerca dos resultados discutidos nesta seção, descrevemos sucintamente o processo que delineou a obtenção dos 19 complexos coordenados a ligantes aciltioureias aqui abordados. Os compostos foram divididos em duas séries, baseadas em:

1. ligantes aciltioureias monossustituídos;
2. ligantes aciltioureias dissustituídos.

Nosso estudo foi primeiramente pautado na série 1, onde a priori sintetizamos e caracterizamos 5 novos complexos. Resultados oriundos dos estudos de estabilidade desses complexos, nos possibilitou a síntese de outros 2 complexos, o que nos permitiu concluir esta série com um total de sete novos compostos (**1-5**, **1a** e **4a**). Também, visando aprofundar nossos estudos e compreender muitos resultados provenientes da série 1, avançamos com a síntese e caracterização de 12 outros compostos, os quais agrupamos na série 2 (**1m-6m** e **1b-6b**). Assim esta seção será dividida em dois tópicos:

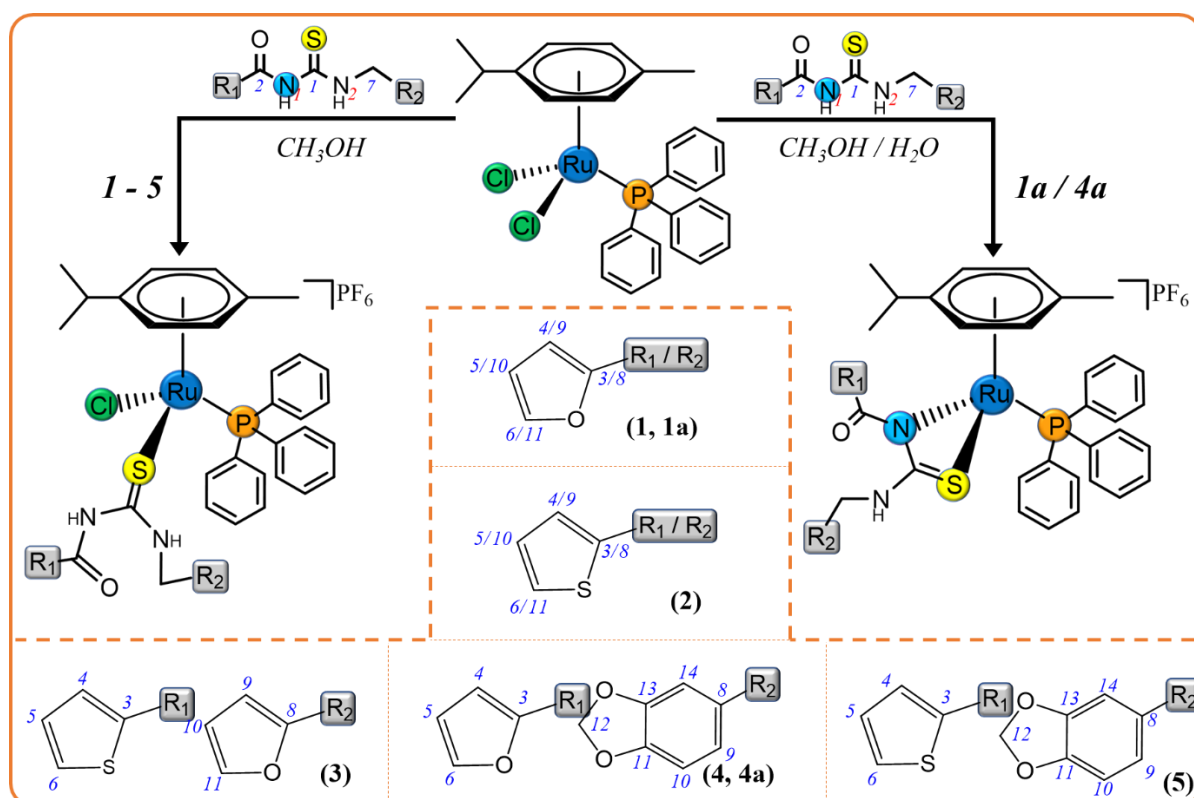
1. Síntese e caracterização dos complexos da série 1 e 2;
2. Estudos biológicos dos complexos das séries 1 e 2.

#### 4.1 - Síntese e Caracterização dos Complexos

A síntese dos complexos com fórmula geral  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}(\text{PPh}_3)(\text{Tu})]\text{PF}_6$ , que compreende os complexos da série 1 (**1-5**) e da série 2 (**1m-6m**) foi realizada através da reação do precursor  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Cl}_2(\text{PPh}_3)]$  com os respectivos ligantes aciltioureias, monossustituídos ou dissustituídos, em metanol, como descrito nos esquemas 4.1 e 4.2 Já os complexos do tipo  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{PPh}_3)(\text{Tu})]\text{PF}_6$ , série 1 (**1a** e **4a**) e série 2 (**1b-6b**), foi procedida a partir de uma mistura dos solventes metanol e água (1:1). Os mesmos complexos da série 2 também foram obtidos por uma alternativa rota sintética, onde foi acrescentado no meio reacional (precursor, ligantes, em metanol) o sal  $\text{NaHCO}_3$ .

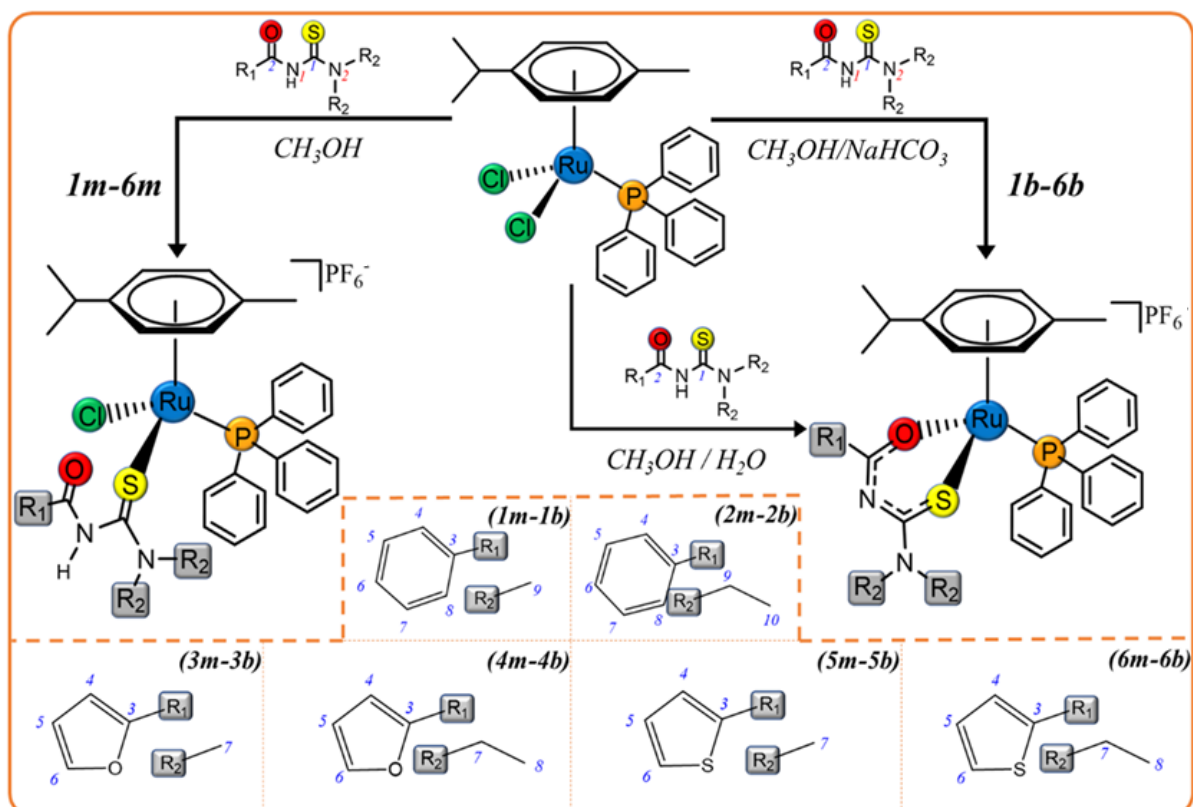
O bicarbonato de sódio é um sal que sofre hidrólise básica o que possibilita a desprotonação do ligante aciltiourea.

Para coordenação dos ligantes aciltioureas é necessário a labilização de um ou dois ligantes clorido, a depender do tipo de coordenação do ligante aciltiourea, monodentada ou bidentada. A troca de ligantes promove alteração na carga do complexo, sendo neutra no precursor e catiônica (+1) nos complexos formados. Os dados de condutividade molar suportam essa alteração, indicando a presença do contraíon  $\text{PF}_6^-$  na estrutura dos complexos, onde as medidas em acetona caracterizam o intervalo para eletrólitos 1:1 ( $100\text{-}180\text{ S cm}^2\text{ mol}^{-1}$ ) (Tabela 4.1). Os dados da análise elementar também são coerentes com as estruturas propostas, como evidenciado na Tabela 4.1.



ESQUEMA 4.1 - Rota sintética para a obtenção dos complexos da série 1.





ESQUEMA 4.2 - Rota sintética para a obtenção dos complexos da série 2.

TABELA 4.1 - Dados de análise elementar e condutividade molar ( $\Lambda$ ) dos complexos.

Complexo	% C*	% H*	% N*	% S*	$\Lambda$	Complexo	% C*	% H*	% N*	% S*	$\Lambda^{**}$
<b>1</b>	50,74 (50,56)	4,57 (4,23)	3,14 (3,02)	3,94 (3,45)	138	<b>4m</b>	50,54 (50,47)	4,92 (4,79)	3,07 (3,10)	3,27 (3,55)	136
<b>2</b>	48,82 (48,67)	4,69 (4,29)	3,04 (2,91)	10,29 (10,00)	137	<b>5m</b>	48,35 (48,46)	4,54 (4,41)	3,15 (3,14)	7,01 (7,19)	139
<b>3</b>	49,60 (49,61)	4,09 (4,16)	3,04 (2,97)	7,15 (6,79)	140	<b>6m</b>	49,63 (49,59)	4,91 (4,71)	3,29 (3,04)	6,79 (6,97)	139
<b>4</b>	51,70 (51,36)	4,60 (4,20)	2,95 (2,85)	3,72 (3,26)	110	<b>1b</b>	54,36 (53,71)	4,90 (4,74)	3,40 (3,30)	4,19 (3,77)	132
<b>5</b>	50,47 (50,53)	4,54 (4,14)	2,86 (2,81)	6,74 (6,42)	116	<b>2b</b>	54,75 (54,73)	5,37 (5,05)	3,16 (3,19)	3,82 (3,65)	139
<b>1a</b>	50,41 (52,52)	4,64 (4,29)	3,15 (3,14)	3,91 (3,60)	138	<b>3b</b>	51,31 (51,49)	4,46 (4,56)	4,20 (3,81)	3,69 (3,82)	129
<b>4a</b>	53,72 (53,33)	4,16 (4,26)	2,67 (2,96)	3,40 (3,39)	131	<b>4b</b>	53,02 (52,59)	4,66 (4,88)	3,74 (3,23)	3,54 (3,69)	136
<b>1m</b>	51,38 (51,50)	4,60 (4,66)	3,17 (3,16)	3,33 (3,62)	129	<b>5b</b>	50,69 (50,52)	4,18 (4,48)	3,76 (3,32)	7,85 (7,49)	138
<b>2m</b>	52,40 (52,54)	4,94 (4,96)	3,08 (3,06)	3,25 (3,51)	140	<b>6b</b>	51,70 (51,64)	4,49 (4,79)	3,66 (3,17)	7,21 (7,26)	136
<b>3m</b>	49,34 (49,35)	4,63 (4,49)	3,60 (3,20)	3,55 (3,66)	135	-	-	-	-	-	-

\*valores teóricos entre parênteses    \*\* valores obtidos a partir de soluções dos complexos ( $10^{-3}$  M) em acetona

Avaliar o comportamento da hidrólise de complexos que possuem ligações do tipo M-X (onde X=Cl, Br ou I) é muito relevante, uma vez que sabe-se que a reação de hidrólise é responsável pela ativação do cisplatina no ambiente celular. O estudo de estabilidade em meio aquoso foi uma etapa importante deste estudo permitindo-nos obter os complexos **1a** e **4a** da série 1. A estabilidade dos complexos **1-5** foi investigada mediante a técnica de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ .

O espectro de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo **1**, como mostrado na Figura 4.1, apresenta um comportamento representativo para os complexos **2-5** (seção de apêndice), onde observa-se um singlete próximo a 29 ppm e um septeto em -144,5 ppm. O primeiro sinal é atribuído ao átomo de fósforo do ligante trifenilfosfina dos complexos e o segundo atribuído ao átomo de fósforo do contraíon  $\text{PF}_6^-$ . No precursor observa-se um único singlete em 24 ppm (referente ao fósforo da fosfina). O deslocamento deste sinal nos complexos em relação ao precursor, para regiões mais desblindadas do espectro, é em decorrência da substituição do ligante clorido, que é um forte ligante  $\sigma$  e  $\pi$  doador, pelo ligante aciltiourea que possui caráter doador-receptor.

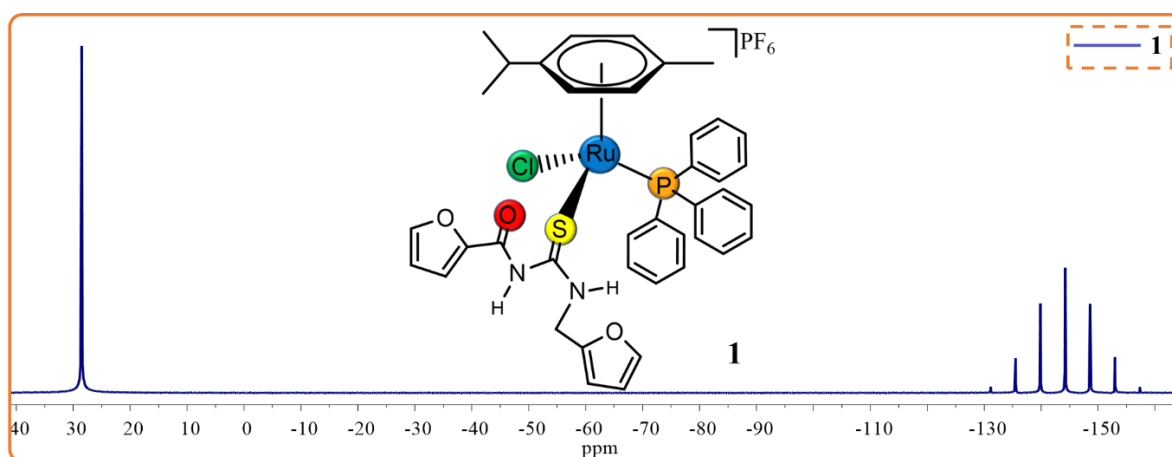


FIGURA 4.1 - Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo **1** (série 1) em acetona com capilar externo de  $\text{D}_2\text{O}$ .

Após a solubilização do complexo **1** em solução de DMSO/ $\text{H}_2\text{O}$  (1:1), inicialmente observa-se a presença de três sinais no espectro de RMN

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  próximos a 29 (complexo **1**), 35 e 36 ppm. Após o período de 1 h, outro sinal foi detectado em 40 ppm. Devido o DMSO ser um solvente fortemente coordenante, o mesmo procedimento foi realizado usando-se as misturas acetona/ $\text{H}_2\text{O}$  (1:1) e metanol/ $\text{H}_2\text{O}$  (1:1). O resultado obtido foi muito similar ao apresentado pela mistura DMSO/ $\text{H}_2\text{O}$ , e apesar das intensidades dos sinais variarem com o solvente utilizado, após sete dias de monitoramento destas reações o único sinal presente no espectro foi o em 40 ppm, como pode ser visto na Figura 4.2.

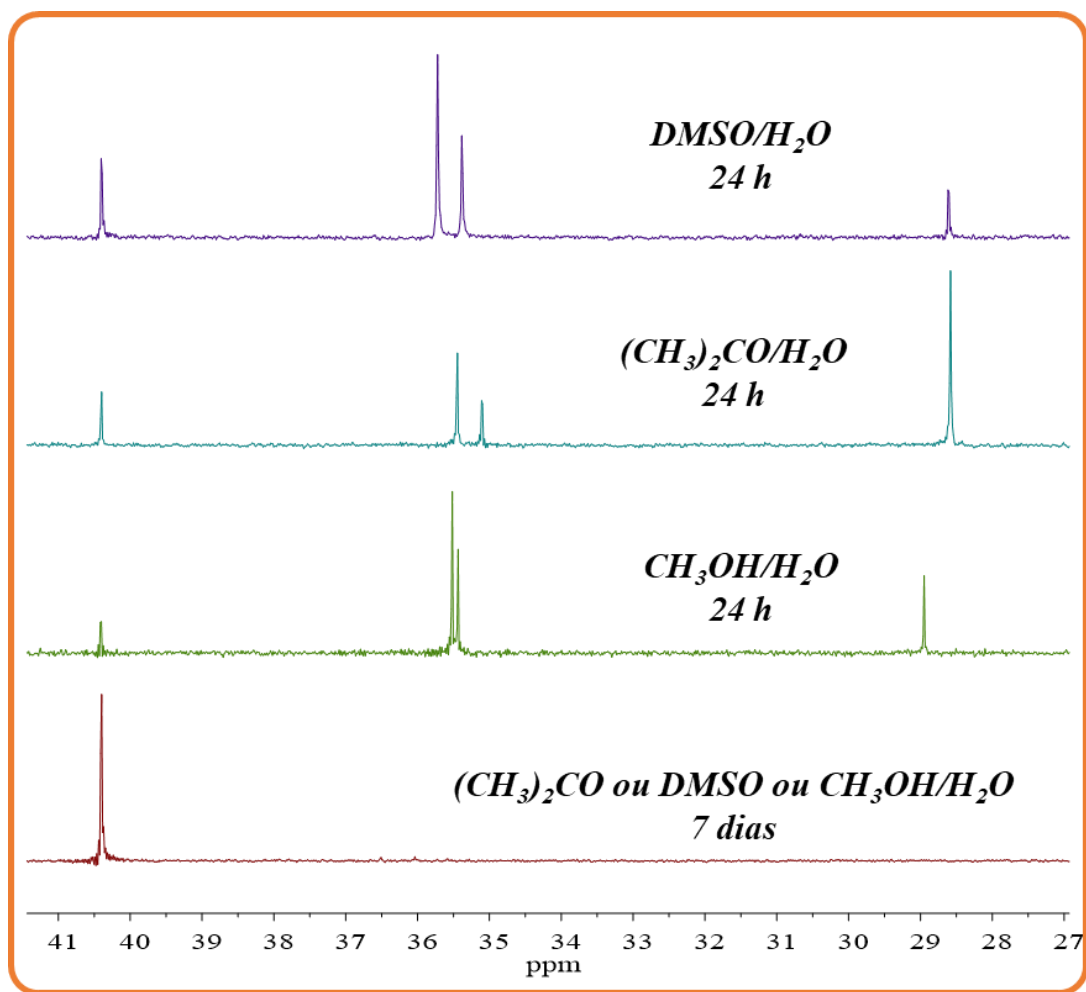


FIGURA 4.2 - Espectros de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo **1** em diferentes misturas de solventes, em temperatura ambiente, com capilar  $\text{D}_2\text{O}$  nos tempos de 24 h e 7 dias (o sinal referente ao  $\text{PF}_6^-$  em -144,5 foi omitido).

A realização do estudo com diferentes solventes (com diferentes capacidades coordenante), permitiu descartar a possibilidade de coordenação dos

solventes orgânicos (DMSO, acetona e metanol). Assim, a presença dos demais sinais no espectro (~35, 36 e 40 ppm) deve-se à reação de hidrólise dos complexos. De posse destes dados, a reação de hidrólise foi simulada (como descrita no esquema 4.1) e os complexos **1a** e **4a** foram isolados. Como esperado, em seus respectivos espectros de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  observou-se um singlete em 40 ppm e um septeto em -144,5 (Figura 4.3). Apesar dos complexos **2**, **3** e **5** apresentarem um comportamento inicialmente similar ao apresentado pelos complexos **1** e **4**, não se observou a conversão da mistura reacional para um único composto. Com o passar do tempo, o monitoramento dos espectros foi sendo dificultado devido ao alargamento da linha de base (Figura 4.4).

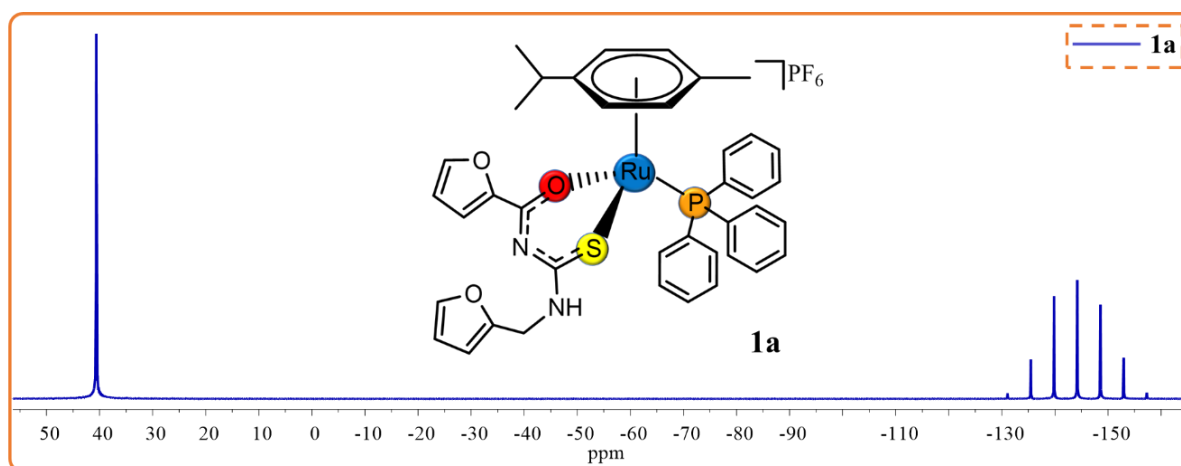


FIGURA 4.3 - Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo **1a** (série 1) em acetona com capilar externo de  $\text{D}_2\text{O}$ .

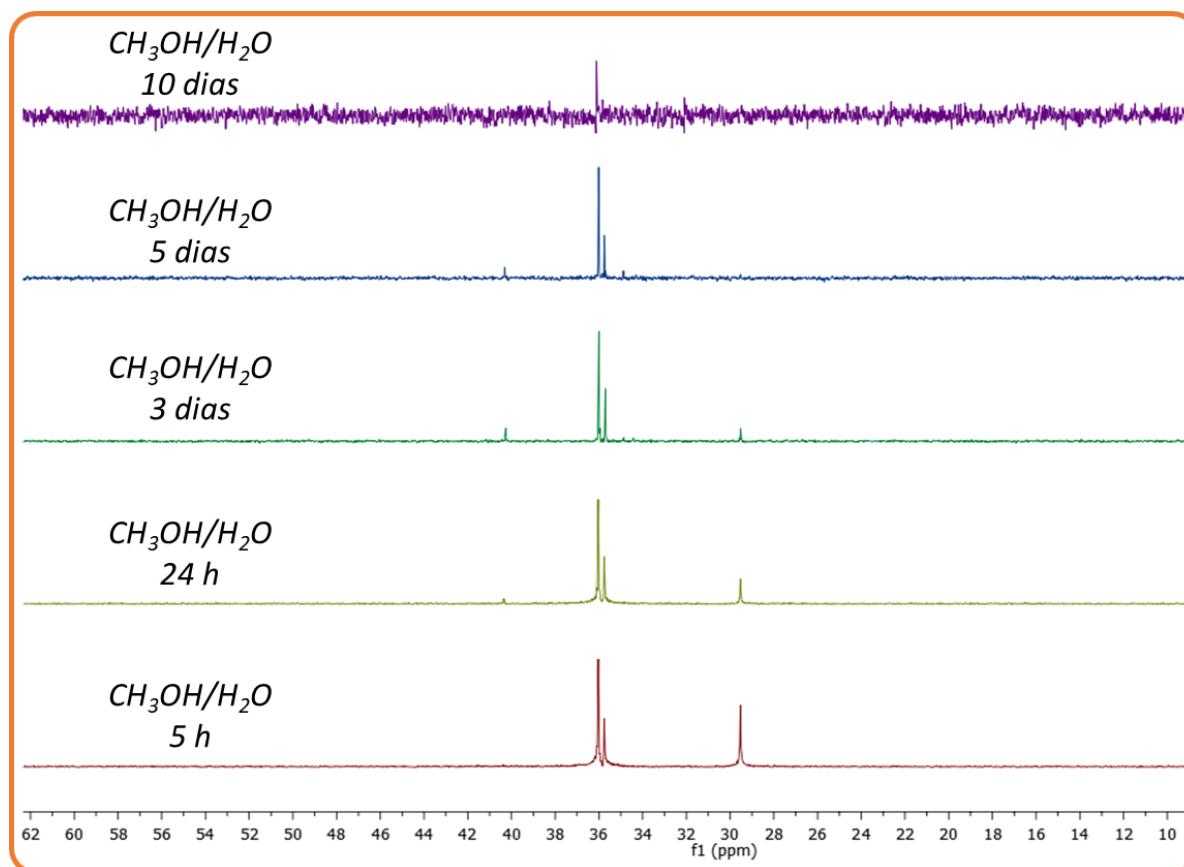
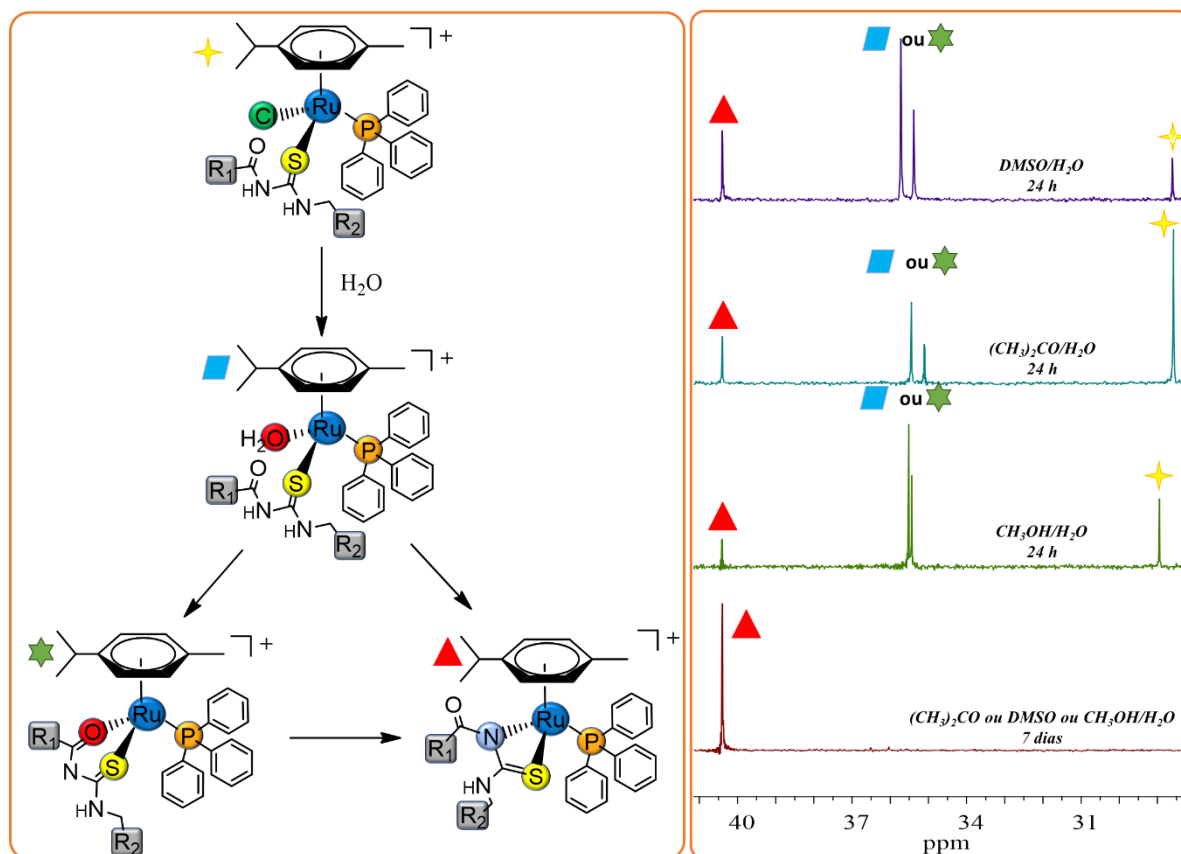


FIGURA 4.4 - Espectros de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo **2** em metanol/ $\text{H}_2\text{O}$  com capilar  $\text{D}_2\text{O}$  em diferentes tempos (o sinal referente ao  $\text{PF}_6^-$  foi omitido).

A partir de tais resultados, acerca da hidrólise dos complexos da série 1, nossa proposição é que em presença de água, o ligante clorido é substituído por uma molécula deste solvente. Entretanto, como os ligantes aciltioureias possuem a capacidade de ligarem ao metal por diferentes modos, incluindo a coordenação monodentada e bidentada, acreditamos que a molécula de água é também substituída para propiciar a coordenação bidentada do ligante. A coordenação bidentada deve ser favorecida como descrito pelo efeito quelato. Como pode ser observado no esquema 4.3, sugerimos que as espécies detectadas no espectro de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  em torno de 35 e 36 ppm estão associadas as coordenações: 1) bidentada do ligante aciltioureia, via átomos de S e O; e 2) monodentada do ligante aciltioureia via S e a coordenação da água. Assim, independente da coordenação bidentada ou monodentada da aciltioureia, a esfera de coordenação

de ambos os complexos permanece similar (coordenação de átomos de S e O ao rutênio), o que explica a proximidade dos sinais no espectro. Já o sinal próximo a 40 ppm, atribuímos a um outro possível modo de coordenação do ligante aciltiourea, via átomos de S e N.



ESQUEMA 4.3 - Esquema proposto para as espécies detectadas no espectro de RMN de  $^{31}\text{P}$  (estudo de estabilidade em  $\text{H}_2\text{O}$ , conforme ilustrada na Figura 4.1) para os complexos **1** e **4** (série 1).

A síntese dos complexos da série 2 (**1m-6m** e **1b-6b**) foi idealizada a partir dos resultados obtidos da série 1, onde a reação de hidrólise dos complexos **1m-6m** (esquema 4.2) permitiu a obtenção dos complexos **1b-6b**. A respeito da técnica de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  (Figura 4.5 e seção de apêndice), nos espectros dos complexos **1m-6m** observou-se um singlete próximo a 29 ppm e um septeto em -144,5 ppm, exatamente o mesmo perfil apresentado para os complexos **1-5**. Já os complexos **1b-6b** apresentaram em seus respectivos espectros um singlete, em

torno de 35 ppm e o septeto referente ao contraíon  $\text{PF}_6^-$ . Estes resultados corroboram perfeitamente com nossa proposição, onde o ligante aciltiourea nos complexos **1-5** e **1m-6m** possuem coordenação monodentada (via S) e uns dos sinais próximo a 35 ppm deve-se a coordenação bidentada (via S e O).

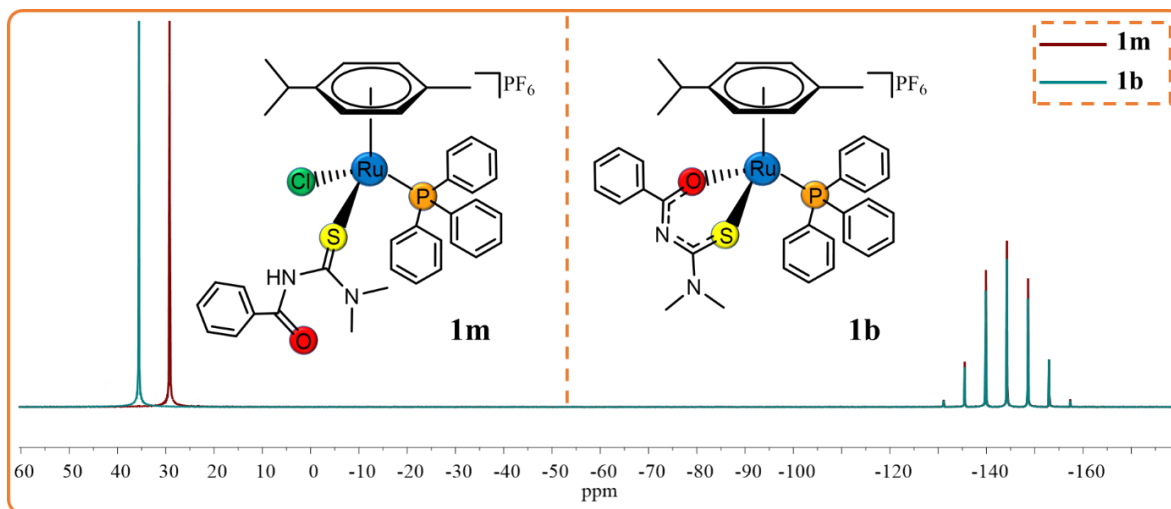


FIGURA 4.5 - Espectros de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  dos complexos **1m** e **1b**, em acetona com capilar externo de  $\text{D}_2\text{O}$ .

Dos 19 complexos apresentados neste trabalho, obteve-se estruturas cristalinas para 18 complexos (Figura 4.6 e 4.7). Todos os compostos da série **1** e **1m-6m** foram cristalizados a partir de uma difusão de éter etílico em solução dos complexos dissolvidos em acetona. Já os compostos **1b**, **2b** e **4b-6b** foram obtidos por meio de evaporação lenta da solução dos complexos em diclorometano/metanol. Os dados cristalográficos encontram-se na seção de apêndice.

O modo de coordenação dos ligantes aciltioureas, que corresponderam: 1) coordenação monodentada via átomo de S (forma neutra) para os complexos **1-5** e **1m-6m**; 2) coordenação bidentada via átomos de S e O (forma monoaniônica) para os complexos **1b**, **2b** e **4b-6b**; 3) coordenação bidentada via átomos de S e N amídico (forma monoaniônica) para os complexos **1a** e **4a**, foi indiscutivelmente determinado mediante a técnica de difração de raios-X de monocristal. A confirmação dos modos de coordenação dos complexos também



evidencia a coerência da nossa proposição em relação aos diferentes complexos formados a partir da reação de hidrólise, que promove a conversão da coordenação monodentada (S) dos ligantes aciltioureas para a forma bidentada. Os modos de coordenação monodentado (S) e bidentado (S,N) são modos pouco usuais para complexos de rutênio. O primeiro trabalho que demonstra o modo de coordenação monodentado (S) destes ligantes em complexos de rutênio data de 2014.<sup>50</sup> Já em relação ao modo bidentado (S,N) das aciltioureas ao rutênio, até onde sabemos, há um único trabalho, mas o consideramos um tanto especulativo, uma vez que o autor baseia sua constatação do modo de coordenação apenas por meio dos dados obtidos da técnica de espectroscopia de absorção na região do infravermelho.<sup>51</sup> Assim, os complexos **1a** e **4a** são os primeiros relatos de estrutura cristalina em que a aciltiourea coordena-se ao rutênio via S e N(amídico).

Todos os complexos apresentam a estrutura semi-sanduíche (“piano-stool”), na qual o rutênio possui uma geometria pseudo-octaédrica. Nesta estrutura, o ligante *p*-cimeno ocupa três dos seis sítios de coordenação, hapticidade  $\eta^6$ , enquanto os outros três sítios são ocupados pela a coordenação dos ligantes trifenilfosfina, e dos ligantes aciltiourea nas formas monodentada (**1-5** e **1m-6m**) ou bidentada (**1a** e **4a,1b, 2b** e **4b-6b**), e ao ligante clorido (**1-5** e **1m-6m**). Os comprimentos de ligação selecionados dos complexos **4**, **4a**, **4m** e **4b** estão apresentados na Tabelas 4.2 (demais complexos na seção de apêndice). A faixa das distâncias das ligações Ru-C (2,177-2,313 Å), de todos os complexos, confirmam a hapticidade  $\eta^6$  do areno. As demais distâncias de ligação referentes às ligações Ru-P, Ru-Cl, Ru-S, Ru-O e Ru-N são comparáveis a complexos similares, os quais foram anteriormente reportados na literatura.<sup>41,52,53</sup>

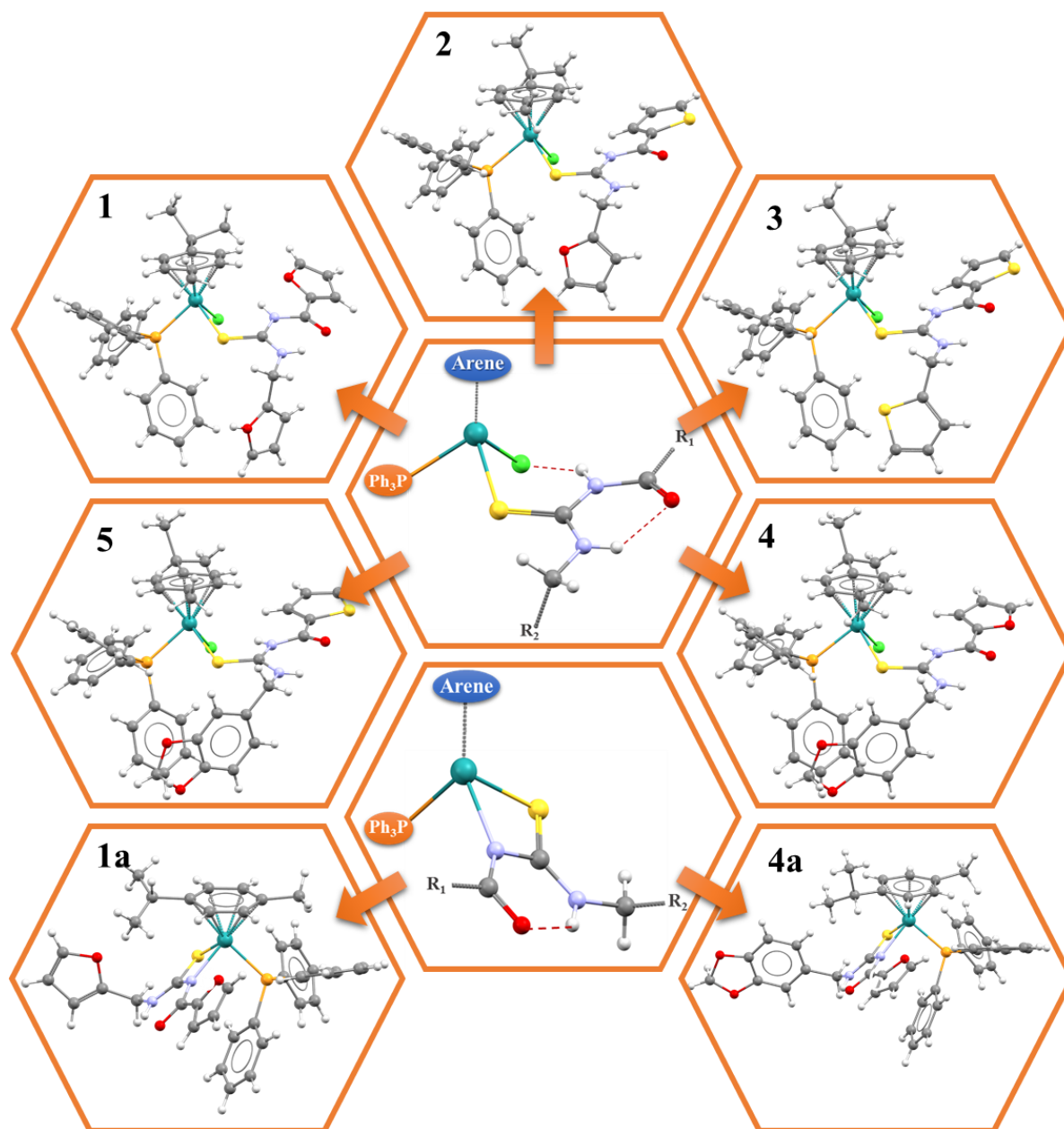


FIGURA 4.6 – Estruturas cristalinas dos complexos **1-5**, **1a** e **4a** (série 1)

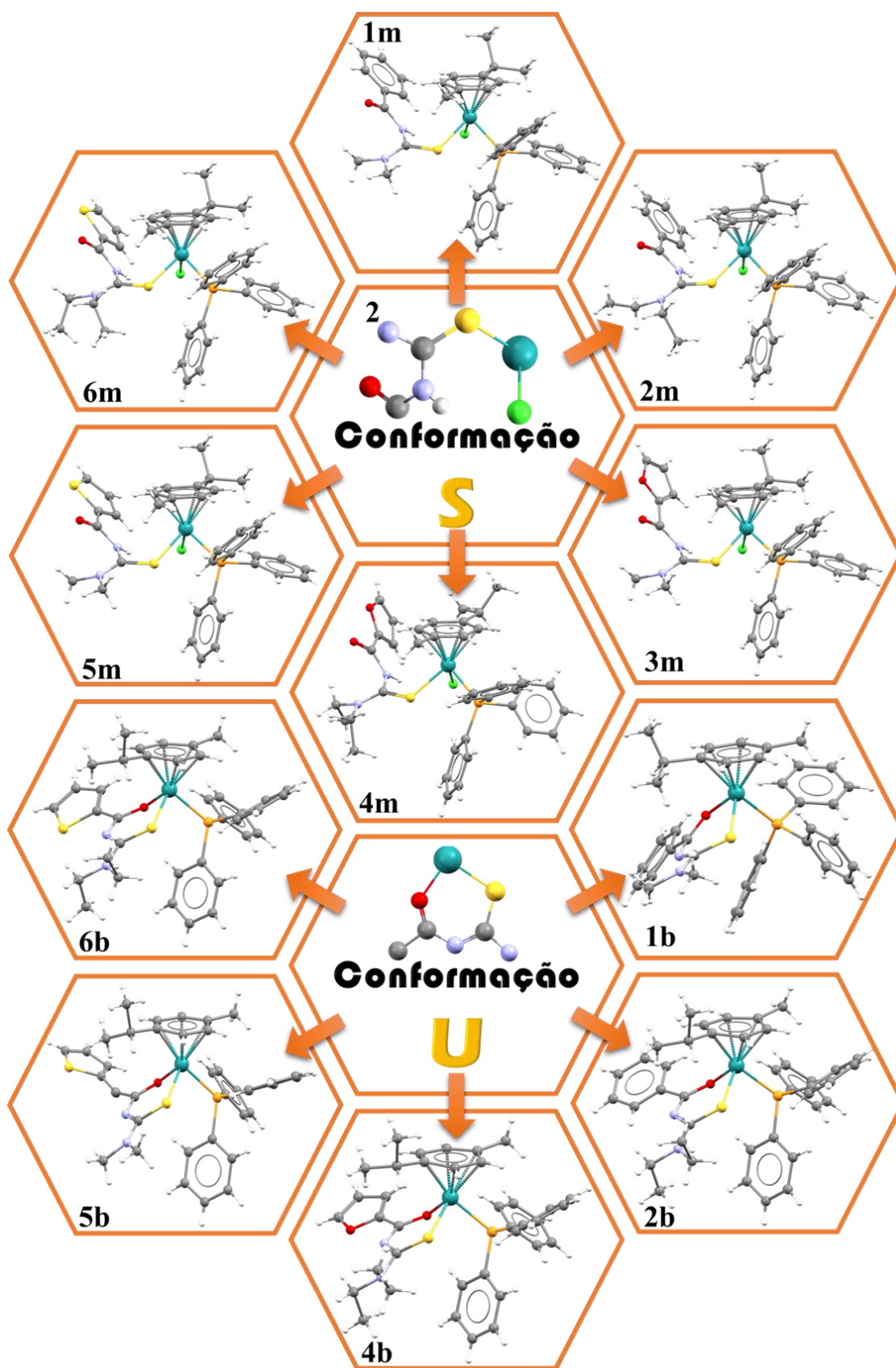


FIGURA 4.7 – Estruturas cristalinas dos complexos 1m-6m, 1b, 2b e 4b-6b

(série 2)

Após a complexação do ligante aciltiourea, observou-se um aumento do comprimento da ligação S-C do grupo tiocarbonila (S(1)-C(1)), em todos os complexos, quando comparado aos comprimentos determinados a partir de estruturas cristalinas dos ligantes livres.<sup>43,54,55</sup> Tal aumento é esperado, uma vez que devido à coordenação do ligante aciltiourea ao metal há um enfraquecimento desta ligação. Entretanto, o caráter da dupla ligação foi mantido nos complexos com as coordenações monodentada (S) e bidentada via S e N. De modo geral, os comprimentos das ligações referente aos ligantes aciltioureas, tanto nos complexos com coordenação monodentada (S) quanto para a coordenação bidentada (S,N), obedecem a mesma tendência. A respeito das ligações O(1)-C(2), N(1)-C(1), N(2)-C(1) e N(2)-C(1), também não se observa significativa alteração nos comprimentos de ligação em relação aos ligantes livres. Entretanto, um comportamento distinto é evidenciado para os complexos bidentados com coordenação via S,O, onde ambas as ligações S-C e O-C aumentaram seus comprimentos de forma pronunciada, tanto em relação aos ligantes livres, quanto aos complexos com coordenação distinta. Já os comprimentos referentes às ligações N(1)-C(1) e N(1)-C(2) diminuem quando comparado aos apresentados pelos ligantes.

O que se observa para os complexos bidentados (S,O) é que os comprimentos das ligações C-S, C-O e C-N do fragmento (SCNCO) equivalem a valores intermediários entre as respectivas duplas e simples ligações. Tal característica ocorre em decorrência da deslocalização dos elétrons  $\pi$  no anel de seis membros formados após a coordenação do ligante ao metal. Tal resultado já é bem estabelecido na literatura, uma vez que este tipo de coordenação é o mais comum para esta classe de ligantes.<sup>56</sup> A partir de tais resultados fica evidente que o mesmo não ocorre para os complexos **1a** e **4a**, sugerindo que não há deslocalização eletrônica no anel de quatro membros formado após a coordenação do ligante via átomos de S e N.

TABELA 4.2 -Comprimentos de ligação (Å) selecionados das estruturas cristalinas dos complexos **4**, **4a**, **4m** e **4b** e seus respectivos ligantes aciltiourea.

Comprimento de ligação (Å)	Ligantes		Complexos			
	4*	4**	4	4a	4m	4b
Ru-P	-	-	2,377(1)	2,369(2)	2,377(1)	2,343(2)
Ru-S	-	-	2,380(1)	2,389(2)	2,385(1)	2,348(2)
Ru-Cl	-	-	2,427(1)	-	2,410(1)	-
Ru-O	-	-	-	-	-	2,094(3)
Ru-N	-	-	-	2,144(3)	-	-
S(1)-C(1)	1,660	1,666	1,710(5)	1,714(4)	1,702(4)	1,732(5)
O(1)-C(2)	1,226	1,228	1,198(7)	1,224(4)	1,216(4)	1,278(6)
N(1)-C(1)	1,395	1,433	1,358(7)	1,367(4)	1,384(5)	1,341(7)
N(2)-C(1)	1,328	1,324	1,309(7)	1,312(5)	1,325(5)	1,340(6)
N(1)-C(2)	1,370	1,352	1,399(6)	1,372(5)	1,380(4)	1,308(6)

\*Aciltioureas monossubstituídas (série 1); \*\* aciltioureas dissustituídas (série 2).

As aciltioureas podem assumir diferentes conformações, que são comumente conhecidas como *S*, *M*, *Z* e *U*, onde tais letras referem-se à posição das ligações C=O e C=S em relação à ligação central N-H (Figura 4.8).<sup>57</sup> Por meio das estruturas cristalinas dos complexos, observa-se duas diferentes conformações dos ligantes aciltioureas, *S* e *U*. Os complexos com coordenação monodentada (*S*) e bidentada (*S,N*) apresentam a conformação *S*.

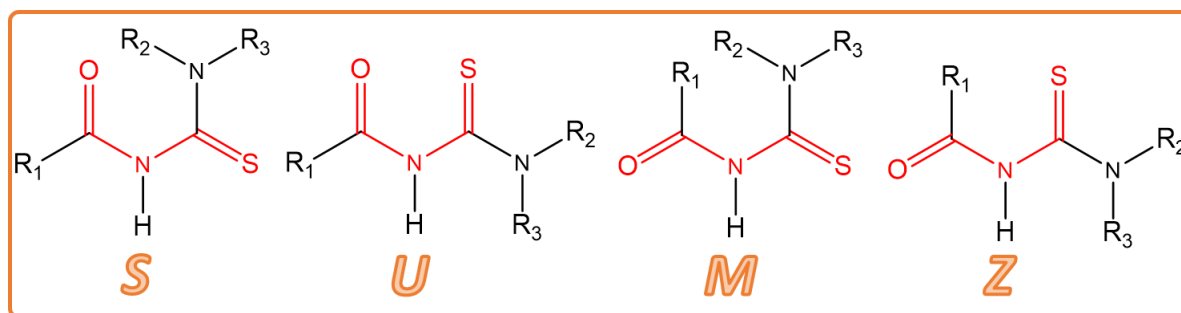


FIGURA 4.8 - Principais conformações das moléculas aciltioureas.

No caso do ligante dos complexos da série 1, que compreendem os ligantes aciltioureas monossustituídas, esta conformação favorece a formação de um anel de seis membros estabelecido pela ligação de hidrogênio  $N^2-H...O=C$ . Na literatura é disseminado que esta interação possui considerável influência nos modos de coordenação das aciltioureas, sendo um requisito para os modos monodentados (S) e bidentados (S,N), os quais são poucos usuais, sobretudo para complexos de rutênio.<sup>34,57,58</sup> Modos de coordenação que não incluem o átomo de oxigênio são favorecidos, uma vez que este átomo está envolvido na ligação de hidrogênio. Porém, estas interações não podem ser consideradas requisitos, ao menos para o modo de coordenação monodentado (S), já que este mesmo modo de coordenação é também observado para os complexos da série 2 (**1m-6m**). Nestes complexos há os ligantes aciltioureas dissustituídas, onde a ligação de hidrogênio,  $N^2-H...O=C$  não está presente. Também há relatos de complexos de cobre (I), coordenados a aciltioureas dissustituídas através apenas do átomo de enxofre.<sup>59</sup> Para os complexos **1b-6b** a conformação adotada dos ligantes aciltioureas é a U, a qual é indispensável para a formação do anel de seis membros que desempenha papel fundamental na deslocalização eletrônica observada para este modo de coordenação.

A conversão da coordenação monodentada para bidentada (S, N) dos complexos da série 1, devido à reação de hidrólise, foi observada apenas para os complexos **1** e **4**. Ambos os compostos apresentam substituinte R=furoil, sugerindo que a natureza do substituinte R poderia ser a principal influência para

este modo de coordenação. Contudo, não observamos a conversão para este modo de coordenação para os complexos da série 2, onde os ligantes 3 e 4 contêm o substituinte R=furoil em suas estruturas.

Os espectros de absorção eletrônica na região do ultravioleta visível dos complexos foram obtidos a partir de soluções dos complexos em diclorometano. A Figura 4.9 ilustra o espectro eletrônico do complexo **1** (demais complexos na seção de apêndice) e a Tabela 4.3 mostra os comprimentos de onda máximos das bandas observadas, bem como os respectivos valores de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) de todos os complexos. Em geral, os espectros evidenciam bandas, na faixa de 252-302 nm, referentes à transições  $\pi-\pi^*$  intraligantes, presentes nos anéis aromáticos dos ligantes *p*-cimeno, trifenilfosfina e aciltioureia. Já a banda na região do espectro de 316-342 nm, compreende à transições  $n-\pi^*$  do ligante aciltioureia sobrepostas às bandas de transferência de carga metal-ligante,  $Ru(d\pi)$ -ligante( $\pi^*$ ). Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos para complexos similares,  $Ru(II)$ -areno coordenados a aciltioureias.<sup>41,60,61</sup>

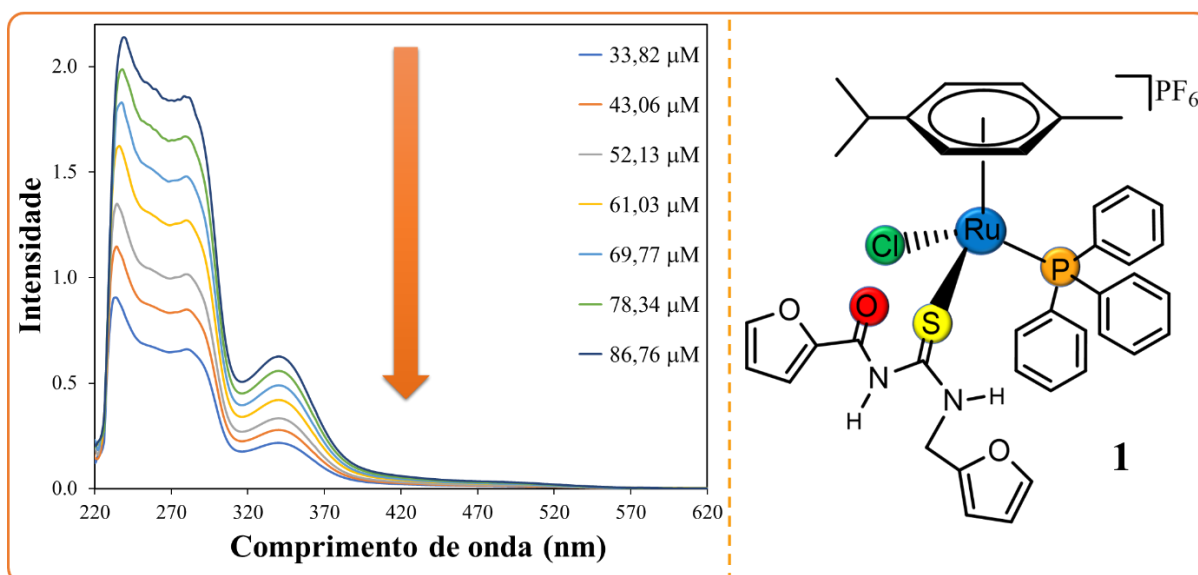


FIGURA 4.9 - Espectro de absorção na região do UV-visível do complexo **1**, em  $CH_2Cl_2$ .



TABELA 4.3 - Comprimento de onda de absorção máxima ( $\lambda$ , nm) e coeficientes de absorvidade molar ( $\log \epsilon$ ,  $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) dos complexos.

Complexos	$\lambda(\epsilon)$	Complexos	$\lambda(\epsilon)$
<b>1</b>	282 (4,36); 342 (3,90)	<b>4m</b>	268 (4,50); 342 (3,91)
<b>1a</b>	280 (4,23); 326 (3,92)	<b>5m</b>	256 (4,46); 296 (4,22); 338 (3,83)
<b>2</b>	262 (4,30); 302 (4,08); 342(3,76)	<b>6m</b>	258 (4,50); 342 (3,90)
<b>3</b>	260 (4,47); 302 (4,25); 342(3,95)	<b>1b</b>	252 (4,55); 316 (3,88)
<b>4</b>	284 (4,49); 326 (3,98)	<b>2b</b>	252 (4,50); 316 (3,90)
<b>4a</b>	282 (4,31); 326 (3,99)	<b>3b</b>	252 (4,44); 316 (4,33)
<b>5</b>	296 (4,31); 342 (3,90)	<b>4b</b>	316 (4,38)
<b>1m</b>	254 (4,57); 338 (3,85)	<b>5b</b>	254 (4,54); 320 (4,38)
<b>2m</b>	254 (4,53); 338 (3,92)	<b>6b</b>	262 (4,45); 322 (4,33)
<b>3m</b>	266 (4,53); 338 (3,91)	-	-

Os espectros de absorção na região do infravermelho dos ligantes apresentam bandas características de estiramentos das ligações N-H ( $\nu_{\text{N-H}}$ ), como esperado para os ligantes aciltioureias monossustituídas (série 1), onde observa-se duas bandas na região de  $3200\text{-}3150 \text{ cm}^{-1}$ , enquanto que para as aciltioureias dissustituídas (série 2) observa-se apenas uma, na região de  $3194\text{-}3116 \text{ cm}^{-1}$  (Tabela 4.4). Como evidenciado nas Figuras 4.10 e 4.11 e Tabela 4.4,



para os complexos com coordenação monodentada (S) (**1-5** e **1m-6m**), tais bandas são mantidas, indicando a natureza neutra dos ligantes após a coordenação ao metal. Entretanto, as bandas deslocaram-se para regiões de menor energia como consequência da coordenação. Para os complexos **1a** e **4a** apenas uma das duas bandas referentes ao  $\nu_{\text{N-H}}$  foi observada nos respectivos espectros, enquanto que para os complexos **1b-6b** não se observou tal banda, confirmando a natureza aniônica dos ligantes.

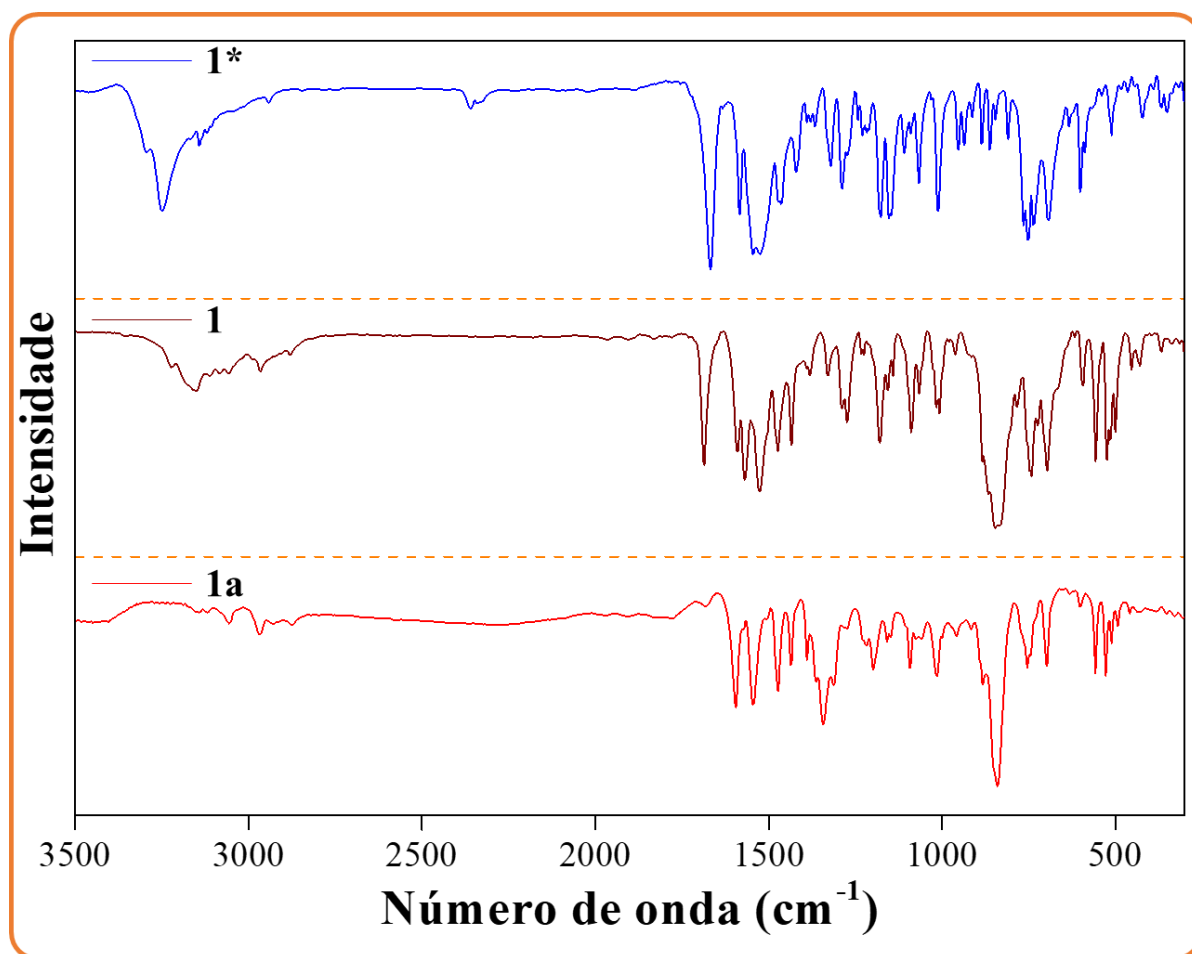


FIGURA 4.10 - Espectros de absorção na região do IV em pastilha de KBr do ligante 1\*(série 1) e complexos **1** e **1a**.

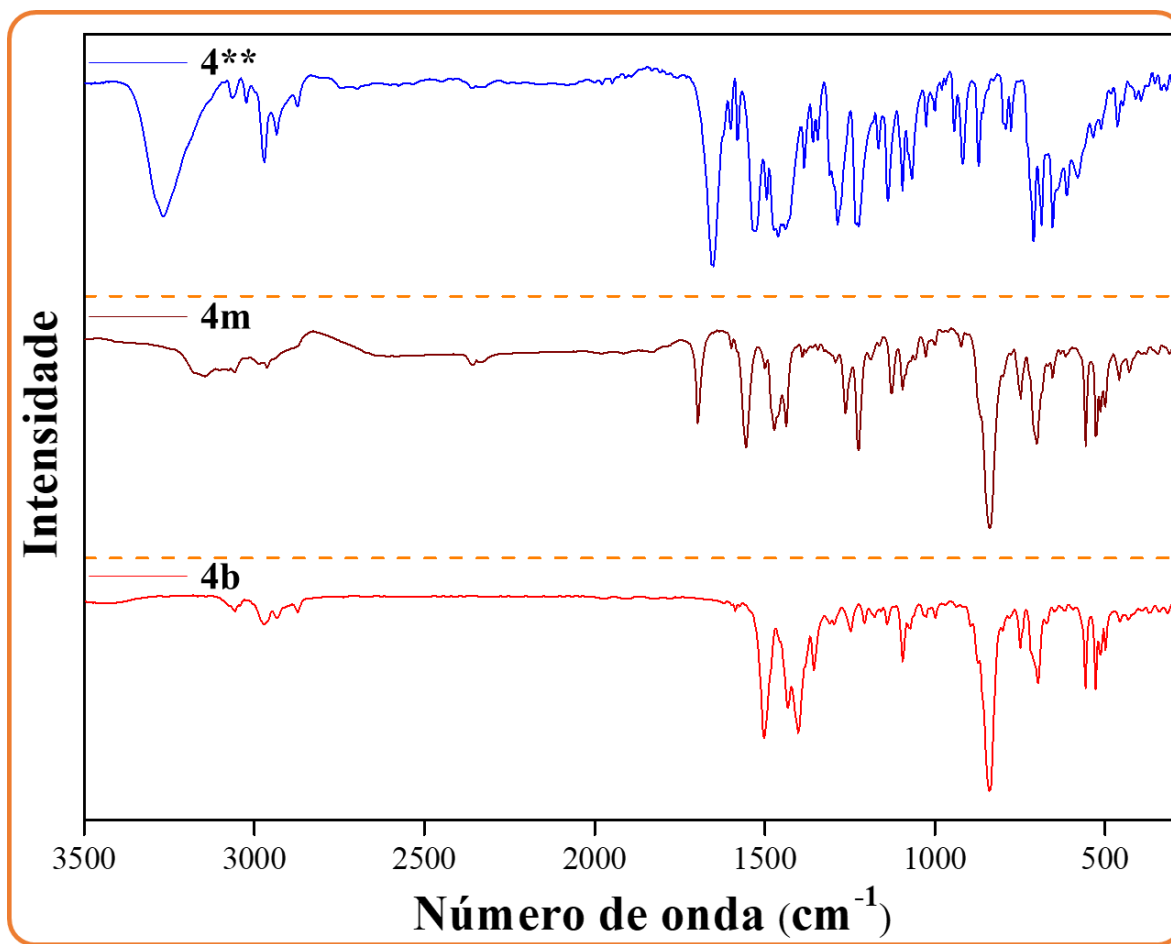


FIGURA 4.11 - Espectros de absorção na região do IV em pastilha de KBr do ligante **4\*\*** (série 2) e complexos **4m** e **4b**.

Uma das bandas mais elucidativas dos complexos e respectivos ligantes é a banda  $\nu_{\text{C=O}}$ . Após a coordenação do ligante observamos deslocamentos característicos, desta banda, para os distintos modos de coordenação. De modo geral, os complexos com coordenação monodentada apresentaram os menores deslocamentos desta banda em relação aos ligantes livres, mas uma tendência foi observada: as bandas deslocaram ( $\Delta\nu = 3\text{-}47\text{ cm}^{-1}$ ) para regiões de maiores energias. Para os complexos com coordenação bidentada uma tendência oposta foi mantida, na qual observou-se deslocamentos para regiões de menores energias. Entretanto, estes deslocamentos também apresentaram coerência a depender do modo bidentado. Para os complexos com coordenação S,N os deslocamentos referentes à banda  $\nu_{\text{C=O}}$  em relação ao

ligante livre compreenderam faixas em torno de  $70\text{ cm}^{-1}$ , enquanto que para os complexos com coordenação S,O esta faixa, em geral, foi em torno de  $100\text{-}200\text{ cm}^{-1}$ . Tendência similar foi observada para complexos com ligantes *N*-fosforil-*N*'-feniltiourea, onde nesta classe de ligantes os átomos de carbonos dos grupos C=O e C=S são substituídos por átomos de fósforo.<sup>35</sup> Deslocamentos para regiões de menores energias da banda P=O quando comparado ao ligante livre, correspondeu à uma média de  $46\text{ cm}^{-1}$  para os complexos de níquel e paládio com coordenação S,N. Já o complexo de cobalto com coordenação S,O apresentou deslocamento de  $114\text{ cm}^{-1}$ .

A banda  $\nu\text{C}=\text{S}$  dos complexos ( $1286\text{-}1199\text{ cm}^{-1}$ ) foi deslocada para regiões de menores energias após a complexação do ligante ao rutênio devido ao enfraquecimento da ligação, como esperado. A intensa banda próxima a  $840\text{ cm}^{-1}$ , presente em todos os complexos, refere-se ao estiramento da ligação P-F, indicando a presença do contraíon  $\text{PF}_6^-$ , como também suportado pelos valores de condutividade. As bandas pouco intensas na região de  $490\text{-}501\text{ cm}^{-1}$  e  $557\text{-}559\text{ cm}^{-1}$ , as quais são observadas nos espectros de todos os complexos, são características de  $\nu\text{Ru-S}$  e  $\nu\text{Ru-P}$ , respectivamente. Para os complexos **1a** e **4a** também observamos as bandas referentes aos  $\nu\text{Ru-N}$  em  $460\text{ cm}^{-1}$ , enquanto que para os complexos **1b-6b** as bandas  $\nu\text{Ru-O}$  compreendem a região de  $336\text{-}377\text{ cm}^{-1}$ .

TABELA 4.4- Proposta de atribuição das principais bandas características nos espectros de absorção na região do infravermelho dos ligantes aciltioureas.

Ligantes	$\nu\text{N}^1\text{-H (cm}^{-1}\text{)}$	$\nu\text{N}^2\text{-H (cm}^{-1}\text{)}$	$\nu\text{C=O (cm}^{-1}\text{)}$	$\nu\text{C=S (cm}^{-1}\text{)}$
<b>1*</b>	3296	3249	1668	1289
<b>2*</b>	3366	3195	1659	1277
<b>3*</b>	3297	3219	1650	1280
<b>4*</b>	3385	3260	1664	1288
<b>5*</b>	3308	3219	1656	1281
<b>1**</b>	3201	-	1690	1287
<b>2**</b>	3267	-	1652	1286
<b>3**</b>	3178	-	1686	1264
<b>4**</b>	3349	-	1667	1285
<b>5**</b>	3180	-	1677	1287
<b>6**</b>	3234	-	1665	1280

\*Aciltioureas monossustituídas (série 1); \*\* aciltioureas dissustituídas (série 2).

Como esperado o espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do precursor apresenta sinais referentes aos hidrogênios dos ligantes *p*-cimeno e trifenilfosfina, como pode ser observado na Figura 4.12. Já para os espectros dos complexos das séries 1 e 2, além dos sinais observados do precursor, observa-se também sinais referentes aos hidrogênios do ligante aciltiourea, como consequência da coordenação do mesmo. As Figuras 4.13, 4.14 e 4.15 ilustram os espectros de  $^1\text{H}$  do complexo **1**, **1a**, e **4b**, respectivamente (demais espectros na seção de apêndice), os quais apresentam números de picos e integrais apropriados para as estruturas propostas.

TABELA 4.5 – Proposta de atribuição das principais bandas características nos espectros de IV dos complexos.

Complexo	$\nu\text{N}^1\text{-H}$	$\nu\text{N}^2\text{-H}$	$\nu\text{C-H}$	$\nu\text{C=O}$	$\nu\text{C=S}$	$\nu\text{C-P}$	$\nu\text{Ru-P}$	$\nu\text{Ru-S}$	$\nu\text{Ru-N}$	$\nu\text{Ru-O}$
<b>1</b>	3223	3169	3105, 2967, 2873	1687	1273	1089	525	501	-	-
<b>1a</b>	-	3053	2967, 2876	1595	1199	1092	528	493	459	-
<b>2</b>	3222	3158	3068, 2968, 2873	1665	1272	1091	524	501	-	-
<b>3</b>	3212	3152	3063, 2963, 2874	1666	1271	1092	525	497	-	-
<b>4</b>	3223	3146	3060, 2974, 2928	1682	1283	1094	524	499	-	-
<b>4a</b>	-	3062	3060, 2967, 2876	1600	1199	1094	529	490	460	-
<b>5</b>	3210	3149	3064, 2971, 2869	1659	1274	1091	525	497	-	-
<b>1m</b>	3178	-	3055, 2962, 2871	1697	1282	1094	528	501	-	-
<b>2m</b>	3142	-	3058, 2987, 2870	1699	1262	1095	526	501	-	-
<b>3m</b>	3146	-	3058, 2963, 2870	1706	1263	1096	527	500	-	-
<b>4m</b>	3116	-	2979, 2936, 2876	1693	1284	1093	526	499	-	-
<b>5m</b>	3179	-	3059, 2961, 2865	1683	1256	1090	528	501	-	-
<b>6m</b>	3170	-	3054, 2961, 2872	1685	1267	1092	526	500	-	-
<b>1b</b>	-	-	3057, 2964, 2873	1507	1286	1094	529	500	-	374
<b>2b</b>	-	-	3059, 2971, 2873	1503	1248	1095	528	501	-	341
<b>3b</b>	-	-	3056, 2966, 2873	1578	1263	1096	528	495	-	340
<b>4b</b>	-	-	3055, 2970, 2872	1577	1258	1095	528	498	-	336
<b>5b</b>	-	-	3056, 2963, 2870	1500	1263	1095	528	496	-	352
<b>6b</b>	-	-	3056, 2972, 2871	1496	1252	1095	528	500	-	346

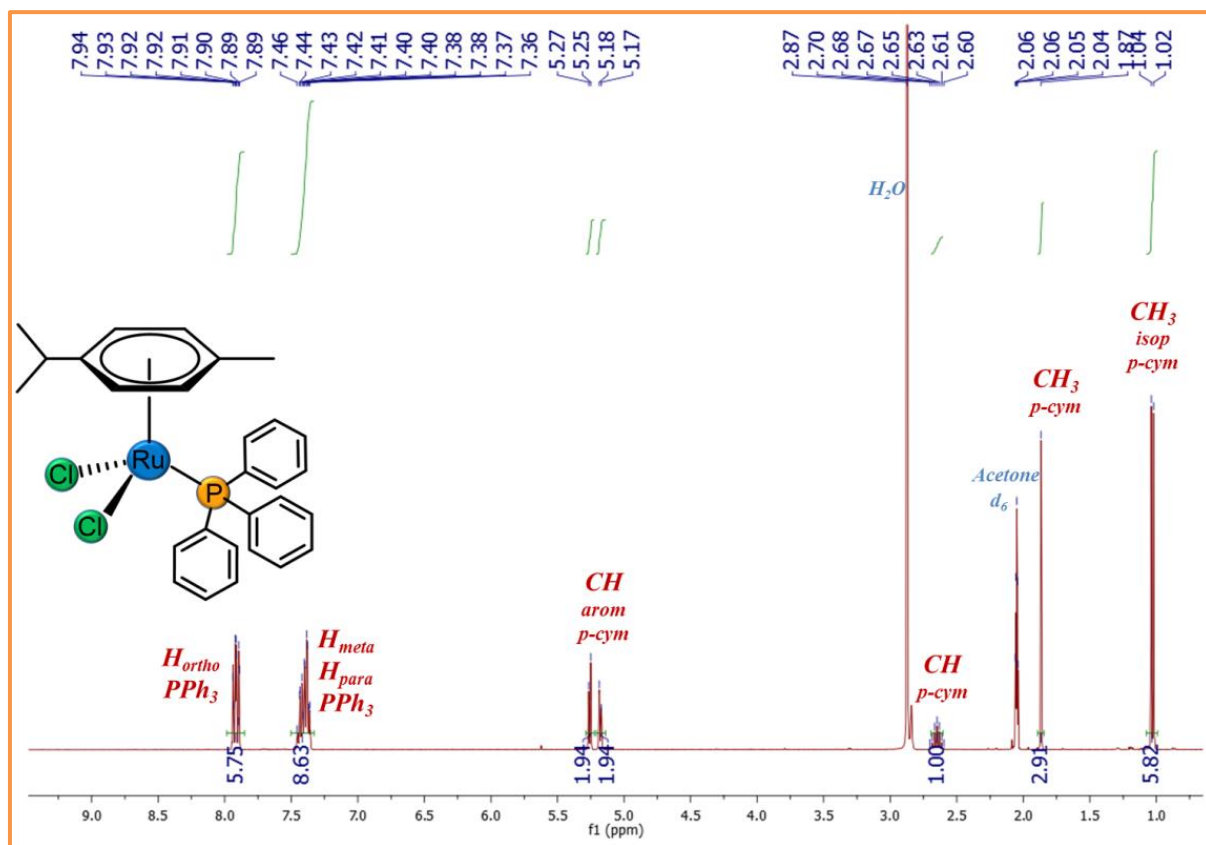


FIGURA 4.12 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do precursor, em acetona- $\text{d}_6$ .

Após a coordenação dos ligantes aciltioureia ao metal os sinais referentes aos hidrogênios dos grupos CH aromáticos do *p*-cimeno, que no precursor apresentavam-se como pares de dois dubletos, passaram a ser quatro dubletos nos espectros dos complexos. Esta mudança de multiplicidade dos sinais indica uma perda de simetria do anel *p*-cimeno, em decorrência da formação do centro estereogênico (rutênio), após a coordenação do ligante aciltioureia. Este comportamento já foi relatado para outros complexos Ru(II)-arenos.<sup>41,62</sup> De modo geral, os sinais referentes aos hidrogênios do *p*-cimeno, após a coordenação do ligante aciltioureia, deslocaram-se para regiões mais desblindadas do espectro, como consequência do enfraquecimento da ligação de retrodoação estabelecida entre o rutênio e o areno, que ocorre em decorrência da diminuição da densidade eletrônica demandada do metal para o *p*-cimeno. Esta tendência é mais nítida nos complexos com coordenação bidentada.

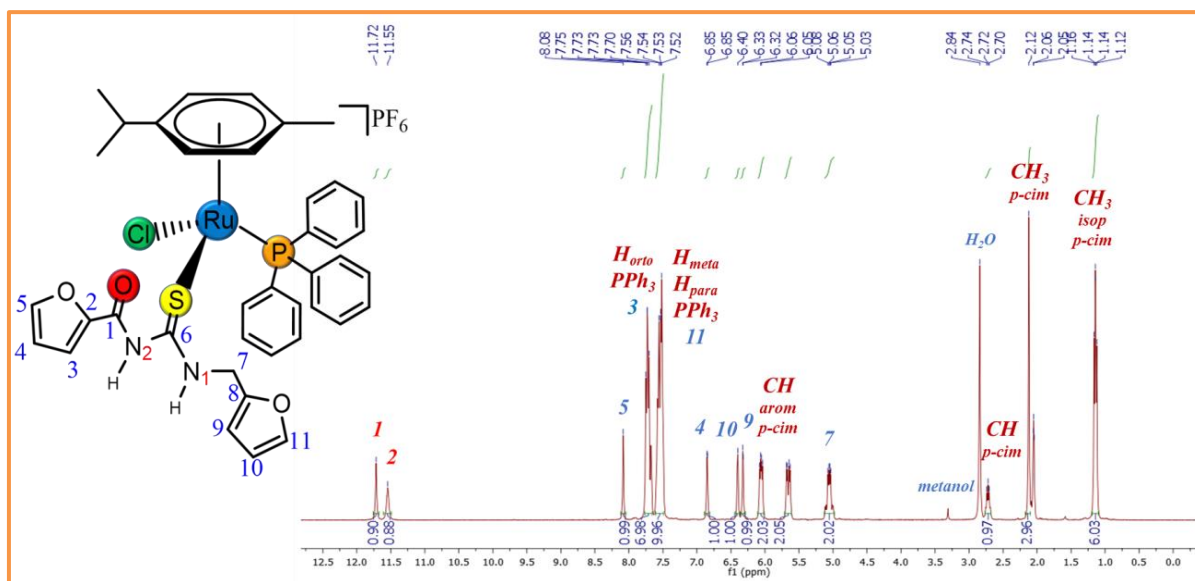


FIGURA 4.13 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do complexo **1**, em acetona- $\text{d}_6$ .

Os complexos **1**, **3** e **4** apresentam dois sinais referentes aos hidrogênios dos grupos N-H das aciltioureas monossubstituídas, evidenciando a coordenação do ligante em sua forma neutra. Nos complexos **2** e **5**, estes sinais estão sobrepostos. Em relação aos ligantes livres, os sinais referentes aos hidrogênios do grupo N-H dos complexos apresentaram deslocamentos para regiões mais desblindadas do espectro após a coordenação. Como pode ser observado na Tabela 4.6, tais deslocamentos devem-se à proximidade destes hidrogênios ao ponto de coordenação, assim espera-se que os mesmos devam ser afetados com a coordenação do ligante. O complexo **1a** (Figura 4.14), assim como o complexo **4a** (seção de apêndice), apresenta um único sinal referente ao hidrogênio do grupo N-H, indicando a forma aniônica do ligante devido à coordenação bidentada (S, N). Mas esse hidrogênio também foi deslocado para regiões mais desblindadas do espectro, indicando que a coordenação da aciltiourea ocasiona uma diminuição da densidade eletrônica do ligante.

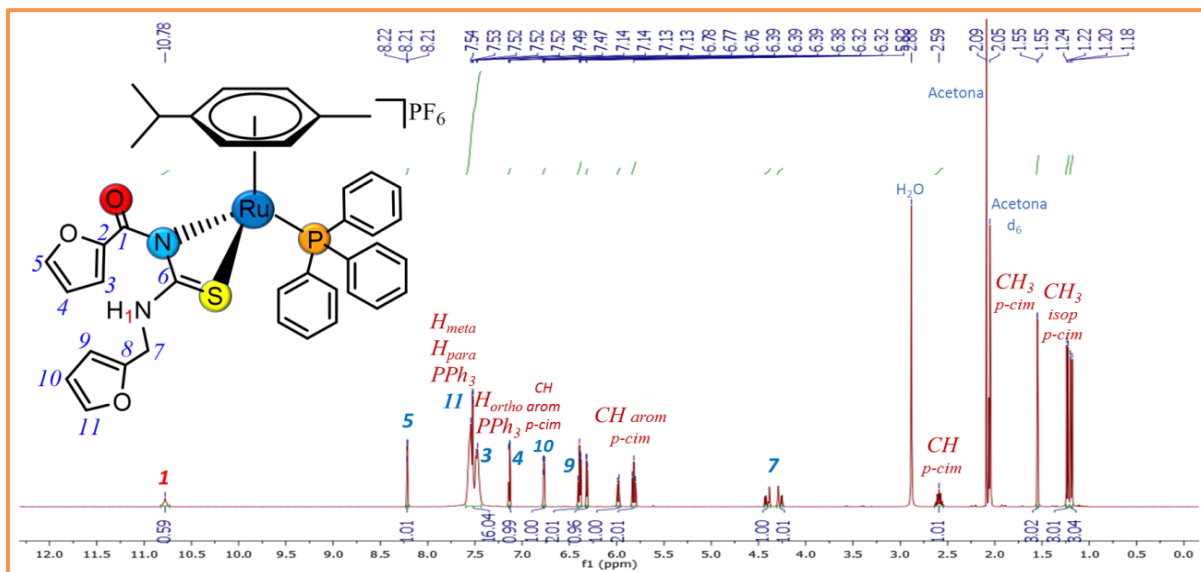


FIGURA 4.14- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do complexo **1a**, em acetona- $d_6$ .

TABELA 4.6 - Deslocamento químico dos hidrogênios dos grupos N-H dos ligantes aciltioureias e dos complexos.

	Ligantes		Complexos	
	N <sup>1</sup> -H	N <sup>2</sup> -H	N <sup>1</sup> -H	N <sup>2</sup> -H
<b>1</b>	10,83	9,63	11,72	11,55
<b>1a</b>	10,83	9,63	-	10,28
<b>2</b>	11,05	10,16	-	11,62
<b>3</b>	10,99	10,12	11,7	11,6
<b>4</b>	10,83	9,66	11,66	11,6
<b>4a</b>	10,83	9,66	-	10,78
<b>5</b>	10,98	10,13	-	11,67
<b>1m</b>	9,65	-	11,37	-
<b>2m</b>	9,46	-	11,18	-
<b>3m</b>	9,33	-	11,23	-
<b>4m</b>	9,19	-	11,05	-
<b>5m</b>	9,63	-	11,33	-
<b>6m</b>	9,45	-	11,14	-

Em relação aos hidrogênios dos ligantes aciltioureias, em geral, a coordenação promoveu um deslocamento dos sinais para regiões mais



desblindadas do espectro dos complexos com coordenação monodentada, sugerindo que o caráter doador do ligante é predominante neste modo de coordenação. O oposto é observado para os complexos com coordenação bidentada, onde os sinais deslocam-se para regiões mais blindadas do espectro. A variação dos deslocamentos químicos para os complexos com ambos modos de coordenação não foram pronunciados ( $\sim 0,1$  ppm), entretanto, é existente a presença desta tendência.

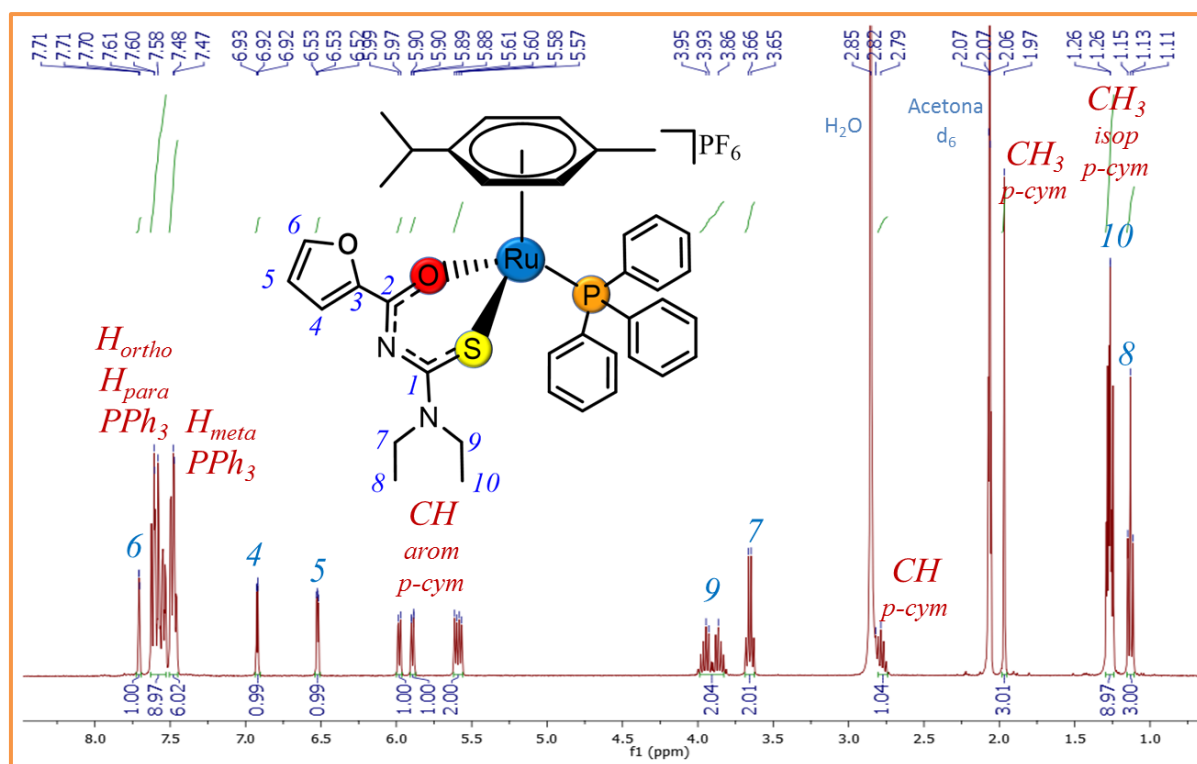


FIGURA 4.15- Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do complexo **4b**, em acetona- $d_6$ .

A técnica de COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  permitiu uma correta atribuição dos hidrogênios dos diferentes ligantes, sendo muito útil em regiões de sobreposição de sinais que compreende a faixa de 7,50-7,75 ppm dos espectros dos complexos. Por meio do acoplamento entre o hidrogênio de um dos grupos N-H dos ligantes aciltioureas monossubstituídas, com os hidrogênios referentes ao grupo  $\text{CH}_2$  deste ligante, atribuiu-se, seguramente, que tal hidrogênio refere-se ao grupo  $\text{N}^2\text{-H}$ .

A Figura 4.16 ilustra uma ampliação do experimento de COSY  $^1\text{H}$  do complexo **1**, na faixa 6,30-8,30, onde observa-se acoplamentos referentes aos ligantes trifenilfosfina e aciltioureia. Uma ilha de acoplamento entre os sinais dos hidrogênios em 7,54 ppm e 7,71 ppm, é estabelecida entre os hidrogênios da trifenilfosfina (9 hidrogênios orto/para e 6 hidrogênios meta, respectivamente). Uma outra região de acoplamento é formada por um hidrogênio do multiplete em 7,71 ppm com outros dois hidrogênio, um do sinal em 6,85 ppm (de forma mais intensa) e com o outro em 8,08 ppm (de forma menos intensa), o que permitiu atribuir que um dos hidrogênios do sinal em 7,71 ppm refere-se ao hidrogênio 4 da aciltioureia, enquanto os outros correspondem aos hidrogênios 5 e 6, respectivamente, que constituem o grupo  $\text{R}_1$ .

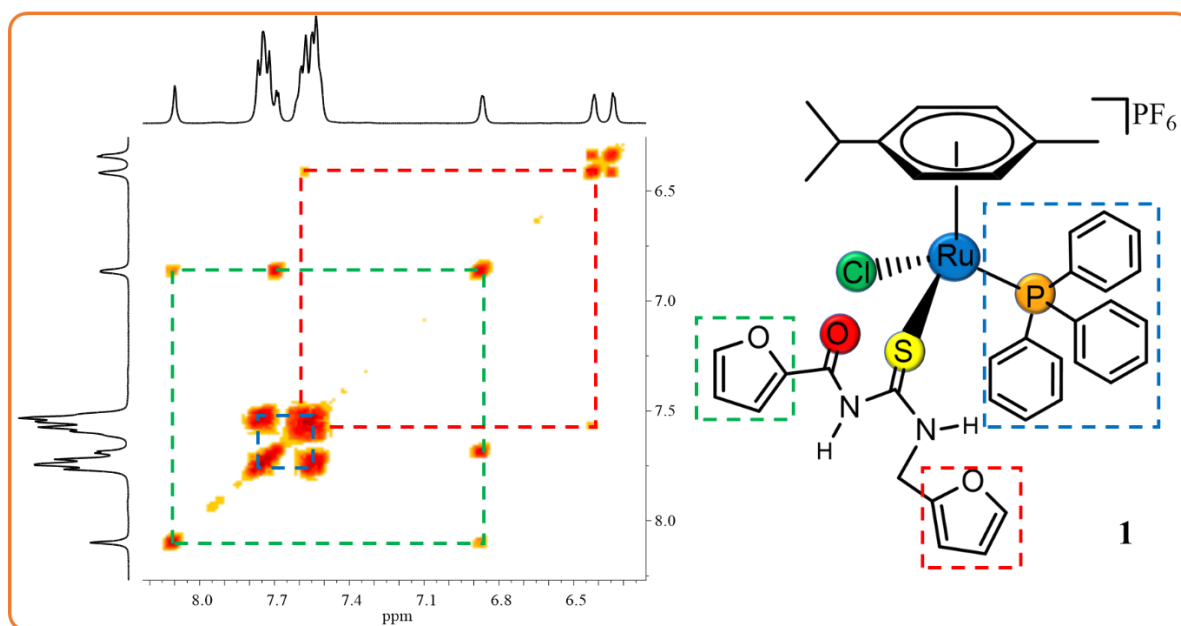


FIGURA 4.16- Experimento de RMN - COSY  $^1\text{H}$ , ampliado, do complexo **1**, em acetona- $\text{d}_6$ .

Uma terceira ilha de acoplamento, também nessa região, refere-se aos sinais dos hidrogênios do substituinte  $\text{R}_2$  da aciltioureia. Um dos hidrogênios do sinal em 7,54 ppm ( $\text{H}_{11}$ ), sobreposto aos hidrogênios da trifenilfosfina, acopla com os hidrogênios dos sinais em 6,32 ( $\text{H}_9$ ) e 6,40 ( $\text{H}_{10}$ ). Este mesmo hidrogênio (7,54 ppm) se acopla fracamente com os hidrogênios do grupo  $\text{CH}_2$  da aciltioureia,

o que indica que de fato trata-se do grupo  $R_2$ . Em geral, a mesma análise foi realizada para os demais complexos a fim de elucidar os sinais apresentados.

Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  para todos os complexos apresentam números de sinais apropriados para as estruturas propostas. Com relação aos ligantes aciltioureias, os sinais mais elucidativos dos complexos correspondem aos carbonos dos grupos  $\text{C}=\text{S}$  e  $\text{C}=\text{O}$ , assim basearemos, principalmente, as discussões deste tópico nesses grupos. Para todos os complexos o sinal mais desblindado do espectro corresponde ao carbono do grupo  $\text{C}=\text{S}$ , seguindo pelo sinal do carbono do grupo  $\text{C}=\text{O}$ . Esse comportamento é justificado estruturalmente, uma vez que na estrutura do ligante aciltioureia o carbono do grupo  $\text{C}=\text{S}$  encontra-se ligado a dois átomos de nitrogênio, enquanto que o carbono da carbonila está ligado a apenas um nitrogênio.

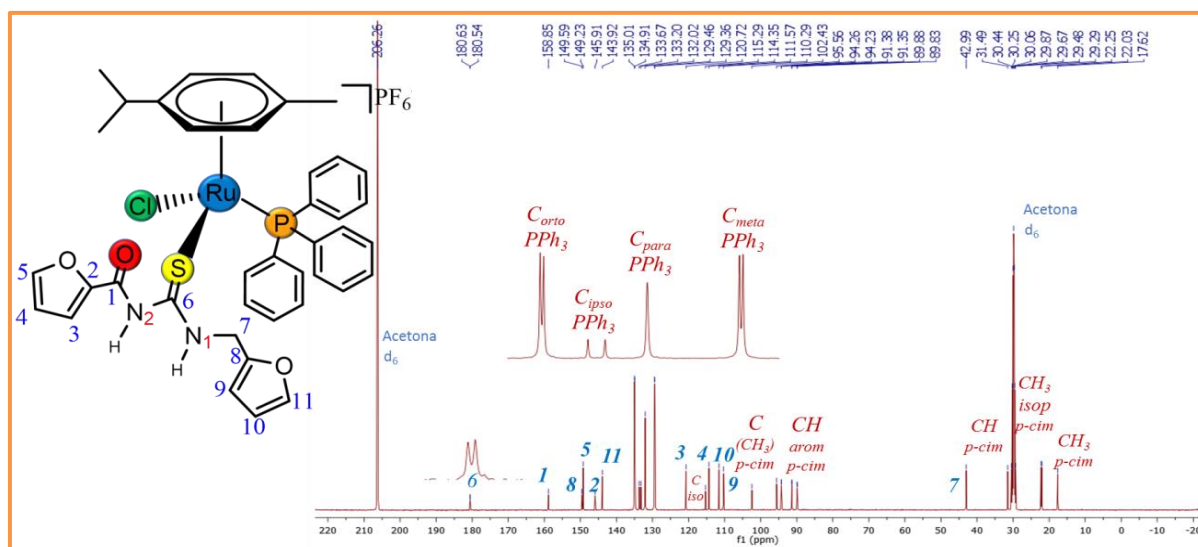


FIGURA 4.17- Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do complexo **1**, em acetona- $d_6$ .

Como mostrado na Figura 4.17, para os complexos com coordenação monodentada do ligante aciltioureia, o sinal referente ao carbono do grupo  $\text{C}=\text{S}$  apresenta-se como dubleto. Esta multiplicidade só foi observada após a coordenação do ligante e ocorre em decorrência do acoplamento do átomo de carbono ( $\text{C}=\text{S}$ ) com o átomo de fósforo do ligante trifenilfosfina. Acoplamentos P-C também são observados no espectro dos precursor, para os sinais dos carbonos dos grupos CH aromáticos do *p*-cimeno, CH orto, CH meta e do carbono

quartenário da trifenilfosina.<sup>63</sup> Tais acoplamentos também estão presentes nos espectros dos complexos. Este comportamento não foi observado para o sinal referente ao carbono do grupo C=O, sendo um indicativo da coordenação do enxofre.

A partir dos acoplamentos P-C, diferenciamos os carbonos quartenário, orto, meta e para dos anéis aromáticos do ligante trifenilfosfina. No ligante livre, estes acoplamentos geralmente apresentam-se na ordem  ${}^2J_{PC} > {}^1J_{PC} > {}^3J_{PC}$ , entretanto, após a coordenação do ligante essa ordem passa a ser diferente,  ${}^1J_{PC} > {}^3J_{PC} > {}^2J_{PC}$ , em decorrência da perda do par isolado de elétrons do átomo de fósforo.<sup>64</sup> Tal comportamento foi constatado nos complexos, onde observou-se  ${}^1J_{PC}$  (C<sub>quartenário</sub>) em torno de 48,0 Hz,  ${}^3J_{PC}$  (C<sub>meta</sub>) 10,5 Hz e  ${}^2J_{PC}$  (C<sub>orto</sub>) 9,5 Hz, e como esperado não houve acoplamento P-C para o C<sub>para</sub>. Adicionalmente, o espectro de RMN HSQC também apoia esta atribuição.

Após a coordenação do ligante aciltiourea, observou-se um deslocamento dos sinais referentes aos carbonos do ligante *p*-cimeno para regiões mais desblindadas do espectro, independente do modo de coordenação do ligante. Indicando que a entrada da aciltiourea na esfera de coordenação dos complexos promoveu uma diminuição da densidade eletrônica do *p*-cimeno. Entretanto, diferentemente dos deslocamentos pouco significativos dos sinais de hidrogênio dos espectros de RMN de  ${}^1H$ , em relação ao ligante livre, esses deslocamento para os sinais dos carbonos compreenderam a faixa entre 1-5 ppm nos espectros de RMN de  ${}^{13}C\{{}^1H\}$ .

A atribuição de todos os átomos de carbono do espectro de RMN de  ${}^{13}C\{{}^1H\}$  foi facilitada mediante a interpretação dos experimentos bidimensionais de HSQC (Figura 4.18), que mostram acoplamento entre carbono e hidrogênio que estão diretamente ligados. Assim, para os carbonos quartenários não há acoplamentos, o que permite também identificá-los seguramente. Entretanto, a correta atribuição dos carbonos quartenários foi possível a partir dos dados obtidos pela técnica bidimensional HMBC (Figura 4.19), que consiste na

visualização de acoplamentos entre carbonos e hidrogênios a longas distâncias. Através do acoplamento entre o sinal do carbono na região mais desblindada do experimento de HMBC com o sinal dos hidrogênios referentes ao grupo CH<sub>2</sub> (C<sub>7</sub>), pode-se confirmar que de fato este carbono pertence ao grupo C=S. A mesma análise foi realizada para os demais carbonos quartenários dos complexos.

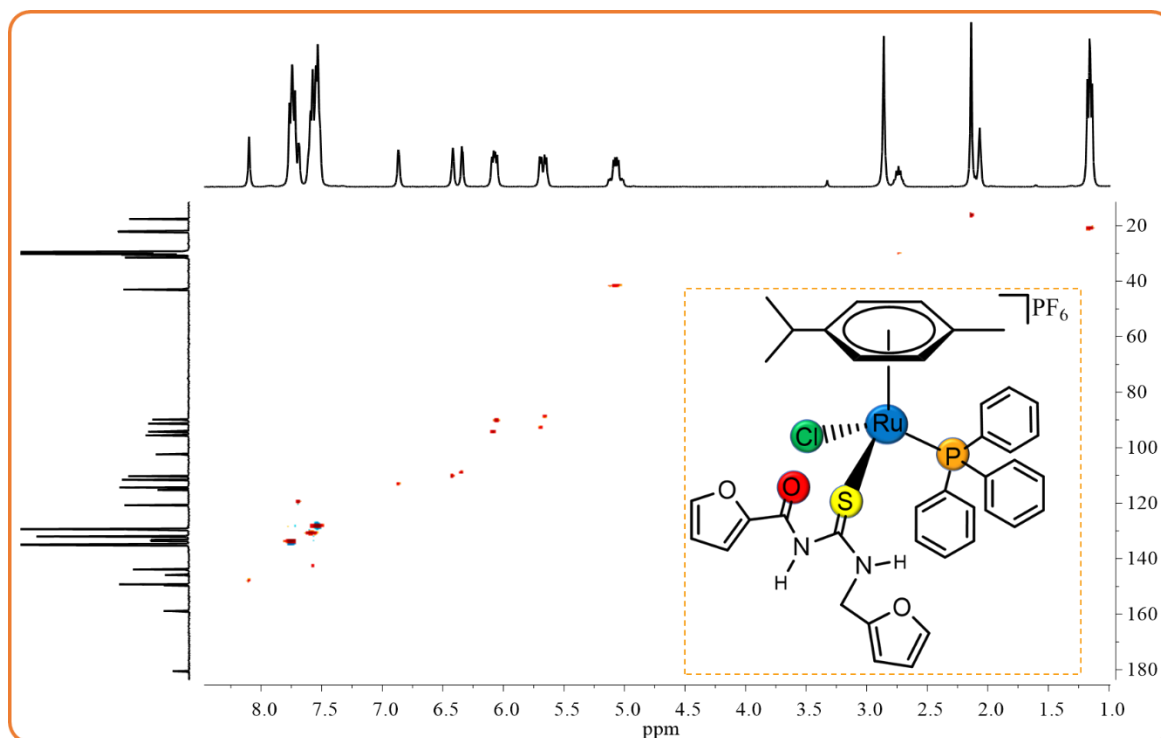


FIGURA 4.18- Experimento de RMN - HSQC do complexo **1**, em acetona-d<sub>6</sub>.

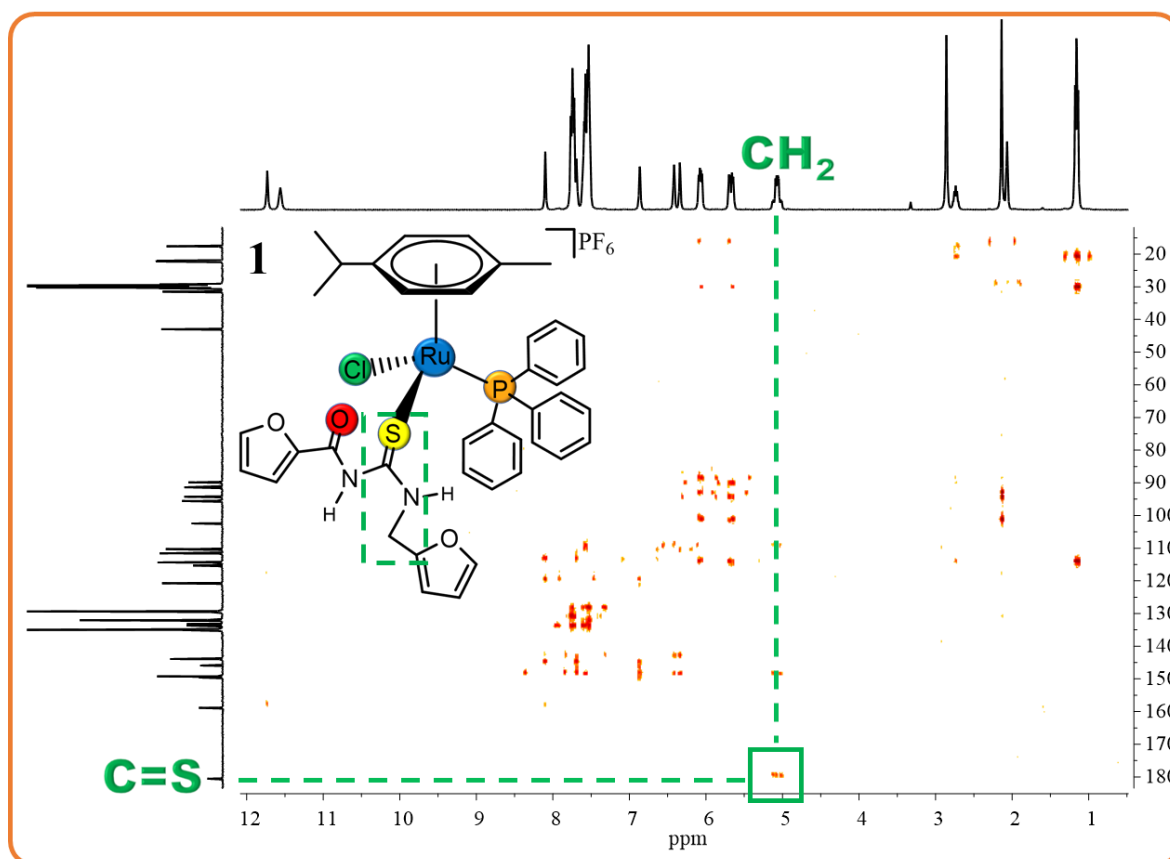


FIGURA 4.19- Experimento de RMN - HMBC do complexo **1**, em acetona- $d_6$ .

Diferentes tendências, em relação aos deslocamentos dos sinais dos carbonos referentes aos grupos C=S e C=O, quando comparado aos respectivos ligantes livres, foram observadas para os distintos modos de coordenação das aciltioureas, como por ser observado na Tabela 4.7 e Figura 4.20. Para os complexos monodentados não foram observados significativos deslocamentos em relação aos ligantes livres, entretanto uma tendência foi mantida: o sinal referente ao carbono do C=S deslocou-se para regiões mais blindadas do espectro, enquanto que o carbono da carbonila deslocou-se para regiões mais desblindadas. Com a coordenação da aciltiourea via átomo de enxofre, houve um enfraquecimento da ligação C=S como evidenciado pela técnica de raios X, onde observou-se o aumento da distância desta ligação. Em contrapartida, os comprimentos das ligações  $\text{HN}^1\text{-C(S)}$  e  $\text{HN}^2\text{-C(S)}$  apresentaram discreta diminuição, enquanto que a distância da ligação  $\text{HN}^1\text{-C(O)}$  apresentou um discreto aumento. Este comportamento pode está relacionado com uma deslocalização de carga dos

átomos de nitrogênio para o grupo C=S, a fim de compensar a perda de carga do enxofre com a coordenação. Neste sentido, o grupo C=O perde um pouco da sua densidade eletrônica como consequência da carga demanda do átomo de nitrogênio para o enxofre.

A mesma tendência foi observada para os complexos com coordenação S,O (**1b-6b**), entretanto com deslocamentos pronunciados, próximos a 10 ppm. Este comportamento ocorre devido à deslocalização dos elétrons  $\pi$  no quelato de seis membros formado após a complexação da aciltiourea ao rutênio, como suportado pela técnica de difração de raios-X.<sup>39,65</sup> Já os complexos **1a** e **4a**, com coordenação S,N, apresentaram deslocamentos para regiões mais desblindadas para ambos os sinais referentes aos carbonos dos grupos C=S e C=O. A fim de suprir a deficiência de carga negativa do átomo de nitrogênio, devido à coordenação do mesmo, houve uma deslocalização eletrônica dos grupos C=S e C=O em direção a este átomo, como consequência observou-se deslocamentos para regiões mais desblindadas do espectro destes átomos de carbono.

TABELA 4.7 - Deslocamentos químicos para os sinais referentes aos carbonos dos grupos C=O e C=S dos ligantes aciltioureas e dos respectivos complexos, em acetona-d<sub>6</sub> (experimental) e teórico.

	RMN de <sup>13</sup> C Experimental				RMN de <sup>13</sup> C Teórico			
	Ligantes		Complexos		Ligantes		Complexos	
	C=O	C=S	C=O	C=S	C=O	C=S	C=O	C=S
<b>1</b>	158,0	181,1	158,9	180,6	157,3	179,2	156,8	177,2
<b>1a</b>	-	-	166,4	190,1	-	-	164,1	184,7
<b>2</b>	162,6	181,1	163,3	180,4	-	-	-	-
<b>3</b>	162,8	181,4	163,4	180,8	-	-	-	-
<b>4</b>	157,7	180,8	158,8	180,1	-	-	-	-
<b>4a</b>	-	-	166,6	189,9	-	-	-	-
<b>5</b>	162,6	181,1	163,4	180,4	-	-	-	-
<b>1m</b>	164,5	181,6	165,2	181,0	163,7	179,4	164,6	178,2
<b>1b</b>	-	-	172,4	174,9	-	-	164,8	167,6
<b>2m</b>	164,9	181,5	165,7	180,7	164,0	177,8	166,0	177,0
<b>2b</b>	-	-	172,7	173,7	-	-	168,0	169,2
<b>3m</b>	154,6	180,5	155,1	180,0	155,7	185,4	152,8	176,3
<b>3b</b>	-	-	164,1	174,0	-	-	156,6	167,6
<b>4m</b>	155,1	180,0	155,8	179,8	153,1	177,3	152,9	175,0
<b>4b</b>	-	-	164,4	172,6	-	-	158,7	168,9
<b>5m</b>	159,0	181,0	159,6	180,3	157,8	178,6	156,8	177,1
<b>5b</b>	-	-	168,0	173,8	-	-	159,0	166,5
<b>6m</b>	159,4	180,5	160,1	180,0	158,7	178,5	157,2	177,2
<b>6b</b>	-	-	168,3	172,5	-	-	161,0	162,4



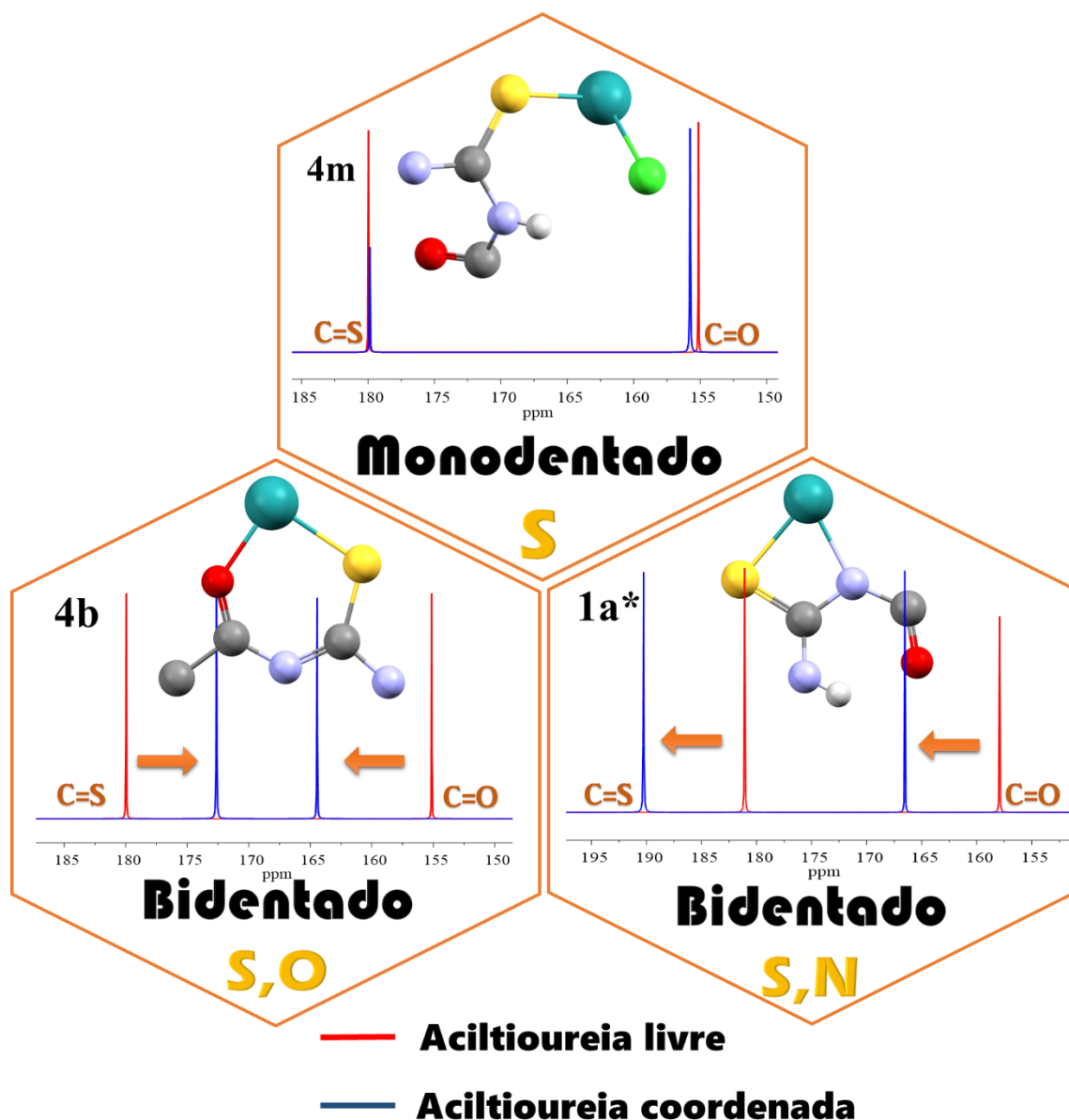


FIGURA 4.20- Sinais de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  referentes aos grupos C=S e C=O dos espectros dos complexos **1**, **4b** e **1a**, em acetona- $d_6$ .

Dados obtidos pela técnica de DFT, em geral, foram compatíveis com os dados experimentais, revelando as mesmas tendências observadas para os diferentes modos de coordenação do ligante aciltiureia ao metal (Tabela 4.7). Para a coordenação monodentada a tendência não é linear, mas é aceitável visto que os deslocamentos em relação ao ligante livre e respectivo complexo são muito pequenos. Assim, sugerimos que a técnica de RMN de  $^{13}\text{C}$  mostra-se muito útil na predição do modo de coordenação de ligantes aciltiureias a diferentes centros

metálicos, baseando-se apenas nos deslocamentos dos grupos C=S e C=O dos complexos, em relação aos ligantes livres.

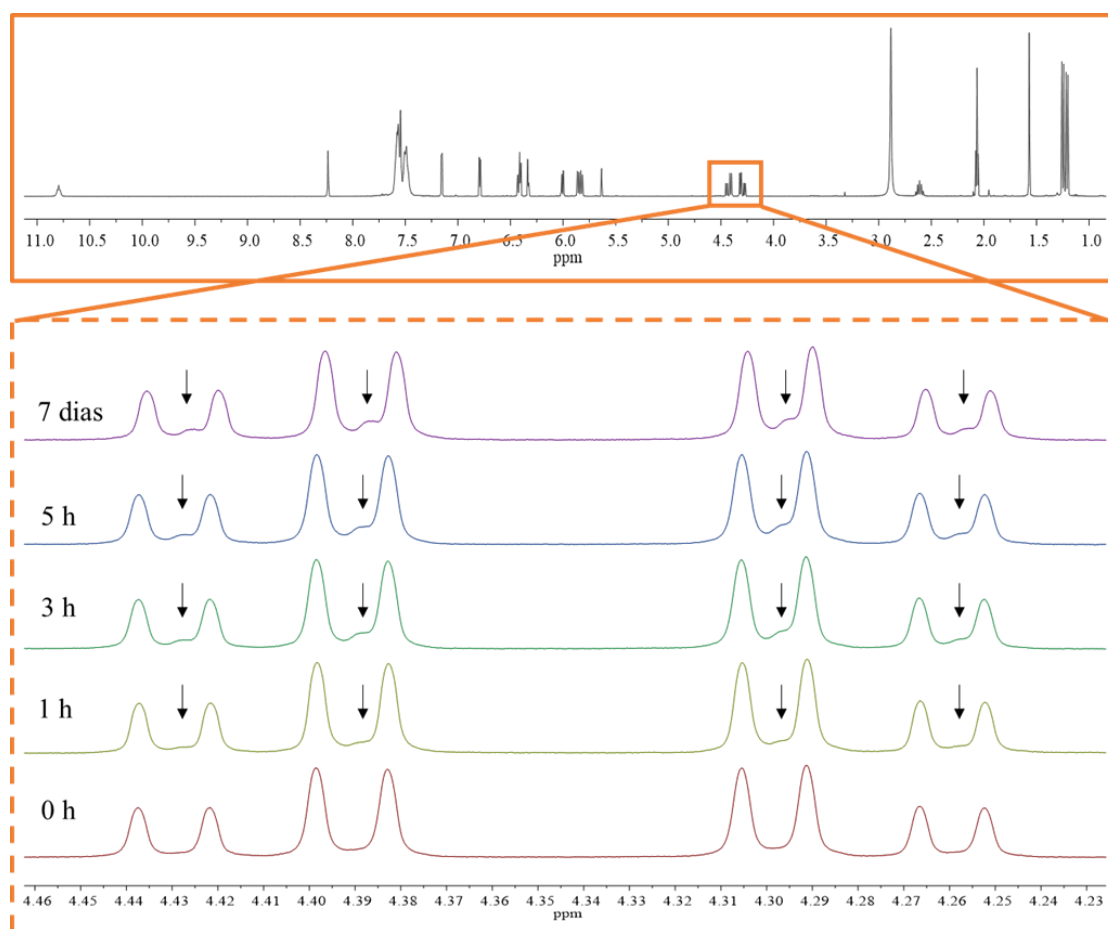


FIGURA 4.21- Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  do complexo **1a** em acetona- $\text{d}_6$ , a temperatura ambiente em diferentes tempos, com ampliação para o sinal referente ao grupo  $\text{CH}_2$ .

Um comportamento peculiar foi observado para os complexos **1a** e **4a**. Em solução, uma evidência da duplicação dos sinais referentes aos hidrogênios do grupo  $\text{CH}_2$  do ligante aciltiourea foi constatada por meio do monitoramento dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  destes complexos. Na Figura 4.21 pode ser visto uma tendência de processo de conversão, onde o sinal aumenta sua intensidade com o tempo. Comportamento similar também foi observado para os sinais que compreendem aos carbonos dos respectivos grupos C=S, C=O e  $\text{CH}_2$  (C7) em seus espectros de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ . Após um tempo de 5 h, é clara a duplicação destes sinais (Figura 4.22).

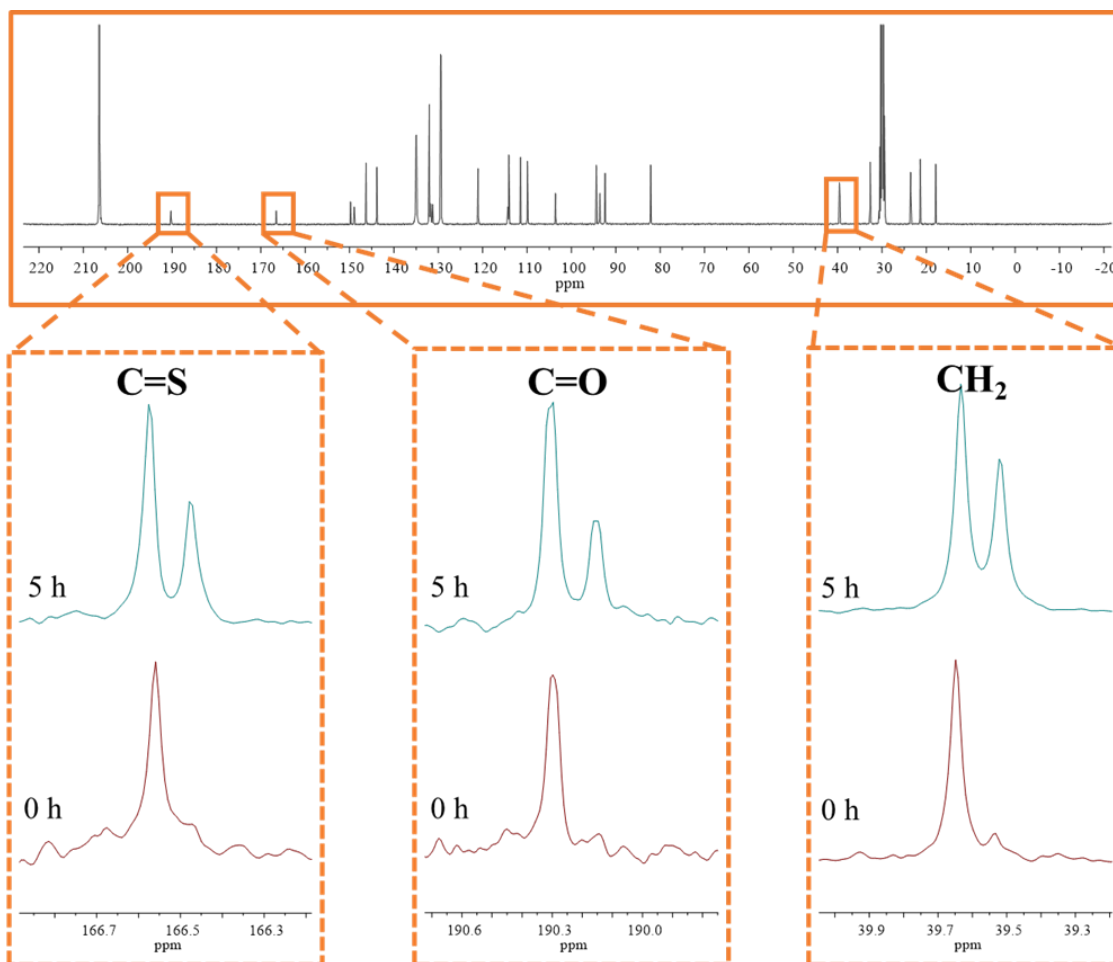


FIGURA 4.22- Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do complexo **1a**, em acetona- $\text{d}_6$ , a temperatura ambiente em diferentes tempos, com ampliação para os sinais referentes aos grupos C=S, C=O e  $\text{CH}_2$ .

No estado sólido todos os complexos são misturas racêmicas, com o rutênio como centro assimétrico, como ilustrado na Figura 4.23. Mas o comportamento de duplicação dos sinais dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  pode estar associado à presença de diastereoisômeros. Entretanto, para a existência de diastereoisômeros um mínimo de dois centros quirais é requerido. Átomos de nitrogênio  $\text{sp}^3$  são aptos a atuar como centros assimétricos, assim como átomos de carbono, contudo a rápida inversão de configuração deste átomo, devido à baixa barreira energética associada a esta inversão, dificulta, determinadamente, o controle desta quiralidade (Figura 4.24).<sup>66</sup>

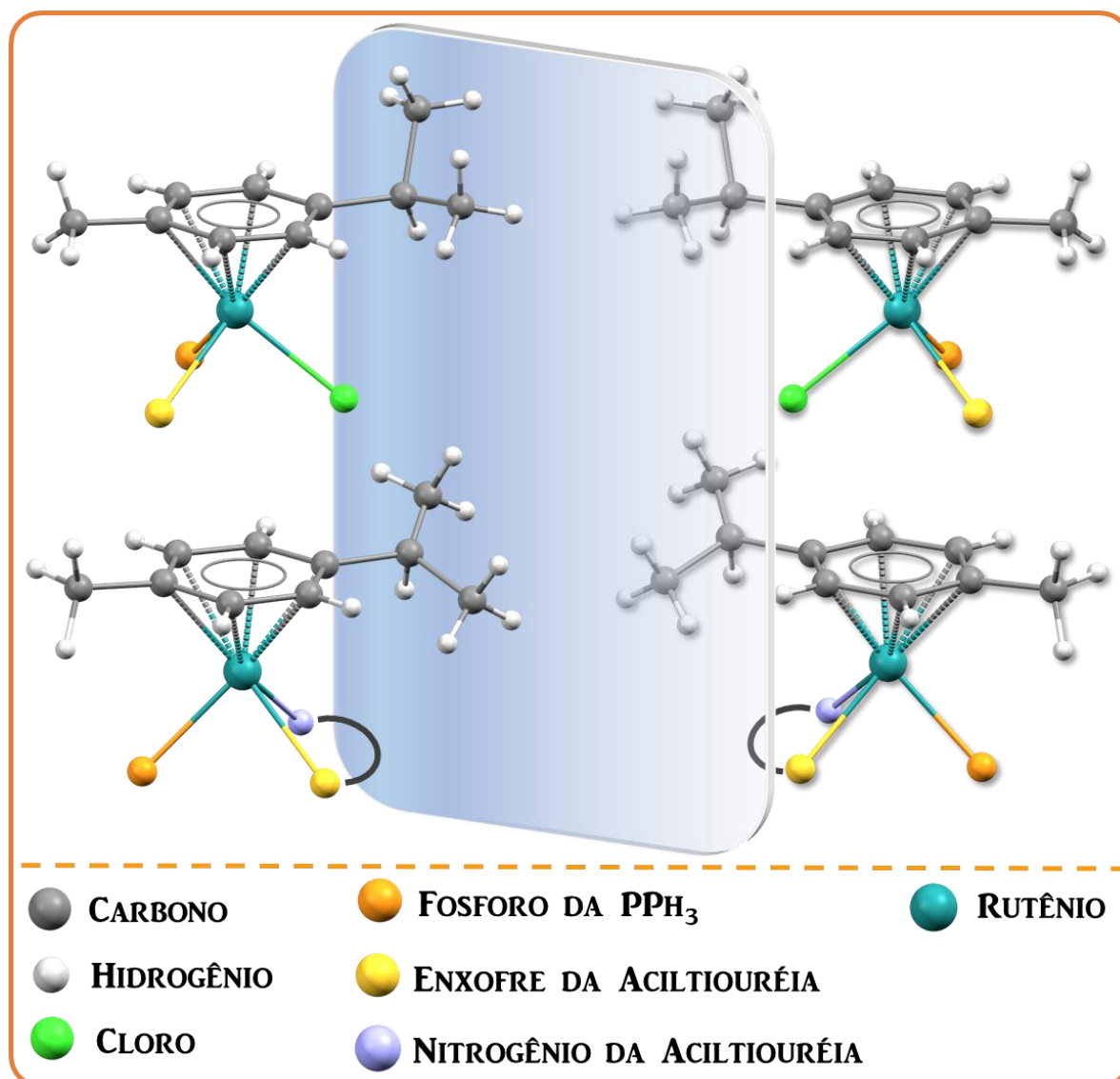


FIGURA 4.23 - Mistura racêmica das estruturas cristalinas dos complexos **1**, **4**, **1a** e **4a**.

A coordenação do ligante aciltioureia ao metal na forma bidentada, via átomo de nitrogênio, possibilitou discriminar tanto os sinais dos hidrogênios do grupo CH<sub>2</sub>(C7) no espectro de RMN de <sup>1</sup>H, quanto os carbonos dos grupos C=S, C=O e CH<sub>2</sub> (C<sub>7</sub>) nos espectros de RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H}. Curiosamente, todos os grupos duplicados estão diretamente ligados aos átomos de nitrogênio. Tal fato nos leva a propor que a coordenação da aciltioureia ao rutênio promoveu um aumento na barreira energética de interconversão dos isômeros, permitindo evidenciar a presença de diastereoisômeros. Estudos reportados na literatura com ciclopeptídeos, que apresentam nitrogênio quiral em suas estruturas, revelaram

que o aumento do impedimento estérico das ligações de hidrazina, aumentou significativamente a barreira energética associada a inversão das configurações.<sup>67</sup>

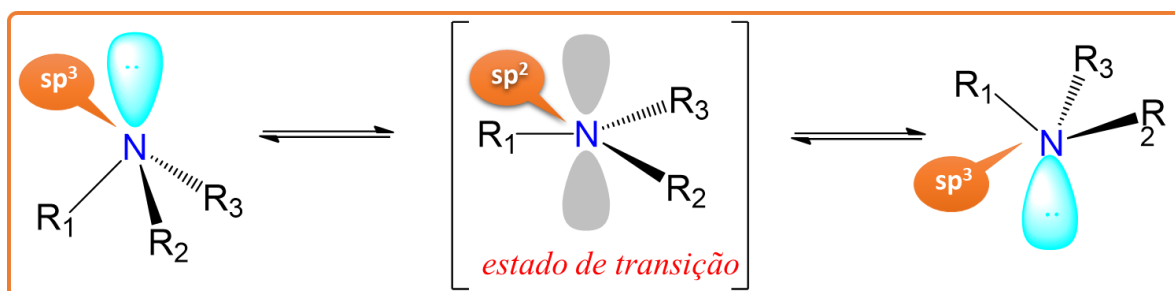


FIGURA 4.24- Esquema que ilustra a inversão de configuração do átomo de nitrogênio assimétrico.

## 4.2- Avaliação Biológica dos Complexos

### 4.2.1 - Ensaio de Citotoxicidade

A citotoxicidade dos complexos foi avaliada pelo método MTT em diferentes linhagens celulares humanas. Os valores de  $IC_{50}$  (concentração correspondente à inibição do crescimento celular em 50%), foram determinados a partir de um tempo de exposição dos complexos às células de 48 h. A citotoxicidade do cisplatina foi avaliada como controle positivo. Para os complexos da série 1, a citotoxicidade foi determinada nas linhagens humanas de pulmão, tumoral (A549) e não tumoral (MRC-5), enquanto que para os complexos da série 2, além das linhagens de pulmão a citotoxicidade também foi avaliada nas linhagens tumorais humanas de mama (MDA-MB-231) e próstata (DU-145) e não tumoral de mama (MCF-10A). A Tabela 4.8 evidencia os valores de  $IC_{50}$  e índices de seletividade (IS) para os complexos de rutênio, cisplatina, ligantes e precursor.

TABELA 4.8 - Valores de IC<sub>50</sub> (μM) em diferentes linhagens tumorais e não tumorais e índices de seletividade (IS).

	48 h						24 h		
	DU-145	A549	MDA-MB-231	MRC-5	MCF-10A	IS <sup>1*</sup>	IS <sup>2*</sup>	A549	MDA-MB-231
<b>1</b>	-	0,63±0,09	-	1,28±0,09	-	2,03	-	2,54±0,15	-
<b>1a</b>	-	0,25±0,04	-	1,35±0,10	-	5,40	-	1,34±0,03	-
<b>2</b>	-	0,57±0,04	-	0,95±0,19	-	1,67	-	-	-
<b>3</b>	-	0,54±0,02	-	0,96±0,12	-	1,78	-	-	-
<b>4</b>	-	0,61±0,12	-	2,14±0,19	-	3,51	-	-	-
<b>4a</b>	-	0,53±0,01	-	0,83±0,01	-	1,57	-	-	-
<b>5</b>	-	0,61±0,08	-	1,46±0,94	-	2,39	-	-	-
<b>1m</b>	5,60±0,33	1,39±0,22	0,73±0,07	1,61±0,54	4,25±0,55	1,16	5,82	-	-
<b>2m</b>	3,87±0,09	0,62±0,12	0,74±0,02	0,94±0,05	3,45±0,22	1,52	4,66	-	-
<b>3m</b>	6,01±0,26	1,83±0,01	0,50±0,02	2,47±0,27	5,72±0,44	1,35	11,44	-	-
<b>4m</b>	5,73±0,27	0,69±0,18	0,56±0,03	1,12±0,18	4,55±0,22	1,62	8,12	-	-
<b>5m</b>	4,45±0,62	0,71±0,02	0,67±0,09	1,23±0,33	6,67±0,95	1,73	9,95	-	3,18±0,19
<b>6m</b>	2,89±0,05	0,51±0,02	0,38±0,05	1,22±0,50	6,61±0,51	2,39	17,39	-	2,73±0,47
<b>1b</b>	7,47±0,41	2,41±0,03	0,61±0,13	1,83±0,43	3,14±0,58	0,76	5,15	-	-
<b>2b</b>	3,27±0,17	0,87±0,02	0,39±0,18	0,87±0,04	5,50±0,31	1,00	14,10	-	-
<b>3b</b>	7,37±0,94	1,41±0,11	0,46±0,08	1,85±0,27	6,17±0,13	1,31	13,41	-	-
<b>4b</b>	6,22±0,08	0,56±0,08	0,35±0,09	1,29±0,01	3,46±0,20	2,30	9,89	-	2,23±0,12
<b>5b</b>	3,19±0,75	1,32±0,14	0,34±0,05	1,11±0,06	6,19±0,25	0,84	19,34	-	1,29±0,38
<b>6b</b>	4,08±0,19	0,59±0,07	0,28±0,02	1,03±0,02	4,26±0,38	1,75	15,21	-	-
<b>Ligantes</b>	>100	>100	>100	>100	>100	-	-	-	-
<b>Precursor</b>	49,68±1,79	12,73±0,17	21,63±1,31	50,65±0,21	19,09±1,03	3,98	0,88	-	-
<b>Cisplatina</b>	2,00±0,47	11,84±1,19	2,44±0,20	29,09±0,78	29,45±0,85	2,46	12,07	-	-

\*IS<sup>1</sup>=IC<sub>50</sub> A549/IC<sub>50</sub> MRC-5 e IS<sup>2</sup>= IC<sub>50</sub> MDA-MB-231/IC<sub>50</sub> MCF-10A

Todos os complexos apresentaram significativa atividade antiproliferativa em todas as linhagens avaliadas, com valores de  $IC_{50}$  menores do que os obtidos para o precursor e os ligantes livres. A coordenação do ligante aciltiourea ao rutênio aumentou a citotoxicidade de ambos, precursor e ligante, devido à formação de um novo composto com característica distintas. A atividade citotóxica dos complexos **1-5** foi consideravelmente superior a do fármaco de referência, cisplatina. Os efeitos observados para estes compostos foram similares, não nos permitindo realizar uma correlação estrutura-atividade. Apesar de existir certo grau de seletividade destes complexos à células tumorais, os índices de seletividade foram baixos não diferindo significativamente do índice observado para o cisplatina. Dentro da série 1, os complexos **1a** e **4a**, foram mais ativos que os respectivos complexos **1** e **4**. O complexo **1a** foi o mais ativo e seletivo desta série, sendo mais de duas vezes mais ativo do que o complexo **1** e seletivo do que ambos, complexo **1** e cisplatina.

Os complexos da série 2 foram notavelmente mais ativos do que o cisplatina nas linhagens MDA-MB-231 e A549, enquanto que para a linhagem DU-145 foram, em geral, da ordem de duas a três vezes menos ativos. Por esta razão, avaliamos a seletividade destes complexos nas linhagens de mama e pulmão. De maneira predominante, os IS observados para a linhagem tumoral de pulmão foram baixos, os quais também não superaram ao apresentado pelo cisplatina. Entretanto, para a linhagem MDA-MB-231 é evidente a seletividade dos complexos desta série, em detrimento da linhagem não tumoral, apresentando valores de IS que chegam próximos a 20 (complexos **5b** e **6b**).

A citotoxicidade dos complexos da série 2 apresentaram-se similares em relação à linhagens específicas, entretanto, de forma geral, uma tendência foi observada: os complexos com coordenação monodentada (**1m-6m**) foram mais ativos do que seus complexos análogos na coordenação bidentada nas linhagens tumorais de próstata e pulmão. Comportamento oposto foi evidenciado para as

células MDA-MB-231, onde os complexos bidentados (**1b-6b**), apresentaram menores valores de IC<sub>50</sub> do que os observados para os complexos monodentados.

Em geral, os complexos com substituinte R<sub>1</sub>=tiofeno mostraram-se mais ativos em todas as linhagens estudadas. Também, observamos uma relação entre o tamanho da cadeia do substituinte R<sub>2</sub> e a atividade, que indica que a citotoxicidade dos complexos aumenta com o aumento da cadeia carbônica, onde os complexos com R<sub>2</sub>=etil foram mais ativos do que os demais. Deste modo, o complexo mais ativo nas células tumorais de próstata e pulmão foi o **6m**, enquanto que para as células tumorais de mama foi o **6b**, mas o complexo **6m** foi o mais seletivo para esta linhagem. Muitos estudos evidenciam que o aumento da cadeia carbônica de diferentes ligantes aumentam a lipofilicidade dos complexos, ocasionando em um aumento da citotoxicidade dos mesmos, uma vez que a lipofilicidade possui grande influência no acúmulo celular dos complexos.<sup>68-70</sup>

Comparando a citotoxicidade dos complexos das séries 1 e 2 com compostos similares, [Ru(η<sup>6</sup>-*p*-cimeno)Cl<sub>2</sub>(Tu)] e [Ru(η<sup>6</sup>-*p*-cimeno) Cl (Tu)] (Figura 1.9 e Tabela 1.1), onde Tu= aciltiourea coordenada monodentada ou bidentada, obtidos de investigações anteriores do nosso grupo de pesquisa, constatamos uma atividade muito superior para os complexos aqui estudados.<sup>41</sup> Os complexos **1-5** apresentaram atividade que chegam a ordem de 80 vezes maior quando comparado aos complexos análogos sem o ligante trifenilfosfina. A principal diferença estrutural dos complexos situa-se no ligante trifenilfosfina, e como consequência da presença do cloro ou trifenilfosfina na esfera de coordenação dos complexos, a carga também se diferencia. A substituição dos cloros pela trifenilfosfina gera compostos catiônicos em detrimento de compostos neutros. Assim, a fim de investigarmos qual o fator preponderante na citotoxicidade dos complexos, a carga ou o ligante trifenilfosfina, realizou-se a síntese de um novo complexo, **1c**, com carga catiônica, no qual utilizamos o



ligante 4-metilpiridina, Figura 4.25 (a síntese e caracterização deste complexo encontram-se na seção de apêndice).

Os valores de  $IC_{50}$  (48 h) do complexo **1c** corresponderam a  $25,58 \pm 0,38$  e  $16,59 \pm 0,49$   $\mu\text{M}$  nas linhagens tumorais A549 e MDA-MB-231, respectivamente. Estes valores encontram-se dentro da faixa de  $IC_{50}$  (10,8 - 44,20  $\mu\text{M}$ ) apresentados para os complexos similares, com carga neutra e coordenados ao ligante clorido.<sup>41</sup> Além disso, o complexo **1c** foi também, indiscutivelmente menos citotóxico do que os complexos das séries 1 e 2. O que nos permite conferir que o fator determinante para a maior atividade dos complexos das séries 1 e 2 está associado a presença do ligante trifenilfosfina.

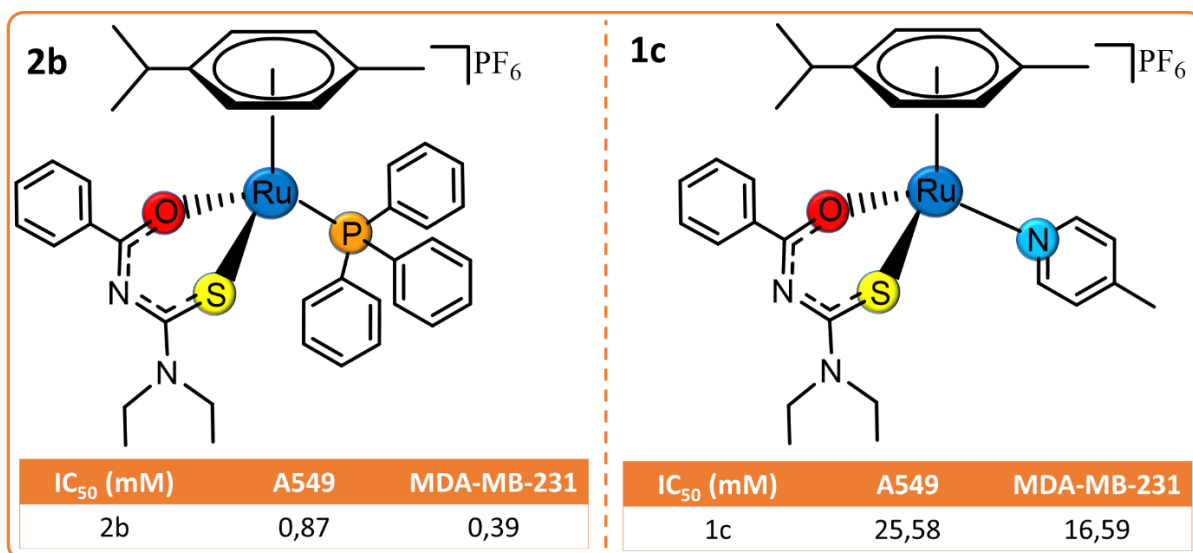


FIGURA 4.25- Estruturas dos complexos  $[\text{Ru}(\text{N}'\text{-(benzoil)-N}'\text{N}'\text{-dimetilthiourea})(4\text{-metilpiridina})]\text{PF}_6$  (**1c**) e **2b** com seus respectivos valores de  $IC_{50}$  nas linhagens tumorais de pulmão (A549) e mama (MDA-MB-231).

Há reportado na literatura que o ligante trifenilfosfina exerce influência, de maneira determinante, na atividade citotóxica de complexos  $\text{Ru}(\text{II})$ -arenos.<sup>71</sup> Neste estudo foi avaliada a citotoxicidade de cinco complexos com diferentes ligantes piridínicos. A Figura 4.26 ilustra as estruturas dos complexos com seus respectivos valores de  $IC_{50}$  na linhagem tumoral HL60 (leucemia). Todos os complexos com trifenilfosfina em suas estruturas apresentaram

citotoxicidade, com exceção do complexo sem este ligante. Os autores justificaram a atividade dos complexos fosfínicos com a capacidade que este ligante conferiu aos complexos de se intercalarem ao DNA. Entretanto, acreditamos que o ligante trifenilfosfina possui fundamental influência na lipofilicidade dos complexos, permitindo que os mesmos permeiem com maior facilidade a membrana celular, acarretando maior acumulação do complexo na célula. Realizando uma análise dos valores de  $IC_{50}$  entre os complexos fosfínicos da Figura 4.26, observa-se que os menores valores referem-se aos complexos com os ligantes dimetilpiridina, indicando que de fato a atividade deve estar associada à lipofilicidade dos complexos.

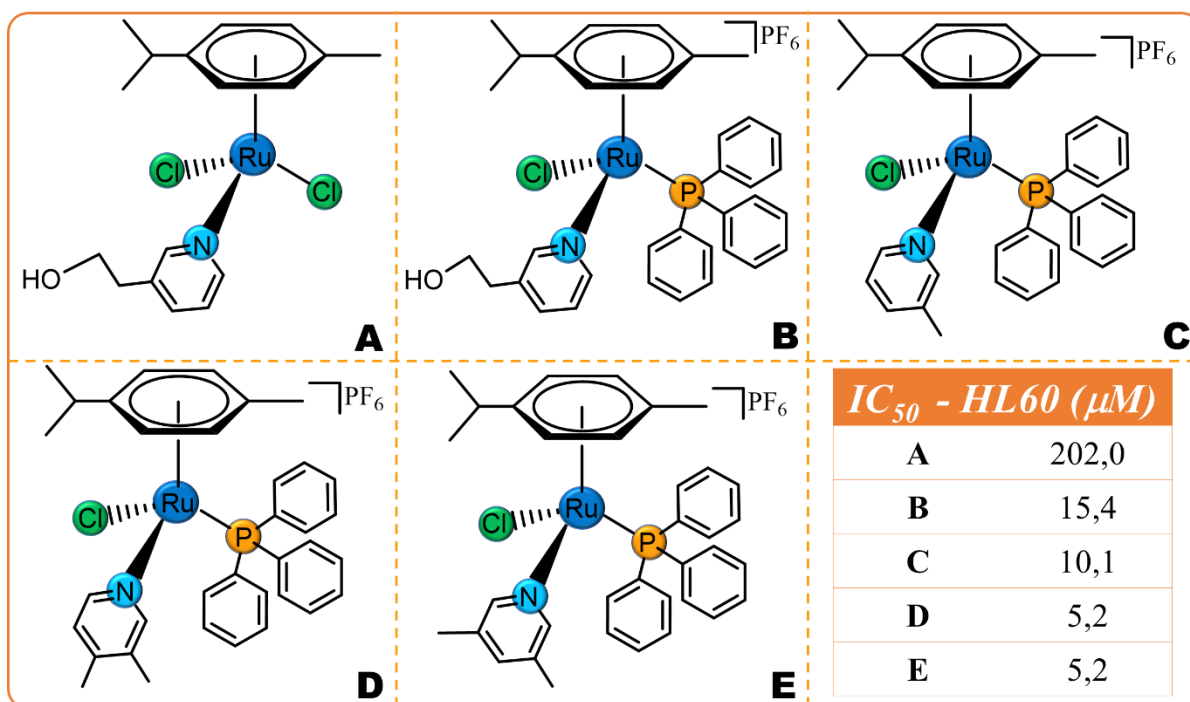


FIGURA 4.26 - Estrutura dos complexos Ru(II)-areno com seus respectivos valores de  $IC_{50}$  ( $\mu M$ ) na linhagem tumoral de leucemia HL60.<sup>71</sup>

De posse dos resultados de citotoxicidade, os complexos que se destacaram, em relação à atividade e seletividade **1a**, **5b** e **6b** e seus respectivos complexos análogos na coordenação monodentada, **1**, **5m** e **6m** foram escolhidos para o prosseguimento dos estudos biológicos. Os estudos dos complexos **1** e **1a** foram realizados na linhagem A549, enquanto que para os complexos **5m**, **5b**, **6m**

e **6b** a linhagem MDA-MB-231 foi utilizada. Por este motivo a atividade citotóxica também foi determinada nestas linhagens no tempo de 24 h (Tabela 4.8). Os valores de  $IC_{50}$  dos complexos no tempo de 24 h foram maiores do que os observados no período de 48 h, o que indica que a citotoxicidade dos complexos é tempo dependente.

#### **4.2.2 - Ensaio Morfológico**

A investigação das alterações morfológicas induzidas pelos complexos nas células foi baseada na avaliação de diferentes concentrações dos complexos, que corresponderam aos respectivos valores de  $IC_{50}$ ,  $2 \times IC_{50}$ ,  $5$  ou  $10 \times IC_{50}$  dos complexos, nos tempos de exposição de 24 e 48 h. As imagens capturadas estão ilustradas na Figura 4.27 e seção de apêndice.

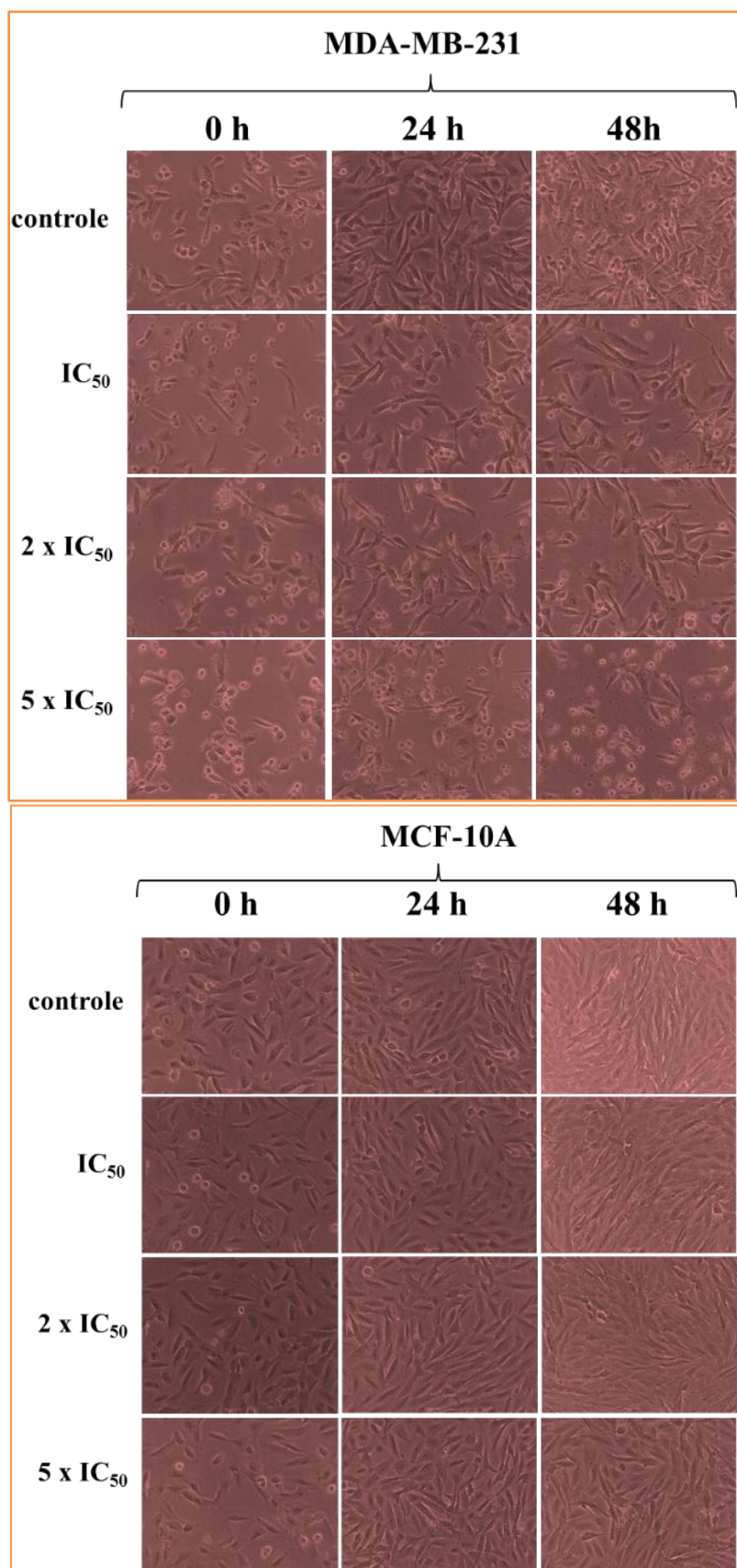


FIGURA 4.27- Morfologia das células MDA-MB-231 e MCF-10A após tratamento com o complexo **6b** nos tempos de 0, 24 e 48 h

Todos os complexos avaliados (**1**, **1a**, **5m**, **6m**, **5b** e **6b**) apresentaram comportamento similar em suas respectivas linhagens tumorais, onde observou-se as seguintes alterações morfológicas: diminuição da densidade celular, células no formato circular e células desaderidas. Os efeitos foram intensificados com o aumento da concentração dos complexos. Tal comportamento é reportado na literatura como um indicativo de morte celular via apoptose.<sup>72</sup> Na linhagem não tumoral MRC-5 as alterações morfológicas iniciaram-se na concentração de 2 x IC<sub>50</sub>, dos complexos **1** e **1a** em 24 h, observando-se uma diminuição da densidade celular. Na maior concentração investigada, 10 x IC<sub>50</sub>, as células perderam sua aderência e apresentaram formato circular, sugerindo morte celular. Esses resultados são coerentes com os IS observados para estes complexos. Já na linhagem não tumoral MCF-10A, os complexos **5m**, **6m**, **5b** e **6b** não induziram significativas alterações, além da diminuição da densidade celular na maior concentração estudada, 5 x IC<sub>50</sub>. Tais resultados demonstram a seletividade dos complexos às linhagens tumorais e corrobora com os IS apresentados para os respectivos complexos.

### 4.2.3 - Ensaio de Formação de Colônias

Este ensaio fornece informações acerca da citotoxicidade dos complexos e do comportamento reprodutivo celular após tratamento com os compostos de interesse.<sup>73</sup> Todos os complexos estudados (**1**, **1a**, **5m**, **6m**, **5b** e **6b**) apresentaram efeito citotóxico e citostático nas respectivas linhagens A549 e MDA-MB-231, uma vez que os mesmos promoveram inibição na formação de colônias, como também diminuição do tamanho das mesmas. Como pode ser observado na Figura 4.28 e seção de apêndice, o número e tamanho das colônias formadas diminuiram proporcionalmente com o aumento da concentração dos complexos, indicando que as células não se recuperaram do dano causado pelos compostos.

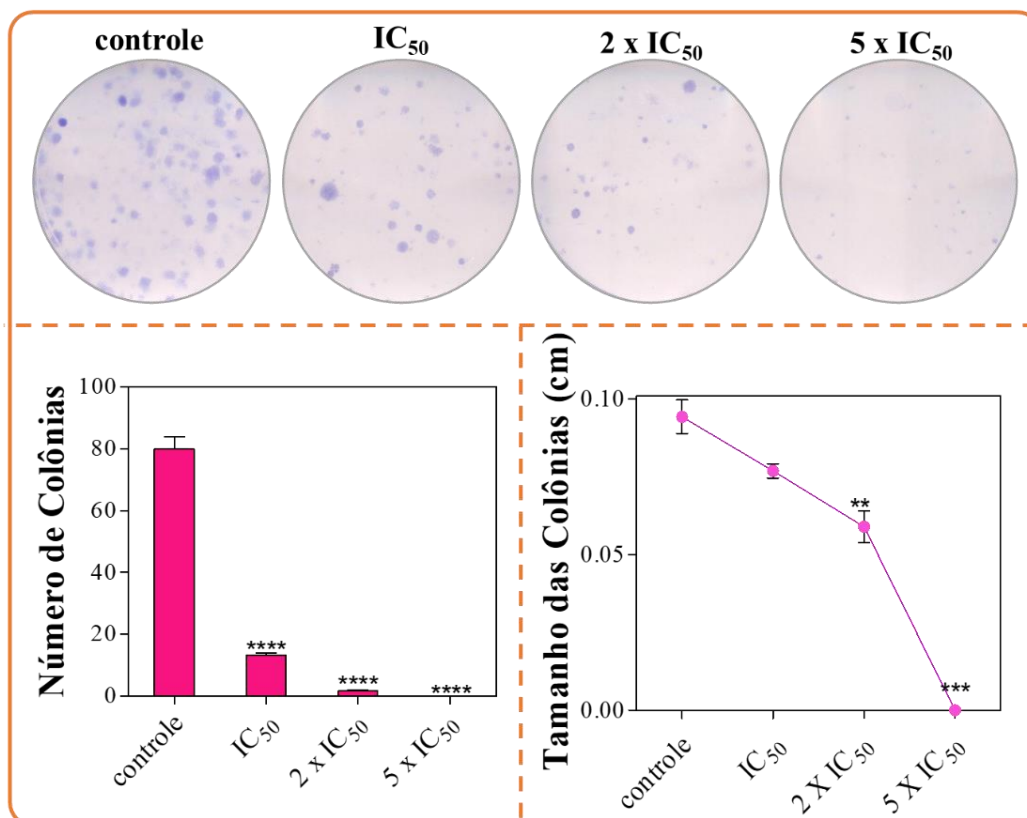


FIGURA 4.28 - Ensaio da formação de colônia após tratamento das células MDA-MB-231 com o complexo **6b**, em diferentes concentrações e quantificação do número e tamanho das colônias.

#### 4.2.4 - Ensaio de Migração Celular

A migração celular consiste em uma etapa do processo de metástase, uma vez que é indispensável a migração das células do tumor primário para a estabilização de um novo local para o desenvolvimento do tumor por meio do sistema circulatório. Assim, ambos os ensaios, *Wound Healing* e câmara de Boyden, permitem avaliar se os complexos são capazes de inibir a etapa de migração. No ensaio de *Wound Healing* a concentração utilizada dos complexos correspondeu à concentração do IC<sub>50</sub> (48 h), porém o tempo de tratamento máximo foi de 24 h, a fim de assegurar a sobrevivência celular. Diferentemente do controle, em que as células migraram espontaneamente até o completo fechamento da abertura realizada, os complexos promoveram diminuição da capacidade migratória das células A459 (**1e 1a**) e MDA-MB-231 (**5m, 6m, 5b e**



**6b).** Na Figura 4.29, é possível observar a existência da abertura para as células tratadas com estes complexos após 24 h.

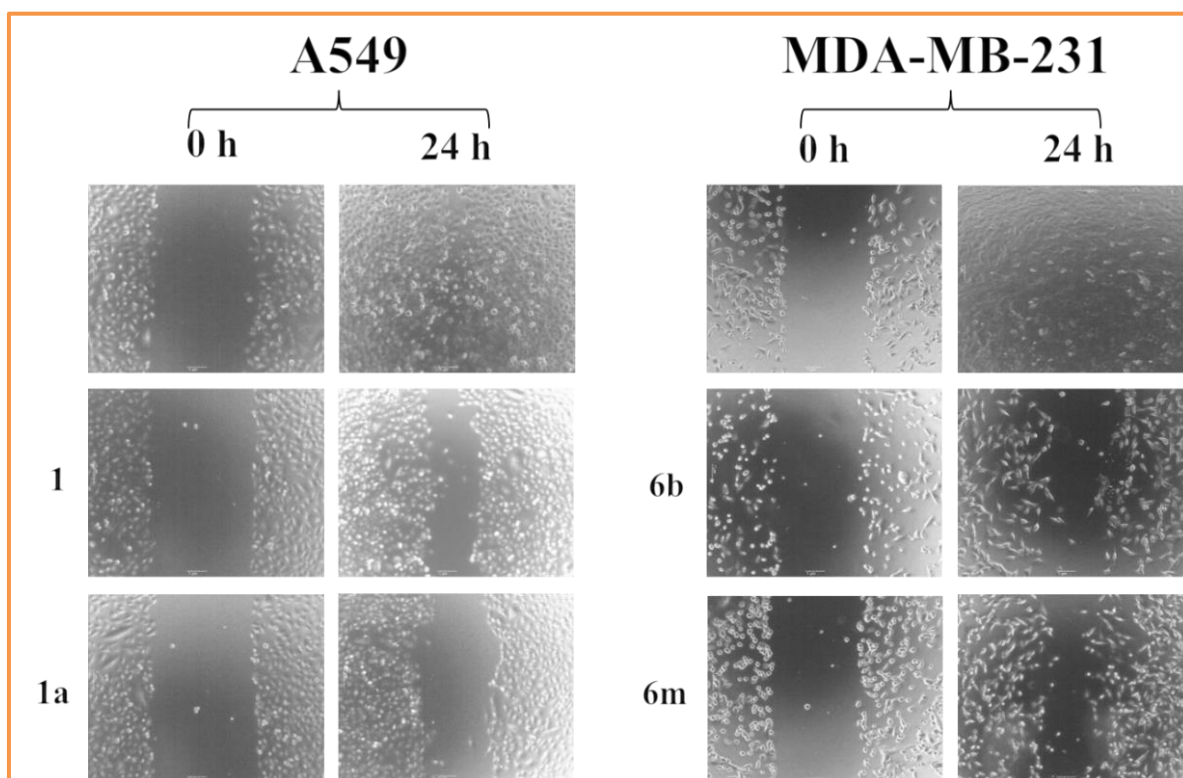


FIGURA 4.29- Ensaio de migração *Wound Healing* dos complexos **1** e **1a** (linhagem A549), **6m** e **6b** (linhagem MDA-MB-231) em concentrações correspondentes aos seus respectivos  $IC_{50}$  (48 h) durante 24 h.

Para os complexos **5m**, **6m**, **5b** e **6b** também foi realizado o experimento câmara de Boyden, para o qual os resultados corroboram com o observado para o ensaio *Wound Healing*. Os complexos induziram uma drástica diminuição da migração de maneira dose dependente. Considerando a concentração de  $0,75 \mu\text{M}$ , após 24 h, o número de células capazes de migrar correspondeu a 25, 60, 79 e 81 para o tratamento realizado com os complexos **6b**, **6m**, **5b** e **5m**, respectivamente. Estes valores são indiscutivelmente menores do que o observado para o controle positivo (323 células), como ilustrado na Figura 4.30.

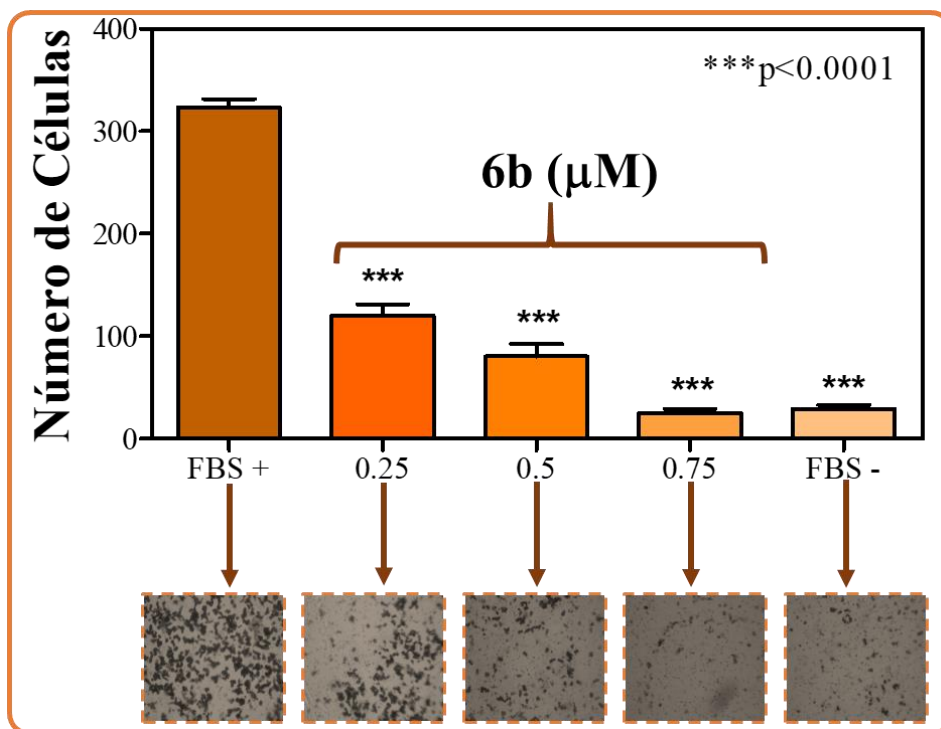


FIGURA 4.30- Ensaio de migração câmara de Boyden do complexo **6b** na linhagem MDA-MB-23, em diferentes concentrações (0,75, 1,50 e 2,00  $\mu\text{M}$ ) e controles com FBS (FBS+) e sem FBS (FBS-).

Tais resultados indicam a propriedade antimigratória dos complexos de rutênio. Estudos anteriores também evidenciaram a inibição da capacidade migratória celular nas linhagens MDA-MB-231 e HeLa, de complexos de rutênio que incluem rutênio-arenos.<sup>74-76</sup>

#### 4.2.5 - Ciclo Celular

A multiplicação celular é um processo intrínseco à manutenção da vida, sendo representada pelo ciclo celular. Como apresentado na Figura 4.31, o ciclo celular é dividido em quatro fases principais:  $G_1$ ,  $G_2$ , S e M. As fases  $G_1$  e  $G_2$  são ditas preparatórias, enquanto que as fases S e M são funcionais. A fase  $G_1$  destina-se ao crescimento celular e a síntese de proteínas que serão necessárias a próxima fase, S, na qual ocorrerá a replicação do DNA. Na fase  $G_2$  a célula continua com o processo de crescimento e síntese de proteínas importantes para a etapa de duplicação celular, fase M. Nesta fase uma célula se divide em duas



células idênticas. Há também uma fase de quiescência ou repouso,  $G_0$ , onde as células interrompem o processo de multiplicação.<sup>77</sup>

O ciclo celular é um processo altamente regulado, e os pontos de checagens existentes possuem a função de garantir que a divisão celular ocorra sem erros. Se algum problema é detectado, o mesmo pode ser reparado e a célula continua sua divisão, caso contrário ela inicia o processo de morte celular por apoptose. Entretanto, no caso do câncer o ciclo celular perde sua regulação, permitindo que as células multipliquem-se de forma irrestrita. Muitos compostos com propriedades anticâncer atuam no ciclo celular, interrompendo a divisão celular.<sup>78</sup> Assim, avaliamos se os complexos possuem a capacidade de alterar o ciclo celular das linhagens tumorais de mama e pulmão por meio da técnica de citometria de fluxo.

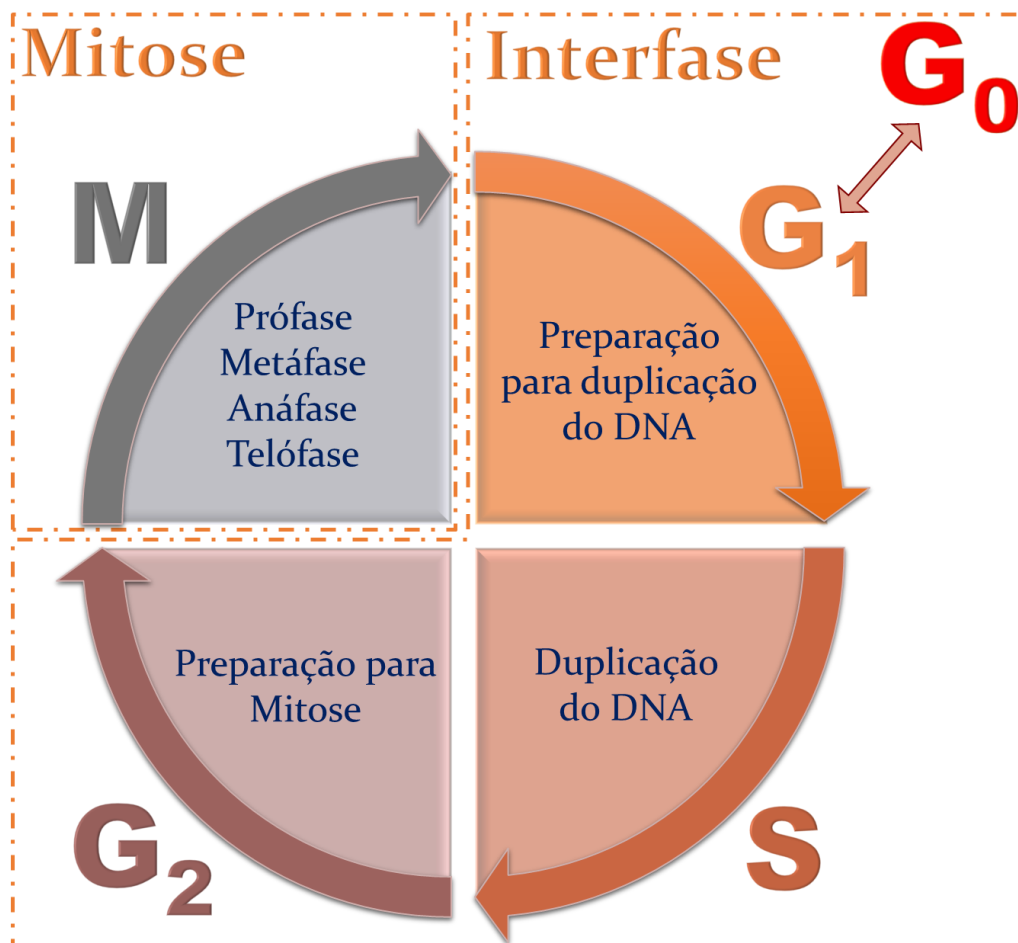


FIGURA 4.31- Representação esquemática do ciclo celular.

Todos os complexos apresentaram comportamento similar, nas respectivas linhagens analisadas, induzindo acúmulo de células na fase Sub-G<sub>1</sub> de forma proporcional ao aumento da concentração dos complexos, como ilustrado na Figura 4.32. Na linhagem A549, o complexo **1a** mostrou-se mais efetivo do que o complexo **1**, em condições similares. A mesma tendência foi observada para os complexos **5m**, **6m**, **5b** e **6b** na linhagem MDA-MB-23, onde o complexo **6b** promoveu um maior acúmulo na fase Sub-G<sub>1</sub> em menores concentrações do que as investigadas para os complexos **5m**, **6m**, **5b**. O aumento do número de células na fase Sub-G<sub>1</sub> está associada com apoptose.<sup>72</sup>

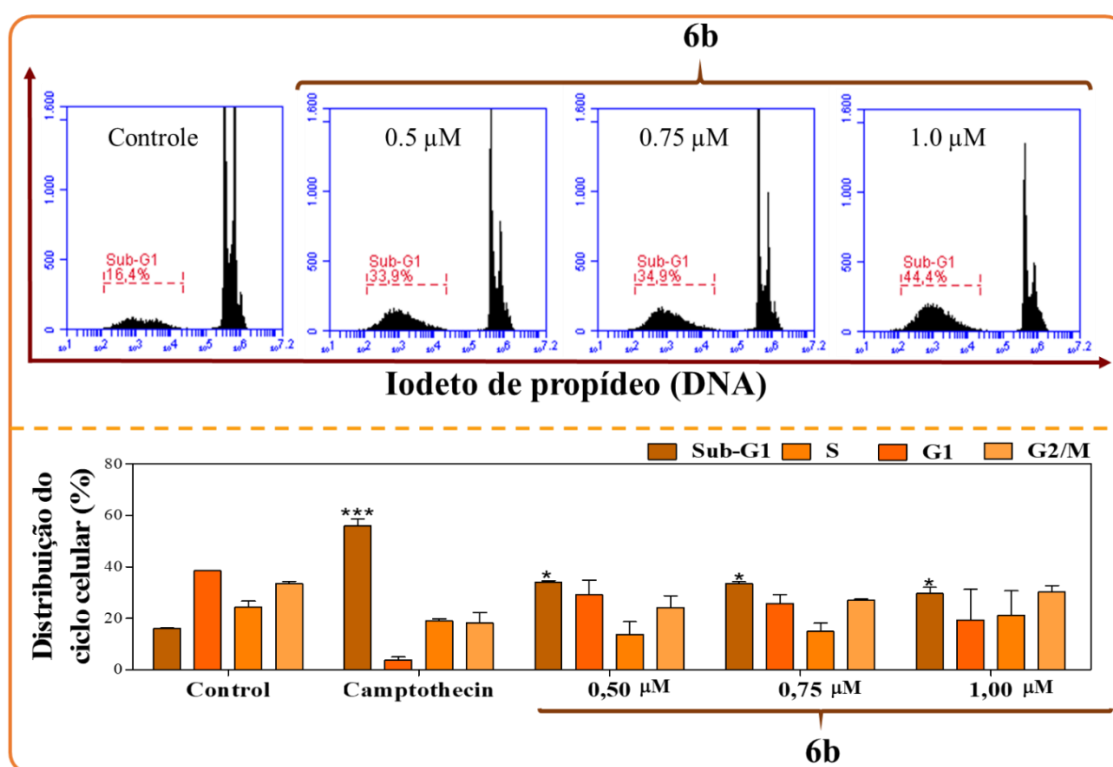


FIGURA 4.32- Efeito no ciclo celular da linhagem MDA-MB-231, incubadas 24 h com o complexo **6b** em diferentes concentrações.

#### 4.2.6 -Apoptose

A morte celular é regida, principalmente, por dois mecanismos descritos como necrose ou apoptose. Estas duas vias de morte se diferenciam por meio da morfologia e vias bioquímicas (Figura 4.33). Geralmente a necrose está

associada a uma resposta inflamatória do organismo, sendo caracterizada pelo aumento do volume celular, que ocasiona a perda da integridade da membrana com subsequente exposição do conteúdo extracelular. Já no processo de apoptose o oposto acontece, havendo encolhimento celular e formação de corpos apoptóticos, os quais são fagocitados por macrófagos. Como consequência não é desencadeado processo inflamatório como ocorre na necrose.<sup>79</sup>

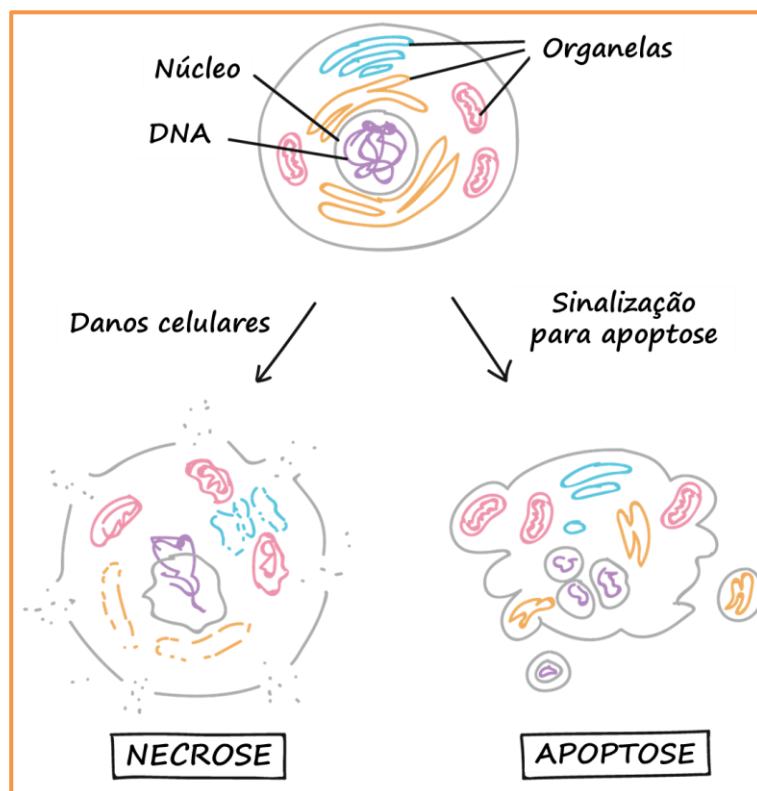


FIGURA 4.33- Representação esquemática da morfologia celular dos mecanismos de morte, apoptose e necrose.

A fim de confirmar se os complexos induzem apoptose como sugerido pelos resultados do ensaio morfológico e da análise do ciclo celular, realizou-se a análise por meio da citometria de fluxo, utilizando o Kit Anexina V-PE. O processo apoptótico inicia-se com a externalização da fosfatidilserina, um fosfolípido da camada interna da membrana plasmática. A Anexina V é uma proteína que possui grande afinidade pela fosfatidilserina e liga-se a este lipídio. A conjugação da Anexina V ao fluoróforo Ficoeritrina (PE) permite a quantificação das células em apoptose por fluorescência.

o 7-Amino-Actinomomicina (7-AAD) apresenta capacidade de permear o núcleo celular, podendo indicar apoptose tardia ou necrose. Baseado em tais fundamentos, a citometria de fluxo possibilita quantificar as células em apoptose (inicial ou tardia) e em necrose. Como resultado da análise as porcentagens de células viáveis, apoptose inicial e tardia, e necrose são distribuídas em 4 quadrantes.

Todos os complexos avaliados induziram apoptose como mecanismo de morte celular, como pode ser visto na Figura 4.34 e seção de apêndice. Em células A549, o complexo **1** promoveu um significativo aumento na porcentagem de células em apoptose, variando de 3,9% (controle) a 80% na concentração de 20  $\mu\text{M}$  do complexo. Este aumento foi dependente do aumento da concentração. Para o composto **1a**, a porcentagem de células apoptóticas de 80% foi observada na concentração de 5  $\mu\text{M}$  e manteve-se constante até a concentração de 20  $\mu\text{M}$ . A maior efetividade apresentada pelo complexo **1a** é corroborada pelos resultados de citotoxicidade e ciclo celular.

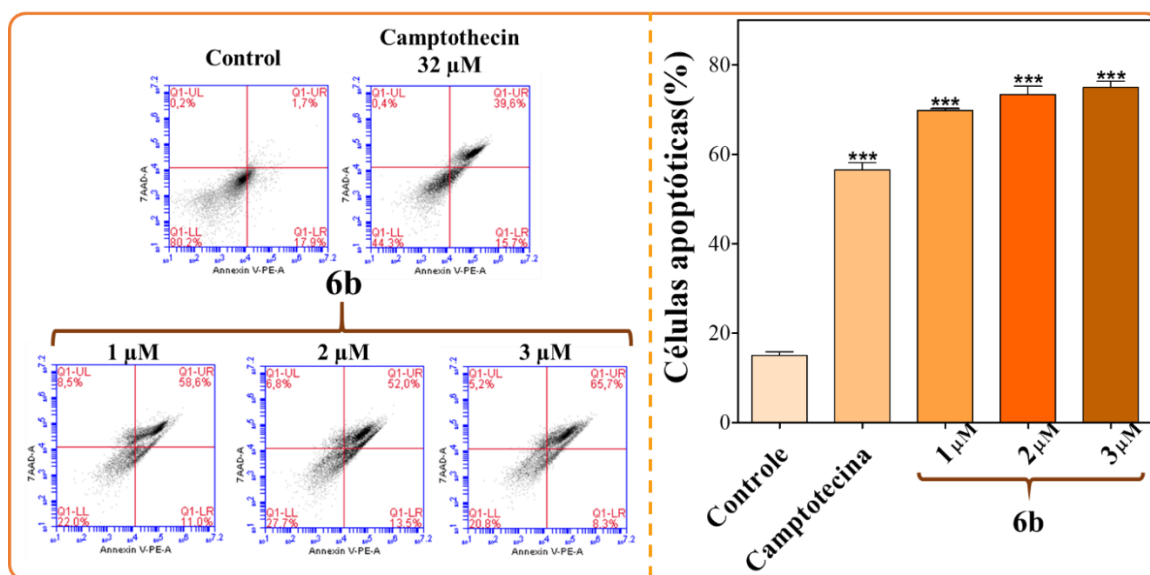


FIGURA 4.34- Ensaio de apoptose PE-AnexinaV - 7AAD na linhagem MDA-MB-231, incubadas 24 h com diferentes concentrações do complexo **6b**.

Comportamento similar também foi observado para os complexos **5m**, **6m**, **5b** e **6b**, que promoveram considerável aumento das células MDA-MB-231 em processo de apoptose de forma proporcional ao aumento da concentração dos complexos. Uma porcentagem de células em apoptose de 80 % foi observada após tratamento com os complexos **5m**, **6m** e **5b** na concentração de 10  $\mu\text{M}$ . Já para o complexo **6b**, as porcentagens observadas corresponderam aproximadamente a 70, 73 e 75% em concentrações de 1, 2 e 3  $\mu\text{M}$ , respectivamente. O grau de apoptose nas células MDA-MB-231 induzido pelo complexo **6b**, foi superior e em concentrações menores do que aos observados para os complexos **5m**, **6m** e **5b**, o que está de acordo com o ensaio de citotoxicidade e ciclo celular. Apoptose é comumente o mecanismo de morte induzidos pelos complexos de rutênio areno com atividade citotóxica.<sup>80,81</sup>

#### 4.2.7 - Interação dos complexos com DNA

Após estudos relacionarem a atividade antitumoral do cisplatina à sua interação com o DNA, investigações baseadas na interação de compostos candidatos à antitumorais com esta biomolécula passaram a ser um procedimento padrão nessa área. A estrutura do DNA, elucidada em 1953 por Watson e Crick, é constituída por cadeias de nucleotídeos unidas por ligações de hidrogênio estabelecidas entre as bases nitrogenadas adenina e timina (A-T) e guanina e citosina (G-C). A dupla hélice se desenvolve pelo enovelamento das cadeias em torno de um eixo, propiciando a formação dos sulcos menor e maior.<sup>82</sup> Os sulcos diferem-se em tamanho, forma, hidratação, dentre outros fatores.<sup>83</sup> Toda essa complexa estrutura é responsável pelo armazenamento genético que permite a sobrevivência dos organismos vivos.

Há na literatura uma vasta bibliografia de diferentes tipos de interações estabelecidas entre o DNA e complexos metálicos, que incluem as interações covalentes e não covalentes, onde no último caso compreende-se as

interações eletrostáticas, o modo intercalativo e via sulcos (maior e menor) (Figura 4.35). Não necessariamente, a interação se estabelecerá via um único tipo, devendo ser considerada a combinação de diferentes modos.<sup>84</sup> Na interação covalente há a formação de uma ligação covalente entre o complexo com as bases nitrogenadas do DNA, como acontece com o cisplatina. Na intercalação há a inserção de ligantes aromáticos entre os pares de bases que são estabilizados por forças de van der Waals, mas as interações  $\pi$ - $\pi$  são predominantes neste caso. As interações eletrostáticas são estabelecidas por complexos catiônicos com os grupos fosfatos do DNA (carregados negativamente). Já na interação via sulcos, maior ou menor, os complexos são acomodados nos sulcos mediante interações eletrostáticas e hidrofóbicas.<sup>84,85</sup>

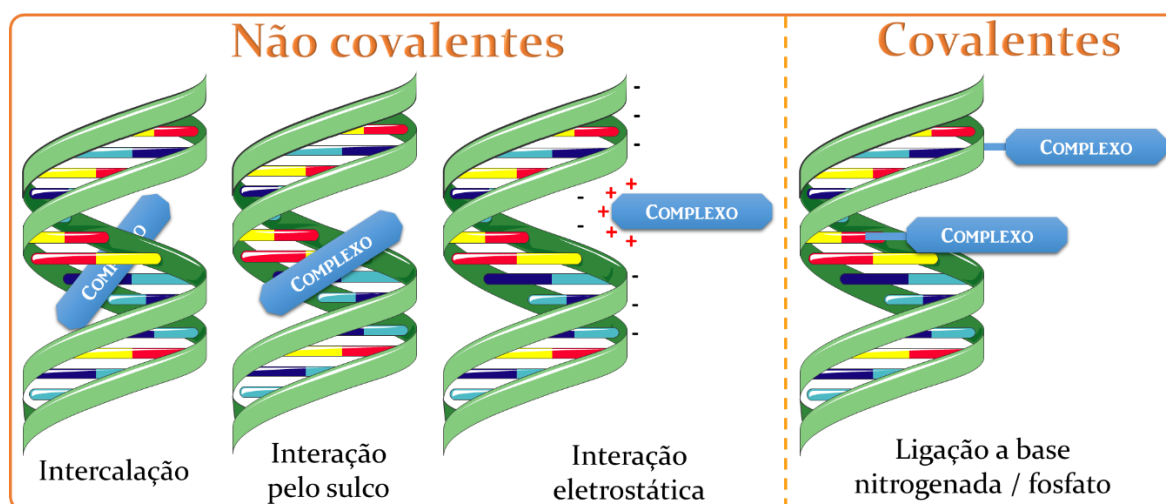


FIGURA 4.35- Representação dos possíveis modos de interação de complexos com o DNA.<sup>85</sup>

#### 4.2.7.1 - Viscosidade

Este ensaio baseia-se na viscosidade, que é uma propriedade física caracterizada pela resistência de um fluido ao escoamento a uma dada temperatura. Assim, a viscosidade apresenta relação inversa com a velocidade de escoamento, onde quanto maior a viscosidade menor será a velocidade que o fluido se movimenta. Aplicando tal propriedade a estudos de interação de

complexos com DNA, este experimento torna-se bastante elucidativo, permitindo distinguir, confiavelmente, os modos de interação covalente e intercalação. Compostos que interagem com o DNA covalentemente ocasionam uma diminuição da viscosidade do DNA, pois é observado para este tipo de interação distorção da dupla hélice da molécula e uma redução do comprimento do DNA. Já no modo intercalativo o oposto ocorre, observa-se um aumento da viscosidade do DNA, uma vez que tal modo de interação provoca um alongamento, enrijecimento e desenrolamento da dupla hélice. Interações do tipo eletrostática ou sulcos não promovem significativas alterações na viscosidade do DNA.<sup>85,86</sup>

A Figura 4.36 mostra o gráfico de  $(\eta/\eta_0)^{1/3}$  (onde  $\eta$  e  $\eta_0$  são as viscosidades específicas da solução de Ct-DNA, na presença e ausência dos complexos, respectivamente) em função da razão [complexo]/[DNA], para os complexos Ru(II)-areno. O cisplatina foi utilizado como um padrão, evidenciando o comportamento para o modo de interação covalente, enquanto que o composto cloroquina foi utilizado como padrão do modo intercalativo. Todos os complexos avaliados não induziram mudanças significativas na viscosidade do DNA, diferentemente do cisplatina que promoveu uma diminuição da viscosidade e da cloroquina que propiciou aumento da viscosidade, como esperado. Esta tendência apresentada pelos complexos pode ser indicativo de interações fracas, eletrostática ou via sulcos, bem como ausência de interação entre os complexos e o DNA.

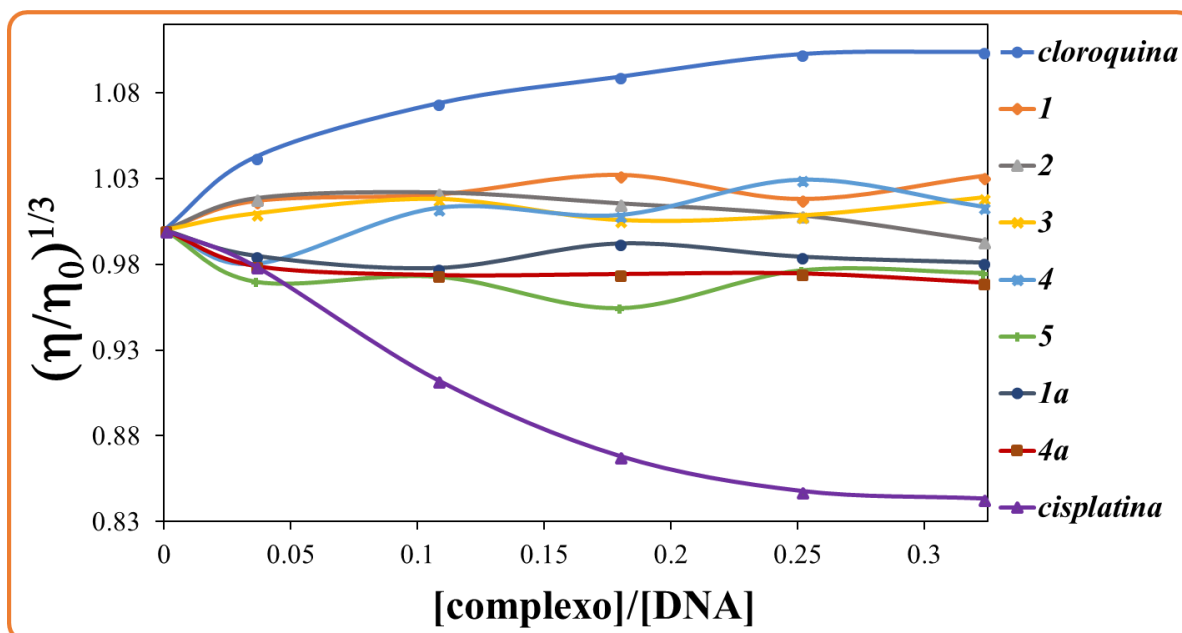


FIGURA 4.36- Efeito da concentração dos complexos **1**, **1a**, **2**, **3**, **4**, **4a**, **5**, cisplatina (CP) e cloroquina na viscosidade relativa do DNA a 25 °C.

#### 4.2.7.2 – Eletroforese em gel

A eletroforese em gel é uma técnica empregada na separação de moléculas ou partículas, a partir de sua mobilidade durante a aplicação de uma diferença de potencial. A separação ocorre em função do tamanho e forma da molécula, que apresenta diferentes mobilidades em um gel. Assim, esta técnica mostra-se útil na investigação da capacidade dos complexos interagirem com o DNA. O DNA plasmidial, o qual utilizamos neste ensaio, apresenta três formas principais: a superenovelada (Forma III), circular aberta (Forma I) e linear (Forma II). A depender das condições, a forma superenovelada pode se converter na forma circular aberta, e esta pode se converter para a forma linear. Estas diferentes formas do DNA também possuem diferenças de mobilidade. Por a forma enovelada ser a mais compacta, ela migra pelas cavidades do gel com maior facilidade, apresentando uma maior velocidade de migração. A Figura 4.37 ilustra as diferentes formas do DNA plasmidial e seus respectivos perfis de separação no gel de agarose.



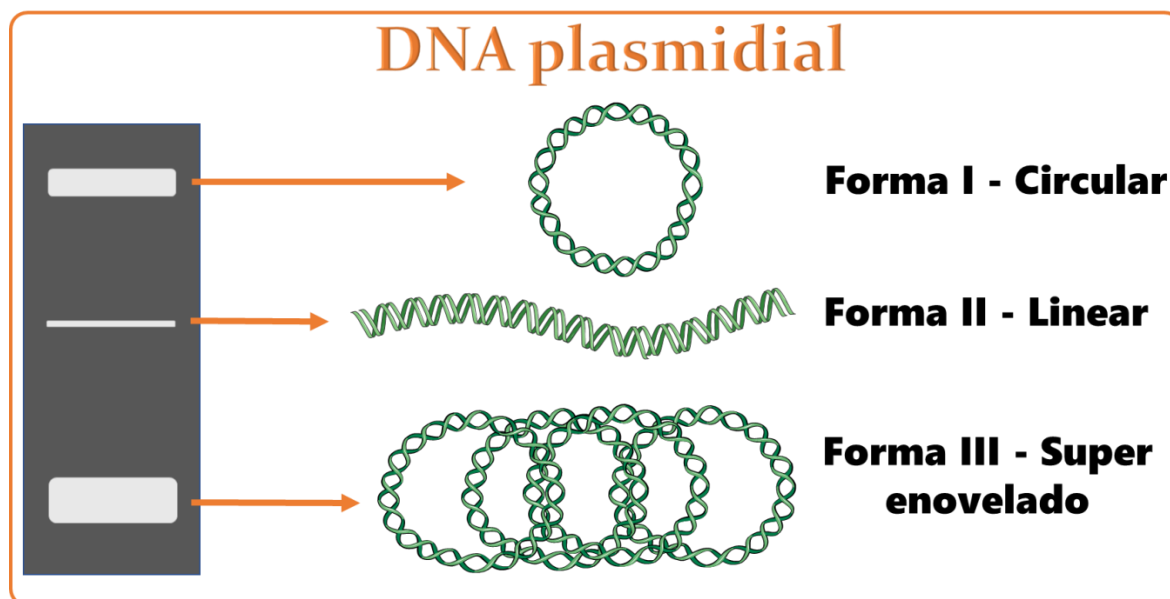


FIGURA 4.37 - Formas mais comuns do DNA plasmidial com suas respectivas bandas no gel de agarose.

O estudo de interação dos complexos com o DNA por meio da eletroforese em gel, foi conduzido a partir da incubação dos complexos com o DNA plasmidial, pBR322, por 18 h a 37 °C. Como pode ser visto na Figura 4.38, os complexos ocasionaram uma diminuição da intensidade de todas as bandas, superenovelada, circular aberta e linear, com o aumento dos  $R_i$  investigados ( $R_i = \frac{[\text{complexo}]}{[\text{DNA}]}$ ), comparando-se ao perfil observado no controle. Este efeito foi mais pronunciado em complexos com coordenação monodentada e com  $R_1 = \text{tiofeno}$ , onde observa-se a completa ausência de bandas nos maiores  $R_i$ .

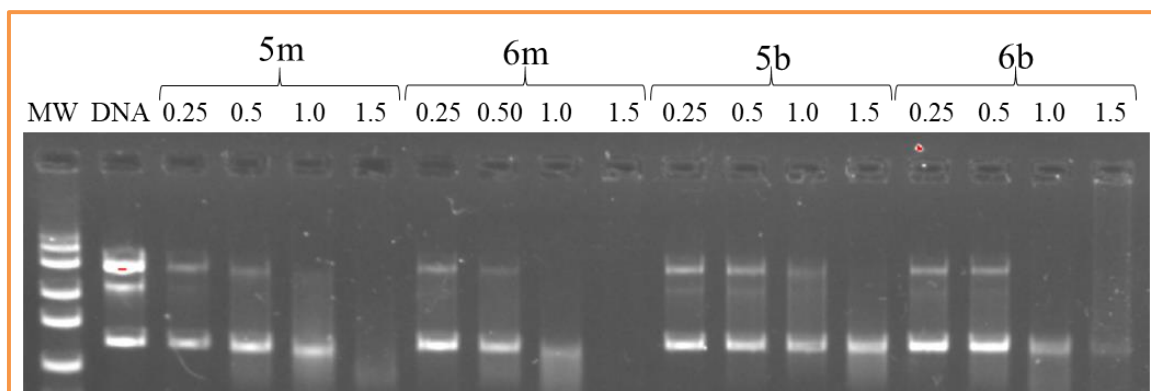


FIGURA 4.38- Efeito da concentração dos complexos **5m**, **6m**, **5b** e **6b** na eletroforese do plasmídeo pBR322 em diferentes Ri (0,25, 0,50, 1,00 e 1,50).

Marcador de peso molecular (MW) e DNA em DMSO (DNA).

O desaparecimento das bandas no gel pode estar associado a dois fatores principais: 1) o deslocamento do brometo de etídio; 2) uma forte interação capaz de fragmentar o DNA de tal forma a propiciar a migração por toda a extensão do gel.<sup>87,88</sup> O brometo de etídio é utilizado neste ensaio por permitir a visualização das bandas, já que é um composto fluorescente. Este composto possui a capacidade de se intercalar ao DNA, e se o complexo apresentar a capacidade de desloca-lo não seria possível a visualização das bandas no gel, como consequência desta substituição. Contudo, tanto os modos de interação por intercalação, quanto interações fortes (covalentes), entre os complexos com o DNA, foram descartados a partir dos resultados obtidos do ensaio de viscosidade. Por outro lado, é reportado na literatura que, em algumas circunstâncias, compostos que interagem com o DNA via sulcos podem deslocar compostos intercaladores, como o brometo de etídio.<sup>73</sup> Tal resultado nos sugere que o modo de interação dos complexos pode ser via sulcos, como também é corroborado pelo ensaio de viscosidade.

#### 4.2.7.3 - Ensaio de competitividade com o Hoechst 33258

A fim de verificar a possibilidade de interação dos complexos via sulcos o ensaio de competitividade com o Hoeschst 33258 foi realizado. O

composto Hoechst 33258 compreende ao grupo das bisbenzimidazidas (Figura 4.39), sendo amplamente utilizado como marcador fluorescente. É reconhecida sua capacidade de interagir com DNA via sulco menor, preferencialmente em regiões ricas em pares de base AT (Figura 4.39).<sup>89</sup> Quando ligado ao DNA, a fluorescência do Hoechst 33258 aumenta consideravelmente, devido à sua planaridade na região do sulco e proteção de colisões com o solvente.<sup>90</sup> No ensaio de competitividade, complexos que interagem com o DNA via sulco menor são capazes de substituir o Hoechst, resultando em supressão da fluorescência do complexo Hoechst-DNA.<sup>91</sup>

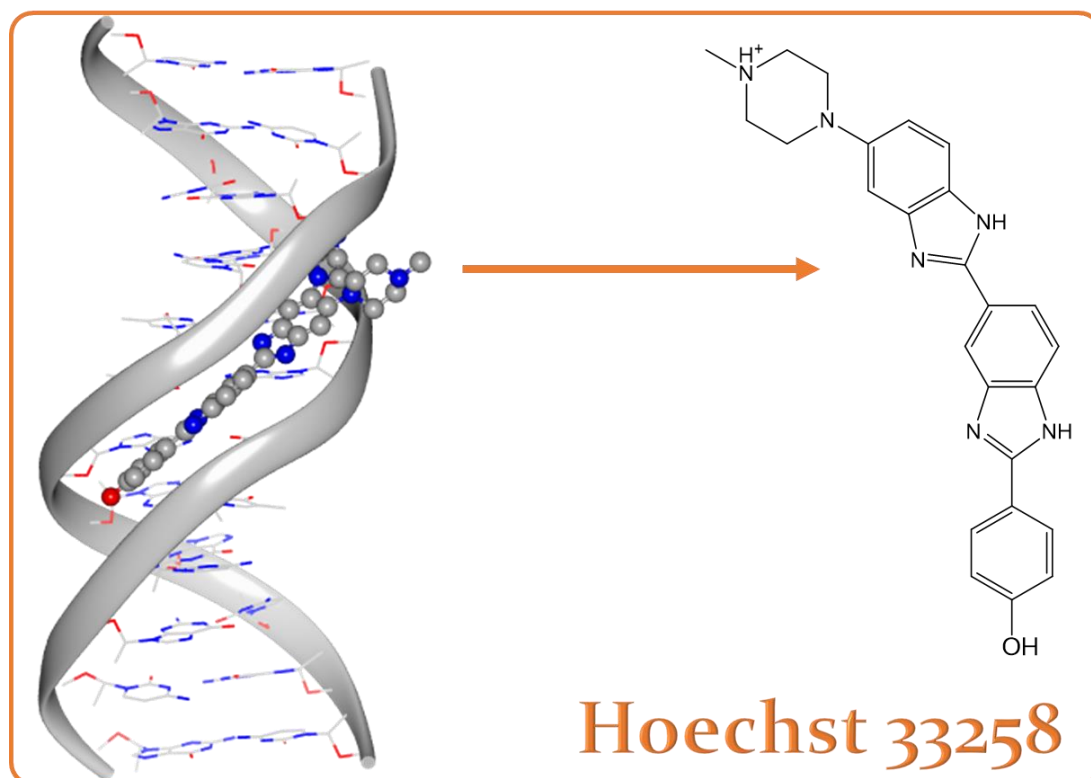


FIGURA 4.39 – Estrutura cristalina de um fragmento de DNA contendo o Hoechst 33258 interagindo pelo sulco menor (PDB-8bna) e estrutura química do Hoechst 33258.

Neste ensaio verificamos o comportamento da fluorescência do sistema Hoechst-DNA a partir de sucessivas adições dos complexos. Nas condições estudadas, nenhum dos complexos avaliados exibiu fluorescência. Como pode ser observado na Figura 4.40, o aumento da concentração dos

complexos foi acompanhada com uma significativa diminuição da intensidade da fluorescência do Hoechst-DNA. Todos os complexos apresentaram comportamento similar, demonstrando sua capacidade em deslocar o Hoechst do sulco menor do DNA, o que sugere que o modo de interação dos complexos com a biomolécula se estabeleça pelo sulco menor.

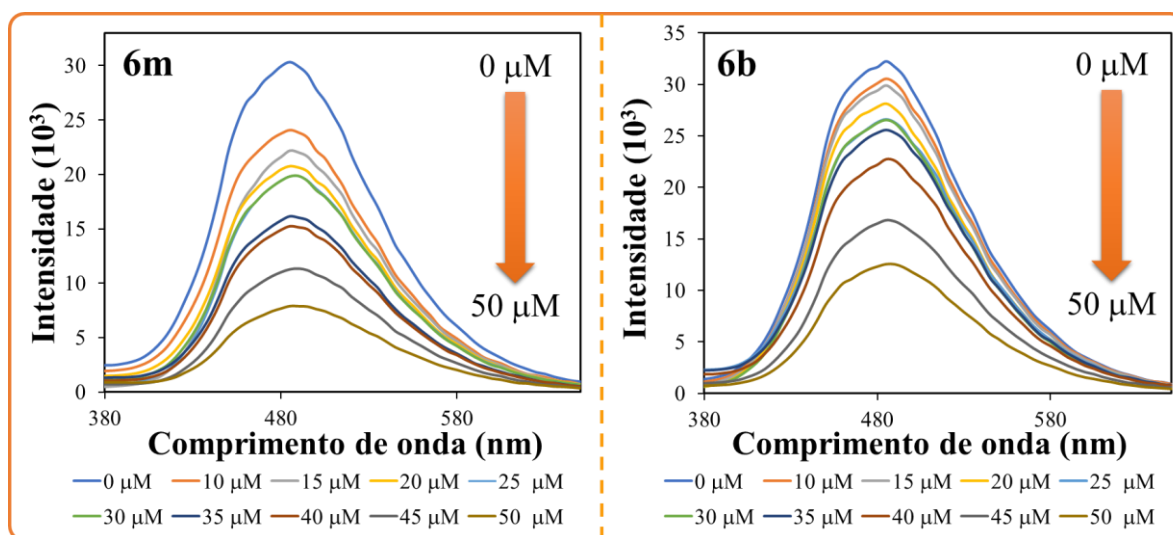


FIGURA 4.40- Espectro de emissão do Hoechst (5,0  $\mu\text{M}$ ) /CT-DNA (175  $\mu\text{M}$ ) ( $\lambda_{\text{ex}}=343$  nm) com diferentes concentrações (0-50  $\mu\text{M}$ ) dos complexos **6m** e **6b**.

#### 4.2.7.4 - Ensaio de competitividade com o Tiazol Laranja

O ensaio de competitividade, em condições similares ao Hoechst, utilizando o intercalante fluorescente do DNA, tiazol laranja (TO), foi realizado para os complexos **5m**, **6m**, **5b** e **6b**. Como o Hoechst o Tiazol Laranja também é um marcador muito utilizado na área biológica, entretanto, o Tiazol Laranja interage com o DNA pelo modo intercalativo (Figura 4.41).<sup>92,93</sup>

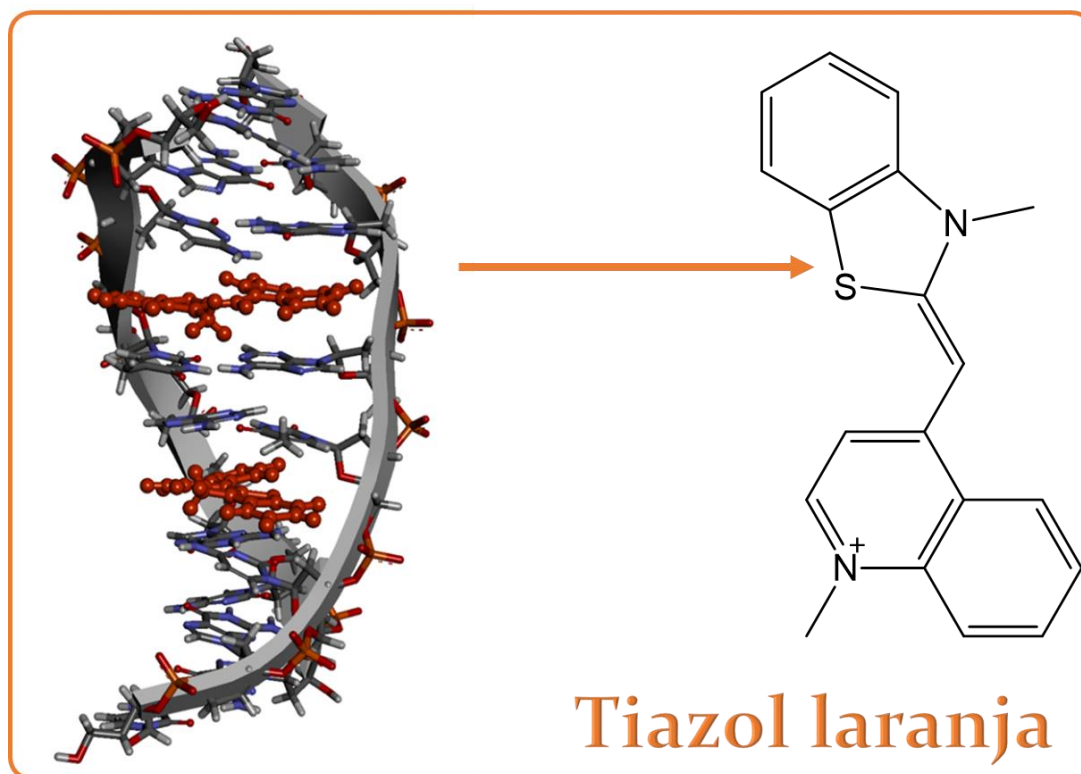


FIGURA 4.41- Interação do Tiazol laranja com o DNA e a estrutura química do Tiazol laranja.

Como ilustrado na Figura 4.42, a adição de sucessivas alíquotas dos complexos foi acompanhada de moderada diminuição da intensidade da fluorescência do complexo TO-DNA. Entretanto, é evidente que os complexos monodentados (**5m** e **6m**), promoveram uma pronunciada supressão da fluorescência em relação aos complexos bidentados (**5b** e **6b**). Este resultado está em conformidade com o observado para o ensaio de eletroforese em gel, sugerindo que, de fato, a ausência de bandas visíveis no gel de agarose está relacionada ao deslocamento do composto intercalador (brometo de etídio). Também, tal resultado é um forte indicativo de que os complexos interagem via o sulco menor, uma vez que a supressão de fluorescência do sistema TO-DNA torna-se insignificante quando comparado ao exibido pelo ensaio Hoechst-DNA.

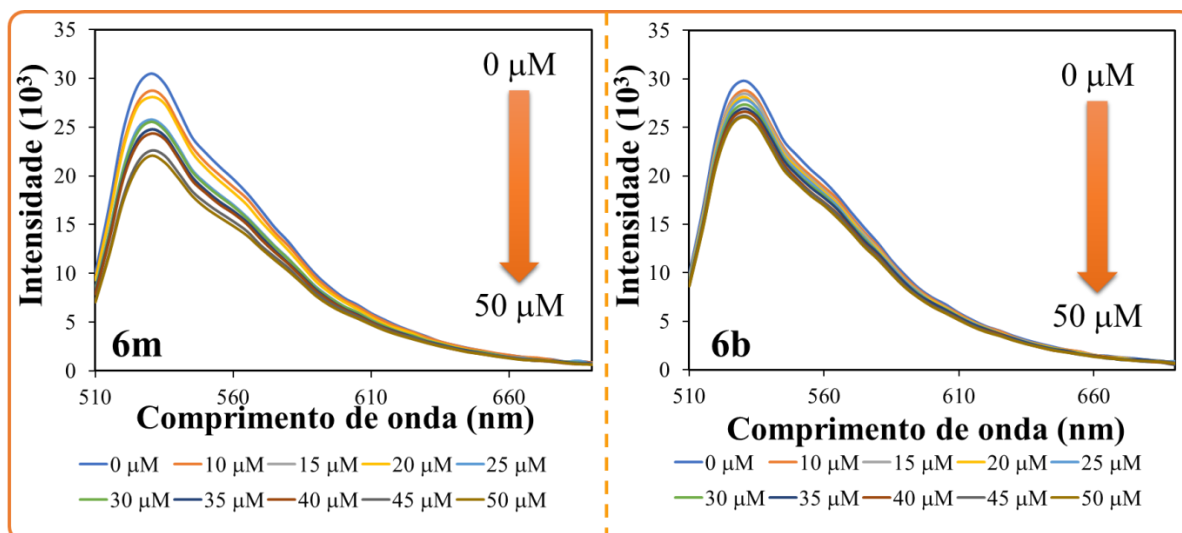


FIGURA 4.42- Espectro de emissão do TO (5,0  $\mu\text{M}$ ) /CT-DNA (175  $\mu\text{M}$ ) ( $\lambda_{\text{ex}}=480 \text{ nm}$ ) com diferentes concentrações (0-50  $\mu\text{M}$ ) dos complexos **6m** e **6b**.

#### 4.2.8 - Avaliação da interação dos complexos com HSA

A albumina de soro humano é a proteína mais abundante do sistema circulatório, cuja concentração corresponde a aproximadamente 40 mg/mL (0,6 mM). Desempenha inúmeras funções no organismo, a destacar o controle da pressão osmótica sanguínea e transporte, metabolismo e distribuição de substâncias endógenas e exógenas do organismo, como hormônios, ácidos graxos, íons metálicos e fármacos. A albumina é constituída por uma cadeia polipeptídica de 585 aminoácidos (66 kd), organizada de forma helicoidal com voltas e loops estendidos, assemelhando-se a um formato de coração com dimensões aproximadas de 80 x 80 x 30 Å. No arranjo estrutural tridimensional a HSA é dividida em três regiões homólogas, denominadas de domínios I, II e III, onde cada um desses domínios é subdividido em A e B (Figura 4.43).<sup>94</sup>

A habilidade da HSA de se ligar a fármacos a faz um importante alvo farmacológico na investigação de novos fármacos, uma vez que é bem estabelecido seu fundamental papel na distribuição, metabolização e eficácia de medicamentos. Assim, o estudo da existência de interação de complexos com a HSA é uma importante etapa de investigações focadas no desenvolvimento de

potenciais metalofármacos. A espectroscopia de fluorescência é um método amplamente disseminado para este tipo de estudo. A HSA apresenta fluorescência intrínseca devido aos resíduos de triptofano, tirosina e fenilalanina em sua estrutura. Mas a maior contribuição para esta fluorescência está relacionada ao único resíduo de triptofano (Trp-214), devido à natureza química de seu microambiente. A supressão da fluorescência da proteína é indicativo de interação composto-HSA.<sup>95</sup>

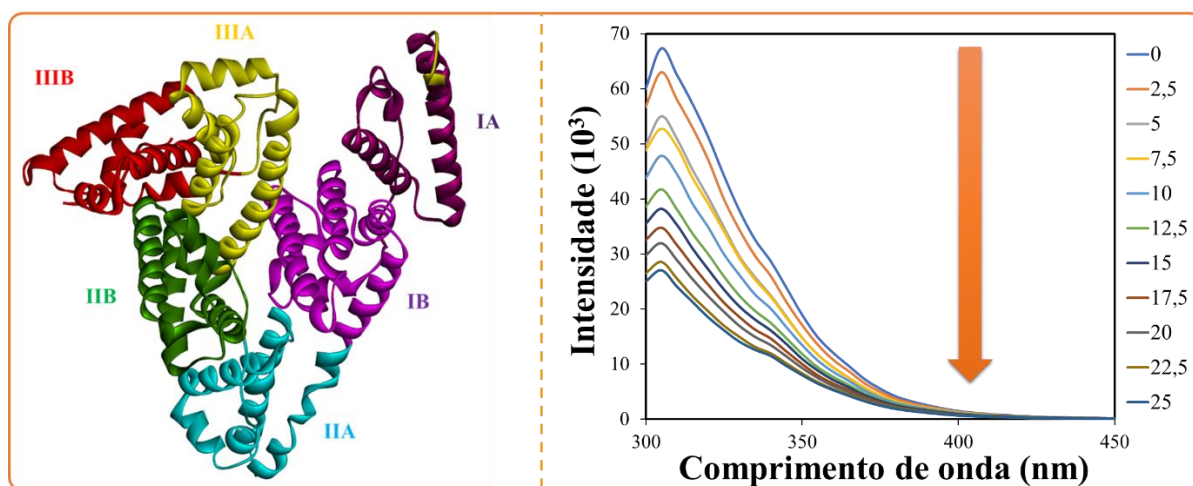


FIGURA 4.43 - Estrutura secundária da HSA com os respectivos subdomínios<sup>96</sup> e espectro da supressão da fluorescência da HSA em diferentes concentrações do complexo **6b** a 298 K

Como ilustrado na Figura 4.43, a intensidade da fluorescência da HSA foi diminuída, proporcionalmente, com o aumento da concentração do complexo avaliado. A supressão da fluorescência da proteína induzida pela presença dos complexos sugere interação entre os complexos e a HSA. A supressão da fluorescência está relacionada a dois mecanismos: estático ou dinâmico. Dados quantitativos acerca da supressão podem ser obtidos por meio da equação de Stern-Volmer:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv} \cdot [Q] = 1 + k_q \cdot t_0 \cdot [\text{complexo}] \quad (4.1)$$

Onde,  $F_0$  e  $F$  correspondem à intensidade da fluorescência, na ausência e presença do supressor, respectivamente;  $K_q$  é a constante de velocidade de supressão

biomolecular e  $t_0$  é o tempo de meia-vida médio da HSA, na ausência do supressor ( $5,0 \times 10^{-9}$  s);  $[Q]$  é a concentração do supressor;  $K_{sv}$  é a constante de supressão de Stern–Volmer.



TABELA 4.9 - Valores das constantes de Stern-Volmer ( $K_{sv}$ ), constante de ligação ( $K_b$ ), número de sítios de ligação ( $n$ ) e parâmetros termodinâmicos ( $\Delta H^\circ$ ,  $\Delta S^\circ$  e  $\Delta G^\circ$ ) dos complexos em diferentes temperaturas

Complexos	T(K)	$K_{sv} \times 10^4$ ( $M^{-1}$ )	$K_q \times 10^{12}$ ( $M^{-1}s^{-1}$ )	$K_b \times 10^5$ ( $M^{-1}$ )	n	$\Delta H^\circ$ ( $KJ mol^{-1}$ )	$\Delta S^\circ$ ( $J mol^{-1} K^{-1}$ )	$\Delta G^\circ$ ( $KJ mol^{-1}$ )
1	298	$1,73 \pm 0,04$	4,94	$2,95 \pm 0,90$	1,04	43,27	230,77	-25,50
	310	$1,51 \pm 0,01$	4,31	$5,71 \pm 0,23$	1,13			-28,23
1a	298	$1,45 \pm 0,07$	4,14	$0,58 \pm 0,06$	0,91	148,46	570,32	-21,49
	310	$1,31 \pm 0,03$	3,74	$5,95 \pm 0,27$	1,17			-28,34
2	298	$3,21 \pm 0,08$	9,17	$9,29 \pm 0,93$	1,13	78,84	359,68	-28,34
	310	$3,03 \pm 0,03$	8,66	$31,87 \pm 0,36$	1,26			-32,66
3	298	$2,17 \pm 0,01$	6,20	$3,95 \pm 0,39$	1,03	97,91	414,69	-25,67
	310	$1,94 \pm 0,03$	5,54	$14,58 \pm 0,90$	1,33			-30,64
4	298	$2,36 \pm 0,04$	6,74	$3,36 \pm 0,13$	1,02	71,36	326,1	-25,82
	310	$2,13 \pm 0,03$	6,08	$10,24 \pm 0,98$	1,24			-29,73
4a	298	$1,69 \pm 0,05$	4,83	$1,86 \pm 0,14$	1,00	168,9	648,5	-24,35
	310	$1,47 \pm 0,02$	4,20	$12,01 \pm 0,26$	1,23			-30,14
5	298	$2,85 \pm 0,19$	8,14	$7,48 \pm 0,37$	1,12	156,54	618,59	-27,8
	310	$2,75 \pm 0,04$	7,86	$86,30 \pm 0,61$	1,36			-35,35
5m	298	$4,59 \pm 0,09$	7,40	$0,40 \pm 0,07$	0,96	38,97	218,90	-26,26
	310	$4,30 \pm 0,12$	6,93	$0,74 \pm 0,02$	1,01			-28,89
6m	298	$5,66 \pm 0,13$	9,13	$0,61 \pm 0,03$	1,05	43,68	267,63	-27,28
	310	$5,36 \pm 0,13$	8,65	$1,19 \pm 0,29$	1,10			-36,07
5b	298	$5,15 \pm 0,01$	10,30	$2,83 \pm 0,09$	1,14	139,53	572,58	-31,10
	310	$4,81 \pm 0,01$	9,62	$25,10 \pm 2,25$	1,33			-37,98
6b	298	$6,51 \pm 0,07$	10,50	$16,27 \pm 1,74$	1,31	56,94	308,27	-35,43
	310	$6,21 \pm 0,06$	10,02	$39,62 \pm 1,75$	1,39			-39,15

Os mecanismos dinâmico e estático podem ser distinguidos por meio da dependência dos valores da constante de supressão com a temperatura e viscosidade. No mecanismo dinâmico, o aumento da temperatura ocasiona a diminuição da viscosidade do meio reacional, o que favorece a difusão do supressor em direção ao fluoróforo no estado excitado. O aumento da temperatura promove aumento das colisões mútuas e, como consequência, o aumento de  $K_{sv}$  com a elevação da temperatura é observado. Para o mecanismo estático, em que a formação de um complexo não fluorescente entre a HSA e o supressor ocorre no estado fundamental, o aumento da temperatura promove uma diminuição da estabilidade do complexo intermediário, assim os valores de  $K_{sv}$  diminuem com a elevação da temperatura.<sup>97,98</sup>

Os valores da constante de Stern-Volmer ( $K_{sv}$ ), obtidos por meio do gráfico de  $F_0/F$  versus [complexo], estão expressos na Tabela 4.9. Realizando o experimento de supressão em diferentes temperaturas (298 e 310 K) observou-se que os valores de  $K_{sv}$  diminuem, discretamente, com o aumento da temperatura. Tal comportamento está associado ao mecanismo estático. Apesar da discreta diminuição dos valores de  $K_{sv}$  com a temperatura, os valores de  $K_q$ , que encontram-se na ordem de  $10^{12}$  a  $10^{13} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ , também suportam a ocorrência do mecanismo estático, de maneira predominante, uma vez que estes valores são maiores do que o máximo a ser considerado para um mecanismo de supressão dinâmico ( $2 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ).<sup>97</sup> Os valores para a constante de ligação,  $K_b$ , foram obtido através da Equação 4.3:

$$\log \frac{F_0 - F}{F} = \log K_b + n \log [Q] \quad (4.2)$$

Onde  $K_b$  é a constante de ligação entre a HSA e o supressor e  $n$  é o número de sítios de ligação por molécula de HSA.

Os valores de  $K_b$  (Tabela 4.9) que compreende a magnitudes de  $10^4$ - $10^6 \text{ M}^{-1}$  indicam interações associadas a forças de ligações de moderadas a fortes, onde o número de sítios ( $n$ ) corresponde a aproximadamente 1. Ao contrário do comportamento apresentado pela constante  $K_{sv}$ , os valores de  $K_b$  aumentaram com

a temperatura, indicando que a elevação da temperatura favorece a estabilidade do aduto complexo-HSA. Ligações fortes entre os complexos e a HSA pode dificultar o processo de liberação do complexo no interior da célula o que pode acarretar na diminuição da biodisponibilidade do complexo <sup>98</sup>.

Os parâmetros termodinâmicos ( $\Delta G^\circ$ ,  $\Delta S^\circ$  e  $\Delta H^\circ$ ) envolvidos na interação dos complexos com a HSA, podem ser obtidos por meio das equações 4.3 e 4.4. A partir de tais parâmetros pode-se ter informações do tipo de interação que é estabelecida na interação entre os complexos e a HSA. Os tipo de interação entre os complexos com a HSA são dependentes dos valores de  $\Delta H^\circ$  e  $\Delta S^\circ$ , sendo descritas como: 1) valores positivos para  $\Delta H^\circ$  e  $\Delta S^\circ$  indicam o envolvimento de forças hidrofóbicas; 2) valores negativos para  $\Delta H^\circ$  e  $\Delta S^\circ$  indicam forças de Van der Waals e ligações de hidrogênio; 3) valor negativo de  $\Delta H^\circ$  e positivo para  $\Delta S^\circ$  indicam interação eletrostática.<sup>95</sup>

$$\ln \frac{K_2}{K_1} = \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right) + \frac{\Delta H^\circ}{R} \quad (4.3)$$

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_b = \Delta H^\circ - T \Delta S^\circ \quad (4.4)$$

Conforme pode ser observado na Tabela 4.9, os parâmetros termodinâmicos indicam que a interação entre os complexos com a HSA é espontânea ( $\Delta G^\circ < 0$ ) e estabelecida por forças hidrofóbicas. A ligação do complexo com a HSA altera parcialmente a estrutura da proteína, expondo os fragmentos apolares do interior proteico para o solvente. Essa mudança conformacional induz a reorganização das moléculas de solvente ao redor da proteína maximizando o efeito hidrofóbico. Dessa forma, o fator hidrofóbico passa a ser determinante na estabilização do sistema proteína - complexo.<sup>99</sup>

Os principais sítios de ligação com aplicabilidade farmacológica da HSA referem-se aos sítios I e II, que estão localizados nos subdomínios IIA e IIIA, respectivamente, como ilustrado na Figura 4.44. O sítio I é comumente conhecido como sítio de ligação da varfarina, enquanto que o sítio II é denominado como sítio de ligação da bezodiazepina. A afinidade de ligação do

sítio I se dá principalmente por interações hidrofóbicas, enquanto o sítio II envolve uma combinação de interações hidrofóbicas, eletrostáticas e ligações de hidrogênio.<sup>100</sup> Os aminoácidos dansilados, fluoróforos intrínsecos, têm sido utilizados como sondas para o mapeamento do sítio de afinidade de novas drogas, a partir de ensaio competitivo com outras moléculas não fluorescentes.<sup>101,102</sup>

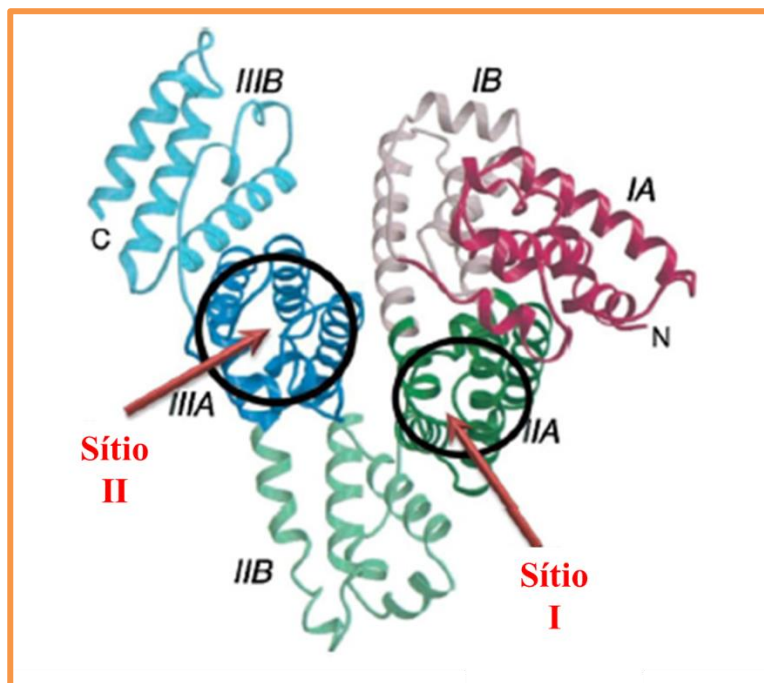


FIGURA 4.44- Estrutura secundária da HSA com os respectivos subdomínios e sítios de ligação I (subdomínio IIA) e II (subdomínio IIIA).

Com a finalidade de se determinar o possível sítio de interação dos complexos **5m**, **6m**, **5b** e **6b**, o ensaio competitivo utilizando o dansilglicina (DG) foi realizado. É reportado que o sítio de interação do dansilglicina corresponde ao sítio II, e ao interagir com a HSA é observado um aumento da intensidade da fluorescência com deslocamento do comprimento de onda máximo de emissão para o azul, quando comparado ao observado para o dansilglicina. Tal comportamento deve-se a alteração da hidrofobicidade do meio na qual a molécula encontra-se dissolvida.<sup>100</sup> Como pode ser observado na Figura 4.45, sucessivas adições dos complexos promoveram diminuição da intensidade da fluorescência do aduto DG-HSA, sugerindo a afinidade dos complexos ao sítio II (subdomínio IIIA).

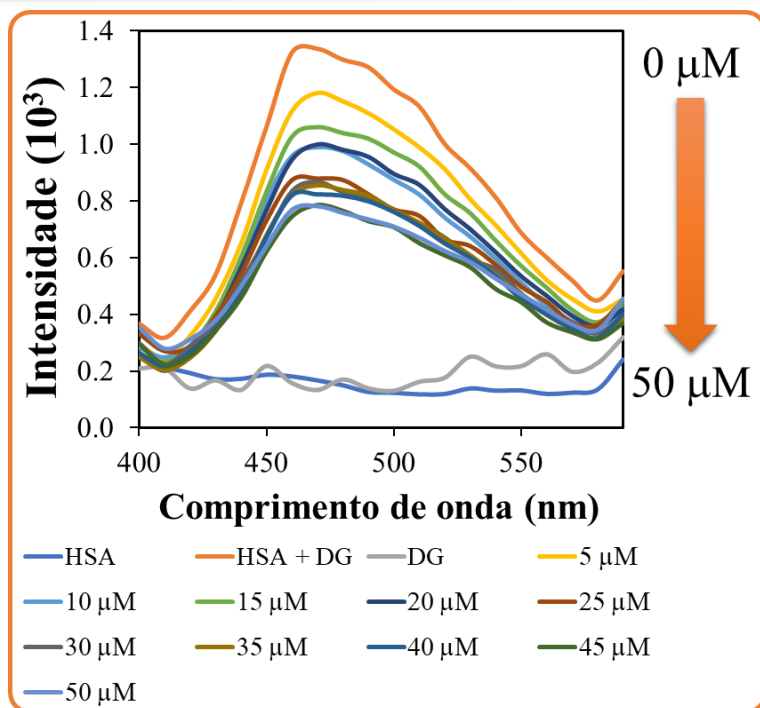


FIGURA 4.45 - Espectro da supressão da fluorescência do aduto dansilglicina-HSA em diferentes concentrações do complexo **6b** a 298 K

**LE R C I**

**CAPÍTULO 5 - CONCLUSÕES**

Três distintos modos de coordenação foram observados para os ligantes aciltioureias nos complexos sintetizados. A coordenação monodentada via átomo de enxofre (**1-5** e **1m-6m**) é um modo pouco comum para esta classe de ligantes em complexos de rutênio e está associada a conformação *S* da aciltioureia, compreendendo tanto a classe das aciltioureias monossubstituídas ou dissusstituídas. A partir da hidrólise dos complexos monodentados observa-se outros dois modos de coordenação bidentada dos ligantes aciltioureias, via átomos de enxofre e oxigênio (**1b-6b**) e via átomos de enxofre e nitrogênio (amídico) (**1a** e **4a**). O modo de coordenação bidentado S,O é dependente da conformação *U* do ligante aciltioureia. Já o modo de coordenação S,N é um modo bastante incomum para esta classe de ligantes, sobretudo para complexos de rutênio. Na literatura não há reportado nenhuma estrutura cristalina que evidencia este modo de coordenação dos ligantes aciltioureias em complexos de rutênio. Além da conformação *S* da aciltioureia monossusstituída, outro requisito para a consolidação deste modo de coordenação é a natureza do substituinte R.

A técnica de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  permite prever o modo de coordenação dos ligantes aciltioureias ao centro metálico a partir dos deslocamentos dos sinais dos carbonos dos grupos C=S e C=O. A coordenação monodentada não propicia significativos deslocamentos de ambos os sinais em relação ao ligante livre. A coordenação bidentada S,O propicia significativos deslocamentos ( $\sim 10$  ppm) com diferentes tendências, enquanto o sinal referente ao átomo de carbono do grupo C=S desloca-se para regiões mais blindadas do espectro, o carbono do grupo C=O desloca-se para regiões mais desblindadas. A coordenação bidentada S,N também é acompanhada de pronunciados deslocamentos ( $\sim 10$  ppm) para regiões desblindadas do espectro para ambos os carbonos.

Todos os 19 complexos avaliados são mais citotóxicos do que o precursor e os respectivos ligantes aciltioureias nas linhagens celulares investigadas, indicando que a coordenação do ligante aciltioureia favoreceu a



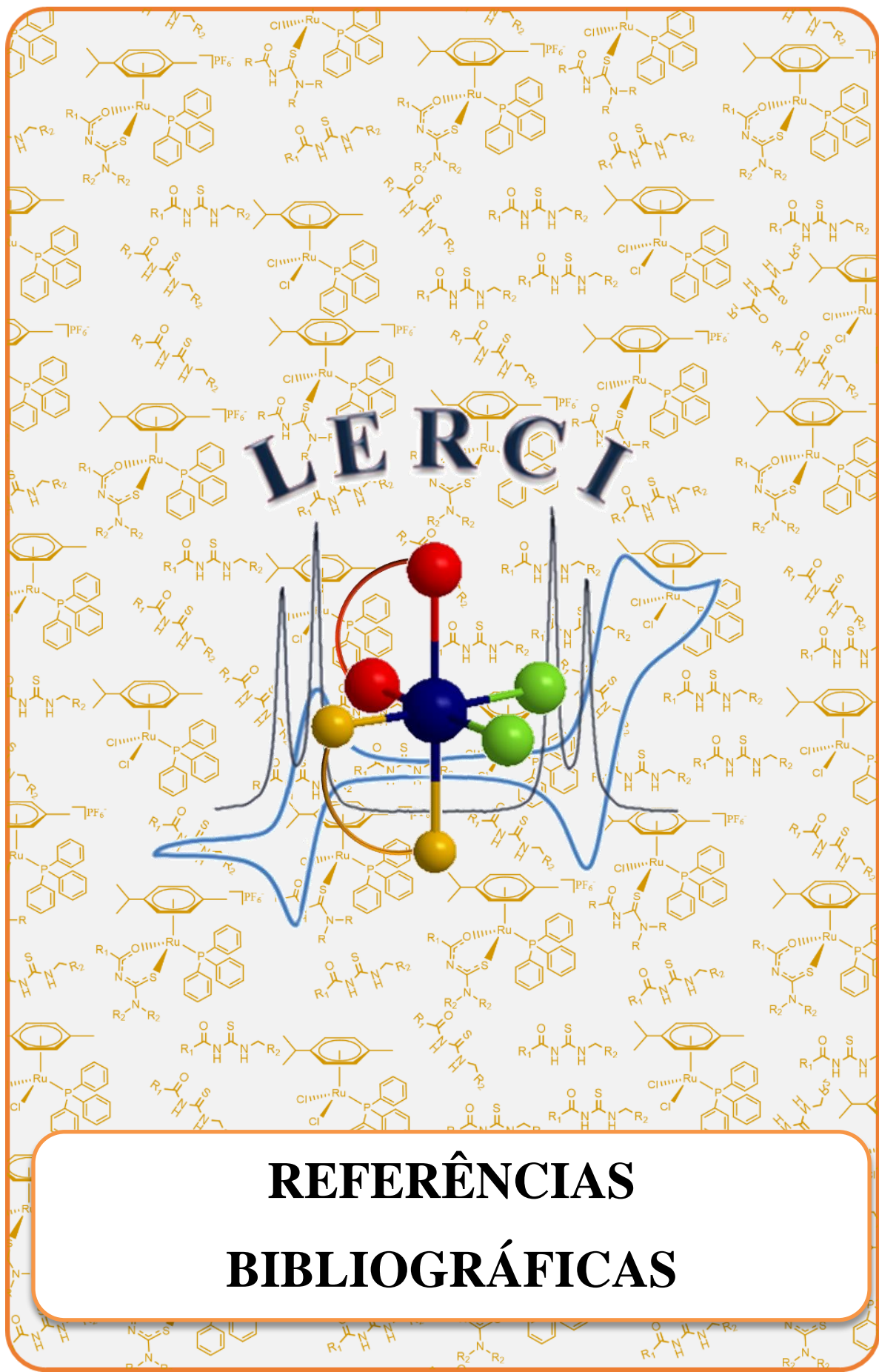
formação de um novo composto que potencializa a atividade de ambos, precursor e ligante. O ligante trifenilfosfina tem papel determinante na atividade citotóxica dos complexos, como confirmado pela análise da citotoxicidade de complexos análogos, sem a presença deste ligante, promovendo aumento da citotoxicidade em valores que chegam a ordem de 70 vezes. A atividade dos complexos é superior nas linhagens tumorais MDA-MB-231 e A549, entretanto os valores de  $IC_{50}$  são similares para todos os complexos investigados. Mas apesar desta similaridade, algumas tendências são evidenciadas: os complexos **1a** e **4a** foram mais ativos dos que seus respectivos complexos na coordenação monodentada **1** e **4**; os complexos da série 2, onde  $R_1$ = tiofeno e  $R_2$ = etil foram mais ativos do que os demais.

De modo geral os resultados dos ensaios morfológico, formação de colônia, migração, ciclo celular e apoptose também evidenciam comportamento similares dos complexos avaliados, onde não observou-se alterações significativas dos complexos monodentados com os bidentados. Sabe-se que em meio aquoso há a conversão da coordenação monodentada para a bidentada do ligante aciltiourea, o que prejudica esta análise. Os complexos promovem alterações morfológicas nas linhagens tumorais de maneira mais pronunciada do que nas linhagens não tumorais, nas condições analisadas, inibem a formação de colônia das células tumorais, como também a migração celular. Os complexos interferem no ciclo celular, promovendo acúmulo na fase Sub- $G_1$  e induzem morte celular pelo mecanismo de apoptose.

Os estudos de interação indicam que os complexos interagem com o DNA via sulco menor e com a proteína HSA, via sítio II (subdomínio IIIA). As constantes de interação dos complexos com a HSA compreendem a ordem  $10^4$ - $10^6$ , valores associados à forças de interação de moderada a forte. Interações fortes com esta proteína não são condições ideais, uma vez que a distribuição dos complexos via HSA pode ser comprometida pela alta estabilidade desta interação.



Todo o estudo apresentado aqui, fundamentado na parte química e biológica, nos possibilitou uma melhor compreensão do sistema Ru(II)-areno/aciltioureia/trifenilfostina. A potencialidade dos complexos para a aplicabilidade na área medicinal evidenciada neste trabalho encoraja a continuidade de estudos neste âmbito.



**REFERÊNCIAS  
BIBLIOGRÁFICAS**

1. Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil.ed. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, 2017. p.
2. PEDRAZA-FARIÑA, L.G. "Mechanisms of oncogenic cooperation in cancer initiation and metastasis.". *Yale Journal of Biology and Medicine* 79: 95, 2006.
3. ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer.ed. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, 2017. p.
4. BACAC, M. & STAMENKOVIC, I. "Metastatic cancer cell". *Annual review of pathology*, 3: 221, 2008.
5. ALMEIDA, G.M.; DUARTE, T.L.; FARMER, P.B.; STEWARD, W.P. & JONES, G.D. "Multiple end-point analysis reveals cisplatin damage tolerance to be a chemoresistance mechanism in a NSCLC model: implications for predictive testing". *International journal of cancer*, 122 (8): 1810, 2008.
6. YODER, B.J.; WILKINSON, E.J. & MASSOLL, N.A. "Molecular and morphologic distinctions between infiltrating ductal and lobular carcinoma of the breast". *The breast journal*, 13 (2): 172, 2007.
7. LUQMANI, Y.A. "Mechanisms of drug resistance in cancer chemotherapy". *Medical principles and practice : international journal of the Kuwait University, Health Science Centre*, 14 Suppl 1: 35, 2005.
8. MJOS, K.D. & ORVIG, C. "Metallo drugs in medicinal inorganic chemistry". *Chemical reviews*, 114 (8): 4540, 2014.
9. DOS SANTOS, N.A.; CARVALHO RODRIGUES, M.A.; MARTINS, N.M. & DOS SANTOS, A.C. "Cisplatin-induced nephrotoxicity and targets of nephroprotection: an update". *Archives of Toxicology*, 86 (8): 1233, 2012.
10. UIVAROSI, V.; OLAR, R. & BADEA, M. "Nanoformulation as a Tool for Improve the Pharmacological Profile of Platinum and Ruthenium Anticancer Drugs". 2017.
11. DORCIER, A.; ANG, W.H.; BOLAÑO, S.; GONSALVI, L.; JULLERAT-JEANNERAT, L.; LAURENCZY, G.; PERUZZINI, M.; PHILLIPS, A.D.; ZANOBINI, F. & DYSON, P.J. "In Vitro Evaluation of Rhodium and Osmium RAPTA Analogues: The Case for Organometallic Anticancer Drugs Not Based on Ruthenium". *Organometallics*, 25 (17): 4090, 2006.
12. M. BENEDETTI; C. DUCANI; D. MIGONI; D. ANTONUCCI; V.M. VECCHIO; A.ROMANO; T. VERRI & FANIZZI, F.P., *Possible Incorporation of Free N7-Platinated Guanines in DNA by DNA Polymerases, Relevance for the Cisplatin Mechanism of Action*, in *Cancer Drug Discovery and Development: Platinum and Other Heavy Metal Compounds in Cancer Chemother*, BONETTI, A.; MUGGIA, F.M.; LEONE, R. & HOWELL, S.B., Editors. 2009, Humana Press: New York. p. 125.
13. IMRAN ALI, W.A.W., KISHWAR SALEEM AND ASHANUL HAQUE "Platinum Compounds: A Hope for Future Cancer Chemotherapy ". *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 13: 296, 2013.

14. ALESSIO, E. "Thirty Years of the Drug Candidate NAMI-A and the Myths in the Field of Ruthenium Anticancer Compounds: A Personal Perspective". *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2017 (12): 1549, 2017.
15. LEIJEN, S.; BURGERS, S.A.; BAAS, P.; PLUIM, D.; TIBBEN, M.; VAN WERKHOVEN, E.; ALESSIO, E.; SAVA, G.; BEIJNEN, J.H. & SCHELLENS, J.H. "Phase I/II study with ruthenium compound NAMI-A and gemcitabine in patients with non-small cell lung cancer after first line therapy". *Investigational new drugs*, 33 (1): 201, 2015.
16. KUHN, P.S.; PICHLER, V.; ROLLER, A.; HEJL, M.; JAKUPEC, M.A.; KANDIOLLER, W. & KEPPLER, B.K. "Improved reaction conditions for the synthesis of new NKP-1339 derivatives and preliminary investigations on their anticancer potential". *Dalton transactions*, 44 (2): 659, 2015.
17. TRONDL, R.; HEFFETER, P.; KOWOL, C.R.; JAKUPEC, M.A.; BERGER, W. & KEPPLER, B.K. "NKP-1339, the first ruthenium-based anticancer drug on the edge to clinical application". *Chem. Sci.*, 5 (8): 2925, 2014.
18. COSTICH, T.L.; SETHURAMAN, J.; CROUSE, R. & BAKEWELL, S. "Abstract 284: IT-139 holds potential for combination therapy". *Cancer Research*, 76 (14 Supplement): 284, 2016.
19. SETHURAMAN, J.; COSTICH, T.L.; VOJKOVSKY, T.; CROUSE, R.; COGNET, V. & BAKEWELL, S. "Abstract 2996: IT-139 targets GRP78 in stressed cancer cells". *Cancer Research*, 76 (14 Supplement): 2996, 2016.
20. DUNITZ, J.D.; ORGEL, L.E. & RICH, A. "The crystal structure of ferrocene". *Acta Crystallographica*, 9 (4): 373, 1956.
21. MUETTERTIES, E.L.; BLEEKE, J.R.; WUCHERER, E.J. & ALBRIGHT, T. "Structural, stereochemical, and electronic features of arene-metal complexes". *Chemical reviews*, 82 (5): 499, 1982.
22. DALE, L.D.; TOCHER, J.H.; DYSON, T.M.; EDWARDS, D.I. & TOCHER, D.A. "Studies on DNA damage and induction of SOS repair by novel multifunctional bio-reducible compounds. II. A metronidazole adduct of a ruthenium-arene compound". *Anti-cancer drug design*, 7 (1): 3, 1992.
23. MURRAY, B.S.; BABAK, M.V.; HARTINGER, C.G. & DYSON, P.J. "The development of RAPTA compounds for the treatment of tumors". *Coordination Chemistry Reviews*, 306: 86, 2016.
24. ADHIREKSAN, Z.; DAVEY, G.E.; CAMPOMANES, P.; GROESSL, M.; CLAVEL, C.M.; YU, H.; NAZAROV, A.A.; YEO, C.H.; ANG, W.H.; DROGE, P.; ROTHLSBERGER, U.; DYSON, P.J. & DAVEY, C.A. "Ligand substitutions between ruthenium-cymene compounds can control protein versus DNA targeting and anticancer activity". *Nature communications*, 5: 3462, 2014.
25. DOUGAN, S.J. & SADLER, P.J. "The Design of Organometallic Ruthenium Arene Anticancer Agents". *CHIMIA International Journal for Chemistry*, 61 (11): 704, 2007.

26. AYDIN, F. & DAĞCI, E. "N-[(2,5-Dimethyl-3-oxo-1-phenyl-2,3-dihydro-1H-pyrazol-4-yl)carbamothioyl]isonicotinamide". *Molbank*, 2010 (2): M682, 2010.
27. SAEED, A.; FLÖRKE, U. & ERBEN, M.F. "A review on the chemistry, coordination, structure and biological properties of 1-(acyl/aroyl)-3-(substituted) thioureas". *Journal of Sulfur Chemistry*, 35 (3): 318, 2013.
28. SHAKEEL, A. "Thiourea Derivatives in Drug Design and Medicinal Chemistry: A Short Review". *Journal of Drug Design and Medicinal Chemistry*, 2 (1): 10, 2016.
29. ALY, A.A.; AHMED, E.K.; EL-MOKADEM, K.M. & HEGAZY, M.E.-A.F. "Update survey on aroyl substituted thioureas and their applications". *Journal of Sulfur Chemistry*, 28 (1): 73, 2007.
30. EGAN, T.J.; KOCH, K.R.; SWAN, P.L.; CLARKSON, C.; VAN SCHALKWYK, D.A. & SMITH, P.J. "In vitro antimalarial activity of a series of cationic 2,2'-bipyridyl- and 1,10-phenanthrolineplatinum(II) benzoylthiourea complexes". *Journal of medicinal chemistry*, 47 (11): 2926, 2004.
31. SCHMITT, B.; GERBER, T.I.A.; HOSTEN, E. & BETZ, R. "Monomeric/dimeric complexes of fac-[Re(CO)<sub>3</sub>]<sup>+</sup> with benzoylthiourea derivatives". *Inorganic Chemistry Communications*, 24: 136, 2012.
32. SHEN, X.; SHI, X.; KANG, B.; LIU, Y.; TONG, Y.; JIANG, H. & CHEN, K. "Syntheses, crystal structures and properties of Zn(II) and Cd(II) complexes derived from N-(o-nitrophenyl)-N'-(methoxycarbonyl) thiourea(H<sub>2</sub>omt) and 2,2'-bipyridine(bpy) or o-phenanthroline(phen)". *Polyhedron*, 17 (23-24): 4049, 1998.
33. CHE, D.-J.; LI, G.; YAO, X.-L.; WU, Q.-J.; WANG, W.-L. & ZHU, Y. "Photochemical generation of a novel (O, N', N'') coordinated iron(II) complex [Fe(FT-py)<sub>2</sub>] from a ferrocenoyl-functionalized thiourea ligand: N-ferrocenylcarbonyl-N'-(2-pyridyl)thiourea (HFT-py): crystal and molecular structures of HFT-py and [Fe(FT-py)<sub>2</sub>]". *Journal of Organometallic Chemistry*, 584 (1): 190, 1999.
34. KEMP, G.; ROODT, A.; PURCELL, W. & KOCH, K.R. "Unprecedented N,S,O co-ordination of the doubly deprotonated anion of N-benzoyl-N'-phenylthiourea (H<sub>2</sub>L<sub>2</sub>) bridging two rhodium(I) centres: crystal structure of the acetone solvate of [(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(CO)Rh(μ-L<sub>2</sub>-κN':κO,S)Rh(PPh<sub>3</sub>)(CO)]". *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, (23): 4481, 1997.
35. SOKOLOV, F.D.; ZABIROV, N.G.; YAMALIEVA, L.N.; SHTYRLIN, V.G.; GARIPPOV, R.R.; BRUSKO, V.V.; VERAT, A.Y.; BARANOV, S.V.; MLYNARZ, P.; GLOWIAK, T. & KOZLOWSKI, H. "Coordination diversity of N-phosphoryl-N'-phenylthiourea (LH) towards CoII, NiII and PdII cations: Crystal structure of ML<sub>2</sub>-N,S and ML<sub>2</sub>-O,S chelates". *Inorganica Chimica Acta*, 359 (7): 2087, 2006.



36. PLUTÍN, A.M.; ALVAREZ, A.; MOCELO, R.; RAMOS, R.; CASTELLANO, E.E.; DA SILVA, M.M.; VILLARREAL, W.; PAVAN, F.R.; MEIRA, C.S.; FILHO, J.S.R.; MOREIRA, D.R.M.; SOARES, M.B.P. & BATISTA, A.A. "Palladium(II)/ N , N -disubstituted- N '-acylthioureas complexes as anti- Mycobacterium tuberculosis and anti- Trypanosoma cruzi agents". *Polyhedron*, 132: 70, 2017.
37. PLUTÍN, A.M.; ALVAREZ, A.; MOCELO, R.; RAMOS, R.; CASTELLANO, E.E.; DA SILVA, M.M.; COLINA-VEGAS, L.; PAVAN, F.R. & BATISTA, A.A. "Anti-Mycobacterium tuberculosis activity of platinum(II)/N,N-disubstituted-N'-acyl thiourea complexes". *Inorganic Chemistry Communications*, 63: 74, 2016.
38. PLUTIN, A.M.; MOCELO, R.; ALVAREZ, A.; RAMOS, R.; CASTELLANO, E.E.; COMINETTI, M.R.; GRAMINHA, A.E.; FERREIRA, A.G. & BATISTA, A.A. "On the cytotoxic activity of Pd(II) complexes of N,N-disubstituted-N'-acyl thioureas". *Journal of inorganic biochemistry*, 134: 76, 2014.
39. CORREA, R.S.; DE OLIVEIRA, K.M.; DELOLO, F.G.; ALVAREZ, A.; MOCELO, R.; PLUTIN, A.M.; COMINETTI, M.R.; CASTELLANO, E.E. & BATISTA, A.A. "Ru(II)-based complexes with N-(acyl)-N',N'-(disubstituted)thiourea ligands: Synthesis, characterization, BSA- and DNA-binding studies of new cytotoxic agents against lung and prostate tumour cells". *Journal of inorganic biochemistry*, 150: 63, 2015.
40. BAROLLI, J.P.; MAIA, P.I.S.; COLINA-VEGAS, L.; MOREIRA, J.; PLUTIN, A.M.; MOCELO, R.; DEFLON, V.M.; COMINETTI, M.R.; CAMARGO-MATHIAS, M.I. & BATISTA, A.A. "Heteroleptic tris-chelate ruthenium(II) complexes of N , N -disubstituted- N '-acylthioureas: Synthesis, structural studies, cytotoxic activity and confocal microscopy studies". *Polyhedron*, 126: 33, 2017.
41. COLINA-VEGAS, L.; LUNA, L.; PLUTIN, A.; CASTELLANO, E.; COMINETTI, M.R. & BATISTA, A.A. "Ru(II)-arene acylthioureas complexes: DNA/HSA-binding, anti-migration and cell death in a triple negative breast tumor cell line". *Dalton transactions*, 2017.
42. SAEED, S.; RASHID, N.; ALI, M.; HUSSAIN, R. & JONES, P.G. "Synthesis, spectroscopic characterization, crystal structure and pharmacological properties of some novel thiophene-thiourea core derivatives". *European Journal of Chemistry*, 1 (3): 221, 2010.
43. CAIRO, R.R.; STEVENS, A.M.; DE OLIVEIRA, T.D.; BATISTA, A.A.; CASTELLANO, E.E.; DUQUE, J.; SORIA, D.B.; FANTONI, A.C.; CORREA, R.S. & ERBEN, M.F. "Understanding the conformational changes and molecular structure of fuoyl thioureas upon substitution". *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*, 176: 8, 2017.

44. VELHO, R.G., Medidas de Condutividade na Caracterização de Complexos Inorgânicos: Um Levantamento Bibliográfico. Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar, 2006. Dissertação de Mestrado, 60 p.
45. VOSKO, S.H.; WILK, L. & NUSAIR, M. "Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis". *Canadian Journal of Physics*, 58 (8): 1200, 1980.
46. HAY, P.J. & WADT, W.R. "Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for the transition metal atoms Sc to Hg". *The Journal of Chemical Physics*, 82 (1): 270, 1985.
47. HARIHARAN, P.C. & POPLE, J.A. "The influence of polarization functions on molecular orbital hydrogenation energies". *Theoretica Chimica Acta*, 28 (3): 213, 1973.
48. GOWDA, V.; LAITINEN, R.S.; TELKKI, V.V.; LARSSON, A.C.; ANTZUTKIN, O.N. & LANTTO, P. "DFT calculations in the assignment of solid-state NMR and crystal structure elucidation of a lanthanum(III) complex with dithiocarbamate and phenanthroline". *Dalton transactions*, 45 (48): 19473, 2016.
49. MOSMANN, T. "Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays". *Journal of Immunological Methods*, 65: 55, 1983.
50. SHEEBA, M.M.; MUTHU TAMIZH, M.; FARRUGIA, L.J.; ENDO, A. & KARVEMBU, R. "Chiral ( $\eta^6$ -p-Cymene)ruthenium(II) Complexes Containing Monodentate Acylthiourea Ligands for Efficient Asymmetric Transfer Hydrogenation of Ketones". *Organometallics*, 33 (2): 540, 2014.
51. SINGH, T.S.K.K. "Synthesis and characterization of new ruthenium-aromatic thioamide nitrosyls". *Oriental Journal of Chemistry*, 26 (3): 1171, 2010.
52. GANESHPANDIAN, M.; LOGANATHAN, R.; SURESH, E.; RIYASDEEN, A.; AKBARSHA, M.A. & PALANIANDAVAR, M. "New ruthenium(II) arene complexes of anthracenyl-appended diazacycloalkanes: effect of ligand intercalation and hydrophobicity on DNA and protein binding and cleavage and cytotoxicity". *Dalton transactions*, 43 (3): 1203, 2014.
53. PEACOCK, A.F.; HABTEMARIAM, A.; FERNANDEZ, R.; WALLAND, V.; FABBIANI, F.P.; PARSONS, S.; AIRD, R.E.; JODRELL, D.I. & SADLER, P.J. "Tuning the reactivity of osmium(II) and ruthenium(II) arene complexes under physiological conditions". *Journal of the American Chemical Society*, 128 (5): 1739, 2006.
54. PEREZ, H.; CORREA, R.S.; PLUTIN, A.M.; ALVAREZ, A. & MASCARENHAS, Y. "N-Benzoyl-N',N'-dimethyl-thio-urea". *Acta crystallographica. Section E, Structure reports online*, 67 (Pt 3): o647, 2011.
55. FRAGA, A.R.L.; COLLINS, A.; FORTE, G.; RESCIFINA, A. & PUNZO, F. "Structures and properties in different media of N,N-(diethylcarbamothioyl)furan-2-carboxamide: A ionophore for sensor membranes". *Journal of Molecular Structure*, 929 (1-3): 174, 2009.

56. WEIQUN, Z.; WEN, Y.; LIQUN, X. & XIANCHEN, C. "N-Benzoyl-N'-dialkylthiourea derivatives and their Co(III) complexes: structure, and antifungal". *Journal of inorganic biochemistry*, 99 (6): 1314, 2005.
57. SAEED, A.; KHURSHID, A.; JASINSKI, J.P.; POZZI, C.G.; FANTONI, A.C. & ERBEN, M.F. "Competing intramolecular NHOC hydrogen bonds and extended intermolecular network in 1-(4-chlorobenzoyl)-3-(2-methyl-4-oxopentan-2-yl) thiourea analyzed by experimental and theoretical methods". *Chemical Physics*, 431-432: 39, 2014.
58. KOCH, K.R. "New chemistry with old ligands: N-alkyl- and N,N-dialkyl-N-acyl(aryl)thioureas in co-ordination, analytical and process chemistry of the platinum group metals". *Coordination Chemistry Reviews*, 216-217: 473, 2001.
59. GUNASEKARAN, N.; RAMESH, P.; PONNUSWAMY, M.N. & KARVEMBU, R. "Monodentate coordination of N-[di(phenyl/ethyl)carbamothioyl]benzamide ligands: synthesis, crystal structure and catalytic oxidation property of Cu(I) complexes". *Dalton transactions*, 40 (46): 12519, 2011.
60. KALIDASAN, M.; NAGARAJAPRAKASH, R.; FORBES, S.; MOZHARIVSKYJ, Y. & RAO, K.M. "Synthesis, Spectroscopic and Molecular Studies of Half-Sandwich  $\eta^6$ -Arene Ruthenium, Cp\* Rhodium and Cp\* Iridium Metal Complexes with Bidentate Ligands". *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*, 641 (3-4): 715, 2015.
61. JEYALAKSHMI, K.; HARIBABU, J.; BHUVANESH, N.S. & KARVEMBU, R. "Half-sandwich RuCl<sub>2</sub>( $\eta^6$ -p-cymene) core complexes containing sulfur donor arylthiourea ligands: DNA and protein binding, DNA cleavage and cytotoxic studies". *Dalton transactions*, 45 (31): 12518, 2016.
62. HANIF, M.; NAWAZ, M.A.; BABAK, M.V.; IQBAL, J.; ROLLER, A.; KEPPLER, B.K. & HARTINGER, C.G. "RutheniumII( $\eta^6$ -arene) complexes of thiourea derivatives: synthesis, characterization and urease inhibition". *Molecules*, 19 (6): 8080, 2014.
63. LEE, J.P.; HANKINS, M.J.; RINER, A.D. & ALBU, T.V. "Synthetic, structural, and spectroscopic studies of mixed sandwich Ru(II) complexes involving  $\eta^6$ -p-cymene with monodentate fluorine-containing phosphines or phosphites". *Journal of Coordination Chemistry*, 69 (1): 20, 2016.
64. KÜHL, O. *Phosphorus-31 NMR Spectroscopy: A Concise Introduction for the Synthetic Organic and Organometallic Chemist*. Springer, 2008. p.
65. TAN, S.S.; AL-ABBASI, A.A.; MOHAMED TAHIR, M.I. & KASSIM, M.B. "Synthesis, structure and spectroscopic properties of cobalt(III) complexes with 1-benzoyl-(3,3-disubstituted)thiourea". *Polyhedron*, 68: 287, 2014.
66. BOUAYAD-GERVAIS, S. & LUBELL, W. "Examination of the Potential for Adaptive Chirality of the Nitrogen Chiral Center in Aza-Aspartame". *Molecules*, 18 (12): 14739, 2013.



67. LE GREL, P.; ASPROGENIDI, A.; HUEZ, P.; LE GREL, B.; SALAUN, A.; ROISNEL, T.; POTEL, M.; RASTI, E. & HOCQUET, A. "Stereodynamics of nitrogen chiral centers in aza-beta3-cyclodipeptides". *Chirality*, 25 (6): 341, 2013.
68. GRAMATICA, P.; PAPA, E.; LUINI, M.; MONTI, E.; GARIBOLDI, M.B.; RAVERA, M.; GABANO, E.; GAVIGLIO, L. & OSELLA, D. "Antiproliferative Pt(IV) complexes: synthesis, biological activity, and quantitative structure-activity relationship modeling". *Journal of biological inorganic chemistry : JBIC : a publication of the Society of Biological Inorganic Chemistry*, 15 (7): 1157, 2010.
69. CETRAZ, M.; SEN, V.; SCHOCH, S.; STREULE, K.; GOLUBEV, V.; HARTWIG, A. & KÖBERLE, B. "Platinum(IV)-nitroxyl complexes as possible candidates to circumvent cisplatin resistance in RT112 bladder cancer cells". *Archives of Toxicology*, 91 (2): 785, 2016.
70. FONTEH, P.; ELKHADIR, A.; OMONDI, B.; GUZEI, I.; DARKWA, J. & MEYER, D. "Impedance technology reveals correlations between cytotoxicity and lipophilicity of mono and bimetallic phosphine complexes". *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*, 28 (4): 653, 2015.
71. SAEZ, R.; LORENZO, J.; PRIETO, M.J.; FONT-BARDIA, M.; CALVET, T.; OMENACA, N.; VILASECA, M. & MORENO, V. "Influence of PPh(3) moiety in the anticancer activity of new organometallic ruthenium complexes". *Journal of inorganic biochemistry*, 136: 1, 2014.
72. HUANG, X.; HALICKA, H.D.; TRAGANOS, F.; TANAKA, T.; KUROSE, A. & DARZYNKIEWICZ, Z. "Cytometric assessment of DNA damage in relation to cell cycle phase and apoptosis". *Cell proliferation*, 38 (4): 223, 2005.
73. INDUMATHY, R.; RADHIKA, S.; KANTHIMATHI, M.; WEYHERMULLER, T. & UNNI NAIR, B. "Cobalt complexes of terpyridine ligand: crystal structure and photocleavage of DNA". *Journal of inorganic biochemistry*, 101 (3): 434, 2007.
74. CAO, W.; ZHENG, W. & CHEN, T. "Ruthenium polypyridyl complex inhibits growth and metastasis of breast cancer cells by suppressing FAK signaling with enhancement of TRAIL-induced apoptosis". *Scientific reports*, 5: 9157, 2015.
75. GLIGORIJEVIC, N.; ARANDELOVIC, S.; FILIPOVIC, L.; JAKOVLJEVIC, K.; JANKOVIC, R.; GRGURIC-SIPKA, S.; IVANOVIC, I.; RADULOVIC, S. & TESIC, Z. "Picolinate ruthenium(II)-arene complex with in vitro antiproliferative and antimetastatic properties: comparison to a series of ruthenium(II)-arene complexes with similar structure". *Journal of inorganic biochemistry*, 108: 53, 2012.

76. BERGAMO, A.; MASI, A.; DYSON, P.J. & SAVA, G. "Modulation of the metastatic progression of breast cancer with an organometallic ruthenium compound". *International Journal of Oncology*, 33: 1281,
77. MALUMBRES, M. & BARBACID, M. "Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm". *Nature reviews. Cancer*, 9 (3): 153, 2009.
78. KHODJAKOV, A. & RIEDER, C.L. "The nature of cell-cycle checkpoints: facts and fallacies". *Journal of biology*, 8 (10): 88, 2009.
79. ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; MORGAN, D.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P.; WILSON, J. & HUNT, T. *Biologia Molecular da Célula*. 5a ed. Artmed, 2011. p.
80. JOVANOVIĆ, K.K.; TANIC, M.; IVANOVIĆ, I.; GLIGORIJEVIĆ, N.; DOJCINOVIĆ, B.P. & RADULOVIĆ, S. "Cell cycle, apoptosis, cellular uptake and whole-transcriptome microarray gene expression analysis of HeLa cells treated with a ruthenium(II)-arene complex with an isoquinoline-3-carboxylic acid ligand". *Journal of inorganic biochemistry*, 163: 362, 2016.
81. MUHLGASSNER, G.; BARTEL, C.; SCHMID, W.F.; JAKUPEC, M.A.; ARION, V.B. & KEPPLER, B.K. "Biological activity of ruthenium and osmium arene complexes with modified paullones in human cancer cells". *Journal of inorganic biochemistry*, 116: 180, 2012.
82. WATSON, J.D. & CRICK, F.H.C. "Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid". *Nature*, 171 (4356): 737, 1953.
83. OGUEY, C.; FOLOPPE, N. & HARTMANN, B. "Understanding the sequence-dependence of DNA groove dimensions: implications for DNA interactions". *PloS one*, 5 (12): e15931, 2010.
84. PAGES, B.J.; ANG, D.L.; WRIGHT, E.P. & ALDRICH-WRIGHT, J.R. "Metal complex interactions with DNA". *Dalton transactions*, 44 (8): 3505, 2015.
85. BARRA, C.V. & NETTO, A.V.G. "Antitumour Complexes and DNA Interactions and their Tools of Analysis: an Approach to Metalointercalators". *Revista Virtual de Química*, 7 (6): 1998, 2015.
86. NIAL, J.W.; CRAIG, R.B.; COLLINS, J.G.; SHARON, K. & JANICE, R.A.-W. "DNA Intercalators in Cancer Therapy: Organic and Inorganic Drugs and Their Spectroscopic Tools of Analysis". *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 7 (6): 627, 2007.
87. FU, X.B.; LIU, D.D.; LIN, Y.; HU, W.; MAO, Z.W. & LE, X.Y. "Water-soluble DNA minor groove binders as potential chemotherapeutic agents: synthesis, characterization, DNA binding and cleavage, antioxidation, cytotoxicity and HSA interactions". *Dalton transactions*, 43 (23): 8721, 2014.
88. VILLARREAL, W.; COLINA-VEGAS, L.; RODRIGUES DE OLIVEIRA, C.; TENORIO, J.C.; ELLENA, J.; GOZZO, F.C.; COMINETTI, M.R.; FERREIRA, A.G.; FERREIRA, M.A.; NAVARRO, M. & BATISTA, A.A. "Chiral Platinum(II) Complexes Featuring Phosphine and Chloroquine Ligands

as Cytotoxic and Monofunctional DNA-Binding Agents". *Inorganic chemistry*, 54 (24): 11709, 2015.

89. SAITO, M.; KOBAYASHI, M.; IWABUCHI, S.; MORITA, Y.; TAKAMURA, Y. & TAMIYA, E. "DNA condensation monitoring after interaction with hoechst 33258 by atomic force microscopy and fluorescence spectroscopy". *Journal of biochemistry*, 136 (6): 813, 2004.

90. GUAN, Y.; ZHOU, W.; YAO, X.; ZHAO, M. & LI, Y. "Determination of nucleic acids based on the fluorescence quenching of Hoechst 33258 at pH 4.5". *Analytica Chimica Acta*, 570 (1): 21, 2006.

91. SARWAR, T.; HUSAIN, M.A.; REHMAN, S.U.; ISHQI, H.M. & TABISH, M. "Multi-spectroscopic and molecular modelling studies on the interaction of esculetin with calf thymus DNA". *Molecular bioSystems*, 11 (2): 522, 2015.

92. MONCHAUD, D.; ALLAIN, C. & TEULADE-FICHO, M.P. "Development of a fluorescent intercalator displacement assay (G4-FID) for establishing quadruplex-DNA affinity and selectivity of putative ligands". *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 16 (18): 4842, 2006.

93. XING, Y.P.; LIU, C.; ZHOU, X.H. & SHI, H.C. "Label-free detection of kanamycin based on a G-quadruplex DNA aptamer-based fluorescent intercalator displacement assay". *Scientific reports*, 5: 8125, 2015.

94. CARTER, D.C. & HO, J.X. "Structure of Serum Albumin". 45: 153, 1994.

95. NAVEENRAJ, S. & ANANDAN, S. "Binding of serum albumins with bioactive substances – Nanoparticles to drugs". *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 14: 53, 2013.

96. WANG, Y.; YU, H.; SHI, X.; LUO, Z.; LIN, D. & HUANG, M. "Structural mechanism of ring-opening reaction of glucose by human serum albumin". *The Journal of biological chemistry*, 288 (22): 15980, 2013.

97. LAKOWICZ, J.R. "Principles of Fluorescence Spectroscopy". Springer Science, 2006.

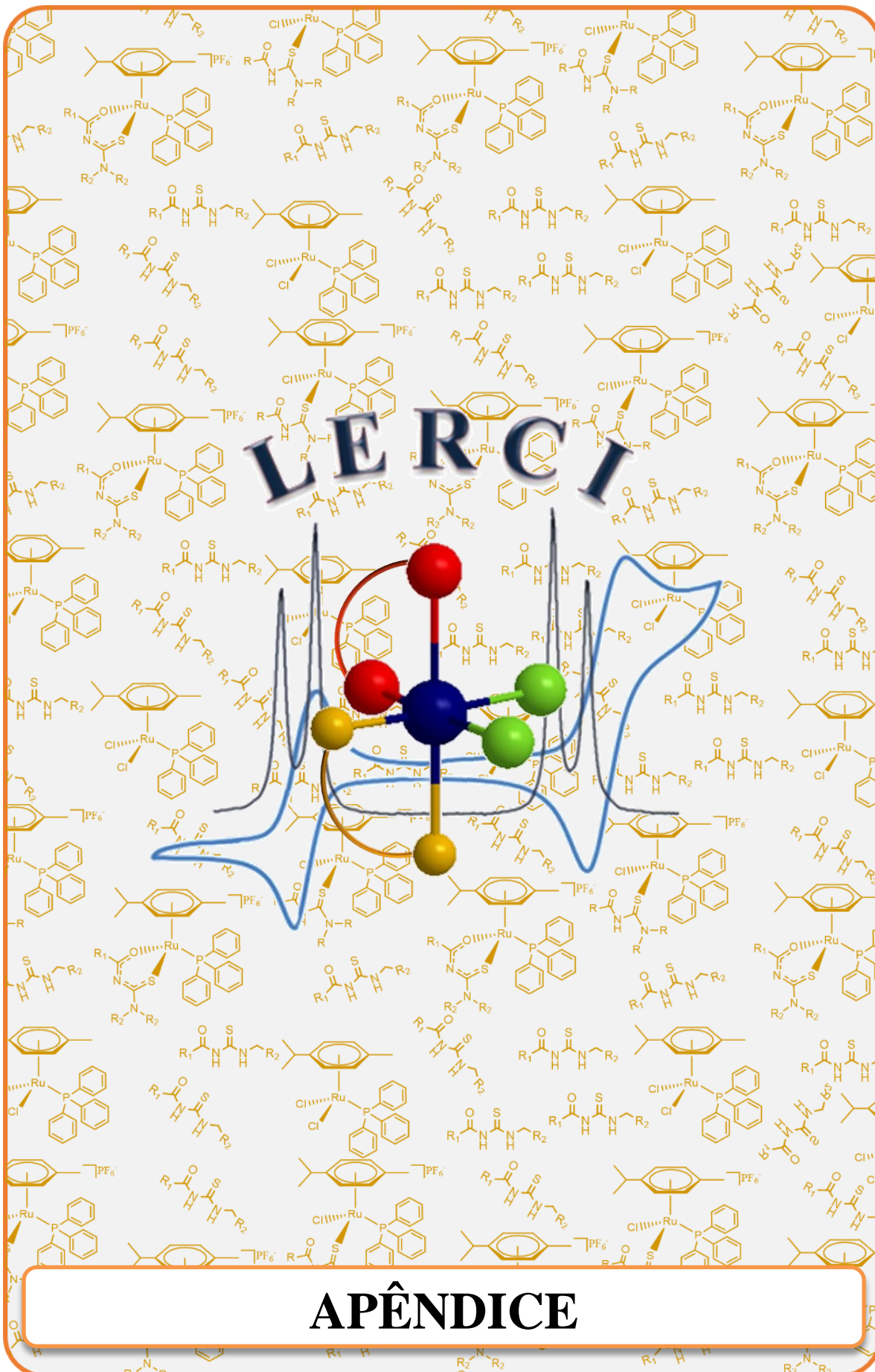
98. GANESHPIANDIAN, M.; LOGANATHAN, R.; SURESH, E.; RIYASDEEN, A.; AKBARSHA, M.A. & PALANIANDAVAR, M. "New ruthenium(II) arene complexes of anthracenyl-appended diazacycloalkanes: effect of ligand intercalation and hydrophobicity on DNA and protein binding and cleavage and cytotoxicity". *Dalton Trans.*, 43 (3): 1203, 2014.

99. MOREIRA, M.B.; FRANCISCATO, D.S.; TOLEDO, K.C.F.; SOUZA, J.R.B.D.; NAKATANI, H.S. & SOUZA, V.R.D. "Investigation of the Fluorescence Quenching of Bovine and Human Serum Albumin by Ruthenium Complex". *Química Nova*, 2014.

100. GRACIANI, F.S. & XIMENES, V.F. "Investigation of human albumin-induced circular dichroism in dansylglycine". *PloS one*, 8 (10): e76849, 2013.

101. SUDLOW, G.; BIRKETT, D.J. & WADE, D.N. " Further characterization of specific drug binding sites on human serum albumin". *Molecular pharmacology*, 12: 1052, 1976.

102. SUDLOW, G.; BIRKETT, D.J. & WADE, D.N. "The characterization of two specific drug binding sites on human serum albumin". *Molecular pharmacology*, 11: 824, 1975.



**APÊNDICE**



## Caracterização Completa dos complexos

### [Ru( $\eta^6$ -*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub>)(*N*-(metilfuroil)-*N'*-2-furoiltiourea)](PF<sub>6</sub>) (1)

Análise Elementar(%) calc. Para C<sub>39</sub>H<sub>39</sub>ClF<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>P<sub>2</sub>RuS: exp. (calc.) C, 50.74(50.46); H, 4.57 (4.23); N, 3.14 (3.02); S 3.94 (3.45)%. Condutividade Molar (acetone): 138 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νN-H) 3223, 3169; (νC-H<sub>cym, PPh<sub>3</sub>, T</sub>) 3105, 2967, 2873 ; (νC=O) 1687; (νC=S) 1273; (νC-P) 1089; (νP-F) 843; (νRu-P) 559; (νRu-S) 501. RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} (162 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: 28.9 (s). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 1.13 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 7.0 Hz, CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.15 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 7.0 Hz, CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 2.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.71 (hept, <sup>3</sup>J= 7.0 Hz, 1H, CH isopropil do *p*-cimeno); 5.05 (m, 2H, CH<sub>2</sub> aciltiourea); 5.64 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil ); 5.68 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 6.04 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 6.07 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 6.32 (m, 1H, H<sub>9</sub>); 6.40 (m, 1H, H<sub>10</sub>); 6.85 (dd, 1H, <sup>3</sup>J= 1.2, 2.0 Hz, H<sub>5</sub>); 7.54 (m, 10H, H<sub>11</sub> e 9H, H<sub>meta</sub> e para trifenilfosfina); 7.71 (m, 7H, H<sub>4</sub> e 6H<sub>orto</sub> da trifenilfosfina); 8.08 (s, 1H, H<sub>6</sub>), 11.55 (m, 1H, N<sup>2</sup>H); 11.72 (s, 1H, N<sup>1</sup>H). RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 17.6 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 22.0 and 22.2 (2CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 31.5 (CH isopropil do *p*-cimeno); 42.9 (CH<sub>2</sub> aciltiourea); 89.9 and 91.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 4.6, 3.3 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 94.2 and 95.6 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 3.1, 2.2 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 102.4 (C adjacente ao metil do *p*-cimeno); 110.3 (C<sub>9</sub>); 111.6 (C<sub>10</sub>); 114.3 (C<sub>5</sub>); 115.3 (C adjacente ao grupo isopropil); 120.7 (C<sub>4</sub> da aciltiourea); 129.4 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>= 10.2 Hz, C<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 132.0 (C<sub>para</sub> trifenilfosfina); 133.4 (d, <sup>1</sup>J<sub>CP</sub>= 48.2 Hz C<sub>quaternário</sub> trifenilfosfina); 134.9 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 9.5 Hz, C<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 143.9 (C<sub>11</sub>); 145.9 (C<sub>3</sub>); 149.2 (C<sub>6</sub>); 149.6 (C<sub>8</sub>); 158.8 (C<sub>2</sub>); 180.6 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>= 8.7 Hz, C<sub>1</sub>).

### [Ru( $\eta^6$ -*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub>)(*N*-(metiltiofenil)-*N*-2-tiofeniltiourea)Cl](PF<sub>6</sub>) (2)

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>39</sub>H<sub>39</sub>ClF<sub>6</sub>N<sub>2</sub>OP<sub>2</sub>RuS<sub>3</sub>: exp. (calc.) C, 48.82 (48.77); H, 4.39 (4.09); N, 3.04 (2.92); S 10.29 (10.02)%. Condutividade Molar (acetona): 137 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νN-H) 3222, 3158; (νC-H<sub>cym, PPh<sub>3</sub>, T</sub>) 3068, 2968, 2873; (νC=O) 1665; (νC=S) 1272; (νC-P) 1091; (νP-F) 842; (νRu-P) 559; (νRu-S) 501. RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} (162 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: 29.42 (s). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz,

Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 1.10 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.8 Hz, CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.16 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.8 Hz, CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 2.14 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.71 (hept, <sup>3</sup>J= 6.8 Hz, 1H, CH isopropil do *p*-cimeno); 5.28 (d, 2H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH<sub>2</sub> aciltioureia); 5.62 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.67 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 6.04 (m, 2H, CH aromático próximo ao grupo metil e ao grupo isopropil); 6.98 (m, 1H, H<sub>9</sub>); 7.11 (m, 1H, H<sub>10</sub>); 7.36 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 7.41 (d, <sup>3</sup>J= 4.8 Hz, 1H, H<sub>11</sub> aciltioureia); 7.56 (m, 9H, H<sub>meta</sub> e para trifenilfosfina); 7.74 (m, 6H, H<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 8.09 (d, <sup>3</sup>J= 4.8, 1H, H<sub>6</sub>); 8.40 (d, <sup>3</sup>J= 3.2 Hz, 1H, H<sub>4</sub>), 11.62 (s, 2H, NH aciltioureia). RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 17.6 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 22.0 and 22.3 (2CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 31.5 (CH *p*-cimeno); 44.8 (CH<sub>2</sub>); 89.6 and 91.6 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 4.8, 3.5 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 93.8 and 95.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 3.0, 2.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 102.6 (C adjacente ao grupo metil do *p*-cimeno); 115.6 (C adjacente ao grupo isopropil); 127.0 (C<sub>9</sub>); 127.8 (C<sub>10</sub>); 128.8 (C<sub>11</sub> aciltioureia); 129.5 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>= 10 Hz, C<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 129.8 (C<sub>5</sub> aciltioureia); 132.1 (C<sub>para</sub> trifenilfosfina); 133.3 (d, <sup>1</sup>J<sub>CP</sub>= 48.1 Hz C<sub>quaternário</sub> trifenilfosfina); 133.5 (C<sub>4</sub>); 134.9 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 9.5 Hz, C<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 137.0 (C<sub>6</sub>); 137.1 (C<sub>3</sub>); 138.7 (C<sub>8</sub>); 163.3 (C<sub>2</sub>) e 180.4 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>= 8.4 Hz, C<sub>1</sub>).

### [Ru(η<sup>6</sup>-*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub> *N*-(metilfuroil)-*N'*-2-tiofeniltioureia)Cl](PF<sub>6</sub>) (3)

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>39</sub>H<sub>39</sub>ClF<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>P<sub>2</sub>RuS<sub>2</sub>: exp. (calc.) C, 49.22 (49.60); H, 4.09 (4.16); N, 3.04 (2.97); S 7.15 (6.79)%. Condutividade Molar (acetona): 140 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νN-H) 3212, 3152; (νC-H<sub>cym</sub>, PPh<sub>3</sub>, T) 3063, 2963, 2874; (νC=O) 1666; (νC=S) 1271; (νC-P) 1092; (νP-F) 839; (νRu-P) 557; (νRu-S) 497. RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} (162 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: 28.48 (s). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 1.11 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 Hz, CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.14 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 Hz, CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 2.10 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.72 (hept, <sup>3</sup>J= 6.9 Hz, 1H, CH isopropil do *p*-cimeno); 5.08 (m, 2H, CH<sub>2</sub> aciltioureia); 5.62 (d, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, 1H, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.66 (d, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, 1H, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 6.03 (d, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 6.06 (d, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 6.35 (m, 1H, H<sub>10</sub>); 6.41 (m, 1H, H<sub>9</sub>); 7.36 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 7.55 (m, 10H, H<sub>11</sub> e 9H, H<sub>meta</sub> e para trifenilfosfina); 7.72 (m, 6H, H<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 8.10 (dd, <sup>3,4</sup>J= 3.6, 1.0 Hz, 1H, H<sub>4</sub>); 8.40 (dd, <sup>3,4</sup>J= 5.0, 1.0 Hz, 1H, H<sub>6</sub>); 11.60 (m, 1H, N<sup>2</sup>H), 11.70 (s, 1H, N<sup>1</sup>H). RMN de

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  (100 MHz, Acetona- $d_6$ , 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 17.6 ( $\text{CH}_3$  *p*-cimeno); 21.9 and 22.2 (2 $\text{CH}_3$  isopropil do *p*-cimeno); 31.5 (CH isopropil do *p*-cimeno); 43.0 ( $\text{CH}_2$ ); 89.7 e 91.6 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 4.7, 3.5$  Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 93.78 e 95.25 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 3.0, 2.0$  Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 102.6 (C adjacente do grupo metil do *p*-cimeno); 110.3 ( $\text{C}_{10}$ ); 111.5 ( $\text{C}_9$  aciltiourea); 115.5 (C adjacente do grupo isopropil); 129.4 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 10$  Hz,  $\text{C}_{\text{meta}}$  trifenilfosfina); 129.7 ( $\text{C}_5$ ); 132.1 ( $\text{C}_{\text{para}}$  trifenilfosfina); 133.2 (d,  $^1J_{\text{CP}} = 48.5$  Hz  $\text{C}_{\text{quaternário}}$  trifenilfosfina); 133.4 ( $\text{C}_3$ ); 133.5 ( $\text{C}_4$ ); 134.9 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 9.5$  Hz,  $\text{C}_{\text{orto}}$  trifenilfosfina); 137.0 ( $\text{C}_6$ ); 143.9 ( $\text{C}_{11}$ ); 149.53 ( $\text{C}_8$ ); 163.44 ( $\text{C}_2$ ) e 180.8 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 8.2$  Hz,  $\text{C}_1$ ).

**[Ru( $\eta^6$ -*p*-cimeno)(PPh $_3$ )(*N*-(metil-1,3-benzodioxolil)-*N'*-2 furoiltiourea)Cl](PF $_6$ ) (4)**

Análise Elementar (%) calc. para  $\text{C}_{42}\text{H}_{41}\text{ClF}_6\text{N}_2\text{O}_4\text{P}_2\text{RuS}$ : exp. (calc.) C, 51.70 (51.35); H, 4.60 (4.21); N, 2.95 (2.85); S 3.72 (3.26)%. Condutividade Molar (acetona): 136 S  $\text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$ . IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): ( $\nu_{\text{N-H}}$ ) 3223, 3146; ( $\nu_{\text{C-H}}$   $_{\text{cym, PPh}_3, \text{T}}$ ) 3060, 2974, 2928; ( $\nu_{\text{C=O}}$ ) 1682; ( $\nu_{\text{C=S}}$ ) 1283; ( $\nu_{\text{C-P}}$ ) 1094; ( $\nu_{\text{P-F}}$ ) 841; ( $\nu_{\text{Ru-P}}$ ) 557; ( $\nu_{\text{Ru-S}}$ ) 499. RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  (162 MHz, Acetona- $d_6$ , 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: 28.83 (s). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, Acetona- $d_6$ , 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 1.06 (d, 3H,  $^3J = 6.9$  Hz,  $\text{CH}_3$  isopropil do *p*-cimeno); 1.12 (d, 3H,  $^3J = 6.9$  Hz,  $\text{CH}_3$  isopropil do *p*-cimeno); 2.06 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  *p*-cimeno); 2.64 (hept,  $^3J = 6.9$  Hz, 1H, CH isopropil do *p*-cimeno); 4.95 (m, 2H,  $\text{CH}_2(\text{C}_7)$  aciltiourea); 5.59 (d, 1H,  $^3J = 6.3$  Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.70 (d,  $^3J = 6.3$  Hz, 1H, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 6.00 (m, 4H, 2 CH aromático próximo ao grupo metil e  $\text{CH}_2(\text{C}_{12})$  aciltiourea); 6.80 (m, 1H,  $\text{H}_{10}$ ); 6.86 (m, 2H,  $\text{H}_5$  e  $\text{H}_9$ ); 6.92 (m, 1H,  $\text{H}_{14}$ ); 7.53 (m, 9H,  $\text{H}_{\text{meta}}$  e  $\text{para}$  trifenilfosfina); 7.69 (m, 7H, 6 $\text{H}_{\text{orto}}$  trifenilfosfina e  $\text{H}_4$ ); 8.08 (dd,  $^{3,4}J = 1.7, 0.7$  Hz, 1H,  $\text{H}_6$ ); 11.60 (m, 1H,  $\text{N}^2\text{H}$ ); 11.66 (s, 1H,  $\text{N}^1\text{H}$  aciltiourea). RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  (100 MHz, Acetona- $d_6$ , 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 17.5 ( $\text{CH}_3$  *p*-cimeno); 21.8 and 22.3 (2 $\text{CH}_3$  isopropil do *p*-cimeno); 31.4 (CH isopropil do *p*-cimeno); 49.7 ( $\text{C}_7$ ); 89.5 and 91.5 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 4.9, 3.9$  Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 94.3 e 95.6 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 3.6, 2.7$  Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 102.2 ( $\text{C}_{12}$ ); 102.4 (C adjacente ao grupo metil do *p*-cimeno); 109.1 ( $\text{C}_{10}$ ); 109.3 ( $\text{C}_{14}$ ); 114.3 ( $\text{C}_5$ ); 115.0 (C adjacente ao grupo isopropil); 120.5 ( $\text{C}_4$ ); 122.6 ( $\text{C}_9$ ); 129.34 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 10$  Hz,  $\text{C}_{\text{meta}}$  trifenilfosfina); 130.6 ( $\text{C}_8$ ); 133.5 (d,  $^1J_{\text{CP}} = 48.1$  Hz,  $\text{C}_{\text{quaternário}}$  trifenilfosfina); 131.9 ( $\text{C}_{\text{para}}$  trifenilfosfina); 134.89 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 9.5$  Hz,  $\text{C}_{\text{orto}}$  trifenilfosfina); 146.0 ( $\text{C}_6$ ); 148.3 ( $\text{C}_{11}$ ); 148.9 ( $\text{C}_{13}$ ); 149.1 ( $\text{C}_3$ ); 158.8 ( $\text{C}_2$ ) e 180.1 (d,  $^3J_{\text{CP}} = 9$  Hz,  $\text{C}_1$ ).



**[Ru( $\eta^6$ -*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub>)(*N*-(metil-1,3-benzodioxolil)-*N'*-2 tiofeniltioureia)Cl](PF<sub>6</sub>) (5)**

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>42</sub>H<sub>41</sub>ClF<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>P<sub>2</sub>RuS<sub>2</sub>: exp. (calc.) C, 50.47 (50.53); H, 4.54 (4,14); N, 2.86 (2.81); S 6.74 (6.42)%. Condutividade Molar (acetona): 128 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νN-H) 3210, 3149; (νC-H<sub>cym, PPh<sub>3</sub>, T</sub>) 3064, 2971, 2869; (νC=O) 1659; (νC=S) 1274; (νC-P) 1091; (νP-F) 840; (νRu-P) 557; (νRu-S) 497. RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} (162 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: 29.38 (s). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 1.04(d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 Hz, CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.13 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 Hz, CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 2.07 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.66 (hept, <sup>3</sup>J= 6.9 Hz, 1H, CH isopropil do *p*-cimeno); 4.99 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (C<sub>7</sub>) aciltioureia); 5.58 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.1 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.69 (d, <sup>3</sup>J= 6,1 Hz, 1H, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 6.02 (m, 4H, 2 CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno e CH<sub>2</sub>(C<sub>12</sub>)); 6.82 (m, 1H, H<sub>10</sub>); 6.90 (m, 1H, H<sub>9</sub>); 6.95 (s, 1H, H<sub>14</sub>); 7.37 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 7.56 (m, 9H, H<sub>meta</sub> e <sub>para</sub> trifenilfosfina); 7.71 (m, 6H, 6H<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 8.11 (d, <sup>3</sup>J= 4.9 Hz, 1H, H<sub>6</sub>); 8.42 (d, <sup>3</sup>J= 3.3 Hz, 1H, H<sub>4</sub>); 11.67 (s, 2H, NH). RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 17.6 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 21.9 and 22.3 (2CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 31.5 (CH isopropil do *p*-cimeno); 49.8 (C<sub>7</sub> aciltioureia); 89.3 and 91.8 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 4.6, 3.8 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 93.9 and 95.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 3.3, 2.4 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 102.3 (C<sub>12</sub>); 102.7 (C adjacente ao grupo metil do *p*-cimeno); 109.1 (C<sub>10</sub>); 109.3 (C<sub>14</sub>); 115.3 (C adjacente do grupo isopropil); 122.6 (C<sub>9</sub>); 129.4 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>= 10 Hz, C<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 129.8 (C<sub>5</sub>); 130.7 (C<sub>8</sub>); 133.3 (d, <sup>1</sup>J<sub>CP</sub>= 48.0 Hz, C<sub>quaternário</sub> trifenilfosfina); 132.1 (C<sub>para</sub> trifenilfosfina); 133.4 (C<sub>4</sub>); 134.9 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 9.5 Hz, C<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 136.9 (C<sub>6</sub>) 137.8 (C<sub>3</sub>); 148.3 (C<sub>11</sub>); 148.9 (C<sub>13</sub>); 163.4 (C<sub>2</sub>) e 180.4 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>= 9.0 Hz, C<sub>1</sub>).

**[Ru( $\eta^6$ -*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub>)(*N*-(metilfuroil)-*N'*-2-furoiltioureia)](PF<sub>6</sub>) (1a)**

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>39</sub>H<sub>38</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>P<sub>2</sub>RuS: exp. (calc.) C, 52.41 (52.52); H, 4.64 (4,29); N, 3.15 (3.14); S 3.91 (3.60)%. Condutividade Molar (acetona): 139 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νN-H) 3053; (νC-H<sub>cym, PPh<sub>3</sub>, T</sub>) 2967, 2876; (νC=O) 1595; (νC=S) 1199; (νC-P) 1092; (νP-F) 840; (νRu-P) 558; (νRu-S) 493; (νRu-N) 459. RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} (162 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: 40.29 (s). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 1.19 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 Hz, CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.23 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 Hz, CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.55 (s,

3H, CH<sub>3</sub> do *p*-cimeno); 2.59 (hept,  $^3J= 6.9$  Hz, 1H, CH isopropil do *p*-cimeno); 4.27 (m, 1H, CH<sub>2</sub> aciltioureaia); 4.40 (m, 1H, CH<sub>2</sub> aciltioureaia); 5.85 (m, 2H, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.98 (m, 1H, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 6.32 (m, 1H, H<sub>9</sub>); 6.39 (m, 2H, CH aromático próximo ao grupo isopropil do *p*-cimeno e H<sub>10</sub>); 6.77(m, 1H, H<sub>5</sub>); 7.13 (dd, 1H,  $^3,^4J= 3.6, 0.8$  Hz, H<sub>4</sub>); 7.48 (m, 6H, H<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 7.53 (m, 10H, H<sub>11</sub> e 9H<sub>meta e para</sub> trifenilfosfina); 8.21 (m, 1H, H<sub>6</sub>), 10.28 (t,  $^3J= 5.7$  Hz; 1H, N<sup>2</sup>H aciltioureaia). RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 17.8 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 21.3 and 23.4 (2CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 32.5 (CH isopropil do *p*-cimeno); 39.4 (CH<sub>2</sub> aciltioureaia); 82.0 e 94.27 (CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 92.3 e 93.5 (CH aromático próximo ao grupo isopropil); 103.5 (C adjacente do grupo metil do *p*-cimeno); 109.8 (C<sub>9</sub>); 111.3 (C<sub>10</sub>); 113.9 (C<sub>5</sub>); 114.2 (d,  $^2J_{CP}= 8.7$  Hz, C adjacente do grupo isopropil); 120.9 (C<sub>4</sub>); 129.3 (d,  $^2J_{CP}= 10.0$  Hz, C<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 131.4 (d,  $^1J_{CP}= 47.3$  Hz, C<sub>quaternário</sub> trifenilfosfina); 131.9 (C<sub>para</sub> trifenilfosfina); 134.9 (d,  $^3J_{CP}= 8.6$  Hz, C<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 143.7 (C<sub>11</sub>); 146.2 (C<sub>6</sub>); 148.8 (C<sub>3</sub>); 149.7 (C<sub>8</sub>); 166.4 (C<sub>2</sub>); 190.1 (C<sub>1</sub>).

**[Ru(η<sup>6</sup>-*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub>)(*N*-(metil-1,3-benzodioxolil)-*N'*-2 furoiltioureaia)](PF<sub>6</sub>) (4a)**

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>42</sub>H<sub>40</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>P<sub>2</sub>RuS: exp. (calc.) C, 53.72 (53.33); H, 4.16 (4.26); N, 2.67 (2.96); S 3.40 (3.39)%. Condutividade Molar (acetona): 131S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νN-H) 3148; (νC-H<sub>cym, PPh<sub>3</sub>, τ</sub>) 3060, 2967, 2876; (νC=O) 1600; (νC=S) 1256; (νC-P) 1094; (νP-F) 840; (νRu-P) 557; (νRu-S) 490; (νRu-N) 460. RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} (162 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: 40.49 (s). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 1.19 (d, 3H,  $^3J= 6.9$  Hz, CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.23 (d, 3H,  $^3J= 6.9$  Hz, CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.54 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.60 (hept,  $^3J= 6.9$ Hz, 1H, CH isopropil do *p*-cimeno); 4.12 (m, 1H, CH<sub>2</sub> (C<sub>7</sub>) aciltioureaia); 4.31 (m, 1H, CH<sub>2</sub> (C<sub>7</sub>) aciltioureaia); 5.77 (d, 1H,  $^3J= 6.1$  Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.81 (d, 1H,  $^3J= 6.4$  Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.98 (d, 1H,  $^3J= 6.4$  Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 6.00 (m, 2H, CH<sub>2</sub> (C<sub>12</sub>)); 6.38 (d, 1H,  $^3J= 6.1$  Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 6.77 (dd, 1H,  $J= 3.5; 1.8$  Hz, H<sub>5</sub>); 6.80 (m, 3H, H<sub>9</sub>, H<sub>10</sub> e H<sub>14</sub>); 7.15 (dd, 1H,  $^3,^4J= 3.5, 0.7$  Hz, H<sub>4</sub>); 7.54 (m, 15H, CH trifenilfosfina); 8.19 (m, 1H, H<sub>6</sub>), 10.78 (t,  $^3J= 5.7$  Hz; 1H, N<sup>2</sup>H aciltioureaia). RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 17.9 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 21.6 e 23.4 (2CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 32.6 (CH isopropil do *p*-cimeno); 46.5 (CH<sub>2</sub>(C<sub>7</sub>) aciltioureaia); 82.2 e 94.2 (CH aromático próximo ao

grupo metil do *p*-cimeno); 92.4 e 93.4 (CH aromático próximo ao grupo isopropil); 102.3 (C<sub>12</sub>); 103.9 (C adjacente ao grupo metil do *p*-cimeno); 109.1 (C<sub>10</sub>); 109.2 (C<sub>14</sub>); 114.1 (C<sub>5</sub>); 114.3 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 8.9 Hz, C adjacente ao grupo isopropil); 120.9 (C<sub>4</sub>); 122,5 (C<sub>9</sub>); 129.4 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 9.9 Hz, C<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 130.6 (C<sub>8</sub>); 131.6 (d, <sup>1</sup>J<sub>CP</sub>= 47.4 Hz, C<sub>quaternário</sub> trifenilfosfina); 132.1 (C<sub>para</sub> trifenilfosfina); 135.1 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>= 9.0 Hz, C<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 146.2 (C<sub>6</sub>); 148.4 (C<sub>3</sub>); 148.9 (C<sub>11</sub>); 149.1 (C<sub>13</sub>); 166.6 (C<sub>2</sub>); 189.9 (C<sub>1</sub>).

**[Ru(*η*<sup>6</sup>-*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub>)(N,N-(dimetil)-N<sup>3</sup>-benzoiltiourea)Cl](PF<sub>6</sub>) (1m)**

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>38</sub>H<sub>41</sub>ClF<sub>6</sub>N<sub>2</sub>OP<sub>2</sub>RuS: exp. (calc.) C, 51.38 (51.50); H, 4.60 (4.66); N, 3.17 (3.16); S 3.33 (3.62)%. Condutividade Molar (acetona): 129 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νN-H) 3206; (νC-H<sub>cym, PPh<sub>3</sub>, T</sub>) 3055, 2962, 2871 ; (νC=O) 1697; (νC=S) 1282; (νC-P) 1094; (νP-F) 837; (νRu-P) 557; (νRu-S) 501. RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} (162 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: 28.80 (s). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 0.83 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.02 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.95 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.34 (hept, <sup>3</sup>J= 6.9 Hz, 1H, CH isopropil do *p*-cimeno); 3.43 (s, 3H, CH<sub>3</sub> aciltiourea); 3.70 (s, 3H, CH<sub>3</sub> aciltiourea); 4.97 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.05 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.2 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.48 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.75 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.2 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 7.55 (m, 9H, H<sub>meta</sub> e <sub>para</sub> trifenilfosfina); 7.69 (m, 8H, H<sub>5</sub> e H<sub>7</sub> e 6H<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 7.82 (m, 1H, H<sub>6</sub>), 8.15 (d, 2H, <sup>3</sup>J= 7.5 Hz, H<sub>4</sub> e H<sub>8</sub>), 11.37 (s, 1H, NH). RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 17.49 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 22.03 e 22.25 (2 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 31.49 (CH isopropil do *p*-cimeno); 44.48 e 45.76 (C<sub>9</sub> e C<sub>10</sub>); 89.66 e 90.53 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 6.5; 2.3 Hz, 2 CH aromático próximo ao grupo isopropil); 92.72 e 96.22 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 1.9; 4.0 Hz, 2 CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 100.26 (C adjacente ao grupo metil do *p*-cimeno); 115.34 (C adjacente ao grupo isopropil); 129.48 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>= 10.3 Hz, C<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 129.98 (C<sub>4</sub> e C<sub>8</sub>); 130.24 (C<sub>5</sub> e C<sub>7</sub>); 132.10 (C<sub>para</sub> trifenilfosfina); 133.46 (d, J<sub>CP</sub>= 48.5 Hz C<sub>quaternário</sub> trifenilfosfina); 134.95 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 9.6 Hz, C<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 135.19 (C<sub>3</sub> e C<sub>6</sub>); 165.18 (C<sub>2</sub>); 181.00 (d, J<sub>CP</sub>= 9.5 Hz, C<sub>1</sub>).

**[Ru(*η*<sup>6</sup>-*p*-cymene)(PPh<sub>3</sub>)(N,N-(dimetil)-N<sup>3</sup>-benzoiltiourea)](PF<sub>6</sub>) (1b)**

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>38</sub>H<sub>40</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>OP<sub>2</sub>RuS: exp. (calc.) C, 54.36 (53.71); H, 4.90 (4.74); N, 3.40 (3.30); S 4.19 (3.77)%. Condutividade Molar (acetona): 132 S

cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νC-H<sub>cym, PPh<sub>3</sub>, T</sub>) 3057, 2964, 2929, 2873 ; (νC=O) 1507; (νC=S) 1286; (νC-P) 1094; (νP-F) 840; (νRu-P) 557; (νRu-S) 500; (νRu-O) 374. <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} NMR (162 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: 35.24 (s). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 1.19 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.20 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.94 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.78 (hept, <sup>3</sup>J= 6.9 Hz, 1H, CH isopropil do *p*-cimeno); 3.22 (s, 3H, CH<sub>3</sub> aciltioureia); 3.38 (s, 3H, CH<sub>3</sub> aciltioureia); 5.30 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.1 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.80 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.1 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.85 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.2 Hz, aromático próximo ao grupo isopropil); 6.02 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.2 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 7.35 (m, 2H, H<sub>5</sub> e H<sub>7</sub>); 7.50 (m, 10H, H<sub>6</sub> e 9H<sub>meta</sub> e para trifenilfosfina); 7.59 (m, 6H, H<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 7.92 (m, 2H, H<sub>4</sub> e H<sub>8</sub> aciltioureia). RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 18.24 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 21.78 and 22.89 (2 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 31.57 (CH isopropil do *p*-cimeno); 40.77 e 41.99 (C<sub>9</sub> e C<sub>10</sub>); 89.58 e 92.38 (CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 90.39 e 94.31 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 4.1; 3.9 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 104.91 (C adjacente ao grupo metil do *p*-cimeno); 115.74 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 6.2 Hz C adjacente ao grupo isopropil); 128.79 (C<sub>5</sub> e C<sub>7</sub>); 129.55 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>= 10.1 Hz, C<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 129.91 (C<sub>4</sub> e C<sub>8</sub>); 131.86 (d, J<sub>CP</sub>= 48.5 Hz C<sub>quaternário</sub> trifenilfosfina); 131.96 (C<sub>para</sub> trifenilfosfina); 132.52 (C<sub>6</sub>); 135.13 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 9.6 Hz, C<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 137.78 (C<sub>3</sub>); 172.40 (C<sub>2</sub>); 174.86 (C<sub>1</sub>).

**[Ru(*η*<sup>6</sup>-*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub>)(N,N-(dietil)-N'-benzoiltioureia)Cl](PF<sub>6</sub>) (2m)**

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>40</sub>H<sub>45</sub>ClF<sub>6</sub>N<sub>2</sub>OP<sub>2</sub>RuS: exp. (calc.) C, 52.40 (52.54); H, 4.94 (4.96); N, 3.08 (3.06); S 3.25 (3.51)%. Condutividade Molar (acetona): 140 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νN-H) 3142; (νC-H<sub>cym, PPh<sub>3</sub>, T</sub>) 3058, 2987, 2935, 2870 ; (νC=O) 1699; (νC=S) 1262; (νC-P) 1095; (νP-F) 839; (νRu-P) 557; (νRu-S) 501. RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} NMR (162 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: δ 29.10 (s). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 0.83 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.05 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.29 (t, 3H, <sup>3</sup>J= 7.1 Hz, CH<sub>3</sub> aciltioureia); 1.37 (t, 3H, J= 7.1 Hz, CH<sub>3</sub> aciltioureia); 1.94 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.36 (hept, J= 6.9 Hz, 1H, CH isopropil *p*-cimeno); 3.81 (m, 2H, CH<sub>2</sub> aciltioureia); 4.15 (m, 2H, CH<sub>2</sub> aciltioureia); 4.84 (d, 1H, J= 6.1 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 4.94 (d, 1H, J= 6.4 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.64 (d, 1H, J= 6.1 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.82 (d, 1H, J= 6.4 Hz, CH aromático

próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 7.55 (m, 9H, H<sub>meta</sub> e para trifenilfosfina); 7.68 (m, 8H, H<sub>5</sub> e H<sub>7</sub> e 6H<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 7.82 (m, 1H, H<sub>6</sub>); 8.16 (m, 2H, H<sub>4</sub> e H<sub>8</sub>); 11.18 (s, 1H, NH). RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 12.25 e 12.78 (C<sub>10</sub> e C<sub>12</sub>); 17.50 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 21.78 e 22.29 (2 CH<sub>3</sub> isopropil *p*-cimeno); 31.40 (CH isopropil do *p*-cimeno); 48.74 e 51.12 (C<sub>9</sub> e C<sub>11</sub>); 89.78 e 90.12 (d,s, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 6.3, CH aromático próximo ao grupo isopropil do *p*-cimeno); 93.34 e 95.75 (s,d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 3.5 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 100.39 (C adjacente do grupo metil do *p*-cimeno); 115.08 (C adjacente ao grupo isopropil); 129.50 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>= 10.2 Hz, C<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 129.92 (C<sub>4</sub> e C<sub>8</sub>); 130.29 (C<sub>5</sub> e C<sub>7</sub>); 132.15 (C<sub>para</sub> trifenilfosfina); 133.25 (d, J<sub>CP</sub>= 48.5 Hz C<sub>quaternário</sub> trifenilfosfina); 134.98 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 9.5 Hz, C<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 135.20 (C<sub>3</sub> e C<sub>6</sub>); 165.67 (C<sub>2</sub>); 180.73 (d, J<sub>CP</sub>= 9.8 Hz, C<sub>1</sub>).

**[Ru(*η*<sup>6</sup>-*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub>)(N,N-(dietil)-N'-benzoiltioureia)](PF<sub>6</sub>) (2b)**

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>40</sub>H<sub>44</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>OP<sub>2</sub>RuS: exp. (calc.) C, 54.75 (54.73); H, 5.37 (5.05); N, 3.16 (3.19); S 3.82 (3.65)%. Condutividade Molar (acetona): 139 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νC-H<sub>cym</sub>, PPh<sub>3</sub>, T) 3059, 2971, 2932, 2873 ; (νC=O) 1503; (νC=S) 1248; (νC-P) 1095; (νP-F) 839; (νRu-P) 557; (νRu-S) 501; (νRu-O) 341. RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} (162 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: 35.45 (s). RMN de <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: δ1.20 (m, 9H, 2CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno e CH<sub>3</sub> aciltioureia); 1.29 (t, 3H, <sup>3</sup>J= 7.1, CH<sub>3</sub> aciltioureia); 1.95 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.80 (hept, <sup>3</sup>J= 6.9 Hz, 1H, CH isopropil do *p*-cimeno); 3.73 (m, 2H, CH<sub>2</sub> aciltioureia); 3.94 (m, 2H, CH<sub>2</sub> aciltioureia); 5.43 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.1 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.70 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.2 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.89 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.1 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 6.02 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.2 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 7.34 (m, 2H, H<sub>5</sub> e H<sub>7</sub>); 7.47 (m, 10H, H<sub>6</sub> e 9H<sub>meta</sub> e para trifenilfosfina); 7.57 (m, 6H, H<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 7.85 (m, 2H, H<sub>4</sub> e H<sub>8</sub>). RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 13.08 e 13.66 (C<sub>10</sub> e C<sub>12</sub>); 18.18 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 21.91 e 22.75 (2 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 31.68 (CH isopropil *p*-cimeno); 46.56 e 47.54 (C<sub>9</sub> e C<sub>11</sub>); 89.82 e 92.88 (aromático próximo ao grupo isopropil do *p*-cimeno); 90.89 e 94.82 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 4.6, 3.1 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 104.15 (C adjacente ao grupo metil do *p*-cimeno); 115.98 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 5.9 Hz, C adjacente ao grupo isopropil); 128.74 (C<sub>5</sub> e C<sub>7</sub>); 129.58 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>= 10.1 Hz, C<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 129.87 (C<sub>4</sub> e C<sub>8</sub>); 131.89 (d, J<sub>CP</sub>= 47.2 Hz C<sub>quaternário</sub>

trifenilfosfina); 131.97 ( $C_{\text{para}}$  trifenilfosfina); 132.48 ( $C_6$ ); 135.10 (d,  $^2J_{\text{CP}} = 9.6$  Hz,  $C_{\text{orto}}$  trifenilfosfina); 137.94 ( $C_3$ ); 172.72 ( $C_2$ ); 173.70 ( $C_1$ ).

**[Ru( $\eta^6$ -*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub>)(N,N-(dimetil)-N<sup>3</sup>-furoiltioureia)Cl](PF<sub>6</sub>) (3m)**

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>36</sub>H<sub>39</sub>ClF<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>P<sub>2</sub>RuS: exp. (calc.) C, 49.34 (49.35); H, 4.63 (4.49); N, 3.60 (3.20); S 3.55 (3.66)%. Condutividade Molar (acetona): 135 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νN-H) 3146; (νC-H<sub>cym, PPh<sub>3</sub>, T</sub>) 3058, 2963, 2931, 2870; (νC=O) 1706; (νC=S) 1263; (νC-P) 1096; (νP-F) 838; (νRu-P) 557; (νRu-S) 500. RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} (162 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: 28.74 (s). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 0.99 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.07 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 2.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.47 (hept, <sup>3</sup>J= 6.9 Hz, 1H, CH isopropil do *p*-cimeno); 3.41 (s, 3H, CH<sub>3</sub> aciltioureia); 3.67 (s, 3H, CH<sub>3</sub> aciltioureia); 5.07 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.10 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.3 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.57 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.77 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.3 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 6.87 (dd, 1H, <sup>3</sup>J= 3.4, <sup>3</sup>J= 1.5 Hz, H<sub>5</sub>); 7.56 (m, 10H, H<sub>4</sub> e 9H<sub>meta e para</sub> trifenilfosfina); 7.70 (m, 6H, H<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 8.06 (m, 1H, H<sub>6</sub>), 11.23 (s, 1H, NH). RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 17.52 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 21.94 e 22.10 (2 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 31.43 (CH isopropil do *p*-cimeno); 44.45 e 45.79 ( $C_7$  e  $C_8$ ); 89.77 e 90.41 (d,s, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 6.1 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 93.20 e 95.87 (s,d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 3.5 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 100.63 (C adjacente ao grupo metil do *p*-cimeno); 114.02 ( $C_5$ ); 114.87 (C adjacente ao grupo isopropil); 120.21 ( $C_4$ ); 129.39 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>= 10.3 Hz,  $C_{\text{meta}}$  trifenilfosfina); 132.03 ( $C_{\text{para}}$  trifenilfosfina); 133.41 (d,  $J_{\text{CP}} = 48.4$  Hz  $C_{\text{quaternário}}$  trifenilfosfina); 134.89 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 9.5 Hz,  $C_{\text{orto}}$  trifenilfosfina); 146.15 ( $C_3$ ); 148.99 ( $C_6$ ) 155.14 ( $C_2$ ); 180.05 (d,  $J_{\text{CP}} = 9.7$  Hz,  $C_1$ ).

**[Ru( $\eta^6$ -*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub>)(N,N-(dimetil)-N<sup>3</sup>-2-furoiltioureia)](PF<sub>6</sub>) (3b)**

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>36</sub>H<sub>38</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>P<sub>2</sub>RuS: exp. (calc.) C, 51.31 (51.49); H, 4.46 (4.56); N, 4.20 (3.81); S 3.69 (3.82)%. Condutividade Molar (acetona): 129 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νC-H<sub>cym, PPh<sub>3</sub>, T</sub>) 3056, 2966, 2930, 2873; (νC=O) 1578; (νC=S)



1263; (νC-P) 1096; (νP-F) 839; (νRu-P) 557; (νRu-S) 495; (νRu-O) 340. RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  (162 MHz, Acetona- $\text{d}_6$ , 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: 33.54 (s). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, Acetona- $\text{d}_6$ , 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), assignation)]: 1.22 (d, 3H,  $^3J= 6.9$  CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.23 (d, 3H,  $^3J= 6.9$  CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.95 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.75 (hept,  $^3J= 6.9$  Hz, 1H, CH isopropil do *p*-cimeno); 3.14 (s, 3H, CH<sub>3</sub> aciltioureia); 3.34 (s, 3H, CH<sub>3</sub> aciltioureia); 5.49 (d, 1H,  $^3J= 6.0$  Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.63 (d, 1H,  $^3J= 6.1$  Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.83 (d, 1H,  $^3J= 6.1$  Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.97 (d, 1H,  $^3J= 6.0$  Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 6.52 (m, H<sub>5</sub>); 7.01 (m, 1H, H<sub>4</sub>); 7.48 (m, 6H, H<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 7.57 (m, 9H, H<sub>orto</sub> e <sub>para</sub> trifenilfosfina); 7.68 (m, 1H, H<sub>6</sub>). RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  (100 MHz, Acetona- $\text{d}_6$ , 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 17.79 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 21.88 e 22.71 (2 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 31.51 (CH isopropil do *p*-cimeno); 40.44 e 41.62 (C<sub>7</sub> e C<sub>8</sub>); 90.90 e 91.59 (CH aromático próximo ao grupo isopropil); 90.53 e 94.91 (d,  $^2J_{\text{CP}}= 4.5, 3.4$  Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 104.08 (C adjacente ao grupo metil do *p*-cimeno); 112.68 (C<sub>5</sub>); 114.64 (d,  $^2J_{\text{CP}}= 4.7$  Hz, C adjacente ao grupo isopropil); 116.71 (C<sub>4</sub>); 129.39 (d,  $^3J_{\text{CP}}= 9.9$  Hz, C<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 131.86 (C<sub>para</sub> trifenilfosfina); 131.89 (d,  $J_{\text{CP}}= 47.1$  Hz C<sub>quaternário</sub> trifenilfosfina); 134.98 (d,  $^2J_{\text{CP}}= 9.4$  Hz, C<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 146.70 (C<sub>6</sub>); 151.62 (C<sub>3</sub>) 164.07 (C<sub>2</sub>); 174.00 (C<sub>1</sub>).

**[Ru( $\eta^6$ -*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub>)(N,N-(dietil)-N'-furoiltioureia)Cl](PF<sub>6</sub>) (4m)**

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>38</sub>H<sub>43</sub>ClF<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>P<sub>2</sub>RuS: exp. (calc.) C, 50.54 (50.47); H, 4.92 (4.79); N, 3.07 (3.10); S 3.27 (3.55)%. Condutividade Molar (acetona): 136 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νN-H) 3116; (νC-H<sub>cym, PPh<sub>3</sub>, T</sub>) 2979, 2936, 2876 ; (νC=O) 1693; (νC=S) 1284; (νC-P) 1093; (νP-F) 841; (νRu-P) 557; (νRu-S) 499. RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  (162 MHz, Acetona- $\text{d}_6$ , 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: 29.61 (s). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, Acetona- $\text{d}_6$ , 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: δ0.99 (d, 3H,  $^3J= 6.9$  CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.10 (d, 3H,  $^3J= 6.9$  CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.26 (t, 3H,  $^3J= 7.1$  Hz, CH<sub>3</sub> aciltioureia); 1.35 (t, 3H,  $^3J= 7.1$  Hz, CH<sub>3</sub> aciltioureia); 2.01 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.48 (hept,  $^3J= 6.9$  Hz, 1H, CH isopropil do *p*-cimeno); 3.78 (m, 2H, CH<sub>2</sub> aciltioureia); 4.10 (m, 2H, CH<sub>2</sub> aciltioureia); 4.96 (d, 1H,  $^3J= 6.1$  Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.00 (d, 1H,  $^3J= 6.3$  Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.71 (d, 1H,  $^3J= 6.1$  Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.84 (d, 1H,  $J= 6.3$  Hz, CH

aromático próximo ao grupo isopropil); 6.87 (dd,  $^3J= 3.5$ ,  $^3J= 1.7$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>); 7.55 (m, 10H, H<sub>4</sub> e 9H<sub>meta</sub> e para trifenilfosfina); 7.69 (m, 6H, H<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 8.06 (m, 1H, H<sub>6</sub>); 11.05 (s, 1H, NH). ). RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 12.15 e 12.74 (C<sub>8</sub> and C<sub>10</sub>); 17.56 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 22.04 e 22.20 (2CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 31.49 (CH isopropil do *p*-cimeno); 48.73 e 51.12 (C<sub>7</sub> e C<sub>9</sub>); 89.95 e 93.82 (d,  $^2J_{\text{CP}}= 5.9$ , 3.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 90.15 e 95.41 (d,  $^2J_{\text{CP}}= 2.6$ , 3.4 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 100.91 (C adjacente ao grupo metil do *p*-cimeno); 114.09 (C<sub>5</sub>); 114.63 (C adjacente ao grupo isopropil); 120.11 (C<sub>4</sub>); 129.46 (d,  $^3J_{\text{CP}}= 10.2$  Hz, C<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 132.10 (C<sub>para</sub> trifenilfosfina); 133.25 (d,  $J_{\text{CP}}= 48.6$  Hz C<sub>quaternário</sub> trifenilfosfina); 134.97 (d,  $^2J_{\text{CP}}= 9.5$  Hz, C<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 146.34 (C<sub>3</sub>); 148.95 (C<sub>6</sub>); 155.76 (C<sub>2</sub>); 179.81 (d,  $J_{\text{CP}}= 9.9$  Hz, C<sub>1</sub>).

**[Ru( $\eta^6$ -*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub>)(N,N-(dietil)-N'-2-furoiltioureia)](PF<sub>6</sub>)(4b)**

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>38</sub>H<sub>42</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>P<sub>2</sub>RuS: exp. (calc.) C, 53.02 (52.59); H, 4.66 (4.88); N, 3.74 (3.23); S 3.54 (3.69)%. Condutividade Molar (acetona): 136 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νC-H<sub>cym</sub>, PPh<sub>3</sub>, T) 3055, 2970, 2932, 2872; (νC=O) 1577; (νC=S) 1258; (νC-P) 1095; (νP-F) 840; (νRu-P) 557; (νRu-S) 498; (νRu-O) 336. RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  (162 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: δ33.56 (s). RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), assignation)]: 1.13 (t,  $^3J=7.0$  Hz, 3H, CH<sub>3</sub> aciltioureia); 1.27 (m, 9H, CH<sub>3</sub> aciltioureia e 2CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.97 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.79 (hept,  $^3J= 6.9$  Hz, 1H, CH *p*-cimeno); 3.66 (m, 2H, CH<sub>2</sub> aciltioureia); 3.90 (m, 2H, CH<sub>2</sub> aciltioureia); 5.57 (d, 1H,  $^3J= 6.2$  Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.61 (d, 1H,  $J= 6.2$  Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.89 (d, 1H,  $^3J= 6.2$  Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.98 (d, 1H,  $^3J= 6.2$  Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 6.52 (dd,  $^3J= 3.4$ ,  $^3J= 1.7$  Hz, 1H, H<sub>5</sub>); 6.92 (dd,  $^3J= 3.4$ ,  $^4J= 0.8$  Hz, 1H, H<sub>4</sub>); 7.48 (m, 6H, H<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 7.57 (m, 9H, H<sub>orto</sub> e para trifenilfosfina); 7.71 (dd,  $^3J= 1.7$ ,  $^4J= 0.8$  Hz, 1H, H<sub>6</sub>). RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 12.96 e 13.61 (C<sub>8</sub> e C<sub>10</sub>); 17.78 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 22.03 e 22.64 (2 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 31.65 (CH isopropil do *p*-cimeno); 46.44 e 47.23 (C<sub>7</sub> e C<sub>9</sub>); 90.95 e 92.04 (CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 90.95 e 95.04 (s,d,  $^2J_{\text{CP}}= 3.3$  Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 103.73 (C adjacente ao grupo metil do *p*-cimeno); 112.67 (C<sub>5</sub>); 114.97 (d,  $^2J_{\text{CP}}= 4.8$  Hz, C adjacente ao grupo isopropil); 116.61 (C<sub>4</sub>); 129.44 (d,  $J_{\text{CP}}= 10.0$  Hz, C<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 131.90 (C<sub>para</sub>



trifenilfosfina); 131.96 (d,  $J_{CP}= 47.0$  Hz  $C_{\text{quaternário}}$  trifenilfosfina); 135.01 (d,  $^2J_{CP}= 9.5$  Hz,  $C_{\text{orto}}$  trifenilfosfina); 146.77 ( $C_6$ ); 151.89 ( $C_3$ ); 164.44 ( $C_2$ ); 172.62 ( $C_1$ ).

**[Ru( $\eta^6$ -*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub>)(*N,N*-(dimetil)-*N'*-2-tiofeniltioureia)Cl](PF<sub>6</sub>) (5*m*)**

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>36</sub>H<sub>39</sub>ClF<sub>6</sub>N<sub>2</sub>OP<sub>2</sub>RuS<sub>2</sub>: exp. (calc.) C, 48.35 (48.46); H, 4.54 (4.41); N, 3.15 (3.14); S 7.01 (7.19)%. Condutividade Molar (acetona): 139 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νN-H) 3179 (νC-H<sub>cym, PPh<sub>3</sub>, T</sub>) 3059, 2961, 2939, 2865; (νC=O) 1683; (νC=S) 1256; (νC-P) 1090; (νP-F) 838; (νRu-P) 557; (νRu-S) 501. RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} (162 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: δ28.91 (s). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 0.93 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.05 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 2.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.43 (hept, <sup>3</sup>J= 6.9 Hz, 1H, CH isopropil do *p*-cimeno); 3.41 (s, 3H, CH<sub>3</sub> aciltioureia); 3.69 (s, 3H, CH<sub>3</sub> aciltioureia); 5.07 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.2 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.13 (d, 1H, J= 6.4 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.55 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.2 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.78 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.4 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 7.40 (dd, 1H, <sup>3</sup>J= 5.0, <sup>3</sup>J= 3.9 Hz, H<sub>5</sub>); 7.56 (m, 9H, H<sub>meta</sub> e para trifenilfosfina); 7.69 (m, 6H, H<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 8.09 (dd, <sup>3</sup>J= 3.9, <sup>4</sup>J= 1.1 Hz, 1H, H<sub>4</sub>); 8.12 (dd, <sup>3</sup>J= 5.0, <sup>4</sup>J= 1.1 Hz, 1H, H<sub>6</sub>); 11.33 (s, 1H, NH). RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: δ17.49 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 21.80 e 22.04 (2 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 31.37 (CH isopropil do *p*-cimeno); 44.42 e 45.69 ( $C_7$  e  $C_8$ ); 89.59 e 90.56 (d,s, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 6.2 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 92.80 e 96.09 (s,d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 3.7 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 100.49 (C adjacente ao grupo metil do *p*-cimeno); 115.10 (C adjacente ao grupo isopropil); 129.42 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>= 10.1 Hz, C<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 129.80 ( $C_5$ ); 132.05 (C<sub>para</sub> trifenilfosfina); 133.35 (d,  $J_{CP}= 48.4$  Hz  $C_{\text{quaternário}}$  trifenilfosfina); 133.95 ( $C_4$ ); 134.87 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 9.6 Hz,  $C_{\text{orto}}$  trifenilfosfina); 136.41 ( $C_6$ ); 136.56 ( $C_3$ ) 159.56 ( $C_2$ ); 180.28 (d,  $J_{CP}= 9.6$  Hz,  $C_1$ ).

**[Ru( $\eta^6$ -*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub>)(*N,N*-(dimetil)-*N'*-2-tiofeniltioureia)](PF<sub>6</sub>) (5*b*)**

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>36</sub>H<sub>38</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>OP<sub>2</sub>RuS<sub>2</sub>: exp. (calc.) C, 50.69 (50.52); H, 4.18 (4.48); N, 3.76 (3.32); S 7.85 (7.49)%. Condutância Molar (acetona): 138 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νC-H<sub>cym, PPh<sub>3</sub>, T</sub>) 3056, 2963, 2929, 2870; (νC=O) 1500; (νC=S) 1263; (νC-P) 1095; (νP-F) 839; (νRu-P) 558; (νRu-S) 496; (νRu-O) 352. RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}

(162 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: 34.54 (s). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 1.21 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.23 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.94 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.78 (hept, <sup>3</sup>J= 6.9 Hz, 1H, CH isopropil do *p*-cimeno); 3.14 (s, 3H, CH<sub>3</sub> aciltiourea); 3.34 (s, 3H, CH<sub>3</sub> aciltiourea); 5.38 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.72 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.85 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 6.01 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 7.07 (m, H<sub>5</sub>); 7.48 (m, 6H, H<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 7.59 (m, 12H, H<sub>4</sub>, H<sub>6</sub> e 9H<sub>orto e para</sub> trifenilfosfina). RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 18.03 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 21.80 e 22.86 (2 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 31.47 (CH isopropil do *p*-cimeno); 40.55 e 41.69 (CH<sub>3</sub> aciltiourea); 90.13 e 92.00 (CH aromático próximo ao grupo isopropil); 90.50 e 94.98 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 4.2, 3.5 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 104.57 (C adjacente ao grupo metil do *p*-cimeno); 115.20 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 5.6 Hz, C adjacente ao grupo isopropil); 128.69 (C<sub>5</sub>); 129.45 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>= 10.0 Hz, C<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 131.73 (d, J<sub>CP</sub>= 46.9 Hz C<sub>quaternário</sub> trifenilfosfina); 131.91 (C<sub>para</sub> trifenilfosfina); 132.26 (C<sub>4</sub>); 132.48 (C<sub>6</sub>); 135.05 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 9.5 Hz, C<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 143.54 (C<sub>3</sub>); 167.97 (C<sub>2</sub>); 173.85 (C<sub>1</sub>).

**[Ru(*rac*-*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub>)(*N,N*-(dietil)-*N'*-2-tiofeniltiourea)Cl](PF<sub>6</sub>) (6*m*)**

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>36</sub>H<sub>39</sub>ClF<sub>6</sub>N<sub>2</sub>OP<sub>2</sub>RuS<sub>2</sub>: exp. (calc.) C, 49.63 (49.59); H, 4.91 (4.71); N, 3.29 (3.04); S 6.79 (6.97)%. Condutividade Molar (acetona): 138 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νN-H) 3170 (νC-H<sub>cym, PPh<sub>3</sub>, T</sub>) 3054, 2961, 2965, 2872; (νC=O) 1685; (νC=S) 1267; (νC-P) 1092; (νP-F) 840; (νRu-P) 557; (νRu-S) 500. RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} (162 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: δ29.23 (s). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: δ0.93 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.09 (d, 3H, <sup>3</sup>J= 6.9 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.28 (t, 3H, <sup>3</sup>J= 7.2 CH<sub>3</sub> aciltiourea); 1.36 (t, 3H, <sup>3</sup>J= 7.2 CH<sub>3</sub> aciltiourea); 2.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.45 (hept, <sup>3</sup>J= 6.9 Hz, 1H, CH isopropil do *p*-cimeno); 3.79 (m, 2H, CH<sub>2</sub> aciltiourea); 4.14 (q, <sup>3</sup>J= 7.2 Hz, 2H, CH<sub>2</sub> aciltiourea); 4.96 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.2 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.04 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.4 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.71 (d, 1H, J= 6.2 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.87 (d, 1H, J= 6.4 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 7.42 (dd, 1H, <sup>3</sup>J= 5.0, <sup>3</sup>J= 3.9 Hz, H<sub>5</sub>); 7.56

(m, 9H, H<sub>meta</sub> e para trifenilfosfina); 7.68 (m, 6H, H<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 8.09 (dd, <sup>3</sup>J= 3.9, <sup>4</sup>J=1.1 Hz, 1H, H<sub>4</sub>); 8.13 (dd, 3J= 5.0, <sup>4</sup>J=1.1 Hz, 1H, H<sub>6</sub>); 11.14 (s, 1H, NH). RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 12.16 e 12.66 (C<sub>8</sub> e C<sub>10</sub>); 17.51 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 21.85 e 22.17 (2 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 31.42 (CH isopropil do *p*-cimeno); 48.65 e 51.04 (C<sub>7</sub> e C<sub>9</sub>); 89.76 e 90.20 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 93.43 e 95.64 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 3.5 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 100.66 (C adjacente ao grupo metil do *p*-cimeno); 114.91 (C adjacente ao grupo isopropil); 129.47 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>= 10.2 Hz, C<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 129.86 (C<sub>5</sub>); 132.13 (C<sub>para</sub> trifenilfosfina); 133.16 (d, J<sub>CP</sub>= 48.6 Hz C<sub>quaternário</sub> trifenilfosfina); 133.36 (C<sub>4</sub>); 134.94 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 9.5 Hz, C<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 136.36 (C<sub>6</sub>); 136.76 (C<sub>3</sub>) 160.15 (C<sub>2</sub>); 180.02 (d, J<sub>CP</sub>= 10.0 Hz, C<sub>1</sub>).

**[Ru(*η*<sup>6</sup>-*p*-cimeno)(PPh<sub>3</sub>)(N,N-(diethyl)-N'-2-tiofeniltiourea)](PF<sub>6</sub>) (6b)**

Análise Elementar (%) calc. para C<sub>38</sub>H<sub>42</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>OP<sub>2</sub>RuS<sub>2</sub>: exp. (calc.) C, 51.70 (51.64); H, 4.49 (4.79); N, 3.66 (3.17); S 7.21 (7.26)%. Condutividade Molar (acetona): 135 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>. IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): (νC-H<sub>cym, PPh<sub>3</sub>, T</sub>) 3056, 2972, 2933, 2871; (νC=O) 1496; (νC=S) 1252; (νC-P) 1095; (νP-F) 840; (νRu-P) 557; (νRu-S) 500; (νRu-O) 346. RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} (162 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade)]: δ35.01 (s). RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]: 1.13 (t, <sup>3</sup>J=7.0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub> aciltiourea); 1.25 (m, 9H, CH<sub>3</sub> aciltiourea e 2CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 1.94 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.81 (hept, <sup>3</sup>J= 6.9 Hz, 1H, CH isopropil of *p*-cimeno); 3.61 (m, 2H, CH<sub>2</sub> aciltiourea); 3.88 (m, 2H, CH<sub>2</sub> aciltiourea); 5.46 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.65 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.1 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 5.88 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.0 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 6.02 (d, 1H, <sup>3</sup>J= 6.1 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 7.06 (m, 1H, H<sub>5</sub>); 7.46 (m, 6H, H<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 7.58 (m, 11H, H<sub>4</sub> and H<sub>6</sub>; 9H<sub>orto</sub> e para trifenilfosfina). RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 12.97 e 13.82 (C<sub>8</sub> e C<sub>10</sub>); 18.06 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 21.93 e 22.81 (2 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 31.63 (CH isopropil do *p*-cimeno); 46.58 e 47.33 (C<sub>7</sub> e C<sub>9</sub>); 90.10 e 92.63 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 2.2, 1.5 Hz, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 90.94 e 95.07 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 4.8, 3.8 Hz, CH aromático próximo ao grupo isopropil do *p*-cimeno); 104.18 (C adjacente ao grupo metil do *p*-cimeno); 115.60 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 5.5 Hz, C adjacente ao grupo isopropil do *p*-cimeno); 128.75 (C<sub>5</sub>); 129.52 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>= 10.1 Hz, C<sub>meta</sub> trifenilfosfina); 131.82 (d, J<sub>CP</sub>= 47.0 Hz, C<sub>quaternário</sub> trifenilfosfina); 131.96 (C<sub>para</sub> trifenilfosfina); 132.30 (C<sub>4</sub>); 132.51 (C<sub>6</sub>); 135.08 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>= 9.3 Hz, C<sub>orto</sub> trifenilfosfina); 143.92 (C<sub>3</sub>); 168.30 (C<sub>2</sub>); 172.50 (C<sub>1</sub>).

*[Ru( $\eta^6$ -*p*-cimeno)(4-metilpiridina)(*N,N*-(dietil)-*N'*-2-tiofeniltioureia)](PF<sub>6</sub>) (1c)**Síntese*

Solubilizou-se 0,05 g do precursor [Ru( $\eta^6$ -*p*-cimeno)Cl<sub>2</sub>]<sub>2</sub> (0,08 mmol) em 20 mL de metanol previamente desaerado. Adicionou-se 0,04 g do ligante *N,N*-(dietil)-*N'*-2-tiofeniltioureia (0,17 mmol) e o sal NH<sub>4</sub>PF<sub>6</sub> (0,30 mmol; 0,05 g). Agitou-se durante 1 h, sob atmosfera inerte. Em seguida, 50  $\mu$ L do ligante 4-metilpiridina (0,51 mmol) foi adicionado. O sistema foi mantido em agitação, por mais 24 h, sob atmosfera inerte. A solução foi concentrada, sob pressão reduzida, e para a precipitação do sólido amarelo, adicionou-se 20 mL de água. O sólido foi lavado com água (3 x 5 mL) e seco à vácuo. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, integral, J (Hz), atribuição)]:  $\delta$ 0.60 (t, 3H, <sup>3</sup>J= 7.4 CH<sub>3</sub> aciltioureia); 1.00 (t, 3H, <sup>3</sup>J= 7.4 CH<sub>3</sub> aciltioureia); 1.32 (dd, 6H, <sup>3</sup>J= 6.9, 4.7, CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 2.08 (s, 3H, CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 2.42 (s, 3H, CH<sub>3</sub> metilpiridina); 2.91 (hept, 1H, <sup>3</sup>J= 6.9, CH isopropil do *p*-cimeno); 3.29 (ddd, <sup>2</sup>J= 12.8, 9.3, 5.7 Hz, 1H, CH<sub>2</sub> aciltioureia); 3.59 (ddd, <sup>2</sup>J= 13.55, 9.9, 5.8 Hz, 1H, CH<sub>2</sub> aciltioureia); 3.91 (ddd, <sup>2</sup>J= 12.8, 9.3, 5.7 Hz, 1H, CH<sub>2</sub> aciltioureia); 4.11 (ddd, <sup>2</sup>J= 13.55, 9.9, 5.8 Hz, 1H, CH<sub>2</sub> aciltioureia); 5.60 (m, 1H, CH aromático próximo ao grupo isopropil); 5.85 (m, 2H, CH aromático próximo ao grupo isopropil e metil do *p*-cimeno); 6.06 (m, 1H, CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 7.38 (m, 2H, H<sub>meta</sub> metilpiridina); 7.46 (m, 2H, H<sub>meta</sub> aciltioureia); 7.55 (m, 1H, H<sub>para</sub> aciltioureia); 8.17 (m, 2H, H<sub>orto</sub> aciltioureia); 8.61 (m, 2H, H<sub>orto</sub> metilpiridina). RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} (100 MHz, Acetona-d<sub>6</sub>, 298 K) [ppm, (multiplicidade, J (Hz), atribuição)]: 11.22 e 11.48 (C<sub>10</sub> e C<sub>12</sub>); 17.84 (CH<sub>3</sub> *p*-cimeno); 20.73 (CH<sub>3</sub> metilpiridina); 22.32 e 22.89 (2 CH<sub>3</sub> isopropil do *p*-cimeno); 31.57 (CH isopropil do *p*-cimeno); 53.11 e 54.71 (C<sub>9</sub> e C<sub>11</sub>); 83.21 e 85.94 (CH aromático próximo ao grupo metil do *p*-cimeno); 86.13 e 87.91 (CH aromático próximo ao grupo isopropil); 102.05 (C adjacente ao grupo metil do *p*-

cimeno); 104.55 (C adjacente ao grupo isopropil); 127.45 (C<sub>meta</sub> metilpiridina); 129.07 (C<sub>meta</sub> aciltiourea); 130.19 (C<sub>orto</sub> aciltiourea); 132.79 (C<sub>para</sub> aciltiourea); 137.53 (C<sub>quaternário</sub> aciltiourea); 152.28 (C<sub>quaternário</sub> metilpiridina); 153.83 (C<sub>orto</sub> metilpiridina); 170.59 (C<sub>2</sub>); 175.86 (C<sub>1</sub>).

**Espectros vibracionais de absorção na região do infravermelho dos complexos e ligantes aciltioureas.**

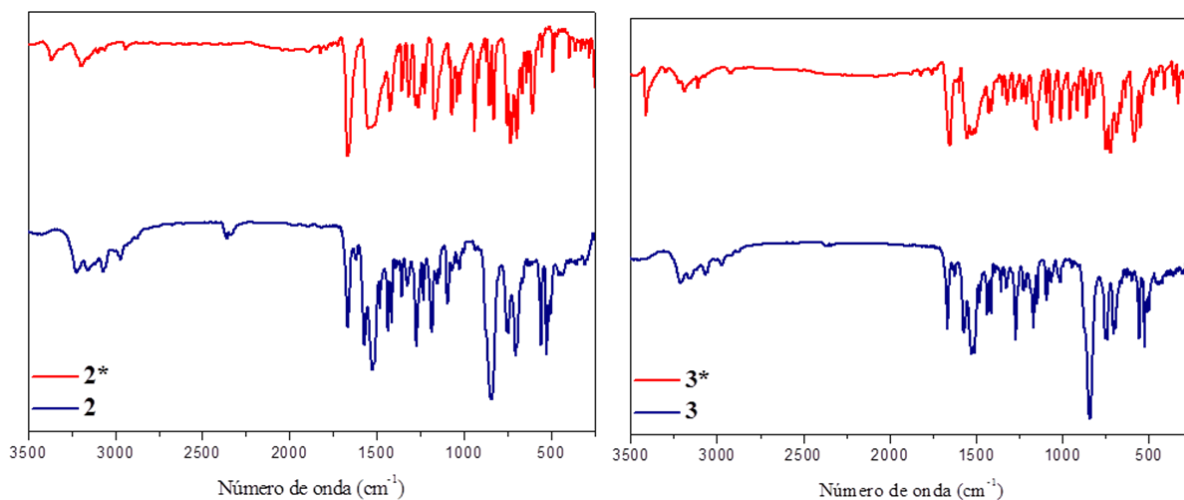


FIGURA 5.1- Espectro de IV dos ligantes **2** e **3** (série 1\*) e complexos **2** e **3**.

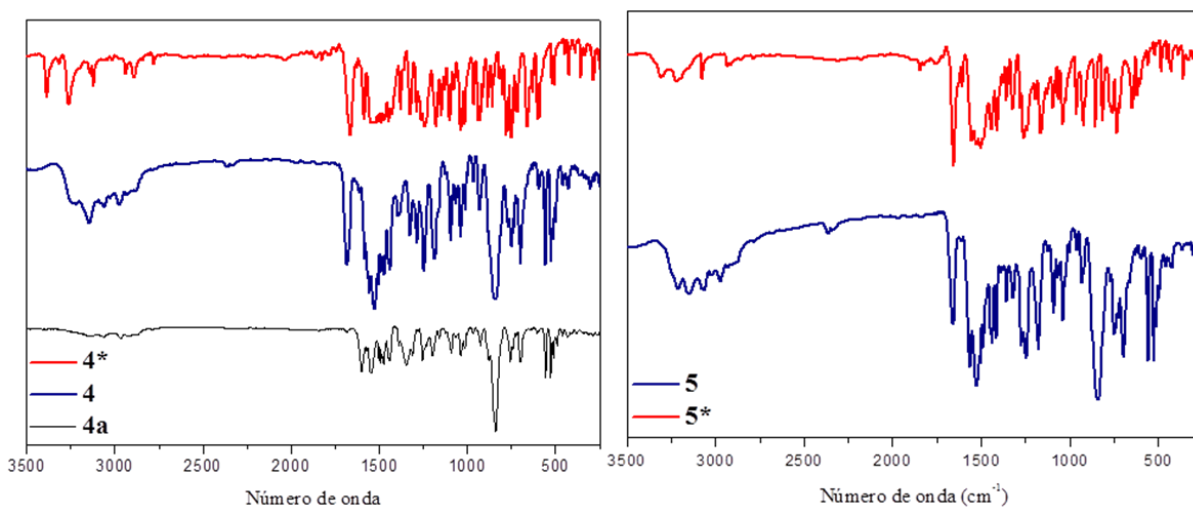


FIGURA 5.2- Espectro de IV dos ligantes **4** e **5** (série 1\*) e complexos **4**, **4a** e **5**.

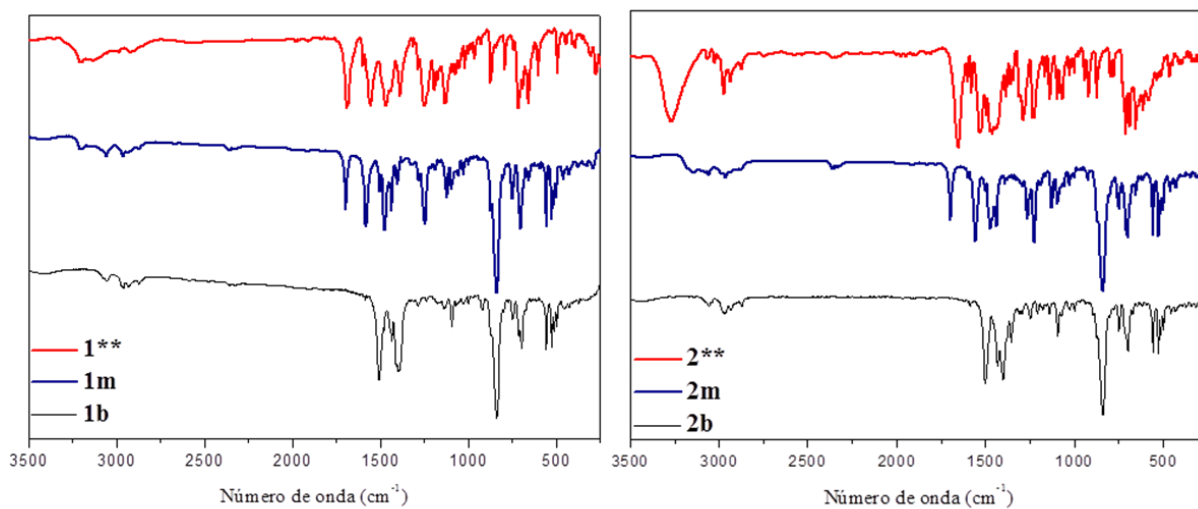


FIGURA 5.3- Espectro de IV dos ligantes **1** e **2** (série 2\*\*) e complexos **1m**, **1b**, **2m** e **2b**.

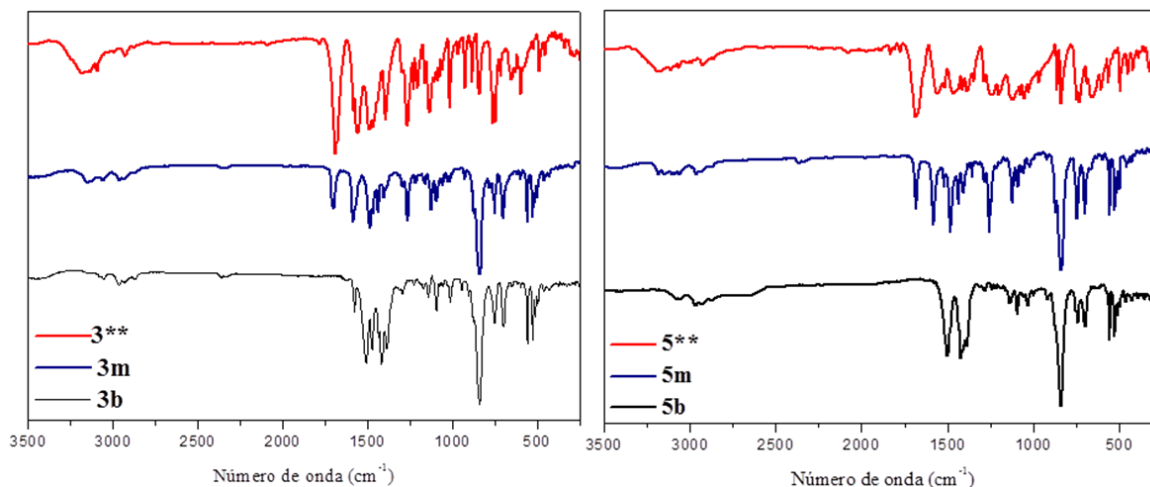


FIGURA 5.4- Espectro de IV dos ligantes **3** e **5** (série 2\*\*) e complexos **3m**, **3b**, **5m** e **5b**.

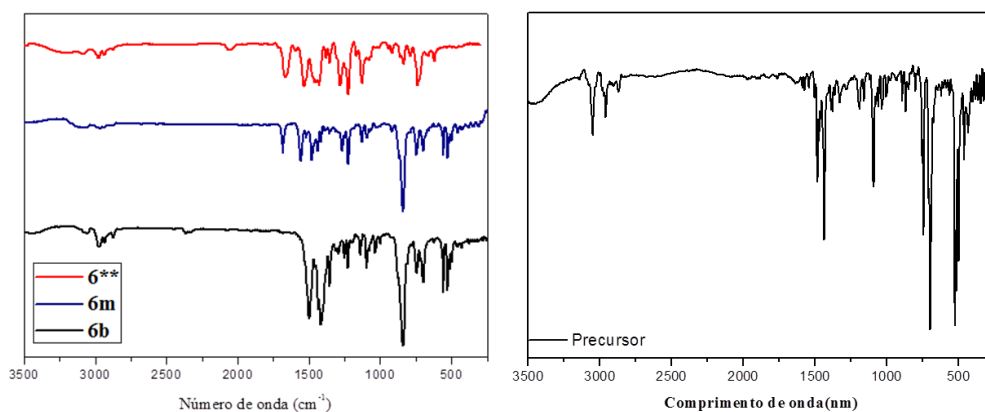


FIGURA 5.5- Espectro de IV do ligante **6** (série 2\*\*) e complexos **6m**, **6b** e precursor.

### Espectros eletrônicos na região do ultravioleta e visível em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

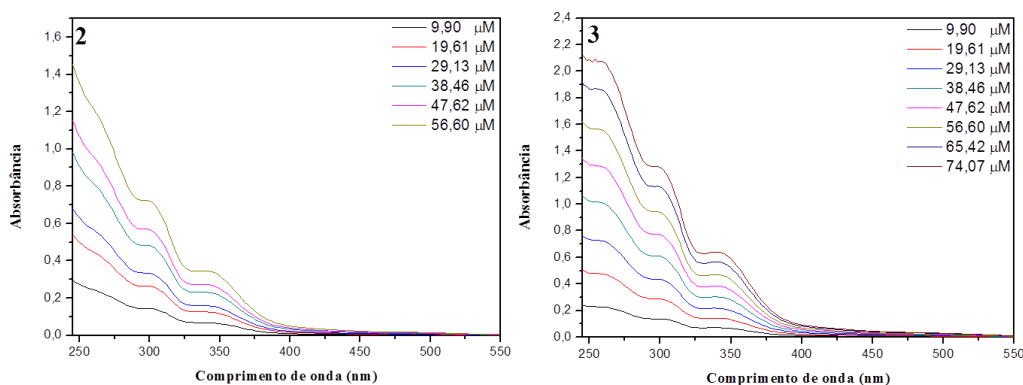


FIGURA 5.6- Espectro de UV dos complexos **2** e **3**.

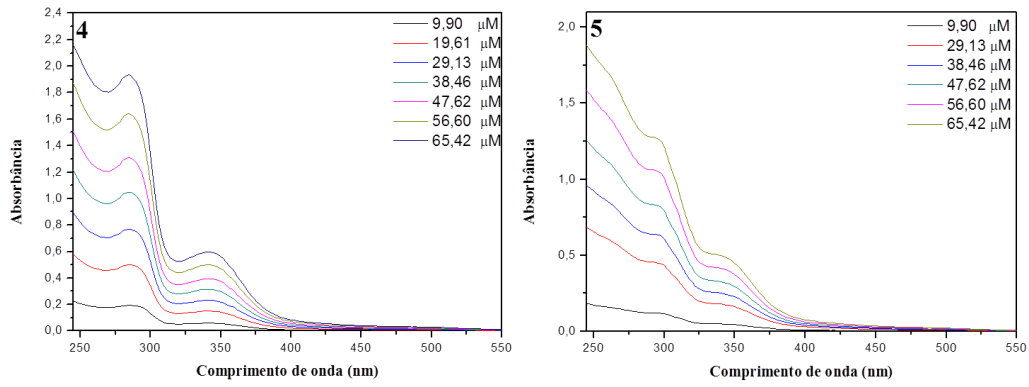


FIGURA 5.7- Espectro de UV dos complexos 4 e 5.

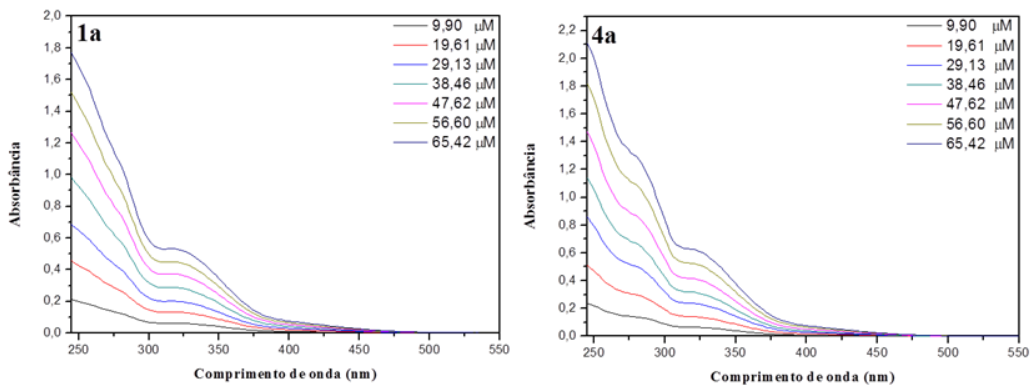


FIGURA 5.8- Espectro de UV dos complexos 1a e 4a.

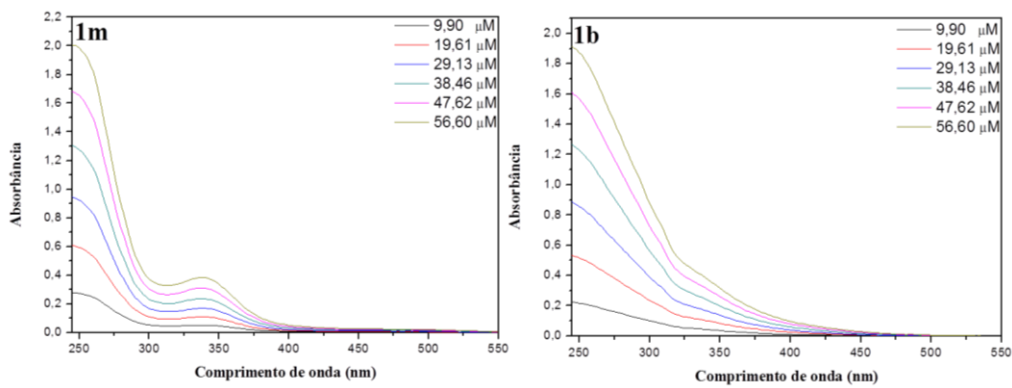


FIGURA 5.9- Espectro de UV dos complexos 1m e 1b.



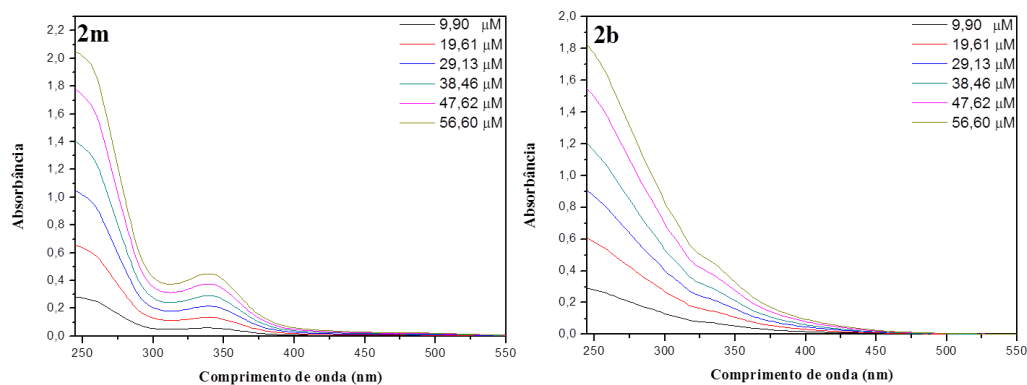


FIGURA 5.10- Espectro de UV dos complexos **2m** e **2b**.

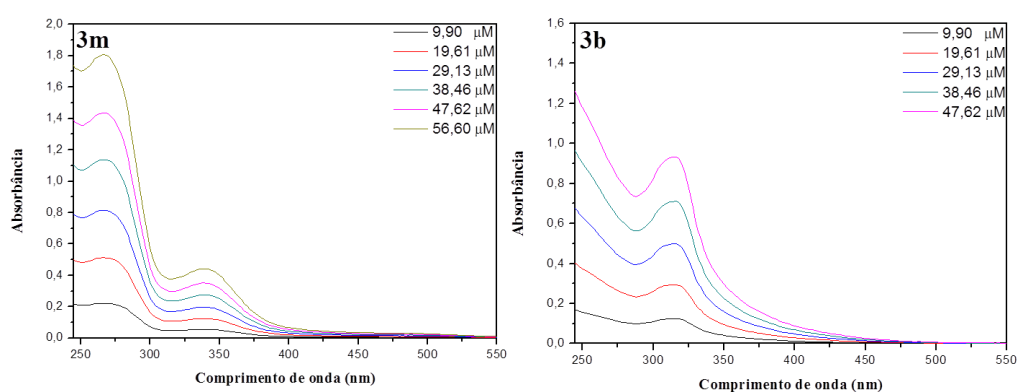


FIGURA 5.11- Espectro de UV dos complexos **3m** e **3b**.

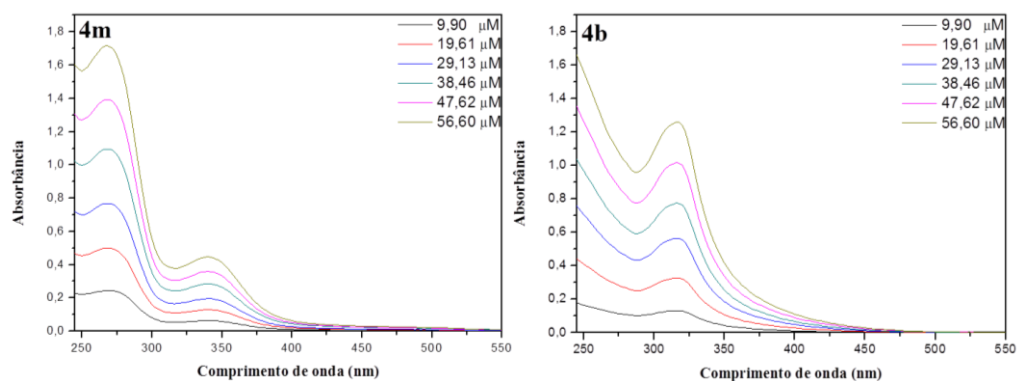
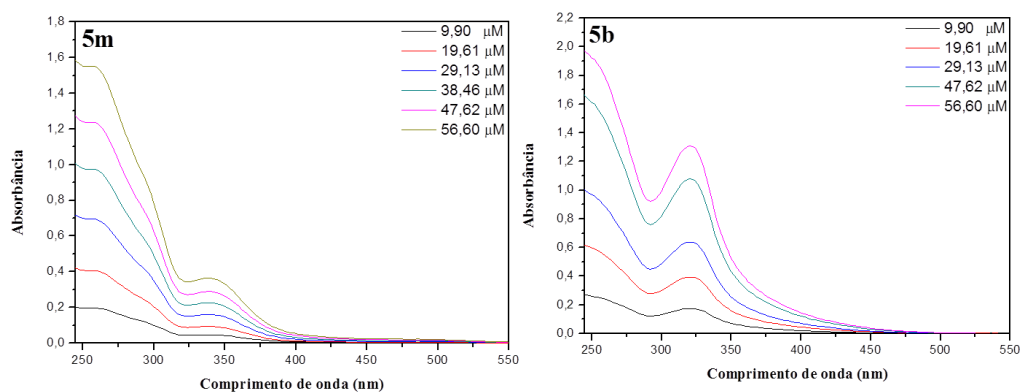
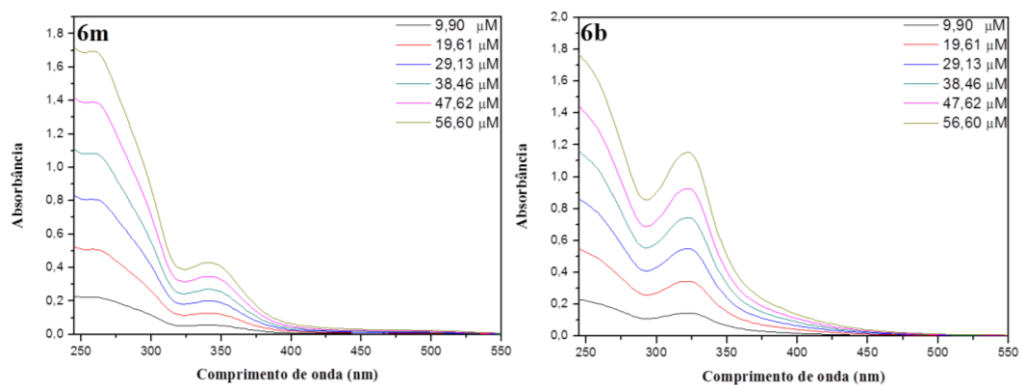
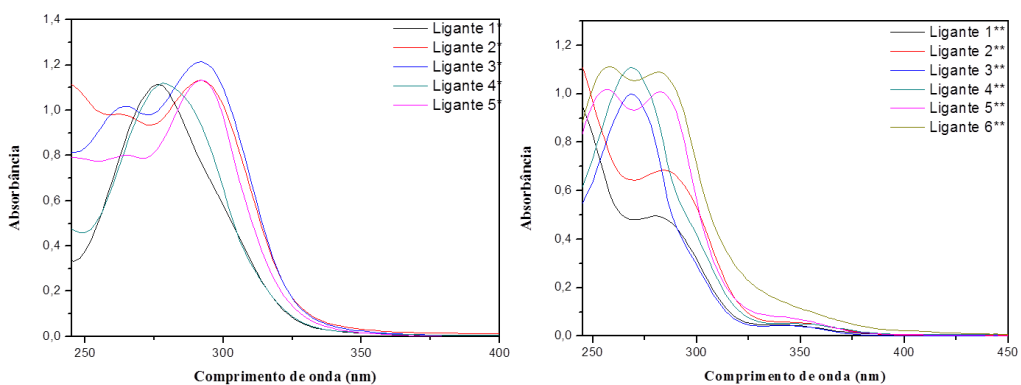


FIGURA 5.12- Espectro de UV dos complexos **4m** e **4b**.

FIGURA 5.13- Espectro de UV dos complexos **5m** e **5b**.FIGURA 5.14- Espectro de UV dos complexos **6m** e **6b**.FIGURA 5.15- Espectro de UV dos ligantes **1-5** (série 1\*) e ligantes **1-6** (série 2\*\*).

- **Espectros de RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ , COSY, HSQC e HMBC, em acetona- $\text{d}_6$  dos complexos.**

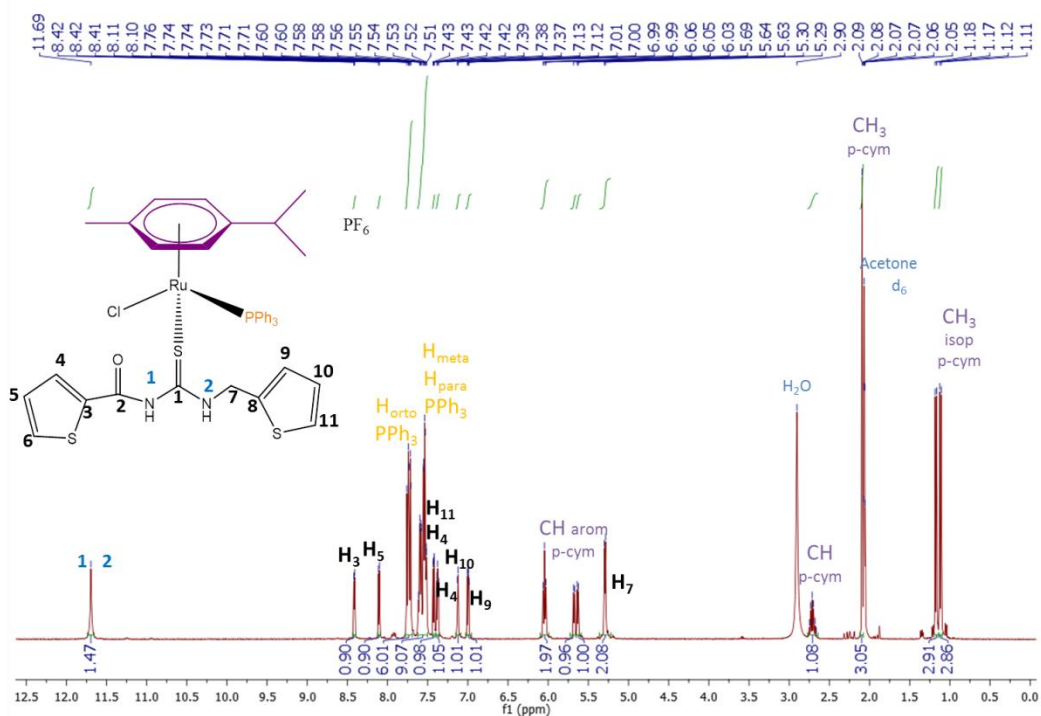


FIGURA 5.16- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo 2 em acetona-d<sub>6</sub>.

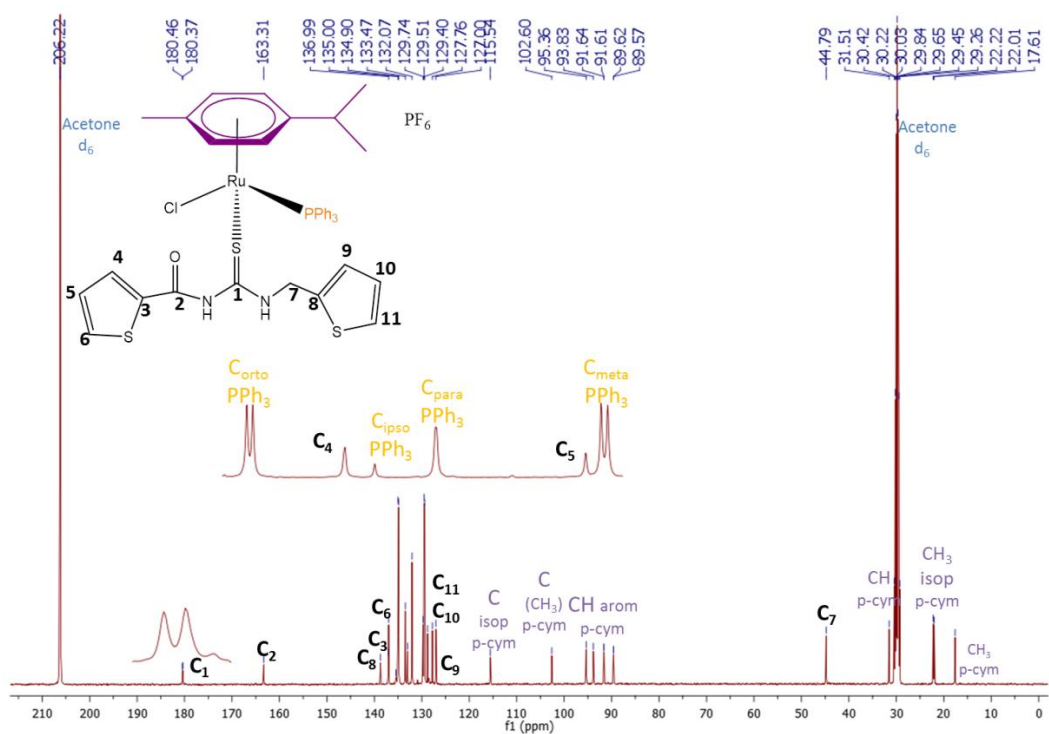
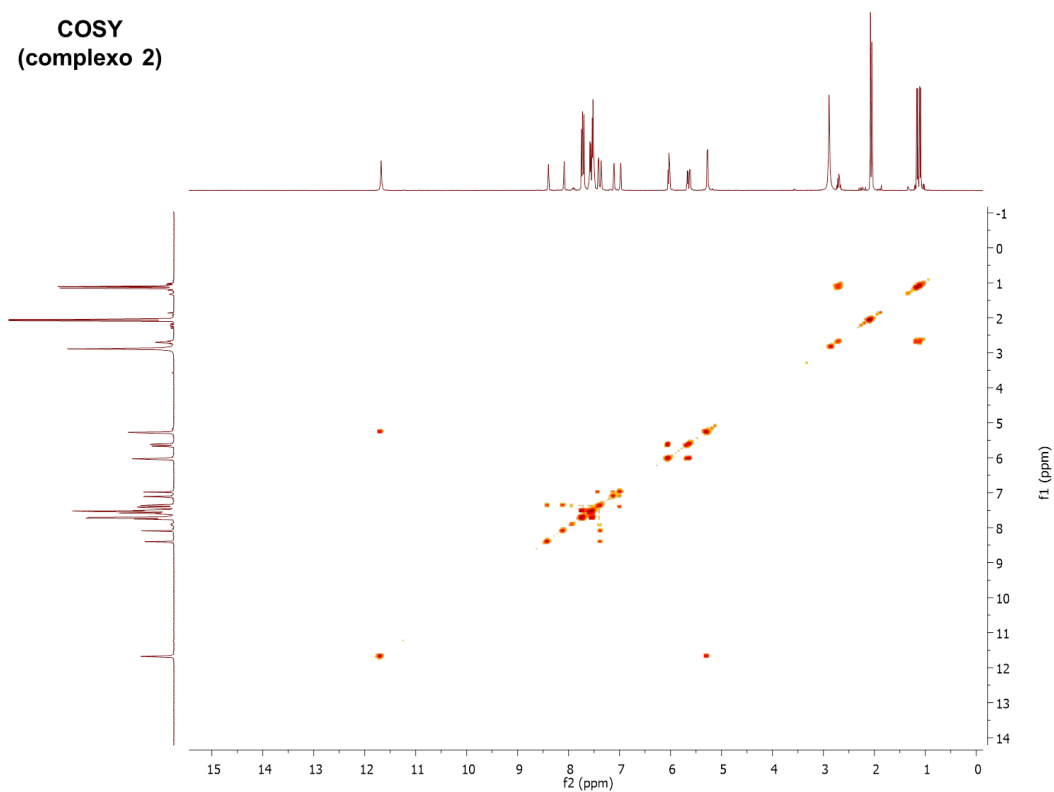
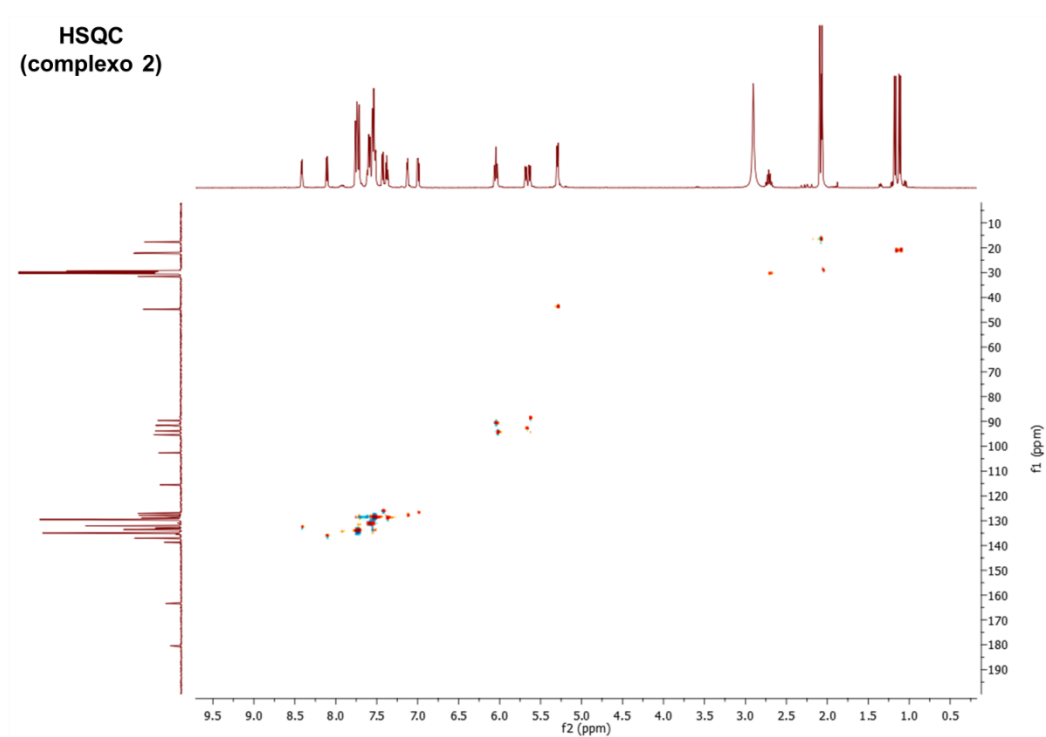


FIGURA 5.17- Espectro de RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} do complexo 2 em acetona-d<sub>6</sub>.

FIGURA 5.18- Espectro de RMN-COSY do complexo **2** em acetona-d<sub>6</sub>.FIGURA 5.19- Espectro de RMN-HSQC do complexo **2** em acetona-d<sub>6</sub>.

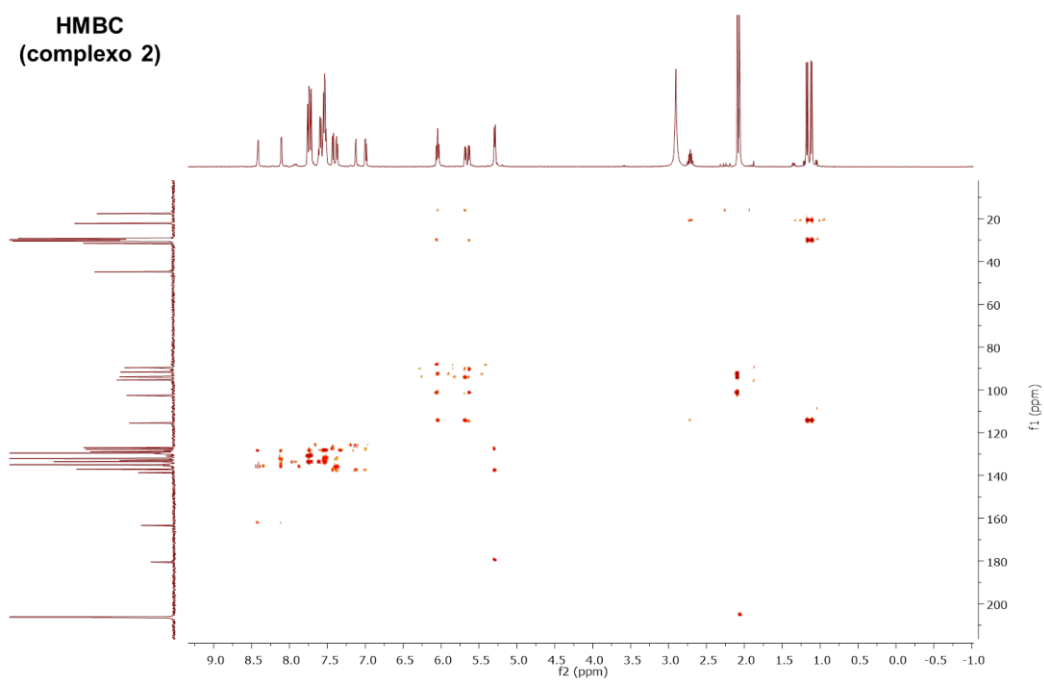


FIGURA 5.20- Espectro de RMN-HMBC do complexo 2 em acetona-d<sub>6</sub>.

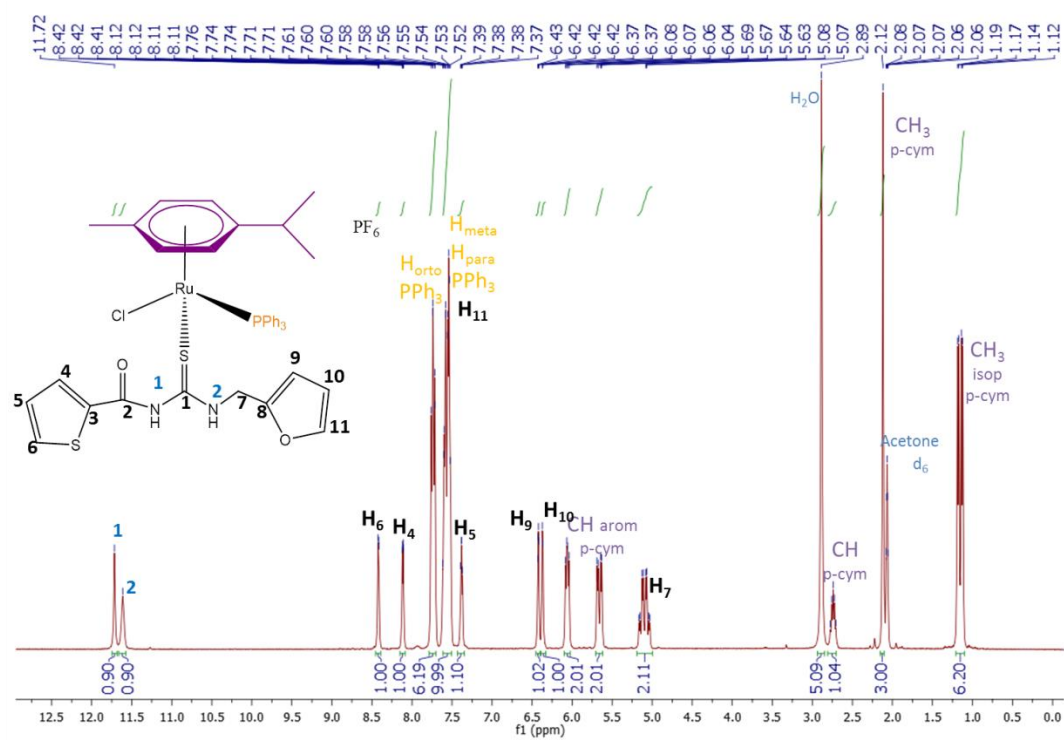


FIGURA 5.21- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo 3 em acetona-d<sub>6</sub>.

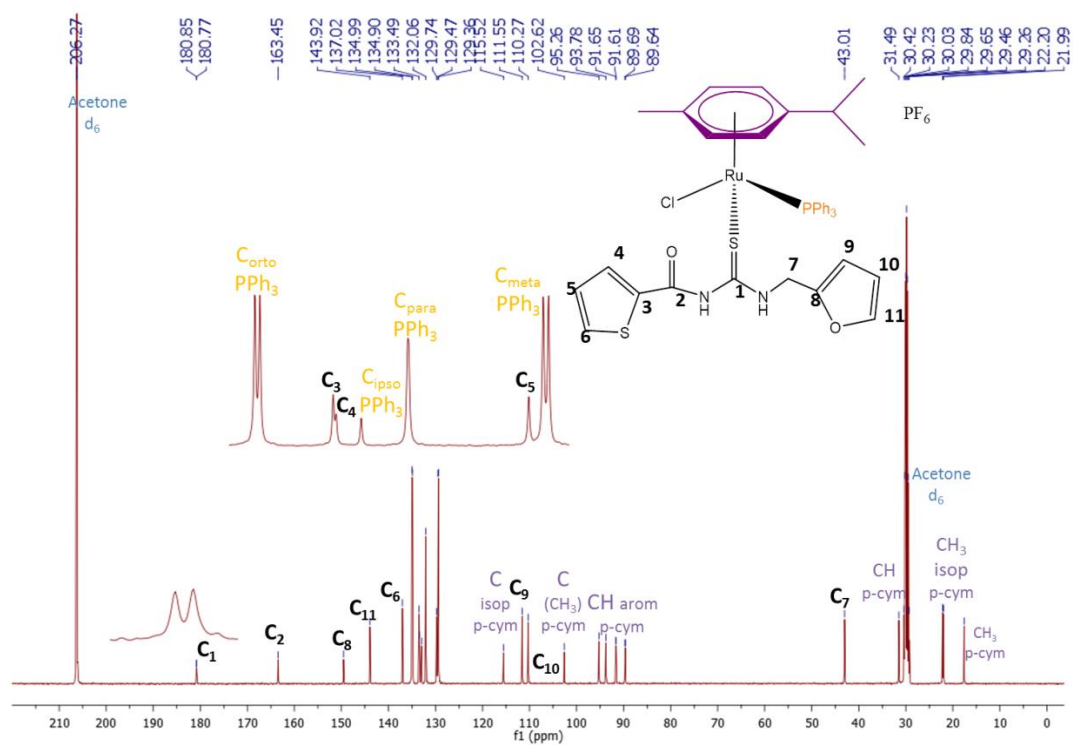


FIGURA 5.22- Espectro de RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} do complexo **3** em acetona-d<sub>6</sub>.

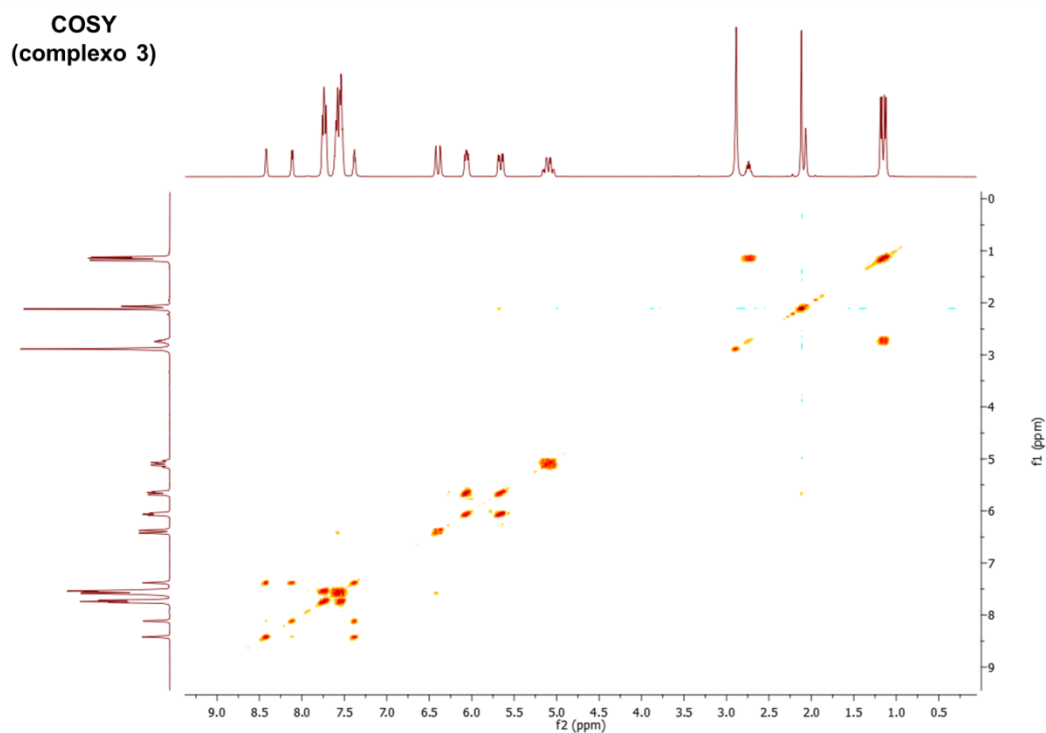
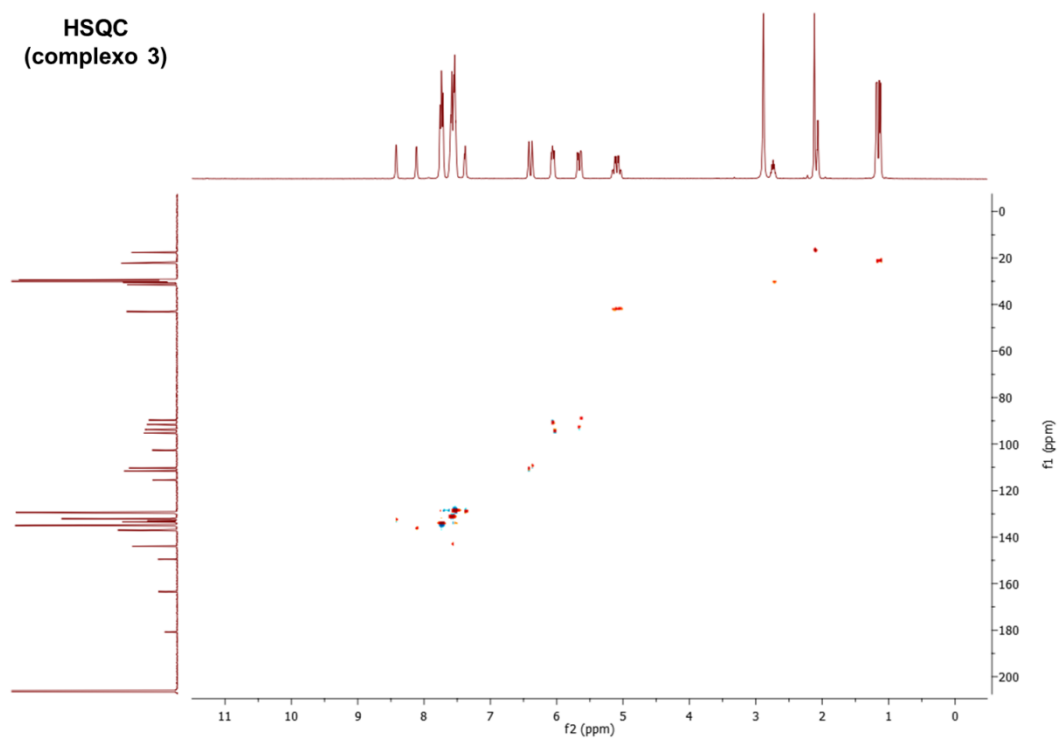
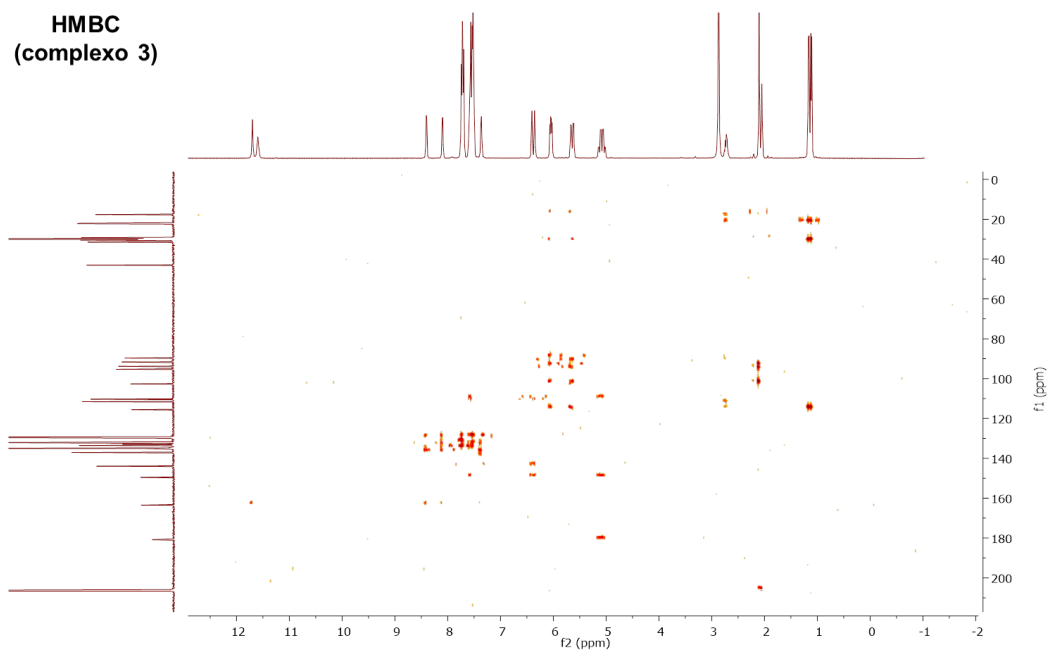


FIGURA 5.23- Espectro de RMN-COSY do complexo **3** em acetona-d<sub>6</sub>

FIGURA 5.24- Espectro de RMN-HSQC do complexo **3** em acetona-d<sub>6</sub>.FIGURA 5.25- Espectro de RMN-HMBC do complexo **3** em acetona-d<sub>6</sub>.



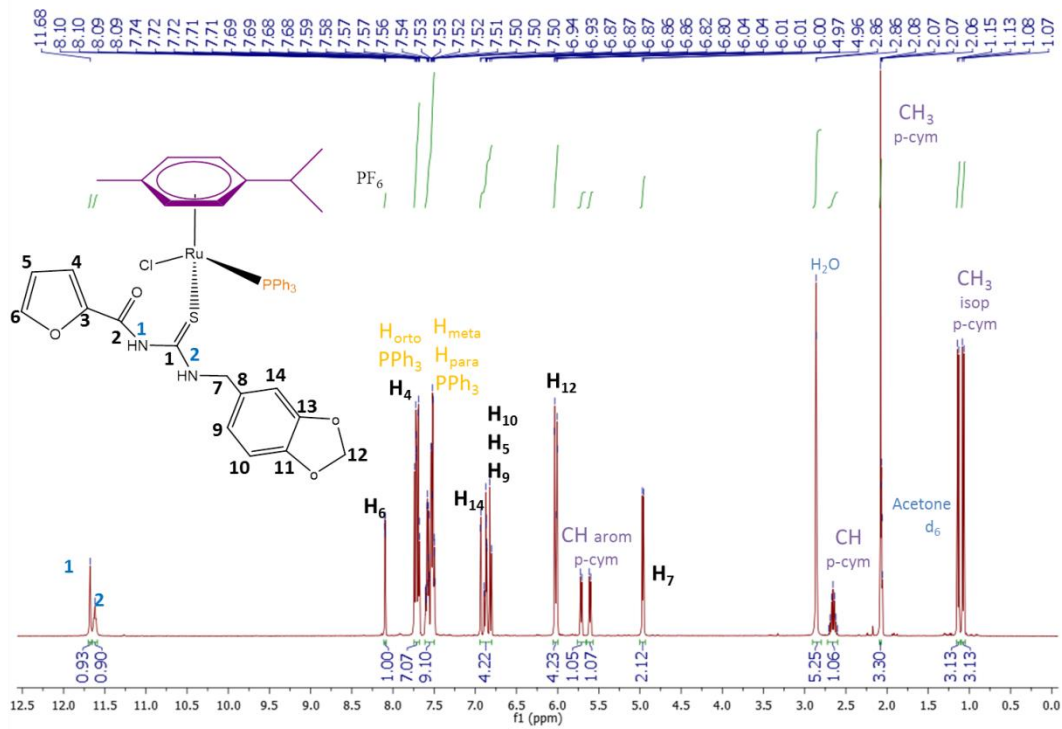


FIGURA 5.26- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo 4 em acetona-d<sub>6</sub>.

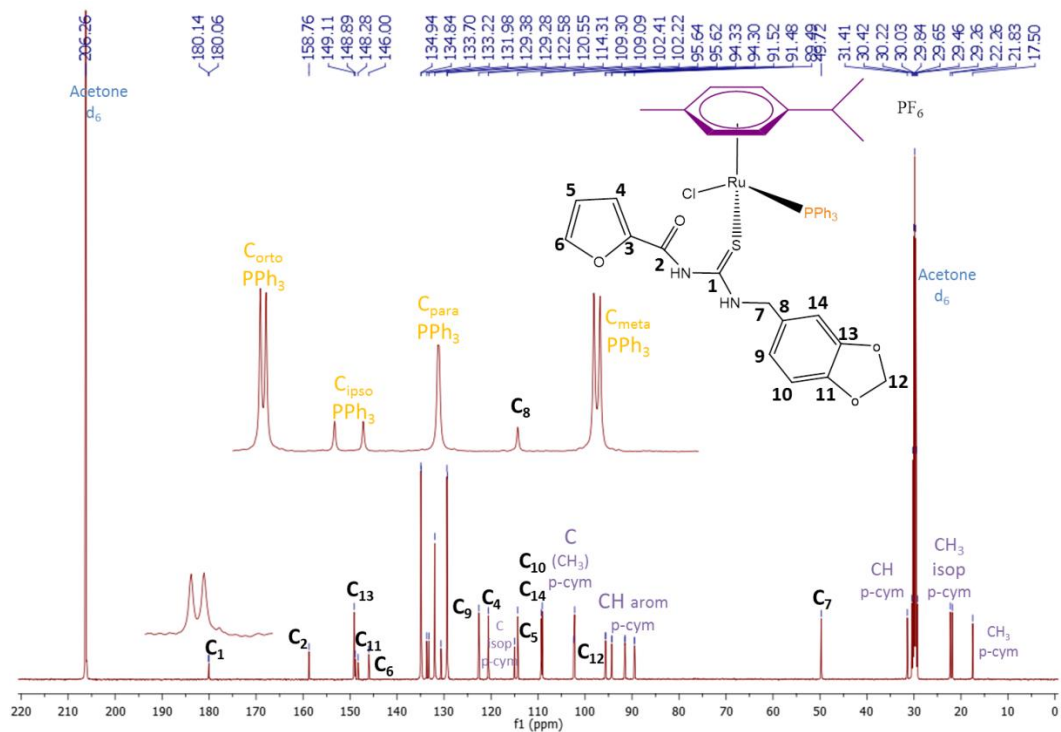
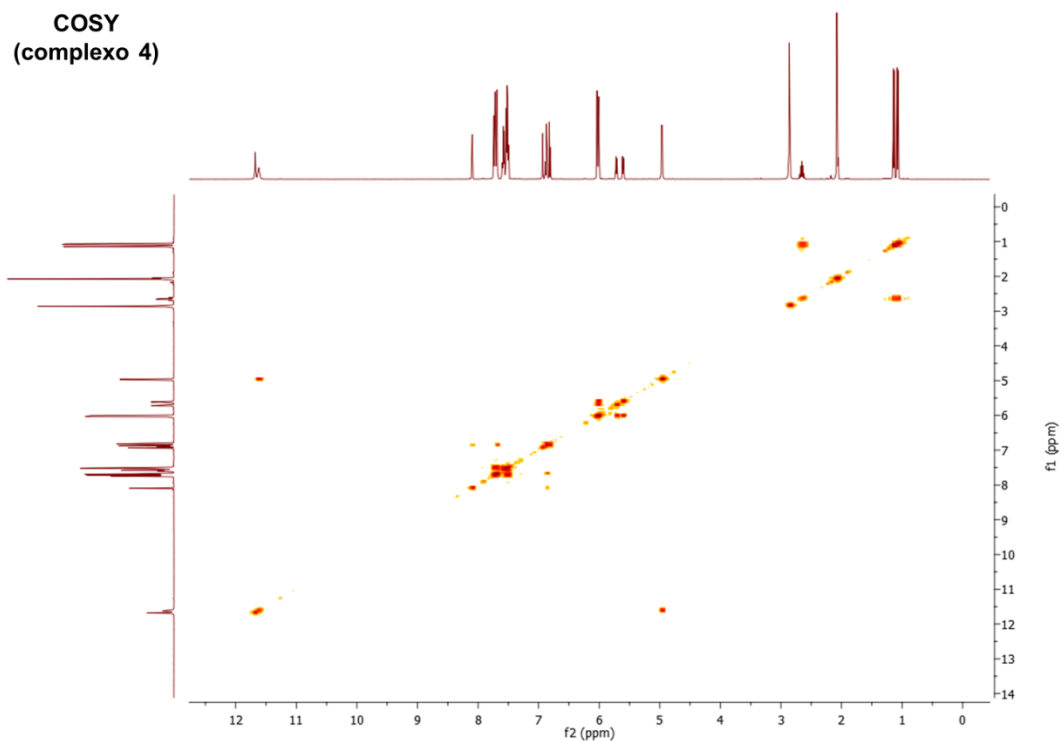
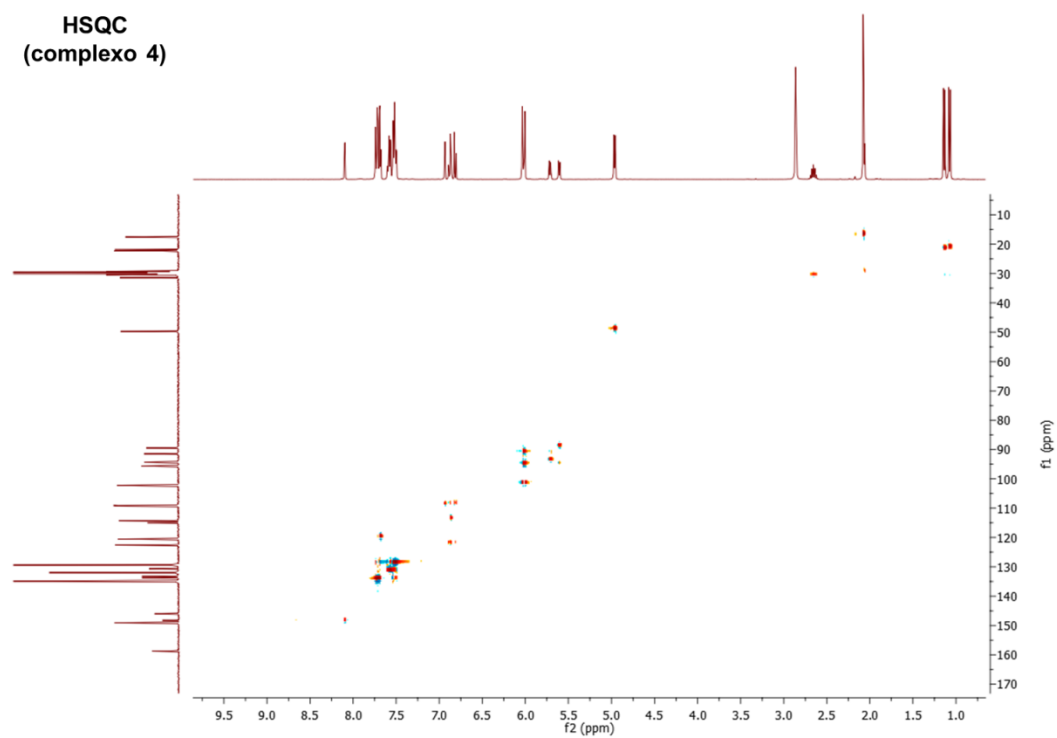


FIGURA 5.27- Espectro de RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} do complexo 4 em acetona-d<sub>6</sub>.

FIGURA 5.28- Espectro de RMN-COSY do complexo 4 em acetona-d<sub>6</sub>.FIGURA 5.29- Espectro de RMN-HSQC do complexo 4 em acetona-d<sub>6</sub>.

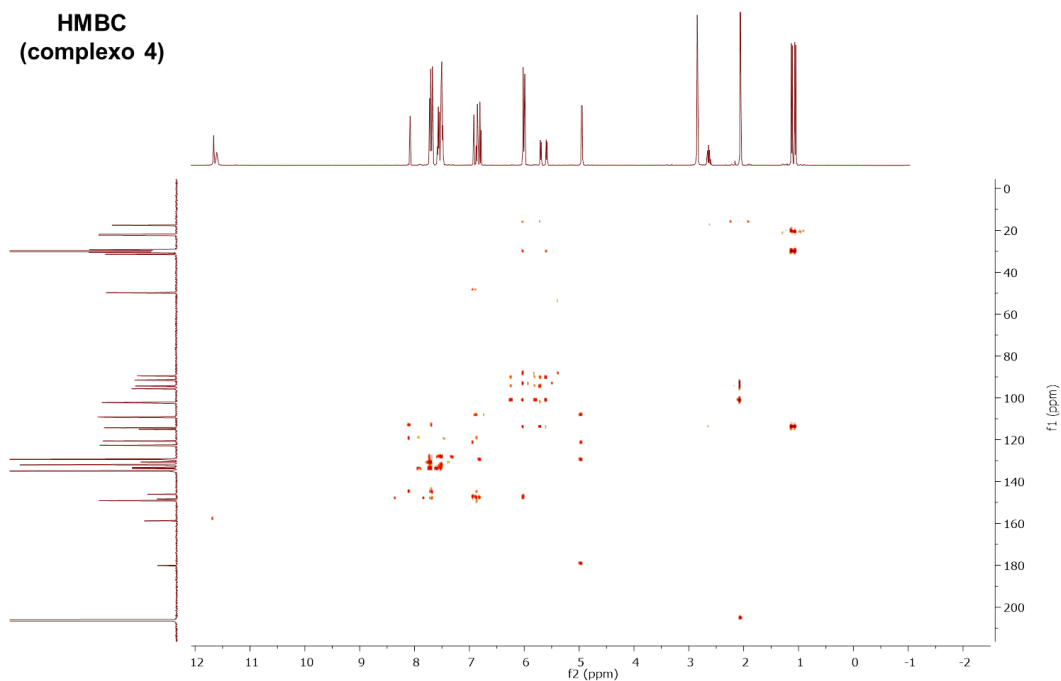


FIGURA 5.30- Espectro de RMN-HMBC do complexo 4 em acetona-d<sub>6</sub>.

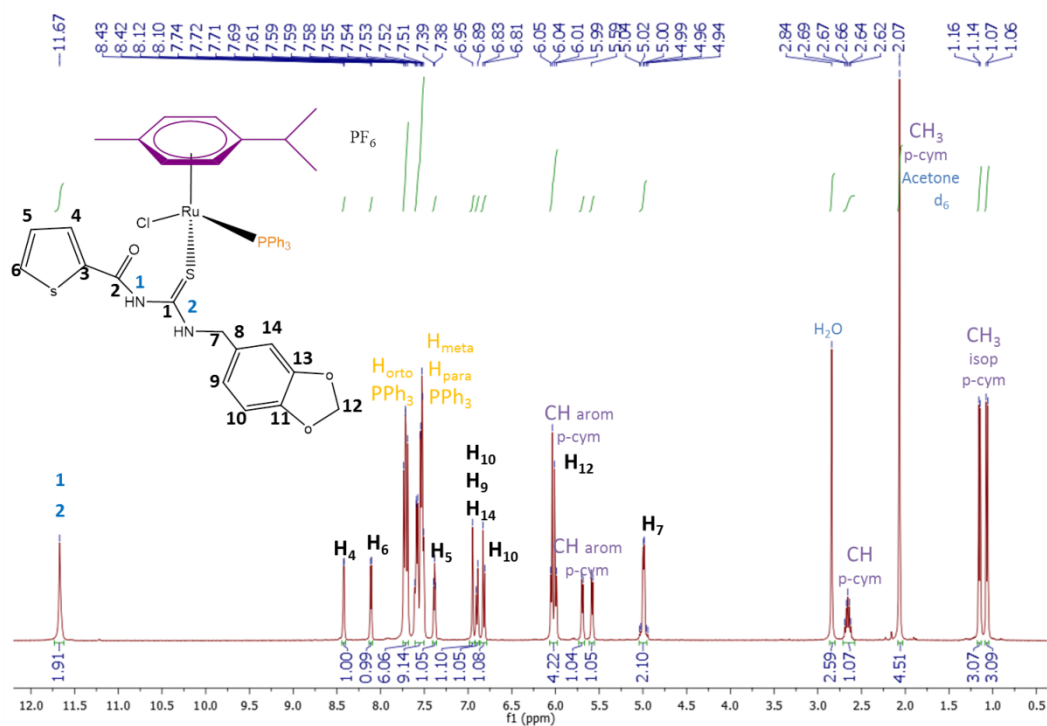


FIGURA 5.31- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo 5 em acetona-d<sub>6</sub>.

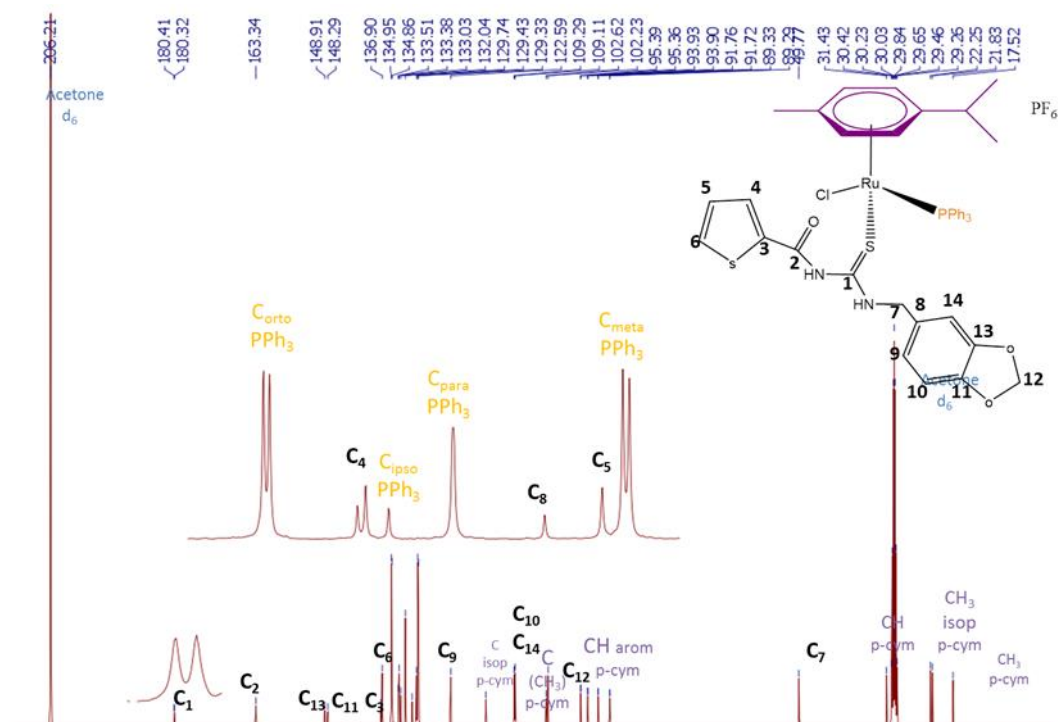


FIGURA 5.32- Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do complexo **5** em acetona- $\text{d}_6$ .

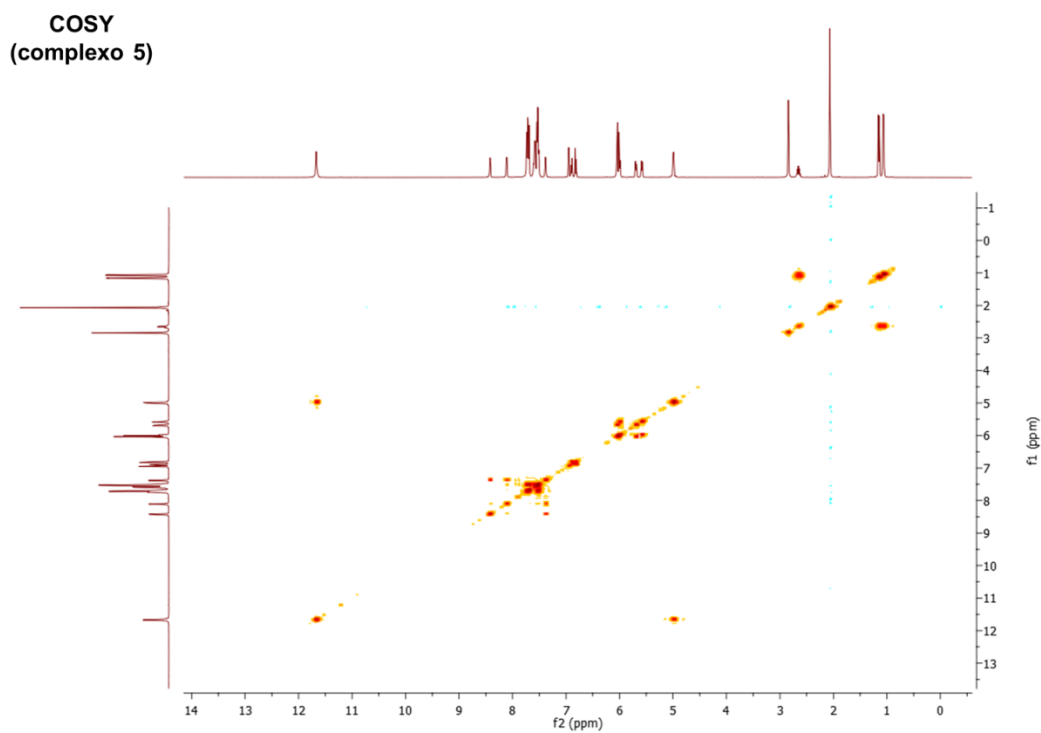
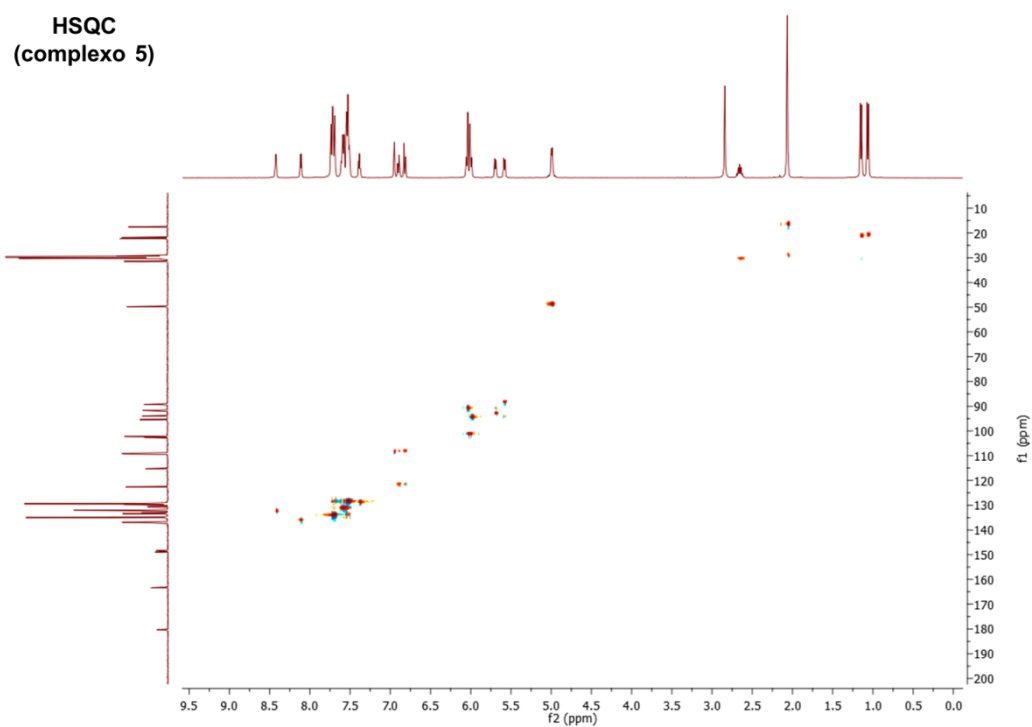
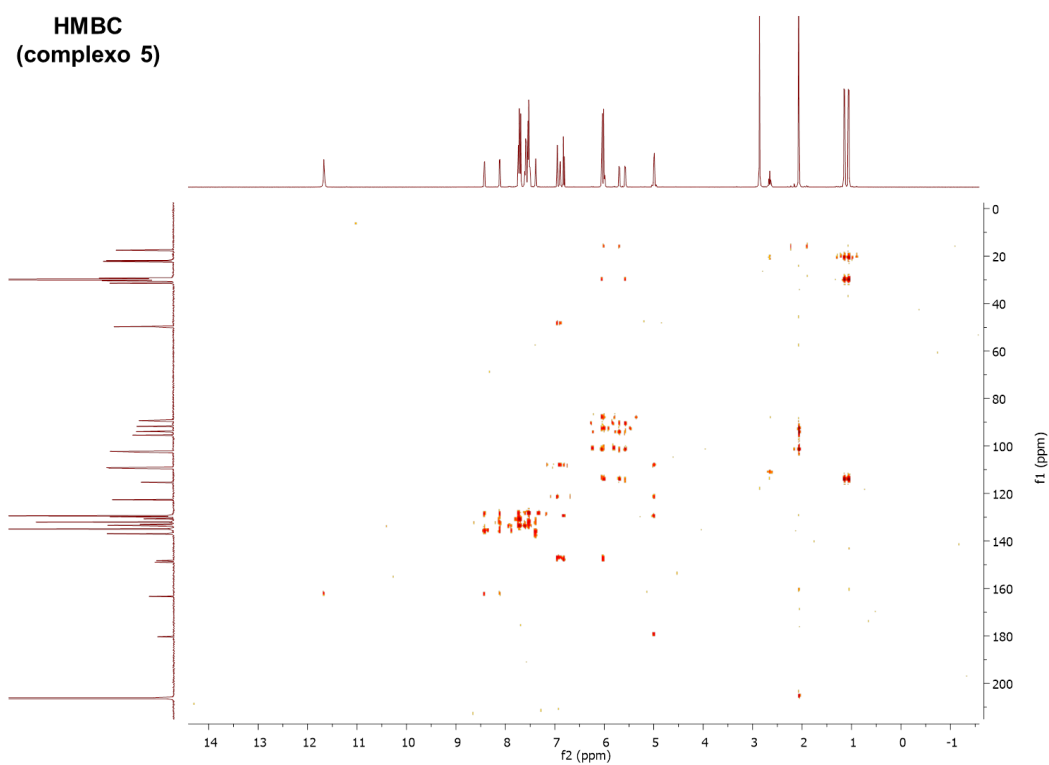


FIGURA 5.33- Espectro de RMN-COSY do complexo **5** em acetona- $\text{d}_6$ .

FIGURA 5.34- Espectro de RMN-HSQC do complexo **5** em acetona-d<sub>6</sub>.FIGURA 5.35- Espectro de RMN-HMBC do complexo **5** em acetona-d<sub>6</sub>.

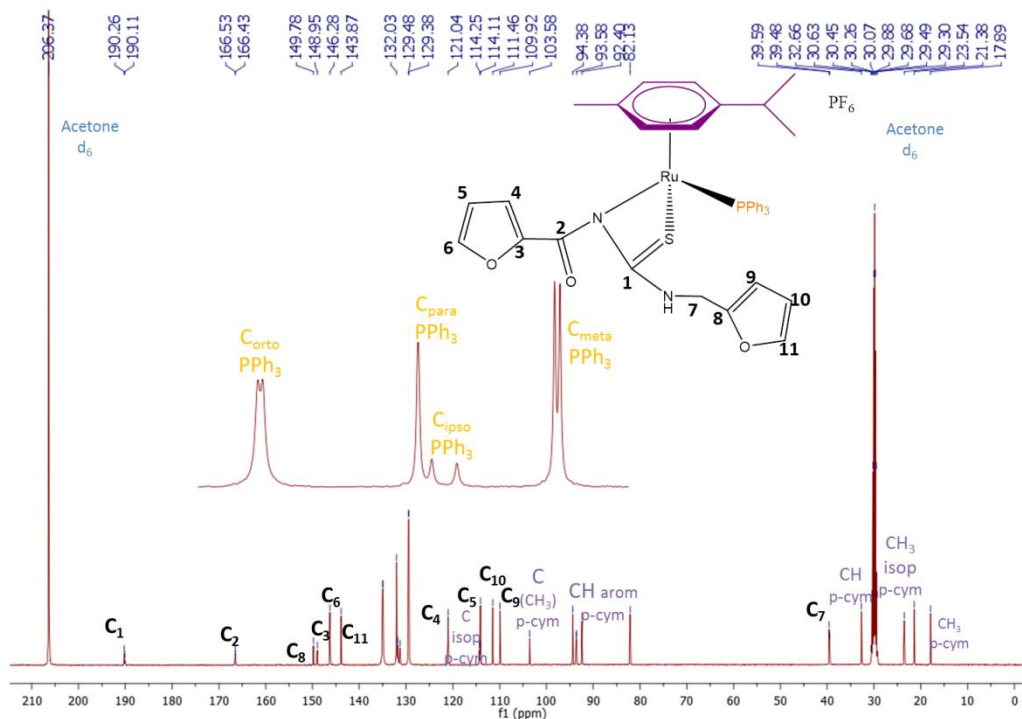


FIGURA 5.36- Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do complexo **1a** em acetona- $\text{d}_6$ .

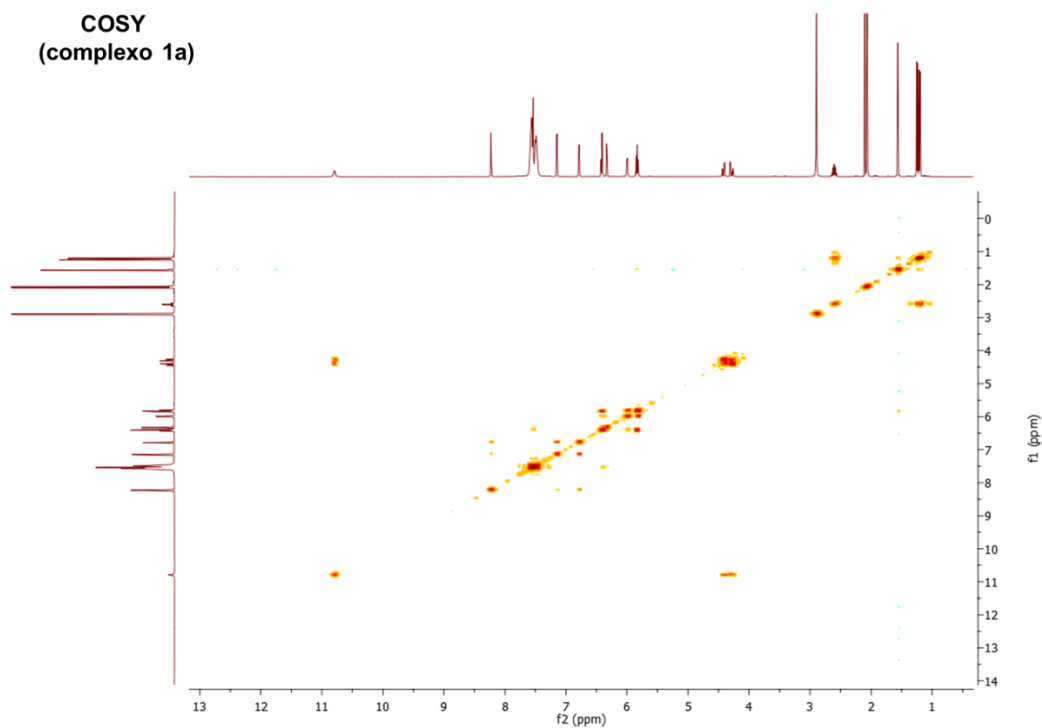
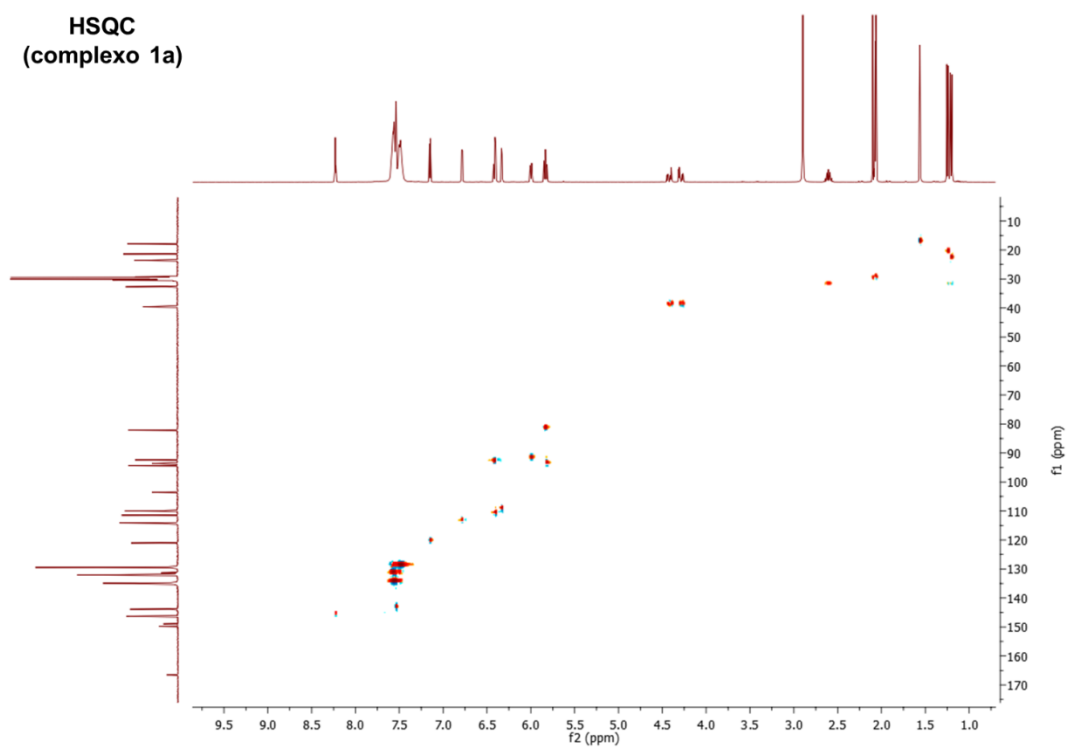
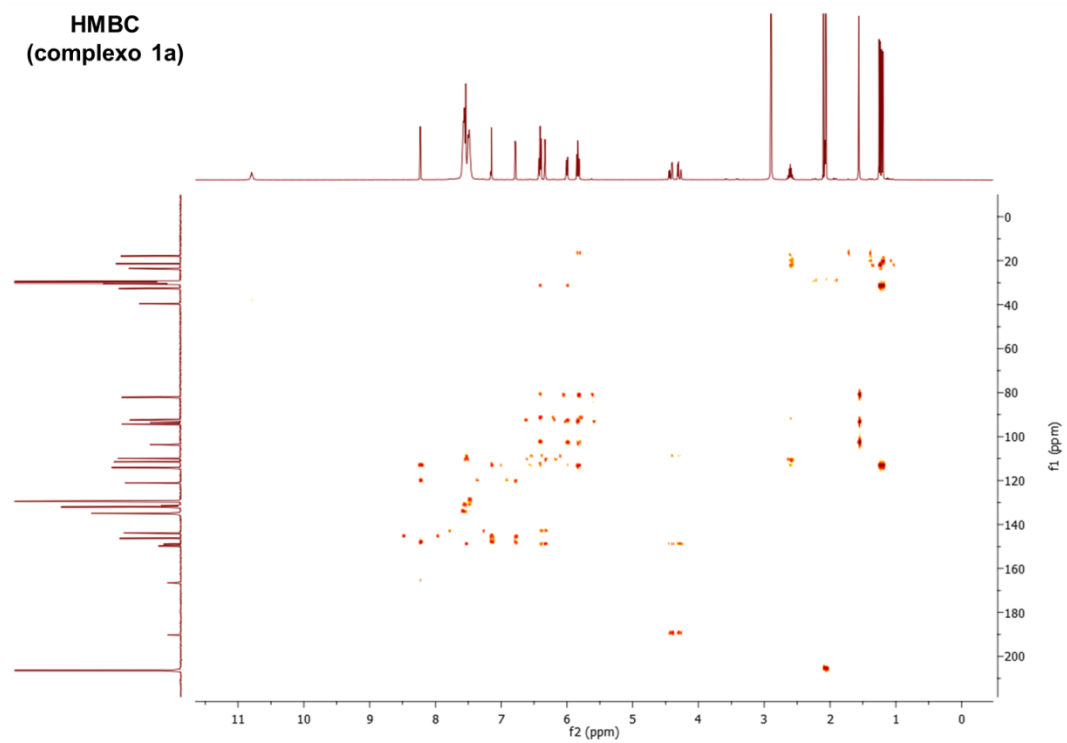


FIGURA 5.37- Espectro de RMN-COSY do complexo **1a** em acetona- $\text{d}_6$ .

FIGURA 5.38- Espectro de RMN-HSQC do complexo **1a** em acetona-d<sub>6</sub>.FIGURA 5.39- Espectro de RMN-HMBC do complexo **1a** em acetona-d<sub>6</sub>.



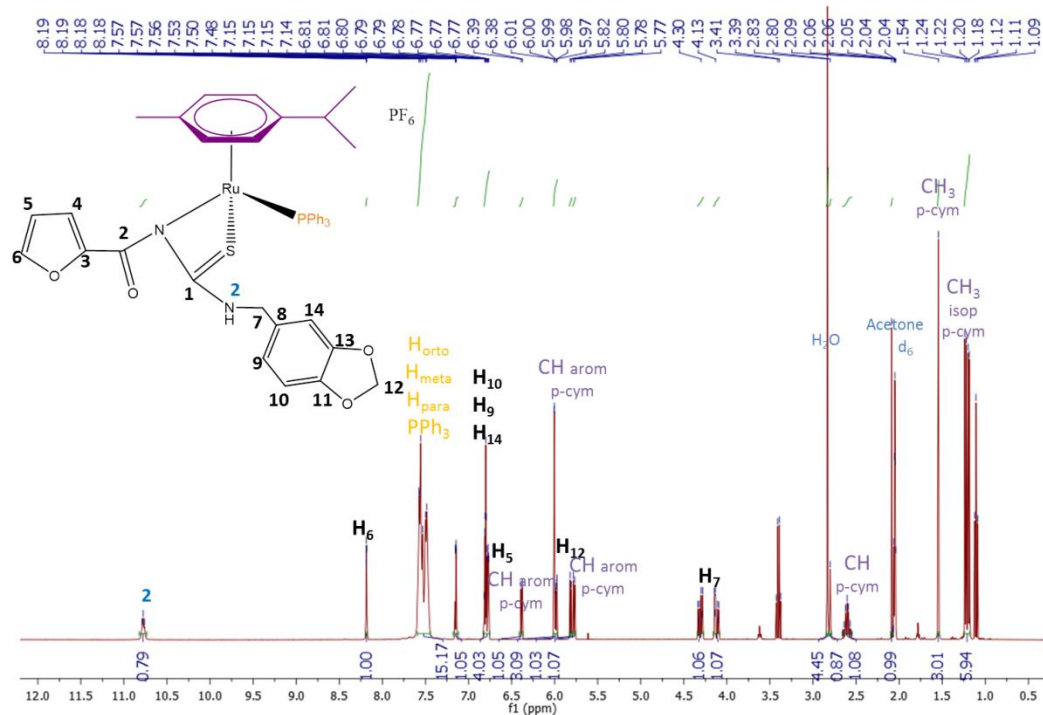


FIGURA 5.40- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo **4a** em acetona-d<sub>6</sub>.

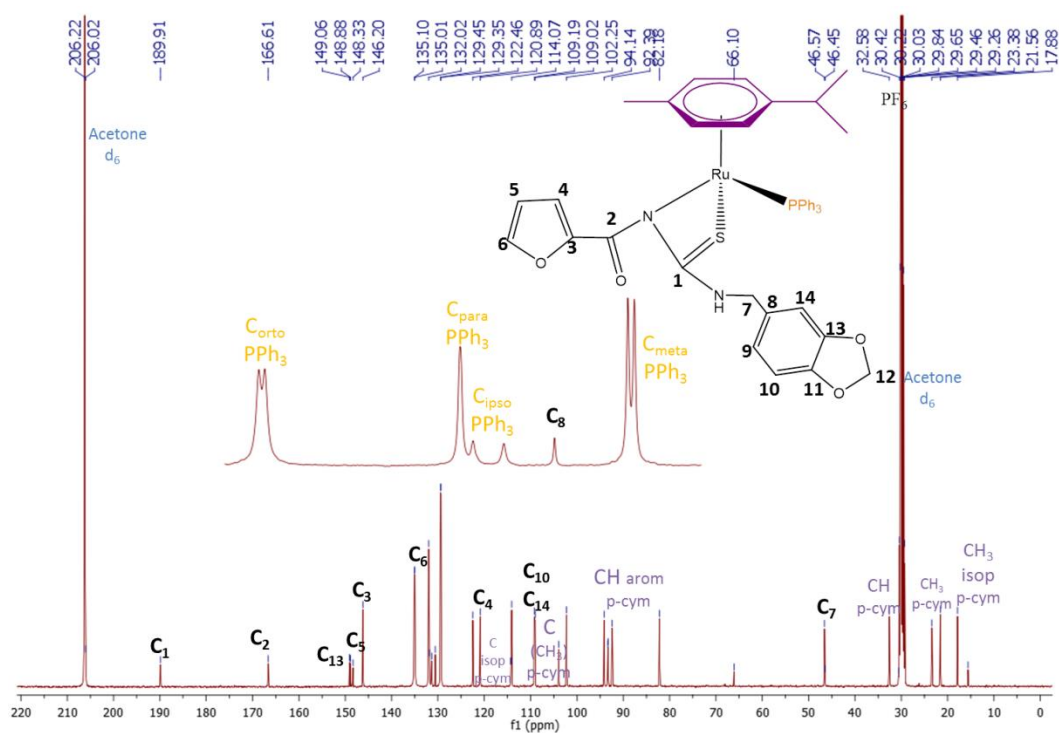
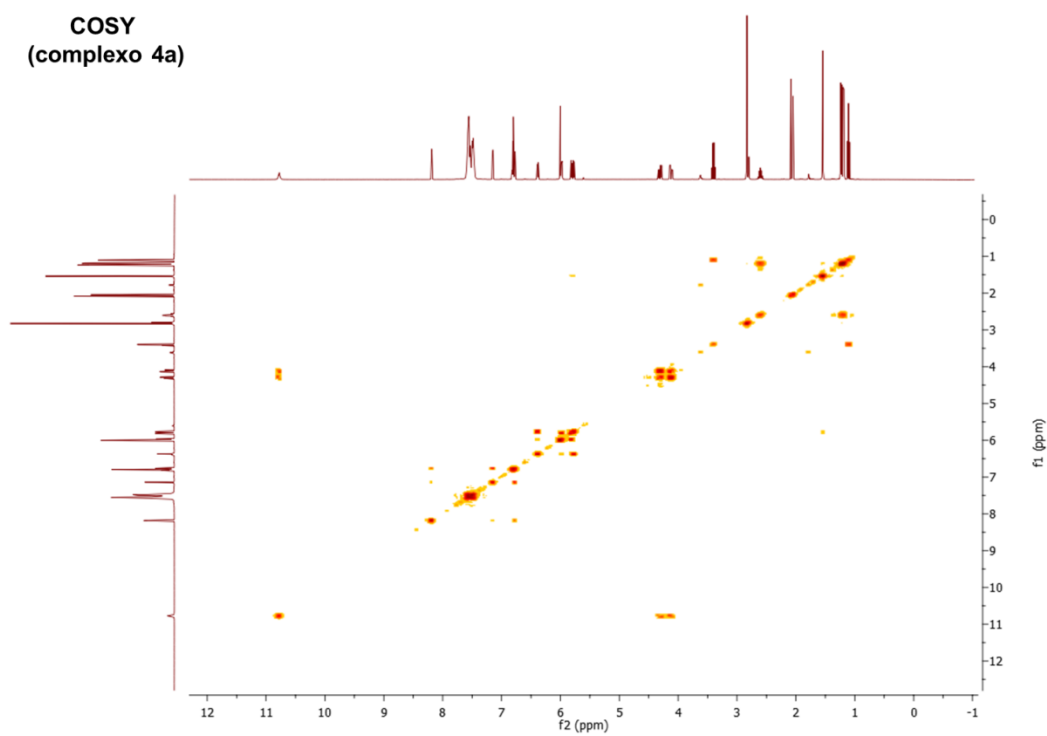
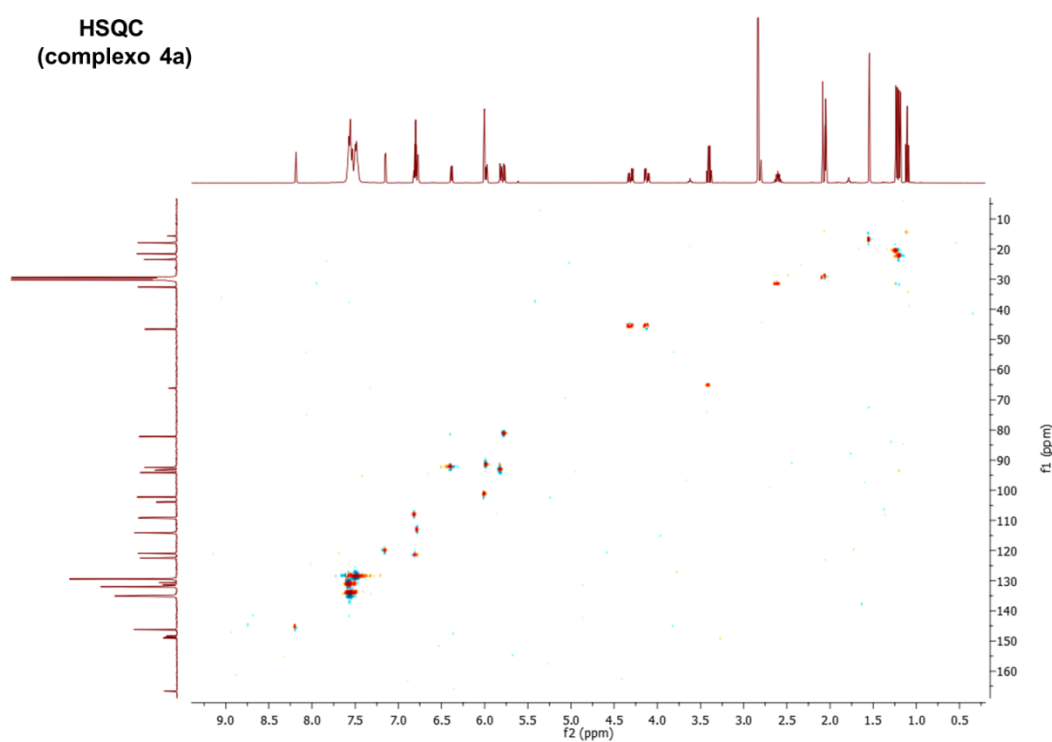


FIGURA 5.41- Espectro de RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} do complexo **4a** em acetona-d<sub>6</sub>.

FIGURA 5.42- Espectro de RMN-COSY do complexo **4a** em acetona-d<sub>6</sub>.FIGURA 5.43- Espectro de RMN-HSQC do complexo **4a** em acetona-d<sub>6</sub>.

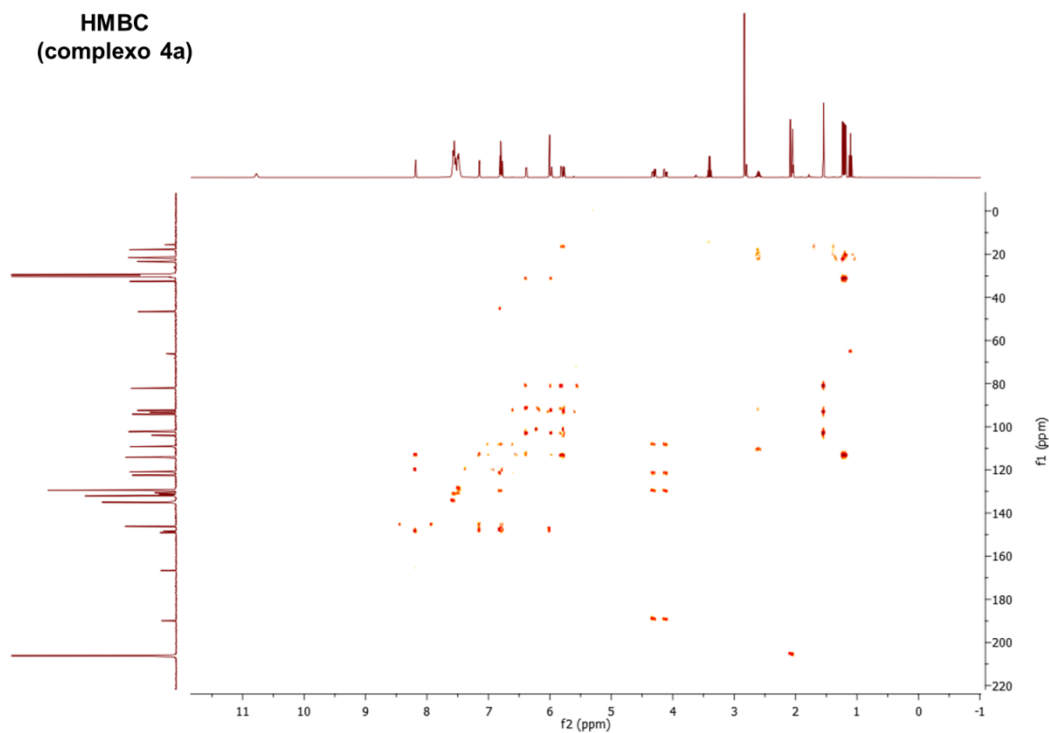


FIGURA 5.44- Espectro de RMN-HMBC do complexo **4a** em acetona-d<sub>6</sub>.

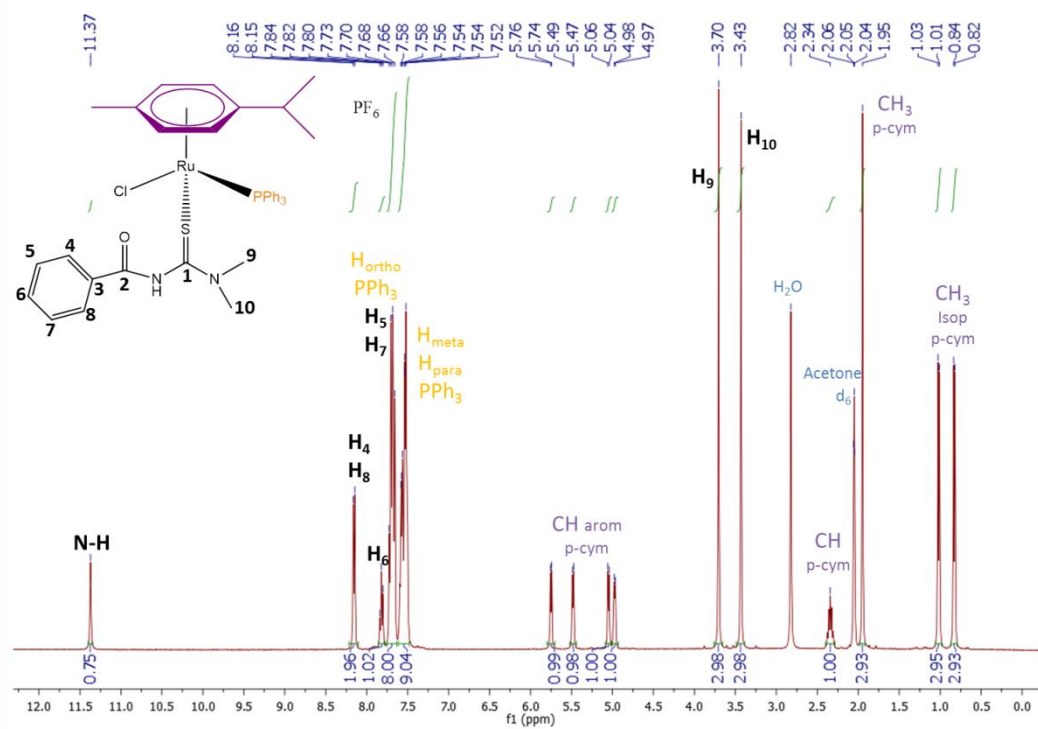


FIGURA 5.45- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo **1m** em acetona-d<sub>6</sub>.

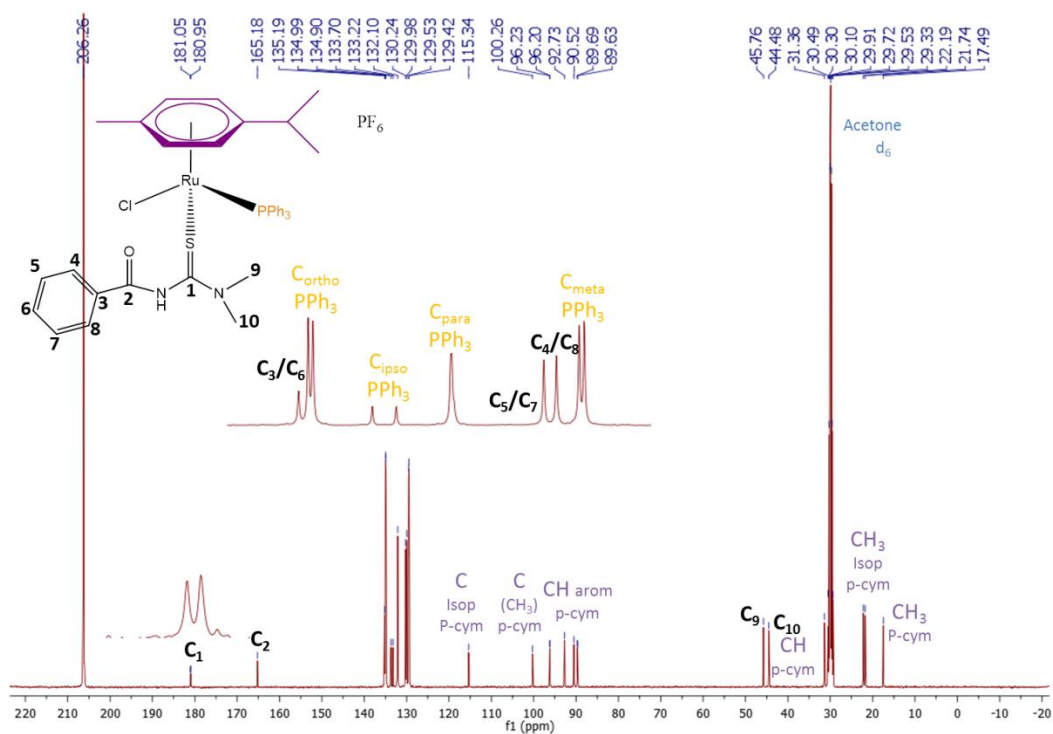


FIGURA 5.46- Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do complexo **1m** em acetona- $\text{d}_6$ .

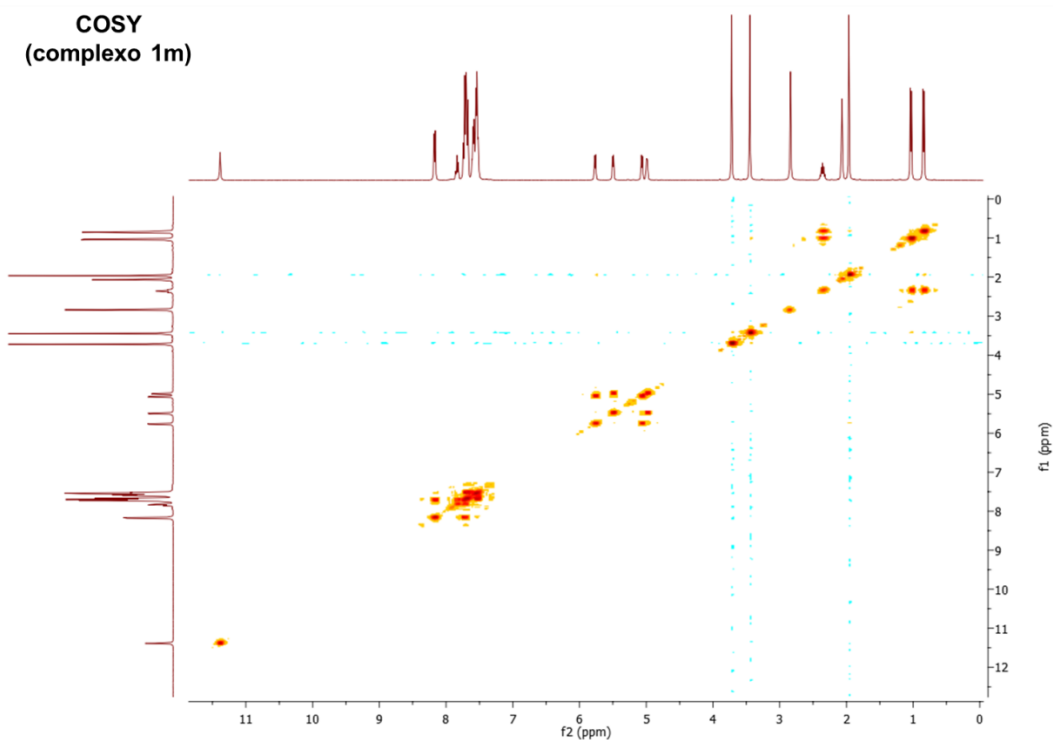
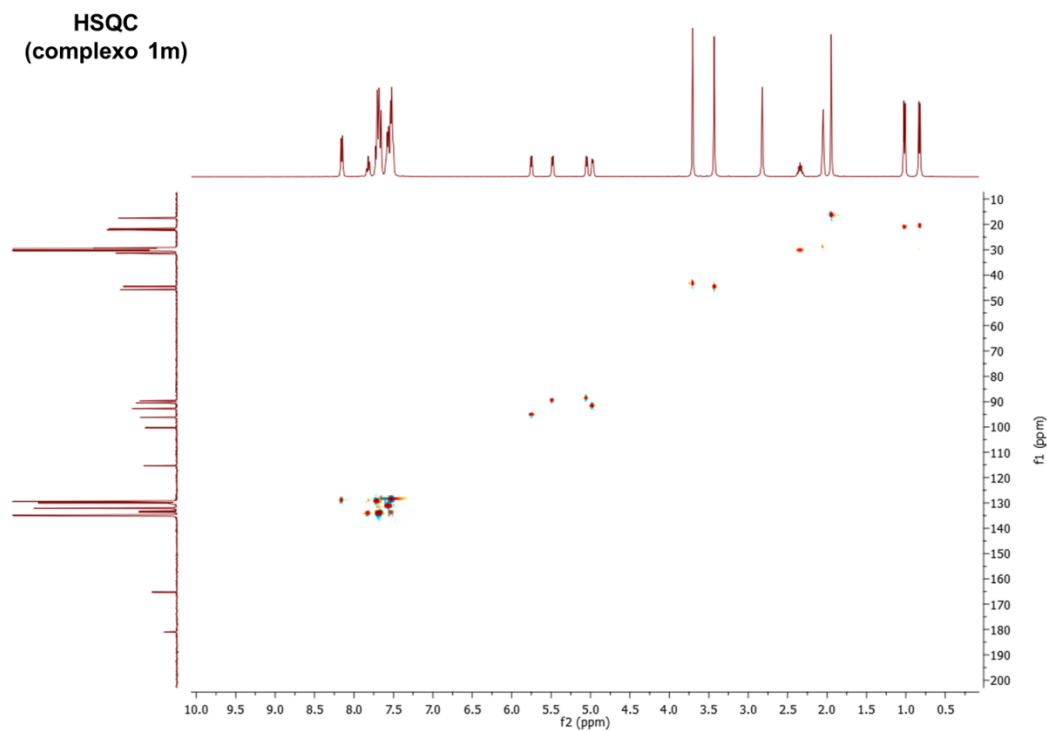
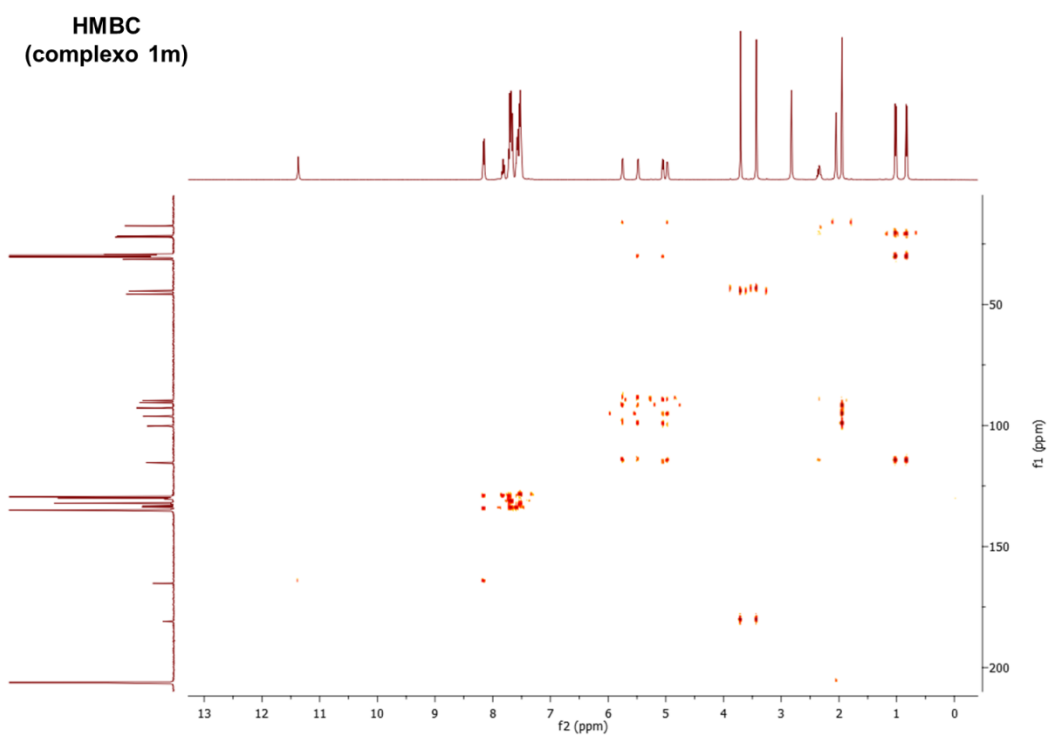


FIGURA 5.47- Espectro de RMN-COSY do complexo **1m** em acetona- $\text{d}_6$ .

FIGURA 5.48- Espectro de RMN-HSQC do complexo **1m** em acetona-d<sub>6</sub>.FIGURA 5.49- Espectro de RMN-HMBC do complexo **1m** em acetona-d<sub>6</sub>.

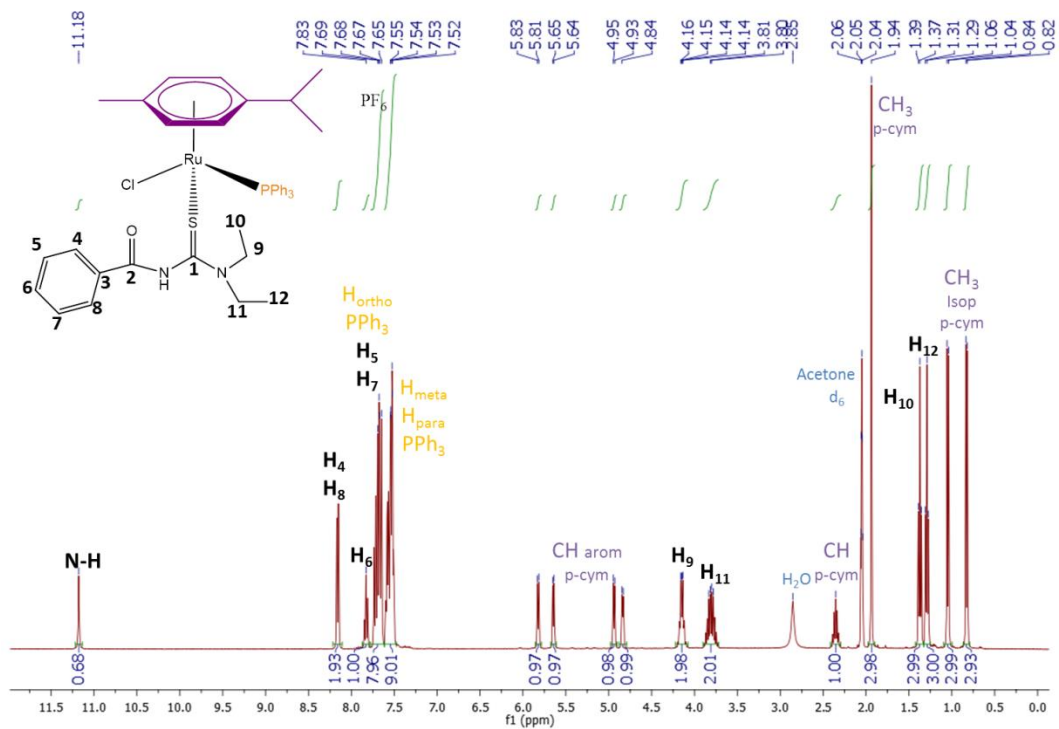


FIGURA 5.50- Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do complexo **2m** em acetona- $\text{d}_6$ .

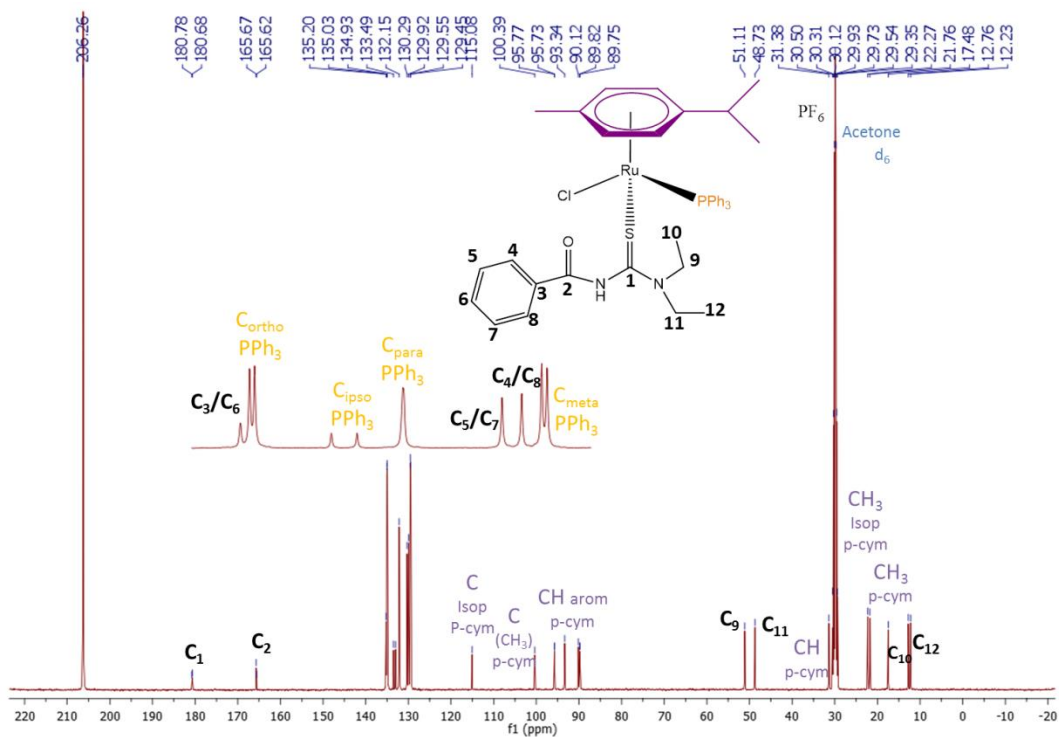
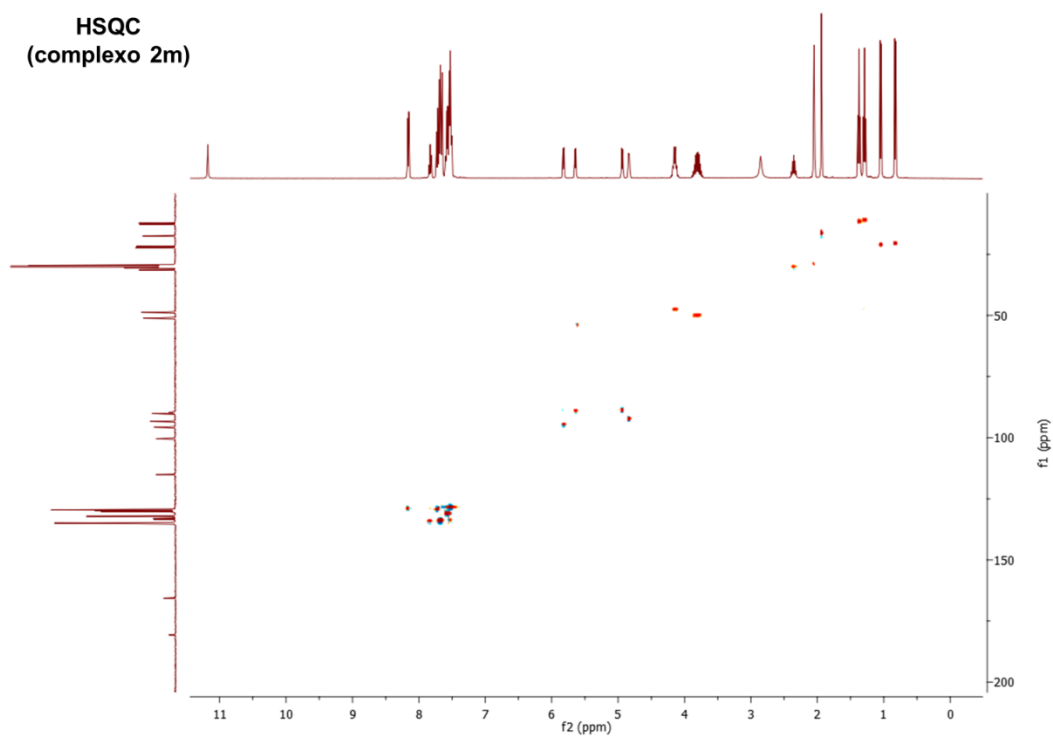
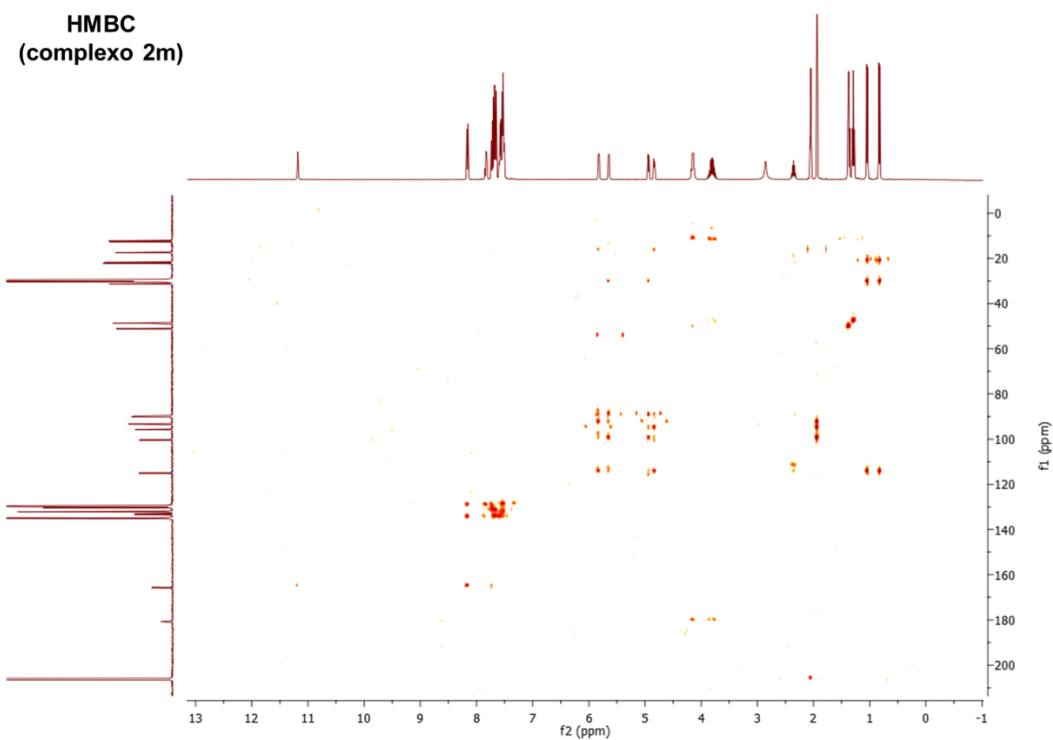


FIGURA 5.51- Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do complexo **2m** em acetona- $\text{d}_6$ .

FIGURA 5.52- Espectro de RMN-HSQC do complexo **2m** em acetona-d<sub>6</sub>.FIGURA 5.53- Espectro de RMN-HMBC do complexo **2m** em acetona-d<sub>6</sub>.



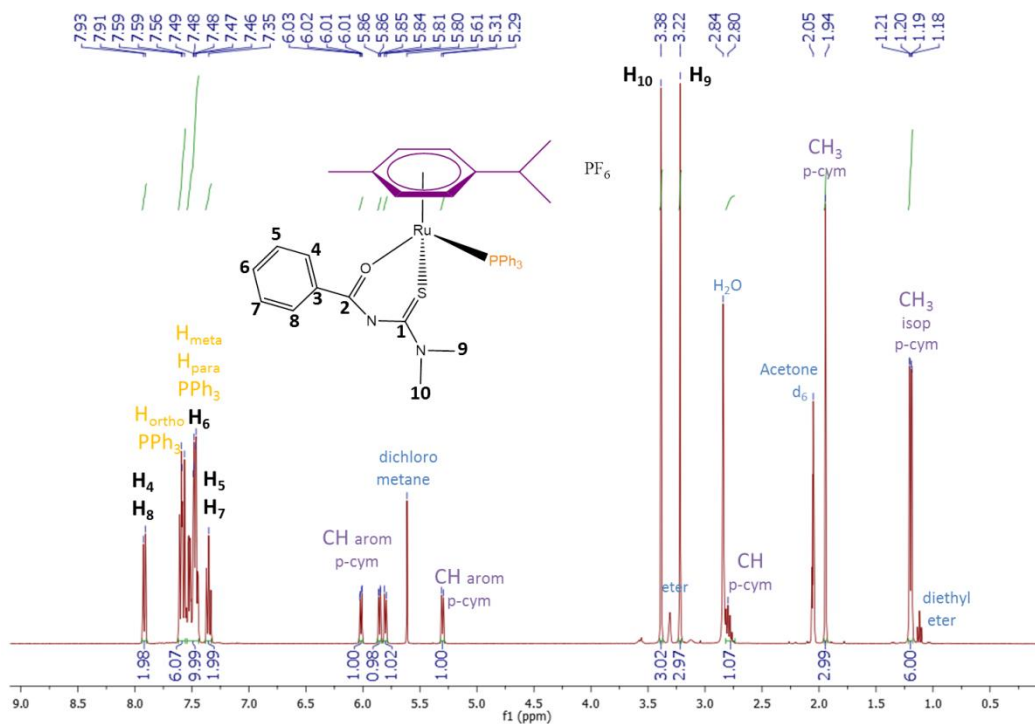


FIGURA 5.54- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo **1b** em acetona-d<sub>6</sub>.

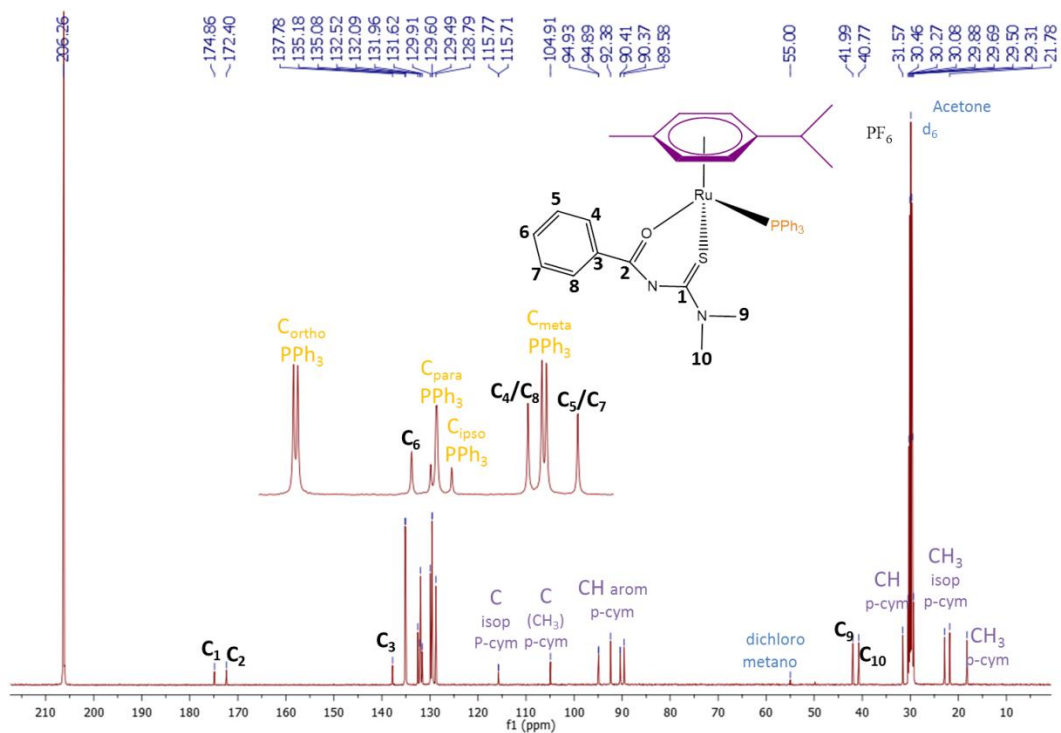
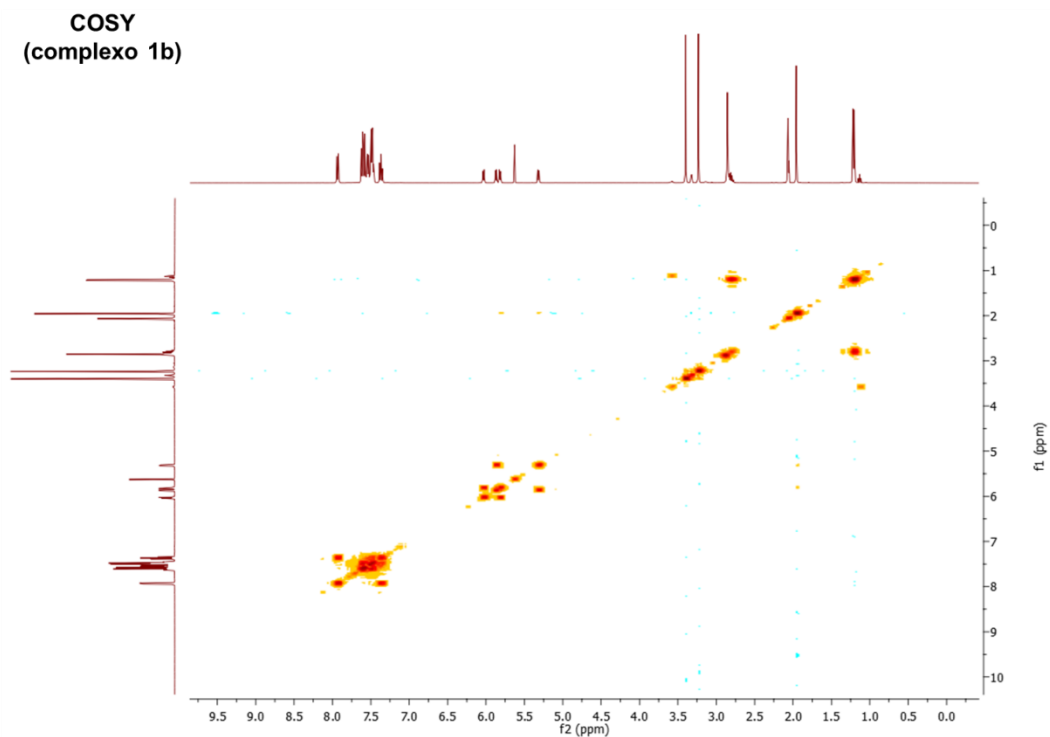
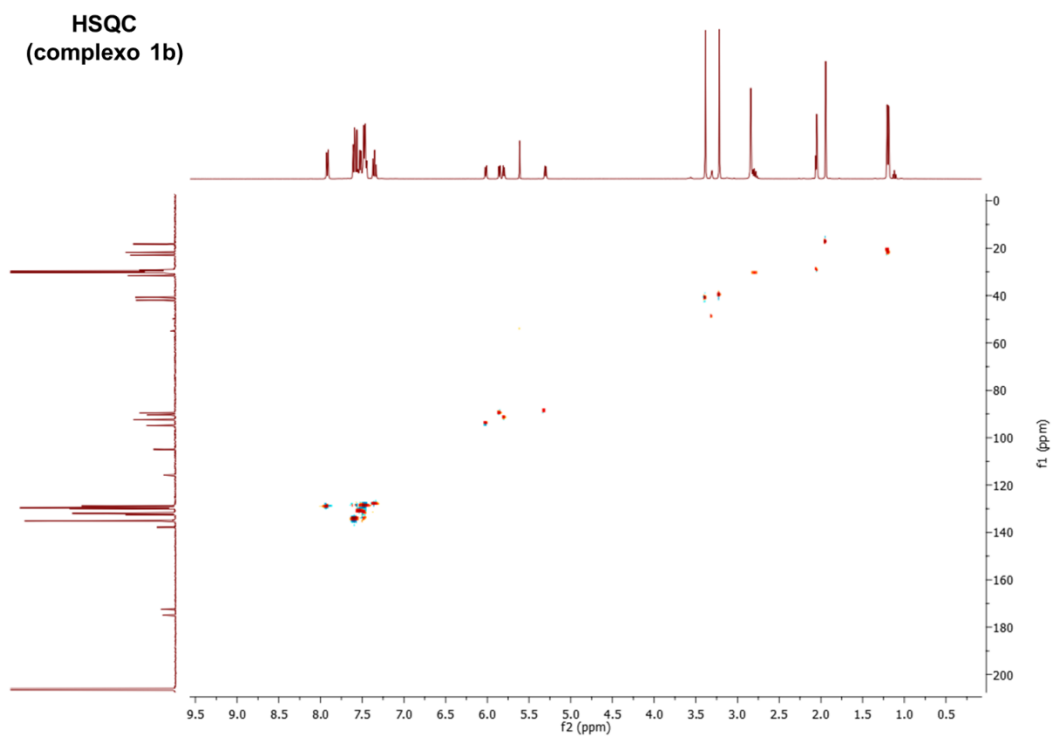


FIGURA 5.55- Espectro de RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} do complexo **1b** em acetona-d<sub>6</sub>.

FIGURA 5.56- Espectro de RMN-COSY do complexo **1b** em acetona-d<sub>6</sub>.FIGURA 5.57- Espectro de RMN-HSQC do complexo **1b** em acetona-d<sub>6</sub>.

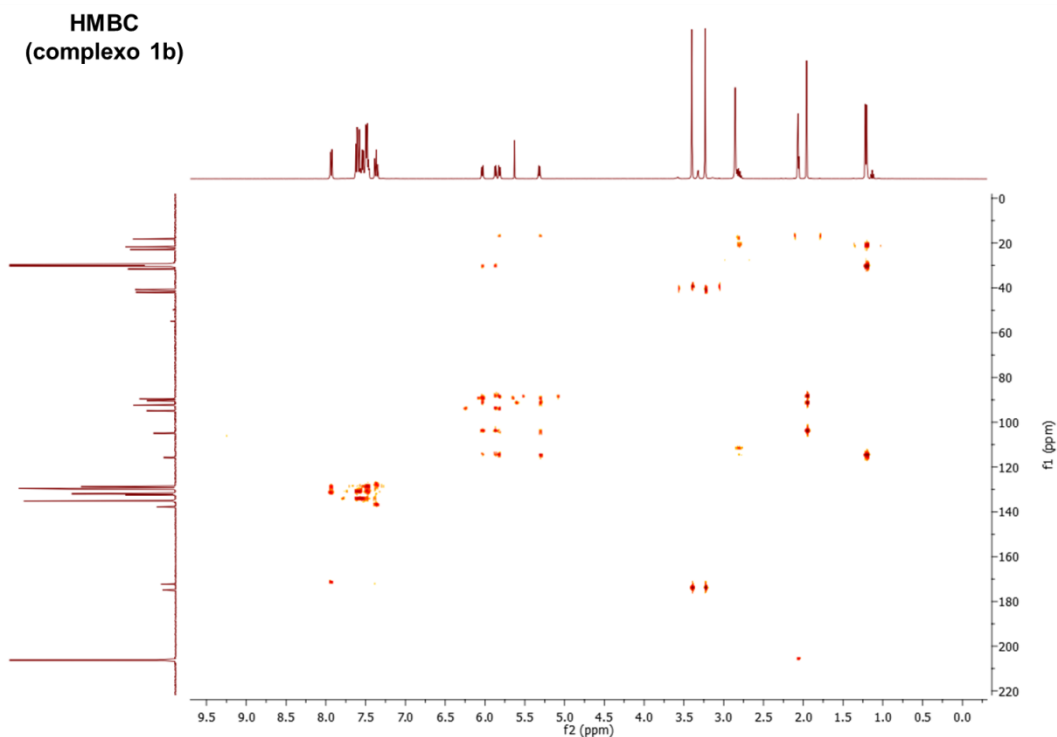


FIGURA 5.58- Espectro de RMN-HMBC do complexo **1b** em acetona-d<sub>6</sub>.

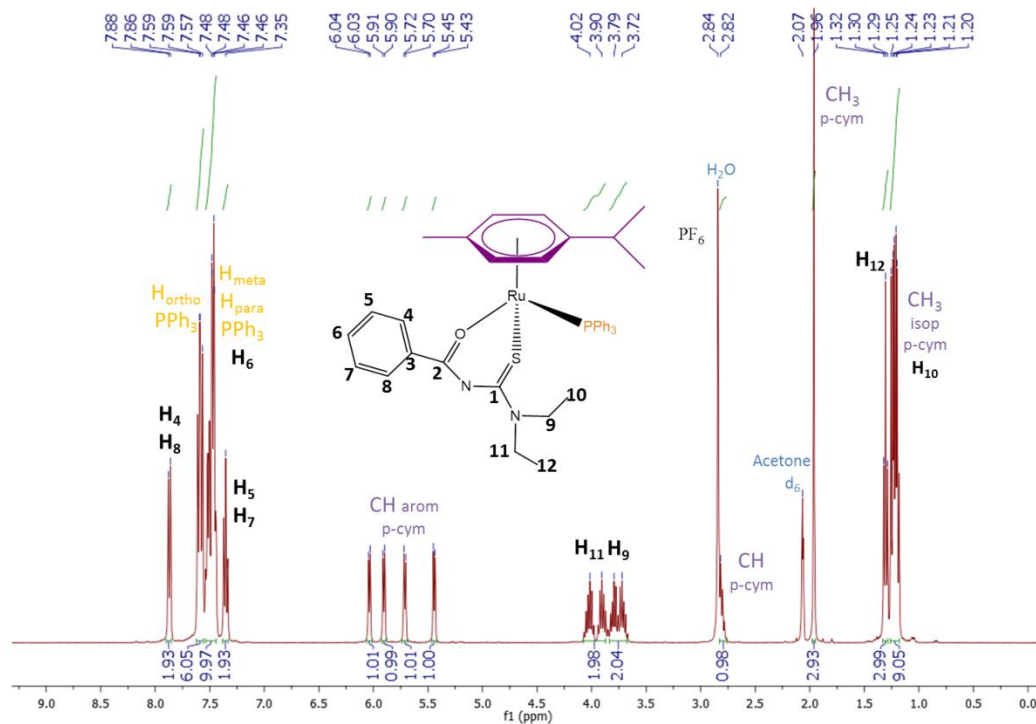


FIGURA 5.59- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo **2b** em acetona-d<sub>6</sub>.

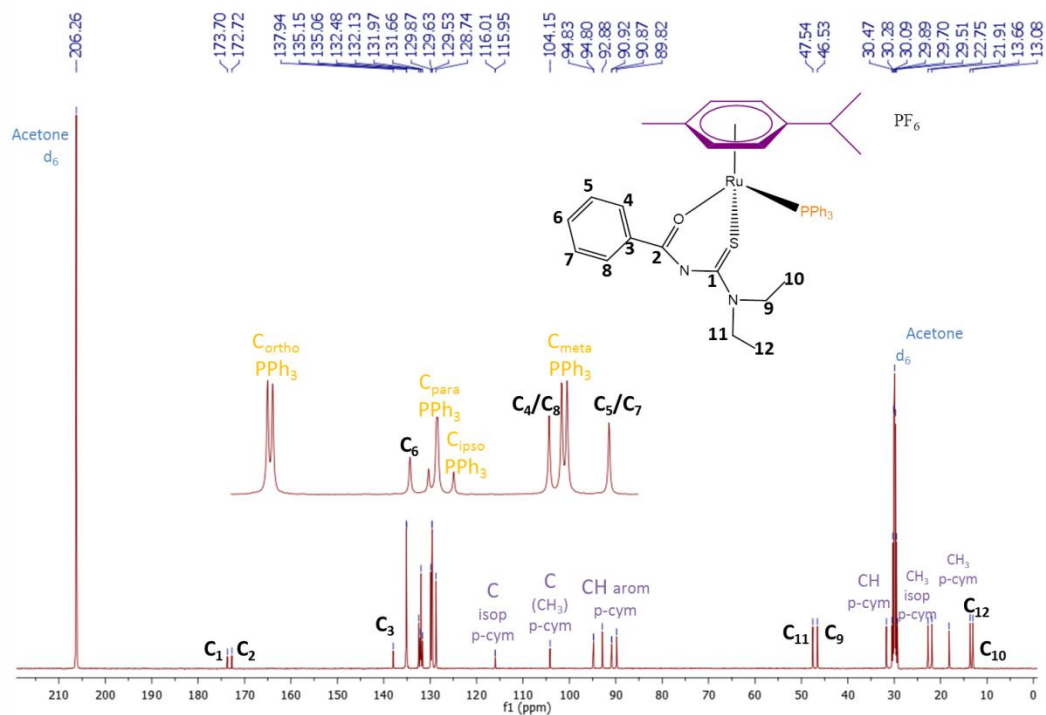


FIGURA 5.60- Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do complexo **2b** em acetona- $\text{d}_6$ .

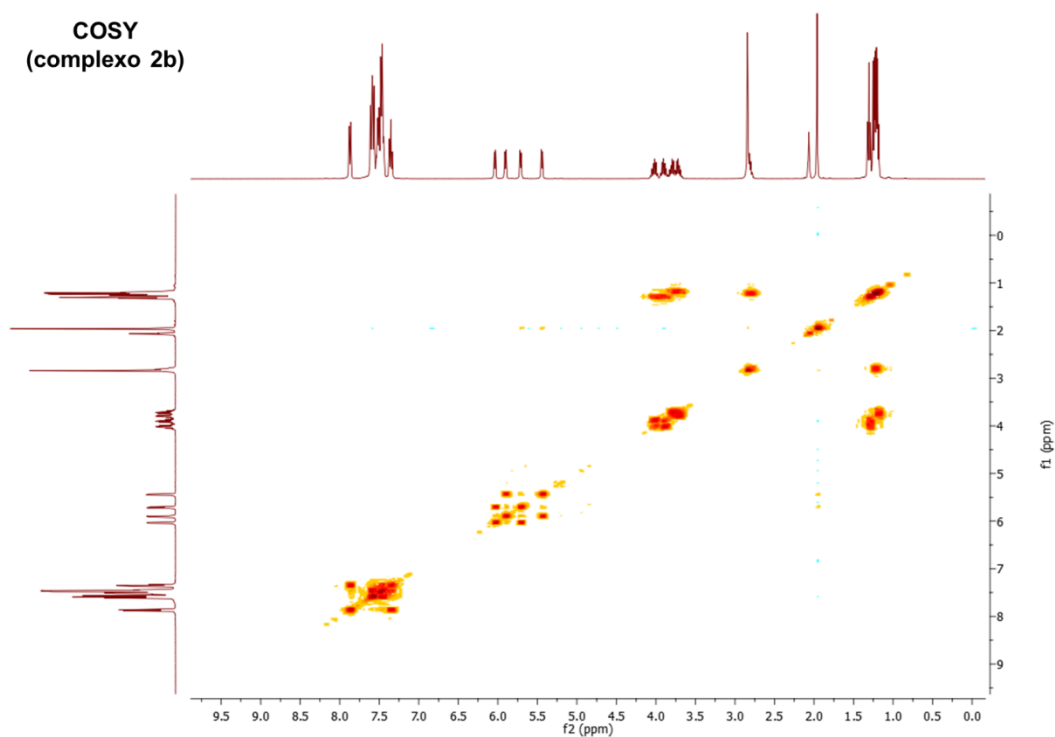
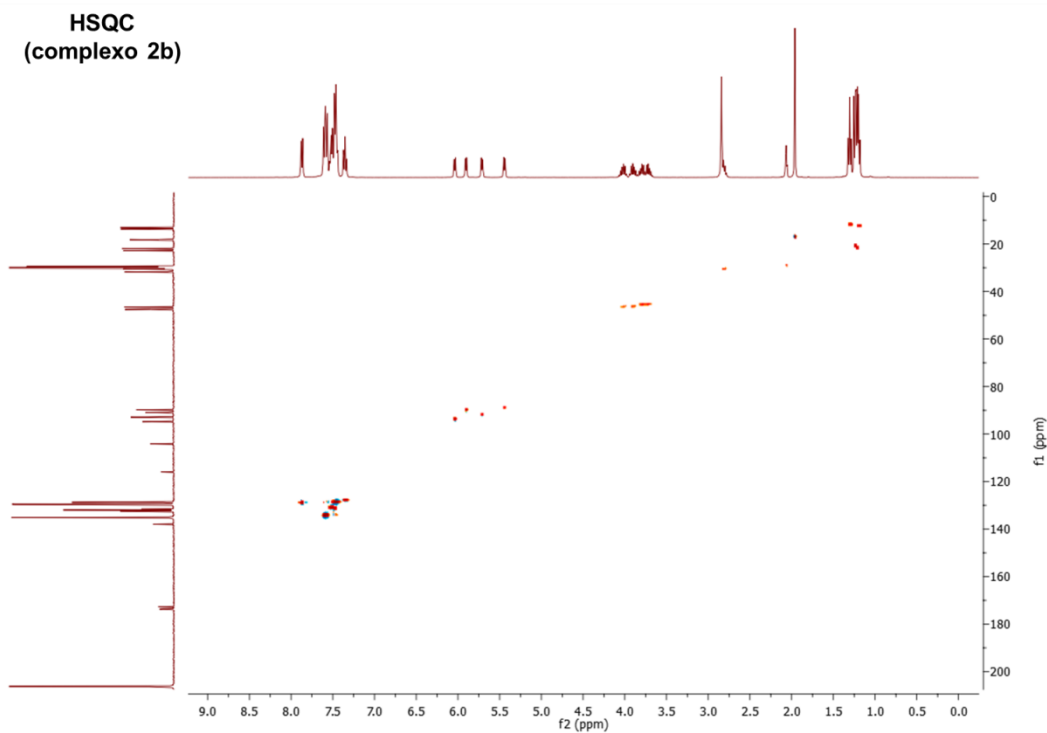
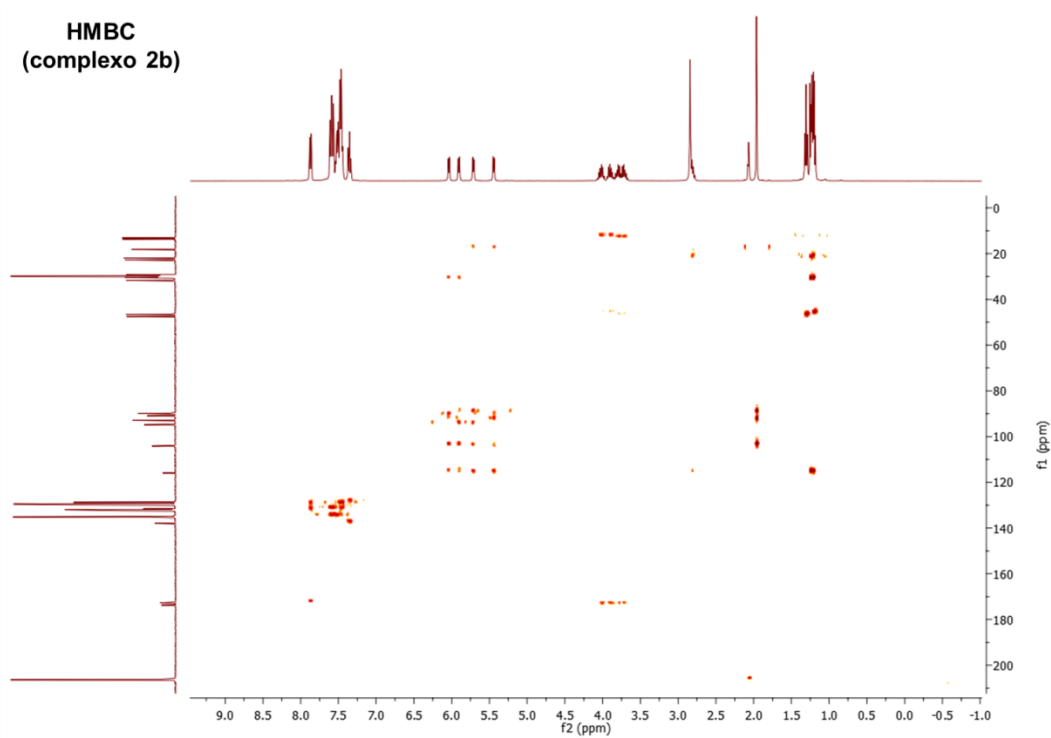


FIGURA 5.61- Espectro de RMN-COSY do complexo **2b** em acetona- $\text{d}_6$ .

FIGURA 5.62- Espectro de RMN-HSQC do complexo **2b** em acetona-d<sub>6</sub>.FIGURA 5.63- Espectro de RMN-HMBC do complexo **2b** em acetona-d<sub>6</sub>.

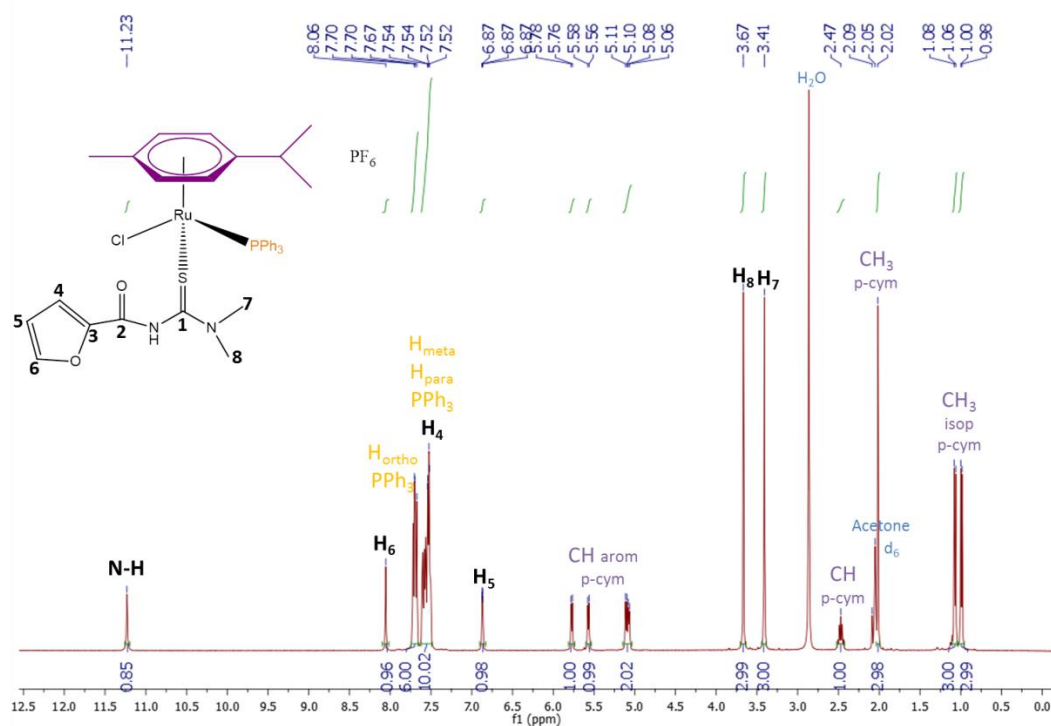


FIGURA 5.64- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo **3m** em acetona-d<sub>6</sub>.

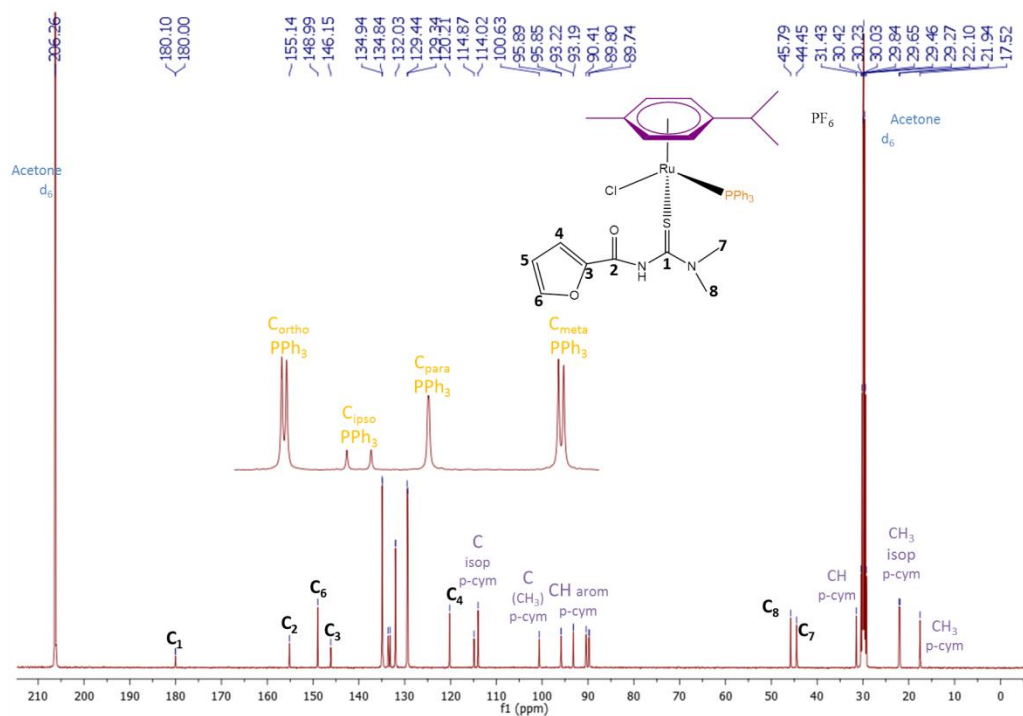
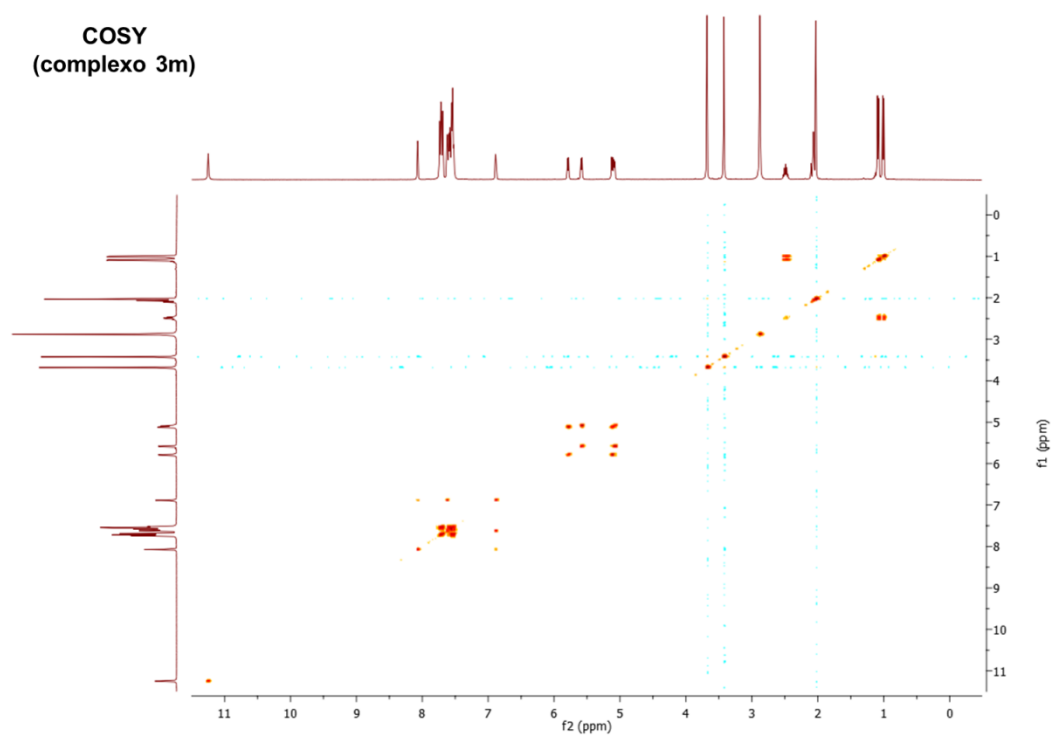
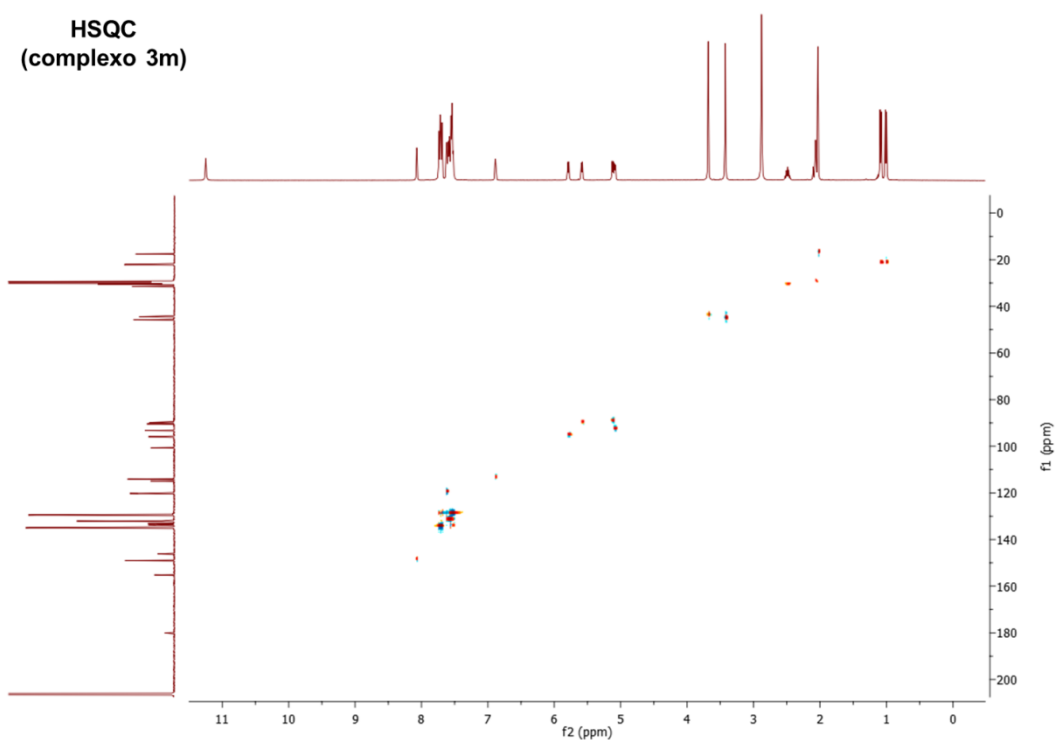


FIGURA 5.65- Espectro de RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} do complexo **3m** em acetona-d<sub>6</sub>.

FIGURA 5.66- Espectro de RMN-COSY do complexo **3m** em acetona-d<sub>6</sub>.FIGURA 5.67- Espectro de RMN-HSQC do complexo **3m** em acetona-d<sub>6</sub>.

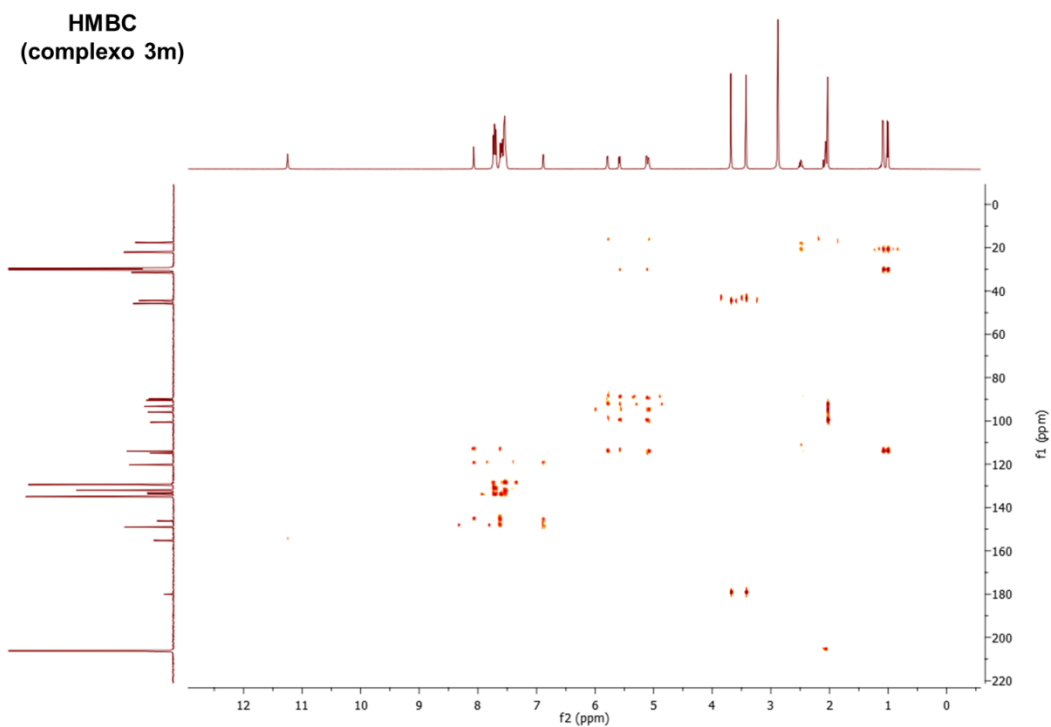


FIGURA 5.68- Espectro de RMN-HMBC do complexo **3m** em acetona-d<sub>6</sub>.

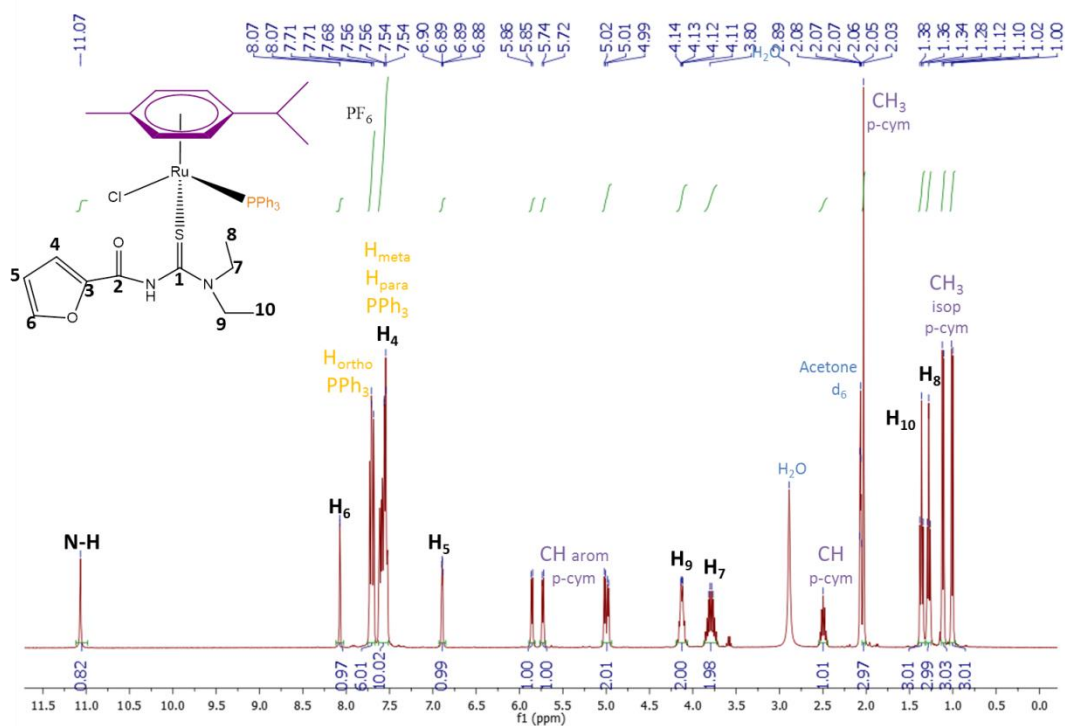


FIGURA 5.79- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo **4m** em acetona-d<sub>6</sub>.



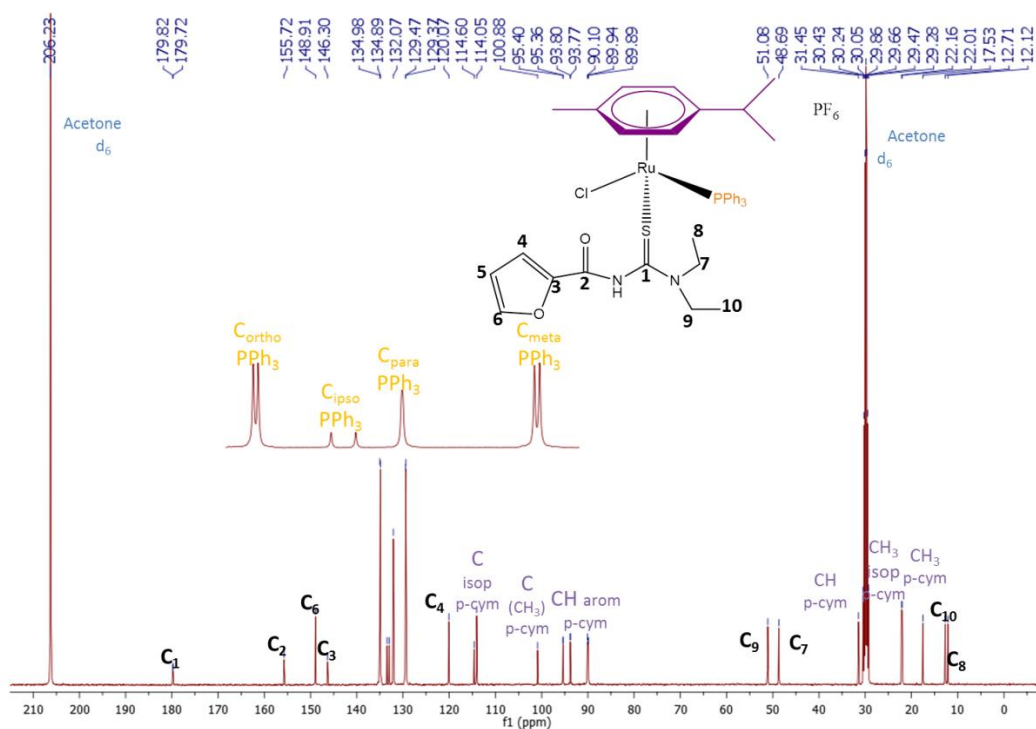


FIGURA 5.70- Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do complexo **4m** em acetona- $\text{d}_6$ .

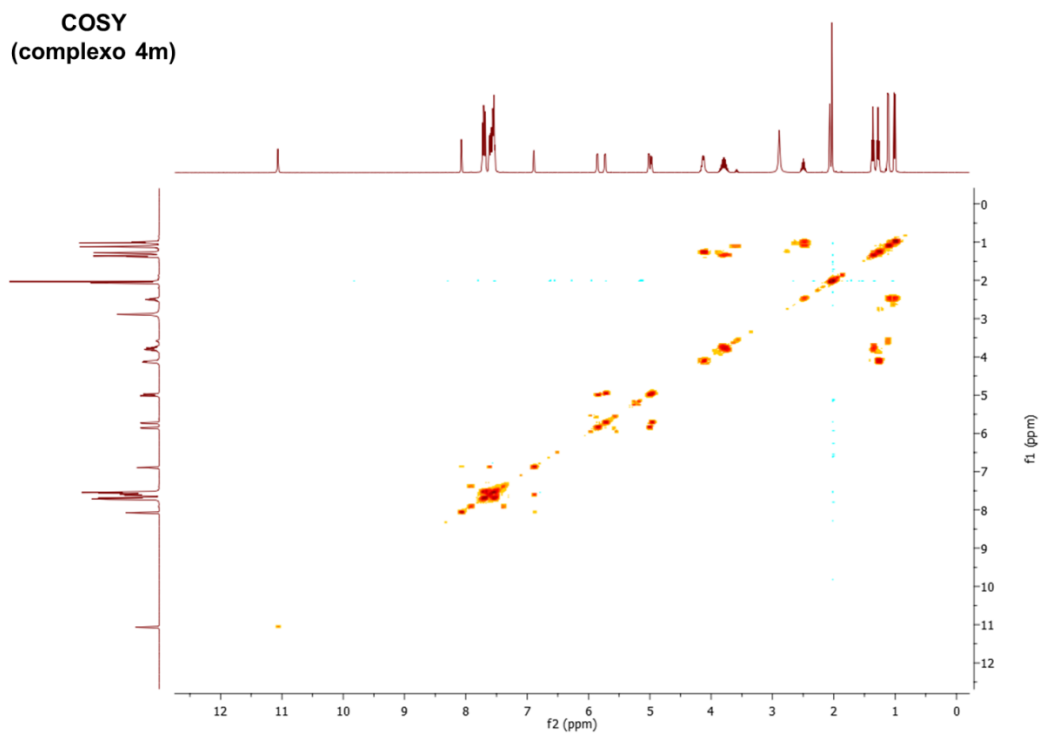


FIGURA 5.71- Espectro de RMN-COSY do complexo **4m** em acetona- $\text{d}_6$ .

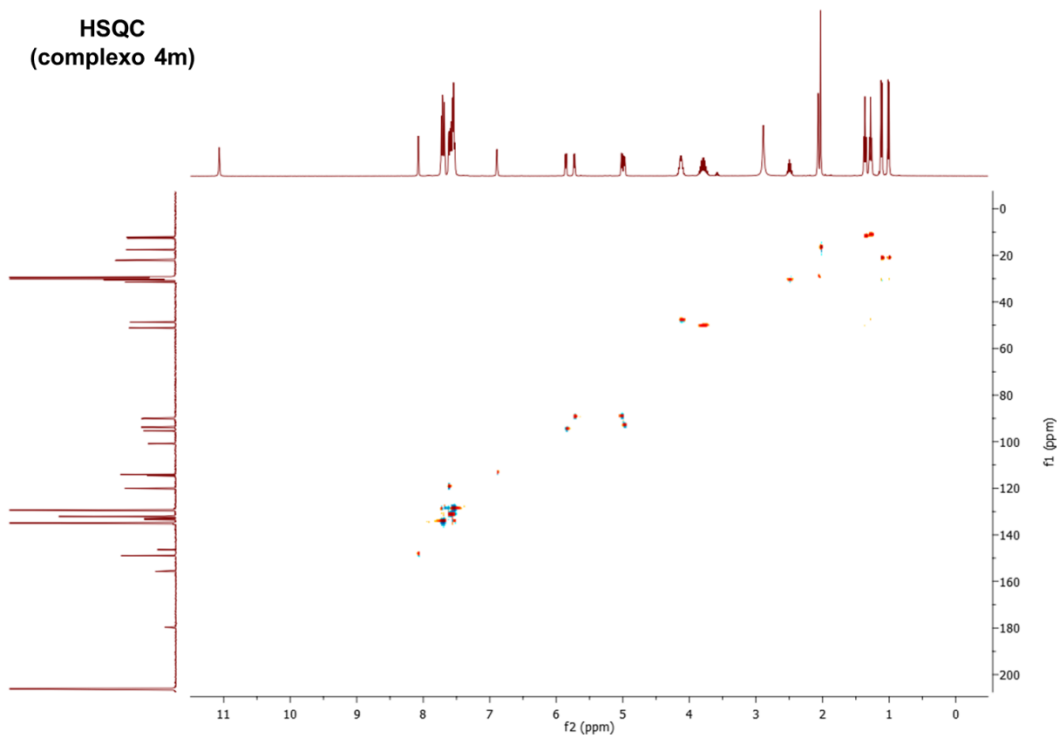


FIGURA 5.72- Espectro de RMN-HSQC do complexo **4m** em acetona-d<sub>6</sub>.

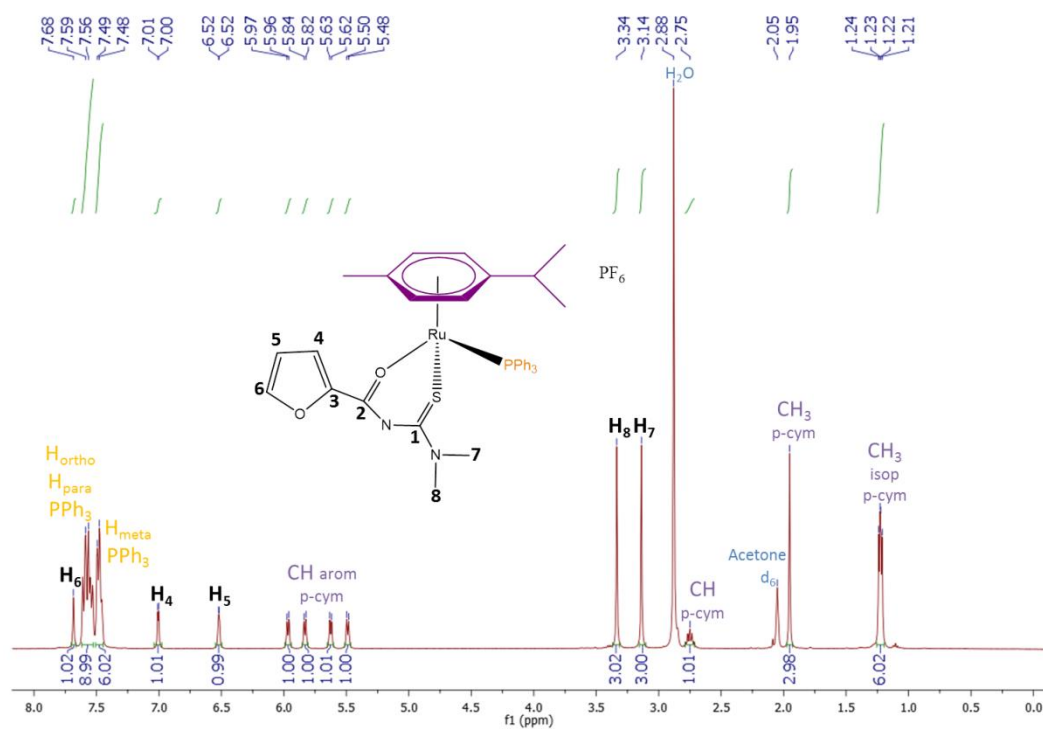


FIGURA 5.73- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo **3b** em acetona-d<sub>6</sub>.

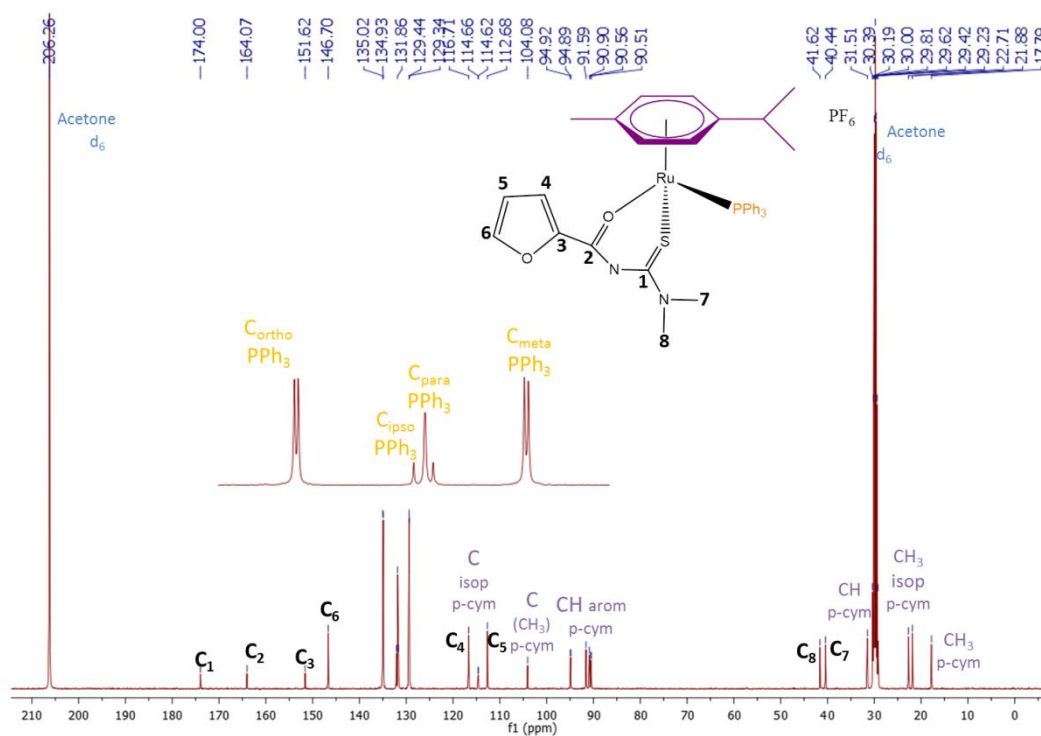


FIGURA 5.74- Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do complexo **3b** em acetona- $\text{d}_6$ .

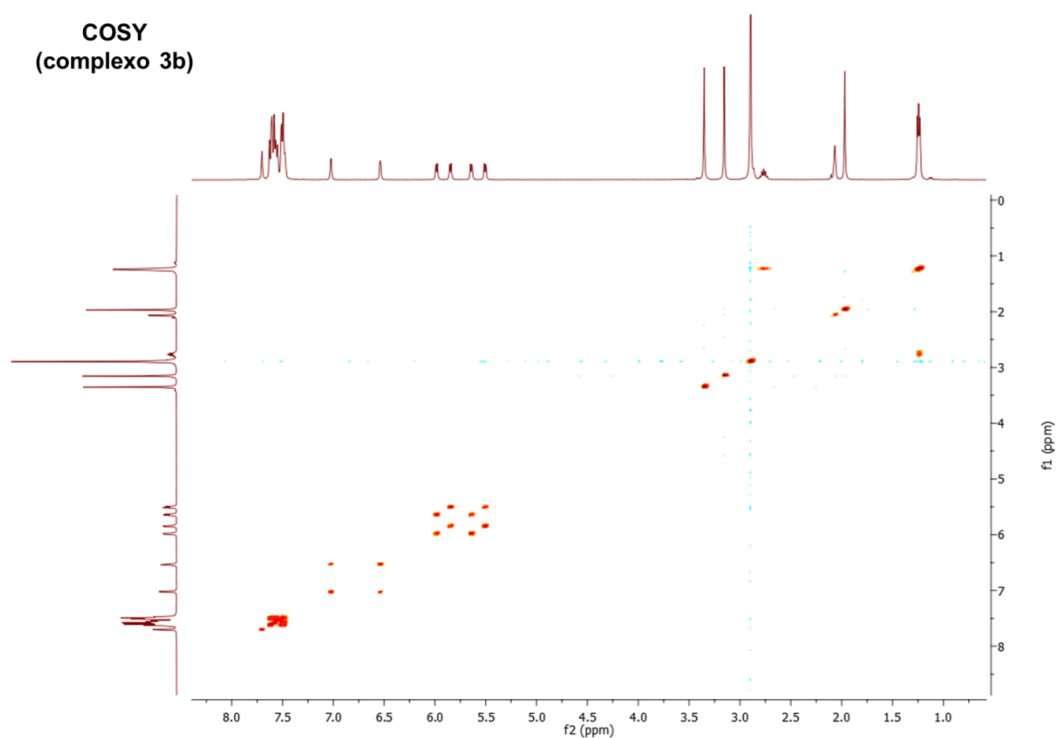
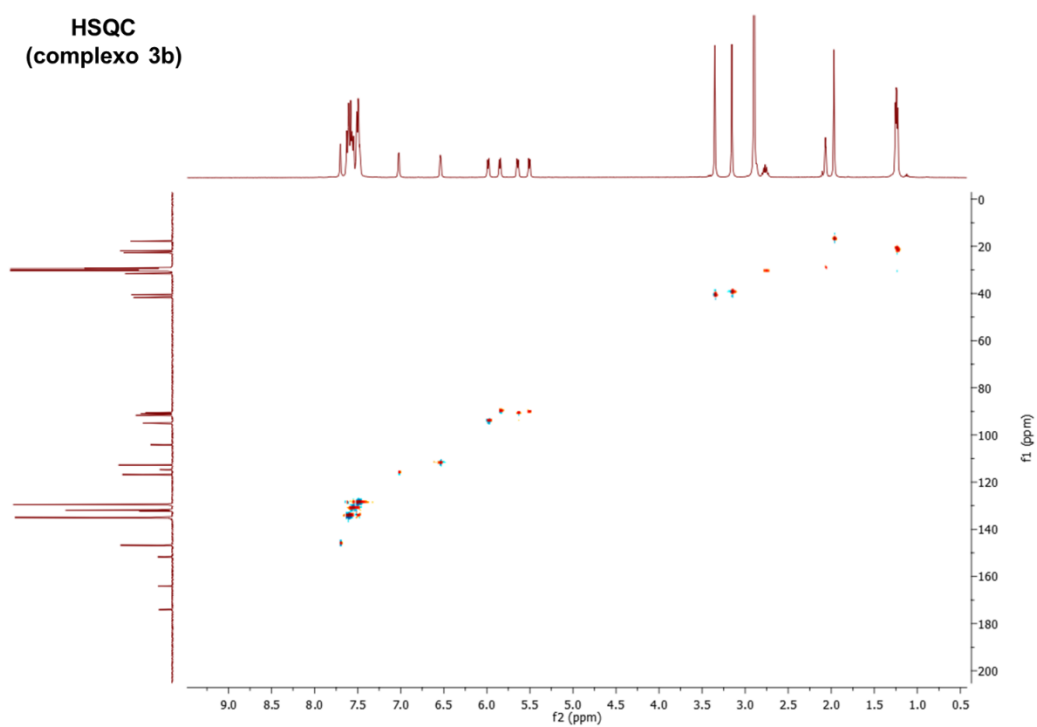
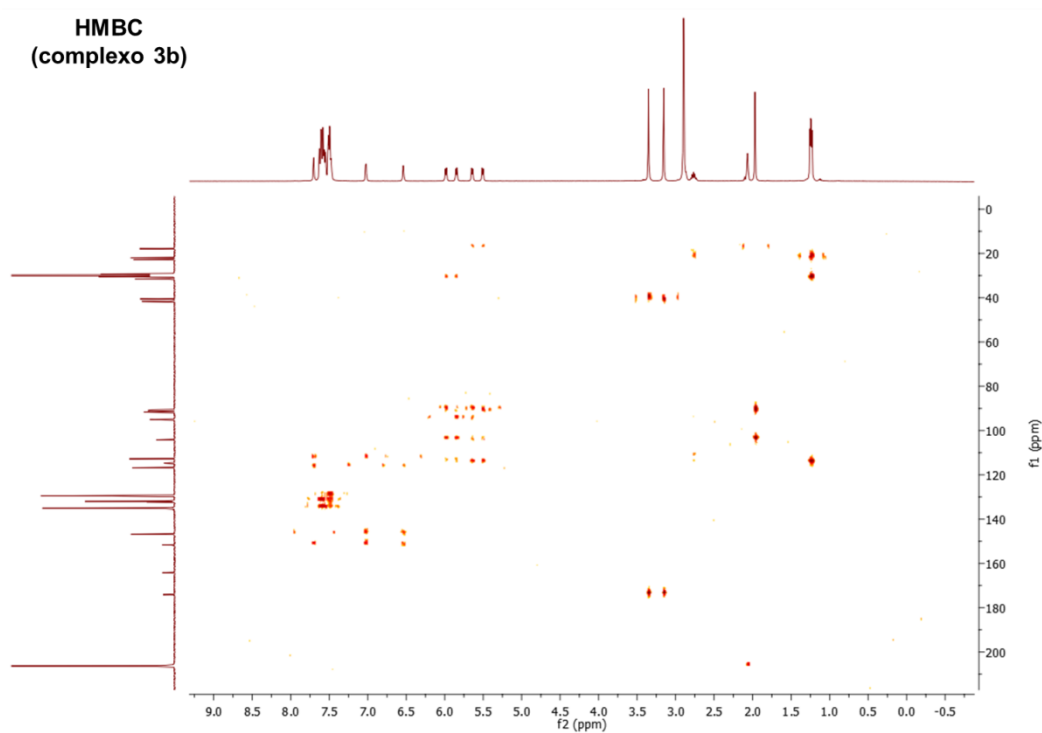


FIGURA 5.75- Espectro de RMN-COSY do complexo **3b** em acetona- $\text{d}_6$ .

FIGURA 5.76- Espectro de RMN-HSQC do complexo **3b** em acetona-d<sub>6</sub>.FIGURA 5.77- Espectro de RMN-HMBC do complexo **3b** em acetona-d<sub>6</sub>.

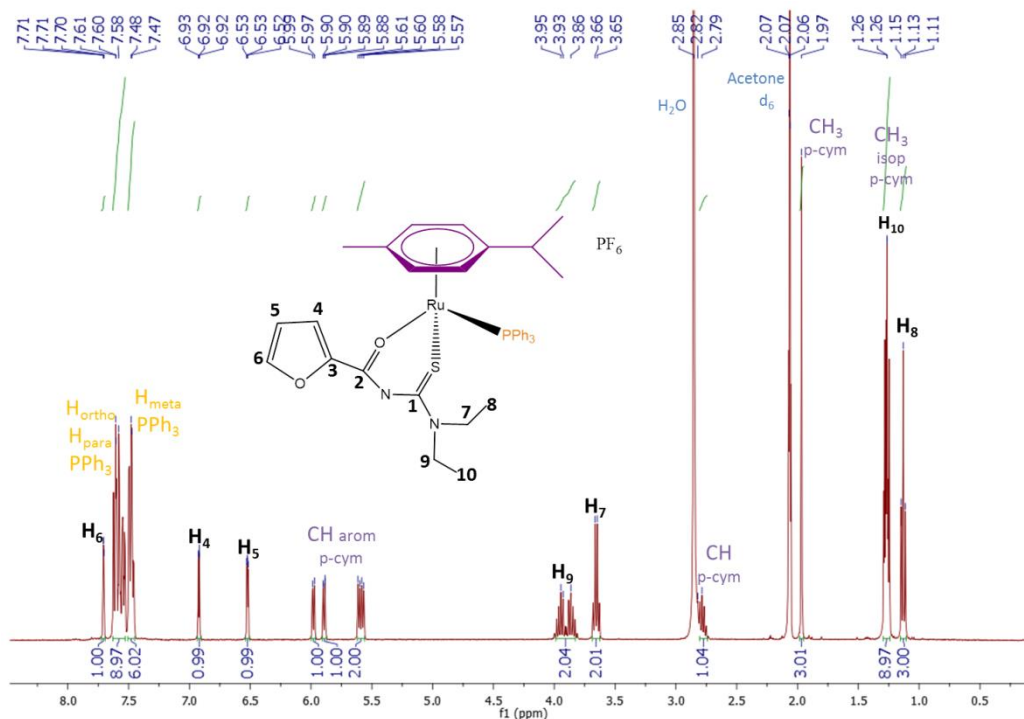


FIGURA 5.78- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo **4b** em acetona-d<sub>6</sub>.

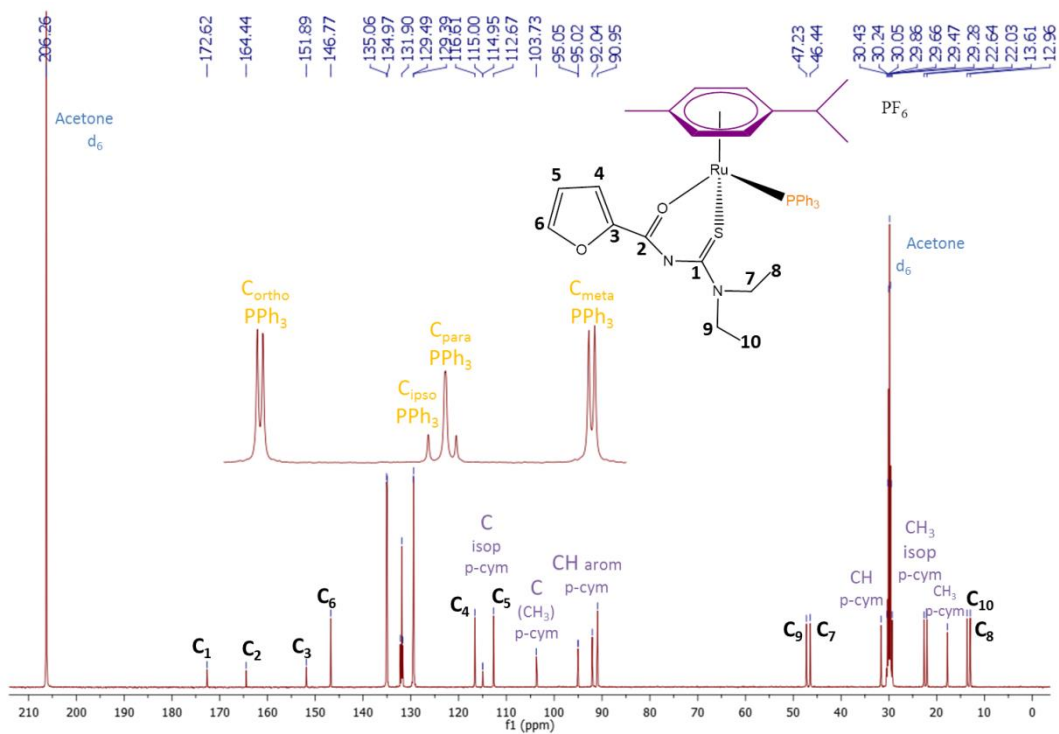
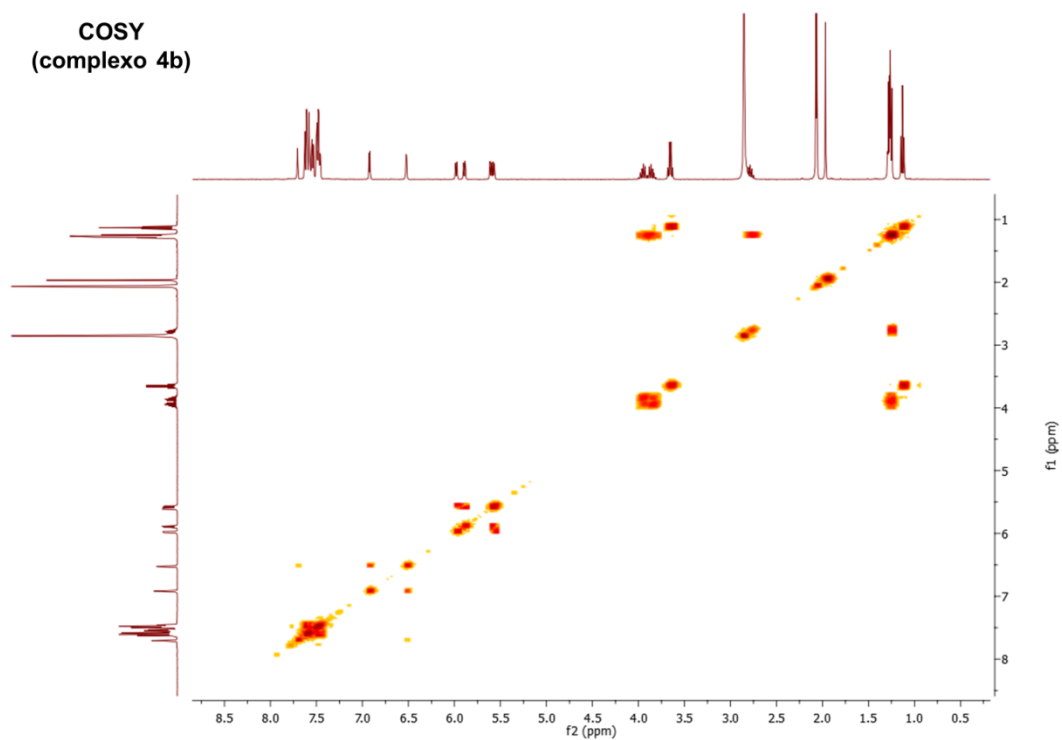
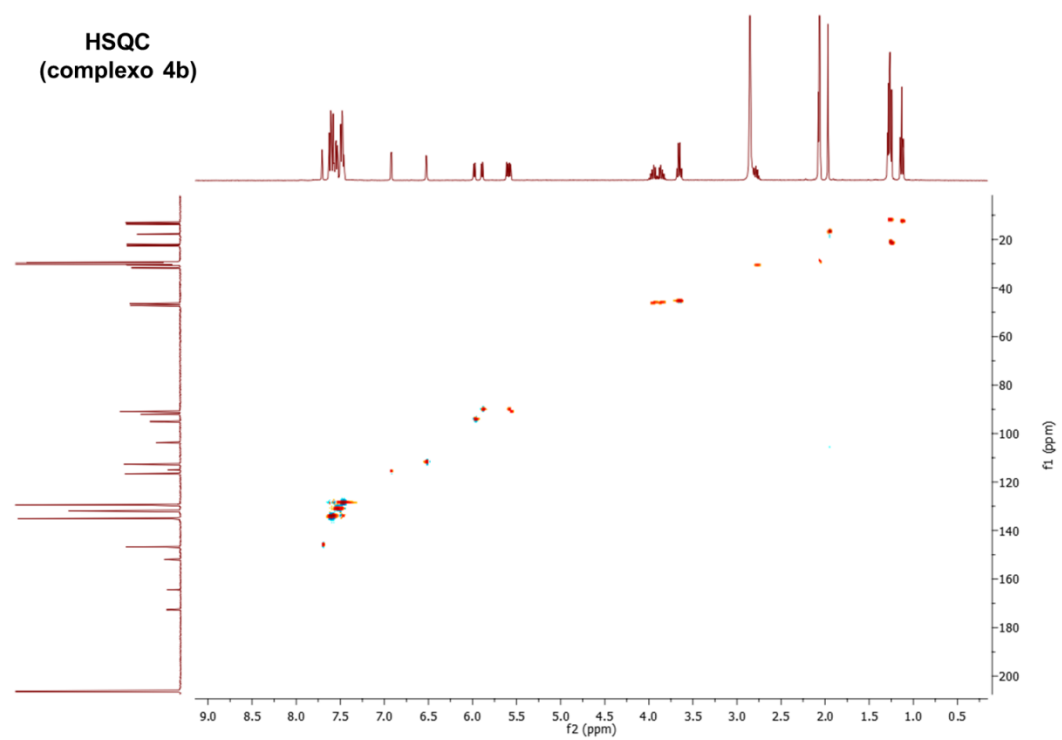


FIGURA 5.79- Espectro de RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} do complexo **4b** em acetona-d<sub>6</sub>.

FIGURA 5.80- Espectro de RMN-COSY do complexo **4b** em acetona- $d_6$ .FIGURA 5.81- Espectro de RMN-HSQC do complexo **4b** em acetona- $d_6$ .

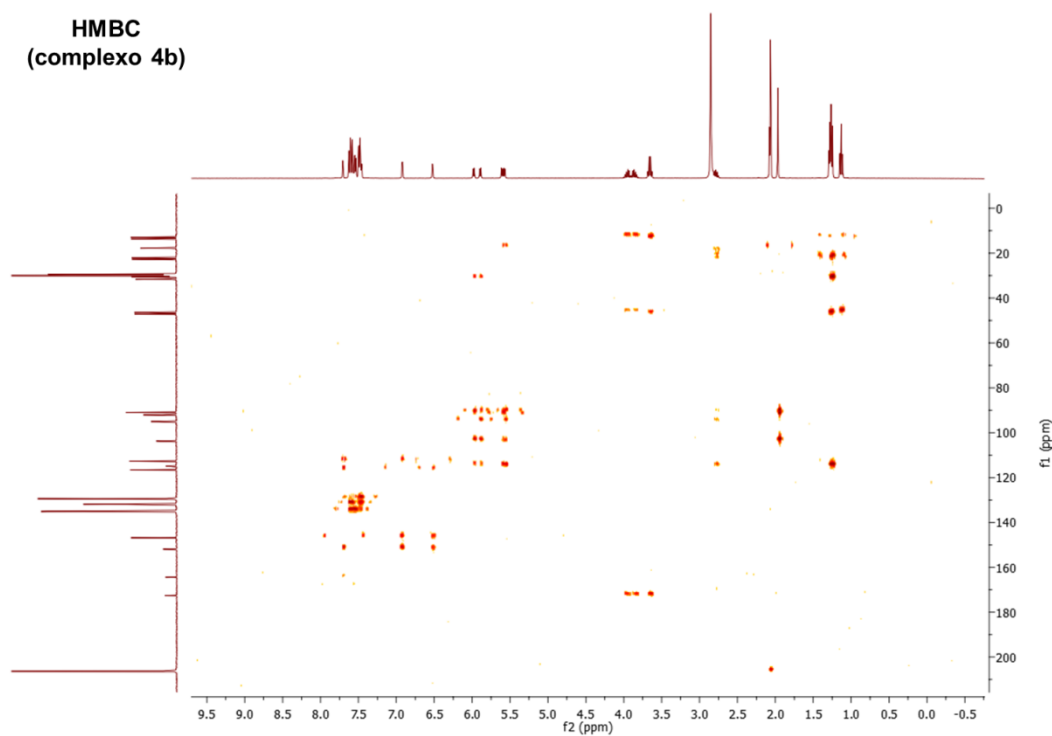


FIGURA 5.82- Espectro de RMN-HMBC do complexo **4b** em acetona-d<sub>6</sub>.

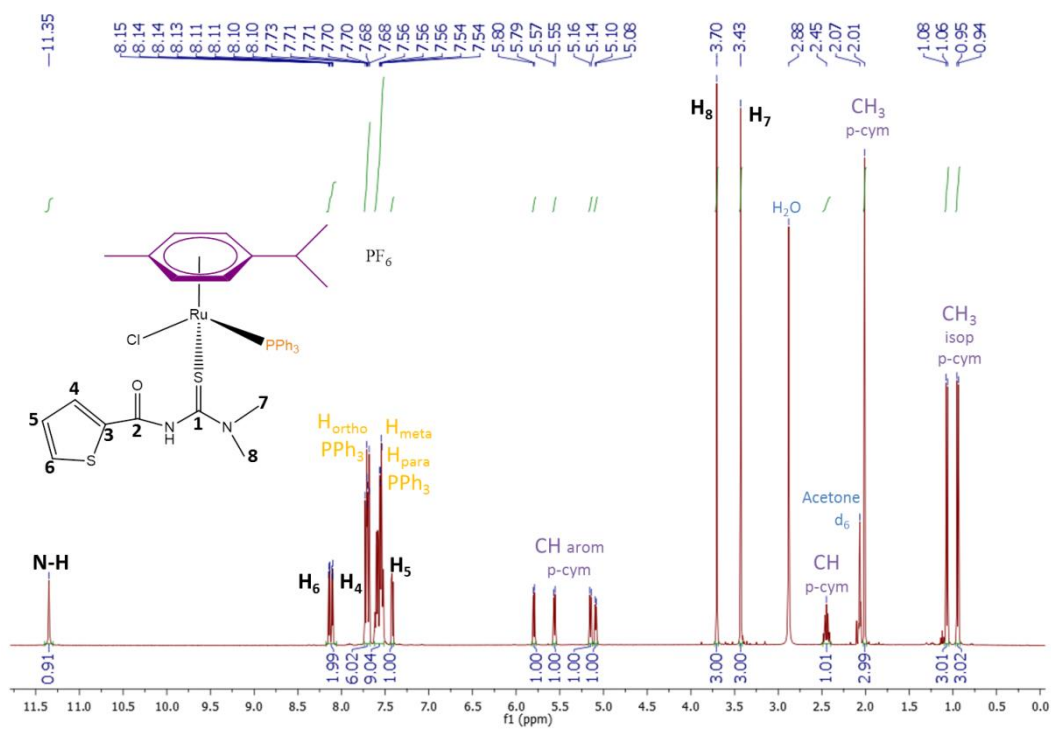


FIGURA 5.83- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo **5m** em acetona-d<sub>6</sub>.

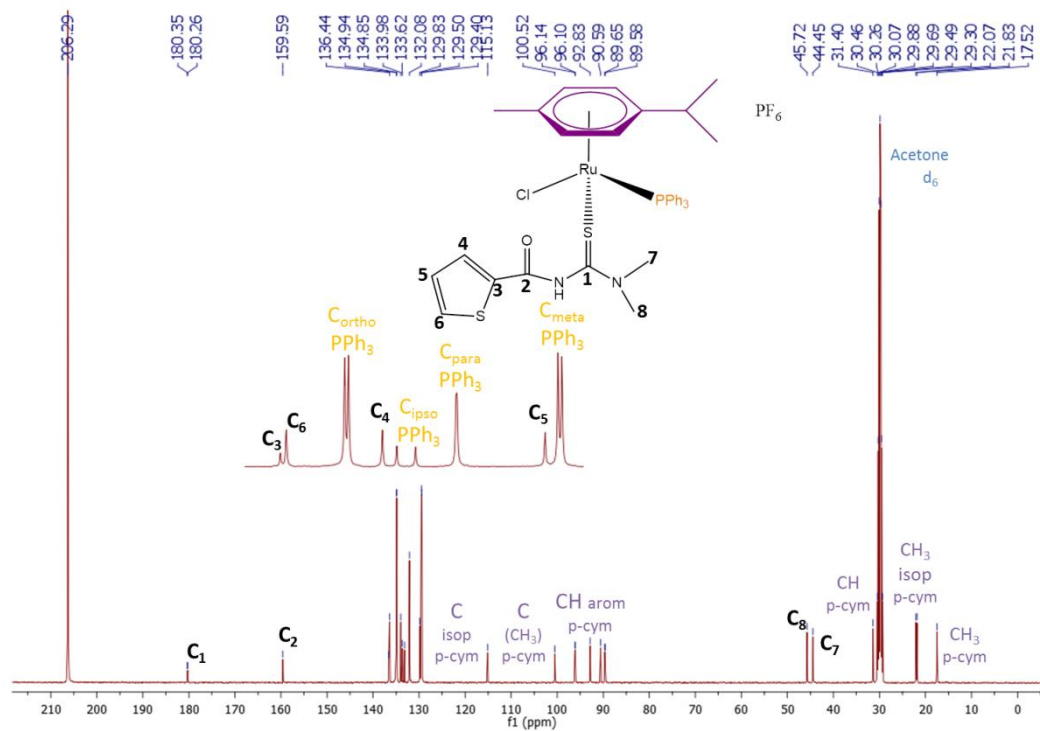


FIGURA 5.84- Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do complexo **5m** em acetona- $\text{d}_6$ .

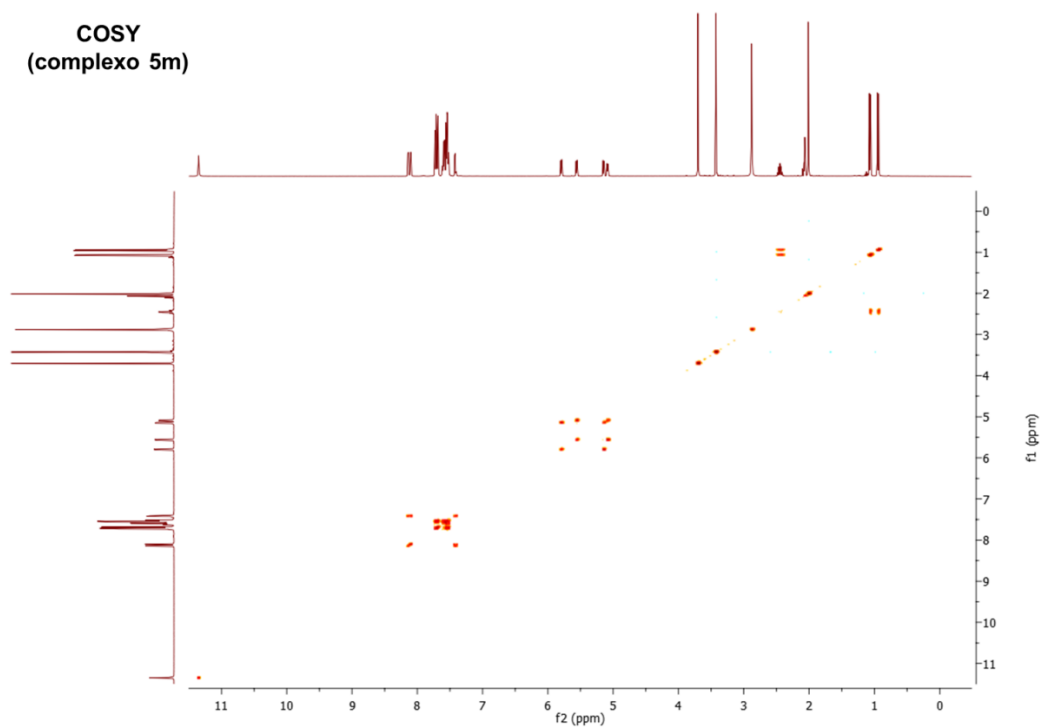
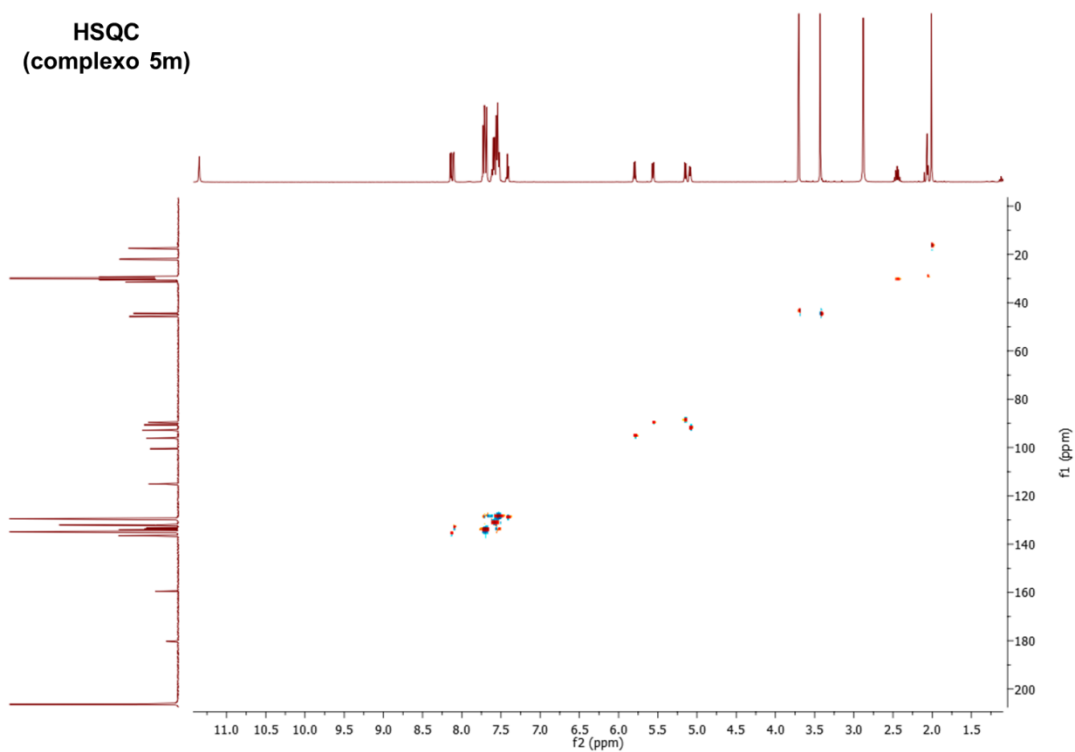
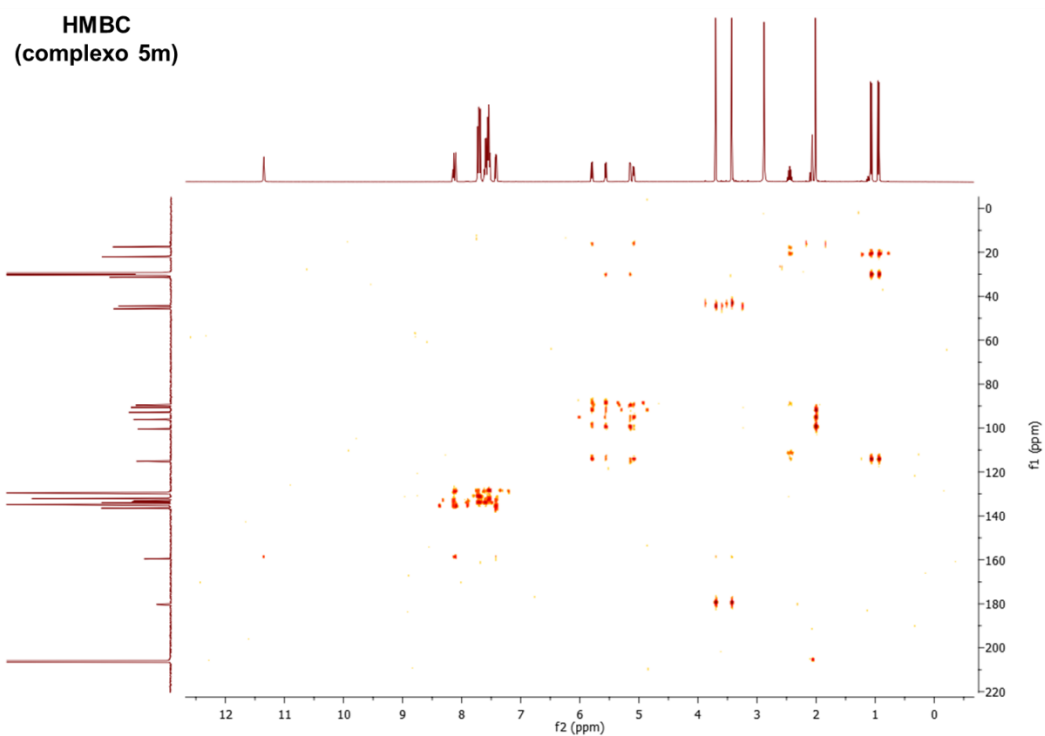


FIGURA 5.85- Espectro de RMN-COSY do complexo **5m** em acetona- $\text{d}_6$ .



FIGURA 5.86- Espectro de RMN-HSQC do complexo **5m** em acetona-d<sub>6</sub>.FIGURA 5.87- Espectro de RMN-HMBC do complexo **5m** em acetona-d<sub>6</sub>.

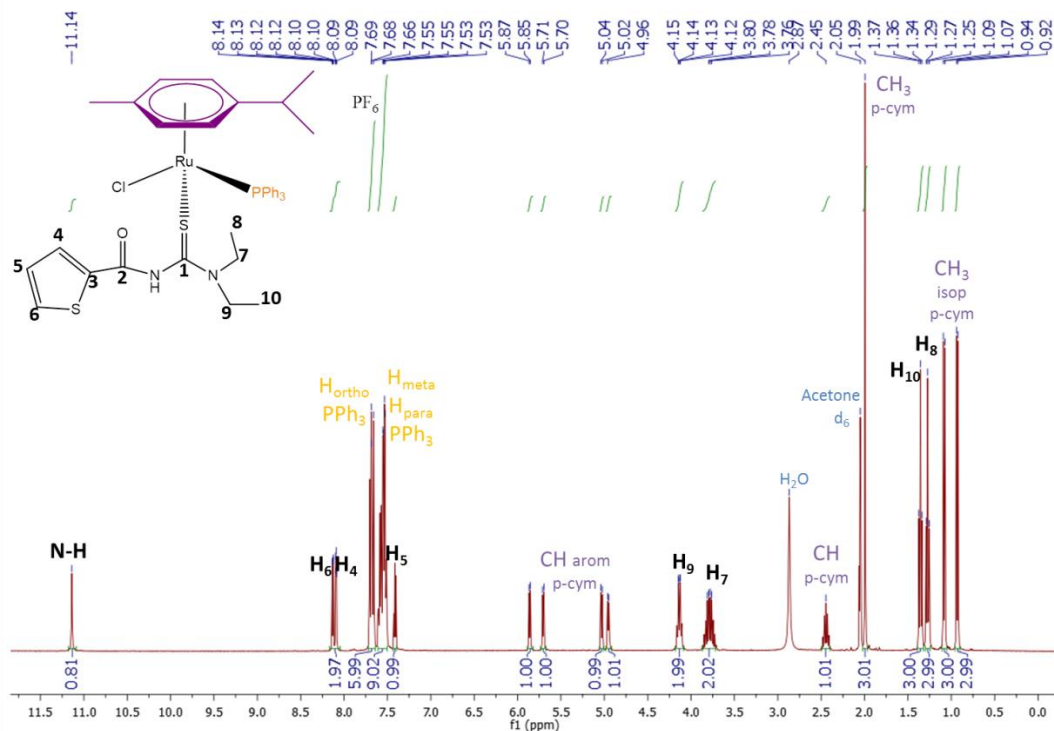


FIGURA 5.88- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo **6m** em acetona-d<sub>6</sub>.

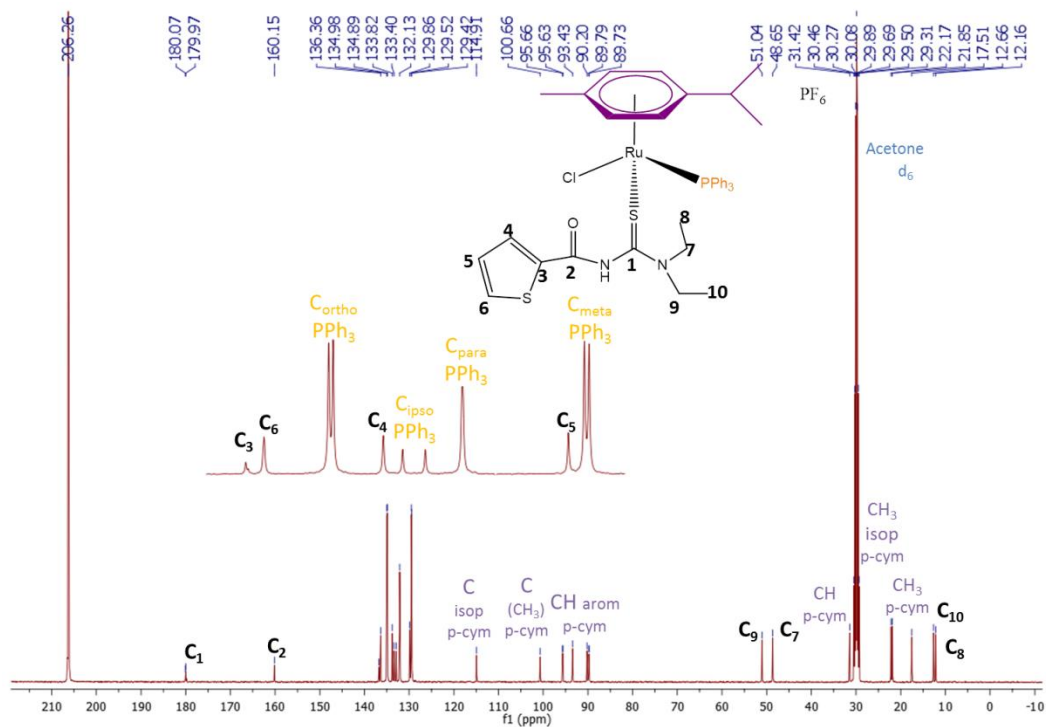
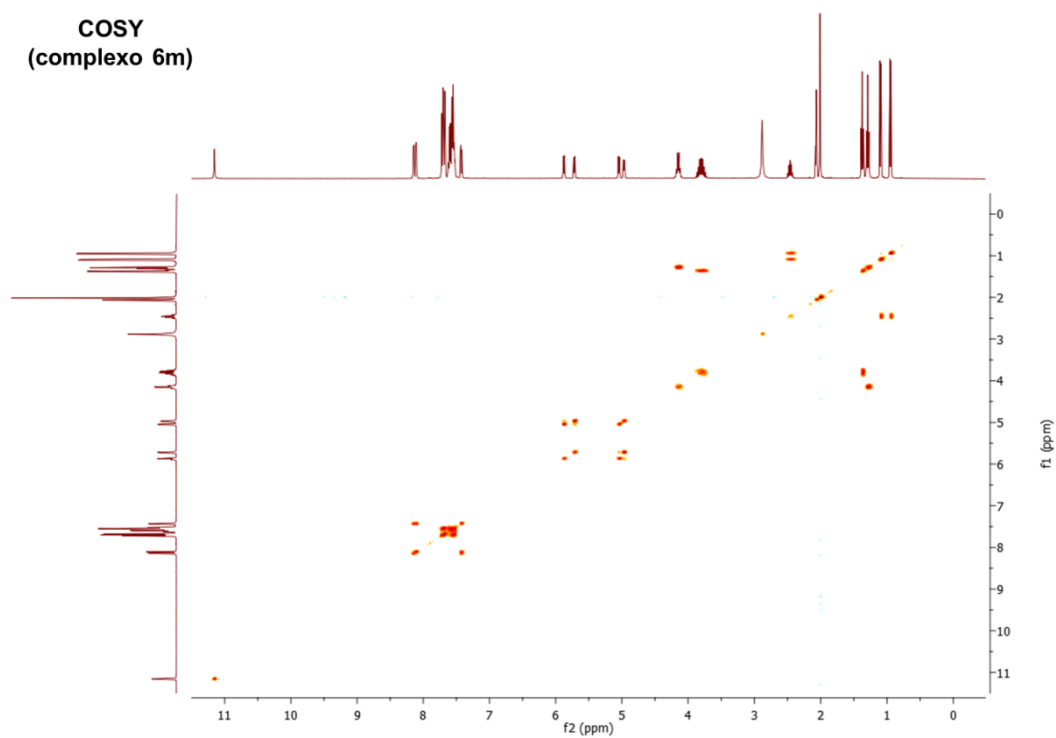
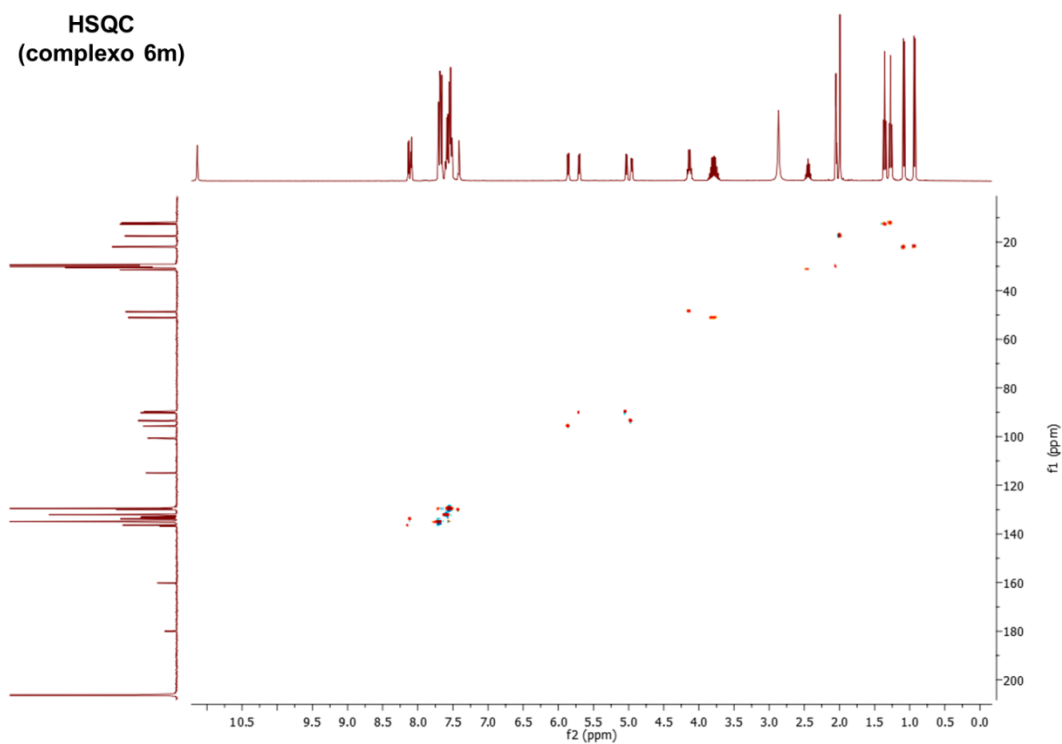


FIGURA 5.89- Espectro de RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} do complexo **6m** em acetona-d<sub>6</sub>.

FIGURA 5.90- Espectro de RMN-COSY do complexo **6m** em acetona-d<sub>6</sub>.FIGURA 5.91- Espectro de RMN-HSQC do complexo **6m** em acetona-d<sub>6</sub>.

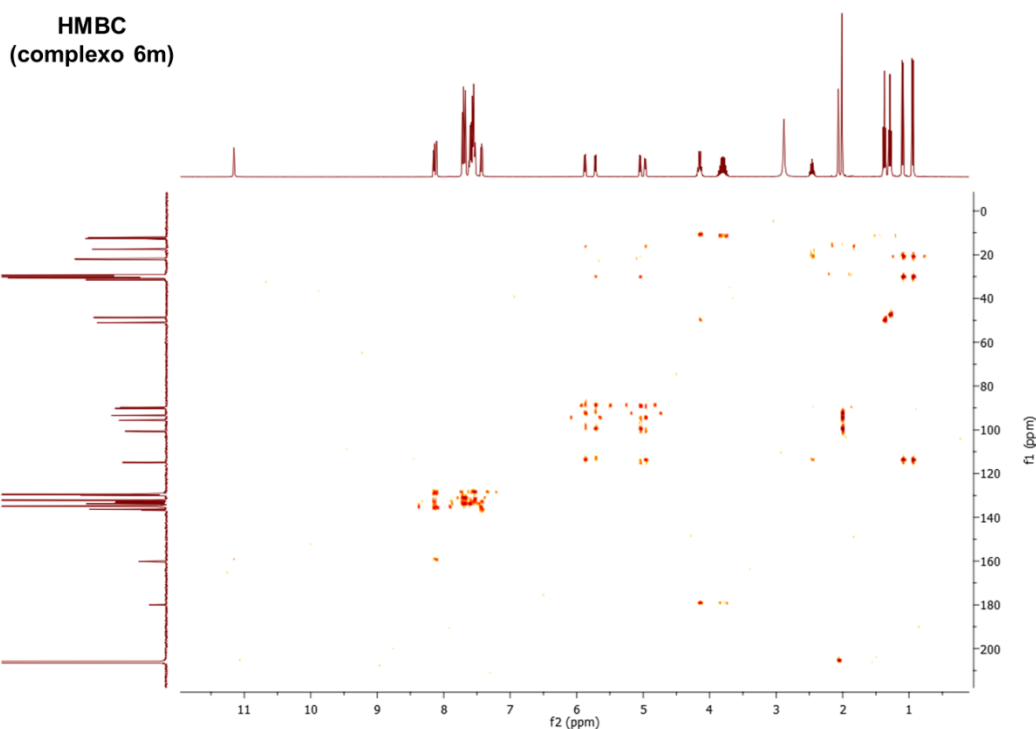


FIGURA 5.92- Espectro de RMN-HMBC do complexo **6m** em acetona-d<sub>6</sub>.

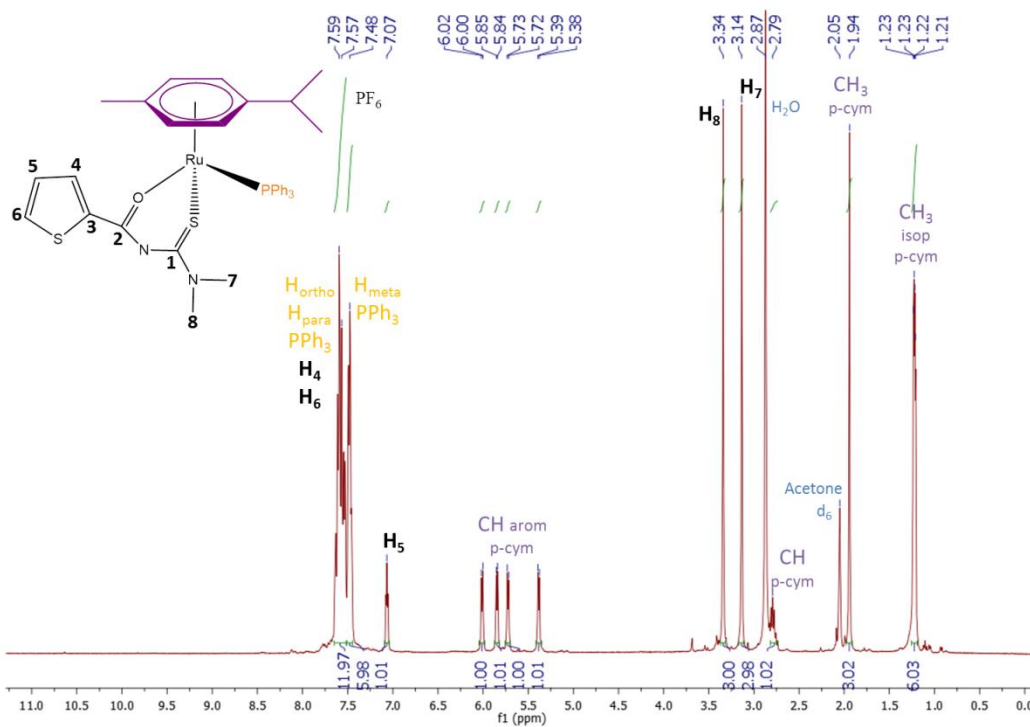


FIGURA 5.93- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo **5b** em acetona-d<sub>6</sub>.

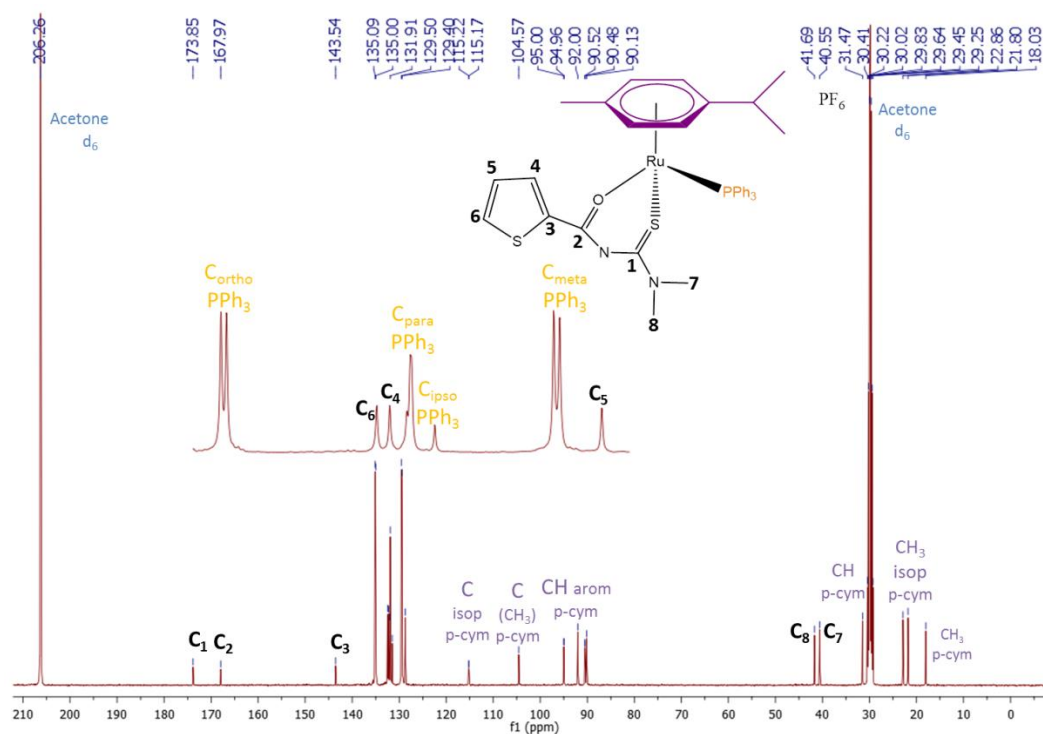


FIGURA 5.94- Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do complexo **5b** em acetona- $\text{d}_6$ .

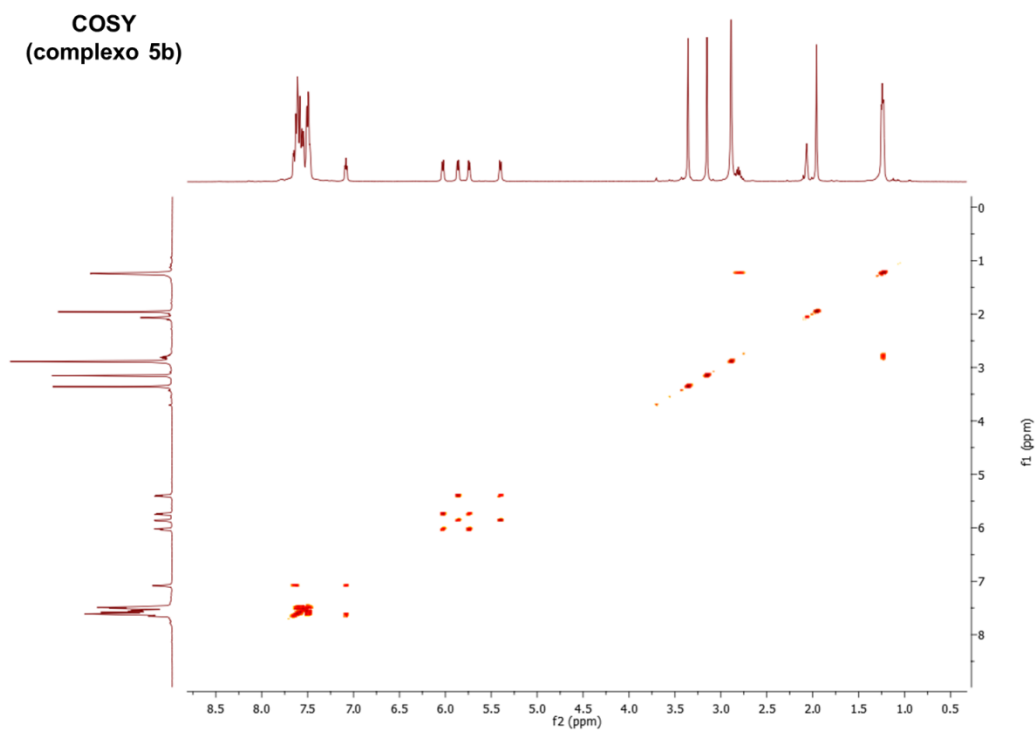


FIGURA 5.95- Espectro de RMN-COSY do complexo **5b** em acetona- $\text{d}_6$ .

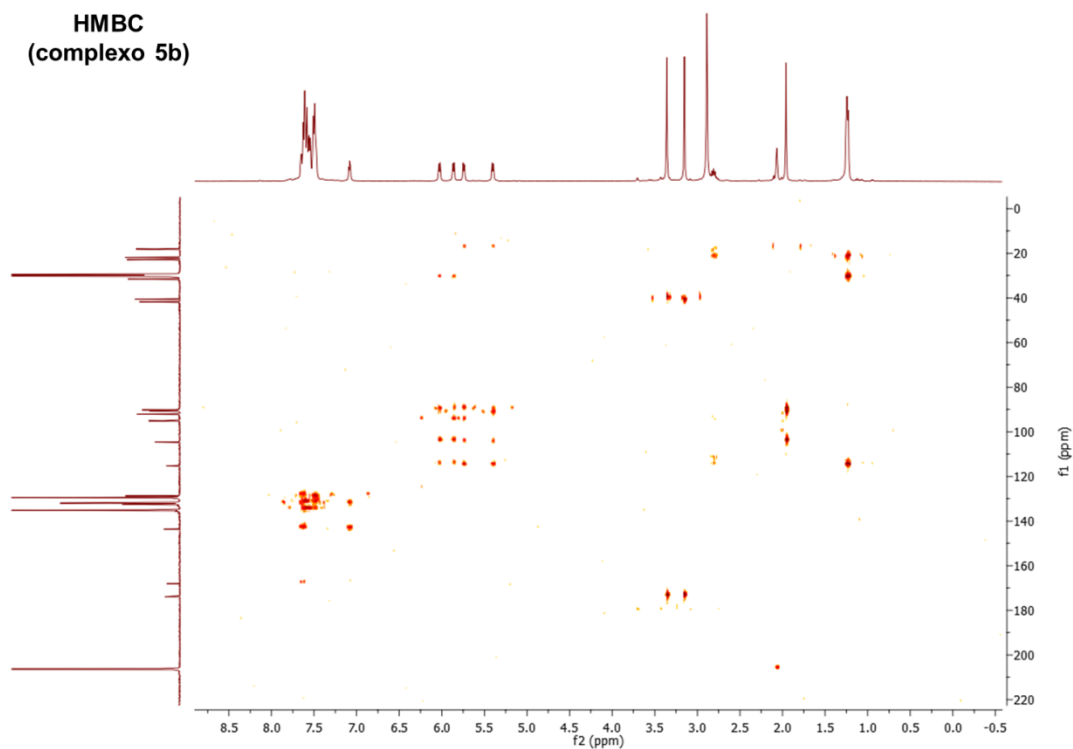


FIGURA 5.96- Espectro de RMN-HMBC do complexo **5b** em acetona-d<sub>6</sub>.

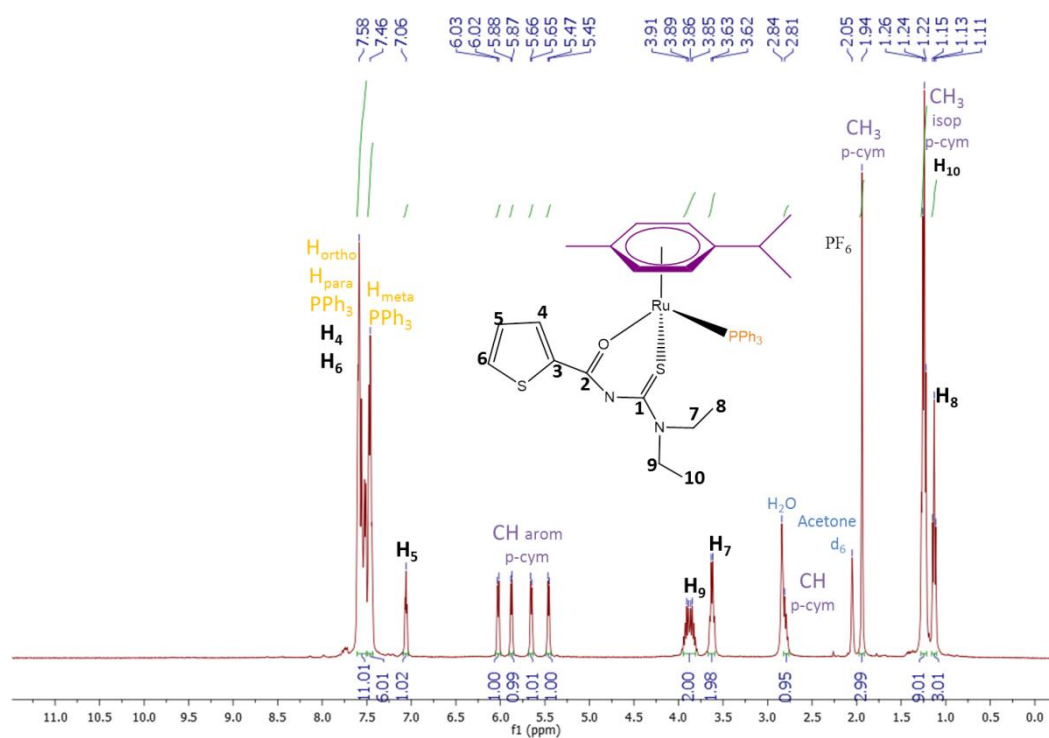


FIGURA 5.96- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo **6b** em acetona-d<sub>6</sub>.

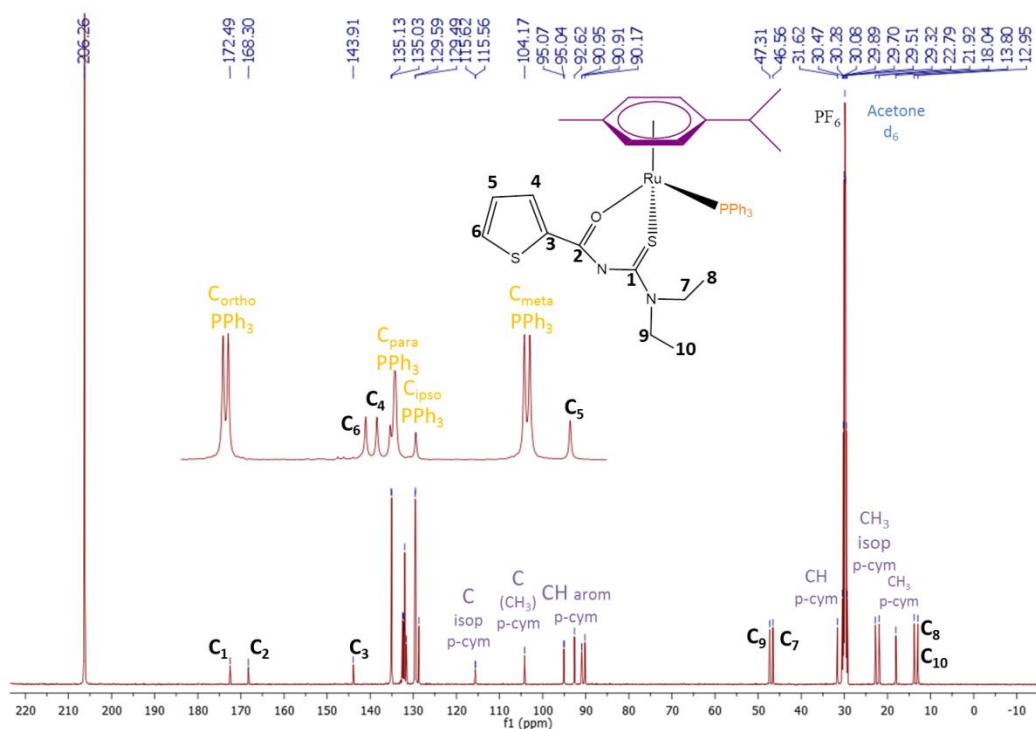


FIGURA 5.97- Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do complexo **6b** em acetona- $\text{d}_6$ .

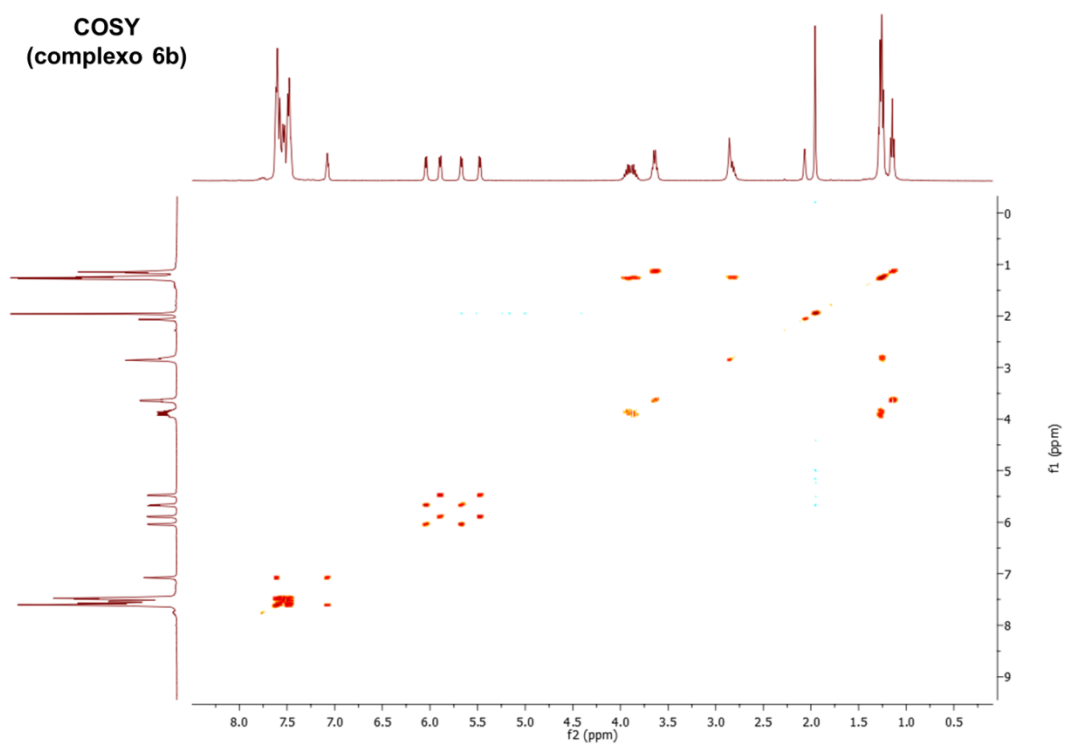
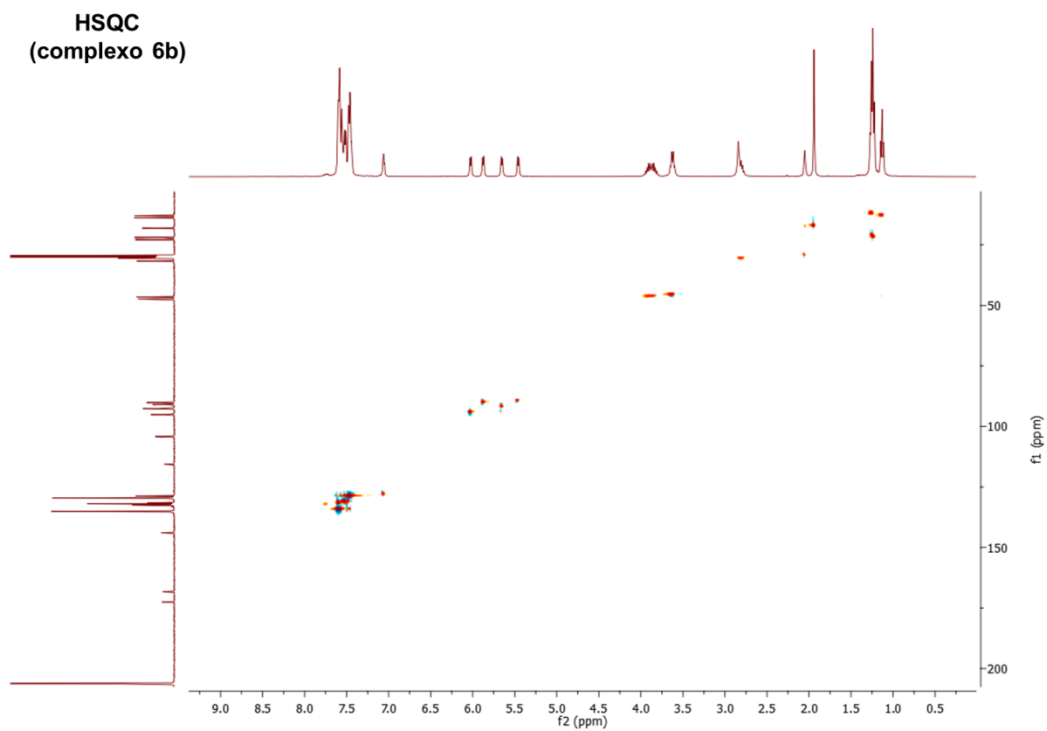
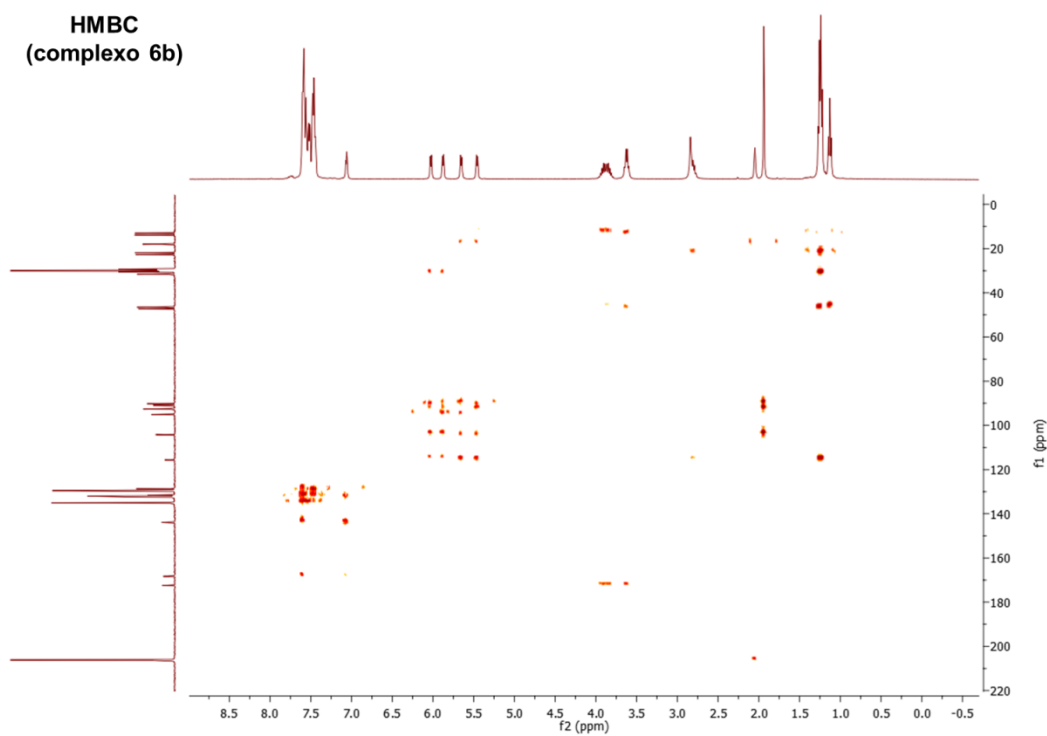


FIGURA 5.98- Espectro de RMN-COSY do complexo **6b** em acetona- $\text{d}_6$ .

FIGURA 5.99- Espectro de RMN-HSQC do complexo **6b** em acetona-d<sub>6</sub>.FIGURA 5.100- Espectro de RMN-HMBC do complexo **6b** em acetona-d<sub>6</sub>.



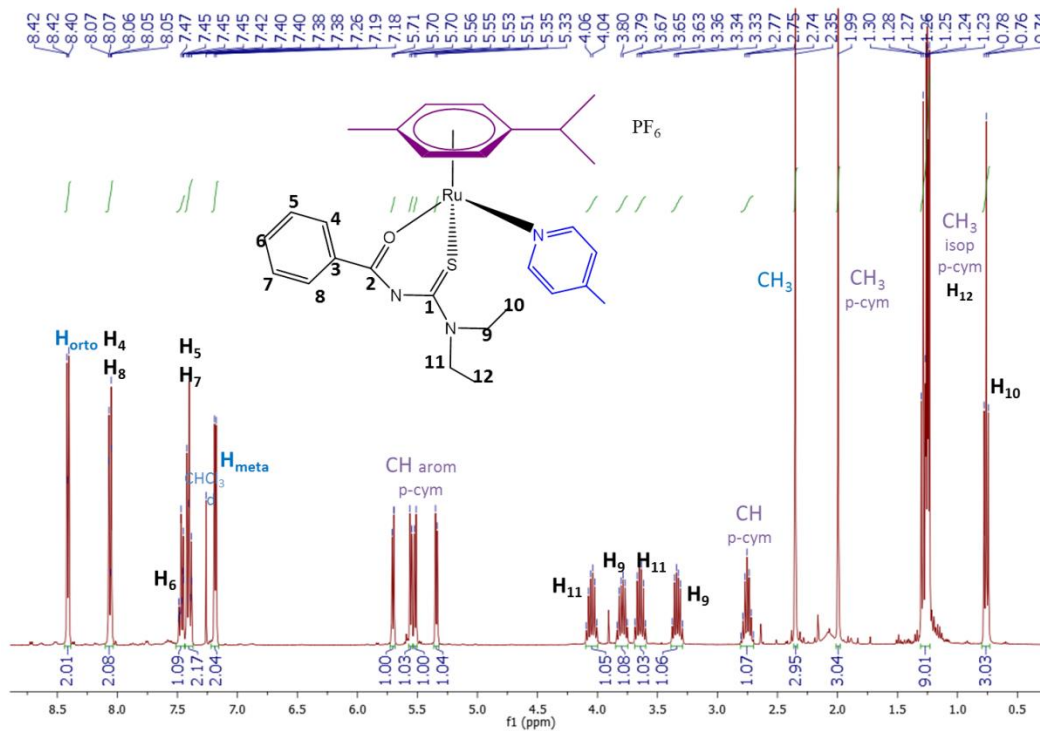


FIGURA 5.101- Espectro de RMN de <sup>1</sup>H do complexo **1c** em CHCl<sub>3</sub>-d.

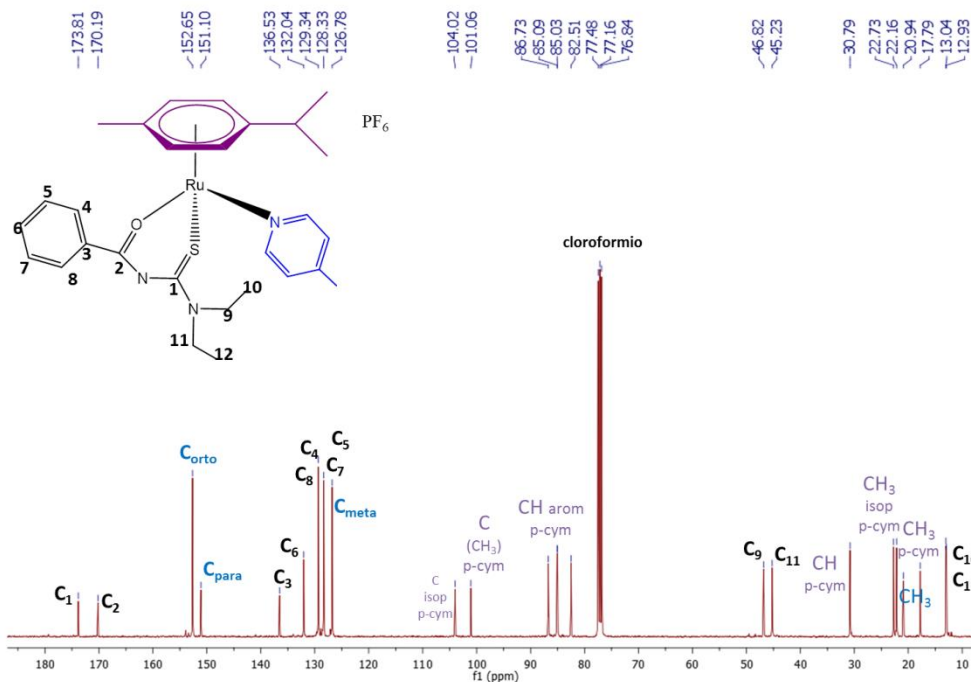
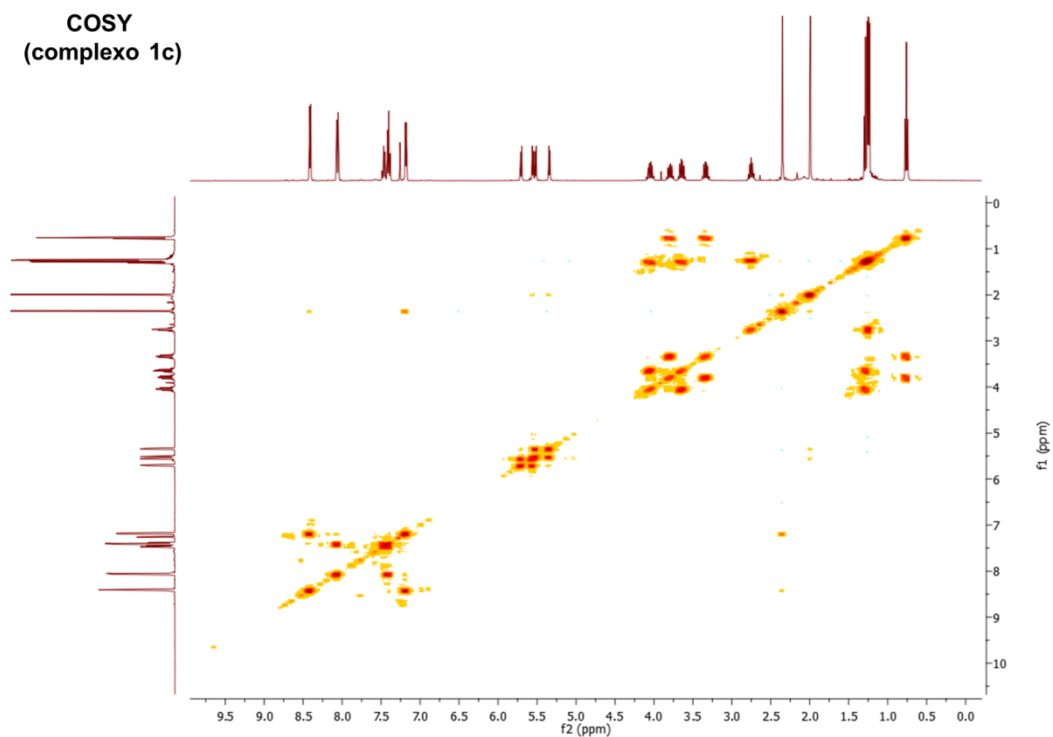
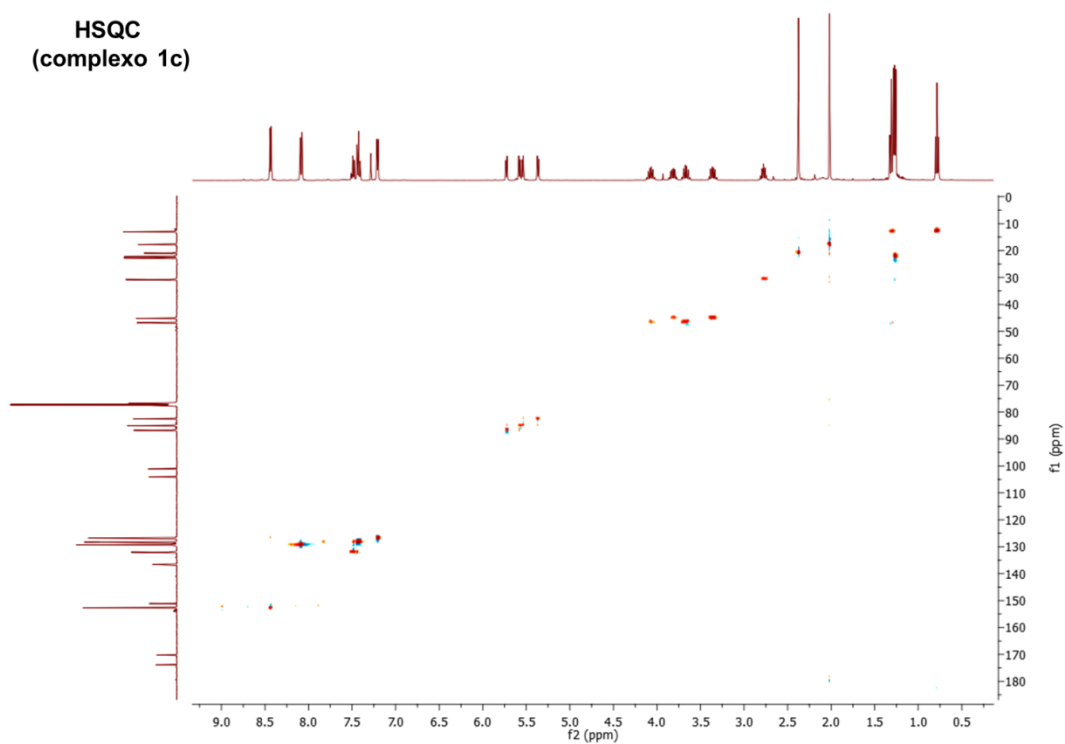
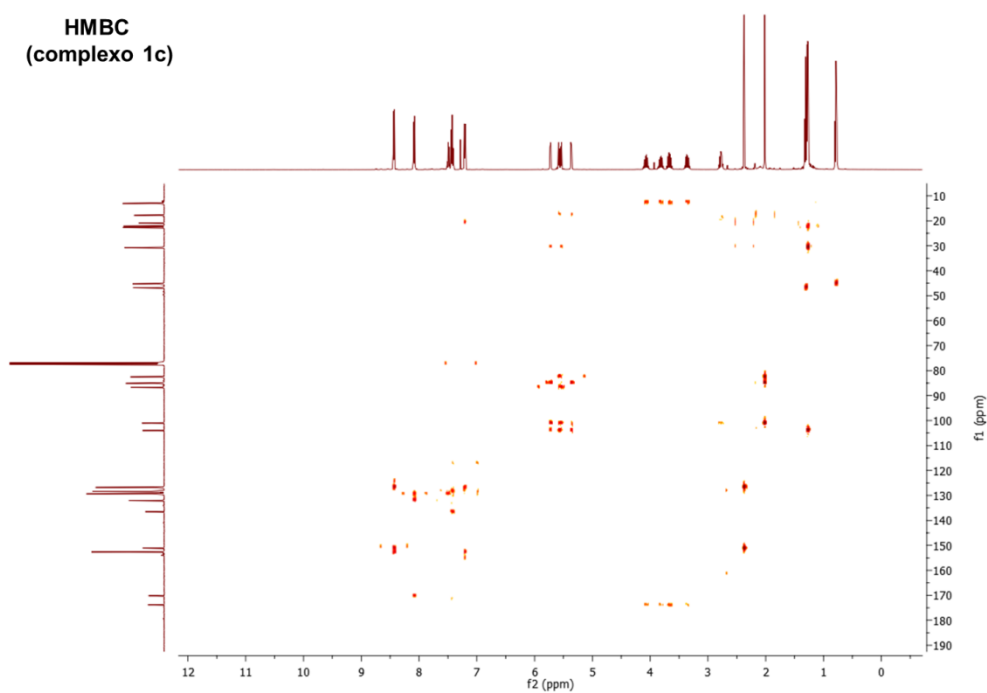
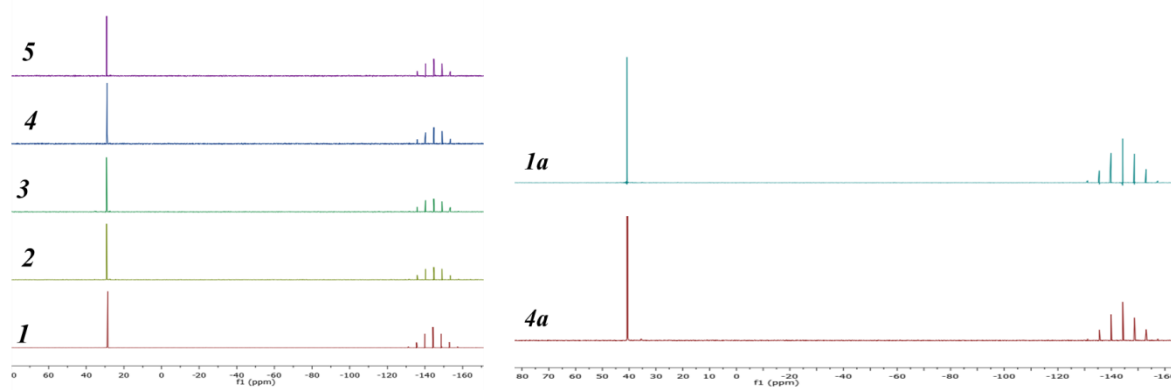


FIGURA 5.102- Espectro de RMN de <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} do complexo **1c** em CHCl<sub>3</sub>-d.

FIGURA 5.103- Espectro de RMN-COSY do complexo **1c** em CHCl<sub>3</sub>-d.FIGURA 5.104- Espectro de RMN-HSQC do complexo **1c** em CHCl<sub>3</sub>-d.

FIGURA 5.105- Espectro de RMN-HMBC do complexo **1c** em  $\text{CHCl}_3\text{-d}$ .FIGURA 5.106- Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  dos complexos da série 1 em acetona-capilar de  $\text{D}_2\text{O}$ .

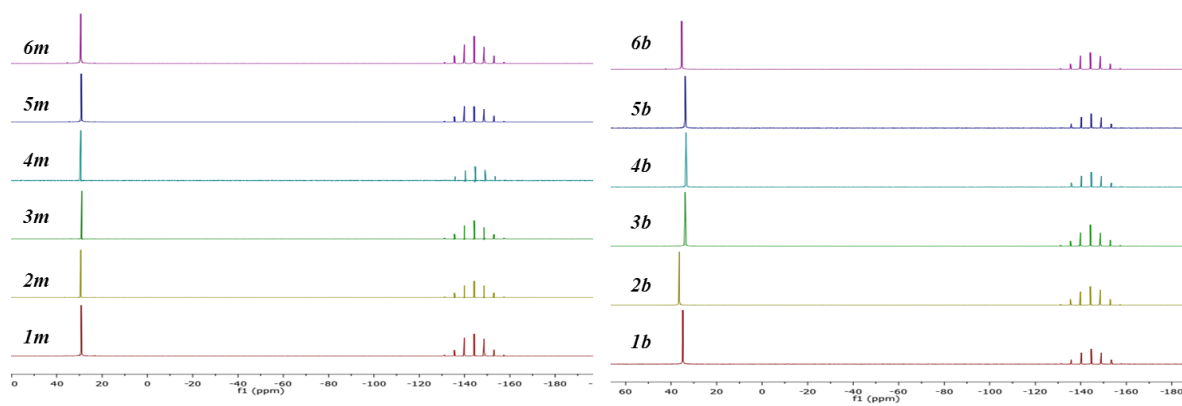


FIGURA 5.107- Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  dos complexo da série 2 em acetona-capilar de  $\text{D}_2\text{O}$ .

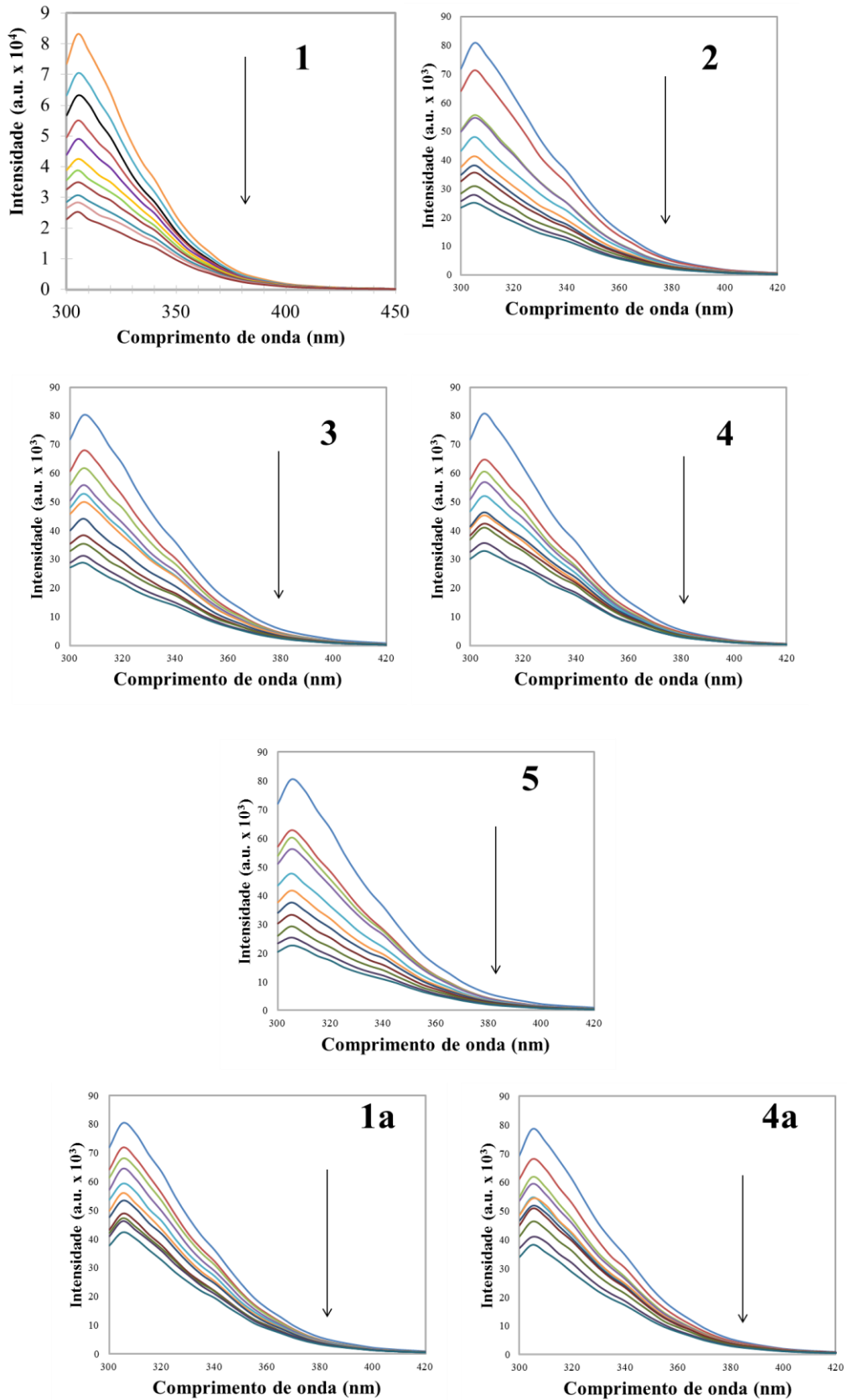


FIGURA 5.108- Espectro da supressão da fluorescência da HSA em diferentes concentrações dos complexos (0-50  $\mu$ M) da série 1 à 37°C.

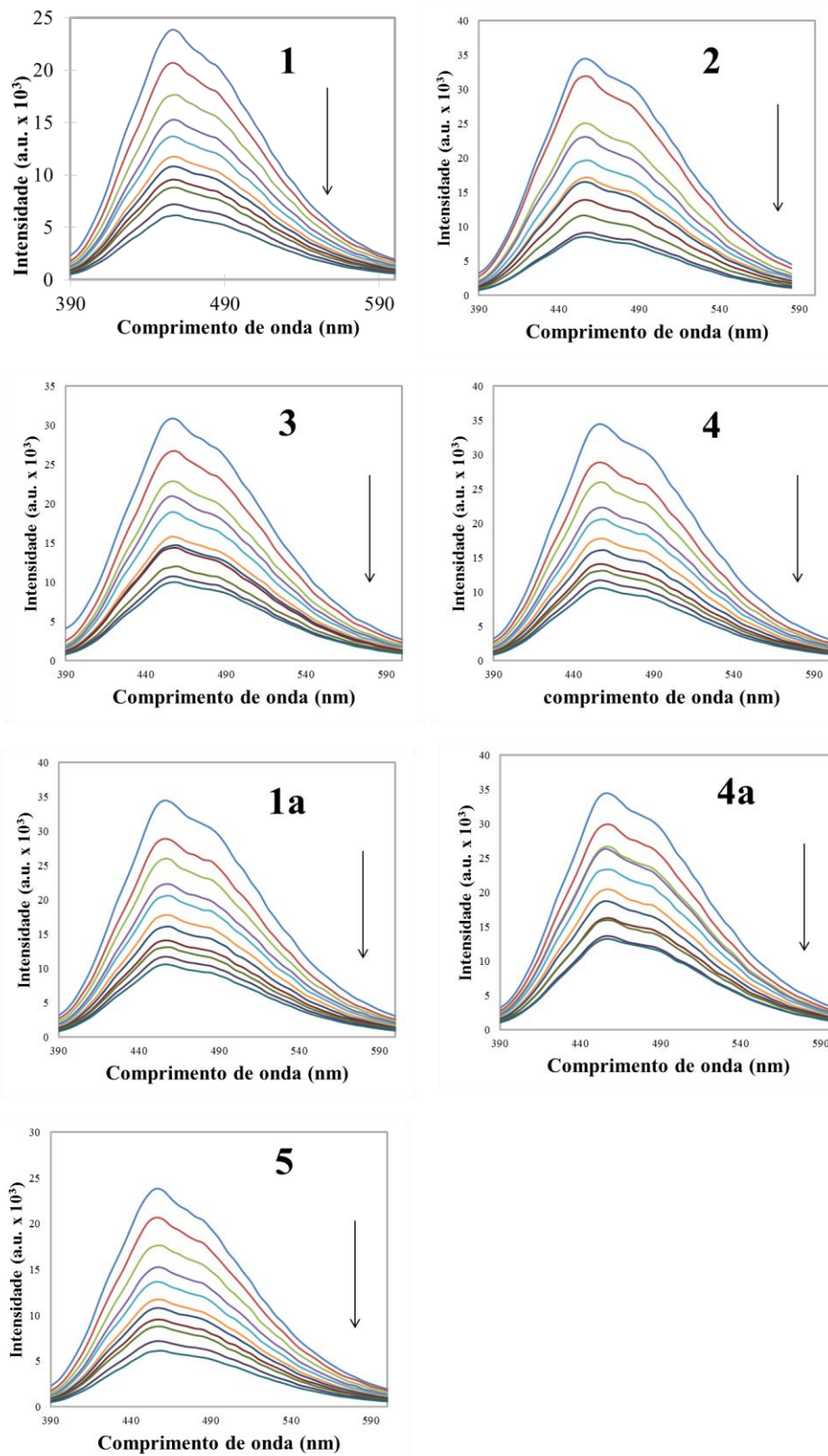


FIGURA 5.109- Espectro da supressão do Hoechst 33258-DNA em diferentes concentrações dos complexos **1-5**, **1a** e **4a** (0-50 μM).

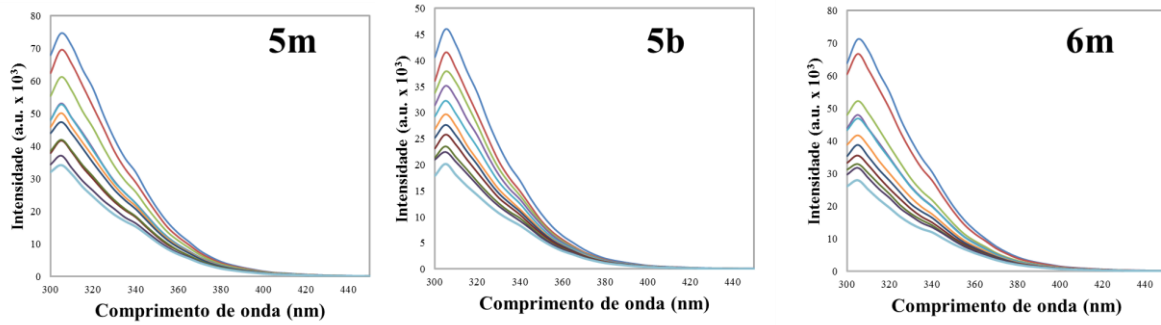
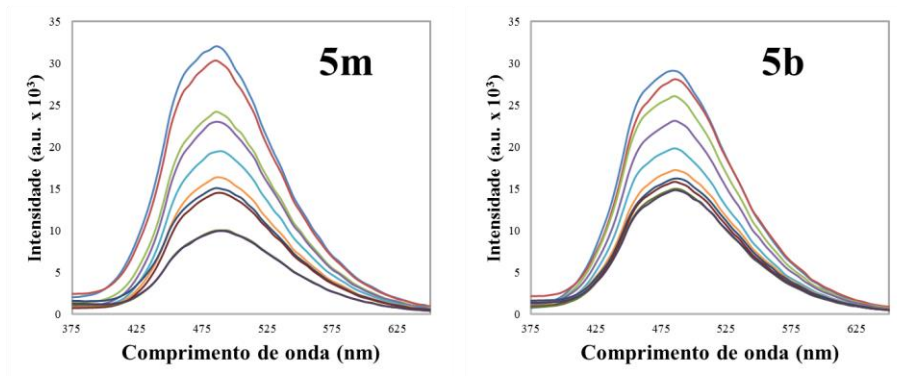


FIGURA 5.110- Espectro da supressão da fluorescência da HSA em diferentes concentrações dos complexos (0-50  $\mu\text{M}$ ) **5m**, **6m**, e **5b** à 37°C.

### Hoechst



### TO

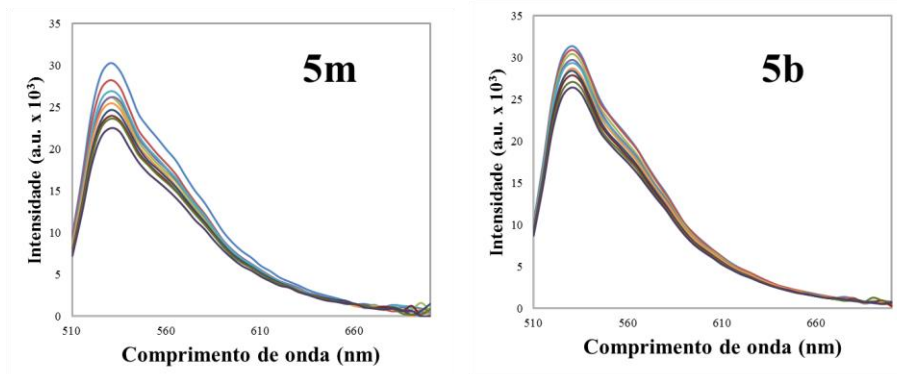


FIGURA 5.111- Espectro da supressão do sistema Hoechst-DNA ou TO-DNA em diferentes concentrações dos complexos **5m** e **5b** (0-50  $\mu\text{M}$ ).

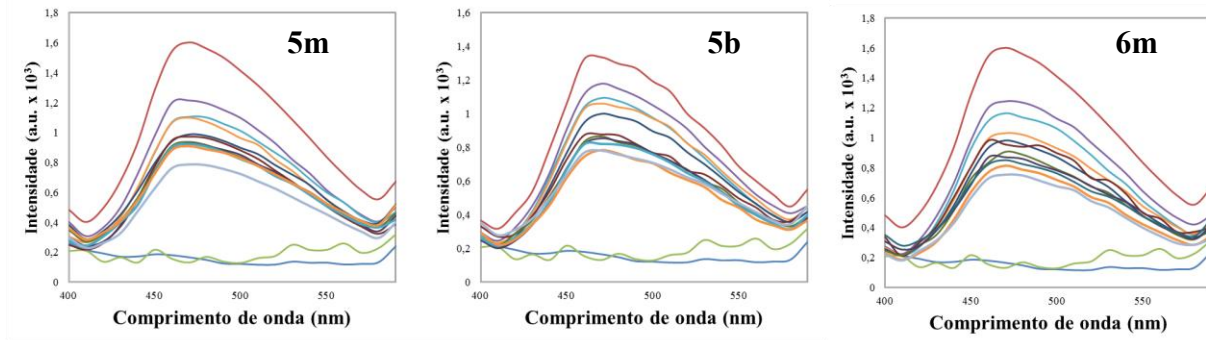


FIGURA 5.112- Espectro da supressão da fluorescência do sistema dansilglicina-HSA em diferentes concentrações dos complexos **5m**, **6m** e **5b** (0-50  $\mu$ M).

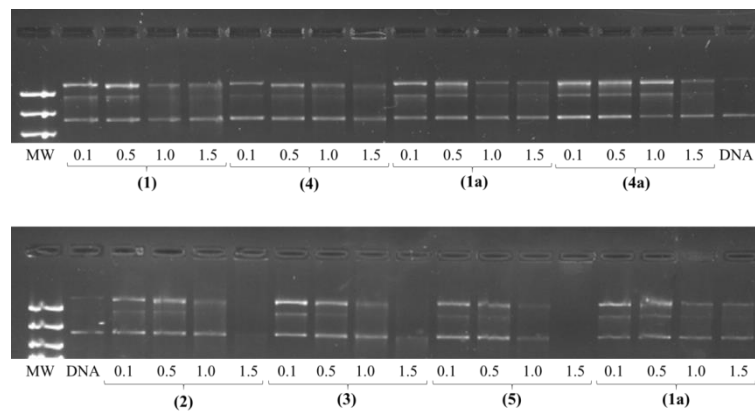


FIGURA 5.113- Efeito da concentração dos complexos da série 1 na eletroforese do plasmídeo pBR322 em diferentes Ri (0.1, 0.5, 1.0 e 1.5). Marcador de peso molecular (MW) e DNA em DMSO (DNA).

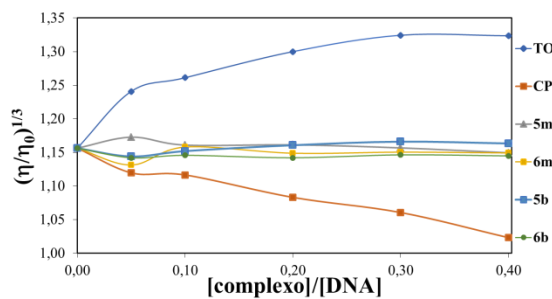


FIGURA 5.114- Efeito da concentração dos complexos **5m**, **6m**, **5b**, **6b**, cisplatina e TO na viscosidade relativa do DNA a 25°C.



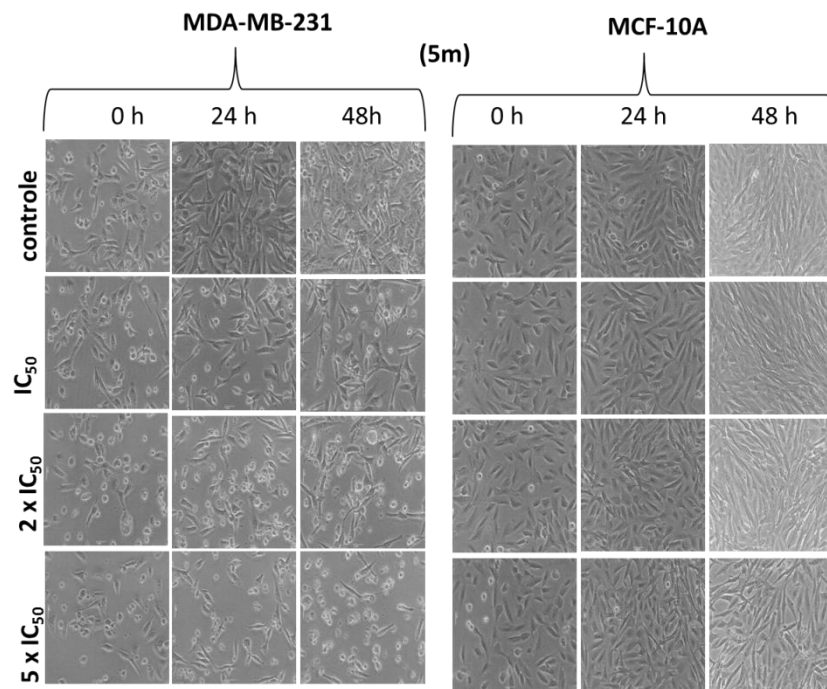


FIGURA 5.115- Morfologia das células MDA-MB-231 e MCF-10A após tratamento com o complexo **5m** em diferentes tempos.

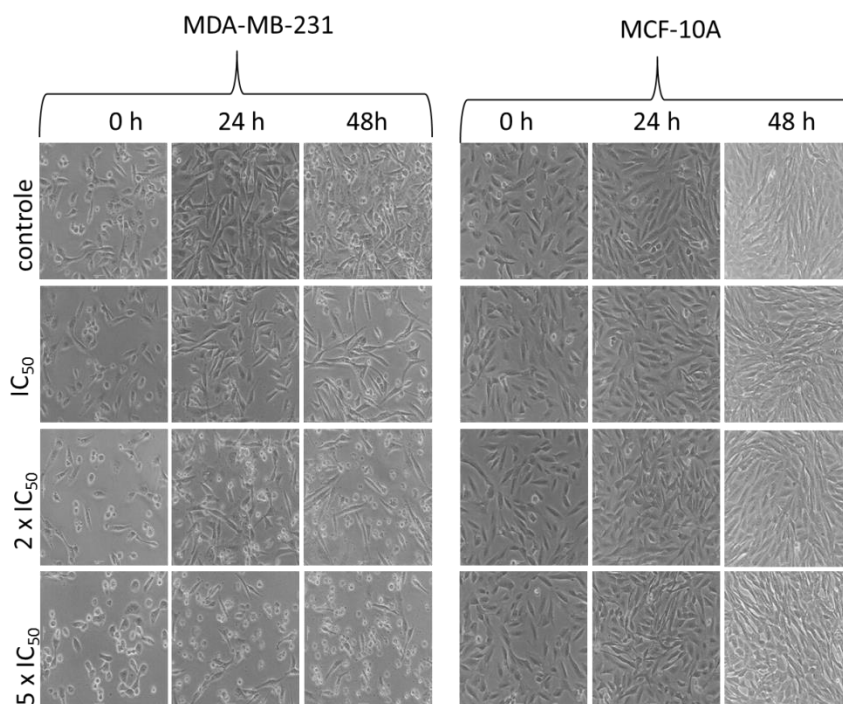


FIGURA 5.116- Morfologia das células MDA-MB-231 e MCF-10A após tratamento com o complexo **6m** em diferentes tempos.

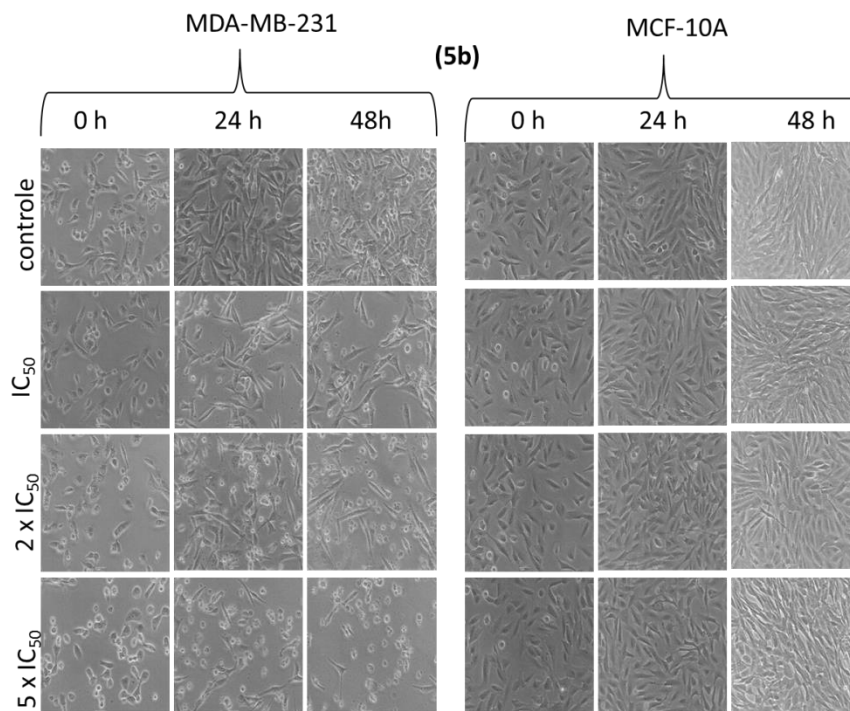


FIGURA 5.117- Morfologia das células MDA-MB-231 e MCF-10A após tratamento com o complexo **5b** em diferentes tempos.

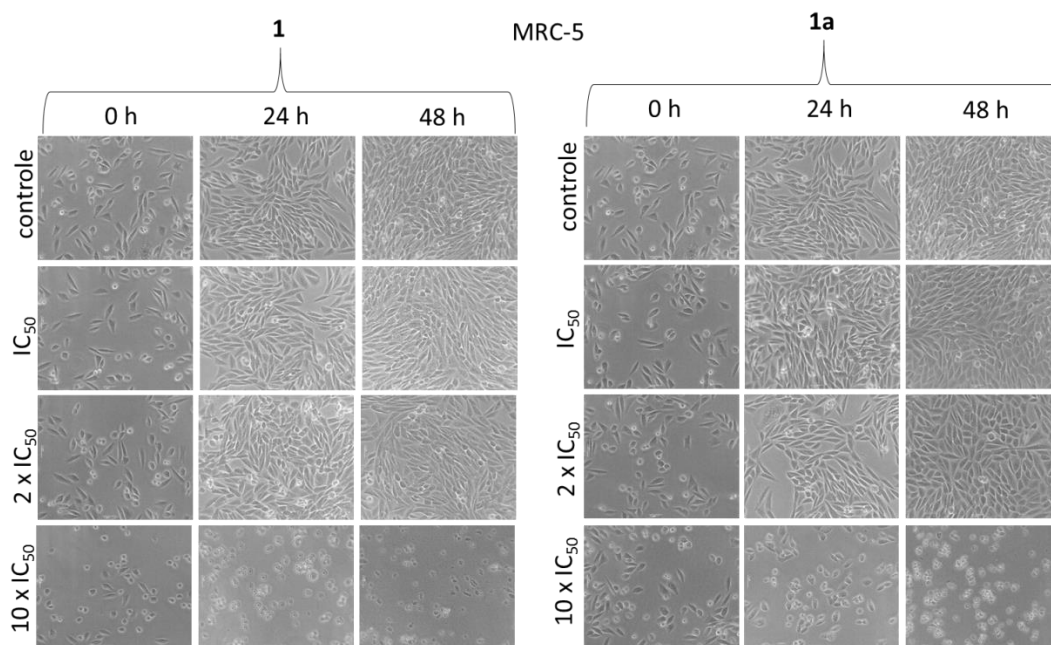


FIGURA 5.118- Morfologia das células MRC-5 após tratamento com os complexos **1** e **1a** em diferentes tempos.

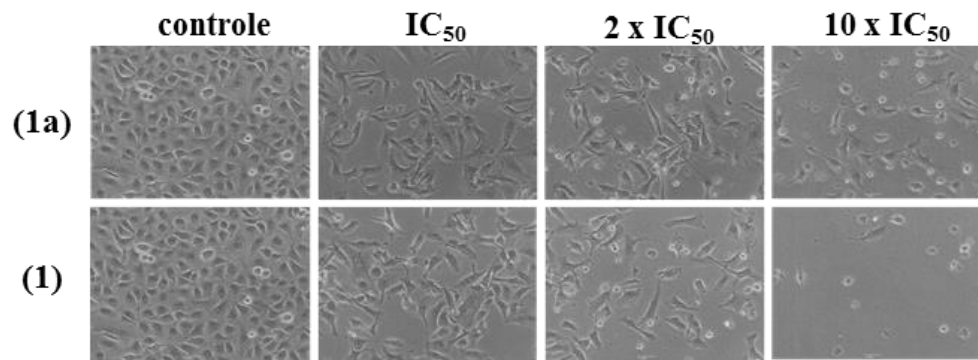


FIGURA 5.119- Morfologia das células A549 após tratamento de 48 h com os complexos **1** e **1a**.

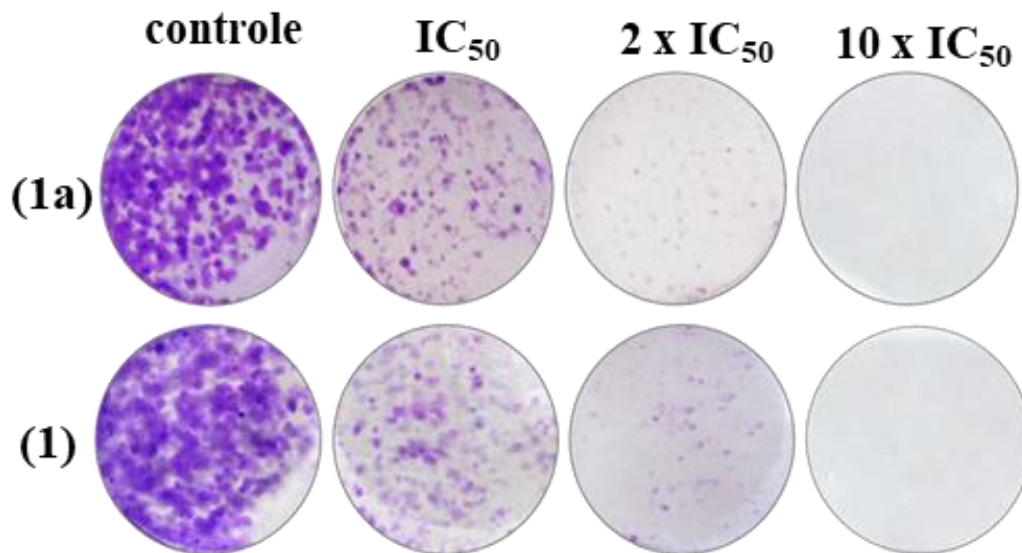


FIGURA 5.120-Ensaio clonogênico após tratamento das células A549 com os complexos **1** e **1a**.

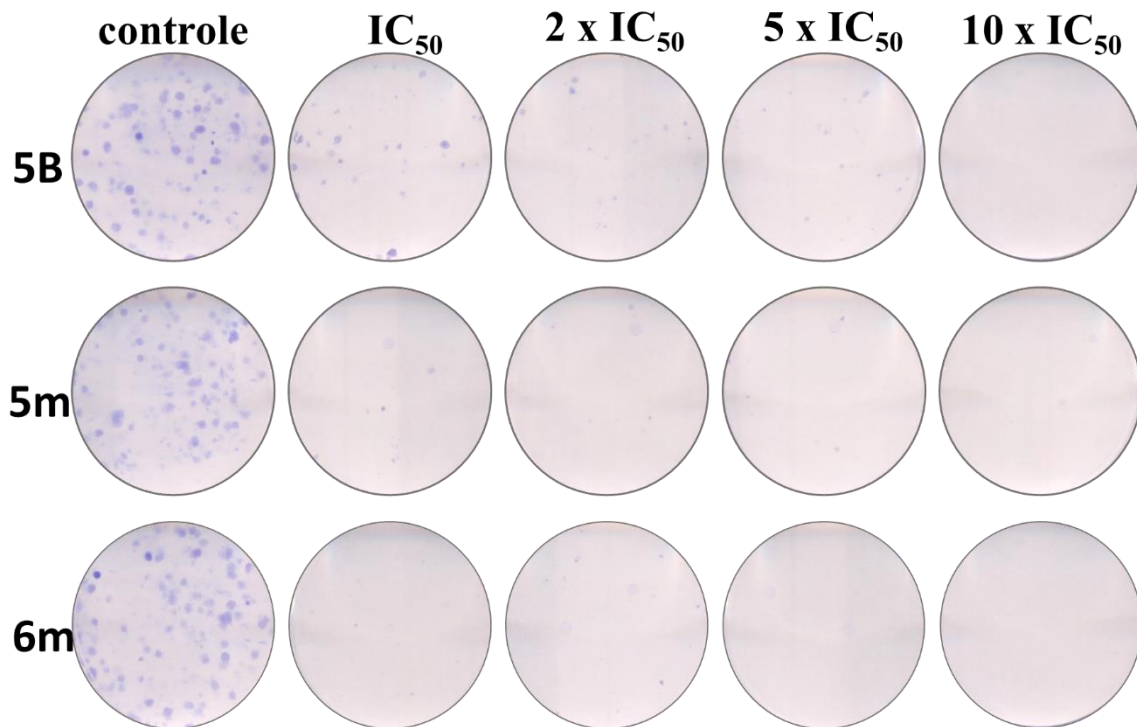


FIGURA 5.121-Ensaio clonogênico após tratamento das células MDA-MB-231 com os complexos **5m**, **5b** e **6m**.

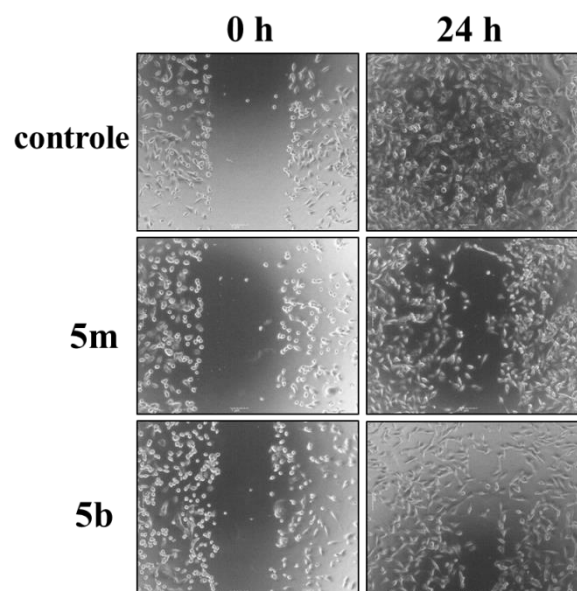


FIGURA 5.122- Ensaio de migração *Wound Healing* dos complexos **5m** e **5b** na linhagem MDA-MB-231 em concentrações correspondentes aos seus respectivos valores de IC<sub>50</sub> (48 h) no tempo de 24 h.



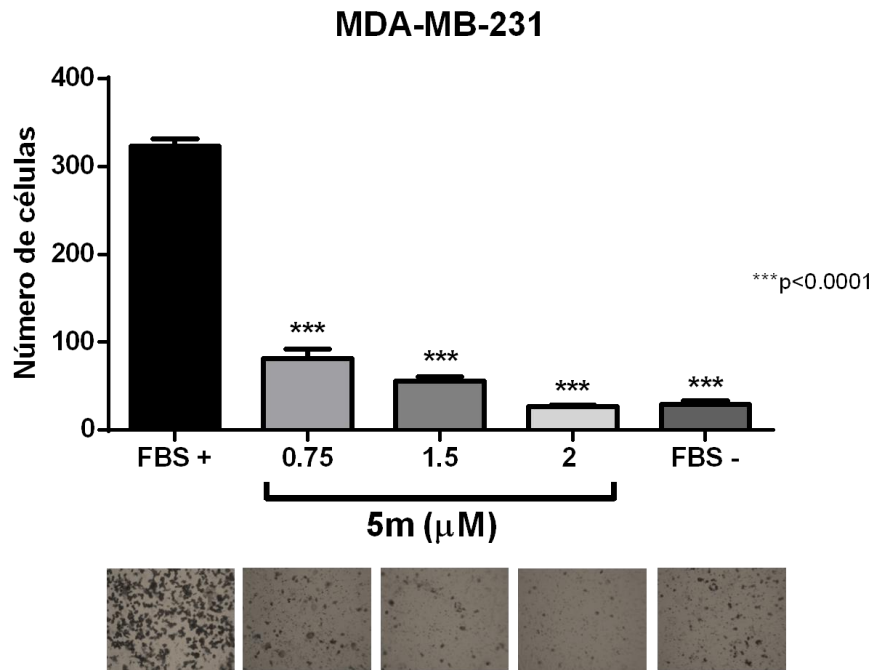


FIGURA 5.123- Ensaio de migração câmara de Boyden do complexo **5m** na linhagem MDA-MB-231 em diferentes concentrações e controles com e sem FBS.

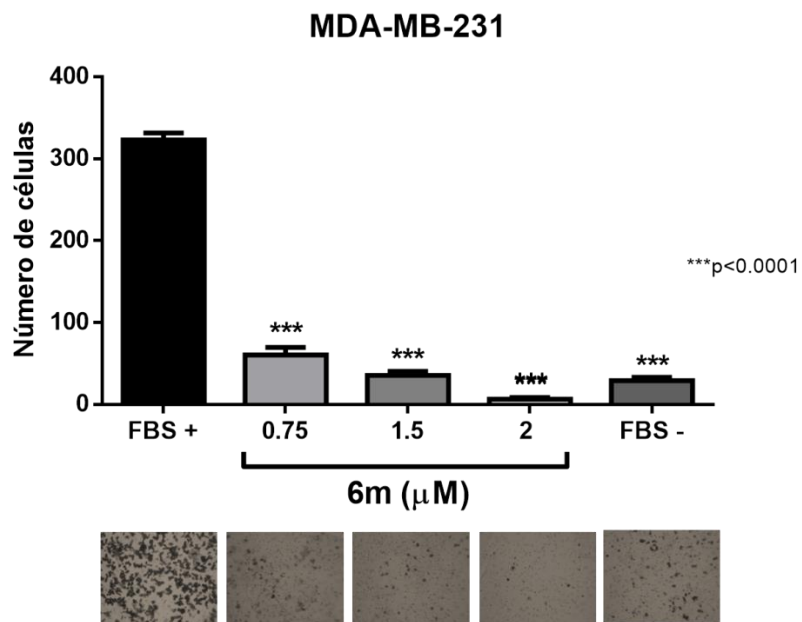


FIGURA 5.124- Ensaio de migração câmara de Boyden do complexo **6m** na linhagem MDA-MB-231 em diferentes concentrações e controles com e sem FBS.

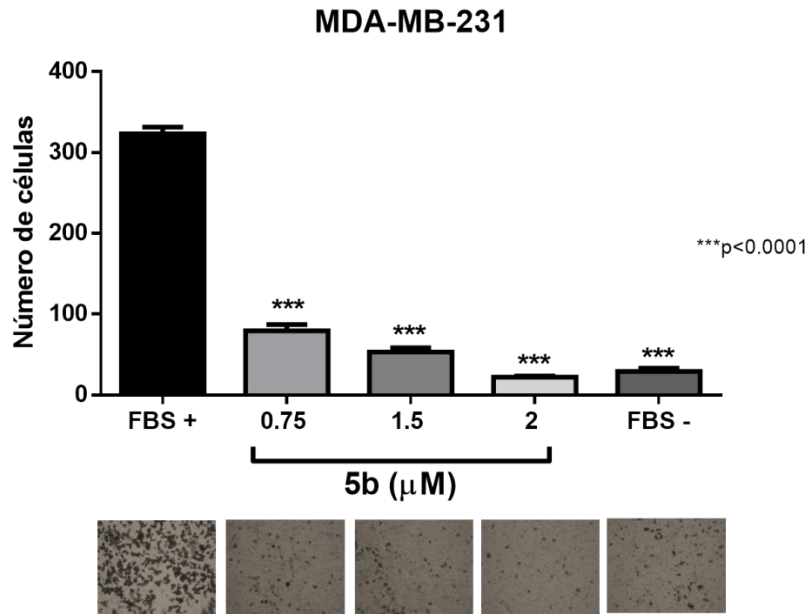


FIGURA 5.125- Ensaio de migração câmara de Boyden do complexo **5b** na linhagem MDA-MB-231 em diferentes concentrações e controles com e sem FBS.

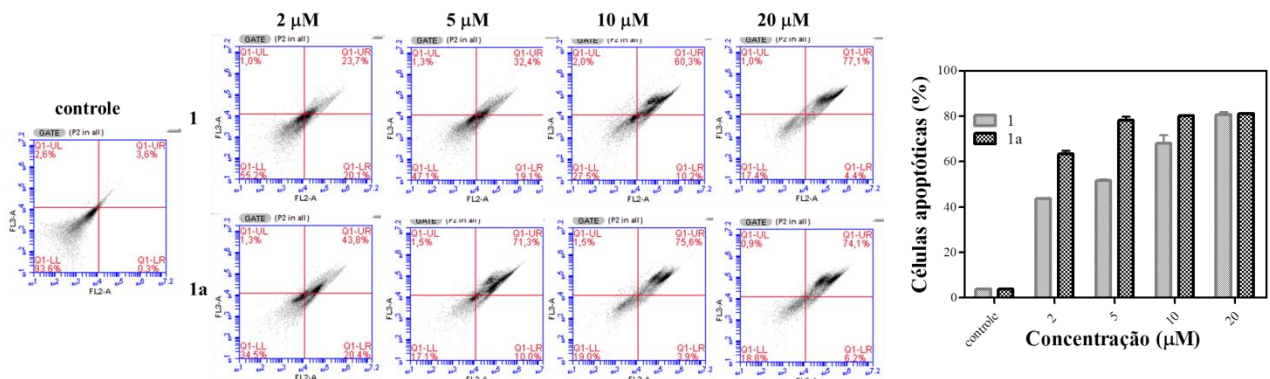


FIGURA 5.126- Ensaio de apoptose PE AnexinaV-7AAD na linhagem A549, incubadas 24 h com os complexos **1** e **1a** em diferentes concentrações e controle (camptotecina).

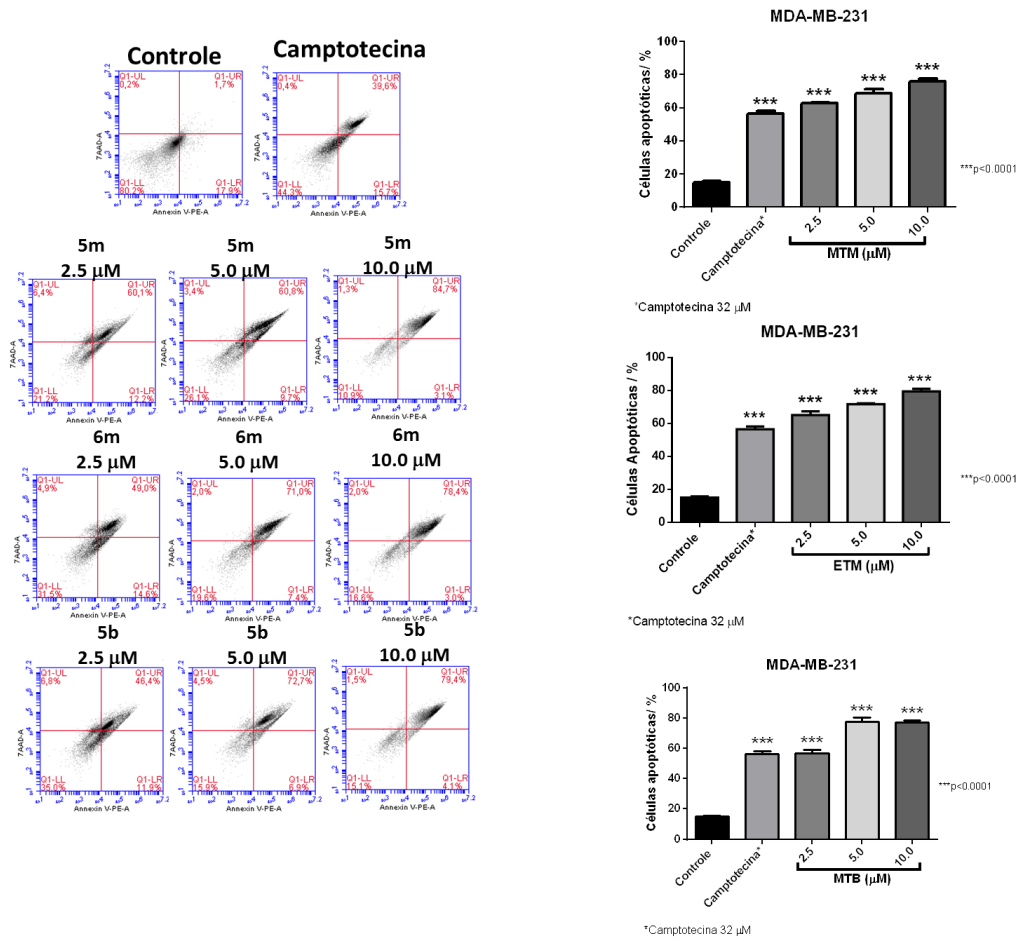


FIGURA 5.127- Ensaio de apoptose PE AnexinaV-7AAD na linhagem MDA-MB-23, incubadas 24 h com os complexos **5b**, **5m** e **6m** em diferentes concentrações e controle (camptotecina).

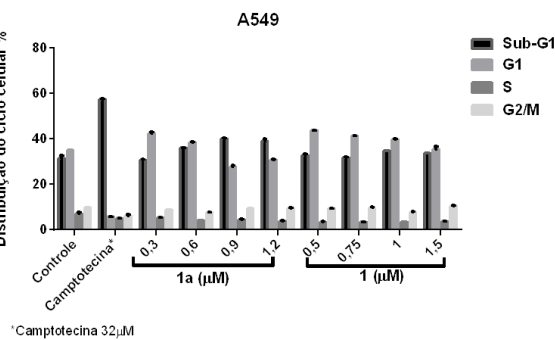
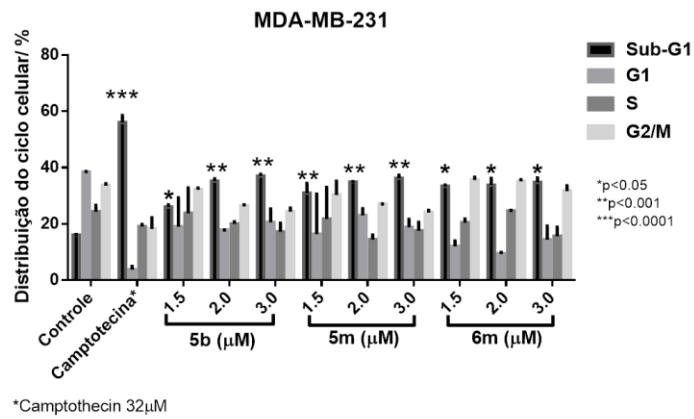
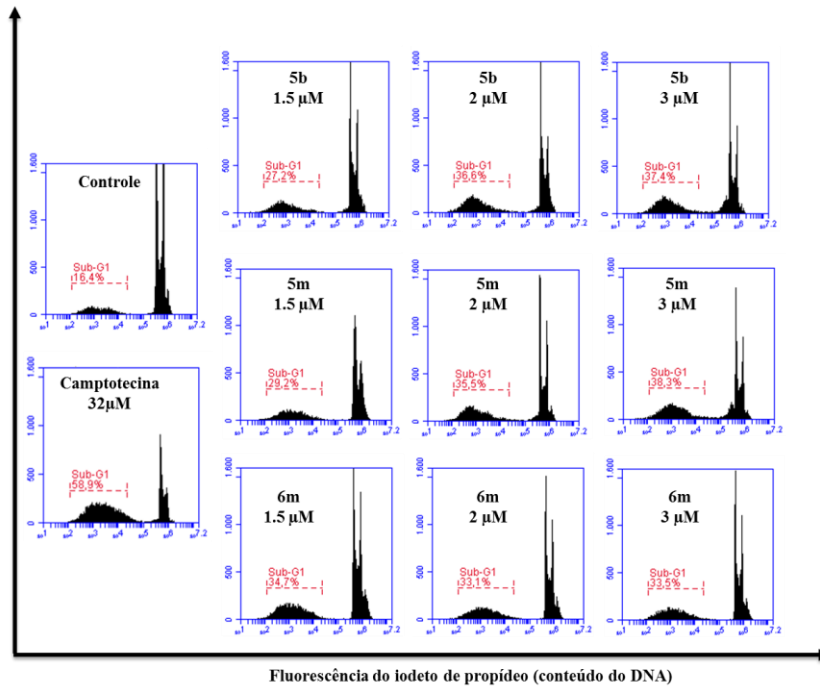


FIGURA 5.128- Efeito dos complexos **5b**, **5m** e **6m** no ciclo celular das células MDA-MB-231 e complexos **1** e **1a** nas células A549 em diferentes concentrações e controle (camptotecina).



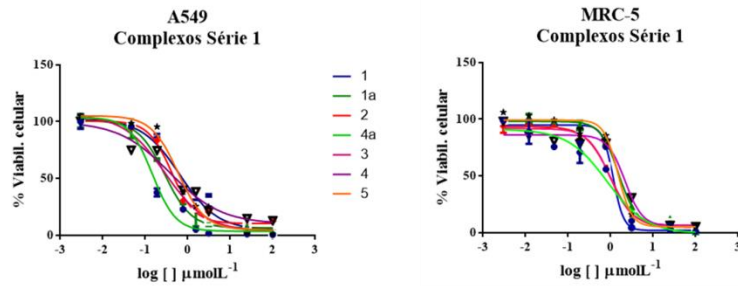


FIGURA 5.129- Gráfico de viabilidade celular nas linhagens A549 e MRC-5 dos complexos da série 1.

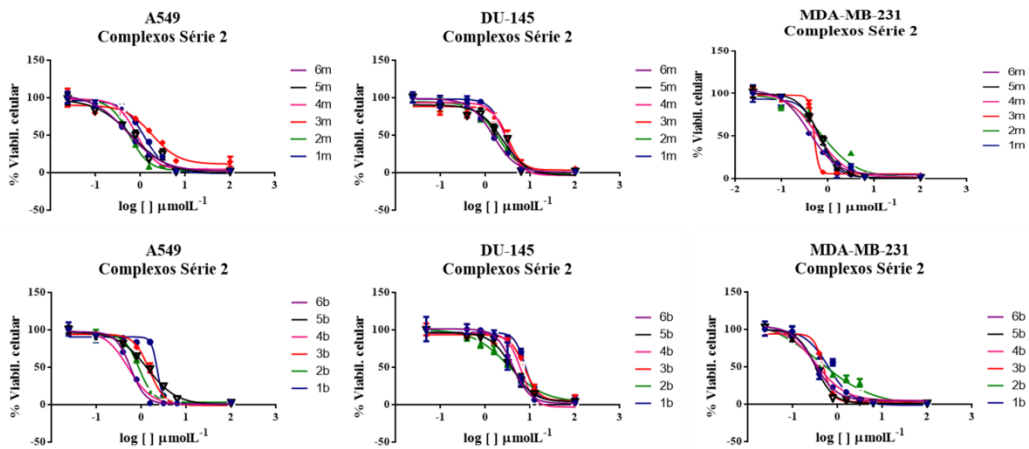


FIGURA 5.130- Gráfico de viabilidade celular nas linhagens tumorais A549, DU-145 e MDA-MB-231 dos complexos da série 2.

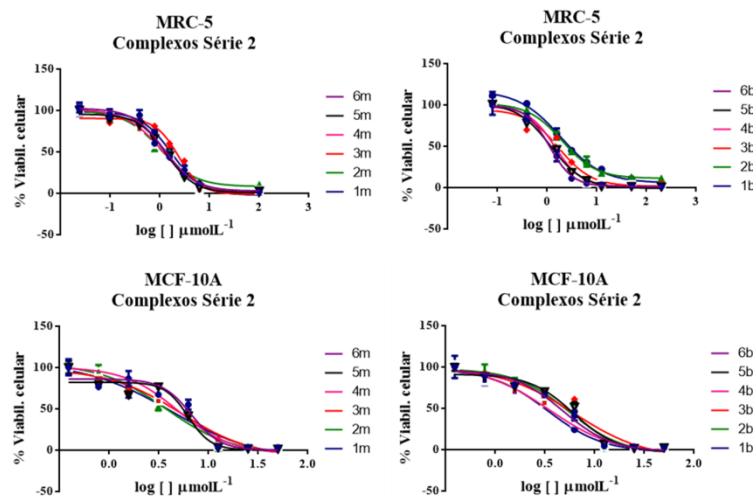


FIGURA 5.131- Gráfico de viabilidade celular nas linhagens não tumoral MRC-5 e MCF-10A dos complexos da série 2.

TABELA 5.1- Dados cristalográficos dos complexos **1**, **1a**, **2** e **3**.

	<b>1</b>	<b>1a</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
Empirical formula	[RuC <sub>39</sub> H <sub>39</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PSCl]PF <sub>6</sub>	[RuC <sub>39</sub> H <sub>38</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> PS]PF <sub>6</sub>	[RuC <sub>39</sub> H <sub>39</sub> N <sub>2</sub> OPS <sub>3</sub> Cl] PF <sub>6</sub>	[RuC <sub>39</sub> H <sub>39</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS <sub>2</sub> Cl]PF <sub>6</sub>
Formula weight	928.24	891.68	815.39	944.30
Crystal system	Monoclinic	Tetragonal	triclinic	triclinic
Space group	P21/c	P4/n	P-1	P-1
Unit cell dimensions				
a (Å)	18.2647(5)	20.1878(3)	9.8858(3)	9.8912(3)
b (Å)	13.1602(5)	20.1878(3)	12.9981(4)	13.0093(5)
c (Å)	18.6746(5)	19.6999(4)	18.2500(6)	18.1390(5)
α (°)	90	90	80.475(2)	80.891(3)
β (°)	117.1440(10)	90	84.149(2)	84.005(2)
γ (°)	90	90	81.093(2)	79.642(2)
Volume (Å <sup>3</sup> )	3994.4(2)	8028.6(3)	2277.82(13)	2260.14(13)
Z	4	8	2	2
Density calculated (Mg/m <sup>3</sup> )	1.544	1.476	1.187	1.388
μ (mm <sup>-1</sup> )	0.660	0.589	0.603	0.627
F(000)	1888	3632	833	960
Crystal size (mm <sup>3</sup> )	0.61 x 0.23 x 0.22	0.12 x 0.12 x 0.099	0.131 x 0.088 x 0.087	0.310 x 0.201 x 0.60
θ range (°)	1.253 to 26.000	1.034 to 27.225	2.573 to 23.222	2.597 to 23.203
Index ranges	-22 ≤ h ≤ 22, -16 ≤ k ≤ 16, -19 ≤ l ≤ 23	-18 ≤ h ≤ 25, -17 ≤ k ≤ 25, -16 ≤ l ≤ 25	-10 ≤ h ≤ 10, -14 ≤ k ≤ 14, -20 ≤ l ≤ 20	-10 ≤ h ≤ 10, -14 ≤ k ≤ 14, -19 ≤ l ≤ 19
Reflections collected	61967	37049	19800	19212
Independent reflections	7848 [R(int) = 0.0253]	8937 [R(int) = 0.0353]	6486 [R(int) = 0.1155]	6287 [R(int) = 0.1170]
Completeness to θ (%)	100.0	99.8	78.8	76.9
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	7848 / 0 / 501	8937 / 13 / 424	6486 / 12 / 436	6287 / 12 / 385
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.060	1.039	1.030	1.073
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0447, wR2 = 0.1278	R1 = 0.0455, wR2 = 0.1283	R1 = 0.0648, wR2 = 0.1777	R1 = 0.0710, wR2 = 0.1913
R indices (all data)	R1 = 0.0518, wR2 = 0.1368	R1 = 0.0691, wR2 = 0.1498	R1 = 0.0765, wR2 = 0.1917	R1 = 0.0802, wR2 = 0.2052
Δρ <sub>max</sub> and Δρ <sub>min</sub> . (e.Å <sup>-3</sup> )	0.826 and -0.556	1.555 and -0.543	0.1054 and -1.255	1.264 and -1.414

TABELA 5.2- Dados cristalográficos dos complexos **4**, **4a**, e **5**. Para o complexo **4a** há duas estruturas independentes, mas estereoquimicamente similar.

	<b>4</b>	<b>4a</b>	<b>5</b>
Empirical formula	[RuC <sub>42</sub> H <sub>40</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> PSCl]PF <sub>6</sub> .CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	[RuC <sub>42</sub> H <sub>37</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> PS] <sub>2</sub> 2PF <sub>6</sub>	[RuC <sub>42</sub> H <sub>40</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> PS <sub>2</sub> Cl] PF <sub>6</sub> .C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O
Formula weight	1066.20	1885.61	1055.42
Crystal system	Triclinic	monoclinic	triclinic
Space group	P-1	P21/c	P-1
Unit cell dimensions			
a (Å)	9.8072(3)	14.8809(5)	9.8662(2)
b (Å)	13.0668(4)	29.3370(8)	13.1444(4)
c (Å)	18.0895(4)	20.1380(5)	18.4076(5)
α (°)	83.251(2)	90	82.729(2)
β (°)	84.302(2)	98.0920(10)	86.063(2)
γ (°)	81.323(2)	90	80.993
Volume (Å <sup>3</sup> )	2267.87(11)	8703.9(4)	2335.89(11)
Z	2	4	2
Density calculated (Mg/m <sup>3</sup> )	1.561	1.439	1.501
μ (mm <sup>-1</sup> )	0.708	0.549	0.619
F(000)	1082	3832	1078
Crystal size (mm <sup>3</sup> )	0.246 x 0.191 x 0.112	0.176 x 0.155 x 0.111	0.34 x 0.314 x 0.205
θ range (°)	2.557 to 26.000	1.547 to 25.870	2.790 to 26.371
Index ranges	-12 ≤ h ≤ 9, -16 ≤ k ≤ 16, -22 ≤ l ≤ 21	-17 ≤ h ≤ 18, -26 ≤ k ≤ 36, -19 ≤ l ≤ 24	-11 ≤ h ≤ 12, -16 ≤ k ≤ 16, -22 ≤ l ≤ 22
Reflections collected	20446	62569	19059
Independent reflections	8858 [R(int) = 0.1496]	16636 [R(int) = 0.0321]	9401 [R(int) = 0.0495]
Completeness to θ (%)	99.3	99.1	98.5
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	8858 / 0 / 560	16636 / 6 / 919	9401 / 1 / 572
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.046	1.060	1.044
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0730, wR2 = 0.1909	R1 = 0.0435, wR2 = 0.1163	R1 = 0.0615, wR2 = 0.1726
R indices (all data)	R1 = 0.0872, wR2 = 0.2023	R1 = 0.0611, wR2 = 0.1335	R1 = 0.0737, wR2 = 0.1859
Δρ <sub>max</sub> and Δρ <sub>min</sub> . (e.Å <sup>-3</sup> )	1.238 and -1.498	0.810 and -0.696	1.051 and -0.797

TABELA 5.3- Dados cristalográficos dos complexos **1m-4m**.

	<b>1m</b>	<b>2m</b>	<b>3m</b>	<b>4m</b>
Empirical formula	[RuC <sub>38</sub> H <sub>41</sub> N <sub>2</sub> OPSCI] PF <sub>6</sub>	[RuC <sub>40</sub> H <sub>45</sub> N <sub>2</sub> OPSCI]PF <sub>6</sub>	[RuC <sub>36</sub> H <sub>39</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PSCI]PF <sub>6</sub>	[RuC <sub>38</sub> H <sub>43</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PSCI]PF <sub>6</sub>
Formula weight	886.25	914.30	976.21	904.26
Crystal system	Monoclinic	Orthorhombic	Monoclinic	Monoclinic
Space group	P21/c	P 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub> 2 <sub>1</sub>	P21/c	P21/c
Unit cell dimensions				
a (Å)	9.3594(3)	20.7893(7)	9.2240(3)	9.6348(2)
b (Å)	20.8852(7)	20.7893(7)	20.7510(5)	24.8600(6)
c (Å)	20.0263(7)	9.5473(4)	19.9470(7)	17.2413(4)
α (°)	90	90	90	90
β (°)	94.7530(10)	90	95.045(2)	100.6520(10)
γ (°)	90	90	90	90
Volume (Å <sup>3</sup> )	3901.1(2)	4126.3(3)	3803.2(2)	4058.49(16)
Z	4	4	4	4
Density calculated (Mg/m <sup>3</sup> )	1.509	1.472	1.530	1.480
μ (mm <sup>-1</sup> )	0.668	0.634	0.686	0.645
F(000)	1808	1872	1780	1848
Crystal size (mm <sup>3</sup> )	0.240 x 0.221 x 0.187	0.155 x 0.144 x 0.124	0.192 x 0.096 x 0.033	0.120 x 0.112 x 0.098
θrange (°)	1.411 to 25.999	1.385 to 25.993	2.839 to 27.101	1.454 to 25.999
Index ranges	-11 ≤ h ≤ 11, -25 ≤ k ≤ 21, -24 ≤ l ≤ 23	-25 ≤ h ≤ 25, -25 ≤ k ≤ 24, -11 ≤ l ≤ 11	-11 ≤ h ≤ 11, -22 ≤ k ≤ 26, -25 ≤ l ≤ 25	-11 ≤ h ≤ 9, -30 ≤ k ≤ 29, -21 ≤ l ≤ 21
Reflections collected	32383	37019	37791	32750
Independent reflections	7663 [R(int) = 0.0269]	6594 [R(int) = 0.0470]	8367 [R(int) = 0.0698]	7963 [R(int) = 0.0311]
Completeness to θ (%)	99.9	80.0	99.8	99.8
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	7663 / 0 / 474	6594 / 0 / 492	8367 / 0 / 468	7963 / 0 / 420
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.053	1.065	0.975	1.061
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0358, wR2 = 0.0942	R1 = 0.0472, wR2 = 0.1201	R1 = 0.0451, wR2 = 0.1131	R1 = 0.0413, wR2 = 0.1084
R indices (all data)	R1 = 0.0402, wR2 = 0.0986	R1 = 0.0556, wR2 = 0.1232	R1 = 0.0786, wR2 = 0.1268	R1 = 0.0515, wR2 = 0.1167
Δρ <sub>max</sub> and Δρ <sub>min</sub> . (e.Å <sup>-3</sup> )	0.900 and -0.452	0.821 and -0.591	0.680 and -0.630	0.802 and -0.674

TABELA 5.4- Dados cristalográficos dos complexos **5m-6m** e **1b-2b**. Para o complexo **1b** há duas estruturas independentes, mas estereoquimicamente similar.

	<b>5m</b>	<b>6m</b>	<b>1b</b>	<b>2b</b>
Empirical formula	[RuC <sub>36</sub> H <sub>39</sub> N <sub>2</sub> OPS <sub>2</sub> Cl]PF <sub>6</sub>	[RuC <sub>38</sub> H <sub>43</sub> N <sub>2</sub> OPS <sub>2</sub> Cl]PF <sub>6</sub>	[RuC <sub>38</sub> H <sub>40</sub> N <sub>2</sub> OPS] PF <sub>6</sub>	[RuC <sub>40</sub> H <sub>44</sub> N <sub>2</sub> OPS]PF <sub>6</sub>
Formula weight	892.27	920.62	849.79	877.84
Crystal system	Monoclinic	Monoclinic	Triclinic	Monoclinic
Space group	P21/c	P21/c	P -1	C c
Unit cell dimensions				
a (Å)	9.3660(2)	9.5180(3)	10.8500(2)	21.7794(7)
b (Å)	20.7810(5)	20.6020(7)	16.7790(4)	16.5045(9)
c (Å)	19.9750(4)	20.7300(6)	22.5750(6)	11.3004(5)
α (°)	90	90	78.9320(10)	90
β (°)	94.7800(10)	90.223(2)	76.2940(10)	101.154(2)
γ (°)	90	90	88.1130(10)	90
Volume (Å <sup>3</sup> )	3874.31(15)	4064.9(2)	3918.19(16)	3985.3(3)
Z	4	4	4	4
Density calculated (Mg/m <sup>3</sup> )	1.530	1.502	1.441	1.463
μ (mm <sup>-1</sup> )	0.725	0.693	0.596	0.588
F(000)	1816	1870	1736	1800
Crystal size (mm <sup>3</sup> )	0.285 x 0.255 x 0.112	0.235 x 0.124 x 0.101	0.301 x 0.211 x 0.187	0.306 x 0.086 x 0.066
θ range (°)	2.834 to 25.024	2.551 to 26.000	2.218 to 25.999	3.077 to 23.526
Index ranges	-11 ≤ h ≤ 11, -24 ≤ k ≤ 24, -23 ≤ l ≤ 22	-11 ≤ h ≤ 11, -23 ≤ k ≤ 25, -25 ≤ l ≤ 24	-13 ≤ h ≤ 13, -20 ≤ k ≤ 20, -27 ≤ l ≤ 20	-24 ≤ h ≤ 24, -15 ≤ k ≤ 18, -12 ≤ l ≤ 11
Reflections collected	39851	31791	37332	10220
Independent reflections	6822 [R(int) = 0.1082]	7941 [R(int) = 0.0568]	15189 [R(int) = 0.0319]	5184 [R(int) = 0.1440]
Completeness to θ (%)	97.4	99.6	98.8	82.1
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	6822 / 0 / 466	7941 / 0 / 484	15189 / 36 / 929	5184 / 2 / 483
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	1.101	1.098	1.082	1.096
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0501, wR2 = 0.1196	R1 = 0.0691, wR2 = 0.1796	R1 = 0.0564, wR2 = 0.1573	R1 = 0.0620, wR2 = 0.1625
R indices (all data)	R1 = 0.0634, wR2 = 0.1307	R1 = 0.1006, wR2 = 0.1988	R1 = 0.0755, wR2 = 0.1732	R1 = 0.0665, wR2 = 0.1655
Δρ <sub>max</sub> and Δρ <sub>min</sub> . (e.Å <sup>-3</sup> )	0.871 and -0.910	2.729 and -0.643	1.170 and -1.162	0.849 and -0.844

TABELA 5.5- Dados cristalográficos dos complexos **4b-6b**.

	<b>4b</b>	<b>5b</b>	<b>6b</b>
Empirical formula	[RuC <sub>38</sub> H <sub>42</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> PS]PF <sub>6</sub>	[RuC <sub>36</sub> H <sub>38</sub> N <sub>2</sub> OPS <sub>2</sub> ] PF <sub>6</sub>	[RuC <sub>38</sub> H <sub>42</sub> N <sub>2</sub> OPS <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>
Formula weight	867.80	885.81	883.86
Crystal system	Monoclinic	Monoclinic	Monoclinic
Space group	C c	P21/a	C c
Unit cell dimensions			
a (Å)	21.3545(5)	14.1630(4)	21.6907(6)
b (Å)	16.5342(4)	18.9980(5)	16.4995(6)
c (Å)	11.2997(2)	15.3060(5)	11.2879(3)
α (°)	90	90	90
β (°)	101.3400(10)	110.307(2)	100.501(2)
γ (°)	90	90	90
Volume (Å <sup>3</sup> )	3911.80(15)	3862.4(2)	3972.1(2)
Z	4	4	4
Density calculated (Mg/m <sup>3</sup> )	1.474	1.472	1.478
μ (mm <sup>-1</sup> )	0.600	0.657	0.641
F(000)	1776	1744	1808
Crystal size (mm <sup>3</sup> )	0.200 x 0.154 x 0.121	0.301 x 0.211 x 0.187	0.224 x 0.210 x 0.133
θ range (°)	1.569 to 26.000	1.871 to 25.997	2.272 to 27.480
Index ranges	-26 ≤ h ≤ 22, -20 ≤ k ≤ 19, -10 ≤ l ≤ 13	17 ≤ h ≤ 17, -23 ≤ k ≤ 22, -18 ≤ l ≤ 18	-28 ≤ h ≤ 28, -21 ≤ k ≤ 21, -14 ≤ l ≤ 14
Reflections collected	15381	40112	16871
Independent reflections	6213 [R(int) = 0.0218]	7583 [R(int) = 0.0487]	8191 [R(int) = 0.0233]
Completeness to θ (%)	99.9	99.9	99.8
Refinement method	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>	Full-matrix least-squares on F <sup>2</sup>
Data / restraints / parameters	6213 / 2 / 474	7583 / 0 / 458	8191 / 2 / 475
Goodness-of-fit on F <sup>2</sup>	0.780	1.127	1.121
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0304, wR2 = 0.0860	R1 = 0.0623, wR2 = 0.1618	R1 = 0.0392, wR2 = 0.1059
R indices (all data)	R1 = 0.0313, wR2 = 0.0876	R1 = 0.0868, wR2 = 0.1954	R1 = 0.0442, wR2 = 0.1114
Δρ <sub>max</sub> and Δρ <sub>min</sub> . (e.Å <sup>-3</sup> )	0.658 and -0.537	1.048 and -0.954	0.712 and -1.258

TABELA 5.6- Comprimentos de ligações[°A] e ângulos de ligação [deg] dos complexos **1**, **1a**, **2**, **3**, **4**, **4a** e **5**.

Complexos	<b>1</b>	<b>1a</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>4a</b>	<b>5</b>
<b>Comprimentos de Ligação</b>							
Ru-P	2.3692(8)	2.3666(9)	2.3759(15)	2.3648(15)	2.3777(11)	2.3696(9)	2.3766(10)
Ru-S	2.3931(9)	2.3766(10)	2.3894(16)	2.3839(16)	2.3843(11)	2.3890(9)	2.3823(10)
Ru-Cl	2.4064(9)	-	2.4174(15)	2.4199(15)	2.4275(12)	-	2.4221(11)
Ru-N	-	2.154(3)	-	-	-	2.144(3)	-
Ru-C(4')	2.284(3)	2.263(4)	2.308(6)	2.244(4)	2.299(5)	2.249(3)	2.297(5)
Ru-C(5')	2.234(4)	2.194(4)	2.246(6)	2.241(4)	2.258(5)	2.213(4)	2.235(5)
Ru-C(6')	2.227(4)	2.240(4)	2.233(6)	2.223(4)	2.243(5)	2.209(4)	2.211(5)
Ru-C(7')	2.257(4)	2.284(4)	2.238(6)	2.209(4)	2.235(5)	2.241(4)	2.248(4)
Ru-C(8')	2.200(4)	2.217(4)	2.211(6)	2.213(4)	2.211(5)	2.211(4)	2.250(4)
Ru-C(9')	2.227(4)	2.214(4)	2.241(6)	2.231(4)	2.237(5)	2.266(4)	2.253(5)
S(1)-C(1)	1.704(3)	1.710(4)	1.714(6)	1.702(6)	1.710(5)	1.714(4)	1.703(4)
O(1)-C(2)	1.216(5)	1.238(5)	1.218(7)	1.225(7)	1.198(7)	1.224(4)	1.218(6)
N(1)-C(1)	1.369(4)	1.364(5)	1.368(7)	1.377(8)	1.358(7)	1.367(4)	1.380(5)
N(2)-C(1)	1.318(5)	1.316(5)	1.321(8)	1.315(8)	1.309(7)	1.312(5)	1.316(5)
N(1)-C(2)	1.385(4)	1.372(5)	1.387(7)	1.225(7)	1.399(6)	1.372(5)	1.386(6)
<b>Ângulos de Ligação</b>							
P-Ru-Cl	87.58(3)	-	87.53(5)	87.28(5)	88.75(4)	-	88.52(3)
S-Ru-Cl	90.01(3)	-	90.26(5)	90.01(6)	90.12(4)	-	90.55(4)
S-Ru-P	87.18(3)	87.57(3)	86.05(5)	86.48(5)	86.18(4)	82.78(3)	85.84(4)
S-Ru-N	-	67.85(8)	-	-	-	67.73(8)	-
P-Ru-N	-	87.97(8)	-	-	-	88.56(8)	-

TABELA 5.7- Comprimentos de ligações[°A] e ângulos de ligação [deg] dos complexos **1m-6m** e **1b, 2b, 4b-6b**.

Complexes	1m	2m	3m	4m	5m	6m	1b	2b	4b	5b	6b
<b>Bound lengths</b>											
Ru-P	2.3814(7)	2.383(2)	2.3786(9)	2.3774(8)	2.3799(11)	2.3799(15)	2.3653(12)	2.346(3)	2.3430(12)	2.3670(12)	2.3459(13)
Ru-S	2.3796(7)	2.366(2)	2.3763(10)	2.3856(9)	2.3843(11)	2.3696(15)	2.3691(13)	2.351(3)	2.3486(12)	2.3564(13)	2.3507(13)
Ru-Cl	2.4193(7)	2.420(2)	2.4173(9)	2.4106(8)	2.4201(11)	2.4208(16)	-	-	-	-	-
Ru-O	-	-	-	-	-	-	2.059(3)	2.075(9)	2.094(3)	2.073(3)	2.091(4)
Ru-C(4')	2.284(3)	2.297(8)	2.276(4)	2.291(3)	2.286(5)	2.290(6)	2.258(5)	2.304(13)	2.292(6)	2.274(5)	2.293(6)
Ru-C(5')	2.246(3)	2.230(8)	2.236(4)	2.244(3)	2.242(5)	2.219(6)	2.222(5)	2.195(12)	2.249(5)	2.187(5)	2.255(5)
Ru-C(6')	2.205(3)	2.192(9)	2.202(4)	2.222(3)	2.242(5)	2.229(6)	2.214(5)	2.223(13)	2.245(6)	2.217(5)	2.256(7)
Ru-C(7')	2.229(3)	2.216(9)	2.231(4)	2.232(4)	2.239(4)	2.240(6)	2.267(5)	2.298(13)	2.310(5)	2.296(5)	2.313(6)
Ru-C(8')	2.233(3)	2.177(7)	2.229(4)	2.196(4)	2.208(4)	2.210(6)	2.248(5)	2.241(15)	2.206(5)	2.246(6)	2.202(5)
Ru-C(9')	2.236(3)	2.237(9)	2.233(4)	2.245(4)	2.251(4)	2.261(6)	2.215(5)	2.263(12)	2.185(5)	2.239(6)	2.192(5)
S(1)-C(1)	1.706(3)	1.702(8)	1.697(4)	1.702(4)	1.698(4)	1.709(6)	1.722(5)	1.727(12)	1.732(5)	1.716(5)	1.720(5)
O(1)-C(2)	1.210(4)	1.221(11)	1.217(5)	1.216(4)	1.217(6)	1.204(8)	1.275(6)	1.268(14)	1.278(6)	1.276(6)	1.269(7)
N(1)-C(1)	1.384(4)	1.399(11)	1.396(5)	1.384(5)	1.392(6)	1.388(8)	1.357(7)	1.342(16)	1.341(7)	1.347(6)	1.345(7)
N(2)-C(1)	1.310(4)	1.295(11)	1.311(5)	1.325(5)	1.303(6)	1.307(8)	1.326(6)	1.341(16)	1.340(6)	1.324(7)	1.345(7)
N(1)-C(2)	1.390(4)	1.363(12)	1.392(5)	1.380(4)	1.382(6)	1.398(8)	1.317(6)	1.328(16)	1.308(6)	1.313(7)	1.320(7)
<b>Bound angles</b>											
P-Ru-Cl	92.63(2)	91.30(7)	92.83(3)	85.69(3)	92.42(4)	91.36(6)	-	-	-	-	-
S-Ru-Cl	90.47(3)	92.47(8)	90.32(4)	89.56(3)	90.51(4)	91.18(6)	-	-	-	-	-
S-Ru-P	82.70(2)	81.84(7)	82.67(3)	86.80(3)	82.77(4)	82.81(5)	84.87(5)	87.06(11)	87.03(4)	88.36(5)	87.05(5)
S-Ru-O	-	-	-	-	-	-	88.69(10)	88.7(3)	88.93(10)	89.21(10)	89.14(11)
P-Ru-O	-	-	-	-	-	-	84.57(10)	89.0(3)	88.58(10)	87.49(10)	88.67(11)



FIGURA 5.132 – Estruturas dos complexos da série 1.

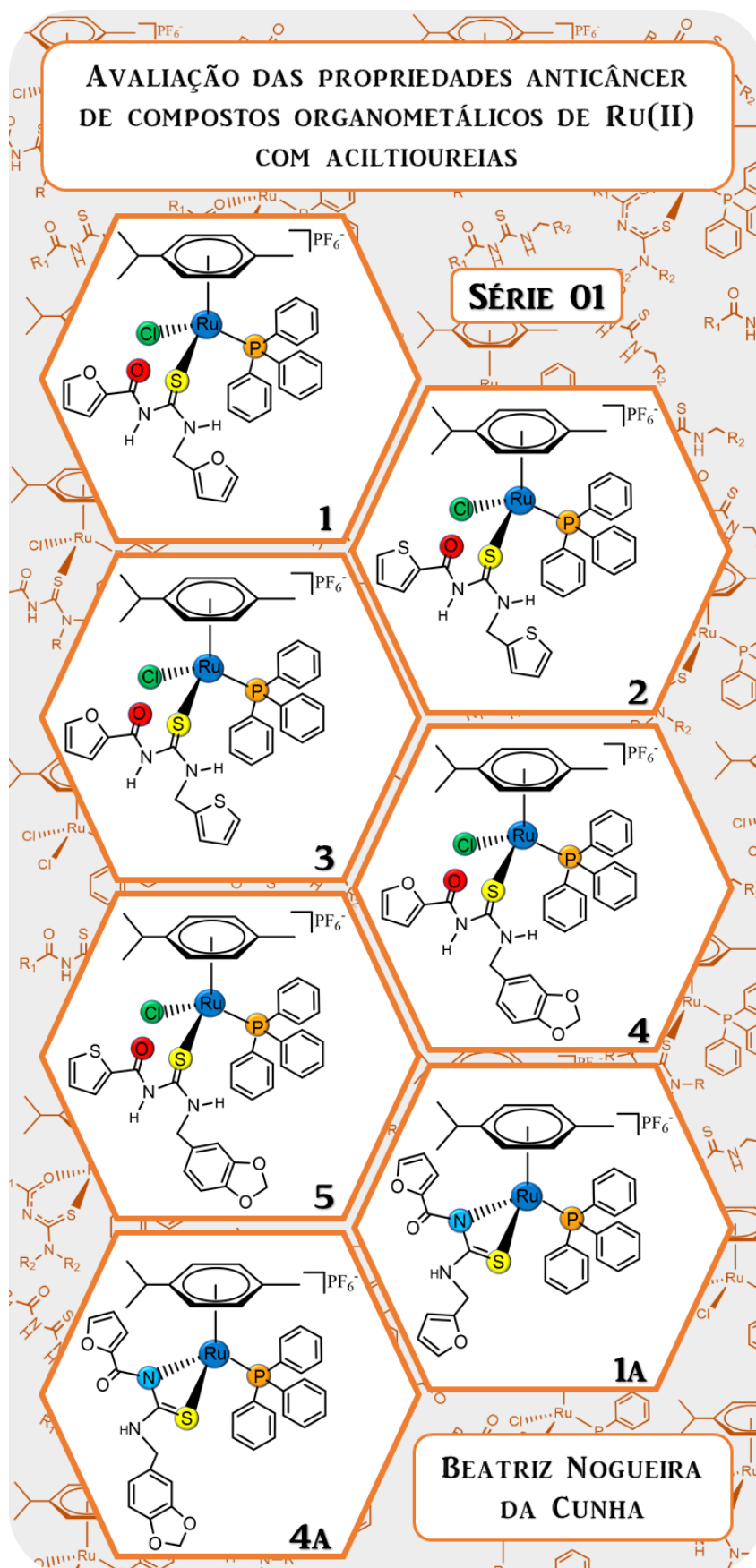


FIGURA 5.132 – Estruturas dos complexos da série 2.

