

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
Programa de Pós-graduação em Química

**“COMPLEXOS FOSFÍNICOS DE RUTÊNIO CONTENDO OS
LIGANTES NITRO, NITROSILO OU PIRIDINAS, COM
ATIVIDADES ANTITUMORAIS E ANTITUBERCULOSE”**

José Wilmo da Cruz Júnior*

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do título de
MESTRE EM QUÍMICA, área de
concentração: QUÍMICA INORGÂNICA.

Orientador: Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista

* bolsista CNPq

São Carlos - SP
2010

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

C957cf

Cruz Júnior, José Wilmo da.

Complexos fosfínicos de rutênio contendo os ligantes nitro, nitrosilo ou piridinas, com atividades antitumorais e antituberculose / José Wilmo da Cruz Júnior. -- São Carlos : UFSCar, 2011.
130 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Química inorgânica. 2. Fosfina. 3. Complexos de rutênio. I. Título.

CDD: 546 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Mestrado Acadêmico

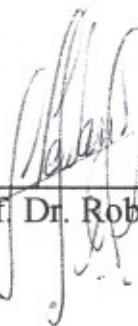
Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de dissertação de mestrado acadêmico do candidato José Wilmo da Cruz Júnior, realizada em 10 de novembro de 2010:



Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista



Prof. Dr. Pedro Paulo Corbi



Prof. Dr. Roberto Santana da Silva

"O saber a gente aprende com os mestres e com os livros. A sabedoria se aprende é com a vida e com os humildes."

Cora Coralina

Aos meus queridos pais José Vilmo e Isabel pelo apoio, confiança, amor, carinho e dedicação em todos os momentos da minha vida. Aos meus irmãos Rosélia, Carlos, Rosana e Kelly pelo apoio, amizade, carinho e momentos de descontração. À Eiko pelo amor sincero, carinho, apoio e pela felicidade que compartilhamos.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista pela oportunidade e pela estrutura de trabalho oferecida. Agradeço também aos ensinamentos e auxílio os quais me fizeram uma pessoa e profissional melhor.

Ao Prof. Dr. Javier Alcides Elena, ao Prof. Dr. Eduardo Ernesto Castellano e ao doutorando Rodrigo de Souza Corrêa pela resolução das estruturas cristalográficas. Ao Prof. Dr. Antônio Gilberto Ferreira pelos ensinamentos de RMN e amizade. Ao mestrando Lucas Vinícius Pozzi e à doutoranda Angélica Ellen Graminha pela realização dos ensaios biológicos.

Aos técnicos e amigos do Departamento de Química da UFSCar Luciana Vizotto, Paulo Lambertucci e Ademir Sartori pela amizade, desabafos e por serem prestativos e eficientes em todos os momentos.

Às secretárias da pós-graduação: Ariane, Cristina e Luciani, por serem sempre atenciosas e prestativas a nos atender.

Aos amigos e colegas do Laboratório: Andréa, André, Angélica, Benedicto, Camilla, Cláudia, Edjane, Fábio, Giovanna, Hugo, João Paulo, Leonardo, Lucas, Márcio, Marília, Melina, Patrick e Rodrigo pela amizade e pelo ambiente de trabalho descontraído e colaboração neste trabalho. Também às amigas de “outras inorgânicas” que sempre me deram força extra: Carolina Riverin e Luciana Batista de Paulo.

Ao Prof. Dr. Marcelo Henrique dos Santos que foi meu primeiro “mestre” e “pai” na ciência o qual tenho orgulho de me espelhar. Agradeço ao apoio e amizade incondicionais.

À Paula Bogas Gradin por me ajudar a refletir sobre mim. Obrigado por seu apoio e ensinamentos.

Aos meus amigos do CSCJ: Raphaela, Vinícius, Julien, Samuel, Tiago, Lucas, Leonardo, Bruno e Max. Obrigado pelos momentos felizes e perdoem minha ausência.

Aos meus amigos da república Entropia: Alessandro, Alexandre, Daniel, Daniel (krusty), Leandro, José Guilherme (Tibas), Rodrigo, Roger, Waldir e William pelo convívio agradável e amizade.

À Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), pela oportunidade de aprendizado e ao CNPq, pela bolsa concedida.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Δ	Variação
δ	Deslocamento químico (ppm) em RMN / vibração de deformação (IV)
ε	Coefficiente de extinção molar
β	Vibração de deformação no plano (IV)
γ	Vibração de deformação fora do plano (IV)
ν	Vibração de estiramento (IV) ou frequência (cm^{-1})
[°]	Grau
$^1\text{H}\{^{31}\text{P}\}$	Hidrogênio-1 desacoplado de fósforo (RMN)
$^2\text{J}_{\text{p-p}}$	Constante de acoplamento, em Hz (RMN)
$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$	Fósforo-31 desacoplado de hidrogênio (RMN)
4-ampy	4-aminopiridina
4-Clbipy	4,4'-dicloro-2,2'-bipiridina
4-mebipy	4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina
4-meObipy	4,4'-dimetóxi-2,2'-bipiridina
4-mepy	4- metilpiridina (4-picolina)
4-meSbipy	4,4'-dimetiltio-2,2'-bipiridina
4-meSObipy	4,4'-dimetilsulfóxido-2,2'-bipiridina
4-phpy	4-fenilpiridina
4-pic	4-picolina
4-tbupy	4- <i>terc</i> -butilpiridina
4-vnpy	4-vinilpiridina
5-mebipy	5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina (5-mebipy)
Å	Angstrom, 10^{-8} centímetros
azpy	arilazopiridina
Azpy	2-(fenilazo)piridina
bipy	2,2'-bipiridina
BzCN	benzonitrila
CHN	Teor de carbono, hidrogênio e nitrogênio
<i>cis</i> -5-mebipy	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(5-mebipy)]

cNOS	Óxido nítrico sintetase constitutiva
DEMEM	Dulbecco's modified Eagle's medium
DFT	<i>Density functional theory</i>
dmba	N,N-dimetilbenzilamina
DNA	ácido desoxirribonucléico
dppb	1,4-bis(difenilfosfina)butano
dppe	1,2-bis(difenilfosfina)etano
dppf	1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno
dppm	Bis(difenilfosfina)metano
dppp	1,3-bis(difenilfosfina)propano
E	Potencial
$E_{1/2}$	Potencial de meia onda
EDRF (FRED)	Fator relaxante endotélio dependente
Edta	Etilenodiaminotetraacético
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
f	Banda de intensidade fraca no IV
F	Banda de intensidade forte no IV
<i>Fac</i>	Isômero facial
Fen	1,10-fenantrolina
HPz	Pirazol
Hz	Hertz, ciclos por segundo
IC_{50}	Concentração da droga requerida para redução de 50% do crescimento celular em relação ao controle
IL	Transições inter e intraligantes
Im (Him)	Imidazol
ImH^+	Íon imidazolium
ind	Indazol
$indH^+$	Íon Indazolium
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento, em Hz (RMN)

JM-216	Satraplatina
L	Representa um ligante genérico
L-L	Ligante bidentado genérico
LUMO	Lower unoccupied molecular orbital
m	Banda de intensidade média no IV
M	Átomo de metal central em um complexo
<i>mer</i>	Isômero meridional
mM	milimol
MRI	Magnetic resonance imaging
MTT	3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)2,5-Difenil Brometo de Tetrazolium
mV	Milivolts
NAMI	New Anti-tumor Metastasis Inhibitor
NH ₃	Amônia
nm	Nanômetro
N-N	Ligante N-heterocíclico bidentado genérico
NOS	Óxido nítrico sintetase
P	Fósforo
P(OR) ₃	Fosfito genérico
pH	Potencial hidrogeniônico
Ph	Grupo fenil, C ₆ H ₅
pic	Picolinato
P-P	Fosfina diterciária, bifosfina
PPh ₃	Trifenilfosfina
PR ₃	Fosfina genérica
PTA	1,3,5-triaza-7-fosfaadamantano
PTBA	Perclorato de tetrabutylamônio
py	Piridina
REMA	<i>Rezasurin Microtiter Assay</i>
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RPE	Ressonância paramagnética eletrônica

SFB	Soro Fetal Bovino
SFB	Soro fetal bovino
Sh	Ombro
SpymMe ₂	4,6-Dimetil-2-Mercaptopirimidina
TCLM	Transferência de carga ligante - metal
TCML	transferência de carga metal - ligante
Terpy	2,2':6',2"-terpiridina
TMS	Tetrametilsilano
tz	<i>bis</i> -3-nitro-1,2,4-triazol-1il
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UV/vis	Ultravioleta / visível
VC	Voltametria Cíclica
X	Halogênio
λ	Comprimento de onda (nm)
μA	microampére
μScm^{-1}	Microsiemens por centímetro
ρ_w	Oscilação (wag)

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1. Valores de IC ₅₀ (mM) para as linhagens de células leucêmicas T2 (sensível ao cisplatina) e SKOV3 (resistente ao cisplatina).....	19
TABELA 1.2. Valores de IC ₅₀ (mM) para as linhagens de células de câncer ovariano (2008), cervical (A431), pulmonar (A549), melanoma (A375) e leucemia (HL60).....	19
TABELA 1.3. Valores de IC ₅₀ para complexos fosfínicos contra adenocarcinoma mamário, em μM.....	20
TABELA 1.4. Valores de IC ₅₀ para o <i>cis</i> -(Cl,Cl)-[RuCl ₂ (terpy)(NO)]Cl e compostos similares contra linhagem de células A2780 e A2780 <i>cisR</i> obtidos em soluções de DMSO.....	25
TABELA 1.5. Valores de MIC (μg/mL e μM) da atividade antimicrobacteriana de complexos de rutênio, e isoniazida.....	27
TABELA 4.1. Valores de deslocamento químico para os compostos de fórmula geral <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(X-bipy)] e os respectivos valores de pKa das bipyridinas livres.....	44
TABELA 4.2. Valores de E _{1/2} para compostos com fórmula geral <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(X-bipy)] e o pKas de seus respectivos ligantes bipyridínicos.....	46
TABELA 4.3. Bandas observadas nos espectros eletrônicos do <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(5-mebipy)] e <i>cis</i> -[RuCl ₂ (5-mebipy) ₂]; solvente CH ₂ Cl ₂ . λ, nm; εx10 ⁴ mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹	48
TABELA 4.4. Deslocamentos químicos dos compostos <i>cis</i> -[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆ , em CH ₂ Cl ₂	50

TABELA 4.5: Viscosidade dos solventes C ₃ H ₆ O, CHCl ₃ e CH ₂ Cl ₂ em centipoints*; T=20° C.....	53
TABELA 4.6. Medidas de Condutividade Molar para os complexos da série [RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)] ⁺	55
TABELA 4.7. Parâmetros eletroquímicos dos complexos <i>cis</i> -[RuCl(L)(dppb)(5- mebipy)]PF ₆ e pKas de seus ligantes piridínicos monodentados.....	58
TABELA 4.8. Dados dos espectros eletrônicos dos compostos de fórmula geral <i>cis</i> -[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)] ⁺ e do <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(5-mebipy)]; solvente CH ₂ Cl ₂ . λ, nm; εx10 ⁻⁴ mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹	60
TABELA 4.9. Dados cristalográficos, parâmetros de raios X e resultados de refinamento dos complexos <i>cis</i> -[RuCl(4-vnpy)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆ , <i>cis</i> -[RuCl(4- pic)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆ e <i>cis</i> -[RuCl(4-phpy)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	63
TABELA 4.10. Distâncias de ligação dos complexos <i>cis</i> -[RuCl(L)(dppb)(5- mebipy)]PF ₆	65
TABELA 4.11. Valores de deslocamentos químicos e constantes de acoplamento para os compostos <i>cis</i> -[RuCl(NO ₂)(dppb)(5-mebipy)] e <i>cis</i> -[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5- mebipy)].....	66
TABELA 4.12. Bandas observadas nos espectros eletrônicos dos compostos <i>cis</i> - [RuCl ₂ (dppb)(5-mebipy)], <i>cis</i> -[Ru(NO ₂) ₂ (5-mebipy) ₂], <i>cis</i> -[RuCl(NO ₂)(dppb)(5- mebipy)] e <i>cis</i> -[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5-mebipy)]; em CH ₂ Cl ₂ . λ, nm; εx10 ⁻⁴ mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹ 1	68
TABELA 4.13. Freqüências dos estiramentos do NO ₂ ⁻ para o [RuCl(NO ₂)(dppb)(5-mebipy)] e [Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5-mebipy)], em cm ⁻¹	71
TABELA 4.14. Dados cristalográficos, parâmetros de raios X e resultados de refinamento do complexo <i>cis</i> -[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5-mebipy)].....	73

TABELA 4.15: Distâncias de ligação e ângulos do <i>cis</i> -[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5-mebipy)].....	74
TABELA 4.16: Potenciais redox observados nos experimentos eletroquímicos dos complexos <i>cis</i> -[RuCl(NO ₂)(dppb)(5-mebipy)] e <i>cis</i> -[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5-mebipy)], em mV.....	76
TABELA 4.17. Valores de deslocamentos químicos e constantes de acoplamento para compostos do tipo <i>ct</i> -[RuClNO(dppb)(N-N)] ²⁺	81
TABELA 4.18. Principais modos vibracionais para compostos de fórmula geral [RuCl(NO)(dppb)(N-N)] ²⁺ em cm ⁻¹	86
TABELA 4.19. Bandas observadas no espectro eletrônico para <i>ct</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂ em CH ₂ Cl ₂ ; solvente CHCl ₃ . λ, nm; εx10 ⁻⁴ mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹	88
TABELA 4.20. Valores de deslocamentos químicos e constantes de acoplamento para compostos do tipo [RuClNO(dppb)(5-mebipy)] ²⁺	100
TABELA 4.21. Bandas observadas no espectro eletrônico para <i>cc</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂ em CH ₂ Cl ₂ ; λ, nm; εx10 ⁻⁴ mol ⁻¹ .L.cm ⁻¹	102
TABELA 4.22. Principais modos vibracionais para compostos de fórmula geral [RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)] ²⁺ em cm ⁻¹	103
TABELA 5.1:Valores de IC ₅₀ encontrados nos ensaios <i>in vitro</i> de citotoxicidade.....	108
TABELA 5.2: Valores de MIC encontrados para os compostos testados <i>in vitro</i> contra <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	109

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1: Estrutura química da Bleomicina (BERTINI <i>et al.</i> , 1994).....	2
FIGURA 1.2: Estruturas químicas dos compostos de platina disponíveis comercialmente: Cisplatina (a); Carboplatina (b); Oxaliplatina (c); Nedaplatina (d); Lobaplatina (e); e Heptaplatina(f).....	6
FIGURA 1.3: Mecanismo de hidrólise do cisplatina em solução aquosa.....	7
FIGURA 1.4 Representação da estrutura de raios X do aduto formado pela interação entre cisplatina e DNA.....	8
FIGURA 1.5: Estrutura do Satraplatina (A) e do JM-118 (B).....	9
FIGURA 1.6: Fórmulas químicas do ICR e KP1019.....	11
FIGURA 1.7: Estruturas dos compostos NAMI e NAMI-A.....	13
FIGURA 1.8: Estruturas dos complexos $[RuCl_2(azpy)_2]$ (<i>azpy</i> = 2-fenilazo-piridina), a: α ; b: β e c: γ	15
FIGURA 1.9: (a) Estrutura geral de areno-complexos de rutênio do tipo “ <i>piano-stool</i> ”; (b) e (c) Exemplos de areno-complexos de rutênio citotóxicos; (d) Areno-complexos de rutênio (II) contendo iodo e fenilazopiridina.....	16
FIGURA 1.10: Estruturas dos compostos aurofina (a) e $[Au(dppe)_2]Cl$ (b).....	17
FIGURA 1.11: Possível etapa de mecanismo de ação; abertura do anel e atuação da parte livre da difosfina.....	18

FIGURA 1.12: Representação das interações metal-ligante: 1=ligação σ ; 2=retrodoação π	21
FIGURA 1.13. Ângulo de cone de Tolman para PR_3	21
FIGURA 1.14: Representação da síntese do NO <i>in vivo</i> (IGNARRO, 2000).....	23
FIGURA 1.15: Estruturas dos compostos (a) $[RuCl_3(terpy)]$ e (b) <i>cis</i> -(Cl,Cl)- $[RuCl_2(terpy)(NO)]Cl$	25
FIGURA 2.1. Representação das estruturas dos isômeros de complexos de NO: (a) NO posicionado <i>trans</i> ao fósforo ou <i>ct</i> e (b) NO <i>trans</i> ao nitrogênio ou <i>cc</i>	28
FIGURA 3.1: Exemplo de um resultado de MIC obtido através da técnica de REMA.....	35
FIGURA 4.1: Espectro de $^{31}P\{^1H\}$ RMN do <i>cis</i> - $[RuCl_2(dppb)(5-mebipy)]$, em CH_2Cl_2	43
FIGURA 4.2. Representação das possíveis geometrias dos compostos de fórmula geral <i>cis</i> - $[RuCl_2(P-P)[N-N]$ sendo (A) P <i>trans</i> N; (B) P <i>trans</i> P e (C) P <i>trans</i> Cl.....	44
FIGURA 4.3: Voltametria cíclica (a) e voltametria de pulso diferencial (b) do complexo <i>cis</i> - $[RuCl_2(dppb)(5-mebipy)]$; eletrólito PTBA $0,1\ mol\cdot L^{-1}$ em CH_2Cl_2 vs. Ag/AgCl.....	45
FIGURA 4.4: Gráfico dos $E_{1/2}$ dos complexos de fórmula geral <i>cis</i> - $[RuCl_2(dppb)(4-$ $X-bipy)]$ versus os pKas dos ligantes bipyridínicos livres.....	46
FIGURA 4.5. Espectros eletrônicos do <i>cis</i> - $[RuCl_2(dppb)(5-mebipy)]$ em CH_2Cl_2 . (a) $C=5\cdot 10^{-4}\ mol\cdot L^{-1}$; (b) $C=1,25\cdot 10^{-4}\ mol\cdot L^{-1}$	47
FIGURA 4.6: Ressonância magnética nuclear de $^{31}P\{^1H\}$ dos complexos da série <i>cis</i> - $[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF_6$ em CH_2Cl_2 : (a) L=py; (b) L=4-phpy; (c) L=4- vnpy; (d) L=4-pic; (e) 4- <i>t</i> -bupy e (f) 4-ampy.....	49
FIGURA 4.7. Espectros de RMN $^{31}P\{^1H\}$ com variação de temperatura do complexo <i>cis</i> - $[RuCl(4-pic)(dppb)(bipy)]PF_6$ em CD_2Cl_2	51

FIGURA 4.8. Espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ com variação de temperatura do complexo <i>cis</i> -[RuCl(4-pic)(dppb)(bipy)]PF ₆ em CDCl ₃	52
FIGURA 4.9. Espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo <i>cis</i> -[RuCl(4-pic)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆ , variando os solventes. (a) em acetona; (b) em clorofórmio e (c) em diclorometano, T = 20°C.....	53
FIGURA 4.10. Espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ com variação de temperatura do complexo <i>cis</i> -[RuCl(4-pic)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆ em CDCl ₃	54
FIGURA 4.11. Voltametria cíclica dos complexos <i>cis</i> -[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆ em PTBA 0,1 mol·L ⁻¹ em CH ₂ Cl ₂ vs. Ag/AgCl. (a) L=py; (b) L=phpy; (c) L=vnpy, (d) L=pic (e) L= <i>t</i> -bupy e (f) L=ampy.....	56
FIGURA 4.12. Voltametria de pulso diferencial dos complexos <i>cis</i> -[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆ em PTBA 0,1 mol·L ⁻¹ em CH ₂ Cl ₂ vs. Ag/AgCl. (a) L=py; (b) L=phpy; (c) L=vnpy, (d) L=pic (e) L= <i>t</i> -bupy e (f) L=ampy.....	57
FIGURA 4.13. Correlação entre os valores de E _{1/2} dos complexos de fórmula geral [RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆ (L=ligantes N-heterocíclicos monodentados) e os valores de pKa dos ligantes livres.....	59
FIGURA 4.14: Espectros de absorção na região do UV-vis para os complexos de fórmula geral <i>cis</i> -[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆ em CH ₂ Cl ₂ , (i) L=py; (ii) L=phpy; (iii) L=vnpy, (iv) L=pic (v) L= <i>t</i> -bupy e (vi) L=ampy. (a) C=5 x10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹ ; (b) C=1,25 x10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹	59
FIGURA 4.15. Representações ORTEP das estruturas cristalográficas dos complexos [RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆ (a) L=4-vnpy; (b) L=4-pic; (c) L=4-phpy mostrando a numeração dos átomos e as elipsóides a 30% de probabilidade.....	62
FIGURA 4.16. Ressonância magnética nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para os complexos (a) <i>cis</i> -[RuCl(NO ₂)(dppb)(5-mebipy)] em CHCl ₃ e (b) <i>cis</i> -[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5-mebipy)] em CH ₂ Cl ₂	66

FIGURA 4.17: Espectros de absorção na região do UV/VIS para (i) <i>cis</i> -[RuCl(NO ₂)(dppb)(5-mebipy)] e (ii) <i>cis</i> -[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5-mebipy)] em CHCl ₃ . (a) C=5,00 x10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹ ; (b) C=1,25 x10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹	68
FIGURA 4.18. Modos de coordenação do NO ₂ ⁻ : (a) complexo Nitro; (b) complexo Nitrito; (c) Nitrito complexo quelato. (d) complexos-ponte.....	69
FIGURA 4.19. Espectros vibracionais na região do infravermelho dos compostos [RuCl(NO ₂)(dppb)(5-mebipy)] (a) e [Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5-mebipy)] (b) em pastilhas de KBr.....	70
FIGURA 4.20. Representações ORTEP da estrutura cristalográfica do complexo <i>cis</i> -[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5-mebipy)], mostrando a numeração dos átomos e as elipsóides a 30% de probabilidade.....	72
FIGURA 4.21. Voltamogramas cíclicos e de pulso diferencial dos complexos (a) <i>cis</i> -[RuCl(NO ₂)(dppb)(5-mebipy)] e (b) <i>cis</i> -[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5-mebipy)] em PTBA 0,1 mol.L ⁻¹ em CH ₂ Cl ₂ vs. Ag/AgCl.....	75
FIGURA 4.22. Voltamogramas cíclicos dos complexos (a) <i>cis</i> -[RuCl(NO ₂)(dppb)(5-mebipy)] e (b) <i>cis</i> -[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5-mebipy)], representando separadamente os processos redox do ligante nitro e do centro metálico, em PTBA 0,1 mol.L ⁻¹ em CH ₂ Cl ₂ vs. Ag/AgCl.....	77
FIGURA 4.23. Voltamograma cíclico obtido ao final da eletrólise em 1200 mV do <i>cis</i> -[RuCl(NO ₂)(dppb)(5-mebipy)]; solução de PTBA 0,1 mol.L ⁻¹ em CH ₂ Cl ₂ vs. Ag/AgCl.....	78
FIGURA 4.24: ³¹ P{ ¹ H} RMN para o produto da eletrólise oxidativa do <i>cis</i> -[RuCl(NO ₂)(dppb)(5-mebipy)], em CH ₂ Cl ₂	78
FIGURA 4.25: ³¹ P{ ¹ H} RMN para o <i>cis</i> -[RuCl(NO ₃)(dppb)(5-mebipy)], em acetona.....	79

FIGURA 4.26: Voltametria de pulso diferencial para o <i>cis</i> -[Ru(NO ₃) ₂ (dppb)(5-mebipy)] em PTBA 0,1 mol·L ⁻¹ em CH ₂ Cl ₂ vs. Ag/AgCl.....	80
FIGURA 4.27. RMN de ³¹ P{ ¹ H} do <i>ct</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂ , em CH ₂ Cl ₂	81
FIGURA 4.28. Correlação entre os valores de δP _A dos complexos de fórmula geral [RuClNO(dppb)(N-N)] ²⁺ vs. pKa dos ligantes N-heterocíclicos.....	82
FIGURA 4.29. Espectro de RMN ³¹ P{ ¹ H} do <i>mer</i> -[RuCl ₃ (¹⁵ NO)(dppb)] em CH ₂ Cl ₂	82
FIGURA 4.30: Possíveis geometrias de ligação do NO coordenado a um centro metálico.....	83
FIGURA 4.31: Representação da ligação de valência na ligação metal-nitrosil. (a) envolvendo NO ⁺ e (b) envolvendo NO ⁻	84
FIGURA 4.32: Ilustração da retrodoação na ligação entre o centro metálico e o NO.....	85
FIGURA 4.33. Espectro de IV do <i>ct</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂ em pastilha de KBr.....	85
FIGURA 4.34. Correlação entre os valores de νNO encontrados para os compostos da série [RuClNO(dppb)(X-bipy)] ²⁺ e o pKa dos ligantes bipyridínicos livres.....	87
FIGURA 4.35: Espectro de absorção na região do UV/vis para <i>ct</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂ em CHCl ₃ . C=1,25 x10 ⁻⁴ mol·L ⁻¹	87
FIGURA 4.36. Voltametria cíclica (a) e voltametria de pulso diferencial (b) do complexo <i>ct</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂ em PTBA 0,1 mol·L ⁻¹ em CH ₃ CN vs. Ag/AgCl.....	89
FIGURA 4.37: Voltamogramas de pulso diferencial do <i>ct</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂ (a) após várias varreduras; (b) Partindo de potencial acima do	

potencial de redução do NO coordenado, em PTBA 0,1 mol·L ⁻¹ em CH ₃ CN vs. Ag/AgCl.....	91
FIGURA 4.38: Voltamogramas de pulso diferencial do <i>ct</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂ . Em azul: Faixa de varredura -1000 mV a 1500 mV; Em preto: Faixa de varredura -500 mV à 1500 mV, em PTBA 0,1 mol·L ⁻¹ em CH ₃ CN vs. Ag/AgCl.....	92
FIGURA 4.39. Voltamograma cíclico do <i>cc</i> -[RuCl(CH ₃ CN)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆ obtido após a eletrólise redutiva em 300 mV do <i>ct</i> -[RuClNO(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂ , em PTBA 0,1 mol·L ⁻¹ em CH ₃ CN vs. Ag/AgCl.....	93
FIGURA 4.40. Representação das estruturas dos isômeros obtidos com ligantes do tipo NCR (acetonitrila ou benzonitrila): (a) posicionado <i>trans</i> ao fósforo ou <i>ct</i> e (b) <i>trans</i> ao nitrogênio ou <i>cc</i>	94
FIGURA 4.41: Espectro de ³¹ P{ ¹ H} RMN do <i>cc</i> -[RuCl(CH ₃ CN)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆ obtido ao final da eletrólise do <i>ct</i> -[RuClNO(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂ em CH ₃ CN.....	94
FIGURA 4.42: Espectro de ³¹ P{ ¹ H} RMN do <i>ct</i> -[RuClNO(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂ em CH ₃ CN, mostrando a formação do isômero <i>cc</i> -[RuCl(CH ₃ CN)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	95
FIGURA 4.43. Espectro de ³¹ P{ ¹ H} RMN do <i>cc</i> -[RuCl(CH ₃ CN)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆ em CH ₂ Cl ₂	96
FIGURA 4.44. Espectro de ³¹ P{ ¹ H} RMN para o <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(5-mebipy)] em CH ₃ CN.....	97
FIGURA 4.45: Voltamogramas cíclico (a) e de pulso diferencial (b) para o <i>cc</i> -[RuCl(CH ₃ CN)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆ , em PTBA 0,1 mol·L ⁻¹ em CH ₃ CN vs. Ag/AgCl.....	98
FIGURA 4.46. Ressonância magnética nuclear de ³¹ P{ ¹ H} do complexo <i>cc</i> -	

[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂ em CH ₂ Cl ₂	100
FIGURA 4.47: Espectro de absorção na região do UV/vis para <i>cc</i> - [RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂ em CHCl ₃ . C=1,25 x10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹	101
FIGURA 4.48. Espectro na região do IV do composto <i>ct</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5- mebipy)](PF ₆) ₂ em pastilha de KBr.....	102
FIGURA 4.49. Voltametria cíclica (a) faixa de -1000 mV a 1600 mV (b) faixa de 0 mV a 1600 mV e (c) faixa de 0 mV a 600 mV do complexo <i>cc</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5- mebipy)](PF ₆) ₂ em PTBA 0,1 mol.L ⁻¹ em CH ₃ CN vs. Ag/AgCl.....	105
FIGURA 4.50. Voltamograma de pulso diferencial para o produto da eletrólise. Solvente acetonitrila, velocidade de varredura 100 mV.s ⁻¹ em PTBA 0,1 mol.L ⁻¹ vs. Ag/AgCl.....	106
FIGURA 5.1: Gráficos de viabilidade celular dos compostos avaliados contra as linhagens de células (a) MDA-MB231 e (b) K562.....	107

RESUMO

“COMPLEXOS FOSFÍNICOS DE RUTÊNIO CONTENDO OS LIGANTES NITRITO, NITROSILO OU PIRIDÍNIAS, COM ATIVIDADES ANTITUMORAIS E ANTITUBERCULOSE.”

Neste trabalho, uma série de complexos *cis*-[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ (L=piridina, 4-metilpiridina, 4-fenilpiridina, 4-vinilpiridina, 4-*terc*-butilpiridina e 4-aminopiridina); o *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)], o *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)], o *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂, e o *cc*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ [dppb = 1,4-*bis*(difenilfosfina)butano e 5-mebipy = 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina] foram sintetizados e caracterizados por análise elementar, espectroscopia nas regiões do IR e UV/Vis, voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial, RMN ³¹P{¹H}, condutividade molar, e quando foi o caso, por difração de raios X.

Observou-se que para os complexos *cis*-[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ o E_{1/2} diminuía com o aumento do pKa do ligante L. Para o *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] e o *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)] complexos, os dados de IV sugerem que as espécies NO₂⁻ se coordenaram ao metal pelo nitrogênio formando nitro-complexos. Isto foi confirmado pela determinação da estrutura de raios X do complex *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)], no qual, de fato os ligantes nitrito estão coordenados pelo nitrogênio.

A eletrólise do complexo *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ em 300 mV formou o composto *ct*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ (CH₃CN *trans* ao fósforo), o qual isomeriza para o complexo *cc*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ (CH₃CN *trans* ao nitrogênio), o produto final do processo. Foi mostrado que estes isômeros são formados pela dissociação do NO do *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ sem aplicação de nenhum potencial. Este processo foi acompanhado por experimentos de ³¹P{¹H} RMN, nos quais ambos os isômeros foram detectados, e após alguns minutos apenas o isômero *cc* encontrava-se presente em solução.

Os ensaios biológicos mostraram que os complexos sintetizados neste trabalho são ativos contra células tumorais MDA-MB 231 e K-562 e apresentam propriedades antituberculose.

ABSTRACT

“PHOSPHINE RUTHENIUM COMPLEXES CONTAINING THE LIGANDS NITRITE, NITROSYL OR PYRIDINES WITH ANTITUMORAL AND ANTITUBERCULOSIS ACTIVITIES.

In this work, a series of *cis*-[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ (L=pyridine, 4-methylpyridine, 4-phenylpyridine, 4-vinylpyridine, 4-*tert*-butylpyridine and 4-aminopyridine); the *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)], the *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)], the *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂, and the *cc*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ [dppb = 1,4-bis(diphenylphosphino)butane and 5-mebipy = 5,5'-dimethyl-2,2'-bipyridine] were synthesized and characterized by means of elemental analysis, IR/UV/Vis spectroscopies, cyclic voltammetry, pulse differential voltammetry, NMR ³¹P{¹H}, molar conductivity, and when was the case, by X-ray crystallography.

It was showed that for the *cis*-[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ complexes the E_{1/2} values decrease with the increase of the pK_a of the L ligand. For the *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] and *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)] complexes, the IR data suggested that the NO₂⁻ species are coordinated to the metal throughout the nitrogen forming nitro complexes. This was confirmed by the determination of the X-ray structure of the *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)] complex, in which, the nitrite ligands are coordinated to the ruthenium throughout the nitrogen.

The electrolysis of the *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ complex at 300 mV produces the *ct*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ compound (CH₃CN trans the phosphorus), which isomerizes to the *cc*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ complex (CH₃CN trans the nitrogen), the final product of the process. It was showed that these isomers are formed by the nitrosyl dissociation of the NO from the *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ complex without any potential application. This process was followed by ³¹P{¹H} experiments, in which both isomers were detected, and after a few minutes only the *cc* isomer was present in the solution.

The biological assays showed that the complexes synthesized in this work are active against MDA-MB 231 and K-562 tumor cells and present anti-tuberculosis properties.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	iv
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	xi
RESUMO.....	xviii
ABSTRACT.....	xix
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Câncer e estratégias de entrega de pró-fármacos.....	3
1.2 Compostos contendo platina como agentes citotóxicos.....	5
1.3 Compostos contendo rutênio como agentes quimioterápicos.....	11
1.4 Complexos fosfínicos e quimioterapia.....	17
1.5 Óxido nítrico.....	22
1.6 Tuberculose.....	26
2. OBJETIVOS.....	28

3. PARTE EXPERIMENTAL.....	29
3.1 Obtenção de atmosfera inerte.....	29
3.2 Solventes Orgânicos.....	29
3.3 Reagentes e soluções.....	29
3.3.1 Tricloreto de rutênio.....	29
3.3.2 Ligantes utilizados.....	29
3.3.3 Hexafluorofosfato de potássio e ácidos utilizados.....	29
3.4 EQUIPAMENTOS E TÉCNICAS EXPERIMENTAIS.....	30
3.4.1 Análise Elementar.....	30
3.4.2 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho.....	30
3.4.3 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível....	30
3.4.4 Eletroquímica.....	30
3.4.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	30

3.4.6 Condutância Molar.....	31
3.4.7 Difração de Raios X.....	31
3.4.8 Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i>	31
3.4.8.1 Linhagens de células e condições de cultura.....	31
3.4.8.2 Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i>	32
3.4.9 Ensaio de atividade <i>in vitro</i> contra <i>M. tuberculosis</i> H37Rv.....	33
3.4.9.1 CEPAS de <i>M. Tuberculosis</i>	34
3.4.9.2 Determinação da atividade anti- <i>M. tuberculosis in vitro</i>	34
3.5 Sínteses dos Precursores.....	35
3.5.1 $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$	35
3.5.2 $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})\text{PPh}_3]$	36
3.5.3 <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$ (<i>cis</i> -5-mebipy).....	36

3.6 Sínteses dos complexos da série <i>cis</i> -[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆ (L= piridina, 4-picolina, 4-fenilpiridina, 4-vinilpiridina, 4- <i>terc</i> -butilpiridina e 4-aminopiridina).....	36
3.6.1 L = Piridina.....	36
3.6.2 L = 4-Fenilpiridina.....	37
3.6.3 L = 4-Vinilpiridina.....	37
3.6.4 L = 4-Metilpiridina (4-Picolina).....	38
3.6.5 L = 4- <i>Terc</i> -butilpiridina.....	38
3.6.6 L = 4-Aminopiridina.....	39
3.7 Síntese do complexo <i>cis</i> -[RuCl(NO ₂)(dppb)(5-mebipy)].....	39
3.8 Síntese do complexo <i>cis</i> -[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5-mebipy)].....	39
3.9 Síntese do complexo <i>ct</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂	40
3.10 Síntese do complexo <i>cc</i> -[RuCl(MeCN)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	40
3.11 – Síntese do complexo <i>cc</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂	41
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	42

4.1 <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(5-mebipy)].....	42
4.1.1 ³¹ P{ ¹ H} RMN.....	42
4.1.2 Voltametria cíclica e de pulso diferencial.....	45
4.1.3 Espectroscopia de absorção na região do UV/vis.....	47
4.2 <i>cis</i> -[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆ L=(py, 4-pic, 4-vnpy, 4-phpy, 4- t b upy e 4-ampy).....	49
4.2.1 ³¹ P { ¹ H} RMN.....	49
4.2.2 Medidas de Condutividade Molar.....	55
4.2.3 Voltametria cíclica e de pulso diferencial.....	55
4.2.4 Espectroscopia de absorção na região do UV/vis.....	59
4.2.5 Difração de Raios X.....	61
4.3 <i>cis</i> -[RuCl(NO ₂)(dppb)(5-mebipy)] e <i>cis</i> -[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5-mebipy)].....	65
4.3.1 ³¹ P { ¹ H} RMN.....	67
4.3.2 Espectroscopia de absorção na região do UV/vis.....	69

4.3.3 Espectros de absorção na região do infravermelho.....	72
4.3.4 Difração de raios X.....	75
4.3.5 Voltametria cíclica e de pulso diferencial.....	72
4.4 <i>ct</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂	80
4.4.1 ³¹ P { ¹ H} RMN.....	80
4.4.2 Medidas de Condutividade Molar.....	83
4.4.3 Espectros de absorção na região do infravermelho.....	83
4.4.4 Espectroscopia de absorção na região do UV/vis.....	87
4.4.5 Voltametria cíclica e de pulso diferencial.....	88
4.5 <i>cc</i> -[RuCl(CH ₃ CN)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆).....	96
4.5.1 ³¹ P{ ¹ H} RMN.....	96
4.5.2 Voltametria cíclica e de pulso diferencial.....	98
4.5.3 Medidas de condutividade molar.....	99

4.6 $cc-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF_6)_2$	99
4.6.1 $^{31}P \{^1H\}$ RMN.....	99
4.6.2 Medidas de condutividade molar.....	100
4.6.3 Espectroscopia de absorção na região do UV/vis.....	101
4.6.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.....	102
4.6.5 Voltametria cíclica e de pulso diferencial.....	103
5. ENSAIOS PRELIMINARES DE CITOTOXICIDADE E ATIVIDADE CONTRA <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	107
5.1 Ensaio de citotoxicidade.....	107
5.2 Ensaio de atividade antituberculose.....	108
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	110
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	113

1. INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento da química de coordenação foi e está sendo possível compreender as formas como metais de transição desempenham suas funções em sistemas biológicos. Apesar de certo preconceito imbuído ao uso de metais de transição na medicina, pelas indústrias farmacêuticas e pela sociedade, têm sido desenvolvidas estratégias utilizando compostos de coordenação contendo metais essenciais, ou não, como agentes de diagnósticos e terapêuticos (BERTINI *et al.*, 1994). É comum o uso de complexos de gadolínio, de ^{99m}Tc e outros isótopos de vida curta como radiofármacos no diagnóstico por Imagem por Ressonância Magnética (*Magnetic Resonance Imaging - MRI*) de tumores, órgãos e tecidos (ELDER, 1987; LAUFER, 1987; MATHIAS, 1988).

Metais, especialmente de transição, apresentam vantagens sobre compostos orgânicos no desenvolvimento de fármacos, incluindo a propriedade de apresentarem uma variedade de números de oxidação acessíveis em sistemas biológicos e possibilidade de se modificar a termodinâmica e cinética de substituição de ligantes. Ademais, apresentam uma grande diversidade estrutural (VAN RIJT & SADLER, 2009).

Como agentes terapêuticos contendo metais podem ser destacados os complexos fosfínicos de ouro na crisoterapia (SUTTON, 1972; DASH & SCHIMDBAUER, 1982; ELDER, 1987) e os antitumorais contendo platina como centro metálico (ROSENBERG, 1969; CLEARE & HOESCHELE, 1973). Também podem ser citados antibióticos orgânicos dependentes de metais como a bleomicina (FIGURA 1.1) que requer a presença de ferro ou outros metais para atividade (HECHT, 1979; DABROWIAK, 1982).

1.1 Câncer e estratégias de entrega de pró-fármacos

O câncer é a maior causa de mortes no mundo. Atualmente estima-se que, sem intervenção, entre 2005 e 2015 o número de mortes por tal doença chegará a 84 milhões. Câncer mata mais pessoas por ano que a AIDS, a malária e a tuberculose juntas, segundo dados da OMS (<http://www.who.int>). Atualmente, há mais de 24 milhões de pacientes com câncer e acredita-se que o número de novos casos por ano aumente de 10,9 milhões em 2002, para 16 milhões em 2020, sendo que metade dos casos de câncer ocorrem em países em desenvolvimento como o Brasil (BUSTAMANTE *et al.*, 2009; <http://www.who.int>). Tais dados mostram a importância de pesquisas com o objetivo de desenvolver novos fármacos antineoplásicos e, para tanto, é necessário compreender a fisiologia do alvo tumoral (BUSTAMANTE *et al.*, 2009).

Doença com longo período de evolução, podendo levar anos para ser diagnosticada, o câncer é uma patologia ocasionada por mutações do DNA, sendo descrita por crescimento e divisão anômalos de uma população de células que acabam por invadir e destruir tecidos adjacentes (DENIS & ANTONIO, 2006). As células mutantes podem se espalhar pelo corpo do paciente, fenômeno este denominado metástase (CECIL, 2005). Os processos de divisão celular e de apoptose, tanto de células saudáveis como daquelas cancerosas, são bastante semelhantes sendo a diferença principal entre estes tipos de células a regularidade de funções e ciclos daquelas ditas saudáveis, enquanto que as tumorais perdem o controle genético e proliferam-se descontroladamente. Conseqüentemente, devido à sua proliferação desgovernada, estas se acumulam no organismo invadindo ou comprimindo estruturas normais adjacentes, já que o defeito genético é repassado para as subseqüentes gerações de células (KATZUNG, 1994; HOLLAND & FREI, 2000; KOSTOVA, 2006). Várias são as origens do câncer, como por exemplo, erros randômicos de replicação, reparo defeituoso do DNA, bem como exposição a agentes carcinogênicos (LEHNINGER & NELSON, 1995).

Um dos maiores desafios enfrentados no desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos é a entrega destes fármacos ao seu alvo biológico (fase farmacocinética) (VAN RIJT & SADLER, 2009). Estes devem ser adequados para interagir com o alvo biológico, porém não tão reativos ao ponto de não serem desativados por interação com as várias moléculas encontradas em seu percurso

até o alvo (VAN RIJT & SADLER, 2009). Uma estratégia para tanto é o desenvolvimento de pró-fármacos, que são compostos que sofrem transformações *in vivo* para gerar a espécie ativa. Para pró-fármacos contendo metais a ativação dos mesmos pode se dar por: 1) Processos fotoquímicos; 2) Por processos de oxidação ou redução do centro metálico ou de um ligante; 3) Substituição de ligantes (FARRER & SADLER, 2008; VAN RIJT & SADLER, 2009). Para avaliar se o candidato a fármaco é promissor é necessário conhecer certas características do composto, tais como velocidades de substituição de ligantes, potenciais redox e suas características fotoquímicas, por exemplo. Para que um pró-fármaco seja seletivo este deve ser ativado por condições específicas das células tumorais, como o ambiente redutor (hipóxia) das células e o pH no interior destas (VAN RIJT & SADLER, 2009).

A ativação de um pró-fármaco pode se dar por meios fotoquímicos, cuja vantagem de se usar luz como estímulo externo é a possibilidade de tratamento local do tumor, minimizando efeitos colaterais. A pouca penetração na pele de luzes de comprimento de onda curto faz com que as fontes de luz de comprimento de onda longo, entre 600 nm e 900 nm, sejam as mais interessantes clinicamente. Atualmente a terapia fotodinâmica trata prontamente tumores acessíveis como, por exemplo, o câncer de pele. Tal tratamento envolve a administração de um fotosensibilizador não-tóxico e posterior irradiação do local do tumor. Ao ser irradiado, o fotosensibilizador, tipicamente uma porfirina ou metaloporfirina, é excitado e esta energia é transferida ao oxigênio tripleto que se torna a espécie altamente reativa, oxigênio singleto, levando à morte celular (SHARMAN *et al.*, 1999; VAN RIJT & SADLER, 2009).

Pró-fármacos também podem ser ativados por processos redox, algo que não é, geralmente, acessível a fármacos puramente orgânicos, e podem gerar novos fármacos, com novos mecanismos de ação. Isto é possível desde que o metal presente no pró-fármaco possua potenciais redox biologicamente acessíveis (VAN RIJT & SADLER, 2009). Neste aspecto é interessante mencionar que células neoplásicas ocupam menos da metade do volume total do tumor e os vasos sanguíneos preenchem de 1 a 10% de seu volume. O espaço restante é ocupado por colágeno que envolve as células e pode separá-las da vascularização (JAIN, 1994). Apesar do crescimento tumoral ser caracterizado por uma ativa angiogênese (surgimento de novos vasos sanguíneos), normalmente a divisão celular é mais

rápida que esta. A separação das células tumorais dos vasos sanguíneos e a maior divisão celular em relação à geração de novos vasos sanguíneos que geram regiões tumorais pouco oxigenadas, que se tornam eficientes regiões redutoras e, portanto, excelentes alvos para metalofármacos ativados por redução (DENNY & WILSON, 1986; REISNER, *et al.*, 2008; BUSTAMANTE *et al.*, 2009).

Tendo em vista algumas particularidades do câncer e as vantagens do uso de metalofármacos como quimioterápicos, é interessante discutir, ainda que sucintamente, sobre alguns compostos metálicos que têm atingido êxito tanto em testes pré-clínicos como clínicos.

1.2 Compostos contendo platina como agentes citotóxicos

Molécula conhecida desde meados do século dezenove, o *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] tem tido considerável importância no desenvolvimento da estereoquímica inorgânica e cinética de reações de substituição (ROSENBERG, 1980; LIPPARD, 1982). A descoberta de sua bioatividade se deu acidentalmente pelo biofísico Barnett Rosenberg na década de 1960, que então estudava o efeito de campos elétricos no crescimento de culturas de *Escherichia coli* utilizando eletrodos de platina (ROSENBERG *et al.*, 1969). Os pesquisadores observaram um crescimento anômalo das bactérias, que se alongaram sem apresentar divisão celular. Após alguns ensaios os pesquisadores chegaram à conclusão que pequenas porções da platina do eletrodo haviam reagido com o NH₄Cl presente no tampão, formando amino-haletos de platina, dentre eles o cisplatina (ROSENBERG, 1980).

Atualmente o cisplatina é um dos mais valiosos agentes antineoplásicos conhecidos, utilizado no tratamento de vários tipos de câncer, tais como testicular, ovariano, de cabeça e pescoço, além de apresentar efeito paliativo no tratamento de diversos outros tumores sólidos (WONG, 1999; McEVOY, 2000; DESOIZE & MADOULET, 2002; BOULIKAS & VOUGIOUKA, 2003). Apesar do sucesso terapêutico do cisplatina alguns problemas decorrentes de seu uso como quimioterápico foram observados, dentre eles sua pequena seletividade para células malignas, elevada nefrotoxicidade e danos ao sistema nervoso periférico e auditivo (DESOIZE & MADOULET, 2002; MARKMAN, 2003). Além do perfil toxicológico desfavorável a inatividade contra algumas neoplasias comuns, como o

adenocarcinoma do cólon, o estreito espectro de atividade e a resistência adquirida por alguns tumores durante o tratamento são alguns obstáculos encontrados no tratamento de tumores com cisplatina (AKYIAMA *et al.*, 1999; DESOIZE & MADOULET, 2002; BOULIKAS & VOUGIOUKA, 2003; SCOLARO, 2005).

Visando sanar ou atenuar tais problemas e inspirados pelo sucesso terapêutico do cisplatina, milhares de outros compostos de platina foram sintetizados e testados como potenciais agentes citotóxicos, culminando na liberação comercial de cinco novos metalofármacos antineoplásicos de Pt(II) (DESOIZE & MADOULET, 2002; BOULIKAS & VOUGIOUKA, 2003; GALANSKI *et al.*, 2005; SCOLARO *et al.*, 2005; GRIFFITH *et al.*, 2007). A FIGURA 1.2 representa as estruturas destes compostos, bem como a estrutura do cisplatina:

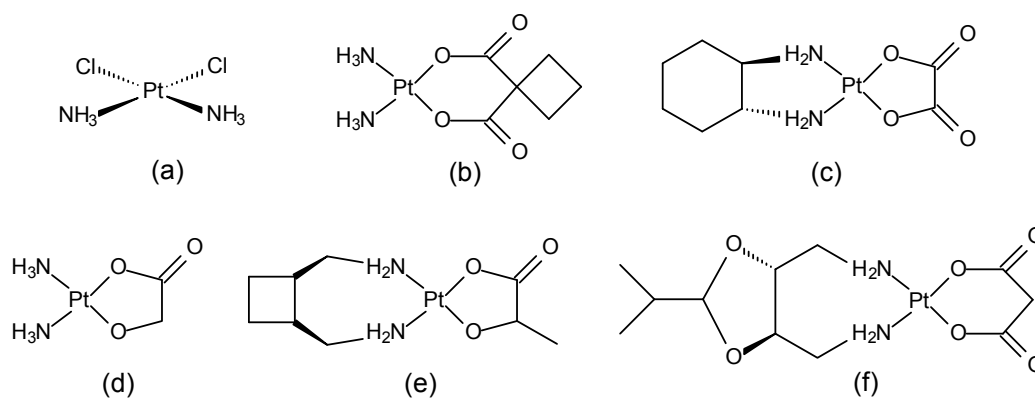


FIGURA 1.2: Estruturas dos compostos de platina disponíveis comercialmente: Cisplatina (a); Carboplatina (b); Oxaliplatina (c); Nedaplatina (d); Lobaplatina (e); e Heptaplatina (f) (GRIFFITH *et al.*, 2007).

Dentre estes somente o carboplatina e o oxaliplatina têm seu uso clínico bem difundido mundialmente, enquanto os demais estão disponíveis apenas em um país cada: nedaplatina no Japão, lobaplatina na China e heptaplatina na Coreia do Sul (DESOIZE & MADOULET, 2002; BOULIKAS & VOUGIOUKA, 2003; GALANSKI *et al.*, 2005). Infelizmente nenhum dos novos fármacos supracitados obteve êxito em sobrepujar seu predecessor, tanto nos aspectos toxicológicos, como clínicos (MOMEKOV & MOMEKOVA, 2006). Nedaplatina e carboplatina apresentam menor nefrotoxicidade que o cisplatina, sendo tal vantagem obtida à expensas de uma atividade reduzida contra células malignas (DESOIZE & MADOULET, 2002). Oxaliplatina não afeta um espectro de tumores tão vasto quanto o cisplatina e, portanto, tem utilidade clínica limitada (BOULIKAS & VOUGIOUKA, 2003;

RAYMOND, *et al.*, 2002). Além do mais, mesmo causando menores danos renais, os novos metalofármacos de Pt(II) apresentam potenciais antitumorais reduzidos ou modificados, quando comparados com o cisplatina, sendo a toxicidade, dose-limitante, substituída por mielosupressão no carboplatina, nedaplatina e lobaplatina, e por severa neuropatia periférica no oxaliplatina (DESOIZE & MADOULET, 2002; RAYMOND, *et al.*, 2002). Por outro lado, o carboplatina apresenta melhor tolerância pelos pacientes e melhor qualidade de vida dos mesmos, sendo considerado uma importante alternativa na quimioterapia padrão de primeira linha em pacientes com câncer ovariano em estágio avançado (du BOIS, *et al.*, 2003).

Com exceção do carboplatina, devido à grande semelhança quanto às suas propriedades bioquímicas e farmacológicas, os novos complexos de Pt(II) não obtiveram êxito em superar as limitações apresentadas pelo cisplatina e ainda manter sua atividade, sendo diferentes entre si quanto à cinética de substituição dos grupos abandonadores (MOMEKOV & MOMEKOVA, 2006). A FIGURA 1.3 apresenta o mecanismo de aquação do cisplatina e dos seus análogos de Pt(II), que após substituir os grupos abandonadores de suas esferas de coordenação, por moléculas de água dentro da célula, estabelecem ligação com o DNA, seguido da ativação dos mecanismos de reparo que levam à apoptose (WONG, 1999; CLARKE, 2003; KLEIN & HAMBLEY, 2009).

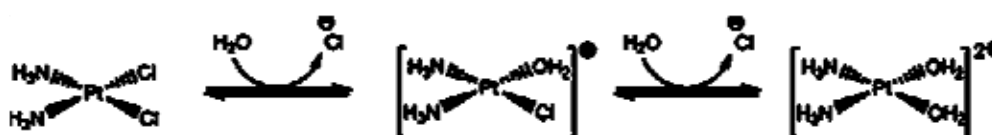


FIGURA 1.3: Mecanismo de hidrólise do cisplatina em solução aquosa (KLEIN & HAMBLEY, 2009).

O mecanismo de ação do cisplatina foi elucidado ao ser determinada a estrutura de raios X do aduto entre o cisplatina e o DNA (FIGURA 1.4), sendo que a explicação aceita para tal aduto é que há etapas de hidrólise em que os cloretos são substituídos por moléculas de água e então ocorre a ligação do aquacomplexo formado por meio de substituição das moléculas de água pelos nitrogênios N7 das guaninas do DNA (TAKAHARA, *et al.*, 1995). Não se sabe ainda se primeiro ocorre a coordenação das moléculas de água seguida pela reação de troca destas pelas bases nitrogenadas do DNA ou se estas reações ocorrem paralelamente, ou seja,

depois da coordenação da primeira molécula de água há reação com o DNA para então ocorrer a entrada da segunda molécula de água no complexo e substituição desta molécula por reação com a base nitrogenada (ROAT-MALONE, 2002).

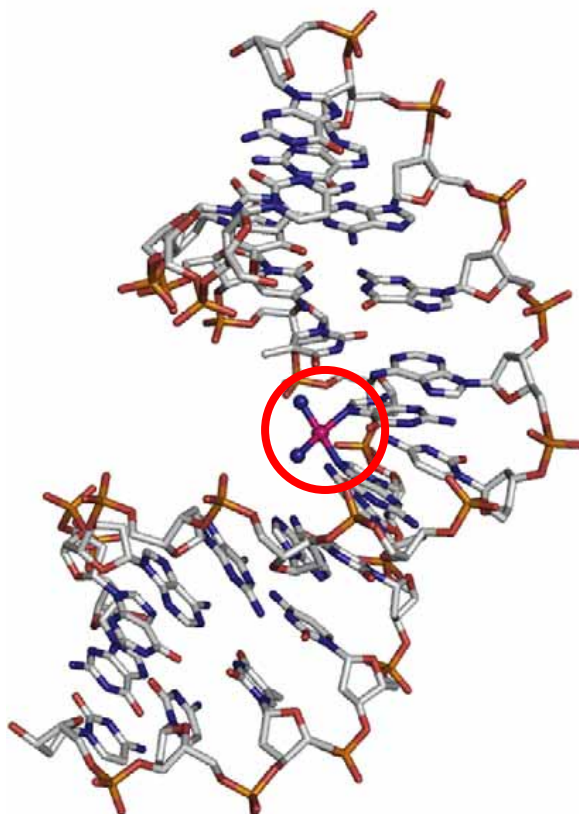


FIGURA 1.4 Representação da estrutura de raios X do aduto formado pela interação entre cisplatina e DNA (TAKAHARA, *et al.*, 1995).

Em busca de uma nova estratégia no desenvolvimento de fármacos de Pt, com características toxicológicas e terapêuticas diferentes dos compostos supracitados, pesquisadores têm utilizado a Pt(IV) como centro metálico, conferindo aos complexos resultantes a existência de mais dois possíveis sítios de coordenação. O JM-216, ou satraplatina, pró-fármaco de Pt(IV), (FIGURA 1.5A), além de poder ser administrado por via oral, possui um mecanismo de ação diferente, ativado por redução de Pt(IV) à Pt(II), o que ocorre por biomoléculas intracelulares, gerando o JM-118 (FIGURA 1.5B) (ROSE, *et al.*, 1994).

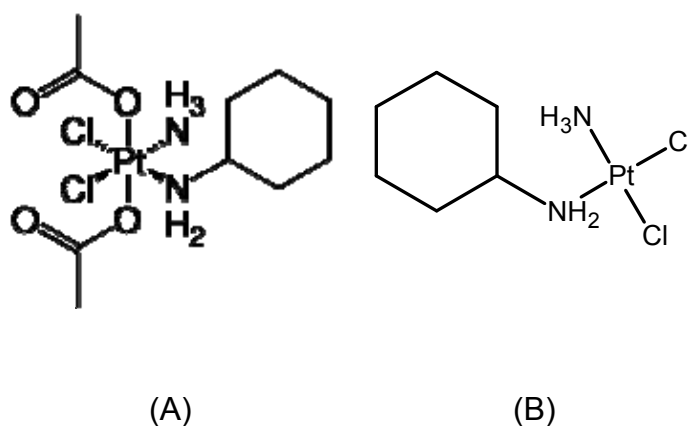


FIGURA 1.5: Estrutura do Satraplatina (A) e do JM-118 (B).

Complexos de Pt(IV) são mais estáveis à substituições que aqueles de Pt(II), sendo possível que este chegue até as células alvo sem sofrer modificações, onde posteriormente é reduzido à Pt(II) nos tecidos tumorais (DENNY & WILSON, 1986; BUSTAMANTE *et al.*, 2009). A redução de Pt(IV) para Pt(II) é acompanhada pela liberação dos ligantes axiais, uma vez que Pt(IV) apresenta preferencialmente geometria octaédrica, enquanto complexos de Pt(II) apresentam-se como quadrado-planares. A variação dos ligantes axiais em complexos de Pt(IV) é uma das principais estratégias no desenvolvimento de pró-fármacos com a solubilidade/lipofilicidade e potenciais redox desejados. A funcionalização dos ligantes axiais é usada para melhorar a abordagem à célula alvo, a eficácia e o transporte dos pró-fármacos ao alvo desejado (DENNY & WILSON, 1986).

O satraplatina mostrou, quando administrado oralmente, efeitos antitumorais comparáveis aos do cisplatina e carboplatina, além de apresentar-se destituído de nefrotoxicidade e neurotoxicidade destes (CHOY, 2006). Satraplatina, e seu metabólito primário, o JM-118, foram pré-clinicamente testados em linhagens de células cancerosas, incluindo células resistentes ao tratamento com cisplatina. Testes clínicos fase II mostraram atividade deste complexo contra câncer de pulmão, de próstata e ovariano (CHOY, 2006). Além da promissora atividade, o fato de o composto ser oralmente administrado é vantajoso, uma vez que elimina as complicações ocasionadas pelas aplicações intravenosas e pode aumentar a aceitabilidade pelos pacientes quanto ao tratamento (WOSIKOWSKI, *et al.* 2007). Tal via de administração torna também o tratamento mais barato, já que elimina o tempo gasto na clínica para o paciente receber infusão (SMITH II, *et al.*, 2009).

Assim como os demais compostos de platina aqui discutidos, o mecanismo de ação do satraplatina envolve também a formação de um aduto com o DNA, sendo que o aduto formado com este não é reconhecido pelos mecanismos de reparo celular, o que pode ser a razão pela sua ação, mesmo em tipos de câncer resistentes ao cisplatina (MELLISH, *et al.* 1995; FINK, *et al.*, 1996). Neste sentido tal fator é de crucial importância no desenvolvimento de novos metalofármacos antitumorais, sendo que a resistência adquirida ao tratamento é uma das maiores causas de insucesso na quimioterapia (WOSIKOWSKI, *et al.* 2006).

Como o modo de ação do cisplatina e dos demais complexos platínicos anteriormente citados envolve ligação e conseqüente distorção do DNA, à estes e aos compostos cuja ação se dá por interação com o DNA denomina-se “quimioterápicos clássicos” (VAN RIJT & SADLER, 2009). Do mesmo modo que a Pt(IV) tem se mostrado uma rota alternativa no desenvolvimento de fármacos clássicos, outros centros metálicos estão também atraindo bastante interesse de pesquisadores com o intuito de superar os problemas associados aos fármacos de platina (CLARKE *et al.*, 1999). Algumas características químicas e estruturais têm sido almejadas pelos pesquisadores com o intuito de se alcançar diferentes efeitos farmacológicos e toxicológicos. Dentre tais características podemos destacar a presença de sítios de coordenação adicionais (complexos octaédricos), alterações na afinidade do ligante pelo metal e da cinética de substituição, mudanças no estado de oxidação e a possibilidade de utilização da terapia fotodinâmica (MALINA *et al.*, 2001). Neste contexto deu-se início ao estudo de complexos de rutênio como possíveis agentes antitumorais, cuja aplicação e motivação serão brevemente discutidas na seção seguinte.

1.3 Compostos contendo rutênio como agentes quimioterápicos

Como dito anteriormente, alguns grupos direcionaram suas linhas de pesquisa para a obtenção de compostos antitumorais com outros metais, além da platina. Neste contexto, complexos de rutênio começaram a ser estudados, sendo que este metal atende várias das características supracitadas, tais como: a presença de até seis sítios de coordenação, assim como a variedade de estados de oxidação acessíveis em sistemas biológicos; a possibilidade de aplicação em terapia fotodinâmica e apresenta baixa toxicidade (MALINA, 2001). A baixa toxicidade do rutênio se deve à sua semelhança química com o ferro, a qual faz também com que os complexos de rutênio se acumulem nas células tumorais, uma vez que o rutênio pode se ligar a biomoléculas responsáveis pela solubilização, transporte e detoxificação do ferro em mamíferos, incluindo transferrina e albumina. Como as células cancerosas possuem grande necessidade de ferro, possuem também maior expressão de receptores de transferrina nas suas superfícies, o que ocasiona em absorção e acúmulo de rutênio nestas (ALLARDYCE & DYSON, 2001).

As primeiras investigações sobre as propriedades antitumorais de complexos de rutênio foram realizadas nos anos 80, com os compostos *fac*-[RuCl₃(NH₃)₃] e *cis*-[RuCl₂(NH₃)₄]Cl. Em 1990, KEPLER e co-autores (1990) publicaram a síntese e caracterização estrutural do [ImH][*trans*-RuCl₄(Im)₂], o ICR, que apresentou interessantes propriedades antitumorais em modelos animais e inspirou a síntese de compostos análogos, como o [indH][*trans*-RuCl₄(ind)₂] (KP1019 ou FFC14A; ind = indazol) que se encontra em testes clínicos fase II (KEPLER *et al.*, 1990; RADEMAKER-LAKHAI *et al.*, 2004; ANG & DYSON, 2002) (FIGURA 1.6).

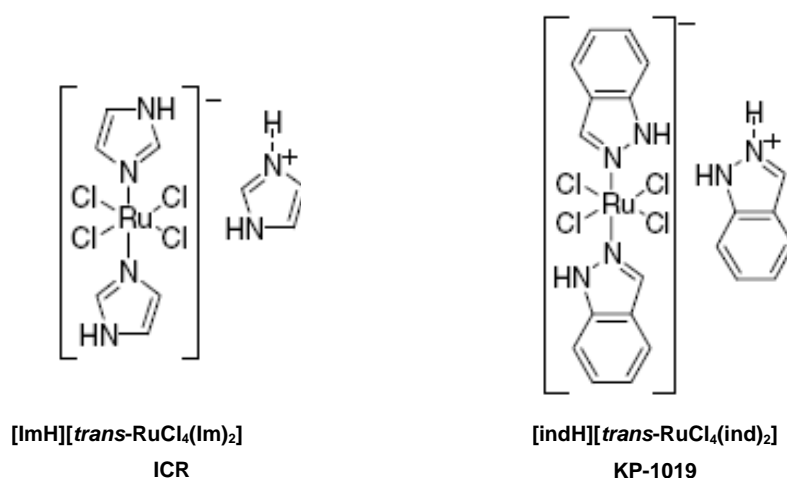


FIGURA 1.6: Fórmulas químicas do ICR e KP1019.

Apesar de não haver muitas informações quanto ao mecanismo de ação destas duas substâncias, sabe-se que a eficiência da ligação com o DNA é menor que a do cisplatina (MALINA, 2001). Recentemente estudos indicaram que estes compostos induzem apoptose por um caminho mitocondrial (KAPITZA, *et al.*, 2005). Observou-se também que existe o transporte destes compostos para as células, mediado pela transferrina (SMITH, *et al.*, 1996).

A compreensão de algumas características do complexo KP-1019, relevantes a sistemas biológicos, foi agrupada em dois artigos de revisão (HARTINGER, *et al.*, 2006; JAKUPEC, *et al.*, 2005a). Mesmo que o mecanismo de ação deste complexo não esteja completamente elucidado, um grande avanço foi realizado até o momento, com o conhecimento de que o complexo se liga às proteínas do soro como a albumina, sendo que de 80% a 90% das espécies de Ru encontram-se junto à esta proteína, e a transferrina que participa dos processos de transporte do fármaco (GROESSL, *et al.*, 2007). Outra importante informação é que o rutênio não é reduzido na corrente sanguínea, mantendo, portanto o estado de oxidação +3 (PICCIOLI, *et al.*, 2004). Sabe-se também que condições ácidas, características de regiões celulares em hipóxia, promovem a liberação do KP1019 da transferrina. Acredita-se que o mecanismo de ativação por redução aconteça com este complexo, uma vez que os tumores apresentam, em suas regiões mais internas, quantidades baixas de oxigênio, sendo muito provável que espécies reativas de Ru(II) sejam formadas, por redução, neste ambiente (HARTINGER, *et al.*, 2006; JAKUPEC, *et al.*, 2005a).

Indubitavelmente a interação do KP1019 com o DNA é fator importante para a ação citotóxica do mesmo. Dados experimentais mostram que as lesões ao DNA, induzidas pelo KP1019, são diferentes daquelas promovidas pelo cisplatina, uma vez que foi observada inibição dos mecanismos de reparo do DNA, levando ao aumento da atividade antiproliferativa do KP1019, o que não ocorre para o cisplatina (MALINA, *et al.*, 2001; SAVA, *et al.*, 1994; ALESSIO, *et al.*, 1997).

Mais adiante foi obtido o Na[*trans*-RuCl₄(Im)(dmsO)] (Im = imidazol). Este composto conhecido por NAMI (acrônimo para **New Anti-tumor Metastasis Inhibitor**), possui um efeito antimetastático não apresentado pelo cisplatina e seus análogos. O NAMI-A é derivado do NAMI pela substituição do contra-íon Na⁺ por ImH⁺, sendo ambos os primeiros fármacos anti-câncer de rutênio a entrarem em fase de testes

clínicos (SAVA *et al.*, 1999; SAVA & BERGAMO, 2000; BERGAMO *et al.*, 2002; HARTINGER *et al.*, 2006) (FIGURA 1.7).

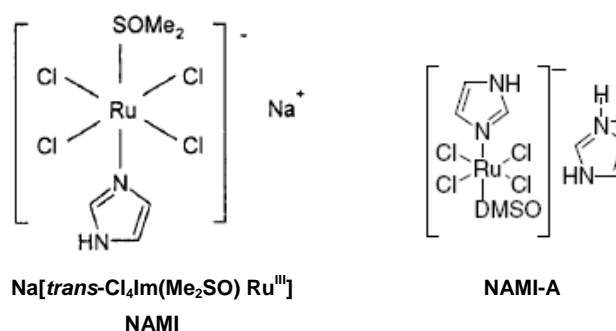


FIGURA 1.7: Estruturas dos compostos NAMI e NAMI-A.

O NAMI-A é mais estável que o NAMI e estes exibem propriedades farmacológicas similares (SAVA *et al.*, 1998; GEREMIA, *et al.*, 1996). Ambos podem ser administrados oralmente e são ativos contra vários tipos de tumores como carcinoma pulmonar de Lewis, melanoma B16 e carcinoma mamário MCa (SAVA *et al.*, 1995; SAVA *et al.*, 1995a; SAVA *et al.*, 1995b). Estes complexos apresentam baixa toxicidade, não afetando o crescimento de tumores primários e não exibindo citotoxicidade contra células tumorais *in vitro*. Estudos da relação estrutura-atividade demonstraram que a atividade biológica do NAMI-A está relacionada à liberação progressiva de um ou mais cloretos (FRAUSIN *et al.*, 2005).

Tem sido sugerido que um mecanismo de ativação por redução, no qual os complexos de Ru(III) agem como pró-fármacos que são ativados (reduzidos) sob as condições hipóxicas da maioria dos tumores sólidos, possa ocorrer (JAKUPEC, *et al.*, 2005b). Para estes compostos ainda não é claro se o centro de Ru(III) sofre redução pela ação de biomoléculas, como proposto pela clássica hipótese da “ativação por redução” (MURA, *et al.*, 2004). Como dito anteriormente, tumores utilizam rapidamente oxigênio e outros nutrientes, e o desenvolvimento de novos vasos sanguíneos freqüentemente não alcança o ritmo de crescimento do tumor e, conseqüentemente, células cancerosas dependem energeticamente mais da glicólise e geram um excesso de ácido láctico, que faz com que o pH diminua no interior de tais células (BUSTAMANTE *et al.*, 2009; WIKE-HOOLEY *et al.*, 1984). Devido a essas diferenças metabólicas o potencial eletroquímico no interior da célula tumoral é aproximadamente 100 mV menor que em tecidos normais, especialmente no centro do tumor (MIKLAVCIC *et al.* 1990). Estas diferenças no metabolismo de

células normais e tumorais favorecem a redução do Ru(III) a Ru(II) nos tumores (CLARKE, 2003). A redução de Ru(III) a Ru(II) preenche os orbitais $d\pi(t_{2g})$, e ligantes π -doadores que se coordenam fortemente a Ru(III) não mais são capazes de fazê-lo com Ru(II) (CLARKE, 2003). Glutathione e várias proteínas são capazes de reduzir complexos de Ru(III) *in vivo* (CLARKE *et al.*, 1980). Existem evidências de que o Na{*trans*-[RuCl₄(Im)(DMSO)]} é ativado por redução, assim como o alto potencial de redução do ICR pode permitir a redução deste *in vivo*, que causaria a dissociação do cloreto mais rapidamente, fortalecendo a hipótese de um mecanismo de ativação-por-redução (MESTRONI *et al.*, 1993; MESTRONI *et al.*, 1994; DHUBHGAIL *et al.*, 1994; HARTMANN *et al.*, 1998; KEPPLER & HARTMANN, 1998).

NAMI-A é mais ativo contra processos metastáticos, que contra tumores primários, em contraste ao observado pela ação do estruturalmente similar KP1019, que é efetivo contra tumores primários (RADEMAKER-LAKHAI *et al.*, 2004; JAKUPEC, *et al.*, 2005b). Uma vez que o tratamento do câncer metastático é particularmente difícil, a atividade antimetastática de complexos de rutênio com DMSO, especialmente o NAMI e NAMI-A, representa um importante avanço. Tais complexos se fazem úteis, pois podem minimizar o crescimento de micrometástases não detectadas, seguindo-se o tratamento do paciente por cirurgia e radioterapia (SAVA, *et al.*, 1999b; SAVA, *et al.*, 1994).

Outra classe bastante interessante de complexos de rutênio contém ligantes arilazopiridil (azpy), apresentando promissora atividade citotóxica, estruturalmente dependente. Três dos cinco possíveis isômeros do [RuCl₂(azpy)₂] (α , β e γ FIGURA 1.8) têm sido reportados como potenciais antineoplásicos. Os isômeros α e γ apresentaram citotoxicidade maior que o isômero β (HOTZE, *et al.*, 2004). De fato, cálculos de DFT sugerem que a habilidade dos isômeros intercalarem o DNA decresce dos isomorfos $\gamma > \alpha > \beta$ (CHEN *et al.*, 2005). A maior planaridade do isômero γ é o que lhe confere a maior atividade pela facilidade na intercalação com o DNA, enquanto que o maior valor de energia dos orbitais LUMO dos isômeros α e γ , fazem com que estes compostos possuam maior possibilidade de interações fracas com o DNA (CHEN *et al.*, 2005). O composto α -[RuCl₂(azpy)₂], apresenta elevada atividade contra as linhagens de células: MCF-7 (câncer de peito), EVSA-T (câncer de mama), WIDR (câncer de colo), IGROV (câncer de ovário), M19 (melanona), A498 (câncer renal) e H266 (câncer de pulmão), o que não acontece com os isômeros β e γ

(HOTZE, *et al.*, 2000; VELDERS, *et al.*, 2000). As possíveis razões para tanto são: 1) a menor velocidade de aquação dos cloretos, devido ao efeito π -receptor do ligante imínico, que faz aumentar a carga efetiva sobre o íon metálico deixando o complexo com o mesmo intervalo de velocidade de hidrólise do cisplatina, 2) maior interação com o DNA, seja por intercalação ou interações devido ao caráter hidrofóbico, que podem facilitar a formação de ligações ou interações fracas; bem como efeitos geométricos ocasionados pelos ligantes que podem facilitar, ou dificultar) a ligação da proteína no ácido nucléico (VELDERS, *et al.*, 2000).

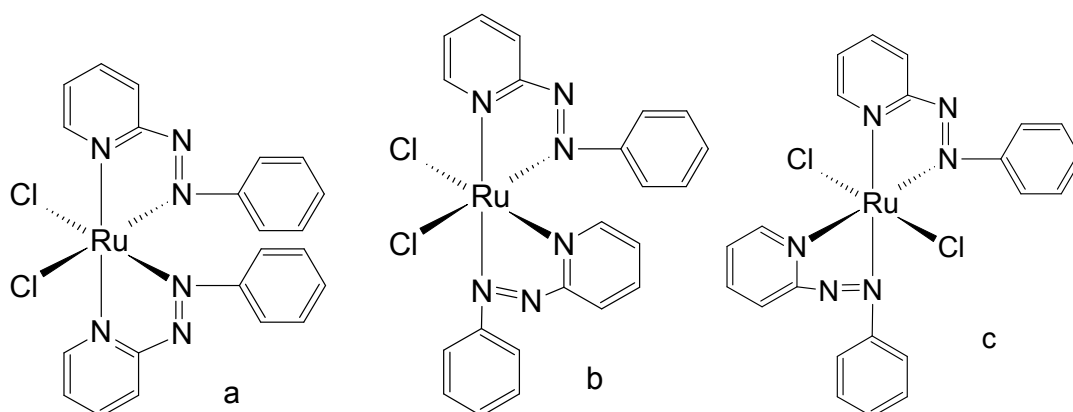


FIGURA 1.8: Estruturas dos complexos $[\text{RuCl}_2(\text{azpy})_2]$ (azpy = 2-fenilazopiridina), a: α ; b: β e c: γ .

Muitos trabalhos têm sido focados no potencial antitumoral de areno-complexos *half-sandwich* de Ru(II), do tipo $[(h_6\text{-areno})\text{Ru}(\text{L-L})(\text{X})]$, onde L-L é um ligante bidentado e X é um bom grupo abandonador (FIGURA 1.9a). Estes complexos, do tipo “*piano-stool*”, oferecem muito em termos de desenvolvimento estrutural, com a possibilidade de se poder modificar cada um dos ligantes presentes neste, modificando desta forma parâmetros cinéticos e termodinâmicos. Alguns destes complexos demonstram atividades *in vitro* e *in vivo* promissoras (AIRD *et al.*, 2002). (FIGURAS 1.9b e 1.9c). Estes compostos monofuncionais se coordenam ao N7 da guanina no DNA, o que é complementado pela ligação intercalativa pelo areno, assim como por uma ligação de hidrogênio entre os ligantes bidentados e o C6O da guanina (CHEN *et al.*, 2002). Estas interações adicionais resultam em um modo único de ligação com a dupla hélice do DNA e a distorção estrutural deste é, portanto, distinta daquela causada pelo cisplatina (CHEN *et al.*, 2003; VAN RIJT & SADLER, 2009).

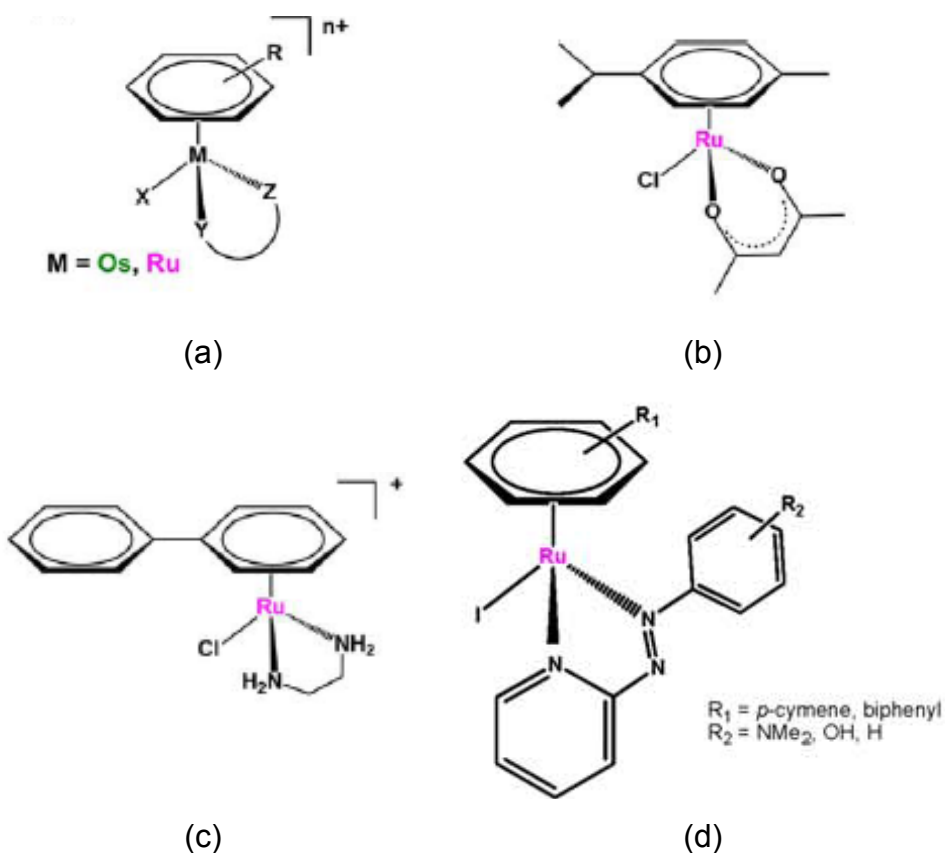


FIGURA 1.9: (a) Estrutura geral de areno-complexos de rutênio do tipo “*piano-stool*”; (b) e (c) Exemplos de areno-complexos de rutênio citotóxicos; (d) Areno-complexos de rutênio (II) contendo iodo e fenilazopiridina (VAN RIJT & SADLER, 2009).

Half-sandwich areno-complexos contendo iodo e fenilazopiridina em sua esfera de coordenação (FIGURA 1.9d) mostraram-se inertes quanto à substituição em solução aquosa, mas apresentaram alta citotoxicidade em células de câncer de ovário e pulmão. Contando que os ligantes azopiridínicos são dificilmente reduzidos quando não coordenados, os complexos de azopiridina acima citados possuem potenciais de redução acessíveis biologicamente. A atividade destes complexos pode ser atribuída à sua habilidade de induzir reações redox dentro da célula, gerando espécies reativas de oxigênio (oxigênio singlete). Interessantemente, o ciclo redox envolve a oxidação do forte agente redutor, glutathione (Dougan, *et al.*, 2008).

1.4 Complexos fosfínicos e quimioterapia

Com a entrada na indústria farmacêutica do complexo fosfínico hidrossolúvel, auranofina (FIGURA 1.10a), como metalofármaco para o tratamento de artrite, vários complexos fosfínicos de ouro passaram então a serem testados também como agentes antitumorais (BERTINI *et al.*, 1994). Apesar de a auranofina ter apresentado atividade apenas em uma pequena fração das linhagens tumorais de ratos testadas, o complexo $[ClAu(PPh_2CH_2CH_2PPh_2)AuCl]$ apresentou bioatividade próxima a do cisplatina. Outro complexo que merece destaque é o análogo mononuclear catiônico ao supracitado, o $[Au(dppe)_2]^+$. Este composto apresentou também atividade em um vasto número de neoplasias de ratos (BERNERS-PRICE, *et al.*, 1986). Ao se tentar substituir os átomos de fósforo do ligante bifosfínico por átomos de arsênio ou enxofre, assim como a tentativa de aumentar ou reduzir a cadeia carbônica, ponte entre os átomos de fósforo, ou mesmo a substituição dos grupos fenil por grupos alquil, resultaram na diminuição da bioatividade. Não menos notável é o fato da fosfina livre apresentar atividade similar ao seu complexo de ouro e que complexos análogos contendo Ag(I) e Cu(I) também são ativos. Estas observações levam a crer que o agente responsável pela atividade antitumoral nestes complexos é de fato a fosfina e que o metal atuaria então como um carreador desta, protegendo-a de se oxidar no sistema biológico, uma vez que alguns estudos demonstraram que as fosfinas oxidadas são inefetivas (BERNERS-PRICE & SADLER, 1987).

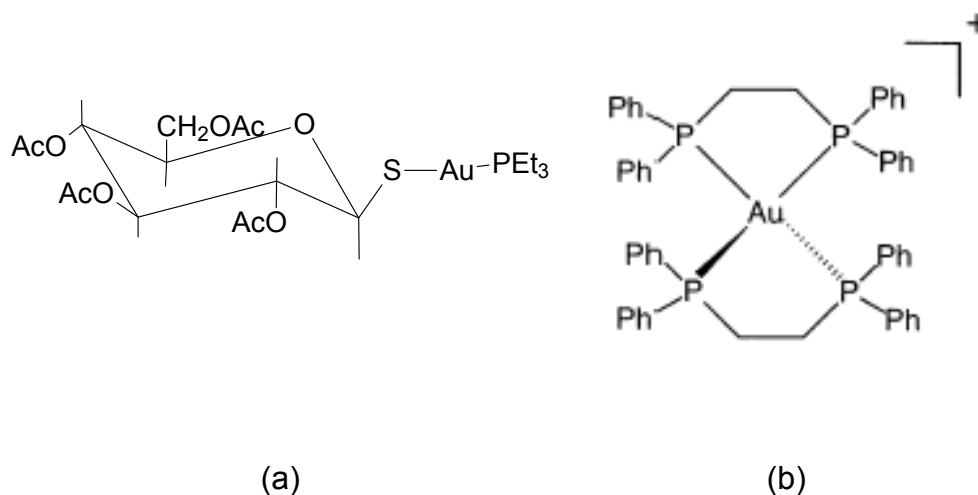


FIGURA 1.10: Estruturas dos compostos aurofina (a) e $[Au(dppe)_2]Cl$ (b).

O complexo $[\text{Au}(\text{dppe})_2]\text{Cl}$ (FIGURA 1.10b), apresenta atividade antitumoral *in vivo* contra leucemias P388 e L1210, sarcoma de células reticulares M5076, melanona B16 e adenocarcinoma mamário 16/C e propriedades citotóxicas *in vitro*, inibindo o crescimento em células B16 e P388. A fosfina mostra-se novamente um ligante interessante por vários fatores: estudos demonstram que o ligante dppe responde como citotóxico *in vitro* e tem atividade antitumoral *in vivo*, o que deve ser válido para outras bifosfinas similares; mostrou-se estável na presença de proteínas de soro, tióis e dissulfetos, conforme observado por RMN ^{31}P ; apresenta alta lipofilicidade, o que pode facilitar a passagem do fármaco pela membrana celular de natureza lipoproteica; apresenta também estabilidade termodinâmica e cinética que impedem reações indesejadas, e finalmente apresenta a ligação Au-P adequadamente lábil para a abertura do anel quelato (FIGURA 1.11) e posterior atuação da extremidade livre da fosfina como agente citotóxico, segundo mecanismo proposto (BERNERS-PRICE, *et al.*, 1986; STRUCK, *et al.*, 1966; BERNERS-PRICE & SADLER, 1987). Assim, o átomo de ouro nesse complexo atuaria protegendo o ligante contra oxidação, pois, como citado anteriormente, as fosfinas não são citotóxicas quando oxidadas (BERNERS-PRICE, *et al.*, 1987 JOHNSON, *et al.*, 1985).

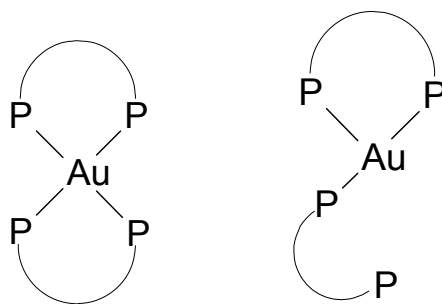


FIGURA 1.11: Possível etapa de mecanismo de ação; abertura do anel e atuação da parte livre da difosfina (BERNERS-PRICE & SADLER, 1987).

Complexos fosfínicos com vários metais de transição (por exemplo: Au, Ag, Cu, Ru, Pt) têm sido avaliados como potenciais agentes antitumorais em várias linhagens de células tumorais humanas (BINCOLETTO, *et al.*, 2005; BERNERS-PRICE, *et al.*, 1999; MARZANO, *et al.*, 2006; VON POELHSITZ *et al.*, 2007;

BERGAMINI, *et al.*, 2007). Os resultados para algumas as linhagens encontram-se nas TABELAS 1.1 e 1.2.

TABELA 1.1. Valores de IC₅₀ (μM) para as linhagens de células leucêmicas T2 (sensível ao cisplatina) e SKOV3 (resistente ao cisplatina) (BERGAMINI, *et al.*, 2007).

Composto	T2	SKOV 3
<i>cis</i> -[PtCl ₂ (PTA)(PPh ₃)]	10	10-50
<i>cis</i> -[PtCl(8-MTT)(PTA)(PPh ₃)]	2-10	10-50
<i>cis</i> -[Pt(8-MTT) ₂ (PTA)(PPh ₃)]	2-10	10
<i>cis</i> -[Pt(8-MTT)(PPh ₃) ₂]	2	50
<i>cis</i> -[PtCl(8-MTT)(PTA) ₂]	10-50	>50
<i>cis</i> -[Pt(8-MTT) ₂ (PTA) ₂]	>50	>50
<i>cis</i> -[PtCl ₂ (PTA) ₂]	>50	>50
<i>cis</i> -[PtCl ₂ (PPh ₃) ₂]	50	>50
<i>cis</i> -[PtCl ₂ (NH ₃) ₂]	<2	>50

TABELA 1.2. Valores de IC₅₀ (mM) para as linhagens de células de câncer ovariano (2008), cervical (A431), pulmonar (A549), melanoma (A375) e leucemia (HL60) (MARZANO, *et al.*, 2006).

Composto	IC ₅₀ (μM)				
	2008	HL60	A431	A549	A375
[H ₂ B(tz ^{NO₂}) ₂] ₂ Cu[P(<i>m</i> -tolyl) ₃] ₂	10,11	4,81	6,70	1,52	16,40
[H ₂ B(tz ^{NO₂}) ₂] ₂ Cu[P(C ₆ H ₅) ₂ (<i>p</i> -C ₆ H ₄ COOH)] ₂	14,31	25,13	15,25	6,88	35,15
[H ₂ B(tz ^{NO₂}) ₂] ₂ Cu[P(<i>p</i> -C ₆ H ₄ F) ₃] ₂	5,60	4,69	3,66	2,35	4,33
cisplatina	12,69	19,90	22,06	39,27	20,28

Complexos Ru-areno-fosfina [RuCl₂(η⁶-areno)L] (onde L = 1,3,5-triazo-7-fosfaadamantano e 1,3,5-triazo-N-metil-7-fosfaadamantano) contra as linhagens de células Adenocarcinoma TS/A (câncer de mama) e células Mamária HBL-100 e organometálicos de Pd(II) contendo dppp, dppb e dppf, [Pd₂(C²,N-dmba)₂(N₃)₂(μ-dppb)], [Pd(C²-dmba)(N₃)(dppp)] [Pd₂(C²,N-dmba)₂(N₃)₂(μ-dppp)], onde dmba representa a N,N-dimetilbenzilamina contra HeLa (colon do útero), Hep-2 (orofaringe) e C6 (glioma cerebral) (SCOLARO, *et al.*, 2005). A TABELA 1.3

sumariza valores de IC₅₀ contra a linhagem de células TS/A para complexos de rutênio.

TABELA 1.3. Valores de IC₅₀ para complexos fosfínicos contra adenocarcinoma mamário, em μM (SCOLARO, *et al.*, 2005).

Composto	IC ₅₀ (TS/A)
[RuCl ₂ (n ⁶ -C ₁₀ H ₁₄)(PTA)]	>300
[RuCl ₂ (n ⁶ -C ₁₀ H ₁₄)(Me-PTA)] ⁺	>300
[RuCl ₂ (n ⁶ -C ₇ H ₈)(PTA)]	74
[RuCl ₂ (n ⁶ -C ₇ H ₈)(Me-PTA)] ⁺	110
[RuCl ₂ (n ⁶ -C ₆ H ₆)(PTA)]	231
[RuCl ₂ (n ⁶ -benzo-15-crown-5)(PTA)]	159
[RuCl ₂ (n ⁶ -C ₆ H ₅ (CH ₂) ₂ Im)(PTA)][BF ₄]	66
[RuCl ₂ (n ⁶ -C ₆ H ₅ (CO ₂ Et)(PTA)]	103
[RuCl ₂ (n ⁶ -C ₁₂ H ₁₈)(PTA)]	199

Não obstante quanto à sua bioatividade, quimicamente as fosfinas são de grande interesse para o desenvolvimento de metalofármacos, devido às características que estas podem proporcionar ao centro metálico, e ao complexo em si. Ligantes fosfínicos são neutros, de suma importância devido ao fato de apresentarem propriedades de ligação σ doadora e π -receptora, as quais possibilitam que esta classe de ligantes seja capaz de estabilizar tanto os estados de oxidação mais baixos, como mais altos dos metais de transição (MCAULIFFE, 1984). Isso se dá pela retrodoação do metal para o orbital vazio do ligante. Tais ligantes possuem um par de elétrons capaz de formar ligações σ estáveis, e orbitais híbridos, π vazios capazes de receber elétrons, sendo adequados à retrodoação (MARYNICK, 1984). Este tipo de interação entre metais e ligantes ocorre quando o metal possui orbitais preenchidos ou com razoável número de elétrons, e pode doar estes a orbitais vacantes do ligante, com simetria adequada. Neste sistema, a densidade eletrônica é sinergisticamente compartilhada do ligante para o metal e do metal para o ligante, originando ligações mais estáveis (FIGURA 1.12) (DEKOCK & GRAY, 1980).

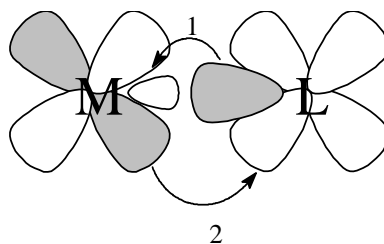


FIGURA 1.12: Representação das interações metal-ligante: 1=ligação σ ;
2=retrodoação π .

A possibilidade de variar os grupos substituintes ligados ao átomo de fósforo, com grupos doadores ou receptores de densidade eletrônica, torna as fosfinas interessantes para o estudo dos efeitos dos ligantes (L) na labilidade da ligação de alguns complexos do tipo P - M - L, bem como na afinidade do centro metálico por tais ligantes, sendo de interesse no desenvolvimento de metalofármacos carreadores de moléculas biologicamente ativas. Um aspecto interessante da versatilidade das fosfinas refere-se ao impedimento estérico. Aumentando-se o tamanho da cadeia carbônica do substituinte R em compostos do tipo $P(OR)_3$ ou PR_3 , é possível aumentar os ângulos R - P - R (ângulo de cone de Tolman, FIGURA 1.13) (TOLMAN, 1973); variar os ângulos entre L e outros ligantes associados ao metal; aumentar a distância M - P e M - L; reduzir ou aumentar o caráter doador dos pares de elétrons isolados do fósforo; favorecer baixos estados de oxidação do metal M.

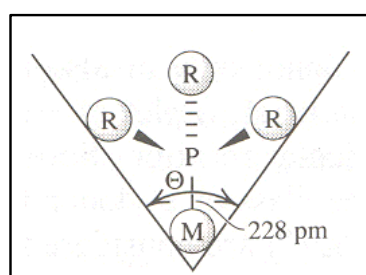


FIGURA 1.13. Ângulo de cone de Tolman para PR_3 (TOLMAN, 1973).

Outro aspecto relevante a se destacar a respeito destes ligantes é que estes possuem influência *trans* que aliada a efeitos estéricos, facilita a formação de complexos dissociáveis que conduzem à formação de sítios vagos de coordenação, o que é de interesse no desenvolvimento de pró-fármacos, já que no mecanismo de

ação destes pode estar envolvida formação de sítios vagos pela perda de ligantes ou abertura de anel quelato (JAMES, 1973; PARSHAL, 1980; PIGNOLET, 1983; YAMAMOTO, 1986; CRABTREE, 1988; BERNERS-PRICE & SADLER, 1988; COTTON & WILKINSON, 1980).

Além de permitirem estudos diversos relativos à força de ligação, labilidade, efeito dos ligantes, influência da retroatividade, afinidade de centros metálicos por tais ligantes, simplesmente pela variação dos substituintes ligados à fosfina, a troca dos substituintes ligados ao átomo de fósforo também faz variar a solubilidade dos complexos que a contém, o que é bastante relevante para o desenvolvimento de fármacos (BERTINI, *et al.*, 1994). Especificamente, no caso do aurofina, não só possibilita a administração por via oral, como também auxilia na excreção desta do organismo na forma de Et_3PO , que não é tóxico e é solúvel em água (COFFER, *et al.* 1986; ISAB, *et al.*, 1988).

1.5 Óxido nítrico

É cabível neste momento discutir brevemente sobre alguns aspectos químicos e fisiológicos do NO para que seja possível compreender mais facilmente seus atrativos como ligante no desenvolvimento de metalofármacos, bem como sua atuação em processos cancerosos. O NO é uma espécie radical livre, possuindo configuração eletrônica da camada de valência $(\sigma 2s)^2 (\sigma 2s^*)^2 (\sigma 2p_z)^2 (\pi 2p)^4 (\pi 2p^*)^1$ (FONTECAVE & PIERRE, 1994; IGNARRO, 2000). Embora seja uma molécula paramagnética, não é detectada por ressonância paramagnética eletrônica (RPE), já que em solução ou no estado sólido ocorre formação de dímero (IGNARRO, 2000).

O óxido nítrico é continuamente sintetizado em todo o corpo humano e em mamíferos em geral, pela enzima cNOS (óxido nítrico sintetase constitutiva), possuindo expressivo número de funções regulatórias e sinalizadoras essenciais para uma boa saúde. A síntese do NO *in vivo* se dá pela oxidação do aminoácido L-arginina que passa a citrulina, catalisada pela enzima NO sintetase (NOS) utilizando NADPH (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato) e O_2 como co-substratos, segundo reação abaixo (FIGURA 1.14) (IGNARRO, 2000).

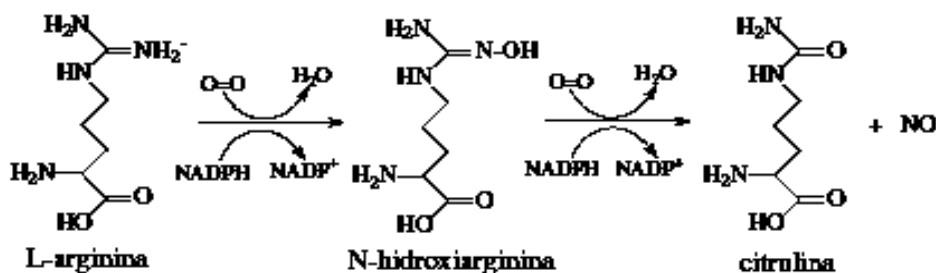


FIGURA 1.14: Representação da síntese do NO *in vivo* (IGNARRO, 2000).

Embora antes considerado como um subproduto inerte do metabolismo do óxido nítrico, estudos recentes indicaram que o NO₂⁻ representa, especialmente em condições hipóxicas, uma fonte alternativa de NO (LUNDBERG *et al.*, 2008; BRYAN *et al.*, 2005). Nestes trabalhos os pesquisadores puderam observar que o nitrito é convertido rapidamente em NO em tecidos hipóxicos (com baixa concentração de oxigênio), sendo que em tecidos não hipóxicos a concentração de oxigênio nestes é fator limitante para tal conversão. Hipóxia é uma condição que favorece tal bioconversão, pois, quimicamente, é possível obter NO a partir de nitrito mediante a redução deste por um ácido, como o ácido clorídrico. Tecidos em hipóxia dependem energeticamente mais da glicólise e geram um excesso de ácido láctico, o que pode ser a explicação para a redução de nitrito a óxido nítrico nestes ambientes. Por outro lado os autores de tal artigo encontraram que, mesmo com as condições hipóxicas que favorecem tal redução, a maior via de conversão de NO₂⁻ a NO é mediante mecanismos enzimáticos (FEELISCH, *et al.*, 2008).

São expressivas as evidências de que o NO é importante em uma grande variedade de processos fisiológicos dos mamíferos, incluindo regulação de genes, citostase, apoptose, função plaquetária, vasodilatação, controle da pressão sanguínea, sistema imunológico, atuando também como um mensageiro secundário no sistema nervoso periférico e no cérebro, nos processos de memória e aprendizagem (IGNARRO, 2000).

A descoberta de que o NO apresenta participação decisiva na homeostase dos organismos dos mamíferos, além de ser um importante constituinte na resposta imune e infecções, estimulou o interesse na química e bioquímica do NO e derivados, como os complexos nitrosilos com metais de transição (IGNARRO, 2000; FORD & LAVERMAN, 2005). Observou-se também que há atuação do NO nas

carcinogêneses, progressão tumoral e terapia do câncer (IGNARRO, 2000). O papel do NO na biologia de tumores é complexo, uma vez que possui tanto papel facilitador, quanto inibidor, dos processos celulares dependendo das condições, tais como combinação genética das células, concentração local de NO e a presença de outros reguladores, como os capturadores de NO (LALA & CHAKRABORTY, 2001; XIE & FIDLER, 1998). Se produzido em baixas concentrações, o NO pode ajudar no crescimento e metástases de tumores devido à potenciação da angiogênese (formação de novos vasos sanguíneos) (ZICHE, *et al.*, 1997). Este também é capaz de proteger as células tumorais da apoptose induzida por outros estimuladores pró-apoptóticos (CHATTOPADHYAY, 1999; MELINO *et al.*, 2000). Entretanto, o NO produzido em maiores quantidades, por macrófagos que se infiltram nos tumores, eficientemente destrói tumores. Por exemplo, uma possibilidade para explicar a atividade do NAMI-A é que ele interfere no metabolismo do NO *in vivo* (SERLI, *et al.*, 2002). Existem muitos dados mostrando que a prevenção da síntese do NO em macrófagos co-cultivados com células tumorais *in vitro* previne a ação antitumoral do macrófago (MILJKOVIC *et al.*, 2002; HARHAJI *et al.*, 2004). Existem dados também sugerindo que alguns fármacos reconhecidamente antitumorais, reduzem a geração de NO em macrófagos e/ou células tumorais, o que poderia explicar a incompleta efetividade dos mesmos como quimioterápicos (MIKLAVCIC *et al.*, 1990).

Complexos Ru-NO também são investigados como potenciais agentes antitumorais uma vez que se a liberação do citotóxico NO puder ser induzida dentro das células tumorais, a morte celular pode ocorrer. Por exemplo, o *cis*-(Cl,Cl)[Ru^{II}Cl₂(NO⁺)(terpy)]Cl (FIGURA 1.15) foi avaliado frente à linhagem de células tumorais A2780 (carcinoma de ovário humano) e A2780*cisR*, a correspondente linhagem de células resistente ao cisplatina, apresentando resultados promissores neste sentido (KARIDI *et al.*, 2005). Os resultados para este e outros complexos são apresentados na TABELA 1.4.

TABELA 1.4. Valores de IC_{50} para o $cis-(Cl,Cl)-[RuCl_2(terpy)(NO)]Cl$ e compostos similares contra linhagem de células A2780 e A2780*cisR* obtidos em soluções de DMSO (KARIDI *et al.*, 2005).

Composto	IC_{50} em A2780 / μM	IC_{50} em A2780 <i>cisR</i> / μM
$cis-(Cl,Cl)-[RuCl_2(terpy)(NO)]Cl$	0,49	0,64
$[RuCl_3(terpy)]$	11	32,5
$\alpha-[RuCl_2(azpy)_2]Cl$	0,86	0,98
Cisplatina	1,45	2,6
Carboplatina	9,4	42,8

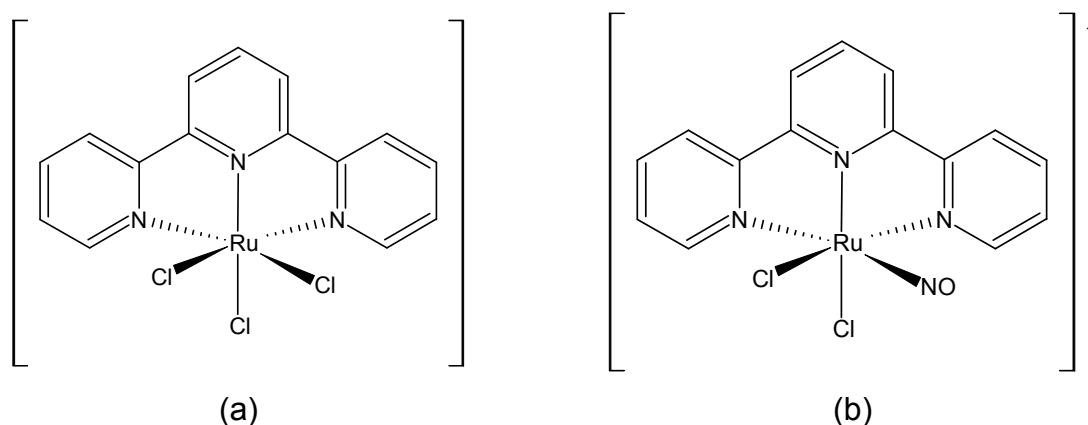


FIGURA 1.15: Estruturas dos compostos (a) $[RuCl_3(terpy)]$ e (b) $cis-(Cl,Cl)-[RuCl_2(terpy)(NO)]Cl$ (KARIDI *et al.*, 2005).

Foi visto que o nitrosilo complexo apresentou atividade muito melhor que o $mer-[RuCl_3(terpy)]$. É possível que esta melhora de atividade se deva a presença do grupo nitrosilo no $cis-(Cl,Cl)-[RuCl_2(terpy)(NO)]Cl$, entretanto um estudo mais detalhado precisa ser realizado e outros fatores, tais como a solubilidade ou razões estruturais podem ser os responsáveis por esta melhora de atividade. O complexo $\alpha-[RuCl_2(azpy)_2]Cl$ foi considerado como um dos mais ativos contra carcinoma de ovário humano, possuindo IC_{50} próximo, mas não melhor que o complexo contendo NO $cis-(Cl,Cl)-[RuCl_2(terpy)(NO)]Cl$. Este complexo mostrou até mesmo uma maior atividade que o cisplatina e o carboplatina na linhagem celular resistente A2780*cisR*, confirmando que a atividade do complexo $cis-(Cl,Cl)-[RuCl_2(terpy)(NO)]$ não é influenciada pelos mecanismos de resistência dessa células, como ocorre com o cisplatina.

1.6 Tuberculose

O *Mycobacterium tuberculosis* é o agente etiológico da tuberculose pulmonar, doença caracterizada por intensa inflamação crônica, necrose e caseificação dos pulmões. Uma vez que as cavidades formadas nos pulmões podem se romper, é possível a contaminação de outros indivíduos através da aerolização pela tosse (PAVAN, 2009).

A tuberculose é responsável por dois a três milhões de óbitos no mundo, anualmente. Estatísticas indicam que oito milhões de pessoas adoecem por ano em todo o mundo e 95% destes casos se dá em países em desenvolvimento. Outra estimativa alarmante é que cerca de 30% da população mundial e 70% da população de países pobres estejam infectados com a tuberculose (WHO, 2007).

Enquanto o desenvolvimento de uma vacina mais eficaz ainda não se realiza, a solução mais drástica no momento é o tratamento quimioterápico. Por outro lado, poucos fármacos têm sido desenvolvidas no tratamento da tuberculose (MEDICINS SAN FRONTIÈRE, 2006). É esperado que as novas drogas desenvolvidas possuam algumas características tais como: 1) possibilidade de redução da duração do tempo de tratamento; 2) atividade contra cepas resistentes; 3) serem ativas contra bacilos latentes.

Neste sentido, é evidente que fármacos inorgânicos se fazem uma versátil opção na quimioterapia da tuberculose. Fármacos orgânicos, geralmente, não possuem um modo puramente orgânico de ação. Alguns destes são ativados por íons metálicos, incluindo metaloenzimas, enquanto outros têm efeito direto ou indireto sobre o metabolismo do íon metálico (GUO *et al.*, 2000).

Nosso grupo tem publicado, nos últimos anos, resultados promissores de atividade antituberculose de complexos fosfínicos de rutênio, como mostra a TABELA 1.5 (PAVAN, *et al.*, 2010; do NASCIMENTO *et al.*, 2008).

TABELA 1.5. Valores de MIC ($\mu\text{g/mL}$ e μM) da atividade antimicobacteriana de complexos de rutênio, e isoniazida.

Composto	MIC ($\mu\text{g/mL}$)	MIC (μM)
[Ru(SpymMe ₂)(dppb)(bipy)]PF ₆ ^a	0,78	0,80
[Ru(SpymMe ₂)(dppb)(4-Mebipy)]PF ₆ ^a	0,78	0,78
[RuCl ₂ (dppb)(bipy)] ^a	3,90	5,17
[RuCl ₂ (dppb)(4-Mebipy)] ^a	6,25	7,99
<i>cis</i> -[Ru(pic)(dppm) ₂]PF ₆ ^b	0,78	0,69
<i>cis</i> -[Ru(pic)(dppe) ₂]PF ₆ ^b	0,25	0,22
<i>cis</i> -[Ru(pic) ₂ (PPh ₃) ₂]PF ₆ ^b	>50,00	>57,00
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppm) ₂] ^b	25,00	26,60
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppe) ₂] ^b	25,00	25,80
Isoniazida ^{a,b}	0,03	0,36

^aPAVAN, *et al.*, 2010; ^bdo NASCIMENTO *et al.*, 2008.

2. OBJETIVOS

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- 1) Sintetizar compostos contendo a bifosfina 1,4-(*bis*-(difenilfosfina)butano) (dppb) e o ligante bipyridínico 5,5'-dimetil-2,2'-bipyridina (5-mebipy) em suas estruturas.

Os compostos que foram sintetizados são:

- *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)] e seus respectivos derivados com fórmula geral *cis*-[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF₆. (L= piridina, 4-picolina, 4-fenilpiridina, 4-vinilpiridina, 4-*tert*-butilpiridina e 4-aminopiridina);
- *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] e *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)];
- *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ e *cc*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ (FIGURA 2.1).

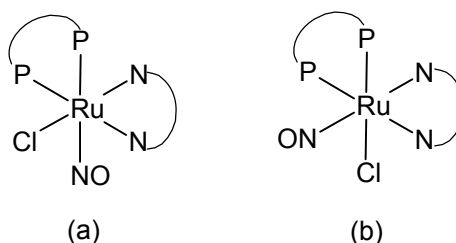


FIGURA 2.1. Representação das estruturas dos isômeros de complexos de NO: (a) NO posicionado *trans* ao fósforo ou *ct* e (b) NO *trans* ao nitrogênio ou *cc*.

2) Caracterizar os compostos obtidos por técnicas tais como Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear ³¹P{¹H}, Voltametria Cíclica e de Pulso Diferencial, Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta/Visível, Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho, Análise Elementar, Condutância Molar e Difração de Raios-X por monocristal.

3) Testar as atividades citotóxicas *in vitro* dos compostos obtidos contra linhagens de células tumorais MDA-MB-231 (câncer de mama) e K562 (Leucemia mielóide aguda) e contra *Mycobacterium tuberculosis* (tuberculose).

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Obtenção de atmosfera inerte

Argônio, de procedência AGA, foi utilizado durante todos os procedimentos de síntese e análise por RMN, eletroquímica, condutância molar e espectrofotometria UV/vis para obtenção de atmosfera inerte (ALVES, 1986). O gás foi conduzido por colunas preenchidas com sílica gel, cloreto de cálcio e catalisador BTS-R-3-11 (Fluka Chemika), aquecida a 60 °C, para remoção de oxigênio e água, antes de ser utilizado na obtenção de atmosfera inerte.

3.2 Solventes Orgânicos

Todos os solventes utilizados neste trabalho foram submetidos a tratamento prévio, segundo métodos descritos na literatura (PERRIN, *et al.*, 1980).

3.3 Reagentes e soluções

3.3.1 Tricloreto de rutênio

O composto $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, de procedência Aldrich, foi utilizado na síntese do complexo precursor $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$ (STEPHENSON & WILKINSON 1996).

3.3.2 Ligantes utilizados

Os ligantes piridínicos monodentados, a 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina, a 1,4-bis-difenilfosfinabutano e o nitrito de sódio, de procedência Aldrich foram utilizados como recebidos, sem tratamento prévio.

3.3.3 Hexafluorofosfato de potássio e ácidos utilizados

O sal KPF_6 , de procedência Aldrich, foi utilizado nas sínteses para facilitar a precipitação dos complexos pela troca do contra-íon cloreto, pelo hexafluorofosfato. Os ácidos clorídrico e hexafluorofosfórico, também de procedência Aldrich foram utilizados nas sínteses dos nitrosilo-complexos, sem tratamento prévio.

3.4 EQUIPAMENTOS E TÉCNICAS EXPERIMENTAIS

3.4.1 Análise Elementar

As análises elementares de carbono, hidrogênio e nitrogênio dos compostos sintetizados foram realizadas utilizando-se um analisador CHN modelo EA 1108 da FISOONS, localizado no Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos.

3.4.2 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos por diluição em pastilha de KBr (Merck, P.A.), na região compreendida entre 4000-200 cm^{-1} , utilizando um espectrofotômetro BOMEM MICHELSON FT MB-102.

3.4.3 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível

Os espectros na região do ultravioleta e visível foram obtidos em um espectrofotômetro de arranjo de diodo da Hewlett Packard, modelo 8452A ou Cary 500 de duplo feixe Varian. Os espectros foram obtidos em soluções de CH_2Cl_2 e em várias diluições, partindo de $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L.

3.4.4 Eletroquímica

Os voltamogramas cíclicos e de pulso diferencial foram obtidos em um potenciostato da Bioanalytical System, modelo BAS100W à temperatura de 298 K, usando uma célula de três eletrodos: Ag/AgCl, como eletrodo de referência e Pt como eletrodo auxiliar e de trabalho. As medidas foram realizadas em soluções de PTBA, de procedência Merck, em concentrações de 0,1 mol/L, em CH_2Cl_2 , com concentrações dos compostos da ordem de $1,0 \times 10^{-3}$ mol/L.

3.4.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ foram obtidos em um espectrômetro BRUKER DRX 400 MHz ou ARX 200 MHz localizados no Departamento de Química da UFSCAR. Os espectros de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ foram realizados em sua maioria em CH_2Cl_2 e

CHCl₃ contendo capilares com D₂O como referência externa, e alguns destes espectros foram obtidos em CDCl₃.

3.4.6 Condutância Molar

As medidas de condutividade molar foram realizadas em um condutivímetro MICRONAL, modelo B-330, equipado com célula de Pt, com constante igual 0,089 cm⁻¹, utilizando-se soluções com concentrações de 1,0 x 10⁻³ mol/L, em CH₂Cl₂.

3.4.7 Difração de Raios X

As medidas de difração de raios X foram realizadas num difratômetro automático ENRAF-NONIUS KAPPA CCD, com radiação da linha K α do molibdênio (0,2107 Å), a baixa temperatura, quando necessário. Os cristais foram obtidos por evaporação lenta do solvente ou por difusão. As medidas foram realizadas pelo Grupo de Cristalografia do Instituto de São Carlos-USP pelos professores Drs. Javier Alcides Elena, Eduardo Ernesto Castellano ou pelo doutorando Rodrigo de Souza Corrêa.

3.4.8 Ensaios de citotoxicidade *in vitro*

Os compostos analisados foram avaliados pela capacidade de inibir o crescimento *in vitro* de células tumorais usando linhagens de células derivadas de tumores humanos, a MDA-MB-231 (câncer de mama) e K562 (Leucemia mielóide aguda). Antes das células serem usadas, uma série de procedimentos e materiais, que serão descritos a seguir foram necessários.

3.4.8.1 Linhagens de células e condições de cultura

As células MDA-MB-231, disponíveis no laboratório de Bioquímica do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFSCar e as células K562, disponíveis no Laboratório de Genética Molecular e Citogenética do Instituto de Ciências Biológicas da UFG, foram mantidas em vials congelados em nitrogênio líquido; a partir deles, as células foram obtidas (descongeladas a 37°C por cerca de 90 s) e subculturadas serialmente para posterior uso nos experimentos.

As células MDA-MDB231 foram cultivadas como cultura de monocamada aderente em meio DMEM e as K562 em cultura de suspensão em meio RPMI 1640, suplementado com soro fetal bovino (SFB) 10%. As culturas foram mantidas a 37°C em uma atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂.

Durante o crescimento das células o meio de cultura foram trocados a cada 2-3 dias para o melhor desenvolvimento destas.

O crescimento das células foi acompanhado dia a dia com o auxílio de um microscópio. Quando a garrafa continha uma boa quantidade de células realizava-se a contagem das células, sendo que para a linhagem MDA-MB231 devido a aderência fez-se um procedimento conhecido por tripsinização que é a remoção das células para uso nos experimentos.

A contagem das células foi feita ajustando o volume para que cada 200 µL contenha a quantidade desejada de células ($0,5 \times 10^5$ células). Após a aplicação das células K562 em placa para microcultura de 96 poços (estéril) com densidade de $0,5 \times 10^5$ células por poço (em 200 µL), adicionou-se os compostos em diferentes concentrações em triplicata, sendo o tempo de incubação de 48 h. Para a linhagem MDA-MB231 após a aplicação da célula (densidade $0,5 \times 10^5$ célula por poço), armazenou-se a placa em estufa (37°C / 5% CO₂) por 24 horas para que ocorresse a adesão celular. Após este tempo, o meio de cultura foi removido e adicionou-se 200 µL de meio de cultura DMEM sem soro. Finalmente, os compostos em diferentes concentrações foram adicionados em triplicata, sendo o tempo de incubação de 48 h.

3.4.8.2 Ensaio de citotoxicidade *in vitro*

Os compostos foram avaliados em células de câncer humano (MDA-MB-231 e K562) usando o ensaio com MTT (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)2,5-Difenil Brometo de Tetrazolium - MOSMAN, 1983), que consiste em uma determinação colorimétrica de viabilidade celular durante tratamento *in vitro* com o fármaco. Este ensaio colorimétrico de microcultura, desenvolvido como um estágio inicial para o “sreening” de drogas, mede a quantidade de MTT reduzido pela desidrogenase mitocondrial e assume-se que a viabilidade celular (correspondente à atividade redutiva) é proporcional à produção de cristais de formazan (violeta) que, após solubilizado, é

medido espectrofotometricamente. A densidade óptica (absorbância dos poços) foi medida em um leitor de microplacas a 570 nm. Para verificar o efeito do solvente DMSO, controles adicionais receberam 1% deste solvente.

Um baixo IC_{50} é desejado e implica citotoxicidade ou antiproliferação a baixas concentrações do fármaco. O valor de IC_{50} representa a concentração do fármaco que é necessária para reduzir 50% o crescimento celular.

Para a triagem inicial foram preparadas três concentrações de cada complexo (20,0 mM, 2,0 mM e 0,2 mM) utilizando-se DMSO para solubilizar os mesmos. Considerando que a concentração final de DMSO junto às células não deve ultrapassar 1 % e que o volume de meio de cultura em cada poço é 200 μ L, tomou-se uma alíquota de 2 μ L de cada concentração de complexo e adicionou-se ao poço. Desta maneira as concentrações finais dos complexos foram 200 μ M, 20 μ M e 2 μ M. As soluções dos compostos são preparadas no fluxo laminar utilizando-se materiais estéreis (DMSO e frascos de armazenagem).

3.4.9 Ensaios de atividade *in vitro* contra *M. tuberculosis* H37Rv

Determina-se inicialmente a concentração inibitória mínima (MIC) de cada composto, que é definida como a concentração mínima de composto necessária para inibir o crescimento de 90 % de crescimento, frente ao *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATCC 2729 utilizando “Rezaurin Microtiter Assay” (REMA). Compostos com atividade biológica igual ou inferior a 7,80 μ g/mL seguem para a etapa seguinte, que consiste na avaliação da citotoxicidade (IC_{50}) por meio da determinação da concentração de composto capaz de permitir a viabilidade de 50% das células frente a culturas de macrófagos da linhagem J774. Então, o índice de seletividade (IS) é determinado pela razão entre IC_{50} e MIC. Um valor de IS igual ou superior a 10 indica que o composto em análise pode ser aplicado na concentração maior ou igual a 10 vezes acima do valor de MIC sem apresentar citotoxicidade (ORME, *et al.*, 2001). Para aqueles compostos que apresentam valores de IS maior ou igual a 10 a próxima etapa consiste na avaliação da capacidade do composto de exercer atividade sobre *M. tuberculosis* internalizado em macrófagos.

Como fármaco de referência foi utilizada solução estoque de isoniazida (Sigma) na concentração de 10 mg/mL em água.

3.4.9.1 Cepas de *M. tuberculosis*

A cepa padrão de *M. tuberculosis* H₃₇Rv – ATCC 27294 foi utilizada na técnica do REMA para determinar o MIC das amostras. A cultura bacilar foi congelada a -80° C até o uso.

3.4.9.2 – Determinação da atividade anti-*M. tuberculosis in vitro*

Nas colunas 1 e 12 de uma microplaca estéril de 96 orifícios foram depositados 200 µL de água destilada estéril para evitar a desidratação do meio de cultura no ensaio durante a incubação na estufa. Os complexos foram diluídos em DMSO, obtendo-se solução estoque de 10 mg/mL. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas destas soluções na própria microplaca, de maneira a se obter concentrações variadas de isoniazida (1 a 0,03 µg/mL) e dos demais compostos (250 a 0,10 µg/mL). O primeiro orifício da microplaca contendo cada composto a ser analisado foi utilizado para controle de contaminação do composto. Neste orifício foi adicionado apenas o meio de cultura e a amostra na diluição 1:4, onde esperava-se não haver crescimento de espécie bacteriana. A cepa de *M. tuberculosis* H₃₇Rv congelada foi utilizada no início do ensaio na concentração de 1,0x10⁵ UFC/mL para que no final do experimento fosse obtido população de 1,0x10⁷ UFC/mL. 100 µL da diluição de 10⁵ UFC/mL foi inoculada em cada um dos orifícios contendo os compostos em análise e a isoniazida. A microplaca foi selada com parafilme e incubada a 37 °C. Após 6 dias de incubação foi adicionado no orifício de controle de cepa microbacteriana e no orifício de controle de meio um volume de 30 µL da resazurina 0,01 % diluída em água estéril. A microplaca foi reincubada a 37 °C por 24 h, após isso foi realizada a leitura visual. Obtendo-se o desenvolvimento de cor rósea no orifício controle de cepa bacteriana, foram adicionados 30 µL da solução da resazurina nos demais orifícios, sendo as microplacas reincubadas a 37 °C por 24 h (Figura 3.1). Em caso de não haver mudança para cor rósea, a placa era incubada por mais 24 h. Após este período, foi realizada leitura final baseada na interpretação da fluorescência no leitor de microplacas SpectraFluor Plus (TECAN®), onde utilizou-se filtros de excitação e emissão nos comprimentos de onda de 530 e 590 nm, respectivamente.

A porcentagem de inibição da multiplicação bacteriana foi determinada aplicando-se a fórmula:

$$(1 - b/a) \times 100 = \% \text{ de inibição da multiplicação bacteriana};$$

onde: a = média da leitura dos orifícios controle-positivo (orifício apenas com bactéria e meio de cultura) e

b = resultado de cada orifício com a respectiva diluição do composto analisado.

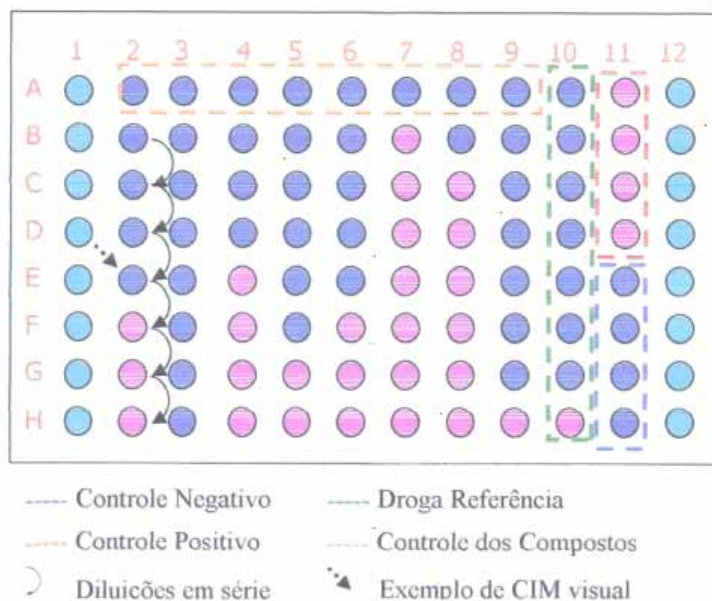


FIGURA 3.1: Exemplo de um resultado de MIC obtido através da técnica de REMA.

3.5 Sínteses dos Precursores

3.5.1 [RuCl₂(PPh₃)₃]

O precursor [RuCl₂(PPh₃)₃], foi sintetizado como descrito na literatura (STEPHENSON & WILKINSON, 1996), onde 1,00 g de RuCl₃·3H₂O (3,80 mmols) foi dissolvido em 200 mL de metanol previamente deaerado, sob refluxo e atmosfera inerte, por aproximadamente 15 minutos. Em seguida 5,75 g de PPh₃ (21,9 mmols) foram adicionados. A solução continuou sob refluxo e atmosfera inerte por três horas. O precipitado marrom formado foi filtrado utilizando um funil de placa porosa, lavado com metanol e hexano, para a retirada de excesso de fosfina livre (PPh₃) e seco sob vácuo. 3,3 g de produto foram obtidos o que equivale a 91% de rendimento.

3.5.2 [RuCl₂(dppb)PPh₃]

O precursor [RuCl₂(dppb)PPh₃] foi sintetizado como descrito por WOLF e colaboradores (1998), onde 1,00 g de [RuCl₂(PPh₃)₃] (1,05 mmols) foi dissolvido em 20 mL de diclorometano previamente deaerado, e foram adicionados lentamente 0,45 g de dppb (1,05 mmols), para que não houvesse a formação do produto binuclear durante a reação; a solução permaneceu sob agitação e atmosfera inerte por 30 minutos. Em seguida precipitou-se o complexo com etanol, sendo o precipitado filtrado em funil de placa porosa e lavado com etanol e hexano e seco sob vácuo. Obteve-se 0,800 g de produto o que é equivalente a 89% de rendimento.

3.5.3 *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)] (*cis*-5-mebipy)

O *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)], foi sintetizado dissolvendo-se 0,500 g de [RuCl₂(dppb)PPh₃], (0,58 mmols) em 100 mL de diclorometano previamente deaerado, e foram adicionados 0,160 g de 5-mebipy (0,87 mmols). A solução formada permaneceu sob refluxo em atmosfera inerte por 48 horas. Reduziu-se o volume da solução para aproximadamente 2 mL e em seguida adicionou-se éter etílico deaerado para formar um precipitado vermelho, que foi filtrado utilizando-se um funil de placa porosa, lavado com hexano e éter etílico para a retirada de excesso de fosfinas livres (dppb e PPh₃) e seco sob vácuo. Foram obtidos 0,44 g de produto, equivalente a 85,9 %.

Análise Elementar:

	%H(cal.)	%C(cal.)	%N(cal.)
C ₄₀ H ₄₀ ClN ₂ P ₂ Ru	5,22 (5,15)	61,24 (61,38)	3,68 (3,58)

3.6 Sínteses dos complexos da série *cis*-[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ (L= piridina, 4-picolina, 4-fenilpiridina, 4-vinilpiridina, 4-*tert*-butilpiridina e 4-aminopiridina)

3.6.1 L = Piridina

Para a obtenção do complexo *cis*-[RuCl(py)(dppb)(5-mebipy)]PF₆, dissolveu-se 0,050 g de *cis*-5-mebipy (0,0567 mmol) em 20 mL de CH₂Cl₂; em seguida foram adicionados à solução 0,0162 mL (0,199 mmol) do ligante piridina, numa proporção de 1:3. Adicionou-se também 0,022 g de KPF₆ (numa proporção de 1:2) dissolvido em 1 mL de metanol, pois este não é solúvel em CH₂Cl₂, permanecendo a mistura

reacional sob agitação em atmosfera inerte por 3 h. Passadas as 3 h, a reação foi rota-evaporada (até aproximadamente 1 mL) e acrescentou-se éter etílico para a precipitação do complexo. Este foi filtrado e lavado com H₂O destilada para retirar excesso de KPF₆ e KCl, sendo posteriormente lavado também com hexano e éter etílico e seco sob vácuo. Foi obtido um rendimento de 0,047 g do composto, o que corresponde a 84,8%.

Análise Elementar:	%H(cal.)	%C(cal.)	%N(cal.)
C ₄₅ H ₄₅ ClN ₃ P ₃ F ₆ Ru	4,68 (4,67)	55,67 (55,65)	4,00 (4,33)

3.6.2 L = 4-Fenilpiridina

Para a obtenção do complexo *cis*-[RuCl(4-phenyl)(dppb)(5-mebipy)]PF₆, dissolveu-se 0,050 g de *cis*-5-mebipy (0,0567 mmol) em CH₂Cl₂; em seguida foram adicionados à solução 0,0308 g (0,199 mmol) do ligante 4-fenilpiridina numa proporção de 1:3. Adicionou-se também 0,022 g de KPF₆ (numa proporção de 1:2) dissolvido em 1 mL de metanol, permanecendo a mistura reacional sob agitação em atmosfera inerte por 3 h. Passadas as 3 h, a reação foi rota-evaporada (até aproximadamente 1 mL) e acrescentou-se éter etílico para a precipitação do complexo. Este foi filtrado e lavado com H₂O destilada para retirar excesso de KPF₆ e KCl, sendo posteriormente lavado também com hexano e éter e seco sob vácuo. Foi obtido um rendimento de 0,0505 g, o que corresponde a 84,9%.

Análise Elementar:	%H(cal.)	%C(cal.)	%N(cal.)
C ₅₁ H ₄₉ ClN ₃ P ₃ F ₆ Ru	5,08 (4,72)	57,71 (58,48)	4,39 (4,01)

3.6.3 L = 4-Vinilpiridina

Para a obtenção do complexo *cis*-[RuCl(4-vinyl)(dppb)(5-mebipy)]PF₆, dissolveu-se 0,050 g de *cis*-5-mebipy (0,0567 mmol) em 20 mL de CH₂Cl₂; em seguida foram adicionados à solução 0,043 mL (0,398 mmol) do ligante 4-vinilpiridina numa proporção de 1:3. Adicionou-se também 0,022 g de KPF₆ (numa proporção de 1:2) dissolvido em 1 mL de metanol, permanecendo a mistura reacional sob agitação em atmosfera inerte por 24 h. Passadas as 24 h, a reação foi rota-evaporada (até aproximadamente 1 mL) e acrescentou-se éter etílico para a precipitação do complexo. Este foi filtrado e lavado com H₂O destilada para retirar excesso de KPF₆ e KCl, sendo posteriormente lavado também com hexano e éter e

seco sob vácuo. Foi obtido um rendimento de 0,0518 g do composto, o que corresponde a 92,5 %.

Análise Elementar:	%H(cal.)	%C(cal.)	%N(cal.)
C ₄₇ H ₄₇ ClN ₃ P ₃ F ₆ Ru	5,17 (4,75)	55,34 (56,60)	4,33 (4,21)

3.6.4 L = 4-Metilpiridina (4-Picolina)

Para a obtenção do complexo *cis*-[RuCl(4-pic)(dppb)(5-mebipy)]PF₆, dissolveu-se 0,050 g de *cis*-5-mebipy (0,0567 mmol) em 20 mL de CH₂Cl₂; em seguida foram adicionados à solução 0,019 mL (0,199 mmol) do ligante 4-metilpiridina numa proporção de 1:3. Adicionou-se também 0,022 g de KPF₆ (numa proporção de 1:2) dissolvido em 1 mL de metanol, permanecendo a mistura reacional sob agitação em atmosfera inerte por 3 h. Passadas as 3 h, a reação foi rota-evaporada (até aproximadamente 1 mL) e acrescentou-se éter etílico para a precipitação do complexo. Este foi filtrado e lavado com H₂O destilada para retirar excesso de KPF₆ e KCl, sendo posteriormente lavado também com hexano e éter e seco sob vácuo. Foi obtido um rendimento de 0,0523 g do composto, o que corresponde a 93,6%.

Análise Elementar:	%H(calc.)	%C(calc.)	%N(calc.)
C ₄₆ H ₄₇ ClN ₃ P ₃ F ₆ Ru	4,80 (4,81)	55,31 (56,07)	4,54 (4,26)

3.6.5 L = 4-Terc-butilpiridina

Para a obtenção do complexo *cis*-[RuCl(4-*tb*upy)(dppb)(5-mebipy)]PF₆, dissolveu-se 0,050 g de *cis*-5-mebipy (0,0567 mmol) em 20 mL de CH₂Cl₂; em seguida foram adicionados à solução 0,0295 mL (0,199 mmol) do ligante 4-*terc*-butilpiridina numa proporção de 1:3. Adicionou-se também 0,022 g de KPF₆ (numa proporção de 1:2) dissolvido em 1 mL de metanol, permanecendo a mistura reacional sob agitação em atmosfera inerte por 3 h. Passadas as 3 h, a reação foi rota-evaporada (até aproximadamente 1 mL) e acrescentou-se éter etílico para a precipitação do complexo. Este foi filtrado e lavado com H₂O destilada para retirar excesso de KPF₆ e KCl, sendo posteriormente lavado também com hexano e éter e seco sob vácuo. Foi obtido um rendimento de 0,0544 g do composto, o que corresponde a 82,4%.

Análise Elementar:

	%H(cal.)	%C(cal.)	%N(cal.)
$C_{49}H_{53}ClN_3P_3F_6Ru \cdot 1/2CH_2Cl_2$	4,56 (5,09)	55,52 (55,57)	4,14 (3,93)

3.6.6 L = 4-Aminopiridina

Para a obtenção do complexo *cis*-[RuCl(4-ampy)(dppb)(5-mebipy)]PF₆, dissolveu-se 0,050 g de *cis*-5-mebipy (0,0567 mmol) em 20 mL de CH₂Cl₂; em seguida foram adicionados à solução 0,0185 g (0,199 mmol) do ligante 4-aminopiridina numa proporção de 1:3. Adicionou-se também 0,022 g de KPF₆ (numa proporção de 1:2) dissolvido em 1 mL de metanol, permanecendo a mistura reacional sob agitação em atmosfera inerte por 24 h. Passadas as 24 h, a reação foi rota-evaporada (até aproximadamente 1 mL) e acrescentou-se éter etílico para a precipitação do complexo. Este foi filtrado e lavado com H₂O destilada para retirar excesso de KPF₆ e KCl, sendo posteriormente lavado também com hexano e éter e seco sob vácuo. Foi obtido um rendimento de 0,057 g do composto, o que corresponde a 89,7%.

Análise Elementar:

	%H(cal.)	%C(cal.)	%N(cal.)
$C_{45}H_{46}ClN_3P_3F_6Ru$	5,03 (4,70)	54,81 (54,80)	5,28 (5,68)

3.7 Síntese do complexo *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)]

Em um balão com capacidade para 50 mL contendo cerca de 20 mL de metanol previamente deaerado dissolveu-se 0,100 g do precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)] (0,128 mmol) e adicionou-se 0,026 g (0,384 mmol) de NaNO₂ (proporção de 1:3). Após 1 hora de reação, observou-se a formação de um precipitado laranja, o qual foi filtrado em funil de placa porosa e lavado com metanol, água destilada e éter previamente deaerados, sendo posteriormente seco sob vácuo. Rendimento: (0,0895 g) 81,8 %.

Análise Elementar:

	%H(cal.)	%C(cal.)	%N(cal.)
$C_{40}H_{40}ClN_3O_2P_2Ru$	5,27 (5,08)	60,37 (60,57)	5,44 (5,30)

3.8 Síntese do complexo *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)]

Em um balão com capacidade para 50 mL contendo cerca de 40 mL de mistura dos solventes metanol e clorofórmio (1:3) previamente deaerados dissolveu-se 0,100 g do precursor *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] (0,128 mmol) e adicionou-se 0,026 g (0,384 mmol) de NaNO₂ (proporção de 1:3). Após 3 horas de reação, esta foi evaporada até volume aproximado de 1 mL e adicionou-se éter previamente deaerado o que levou a formação de um precipitado amarelo. Tal precipitado foi filtrado em funil de placa porosa e lavado com água destilada e éter previamente deaerados, sendo posteriormente seco sob vácuo. Rendimento: (0,0807 g) 88,4 %.

Análise Elementar:	%H(cal.)	%C(cal.)	%N(cal.)
C ₄₀ H ₄₀ N ₄ O ₄ P ₂ Ru	5,38 (5,02)	59,36 (59,77)	7,01 (6,97)

3.9 Síntese do complexo *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂

Em um balão com capacidade para 50 mL contendo cerca de 20 mL de etanol previamente deaerado dissolveu-se 0,100 g do complexo *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] (0,128 mmol). Adicionou-se 1 mL de HPF₆ e manteve-se o sistema sob agitação magnética e atmosfera inerte por 30 minutos. A solução foi rota-evaporada até volume aproximado de 1 mL e a adição de água destilada previamente deaerada à solução conduziu à precipitação de um sólido bege. Em seguida filtrou-se o sólido obtido em funil de placa porosa, lavou-se com água e éter-etílico e armazenou-se em dessecador para secagem. Rendimento: (0,1136 g) 93,8 %.

Análise Elementar:	%H(cal.)	%C(cal.)	%N(cal.)
C ₄₀ H ₄₀ ClN ₃ OP ₄ F ₁₂ Ru	3,55 (3,78)	44,79 (45,02)	4,00 (3,94)

3.10 Síntese do complexo *cc*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆

Em um balão com capacidade para 50 mL contendo cerca de 20 mL de diclorometano previamente deaerado dissolveu-se 0,0500 g do complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)] (0,128 mmol). Adicionou-se 0,1 mL (1,915 mmol) de acetonitrila também deaerada e 0,022 g de KPF₆ (numa proporção de 1:2), mantendo-se o sistema sob agitação magnética e atmosfera inerte por 1 hora. A solução foi rota-evaporada até volume aproximado de 1 mL e a adição de éter-etílico deaerado à solução conduziu à precipitação de um sólido amarelo pálido. Em

seguida filtrou-se o sólido obtido em funil de placa porosa, lavou-se com água e éter-etílico e armazenou-se em dessecador para secagem. Rendimento: (0,0520 g) 87,3 %.

Análise Elementar:	%H(cal.)	%C(cal.)	%N(cal.)
$C_{42}H_{43}ClN_3P_3F_6Ru$	4,65 (4,64)	52,38 (54,05)	4,32 (4,50)

3.11 Síntese do complexo $cc-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF_6)_2$

Em um balão com capacidade para 50 mL contendo cerca de 20 mL de etanol previamente deaerado dissolveu-se 0,100 g do complexo *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)] (0,128 mmol). Adicionou-se 1 mL de HCl e manteve-se o sistema sob agitação magnética e atmosfera inerte por 15 minutos. A solução foi rota-evaporada até volume aproximado de 1 mL e a adição de uma solução aquosa contendo 0,050 g de KPF₆ deaerada à solução conduziu à precipitação de um sólido bege. Em seguida filtrou-se o sólido obtido em funil de placa porosa, lavou-se com água e éter-etílico e armazenou-se em dessecador para secagem. Rendimento: (0,1136 g) 93,8 %.

Análise Elementar:	%H(cal.)	%C(cal.)	%N(cal.)
$C_{40}H_{40}ClN_3OP_4F_{12}Ru$	4,12 (3,78)	44,55 (45,02)	4,14 (3,94)

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)]

4.1.1 ³¹P{¹H} RMN

A ressonância magnética nuclear de fósforo é uma valorosa ferramenta no estudo estrutural de complexos contendo ligantes fosfínicos (VERKADE & QUIN, 1987). Com ela é possível, através da interpretação dos sinais obtidos (deslocamentos químicos e constantes de acoplamento), elucidar a estereoquímica do composto em estudo.

A FIGURA 4.1 mostra o espectro de ³¹P{¹H} RMN do complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)], que apresenta dois dubletos em 31,43 ppm e 44,95 ppm ($J = 32$ Hz), o que é condizente com o padrão AX, o clássico sistema de dois spins, que é caracterizado pela diferença de frequência ressonante dos dois sinais serem muito maior que o acoplamento ($|v_1 - v_2| \gg J_{12}$) (GUNTHER, 1996). A presença de dois dubletos mostra que os dois fósforos da bifosfina não são magneticamente equivalentes, o que confirma a presença dos dois ligantes Cl em posição *cis*. O deslocamento químico em campo mais alto é referente ao sinal do fósforo *trans* ao cloro (ligante σ/π -doador), enquanto o deslocamento em campo mais baixo é relativo ao fósforo que se encontra *trans* ao nitrogênio da bipyridina (ligante σ -doador/ π -receptor), uma vez que tal posição indica que este fósforo está mais desblindado em relação ao fósforo que se encontra *trans* ao cloro.

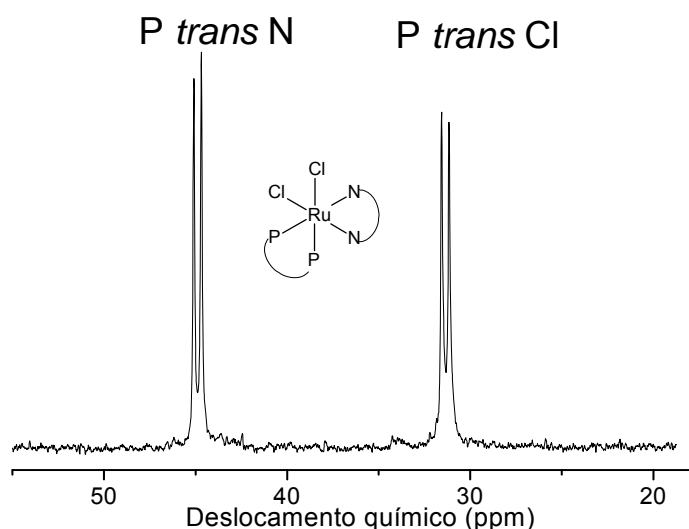


FIGURA 4.1: Espectro de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN do $\text{cis-[RuCl}_2(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$, em CH_2Cl_2 .

Tais atribuições podem ser explicadas levando em conta o maior caráter doador dos átomos de cloro que, por predominância de efeitos eletrônicos, faz com que haja maior densidade de elétrons no átomo de fósforo *trans* a este, ocasionando em sua maior proteção. Tal explicação é suportada por trabalhos anteriores de nosso grupo de pesquisa nos quais, por comparação entre comprimentos de ligação Ru-N e Ru-P em complexos do tipo $\text{cis-[RuCl}_2(\text{P-P})[\text{N-N}]$, sendo N-N = 4,4'-(X)₂-2,2'-bipy (X = -H, -Me, -SMe, -Cl, -MeO) e P-P = dppb ou dois ligantes PPh_3 , obtidos por difração de raios X e pelos deslocamentos químicos de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN de tais compostos contendo átomos de fósforo *trans* a átomos de nitrogênio, a átomos de fósforo e de cloro, foi possível atribuir as regiões de deslocamento químico para os fósforos em cada uma das geometrias dos complexos representados na FIGURA 4.2 (QUEIROZ, 1998; SANTIAGO, 2005). Nesses trabalhos, segundo as observações dos autores, foi possível sugerir a faixa de deslocamentos químicos para os átomos de fósforo em experimentos de ressonância magnética nuclear para tais compostos e análogos, sendo que em situações em que fósforos se encontram em posição *trans* a fósforo atribuiu-se em aproximadamente 20 ppm, fósforos *trans* cloretos em torno de 30 ppm e fósforos *trans* a átomos de nitrogênio de ligantes N-heterocíclicos, em torno de 40 ppm.

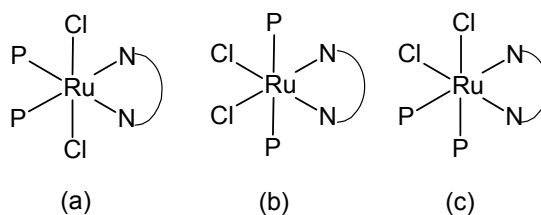


FIGURA 4.2. Representação das possíveis geometrias dos compostos de fórmula geral *cis*-[RuCl₂(P-P)[N-N] sendo (A) P *trans* N; (B) P *trans* P e (C) P *trans* Cl.

Tanto o $^2J_{AX}$ do composto obtido neste trabalho quanto da série de compostos *cis* previamente sintetizados em nosso grupo de pesquisa apresentaram valor de $^2J_{AX}$ de aproximadamente 32 Hz (SANTIAGO, 2005).

Comparando os valores de deslocamentos químicos do composto supracitado ao do composto análogo *cis*-[RuCl₂(dppb)(4-mebipy)] bem como do composto contendo a bipyridina não substituída *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)] (TABELA 4.1) é possível notar que o efeito do substituinte metila não é transmitido eficientemente aos demais ligantes na esfera de coordenação, sendo a variação nos valores de deslocamentos químicos pouco significativa. Foi observado anteriormente em nosso grupo de pesquisa, que mesmo outros substituintes da bipyridina mais eletronegativos na posição 4,4' tais como a 4,4'-dicarboxi-2,2'-bipyridina e a 4,4'-dicloro-2,2'-bipyridina, não apresentam variações significativas nos deslocamentos químicos (SANTIAGO, 2004).

TABELA 4.1. Valores de deslocamento químico para os compostos de fórmula geral *cis*-[RuCl₂(dppb)(X-bipy)] e os respectivos valores de pKa das bipyridinas livres.

Composto	Deslocamentos químicos (ppm)	pKa*
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(4-meSObipy)]*	(d) 41,90; 29,70	2,30
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(4-Clbipy)]*	(d) 41,77; 29,98	2,61
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(bipy)]*	(d) 43,86; 33,05	4,44
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(4-meSbipy)]*	(d) 46,65; 33,58	4,74
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(4-mebipy)]*	(d) 44,25; 33,33	4,92
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(5-mebipy)]	(d) 44,95; 31,43	5,00 [#]
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(4-meObipy)]*	(d) 46,94; 31,28	5,74

*SANTIAGO, 2004; [#] Valor calculado experimentalmente.

O valor dos pKas das biperidinas substituídas em posição 4 foi determinado no trabalho de SANTIAGO (2004), sendo que o valor do pKa da 5,5'-dimetil-2,2'-biperidina foi calculado segundo a correlação linear entre o E_{pa} obtido para os complexos sintetizados por SANTIAGO (2004) e os pKas dos ligantes biperidínicos livres, como demonstrado na próxima seção.

4.1.2 Voltametria cíclica e de pulso diferencial

A FIGURA 4.3 ilustra o voltamograma cíclico e o voltamograma de pulso diferencial obtidos para o *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)]. É esperado que variando o substituinte dos anéis biperidínicos, bem como sua posição nestes, ocorram alterações significativas na interação metal-ligante (SULLIVAN, 1978).

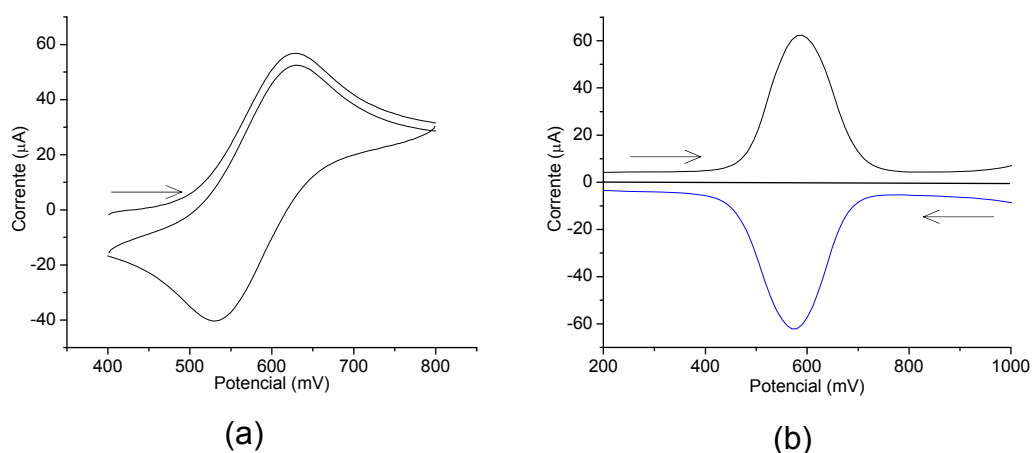


FIGURA 4.3: Voltametria cíclica (a) e voltametria de pulso diferencial (b) do complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)]; eletrólito PTBA 0,1 mol·L⁻¹ em CH₂Cl₂ vs. Ag/AgCl.

Substituintes eletronegativos na biperidina diminuem a densidade eletrônica do anel e desfavorecem a oxidação do Ru(II) à Ru(III), uma vez que favorecem a retrodoação (SANTIAGO, 2004), sendo que no caso de substituintes como o grupo metila o oposto é observado. Outro fator que pode alterar o efeito de um substituinte sobre a densidade eletrônica no anel biperidínico, e conseqüentemente, sobre a oxidação do centro metálico é a posição destes no anel em relação ao nitrogênio. Comparando os valores dos potenciais de oxidação nos complexos contendo 4,4'-dimetil-2,2'-biperidina (4-mebipy), e 5,5'-dimetil-2,2'-biperidina (5-mebipy), por exemplo, cujas metilas encontram-se em posição *para* e *meta* aos nitrogênios, respectivamente, é observado que esta última aumenta mais efetivamente a

densidade eletrônica no anel fazendo com que o metal se oxide mais facilmente (TABELA 4.2).

TABELA 4.2. Valores de $E^{1/2}$ para compostos com fórmula geral $cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{X-bipy})]$ e os pKas de seus respectivos ligantes bipyridínicos.

Composto	E_{pa}	E_{pc}	$E^{1/2}$ (mV)	pKa*
$cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4\text{-Clbipy})]^*$	781	685	733	2,61
$cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]^*$	665	519	592	4,44
$cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4\text{-mebipy})]^*$	628	542	585	4,92
$cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$	628	532	580	5,01 [#]
$cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4\text{-meObipy})]^*$	586	506	546	5,74

*SANTIAGO, 2004. [#]Valor calculado experimentalmente.

Uma vez que o pKa do ligante 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina ainda não havia sido determinado experimentalmente, o valor apresentado na TABELA 4.2 foi calculado através da equação da reta, obtida pela correlação linear dos pontos do gráfico entre os valores de E_{pa} dos complexos *cis* sintetizados no trabalho de SANTIAGO (2004), *versus* os pKas obtidos neste mesmo trabalho (FIGURA 4.4).

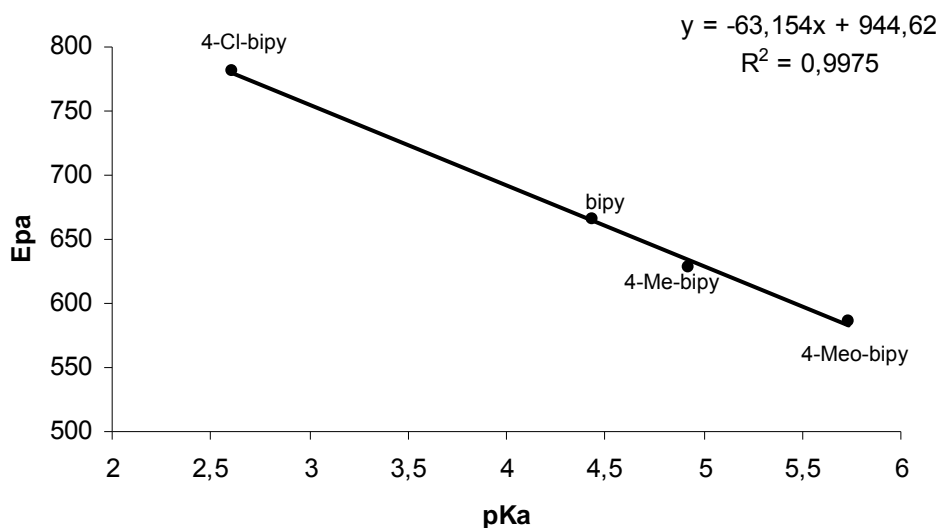


FIGURA 4.4: Gráfico dos E_{pa} dos complexos de fórmula geral $cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4\text{-X-bipy})]$ *versus* os pKas dos ligantes bipyridínicos livres.

4.1.3 Espectroscopia de absorção na região do UV/vis

A FIGURA 4.5 representa o espectro eletrônico para o *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)], no qual são observadas uma banda e um ombro na região do visível, e duas bandas e um ombro na região do ultravioleta.

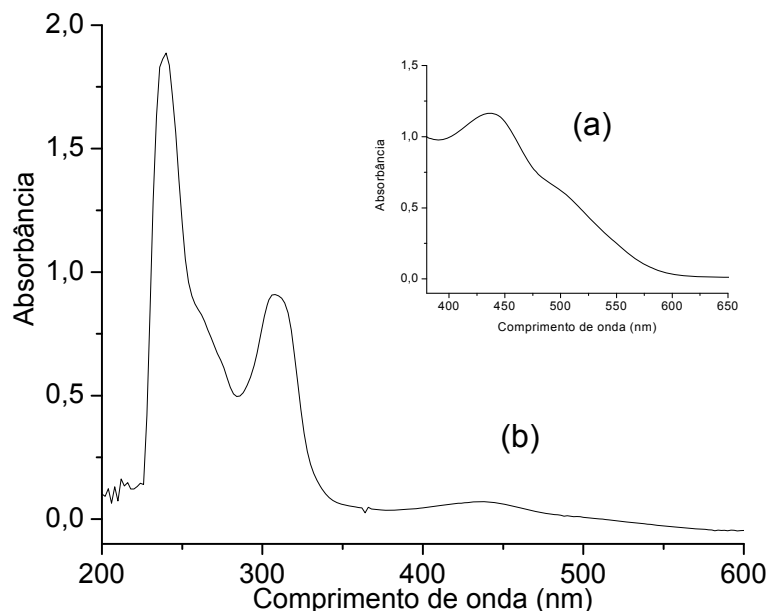


FIGURA 4.5. Espectros eletrônicos do *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)] em CH₂Cl₂. (a) C=5 x10⁻⁴ mol.L⁻¹; (b) C=1,25 x10⁻⁴ mol.L⁻¹.

As atribuições das bandas observadas no espectro no UV-Vis (TABELA 4.3) foram feitas por comparação com dados da literatura e pelos dados observados no espectro do *cis*-[RuCl₂(5-mebipy)₂], que vem sendo estudado paralelamente à este trabalho em nosso grupo de pesquisa (XIAO *et al.*, 1983). As bandas em 510 nm e 440 nm são atribuídas a transições do tipo metal-ligante $d\pi(\text{Ru}) \rightarrow \pi^*(\text{bipy})$ e $(d\pi(\text{Ru}) \rightarrow \pi^*(\text{Cl}))$, respectivamente. Nota-se que a banda observada em menor energia no espectro apresenta-se alargada, o que pode ser um indício de que esta seja referente não apenas a transição metal ligante, como também possivelmente a uma transição d-d (XIAO *et al.*, 1983). As bandas em 240 nm, o ombro em 266 nm e a banda em 310 nm correspondem à superposição de bandas intraligantes do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ dos ligantes fosfínicos e biperidínicos, sendo encontradas nos espectros dos ligantes livres (XIAO *et al.*, 1983). É interessante observar que quando comparamos os complexos *bis*-biperidínicos com seus análogos fosfínicos, os fosfínicos

apresentam bandas de TCML em maiores energias que seus análogos, evidenciando seu maior caráter π -receptor, dificultando as transições.

TABELA 4.3. Bandas observadas nos espectros eletrônicos de complexos bipyridínicos e bifosfínicos de rutênio(II); solvente CH_2Cl_2 . λ , nm; $\epsilon \times 10^{-4} \text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Complexo	IL	IL	IL	TCML	TCML
	$\pi \rightarrow \pi^*$	$\pi \rightarrow \pi^*$	$\pi \rightarrow \pi^*$	$d\pi(\text{Ru}) \rightarrow \pi^*(\text{Cl})$	$d\pi(\text{Ru}) \rightarrow \pi^*(\text{bipy})$
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bipy) ₂] ^a	-	299	377	488	556
		(5,00)	(0,92)	(0,92)	(0,94)
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(bipy)] ^b	242	282	360	455	510
	(1,1)	(1,1)	(0,88)	(0,30)	(0,18)
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (5-mebipy) ₂]	-	266	309	385	543
		(1,90)	(4,88)	(0,82)	(0,74)
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(5-mebipy)]	240	266	310 [#]	440	510
	(1,63)	(0,63)	(0,98)	(0,30)	(0,11)

^aSEDDON & SEDDON, 1984; ^bQUEIROZ, 1998; [#]A banda se apresenta como um ombro.

4.2 *cis*-[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ L=(py, 4-pic, 4-vnpy, 4-phpy, 4-*t*bupy e 4-ampy)

4.2.1 ³¹P {¹H} RMN

Os espectros de ³¹P{¹H} RMN obtidos para os compostos desta série apresentaram dois dubletos no sistema AB (com $\Delta\delta < 8$ Hz) (FIGURA 4.6).

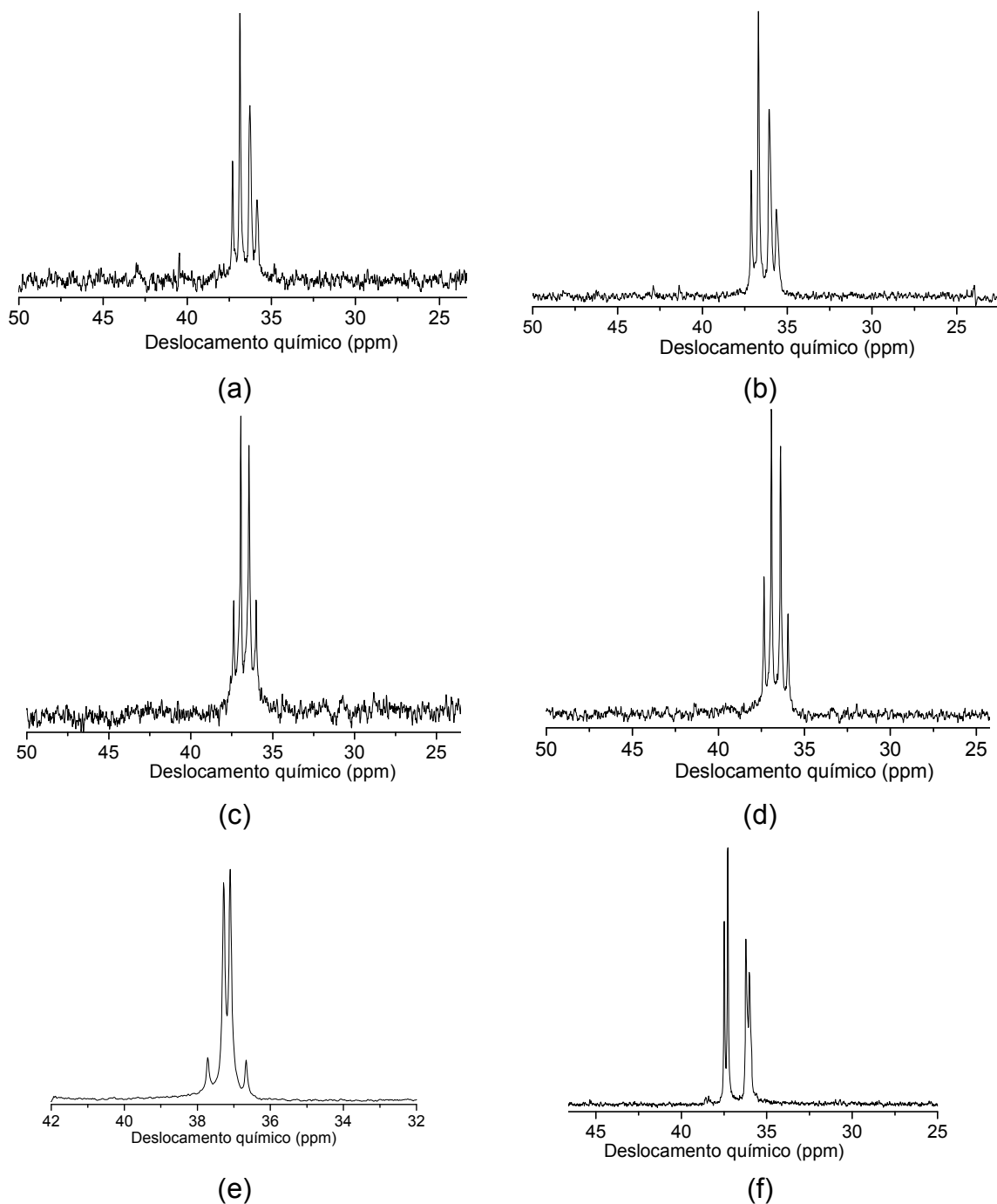


FIGURA 4.6: Ressonância magnética nuclear de ³¹P{¹H} dos complexos da série *cis*-[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ em CH₂Cl₂: (a) L=py; (b) L=4-phpy; (c) L=4-vnpy; (d) L=4-pic; (e) 4-*t*-bupy e (f) 4-ampy.

Em relação ao precursor, o *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)], o dubleto em 31,43 ppm se desloca para frequências mais altas, enquanto o dubleto em 44,95 ppm se desloca para frequências mais baixas. Tal deslocamento se dá devido à substituição do cloro (ligante σ/π -doador) *trans* ao fósforo, por um ligante N-heterocíclico monodentado (π -receptor) capaz de retirar densidade eletrônica do centro metálico, ocasionando desblindagem do fósforo *trans* a este, da mesma forma que o fósforo que se encontra em posição *trans* ao nitrogênio.

A TABELA 4.4 sumariza os valores de deslocamentos químicos dos compostos obtidos neste trabalho. Nenhuma diferença significativa foi observada dentre os valores de deslocamentos químicos encontrados uma vez que, como foi observado para ligantes bipyridínicos substituídos, o substituinte não traz grande influência nos sinais de RMN de fósforo.

TABELA 4.4. Deslocamentos químicos dos compostos *cis*-[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF₆, em CH₂Cl₂.

Composto	Deslocamentos químicos ($J = \text{Hz}$)
<i>cis</i> -[RuCl(py)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	(d) 37,08; 36,06 (33,21)
<i>cis</i> -[RuCl(4-phpy)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	(d) 37,15; 36,22 (35,10)
<i>cis</i> -[RuCl(4-vnpy)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	(d) 37,13; 36,16 (34,83)
<i>cis</i> -[RuCl(4-pic)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	(d) 36,90; 35,84 (34,02)
<i>cis</i> -[RuCl(4- <i>t</i> bupy)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	(d) 38,16; 37,57 (35,19)
<i>cis</i> -[RuCl(4-ampy)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	(d) 37,39; 36,12 (33,51)

Um aspecto interessante observado para esta série de compostos é que estes, quando estudados em temperatura ambiente e em diclorometano, não apresentaram seus sinais sob a forma de um falso singleto como observado anteriormente em nosso grupo (VALLE *et al.*, 2008). Neste trabalho observou-se uma “degenerescência acidental” nos espectros de RMN de fósforo dos complexos contendo os ligantes py, 4-phpy, 4-pic e 4-vnpy, que apresentavam os espectros como um singleto na região de 38 ppm. Tal fenômeno levou a crer, por algum tempo, que o produto obtido apresentava o ligante N-heterocíclico monodentado coordenado em posição *trans* ao átomo de cloro. Porém tal comportamento não foi observado para os complexos contendo 4-ampy e 4-*t*-bupy que apresentavam

espectros de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN condizentes com estruturas em que o N-heterocíclico estaria *trans* ao fósforo, como foi observado no presente trabalho.

Surpreendentemente, com a resolução da estrutura de raios X do composto contendo 4-picolina, observou-se o ligante cloro em posição *cis* em relação a 4-picolina. Procedendo a uma nova medida de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN deste composto em clorofórmio, o resultado foi um espectro com o aparecimento de dois dubletos, condizente com a estrutura determinada por difração de raios X. Diante deste fato os pesquisadores fizeram um estudo com a finalidade de investigar a variação de comportamento do complexo frente a diferentes solventes e temperaturas, sendo que tal estudo é representado nas FIGURAS 4.7 e 4.8. Nestas nota-se uma diferença na multiplicidade dos espectros com a variação da temperatura e do solvente.

Como observado por JAMES e colaboradores (1994) em alguns sistemas, mais especificamente, onde dois átomos de fósforo estão *trans* a ligantes diferentes (um N-doador e um halogênio) um singlete pode ser observado nos espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, o qual é resultado de uma “degenerescência acidental”.

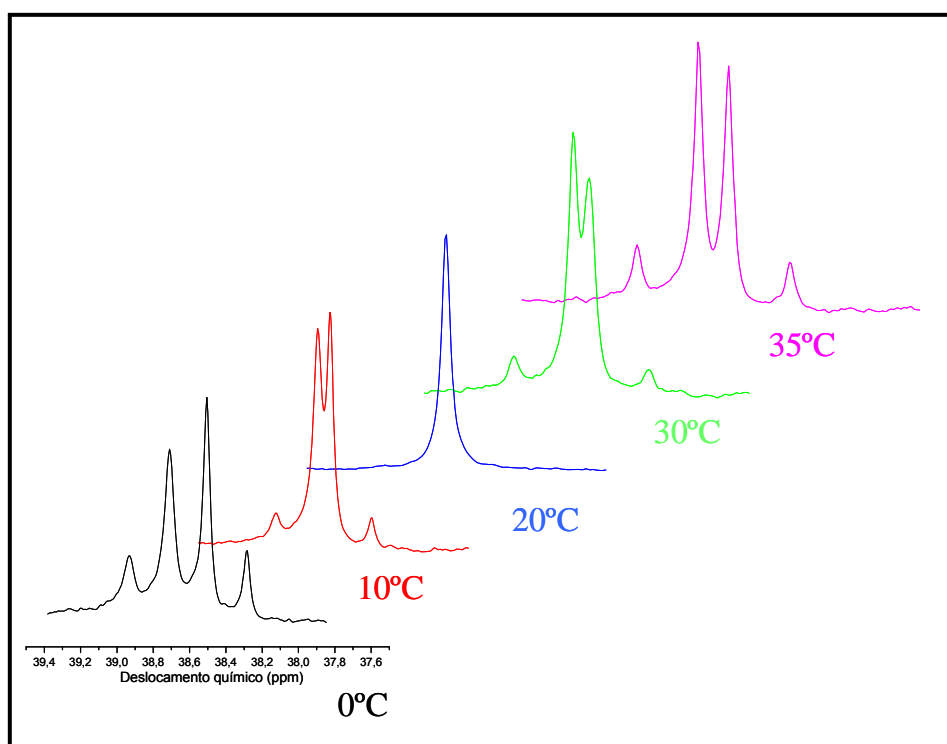


FIGURA 4.7. Espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ com variação de temperatura do complexo $\text{cis-}[\text{RuCl}(4\text{-pic})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ em CD_2Cl_2 (VALLE, 2008).

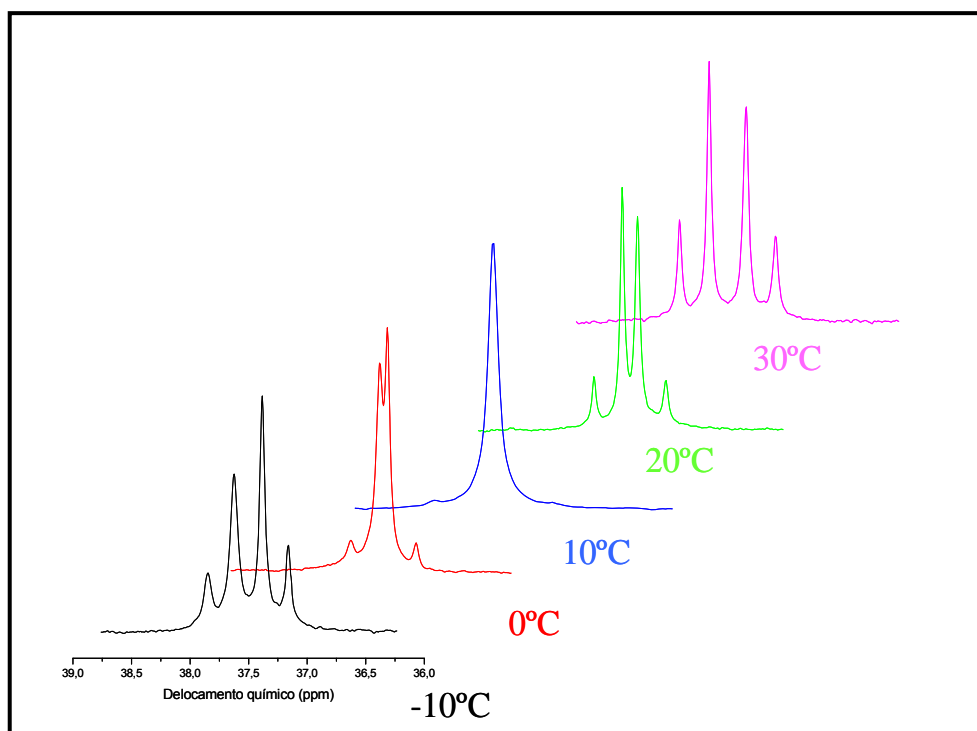


FIGURA 4.8. Espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ com variação de temperatura do complexo $\text{cis-}[\text{RuCl}(4\text{-pic})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ em CDCl_3 (VALLE, 2008).

Para comprovar se há degenerescência nos compostos desta série, procedeu-se com dois estudos em $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN, um com variação de solventes a temperatura ambiente (FIGURA 4.9) e outro com variação de temperatura em CDCl_3 (FIGURA 4.10).

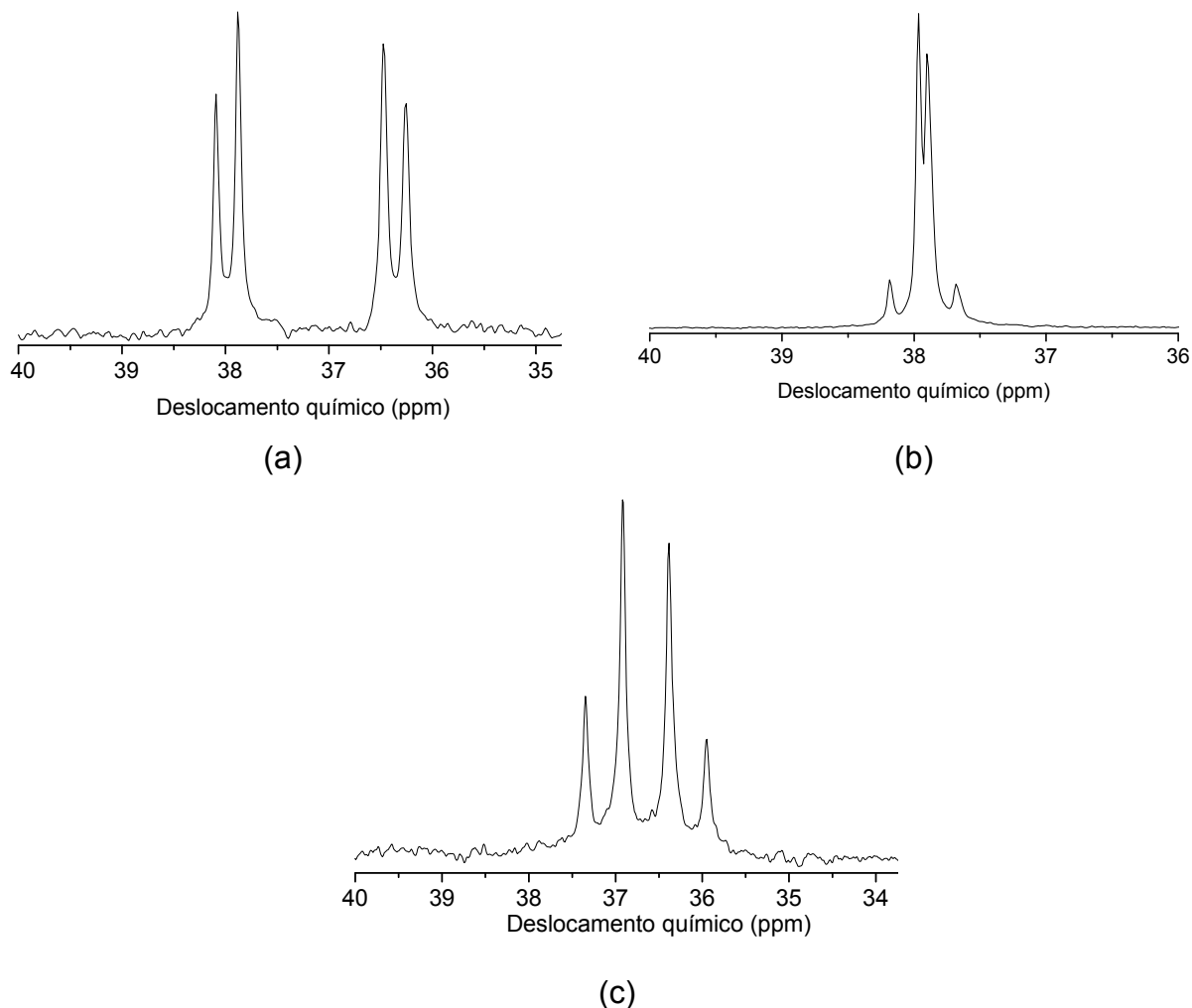


FIGURA 4.9. Espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo *cis*-[RuCl(4-pic)(dppb)(5-mebipy)]PF₆, variando os solventes. (a) em acetona; (b) em clorofórmio e (c) em diclorometano, T = 20°C.

TABELA 4.5: Viscosidade dos solventes C₃H₆O, CHCl₃ e CH₂Cl₂ em centipoints*; T=20° C.

Solvente	CHCl ₃	CH ₂ Cl ₂	C ₃ H ₆ O
Viscosidade	0,580	0,430	0,330

*LIDE, 2002.

No estudo de variação de solventes observa-se que os espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ apresentam diferentes características quanto à coalescência dos dubletos, sendo que analisando os padrões obtidos nos espectros percebe-se que com o aumento da viscosidade do solvente (TABELA 4.5), há maior coalescência dos dubletos.

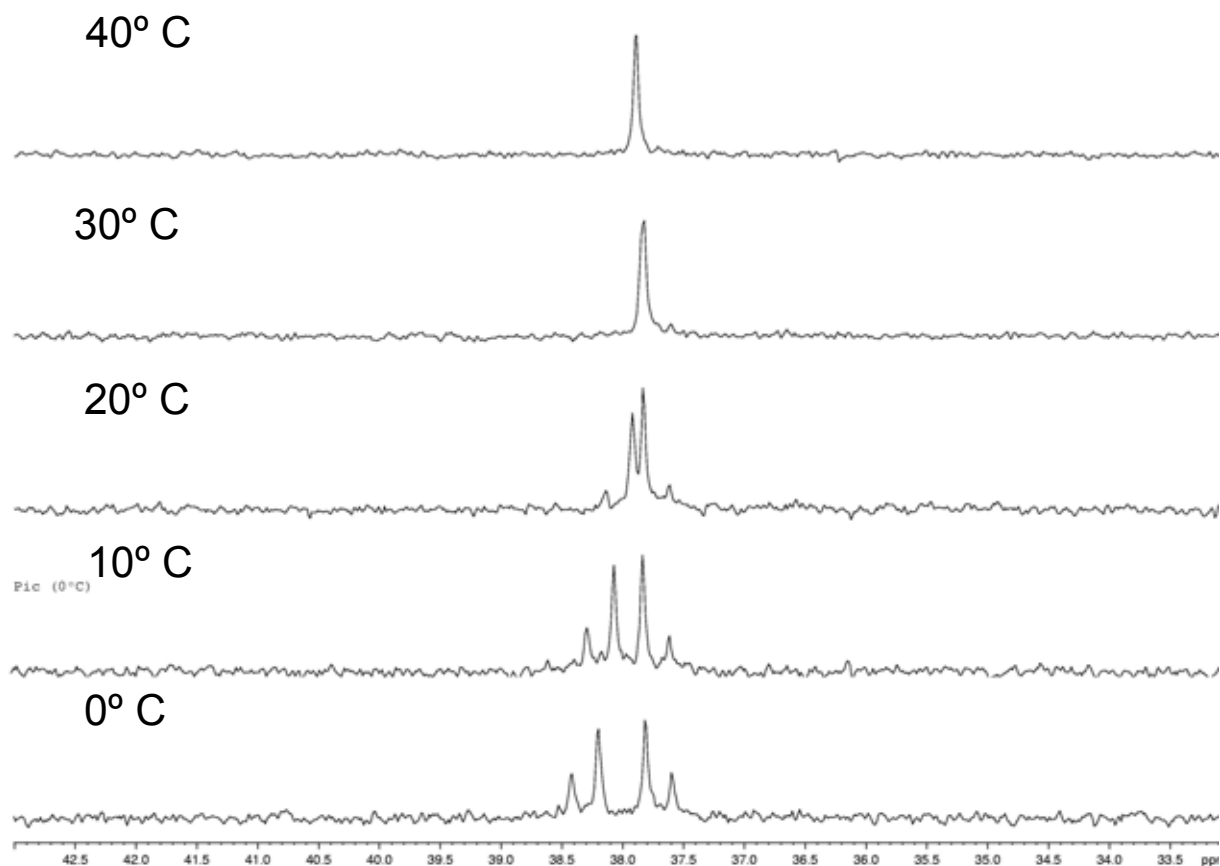


FIGURA 4.10. Espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ com variação de temperatura do complexo $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{4-pic})(\text{dppb})(\text{5-mebipy})]\text{PF}_6$ em CDCl_3 .

Na FIGURA 4.10, é possível observar o efeito da temperatura no aparecimento da degenerescência. Nota-se que até cerca de 20°C, em CDCl_3 , o espectro não apresenta os dubletos coalescidos, sendo tal coalescência aumentada com o aumento da temperatura chegando ao aparecimento de apenas um singlete a 40°C. O efeito oposto é observado ao diminuir a temperatura de estudo, sendo que a 0°C há maior separação dos dubletos. Tal estudo comprova a teoria que de fato ocorre o efeito da degenerescência dependendo do solvente e da temperatura do sistema em estudo. Certamente ao elevar a temperatura acima de 40°C observar-se-ia o desdobramento dos dubletos como observado no trabalho de VALLE (2008).

4.2.2 Medidas de Condutividade Molar

Com o intuito de continuar a caracterização dos compostos obtidos, medidas de condutividade molar foram realizadas para confirmar a substituição de um cloro da esfera de coordenação por um ligante N-heterocíclico monodentado, o que gera uma nova espécie iônica, $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{dppb})(5\text{-mepipy})]^+$. Foi utilizada acetona como solvente, pela melhor solubilidade dos compostos estudados. Os valores encontrados são apresentados na TABELA 4.6, sendo que estes se situam na faixa entre 59-188 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ o que compreende a uma relação iônica de 1/1 ânion/cátion (GEARY, 1971).

TABELA 4.6. Medidas de Condutividade Molar para os complexos da série *cis*- $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{dppb})(5\text{-mepipy})]^+$.

Ligante	Condutividade $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (T=25°C)
Piridina	133,3
4-Fenilpiridina	133,6
4-Vinilpiridina	139,4
4-Metilpiridina	148,8
4- <i>terc</i> -butilpiridina	128,2
4-aminopiridina	135,9

4.2.3 Voltametria cíclica e de pulso diferencial

Assim como os compostos de fórmula geral $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{dppb})(\text{bipy})]^+$, os complexos análogos com a bipyridina metilada em posição 5 apresentam processos de oxidação $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$ em torno de 1100 mV (FIGURAS 4.11 e 4.12), sendo que os voltamogramas apresentam processos quasi-reversíveis.

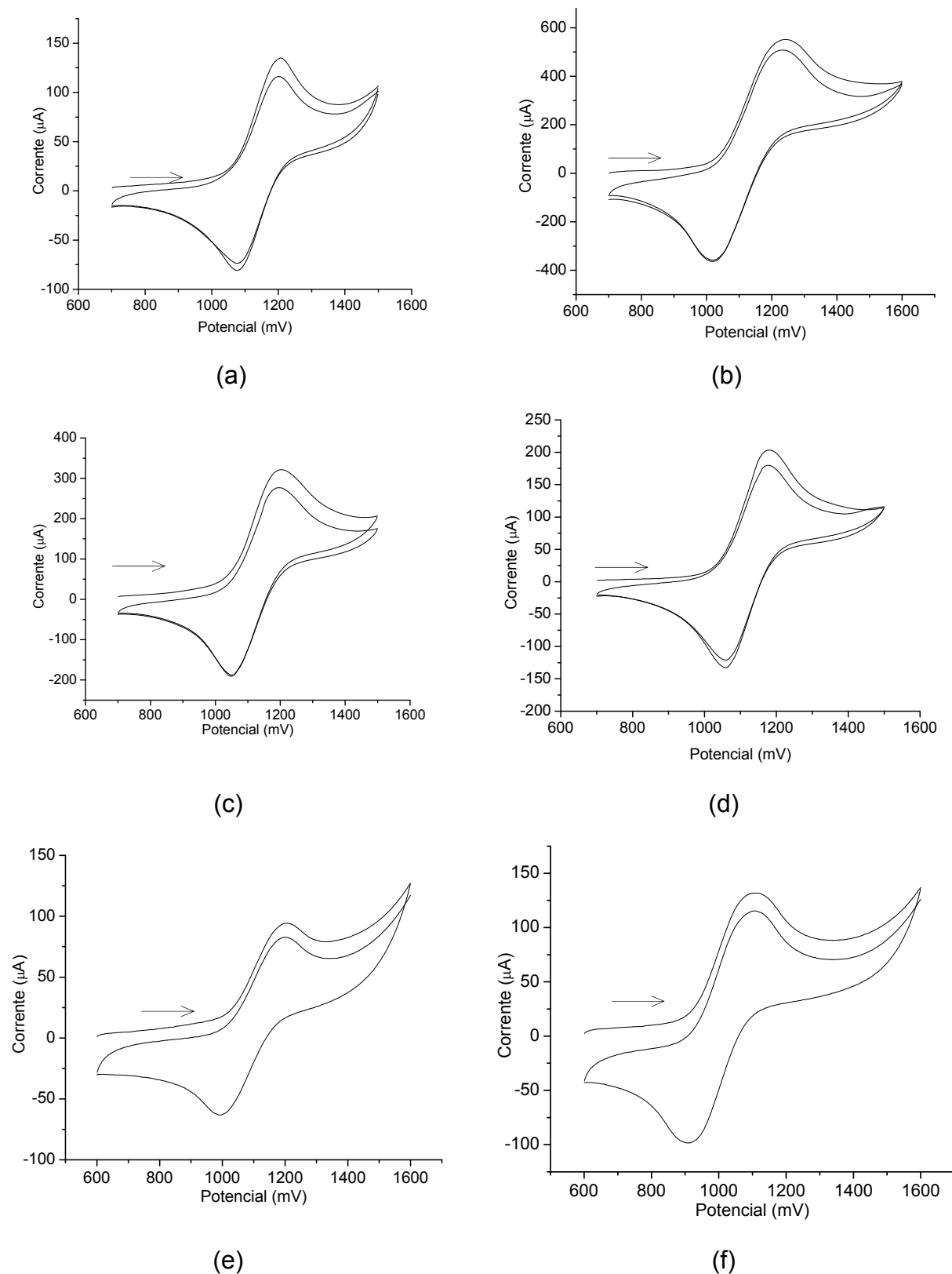


FIGURA 4.11. Voltametria cíclica dos complexos cis -[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ em PTBA 0,1 mol L⁻¹ em CH₂Cl₂; eletrodo de referência Ag/AgCl. (a) L=py; (b) L=phpy; (c) L=vnpy, (d) L=pic (e) L=*t*-bupy e (f) L=ampy.

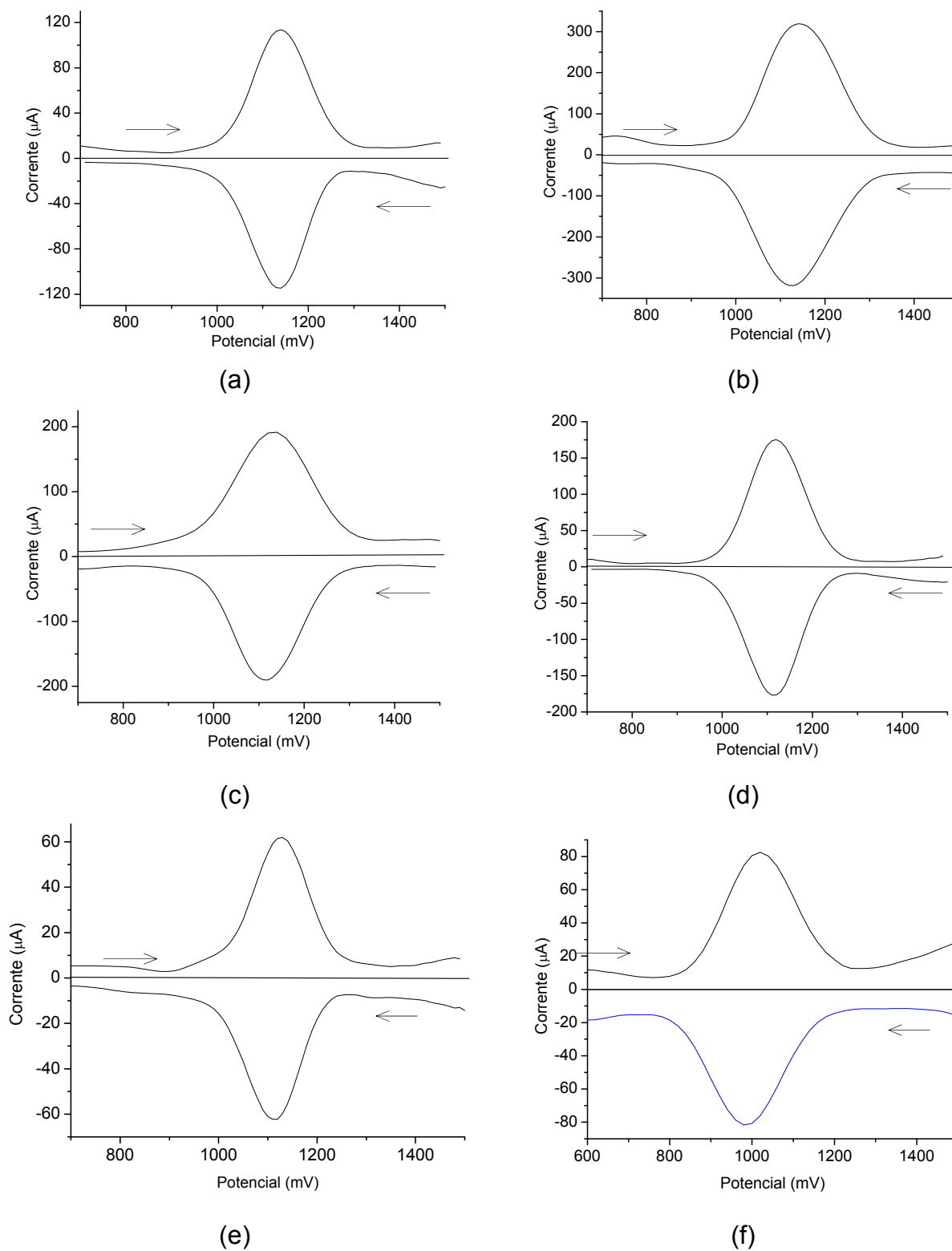


FIGURA 4.12. Voltametria de pulso diferencial dos complexos $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{dppb})(5\text{-mepipy})]\text{PF}_6$ em PTBA $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ em CH_2Cl_2 ; eletrodo de referência Ag/AgCl. (a) $L = \text{py}$; (b) $L = \text{phpy}$; (c) $L = \text{vnpy}$, (d) $L = \text{pic}$ (e) $L = \text{tbupy}$ e (f) $L = \text{ampy}$.

A TABELA 4.7 apresenta os parâmetros eletroquímicos dos compostos sintetizados nesta série, bem como os pKas dos ligantes livres (HUPP, 1999). O aumento do potencial de oxidação para os compostos sintetizados em relação ao precursor se deve a troca de um átomo de cloro, que é um ligante σ/π -doador, por um ligante π -receptor. Tal substituição faz com que haja uma diminuição da densidade eletrônica no rutênio, o que torna mais alto o valor de seu potencial de oxidação.

TABELA 4.7. Parâmetros eletroquímicos dos complexos *cis*-[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ e pKas de seus ligantes piridínicos monodentados.

Ligante	E _{1/2} /mV	E _{pa} /mV	E _{pc} /mV	i _{pa} /i _{pc}	pKa*
piridina	1140	1205	1075	1,22	5,21
4-fenilpiridina	1127	1237	1017	1,31	5,55
4-vinilpiridina	1125	1200	1050	1,22	5,72
4-picolina	1119	1180	1058	1,13	5,99
4- <i>terc</i> -butilpiridina	1112	1170	1075	1,20	6,03
4-aminopiridina	1020	1110	930	1,18	9,17

* HUPP, 1999.

Uma tendência linear decrescente entre os valores de E_{1/2} dos compostos obtidos e os pKas dos ligantes piridínicos livres foi observada e é representada na FIGURA 4.13, o que demonstra a dependência entre o caráter básico do ligante coordenado ao rutênio e seu potencial de oxidação. Por tal correlação foi possível observar que quanto mais básico é o ligante, menor o potencial de oxidação do rutênio, uma vez que os ligantes mais básicos doam mais densidade eletrônica para o metal, tornando-o mais susceptível à oxidação.

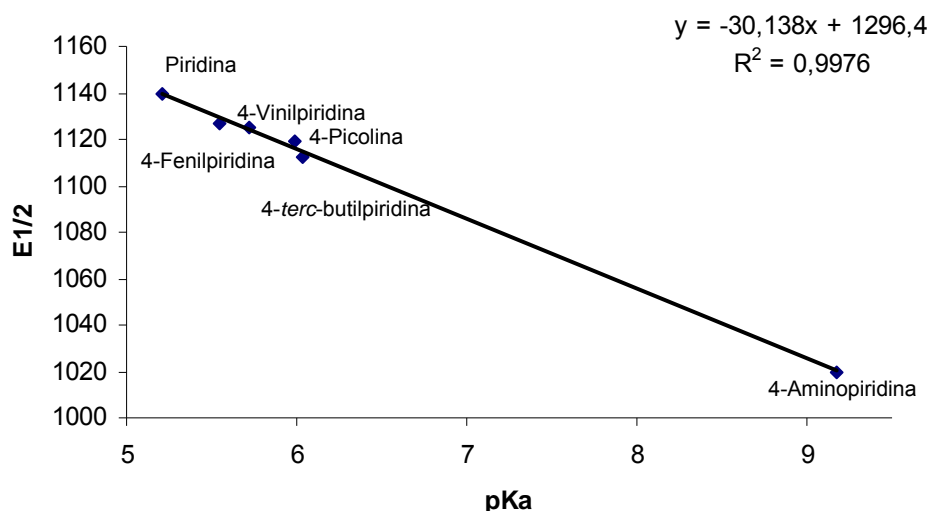
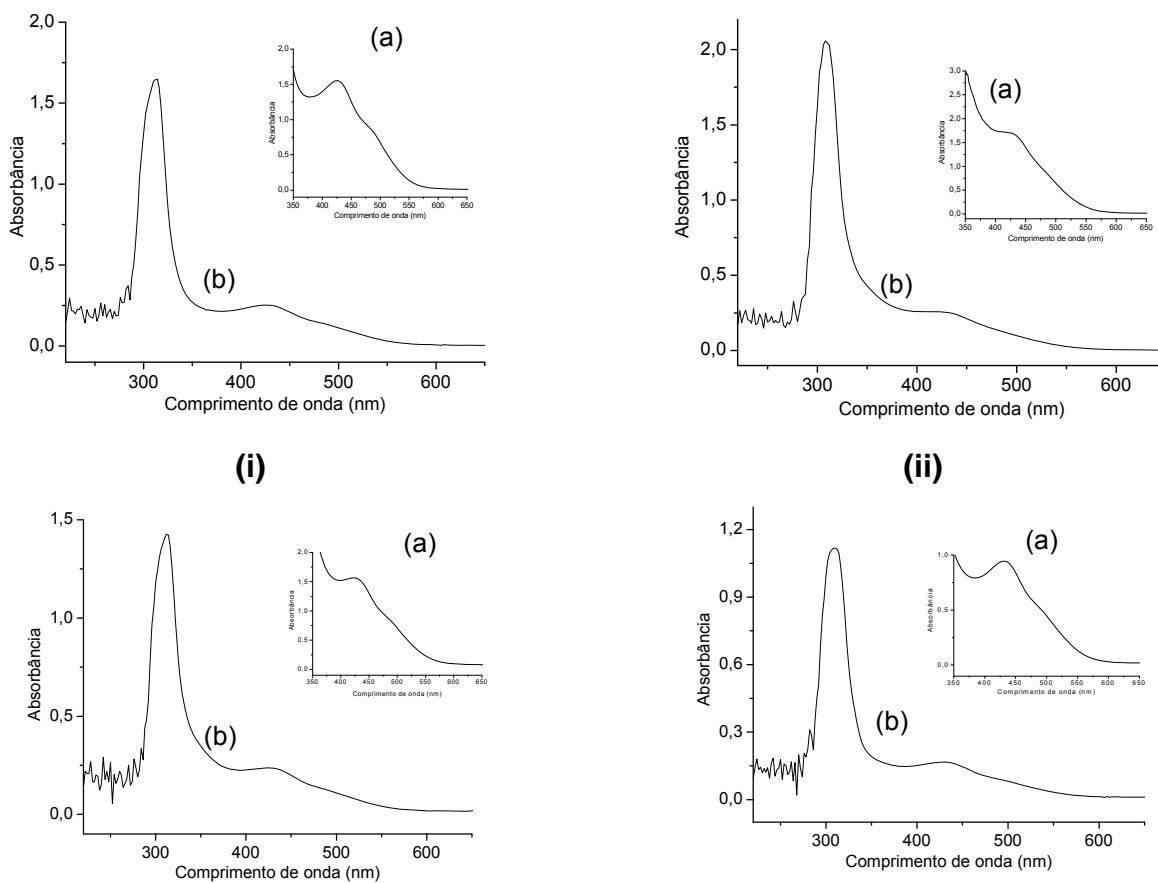


FIGURA 4.13. Correlação entre os valores de $E_{1/2}$ dos complexos de fórmula geral $cis-[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF_6$ (L=ligantes N-heterocíclicos monodentados) e os valores de pKa dos ligantes livres.

4.2.4 Espectroscopia de absorção na região do UV/vis

Os espectros eletrônicos obtidos para os complexos desta série estão representados na FIGURA 4.14.



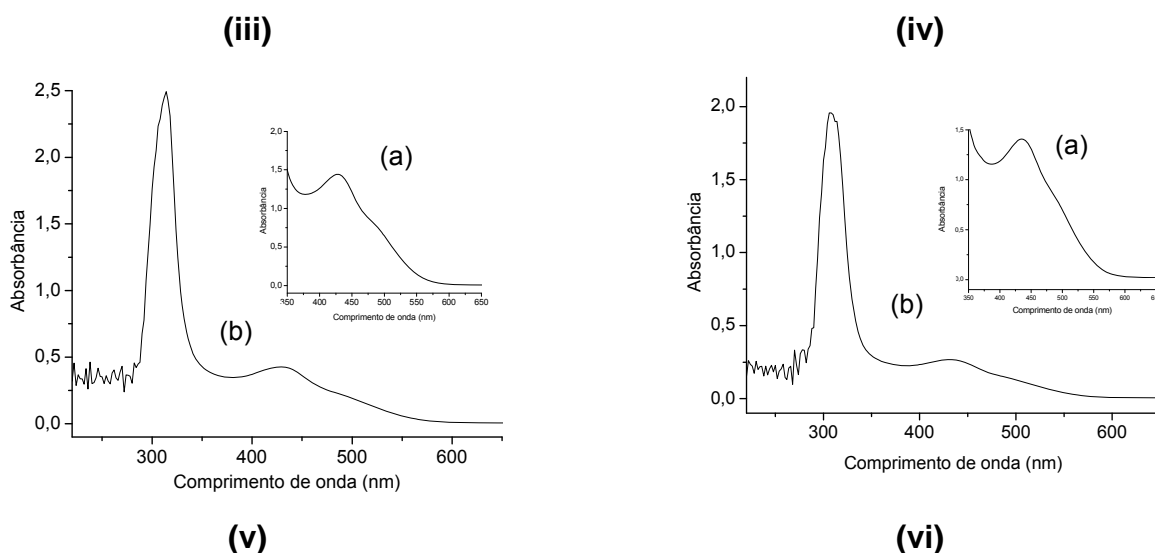


FIGURA 4.14: Espectros de absorção na região do UV-vis para os complexos de fórmula geral cis -[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ em CH₂Cl₂, (i) L=py; (ii) L=phpy; (iii) L=vnpy, (iv) L=pic (v) L=*t*bupy e (vi) L=ampy. (a) C=5 x10⁻⁴ mol.L⁻¹; (b) C=1,25 x10⁻⁴ mol.L⁻¹.

Estudos realizados por SANTIAGO (2005) e QUEIROZ (1998), com complexos do tipo c,t -[RuCl₂(dppb)(X-bipy)] mostram uma banda e um ombro referentes a transições de transferência de carga metal-ligante (TCML) na região do visível. Estas transições são características destes compostos e também são observadas nos espectros dos complexos obtidos (TABELA 4.8).

TABELA 4.8. Dados dos espectros eletrônicos dos compostos de fórmula geral cis -[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]⁺ e do cis -[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)]; solvente CH₂Cl₂. λ , nm; ϵ x10⁻⁴mol⁻¹.L.cm⁻¹.

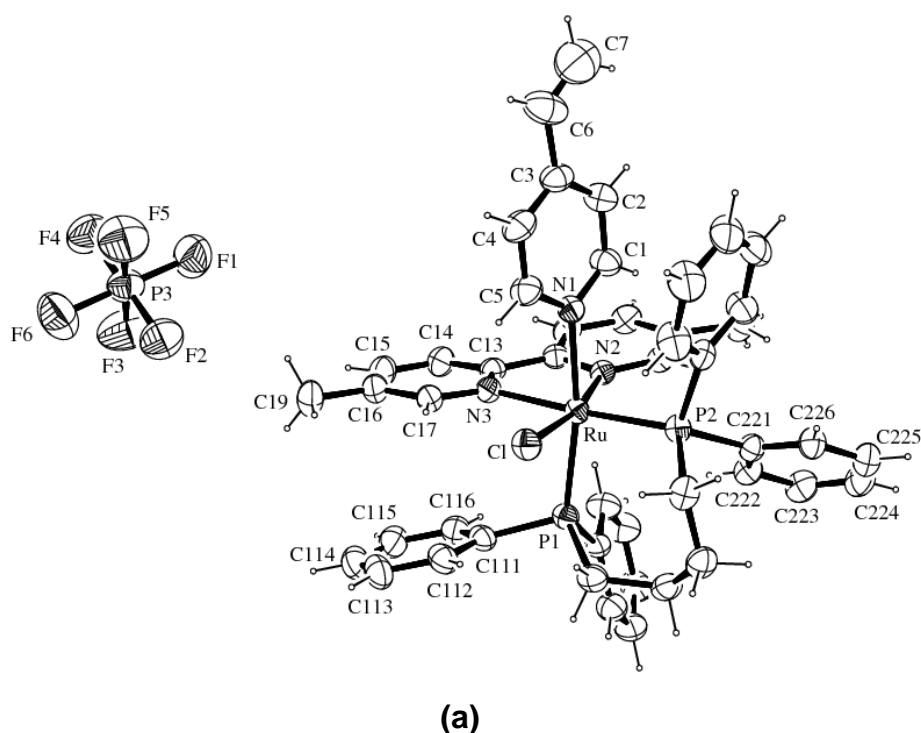
Complexo	IL(bipy) $\pi \rightarrow \pi^*$	TCML $d\pi(\text{Ru}) \rightarrow \pi^*(\text{Cl})$	TCML $d\pi(\text{Ru}) \rightarrow \pi^*(\text{bipy})$
cis -[RuCl ₂ (dppb)(5-mebipy)]	310 (0,98)	440 (0,30)	510 (0,11)
cis -[RuCl(py)(dppb)(5-mebipy)] ⁺	312 (1,20)	426 (0,20)	480 (0,12)
cis -[RuCl(4-phpy)(dppb)(5-mebipy)] ⁺	308 (1,16)	440 (0,19)	480 (0,11)
cis -[RuCl(4-vnpy)(dppb)(5-mebipy)] ⁺	312 (1,14)	430 (0,19)	480 (0,11)
cis -[RuCl(4- <i>t</i> bupy)(dppb)(5-mebipy)] ⁺	310 (1,12)	434 (0,18)	480 (0,10)
* cis -[RuCl(4-pic)(dppb)(5-mebipy)] ⁺	314 (1,11)	434 (0,17)	500 (0,09)
cis -[RuCl(4-ampy)(dppb)(5-mebipy)] ⁺	308 (1,30)	430 (0,21)	500 (0,09)

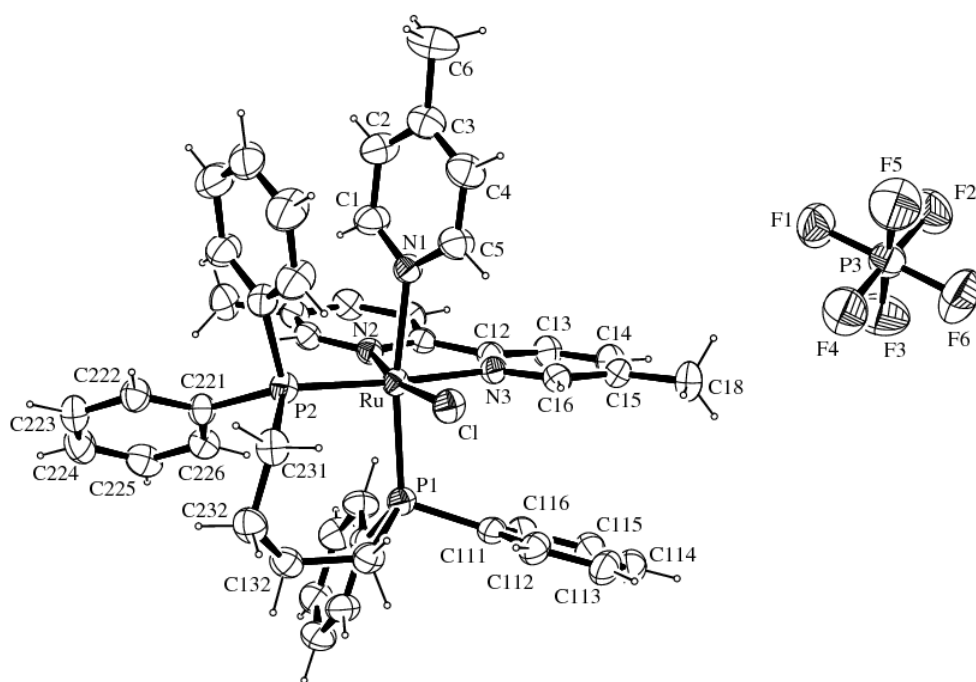
*C= 2,25x10⁻⁴ mol.L⁻¹.

O deslocamento batocrômico das bandas de transferência de carga metal-ligante, está intimamente ligado à facilidade de oxidação do $\text{Ru}^{\text{II}}\text{-Ru}^{\text{III}}$. Assim, quanto maior a densidade eletrônica sobre o metal, menor a energia necessária para sua oxidação e maior comprimento de onda dessas transições no espectro eletrônico, pois a densidade eletrônica sobre o metal está diretamente relacionada com a basicidade dos ligantes coordenados. Para os complexos do tipo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]\text{PF}_6$, observa-se que os valores de $E_{1/2}$ dos complexos apresentam decréscimo de acordo com o pK_a dos ligantes livres, diminuindo com o aumento da basicidade destes. Não foi possível observar esta mesma relação para as bandas detectadas nos espectros eletrônicos, uma vez que os valores de pK_a para os ligantes são muito próximos o que dificulta a análise entre bandas, que são alargadas.

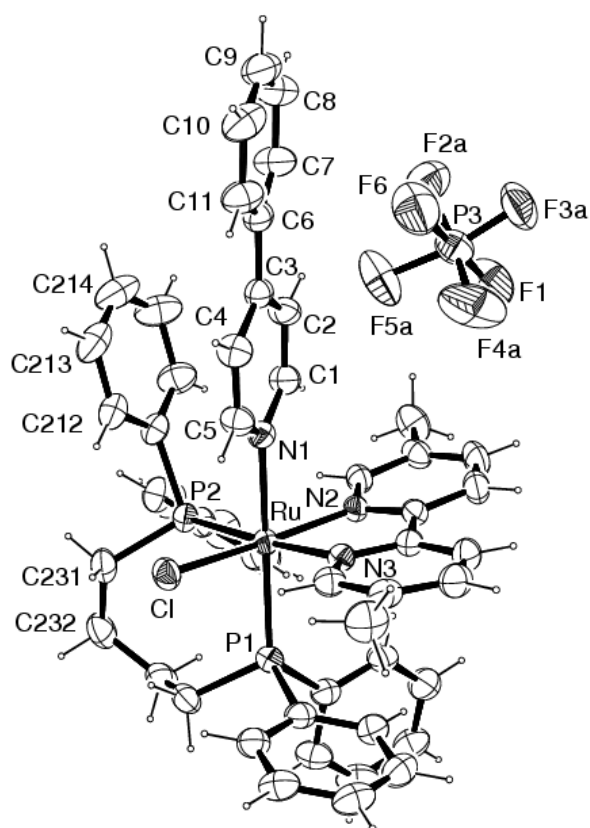
4.2.5 Difração de Raios X

Monocristais foram obtidos para três complexos desta série utilizando tanto o método de recristalização por difusão de solventes: diclorometano e éter etílico, ou diclorometano/hexano. A FIGURA 4.15 mostra as representações ORTEP (FARRUGIA, 1997) para as estruturas dos compostos com 4-fenilpiridina, 4-vinilpiridina e 4-picolina, respectivamente.





(b)



(c)

FIGURA 4.15. Representações ORTEP das estruturas cristalográficas dos complexos $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]\text{PF}_6$ (a) $\text{L}=4\text{-vnpy}$; (b) $\text{L}=4\text{-pic}$; (c) $\text{L}=4\text{-phpy}$ mostrando a numeração dos átomos e as elipsóides a 30% de probabilidade (FARRUGIA, 1997).

A TABELA 4.9 representa os principais dados cristalográficos e resultados do refinamento obtidos na determinação estrutural dos complexos supracitados por difração de raios X. Observa-se nesta que todos apresentaram o mesmo grupo espacial, Pbc_a, e também dimensões e volumes de cela unitária bastante próximos, sendo a diferença entre estes ocasionada apenas pela diferença de tamanho dos ligantes N-heterocíclicos monodentados presentes.

TABELA 4.9. Dados cristalográficos, parâmetros de raios X e resultados de refinamento dos complexos *cis*-[RuCl(4-vnpy)(dppb)(5-mebipy)]PF₆, *cis*-[RuCl(4-pic)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ e *cis*-[RuCl(4-phpy)(dppb)(5-mebipy)]PF₆.

	4-vnpy	4- pic	4-phpy
Fórmula Empírica	[C ₄₇ H ₄₇ N ₃ P ₂ ClRu]PF ₆	[C ₄₆ H ₄₇ N ₃ P ₂ ClRu]PF ₆	[C ₅₁ H ₄₉ N ₃ P ₂ Cl Ru]PF ₆
Peso Molecular	997,31	985,30	1047,36
Temperatura	293(2) K	293(2) K	293(2) K
Comprimento de Onda	0,71073 Å	0,71073 Å	0,71073 Å
Sistema Cristalino	Ortorrômbico	Ortorrômbico	Ortorrômbico
Grupo Espacial	Pbc _a	Pbc _a	Pbc _a
	a = 14,669(3) Å	a = 14,8380(3) Å	a = 15,2646(2)Å
Dimensões da cela unitária	b = 20,499(3) Å	b = 20,6024(2) Å	b = 20,8489(3)Å
	c = 29,401(6) Å	c = 28,8447(6) Å	c = 29,5493(3)Å
Volume (Å³)	8841(3) Å ³	8817,8(3) Å ³	9404,07(18) Å ³
Z	8	8	8
Densidade (calculada)	1,499 Mg/m ³	1,484 Mg/m ³	1,479 Mg/m ³
Coefficiente de Absorção	0,587 mm ⁻¹	0,587 mm ⁻¹	0.556 mm ⁻¹
F(000)	4080	4032	4288
Tamanho do Cristal	0,16 x 0,07 x 0,05 mm ³	0,31 x 0,11 x 0,09 mm ³	0,20 x 0,14 x 0,06 mm ³
Faixa de Theta para Coleta de Dados	2,95 to 26,02°	2,92 to 25,00°	2,92 to 26,75°
Faixas de Índices	-18 ≤ h ≤ 18, -24 ≤ k ≤ 25, -33 ≤ l ≤ 36	-17 ≤ h ≤ 16, -24 ≤ k ≤ 19, -31 ≤ l ≤ 34	-18 ≤ h ≤ 19, -26 ≤ k ≤ 24, -37 ≤ l ≤ 37
Reflexões coletadas	46980	44549	56605
Reflexões	8675 [R(int) = 0.0969]	7732 [R(int) = 0.0895]	9973 [R(int) = 0,0604]

Independentes			
Completude para Theta + 26.02°	99,7 %	99,6 %	99,7 %
Correção por Absorção^a	Gaussiana	Gaussiana	Gaussiana
Transmissão Max. e min.	0,969 e 0,933	0,969 e 0,898	0,961 and 0,899
Método de Refinamento	Matriz de Mínimos Quadrados em F ²	Matriz de Mínimos Quadrados em F ²	Matriz de Mínimos Quadrados em F ²
Programas^b	COLLECT, HKL Denzo and Scalepack, SHELXS-97, SHELXL-97	COLLECT, HKL Denzo and Scalepack ³ , SHELXS-97, SHELXL-97	COLLECT, HKL Denzo and Scalepack ³ , SHELXS-97, SHELXL-97
Dados / restrições / parametros	8675 / 0 / 552	7732 / 0 / 544	9973 / 0 / 624
Qualidade de Ajuste em F²	1,005	1,034	1.029
Índices R Finais [I>2sigma(I)]	R1 = 0,0473; wR2 = 0,0986	R1 = 0,0431; wR2 = 0,0929	R1 = 0,0390, wR2 = 0,0920
Índices R (todos os dados)	R1 = 0,1074, wR2 = 0,1177	R1 = 0,0915, wR2 = 0,1078	R1 = 0,0710, wR2 = 0,1038
Maiores Picos e Vales de Difração	0,601 e -0,467 e.Å ⁻³	0,461 -0,478 e.Å ⁻³	0,371 e -0,426 e.Å ⁻³

^aCOPPENS *et al.*, 1965. ^bENRAF-NONIUS, 1997-2000.; OTWINOWSKI & MINOR, 1997.; SHELDRICK, 2008.; FARRUGIA, 1997.

A TABELA 4.10 representa alguns comprimentos de ligação relevantes obtidos pela determinação estrutural dos complexos por difração de raios X. Os valores dos pKa's dos ligantes N-heterocíclicos dos compostos estudados, até então, por difração de raios X são muito próximos sendo as distâncias das ligações Ru-N_(L), e mesmo as distâncias das ligações Ru-P *trans* aos ligantes piridínicos também muito próximas, o que não permite detectar qualquer influência da basicidade dos ligantes nestas medidas.

TABELA 4.10. Distâncias de ligação dos complexos *cis*-[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]PF₆.

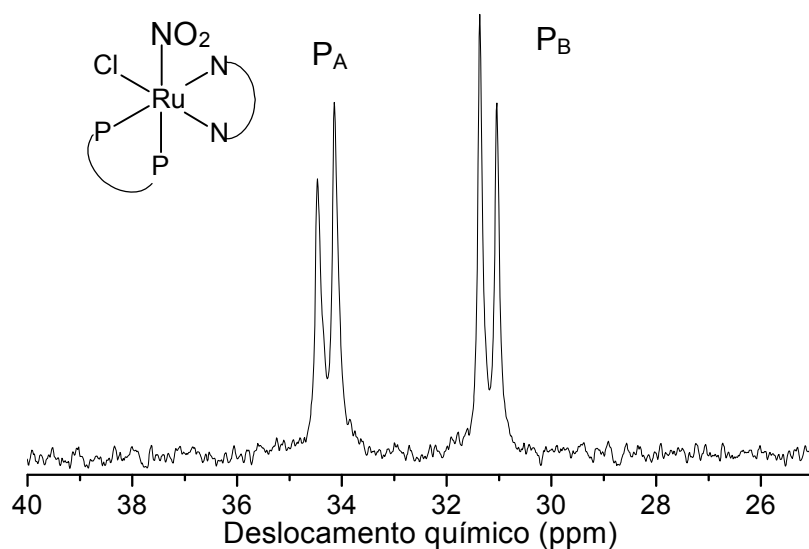
Ligações	4-vnpy	4-pic	4-phpy
Ru-N_(L) <i>trans</i> P	2,213(3)	2,209(3)	2,192(2)
Ru-N_(bipy) <i>trans</i> P	2,119(3)	2,115(3)	2,116(2)
Ru-N_(bipy) <i>trans</i> Cl	2,067(3)	2,075(2)	2,0695(2)
Ru-P <i>trans</i> N_(L)	2,3186(10)	2,3180(10)	2,3201(7)
Ru-P <i>trans</i> N_(bipy)	2,3431(10)	2,3431(10)	2,3486(7)
Ru-Cl <i>trans</i> N_(bipy)	2,4315(9)	2,4318(8)	2,4389(7)

Os comprimentos de ligação do Ru-N_(py) são mais longos que os da ligação Ru-N_(bipy), como era de se esperar, devido ao efeito quelante da bipyridina o que torna a ligação mais forte e mais curta do que com os ligantes monodentados piridínicos, substituídos. Assim como os comprimentos de ligação Ru-Cl *trans* ao átomo de fósforo são mais longos que Ru-Cl *trans* ao átomo de N da bipy, como observado por JAMES e co-autores (2001) devido à influência *trans* do átomo de fósforo. Esta influência pode ser observada quando comparamos o comprimento de ligação Ru-N_(bipy) *trans* P e Ru-N_(bipy) *trans* Cl nesta série, uma vez que o último apresenta menores distâncias entre o átomo do ligante e o metal, devido à influência *trans* exercida pelo átomo de fósforo.

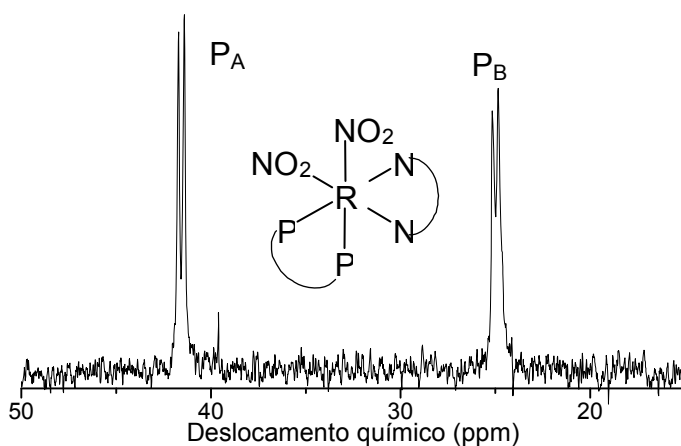
4.3 *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] e *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)]

4.3.1 ³¹P {¹H} RMN

Os espectros de ³¹P {¹H} RMN obtidos para os compostos supracitados (FIGURA 4.16) apresentaram dois dubletos, indicando em ambos os casos a não equivalência magnética dos fósforos da bifosfina. A TABELA 4.11 mostra os valores de deslocamentos químicos e as constantes de acoplamento para ambos.



(a)



(b)

FIGURA 4.16. Ressonância magnética nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para os complexos (a) *cis*- $[\text{RuCl}(\text{NO}_2)(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$ em CHCl_3 e (b) *cis*- $[\text{Ru}(\text{NO}_2)_2(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$ em CH_2Cl_2 .

TABELA 4.11. Valores de deslocamentos químicos e constantes de acoplamento para os compostos *cis*- $[\text{RuCl}(\text{NO}_2)(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$ e *cis*- $[\text{Ru}(\text{NO}_2)_2(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$.

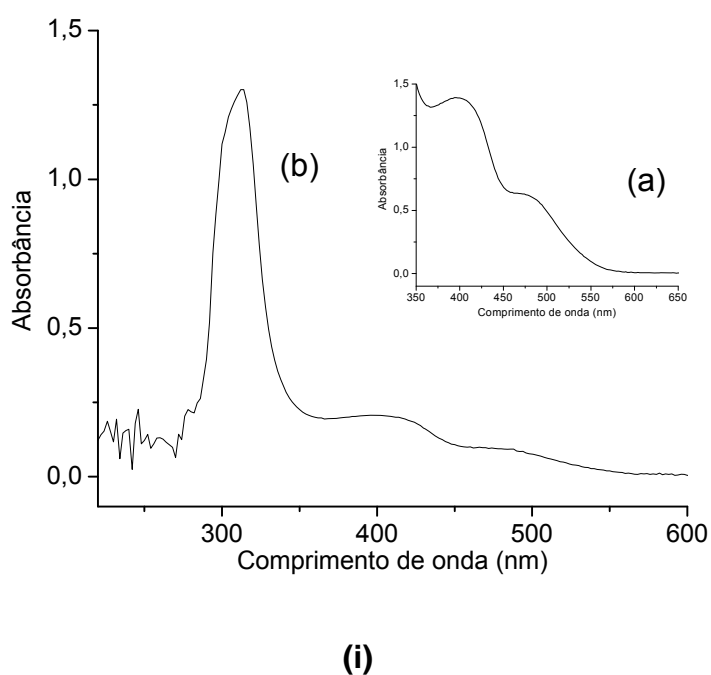
Composto	δP_A (ppm)	δP_B (ppm)	$^2J_{p-p}$ (Hz)
<i>cis</i> - $[\text{RuCl}(\text{NO}_2)(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$	34,3	31,2	24,3
<i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{NO}_2)_2(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$	41,5	25,0	24,3

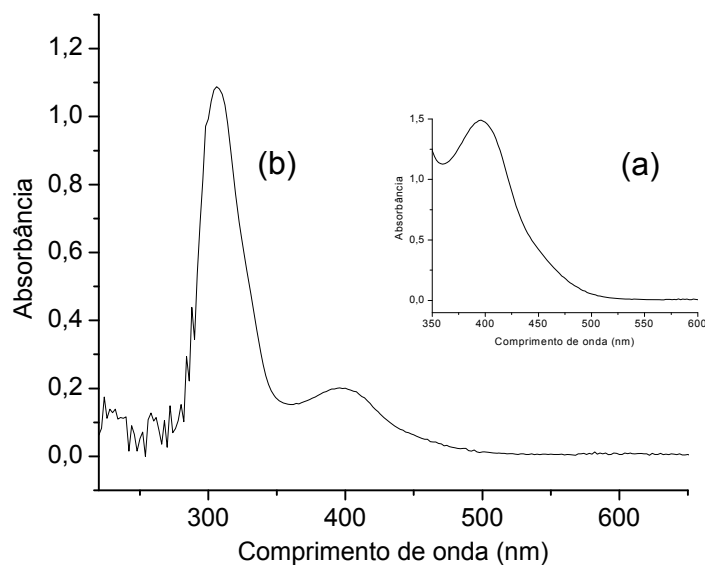
Nota-se que em relação ao seu precursor, o *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)], os doubletos, antes presentes em 44,95 ppm e 31,43 ppm se aproximaram no *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)], sendo que estes se encontram em 34,3 e 31,2. Tal comportamento é semelhante ao observado quando o cloro *trans* ao fósforo é substituído por um ligante piridínico monodentado (vide seção 4.2), uma vez que o ligante nitro, coordenado pelo nitrogênio, também é um σ -doador/ π -receptor, podendo este ser um indício de que o ligante nitro esteja coordenado na mesma posição que os ligantes piridínicos em seus respectivos complexos.

O composto com dois ligantes nitro em sua estrutura apresentou em seu espectro de ³¹P{¹H} RMN um afastamento dos doubletos, em relação ao seu precursor o *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)]. Tal efeito pode ser explicado pela troca de um grupo σ/π -doador (Cl⁻) por um grupo π -receptor (NO₂⁻) *trans* ao nitrogênio da bipyridina que proporciona efeitos estruturais e eletrônicos no produto, ocasionando modificação do comportamento dos fósforos no experimento de ressonância.

4.3.2 Espectroscopia de absorção na região do UV/vis

Os espectros de absorção na região do UV/VIS para os nitro-complexos encontram-se representados na FIGURA 4.17.





(ii)

FIGURA 4.17: Espectros de absorção na região do UV/VIS para (i) *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] e (ii) *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)] em CHCl₃. (a) C=5,00 x10⁻⁴ mol.L⁻¹; (b) C=1,25 x10⁻⁴ mol.L⁻¹.

TABELA 4.12. Bandas observadas nos espectros eletrônicos dos compostos *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)], *cis*-[Ru(NO₂)₂(5-mebipy)₂], *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] e *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)]; em CH₂Cl₂. λ, nm; εx10⁻⁴mol⁻¹.L.cm⁻¹.

Complexo	IL (bipy)	TCML	TCML
	$\pi \rightarrow \pi^*$		
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(5-mebipy)]	310	440	510
	(0,98)	(0,30)	(0,11)
<i>cis</i> -[Ru(NO ₂) ₂ (5-mebipy) ₂]	314	428	463
	(1,20)	(0,39)	(0,49)
<i>cis</i> -[RuCl(NO ₂)(dppb)(5-mebipy)]	314	410	488
	(1,04)	(0,16)	(0,075)
<i>cis</i> -[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5-mebipy)]	306	400	-
	(0,87)	(0,16)	

Através dos dados apresentados na TABELA 4.12 é possível observar que a banda TCML em, aproximadamente 400 nm, para ambos os nitro-complexos apresenta maior energia que os complexos contendo ligantes piridínicos (vide

TABELA 4.8), bem como o *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)]. Isso se deve à maior capacidade π -receptora do ligante nitro em comparação com os ligantes piridínicos, assim como pela substituição do ligante Cl⁻ σ e π doador, diminuindo a densidade eletrônica no centro metálico e, portanto deslocando a banda para regiões de maior energia. Comportamento semelhante é observado para o *cis*-[Ru(NO₂)₂(5-mebipy)₂] que possui duas bandas características de transições de transferência de carga metal ligante (TCML) $d\pi(M) \rightarrow \pi^*(L)$ na região do visível, porém em energias um pouco mais baixas que as dos nitro-complexos sintetizados neste trabalho.

4.3.3 Espectros de absorção na região do infravermelho

O ligante NO₂⁻ coordena-se ao metal de várias formas, podendo estar ligado monodentado, pelo átomo de nitrogênio, ou por um de seus átomos de oxigênio, como ainda pode se coordenar de forma bidentada, ou em ponte (FIGURA 4.18). No primeiro caso de coordenação monodentada o complexo formado é dito possuir o grupo nitro coordenado, enquanto no segundo caso este é denominado nitrito. Para atribuir qual o átomo envolvido na coordenação, a técnica de espectroscopia vibracional na região do infravermelho é bastante útil (NAKAMOTO, 1997).

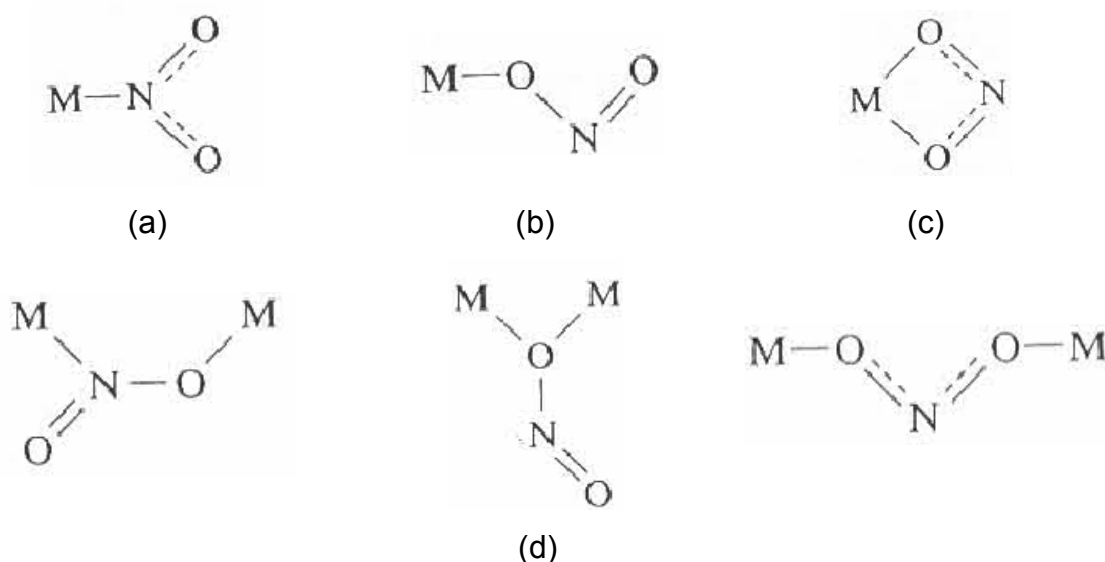
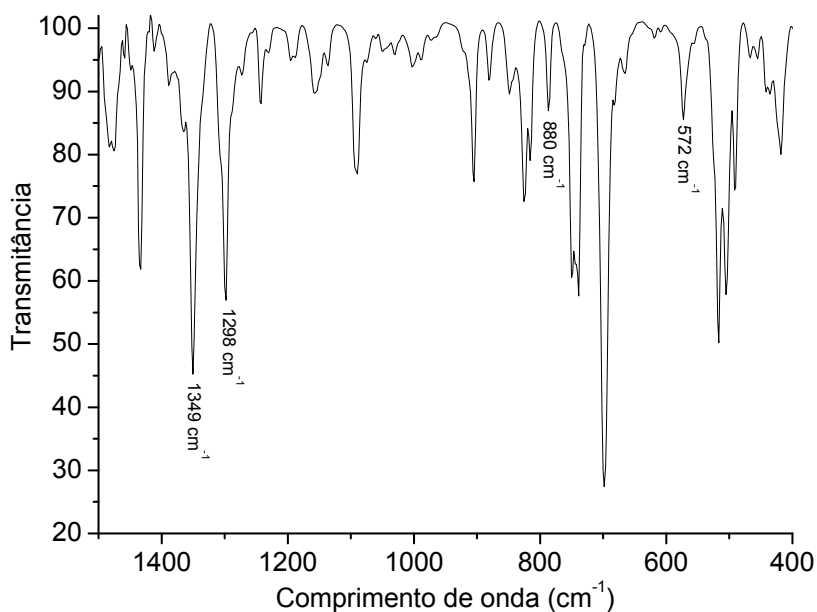
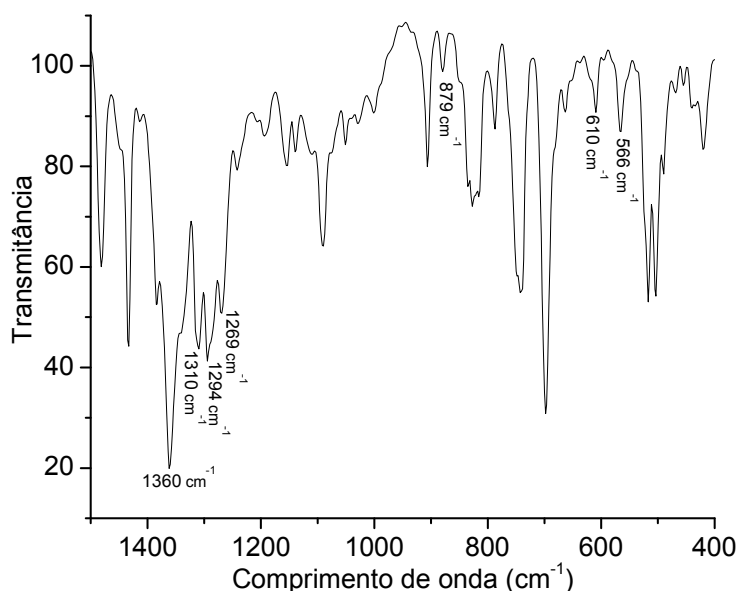


FIGURA 4.18. Modos de coordenação do NO₂⁻: (a) complexo Nitro; (b) complexo Nitrito; (c) Nitrito complexo quelato. (d) complexos-ponte (NAKAMOTO, 1997).

A formação dos complexos de rutênio com um e dois nitros foi confirmada pela observação de bandas de forte intensidade em 1349 cm^{-1} e 1298 cm^{-1} para o primeiro composto enquanto, para o segundo, foram observadas quatro bandas intensas em 1360 cm^{-1} , 1310 cm^{-1} , 1294 cm^{-1} e 1269 cm^{-1} . Os espectros da FIGURA 4.19 são apresentados na região de $1500 - 400\text{ cm}^{-1}$ para melhor visualização das bandas referentes ao nitrito coordenado.



(a)



(b)

FIGURA 4.19. Espectros vibracionais na região do infravermelho dos compostos $[\text{RuCl}(\text{NO}_2)(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$ (a) e $[\text{Ru}(\text{NO}_2)_2(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$ (b) em pastilhas de KBr.

A análise dos dados de infravermelho obtidos para os compostos deste trabalho, bem como a existência de apenas uma espécie nos espectros de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN, sugere a existência de apenas isômeros nitro em ambos os compostos (TABELA 4.13). Tal atribuição é baseada nos valores encontrados nos espectros de absorção na região do infravermelho, uma vez que a faixa atribuída a $\nu_{\text{as}}(\text{NO}_2)$ e $\nu_{\text{s}}(\text{NO}_2)$ para nitro complexos de rutênio com fórmula geral $[\text{RuL}(\text{NO}_2)(\text{bipy})_2]^{n+}$ é de $1330\text{-}1340\text{ cm}^{-1}$ e $1290\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$, cuja distância entre $\nu_{\text{as}}(\text{NO}_2)$ e $\nu_{\text{s}}(\text{NO}_2)$ é pequena quando comparada as faixas relativas aos nitrito-complexos de mesma fórmula geral ($\nu_{\text{as}}(\text{NO}_2)$ $1394\text{-}1398\text{ cm}^{-1}$ e $\nu_{\text{s}}(\text{NO}_2)$ $1130\text{-}1135\text{ cm}^{-1}$) (NAKAMOTO, 1997). Outro bom indício de que a coordenação ao metal ocorreu nestes compostos pelo nitrogênio é que foi possível notar as bandas $\rho_{\text{w}}\text{NO}_2$ entre 560 e 610 cm^{-1} que são inexistentes quando a coordenação ocorre pelo oxigênio (NAKAMOTO, 1997).

TABELA 4.13. Freqüências dos estiramentos do NO_2^- para o $[\text{RuCl}(\text{NO}_2)(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$ e $[\text{Ru}(\text{NO}_2)_2(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$, em cm^{-1} .

Composto	$\nu_{\text{as}}\text{NO}_2$	$\nu_{\text{s}}\text{NO}_2$	$\Delta\nu_{\text{as}}-\nu_{\text{s}}$	δNO_2	$\rho_{\text{w}}\text{NO}_2$
<i>cis</i> - $[\text{RuCl}(\text{NO}_2)(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$	1349	1298	51	880	572
<i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{NO}_2)_2(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$	1360	1294	66	879	566
	1310	1269	41		610

A existência de energias vibracionais diferentes no complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{NO}_2)_2(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$ se deve ao fato de um dos ligantes nitro estar *trans* ao átomo de fósforo da bifosfina, enquanto o outro está *trans* ao átomo de nitrogênio da bipyridina, sendo que os estiramentos observados para o primeiro são de maior energia que os do segundo, o que pode ser observado por comparação entre os compostos apresentados na TABELA 4.13. Maiores evidências para tanto serão observadas na seção seguinte, onde será discutida a estrutura cristalográfica do $[\text{Ru}(\text{NO}_2)_2(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$.

4.3.5 Difração de raios X

A FIGURA 4.20 representa a estrutura cristalográfica obtida para o *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)]. Monocristais para este complexo foram obtidos mediante evaporação de mistura de solventes diclorometano/etanol. Na FIGURA 4.20 observa-se uma molécula de etanol co-cristalizada com o nitro-complexo, proveniente do solvente de recristalização.

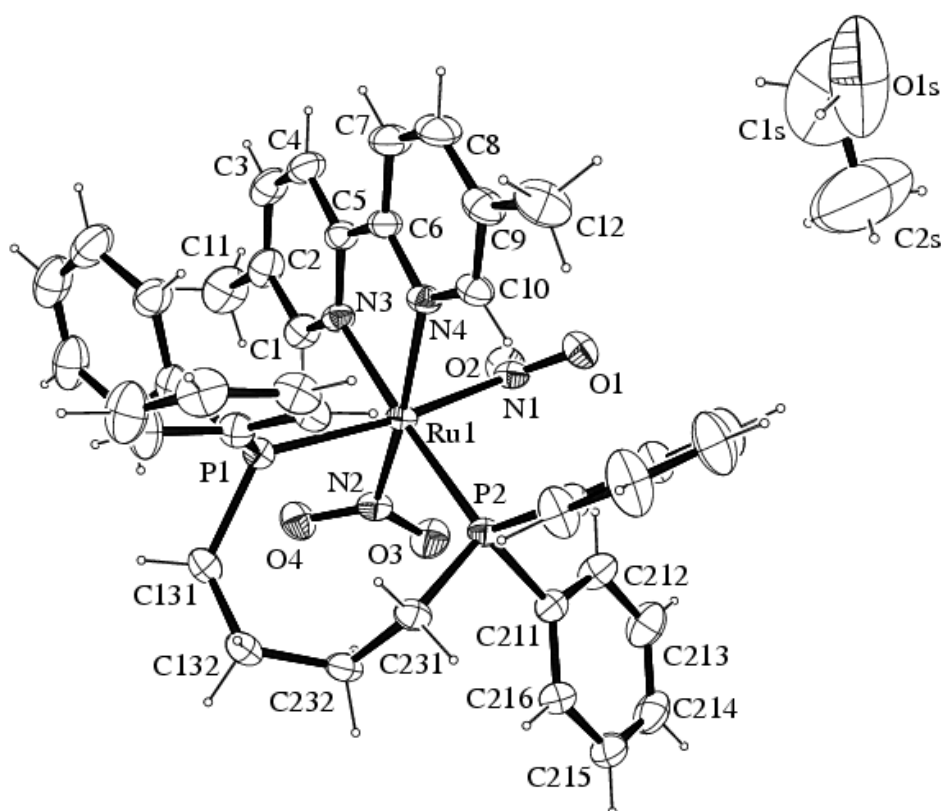


FIGURA 4.20. Representações ORTEP da estrutura cristalográfica do complexo *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)], mostrando a numeração dos átomos e as elipsóides a 30% de probabilidade (FARRUGIA, 1997).

A TABELA 4.14 apresenta os principais dados cristalográficos obtidos no experimento de difração de raios X para o *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)].

TABELA 4.14. Dados cristalográficos, parâmetros de raios X e resultados de refinamento do complexo *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)].

[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)]	
Fórmula Empírica	[RuC ₄₂ H ₄₆ N ₄ O ₅ P ₂]·CH ₃ CH ₂ OH
Peso Molecular	849,84
Temperatura	293(2) K
Comprimento de Onda	0,71073 Å
Sistema Cristalino	Triclinico
Grupo Espacial	P-1
	a = 10,2261(7) Å α = 74,904(2)°
Dimensões da cela unitária	b = 12,2153(5) Å β = 74,660(3)°
	c = 17,4217(10) Å γ = 76,827(3)°
Volume (Å³)	1996,5(2) Å ³
Z	2
Densidade (calculada)	1,414 Mg/m ³
Coeficiente de Absorção	0,522 mm ⁻¹
F(000)	880
Tamanho do Cristal	0,30 x 0,26 x 0,10 mm ³
Faixa de Theta para Coleta de Dados	3,13 to 26,41°
Faixas de Índices	-11 ≤ h ≤ 12, -15 ≤ k ≤ 15, -21 ≤ l ≤ 21
Reflexões coletadas	15073
Reflexões Independentes	8129 [R(int) = 0,0217]
Completude para Theta + 26,02°	99,0 %
Correção por Absorção^a	Gaussiana
Transmissão Max. e min.	0,950 e 0,847
Método de Refinamento	Matriz de Mínimos Quadrados em F ²
Programas^b	COLLECT, HKL Denzo and Scalepack, SHELXS-97, SHELXL-97
Dados / restrições / parametros	8129 / 2 / 491
Qualidade de Ajuste em F²	1,056
Índices R Finais [I > 2σ(I)]	R1 = 0,0378, wR2 = 0,1010
Índices R (todos os dados)	R1 = 0,0442, wR2 = 0,1045
Maiores Picos e Vales de Difração	0,611 e -0,640 e.Å ⁻³

^aCOPPENS *et al.*, 1965. ^bENRAF-NONIUS, 1997-2000.; OTWINOWSKI & MINOR, 1997.; SHELDRICK, 2008.; FARRUGIA, 1997.

A TABELA 4.15 apresenta alguns comprimentos de ligação do *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)]. Nesta observa-se que a distância Ru-N_(bipy) *trans* P é um pouco mais curta que Ru-N_(bipy) *trans* NO₂, o que nos mostra que o grupo nitro exerce, também, influência *trans* sobre a bipyridina. Outra constatação interessante é que o fósforo *trans* ao grupo nitro também possui ligação Ru-P um pouco mais alongada que a Ru-P *trans* N_(bipy), evidenciando novamente a influência *trans* do grupo nitro. Comparando as ligações Ru-N_(NO₂) *trans* à fósforo e *trans* à nitrogênio da bipyridina, notamos que a Ru-N_(NO₂) *trans* à fósforo é 0,5 Å mais longa que a *trans* à nitrogênio. Esta diferença de comprimento de ligação pode ser a razão para a existência de dois pares de bandas de estiramento simétrico e assimétrico de NO₂ no espectro vibracional na região do infravermelho, uma vez que quanto mais longa uma ligação menor sua energia vibracional. Comparando os valores de comprimentos de ligação N-O dos grupos nitro *trans* à bipyridina e *trans* à fosfina, podemos concluir que de fato o ν_{as} e a ν_s do grupo nitro *trans* à fosfina são de fato os de maior energia, apresentam os menores comprimentos de ligação N-O (em média).

TABELA 4.15: Distâncias de ligação e ângulos do *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)].

Ligações	Comprimento de ligação (Å)
Ru-N _(NO₂) <i>trans</i> N _(bipy)	2,051(2)
Ru-N _(NO₂) <i>trans</i> P	2,103(2)
Ru-N _(bipy) <i>trans</i> P	2,135(2)
Ru-N _(bipy) <i>trans</i> NO ₂	2,142(2)
Ru-P <i>trans</i> N _(bipy)	2,3787(6)
Ru-P <i>trans</i> N _(NO₂)	2,4031(6)
O(1)-N <i>trans</i> P	1,237(3)
O(2)-N <i>trans</i> P	1,233(3)
O(3)-N <i>trans</i> N _(bipy)	1,224(3)
O(4)-N <i>trans</i> N _(bipy)	1,253(3)

4.3.5 Voltametria cíclica e de pulso diferencial

Os voltamogramas cíclicos obtidos para os nitro-complexos são apresentados na FIGURA 4.21, sendo os parâmetros eletroquímicos para ambos dispostos na TABELA 4.16.

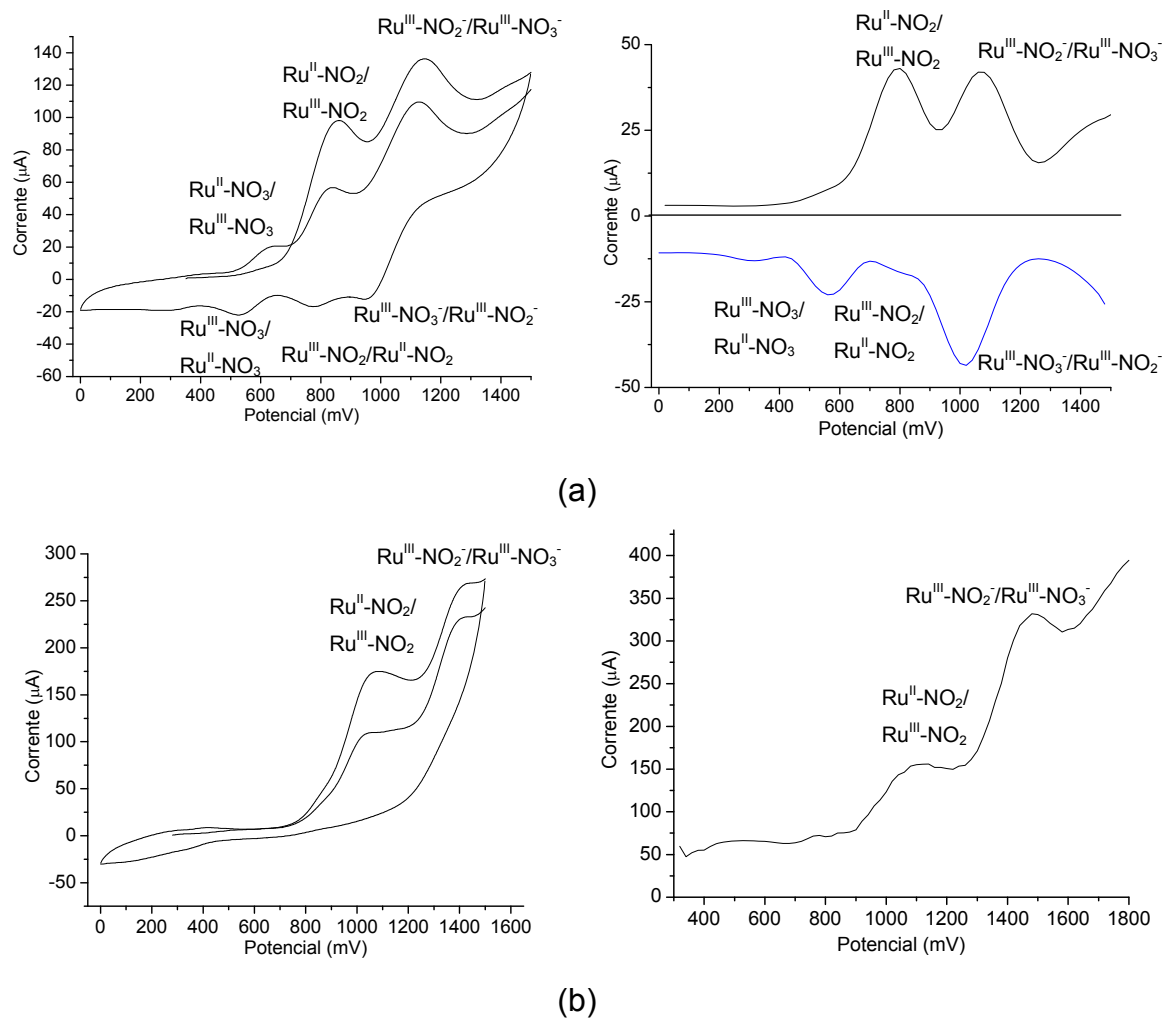


FIGURA 4.21. Voltamogramas cíclicos e de pulso diferencial dos complexos (a) *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] e (b) *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)] em PTBA 0,1 mol·L⁻¹ em CH₂Cl₂ vs. Ag/AgCl.

TABELA 4.16: Potenciais redox observados nos experimentos eletroquímicos dos complexos *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] e *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)], em mV.

Potencial (mV)	<i>cis</i> -[RuCl(NO ₂)(dppb)(5-mebipy)]	<i>cis</i> -[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5-mebipy)]
Ru ^{II} -NO ₂ /Ru ^{III} -NO ₂	850	1062
Ru ^{III} -NO ₂ /Ru ^{II} -NO ₂	770	-
Ru ^{III} -NO ₂ ⁻ /Ru ^{III} -NO ₃ ⁻	1140	1410
Ru ^{III} -NO ₃ ⁻ /Ru ^{III} -NO ₂	960	-
Ru ^{II} -NO ₃ /Ru ^{III} -NO ₃	630	-
Ru ^{III} -NO ₃ /Ru ^{II} -NO ₃	530	-

O *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] apresentou, na primeira varredura, dois processos de oxidação em 850 mV e 1140 mV, atribuídos a oxidação do Ru^{II}-NO₂ a Ru^{III}-NO₂ e NO₂⁻ a NO₃⁻, respectivamente. Partindo para o sentido catódico, foram observadas três processos de redução atribuídos às reduções NO₃⁻/NO₂ (960 mV), Ru^{III}-NO₂/Ru^{II}-NO₂ (770 mV) e Ru^{III}-NO₃/Ru^{II}-NO₃ (530 mV), sendo que o processo de redução NO₃⁻/NO₂⁻ mostrou baixo valor de corrente quando comparado com seu par redox, o que caracteriza a irreversibilidade da oxidação do ligante nitro. O *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)] apresentou apenas dois processos de oxidação atribuídos à Ru^{II}-NO₂/Ru^{III}-NO₂ (1062 mV) e Ru^{III}-NO₂⁻/Ru^{III}-NO₃⁻ (1410 mV), não apresentando processos de redução.

O processo de oxidação Ru^{II}-NO₂ a Ru^{III}-NO₂ do *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] apresentou potencial de oxidação com menor valor de potencial que o *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)], o que é facilmente explicado pela substituição dos Cl⁻ por dois nitritos no segundo composto, o que diminui a densidade eletrônica do centro metálico e, conseqüentemente, torna mais difícil a oxidação do metal.

A existência dos processos de oxidação Ru^{III}-NO₂⁻/Ru^{III}-NO₃⁻ em ambos pode ser explicada pela oxidação do nitrito coordenado, cujo potencial de oxidação do ligante livre possui valor de 740 mV (GUIDELLI, 1972), o que nos leva a atribuir os processos de oxidação irreversíveis ocorrendo em maiores potenciais que os potenciais de oxidação do metal, em ambos os complexos, a tal ligante. Estes processos se encontram representados isolados dos processos do centro metálico

na FIGURA 4.22, na qual fica ainda mais evidente a irreversibilidade dos processos redox.

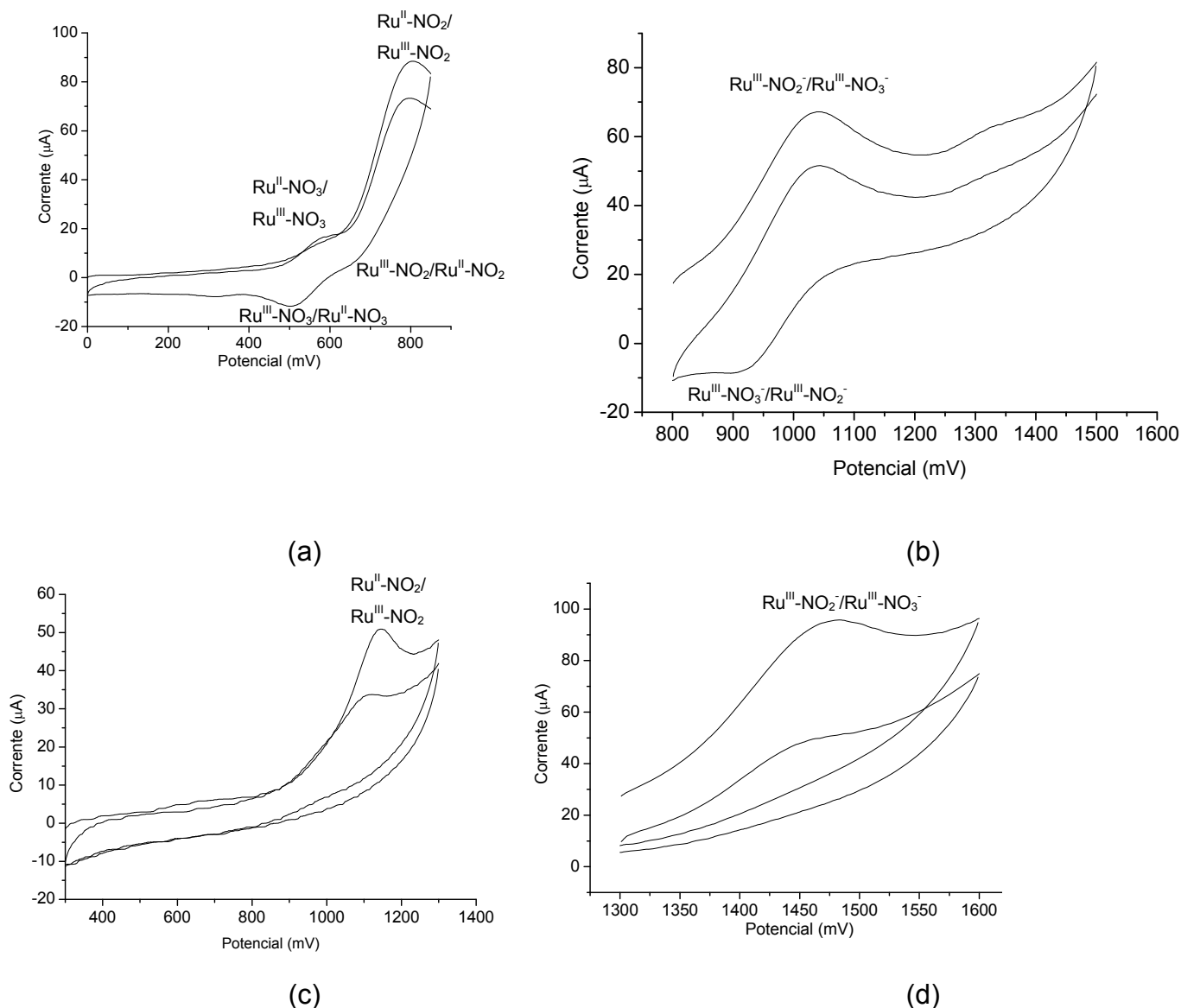


FIGURA 4.22. Voltamogramas cíclicos dos complexos (a) e (b) *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] e (c) e (d) *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)], representando separadamente os processos redox do ligante nitro e do centro metálico, em PTBA 0,1 mol·L⁻¹ em CH₂Cl₂ vs. Ag/AgCl.

Procedemos com eletrólise em 1200 mV com o *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] e ao final desta observamos o desaparecimento dos processos redox relativos ao nitro-complexo e a formação do par redox em 630 mV e 530 mV (FIGURA 4.23), relativos ao produto formado após a primeira varredura, o qual atribuímos ao complexo *cis*-[RuCl(NO₃)(dppb)(5-mebipy)].

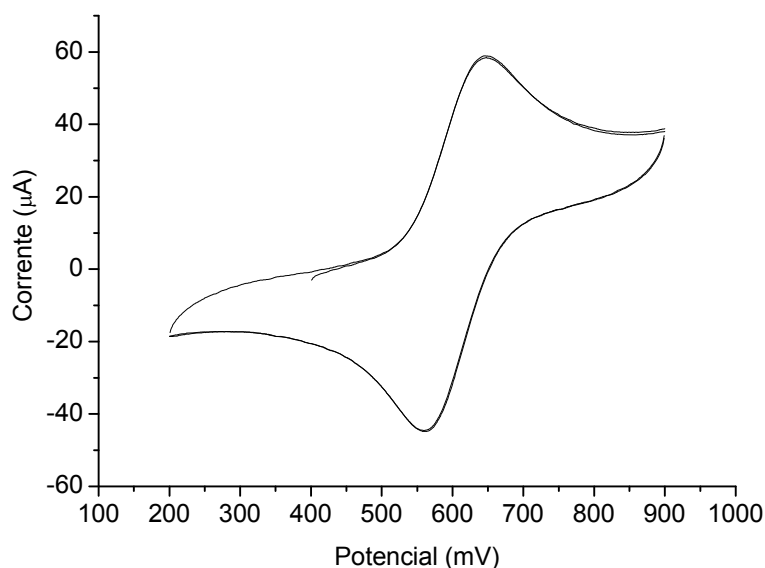


FIGURA 4.23. Voltamograma cíclico obtido ao final da eletrólise em 1200 mV do *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)]; solução de PTBA 0,1 mol·L⁻¹ em CH₂Cl₂ vs. Ag/AgCl.

O produto da eletrólise do *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] foi submetido a experimento de ³¹P{¹H} RMN (espectro abaixo) antes de tentar separá-lo do eletrólito, na tentativa de se identificar o composto formado (FIGURA 4.24).

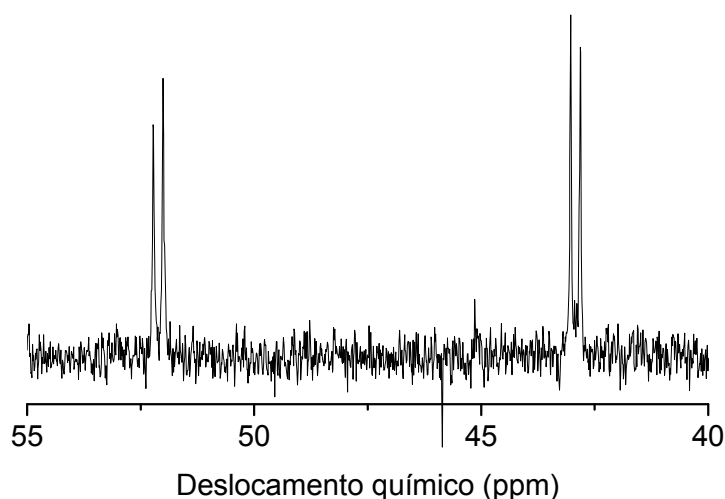


FIGURA 4.24: ³¹P{¹H} RMN para o produto da eletrólise oxidativa do *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)], em CH₂Cl₂.

Como é possível observar no espectro de ³¹P{¹H} RMN, há a formação de um par de dubletos em 52,11 ppm e 42,95 ppm (J=34 Hz). Porém, não foi possível

separar o produto da eletrólise do eletrólito uma vez que o complexo formado e o eletrólito se apresentam solúveis nos mesmos solventes.

Na tentativa de descobrir se de fato o produto formado é um nitrato-complexo, tentou-se sintetizar e isolar o *cis*-[RuCl(NO₃)(dppb)(5-mebipy)] reagindo o *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)] com NH₄NO₃ em acetona. Antes de tentar precipitá-lo, procedeu-se com um experimento de ³¹P{¹H} RMN, representado na FIGURA 4.25.

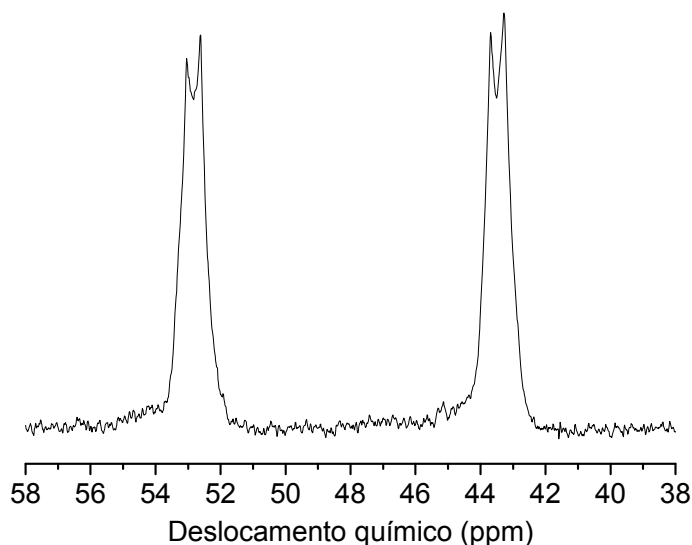


FIGURA 4.25: ³¹P{¹H} RMN para o *cis*-[RuCl(NO₃)(dppb)(5-mebipy)], em acetona.

Observa-se neste espectro que há também a presença de dois dubletos em 52,83 ppm e 43,48 ppm ($J=34$ Hz) que podem ser considerados do mesmo produto da eletrólise oxidativa do *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)], uma vez que os espectros foram obtidos em solventes diferentes. Ainda não foi possível isolar o produto formado, devido a problemas de solubilidade, para que seja possível caracterizá-lo.

O composto *cis*-[RuCl(NO₃)(dppb)(5-mebipy)] foi estudado, ainda em solução, por voltametria cíclica (FIGURA 4.26). O voltamograma apresenta um par redox em torno de 680 mV, o qual nos dá ainda mais indícios de que o produto da eletrólise do *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] de fato se trata de um nitrato-complexo.

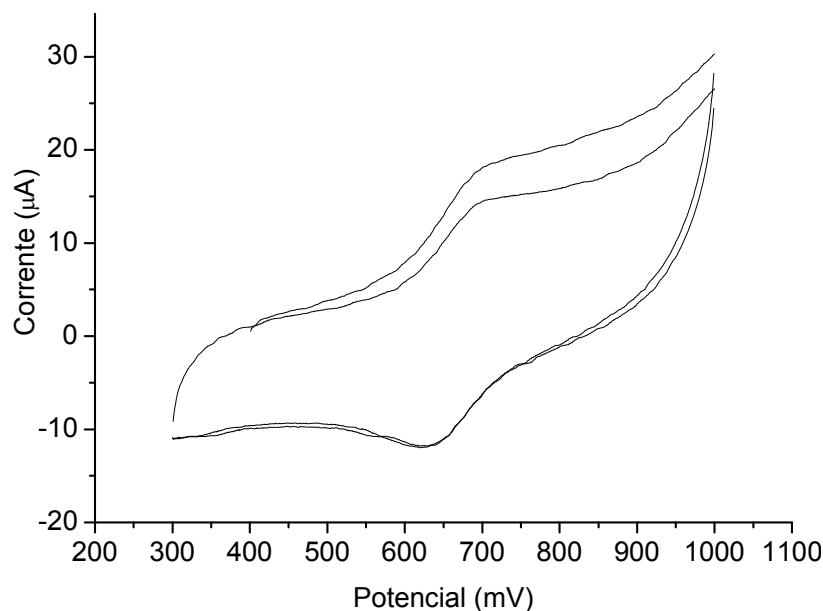


FIGURA 4.26: Voltametria de pulso diferencial para o *cis*-[RuCl(NO₃)(dppb)(5-mebipy)] em PTBA 0,1 mol·L⁻¹ em CH₂Cl₂ vs. Ag/AgCl.

4.4 *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂

4.4.1 ³¹P {¹H} RMN

O espectro de ³¹P{¹H} RMN (FIGURA 4.27) do nitrosilo complexo sintetizado apresentou dois dubletos, em 26,9 ppm e 17,1 ppm, o que indica a não equivalência dos átomos de fósforo.

Há uma maior blindagem dos átomos de fósforo quando comparamos o nitrosilo complexo com precursor o *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] (vide seção 4.3), fato este observado pelo deslocamento de ambos os dubletos do precursor para região de menor frequência, sendo esta variação ocasionada pelo efeito competitivo entre o NO e o P da bifosfina.

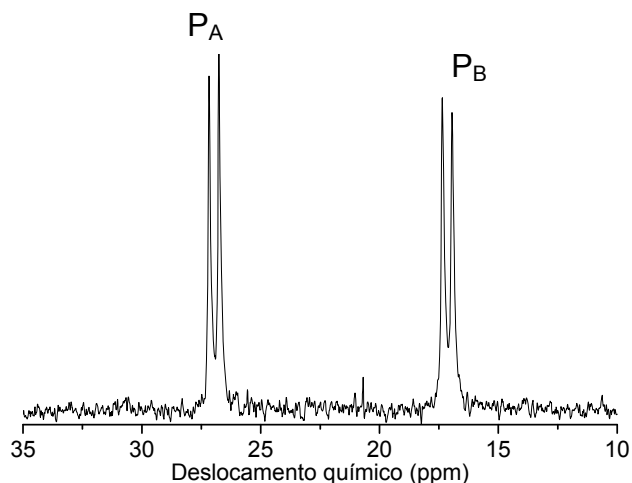


FIGURA 4.27. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do $ct\text{-}[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(5\text{-mebipy})](\text{PF}_6)_2$, em CH_2Cl_2 .

Comparando os valores de deslocamentos químicos observados no espectro de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN, referente ao fósforo *trans* à bipyridina, obtido para o composto sintetizado e para seus análogos (GOLFETO, 2008) (TABELA 4.17), é possível notar que há uma tendência decrescente nos valores de deslocamento químico em função do caráter básico do ligante bipyridínico (FIGURA 4.28).

TABELA 4.17. Valores de deslocamentos químicos e constantes de acoplamento para compostos do tipo $ct\text{-}[\text{RuClNO}(\text{dppb})(\text{N-N})]^{2+}$.

$[\text{RuClNO}(\text{dppb})(\text{N-N})]^{2+}$	δP_A (ppm)	δP_B (ppm)	$^2J_{\text{p-p}}$ (Hz)	pKa
N-N = 4-Clbipy ^a	31,2	14,7	33,2	2,61
N-N = bipy ^a	28,8	14,9	32,4	4,44
N-N = 4-mebipy ^a	29,1	15,3	34,8	4,92
N-N = 5-mebipy	26,9	17,1	36,4	5,01
N-N = 4-meObipy ^a	28,9	15,5	34,0	5,74

^aGOLFETO, 2008.

Isto, como esperado, ocorre uma vez que o aumento da densidade eletrônica no metal ocasiona em maior blindagem do átomo de fósforo. Por outro lado, nota-se na FIGURA 4.28 que o valor de deslocamento químico que mais se afasta de tal tendência é o do composto obtido neste trabalho, indicando que parâmetros eletrônicos não são os únicos fatores que afetam o δ , sendo necessário levar em consideração também fatores estéricos, bem como o ângulo de cone da bifosfina em cada caso. (GORESTEIN, 1984).

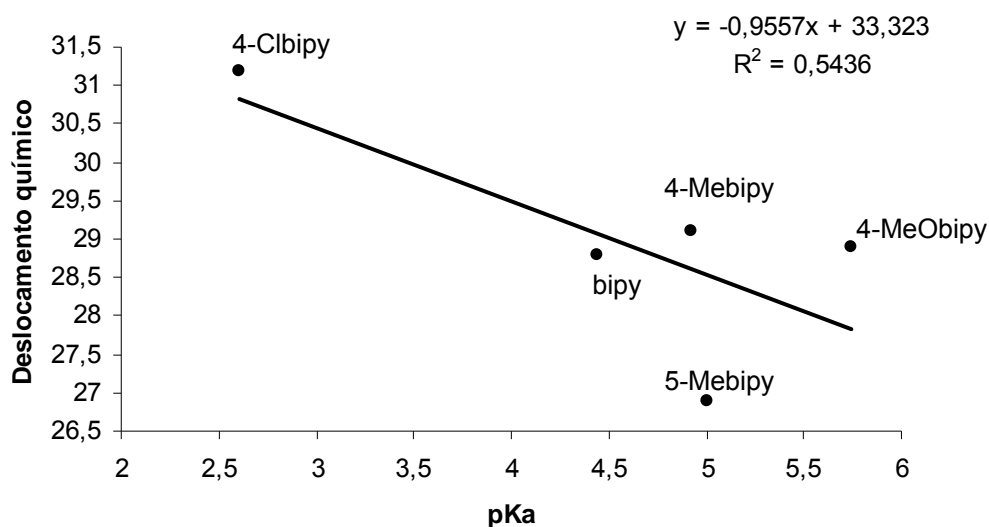


FIGURA 4.28. Correlação entre os valores de δP_A dos complexos de fórmula geral $[RuClNO(dppb)(N-N)]^{2+}$ vs. pKa dos ligantes N-heterocíclicos.

Em trabalhos anteriores de nosso grupo, foi atribuído tentativamente a alguns nitrosilo-complexos que o dubleto em campo mais alto era relativo ao fósforo *trans* posicionado ao NO (BATISTA *et al.*, 1999 e VON POELHSITZ *et al.*, 2002). Posteriormente, foi sintetizado o *mer*- $[RuCl_3(^{15}NO)(dppb)]$, com o intuito de corroborar a suposição anterior (VON POELHSITZ, 2005). O espectro de RMN $^{31}P\{^1H\}$, apresentado na FIGURA 4.29, apresenta dois conjuntos de sinais, correspondendo a um dubleto (d) e a um duplo dubleto (dd) mais protegido em relação ao dubleto, consistindo um sistema AMX (VON POELHSITZ, 2005).

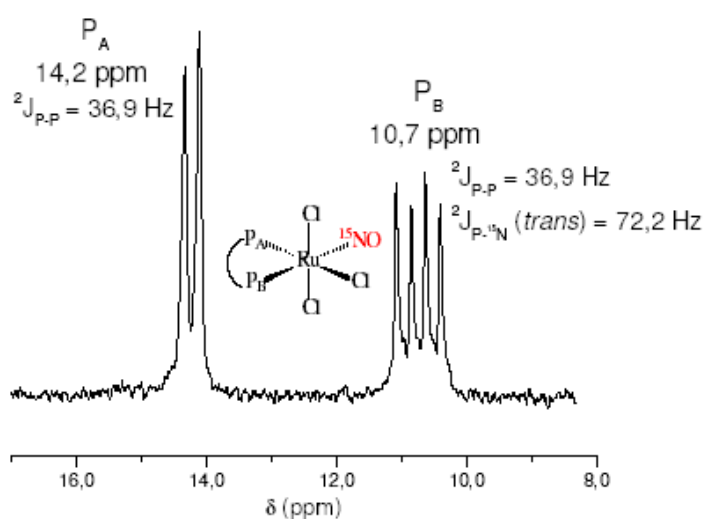


FIGURA 4.29. Espectro de RMN $^{31}P\{^1H\}$ do *mer*- $[RuCl_3(^{15}NO)(dppb)]$ em CH_2Cl_2 (VON PELHSITZ, 2005).

O padrão duplo dubleto indica que este fósforo está acoplando com o outro P com ${}^2J_{\text{P-P}} = 36,9$ Hz e com o ${}^{15}\text{N}$ do grupo ${}^{15}\text{NO}$ com ${}^2J_{{}^{31}\text{P}-{}^{15}\text{N}} = 72,2$ Hz, este último sendo um típico valor para acoplamento *trans* ${}^{31}\text{P} - {}^{15}\text{N}$ (CARLTON & WEBER, 1996). Este resultado mostra que as suposições anteriores a respeito da atribuição dos sinais no RMN ${}^{31}\text{P}\{{}^1\text{H}\}$ estavam corretas e que, de fato, quando o NO encontra-se *trans* posicionado ao átomo de fósforo, os seus deslocamentos químicos encontram-se na região de alto campo, ou baixa frequência.

4.4.2 Medidas de Condutividade Molar

Os complexos Ru-NO geralmente se apresentam sob a forma de Ru-NO^0 ou Ru-NO^+ . Foram realizados experimentos de condutividade elétrica utilizando solução do complexo com concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, sendo acetona o solvente. O resultado nos leva a crer que o composto obtido possui o NO^+ em sua estrutura, uma vez que o valor obtido ($235,1 \mu\text{S}/\text{cm}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$) é referente à proporção ânion/cátion de 2:1. A faixa aceita para eletrólitos 2:1 é de $122 - 335 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (GEARY, 1971).

4.4.3 Espectros de absorção na região do infravermelho

O NO pode formar dois isômeros de ligação quando coordenado a um centro metálico, sendo aqueles nos quais o óxido nítrico se coordena ao metal pelo nitrogênio denominados nitrosilo-complexos ($\text{M} - \text{NO}$) ou via oxigênio, formando isonitrosilo-complexos ($\text{M} - \text{ON}$) (RICHTER-ADDO & LEGZDINS, 1992). Em geral, o nitrosilo é a forma predominante, sendo a forma isonitrosilo observada apenas como um estado meta-estável.

Além da isomeria, o NO pode apresentar duas diferentes geometrias de ligação quando coordenado: linear ou angular. Tais geometrias refletem as diferentes interações da ligação metal-NO (FIGURA 4.30).

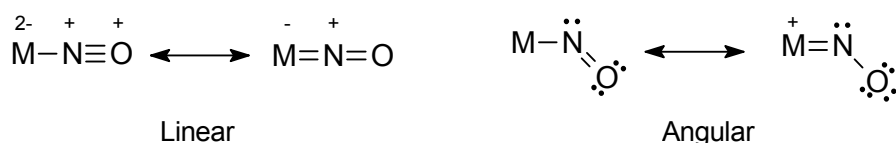


FIGURA 4.30: Possíveis geometrias de ligação do NO coordenado a um centro metálico.

A ligação é linear quando é observada uma configuração formalmente equivalente a NO^+ (íon nitrosônio), ou NO^0 , ambos com uma hibridização aproximadamente sp do átomo de nitrogênio, na qual os orbitais π^* total ou parcialmente vazios estão aptos a receberem densidade eletrônica do metal. Tal forma é caracterizada por comprimentos de ligação M-N curtos ($\cong 1,60\text{-}1,75 \text{ \AA}$), alta frequência de estiramento do NO (ν_{NO} : $1650\text{-}1985 \text{ cm}^{-1}$) e reatividade eletrofílica. O oposto disto é observado na forma angular, caracterizada por maiores comprimentos das ligações M-N ($\cong 1,80\text{-}1,95 \text{ \AA}$), menores frequências vibracionais do NO (ν_{NO} $1525\text{-}1590 \text{ cm}^{-1}$) e reatividade nucleofílica (RICHTER-ADDO & LEGZDINS, 1992). A ligação angular é observada quando a coordenação se dá com um centro metálico rico em elétrons. Assim o NO tem sua densidade eletrônica π^* aumentada comportando-se formalmente como NO^- (íon nitroxil) com uma hibridização aproximadamente sp^2 do átomo de nitrogênio (RICHTER-ADDO & LEGZDINS, 1992). A FIGURA 4.31 exemplifica as possíveis geometrias de ligação para o NO coordenado.

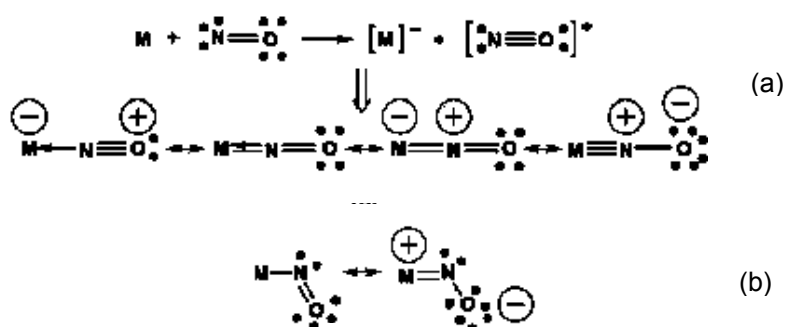


FIGURA 4.31: Representação da ligação de valência na ligação metal-nitrosil. (a) envolvendo NO^+ e (b) envolvendo NO^- (McCLEVERTY, 2004).

A geometria linear é mais comum e consiste de doação eletrônica do orbital σ do NO para o metal e doação de densidade eletrônica dos orbitais $nd\pi$ ocupados do metal para os orbitais π^* do NO, caracterizando a retrodoação (FIGURA 4.32). Na geometria angular o metal doa um elétron para o NO formando o NO^- , que então se liga ao metal por uma interação σ deixando um par de elétrons localizado em um orbital sp^2 do nitrogênio.

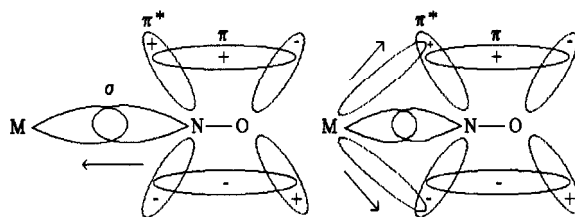


FIGURA 4.32: Ilustração da retrodoação na ligação entre o centro metálico e o NO (RICHTER-ADDO & LEGZDINS, 1992).

Com o intuito de corroborar a constatação feita pelas medidas de condutividade molar, foi utilizada a técnica de espectroscopia vibracional no infravermelho. Tal técnica nos permite tanto saber se houve coordenação do NO ao metal, como também ajuda a confirmar se o NO coordenado se encontra como NO^+ ou como NO^0 , e como afirmado acima, o primeiro apresenta geralmente bandas intensas na faixa de 1800 cm^{-1} a 1970 cm^{-1} em complexos de rutênio (SCHRÖDER & STEPHENSON, 1987).

Uma vez que a maioria dos modos vibracionais do $[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(5\text{-mebipy})](\text{PF}_6)_2$ são provenientes dos anéis aromáticos da bifosfina e da bipyridina (WHIFFEN, 1956; NAKAMOTO, 1997; VON POELHSITZ, 2005) e acima de 2000 cm^{-1} aparecem apenas bandas dos estiramentos dos grupos CH aromáticos e CH_2 alifáticos, o espectro é apresentado na região de $2000 - 200\text{ cm}^{-1}$ (FIGURA 4.33).

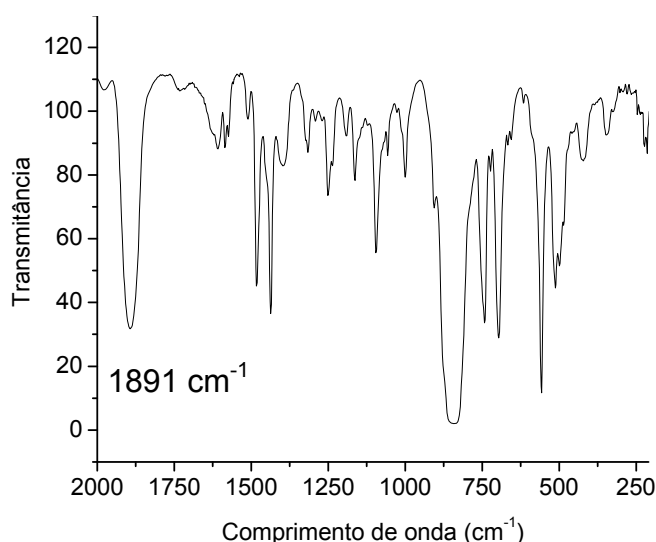


FIGURA 4.33. Espectro no IV do $ct\text{-}[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(5\text{-mebipy})](\text{PF}_6)_2$ em pastilha de KBr.

A formação do nitrosilo complexo de rutênio foi confirmada pela observação de uma banda de forte intensidade em 1891 cm^{-1} . O espectro apresentado na FIGURA 4.33 mostrou-se bastante semelhante aos espectros de compostos análogos sintetizados anteriormente em nosso grupo (GOLFETO, 2008). As atribuições das bandas destes e do composto sintetizado neste trabalho se encontram listadas na TABELA 4.18.

TABELA 4.18. Principais modos vibracionais para compostos de fórmula geral $[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(\text{N-N})]^{2+}$ em cm^{-1} .

Modos vibracionais	4-Cl-bipy*	Bipy*	4-Me-bipy*	5-Me-bipy	4-MeO-bipy*
$\nu\text{ NO (F)}$	1898	1892	1892	1891	1890
$\nu\text{ C=N (f)}$	1599	1600	1618	1615	1615
$\nu_{\text{as}}(\text{C} = \text{C}) (\text{m})$	1434	1435	1434	1437	1435
$\nu\text{P-C}; \nu\text{ ClO}_4$	1089	1090	1089	1095	1090
$\nu\text{P-F (F)}$	-	-	-	841	-
$\delta(\text{C-H})_{\text{ar}} (\text{m})$	744	745	745	741	744
$\delta(\text{C-H}) (\text{m})$	697	696	696	695	696
$\delta\text{P-C}(\phi) (\text{m})$	515	513	516	512	510
$\nu\text{Ru-Cl (f)}$	304	304	308	294	308

F = muito forte; m = média; f = fraca; ν - designa uma vibração de estiramento; δ - designa uma vibração de deformação; γ - designa uma vibração de deformação fora do plano; β - designa uma vibração de deformação no plano. *GOLFETO, 2008.

Comparando os valores de νNO do composto obtido neste trabalho com os estudados anteriormente em nosso grupo de pesquisa (GOLFETO, 2008), observou-se que há uma tendência decrescente dos valores de estiramento e a diminuição do caráter básico do ligante bipyridínico (FIGURA 4.34).

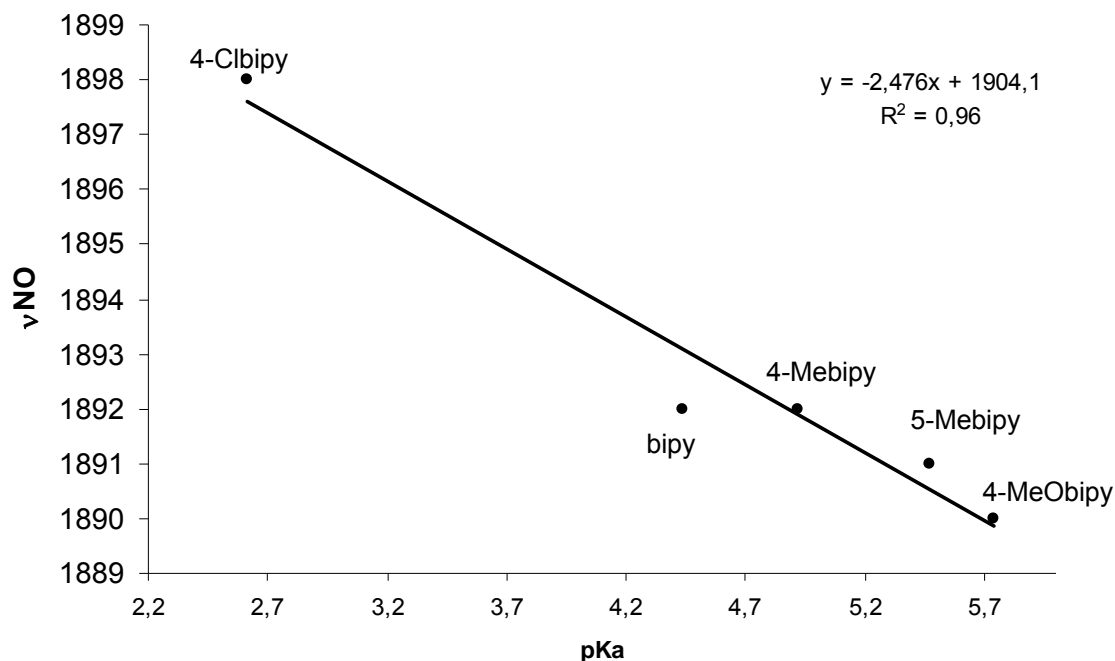


FIGURA 4.34. Correlação entre os valores de ν_{NO} encontrados para os compostos da série $cis\text{-}[\text{RuClNO}(\text{dppb})((\text{X-bipy}))]^{2+}$ e o pKa dos ligantes bipyridínicos livres.

4.4.4 Espectroscopia de absorção na região do UV/vis

O espectro de absorção na região do UV/vis para o $ct\text{-}[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(5\text{-mebipy})](\text{PF}_6)_2$ encontra-se representado na FIGURA 4.35.

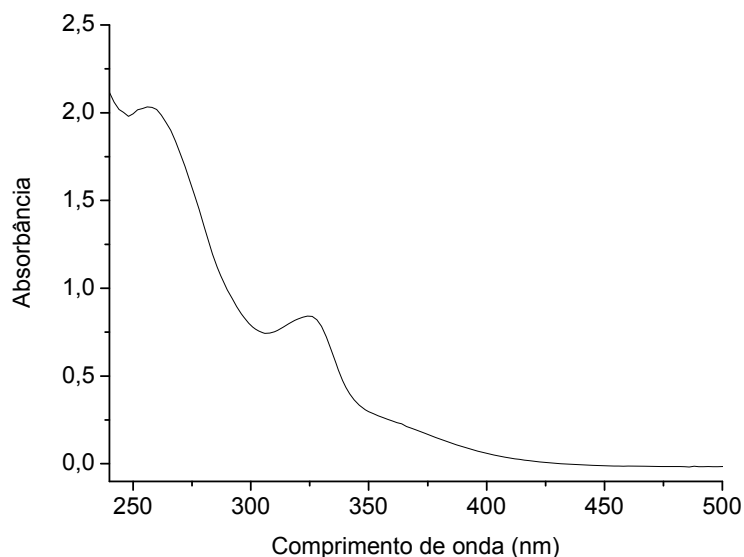


FIGURA 4.35: Espectro de absorção na região do UV/vis para $ct\text{-}[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(5\text{-mebipy})](\text{PF}_6)_2$ em CHCl_3 . $C=1,25 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$.

TABELA 4.19. Bandas observadas no espectro eletrônico para *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ em CH₂Cl₂; solvente CHCl₃. λ , nm; $\epsilon \times 10^{-4} \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Complexo	IL(bipy)	TCML	TCML
	$\pi \rightarrow \pi^*$	Ru-NO	Ru-bipy
<i>ct</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂	256 (1,60)	324 (0,67)	362 (0,18)

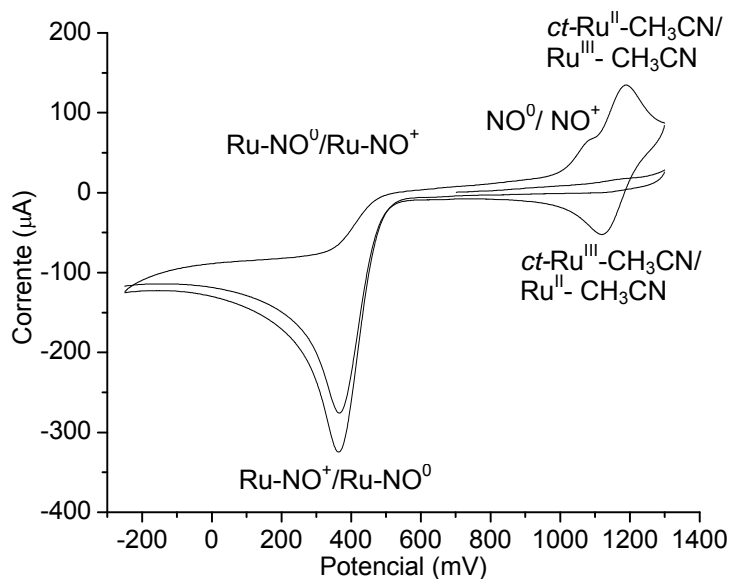
Quando substituímos um ligante σ doador como cloro por um ligante nitrosil não observamos mais as transições na região do visível, isto é observado para maioria dos complexos nitrosilo. Isto decorre da forte retro-doação do metal para o ligante NO, que estabiliza os orbitais moleculares característicos do metal. Com isso, as bandas de TCML do rutênio para os ligantes insaturados ocorrem numa região de mais alta energia, na faixa de 350 nm a 400 nm, (SAUAIA, 2005).

Como é possível observar na FIGURA 4.35 e TABELA 4.19, as bandas de absorção para este complexo encontram-se em regiões de energia muito mais alta que os demais complexos apresentados até agora neste trabalho, sendo todas encontradas na região do UV. Isto se deve ao forte caráter π -aceptor do NO, que retira densidade eletrônica do centro metálico. Esta constatação é suportada pelos ensaios de voltametria cíclica e de pulso diferencial, discutidos abaixo, nos quais não é possível observar nenhum processo redox do centro metálico.

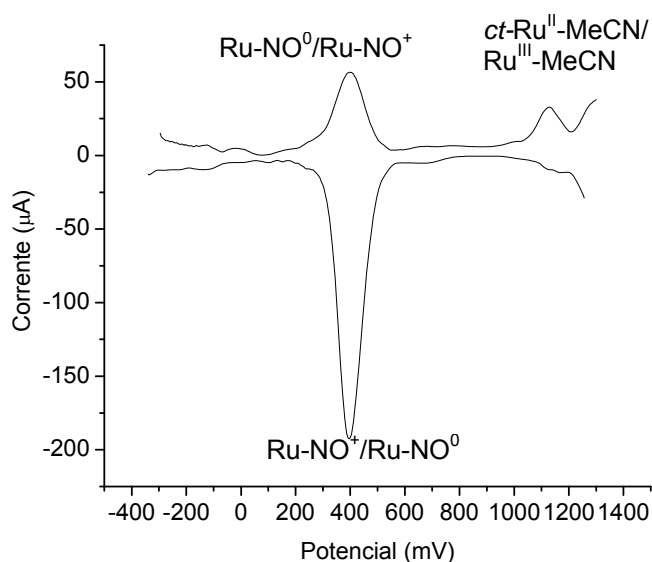
4.4.5 Voltametria cíclica e de pulso diferencial

O comportamento eletroquímico do composto sintetizado foi estudado pelas técnicas de voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial. Os voltamogramas foram obtidos em solução de CH₃CN utilizando PTBA (0,1 mol.L⁻¹) como eletrólito suporte e velocidade de varredura igual a 100 mV.s⁻¹.

A FIGURA 4.36 mostra os voltamogramas cíclicos e de pulso diferencial para o *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂. A primeira varredura para potencial anódico não apresenta nenhum processo. Partindo para varredura para potencial catódico surge um processo em 360 mV atribuído à redução do Ru-NO⁺ a Ru-NO⁰.



(a)



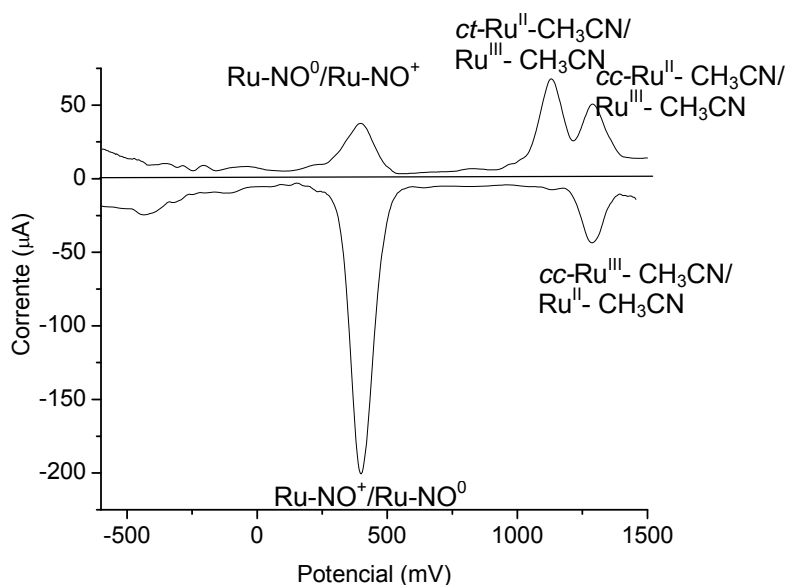
(b)

FIGURA 4.36. Voltametria cíclica (a) e voltametria de pulso diferencial (b) do complexo $ct\text{-}[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(5\text{-mebipy})](\text{PF}_6)_2$ em PTBA $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ em CH_3CN vs. Ag/AgCl .

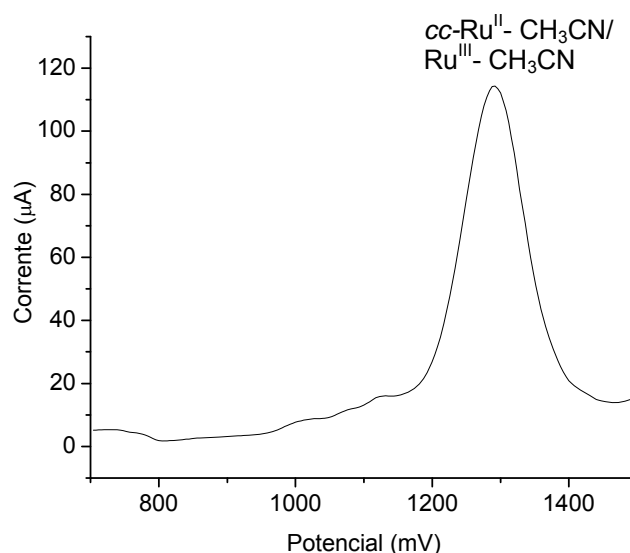
Na segunda varredura para potencial anódico surge um processo em 1070 mV que é atribuído à oxidação do NO livre (LOPES, 1997) e um processo em 1190 mV, que pode ser atribuído a oxidação $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$ no complexo formado após a liberação do NO, sendo este ligante substituído por acetonitrila. Voltando a varredura catódica, observa-se a formação de um processo catódico em 1120 mV, que pode

ser atribuído à redução $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$ do produto com acetonitrila coordenada. Na FIGURA 4.36 (b), é possível notar que o processo de redução do produto com acetonitrila não é formado, uma vez que este é formado quando o NO coordenado ao rutênio é reduzido $\text{Ru-NO}^+/\text{Ru-NO}^0$ e posteriormente substituído por acetonitrila. Quando partimos do potencial inicial para observar os processos de redução, todo o NO encontra-se na forma de NO^+ , não gerando a espécie.

Porém, ao longo do tempo a espécie formada pela substituição do NO por CH_3CN , a qual atribuímos como sendo o complexo $ct\text{-}[\text{RuCl}(\text{CH}_3\text{CN})(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]^+$ (acetonitrila *trans* a fósforo) sofre isomerização para $cc\text{-}[\text{RuCl}(\text{CH}_3\text{CN})(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]^+$ (acetonitrila *trans* a nitrogênio), como observado recentemente no trabalho de VALLE (2009). O voltamograma apresentado na FIGURA 4.37 (a) mostra a existência dos processos dos dois isômeros, enquanto que a FIGURA 4.37 (b) mostra a dependência da formação do isômero *ct* da redução do NO coordenado, uma vez que o potencial de partida é acima do potencial de redução do NO coordenado. Devido a isso, observa-se apenas o processo de oxidação do isômero *cc* presente em solução após isomerização do isômero *ct* formado durante os experimentos eletroquímicos.



(a)



(b)

FIGURA 4.37: Voltamogramas de pulso diferencial do *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ (a) após várias varreduras; (b) Partindo de potencial acima do potencial de redução do NO coordenado, em PTBA 0,1 mol·L⁻¹ em CH₃CN vs. Ag/AgCl.

Outro aspecto interessante relativo à isomerização é que dependendo do tempo em que o NO coordenado permanece em sua forma reduzida, Ru-NO⁰, durante a varredura, menor o valor de corrente para o processo de oxidação deste para a forma Ru-NO⁺ e maior a quantidade formada de isômero *ct*. Isto foi observado quando varremos à partir de dois potenciais diferentes, ilustrado na FIGURA 4.38.

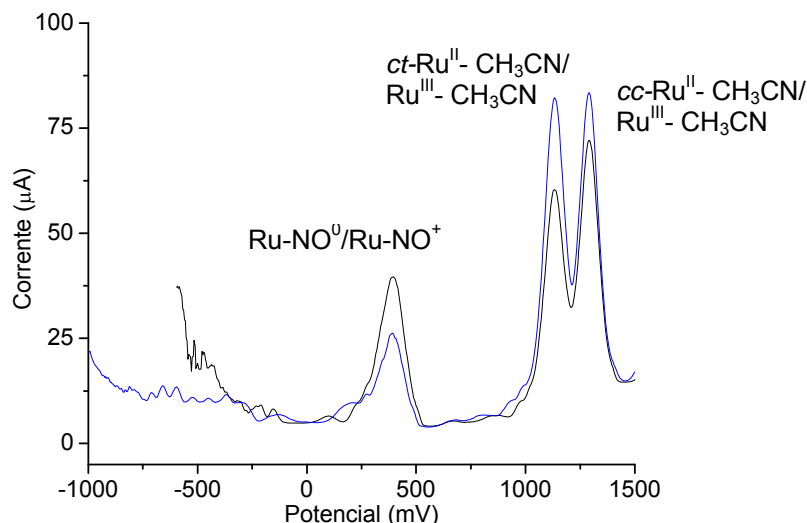


FIGURA 4.38: Voltamogramas de pulso diferencial do *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂. Em azul: Faixa de varredura -1000 mV à 1500 mV; Em preto: Faixa de varredura -500 mV à 1500 mV, em PTBA 0,1 mol·L⁻¹ em CH₃CN vs. Ag/AgCl.

A irreversibilidade do processo de redução Ru-NO⁺/Ru-NO⁰ é visível tanto no voltamograma cíclico quanto no voltamograma de pulso diferencial. Isto indica que quando o nitrosilo coordenado é reduzido a NO⁰, este é liberado e substituído por uma molécula de acetonitrila. Para observar se, ao reduzir o NO⁺ coordenado há a completa liberação de NO⁰, foi realizada uma eletrólise redutiva aplicando-se potencial em 300 mV. Ao final desta, todos os processos atribuídos ao NO haviam desaparecido e houve a formação de apenas um par oxidação/redução com potenciais de oxidação em 1360 mV e redução em 1265 mV, respectivamente, relativo ao isômero *cc*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)] (FIGURA 4.39).

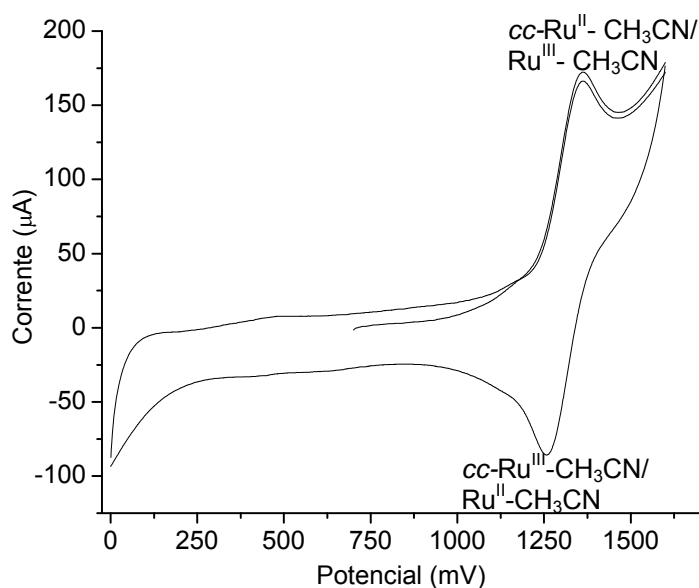


FIGURA 4.39. Voltamograma cíclico do cc -[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ obtido após a eletrólise redutiva em 300 mV do ct -[RuClNO(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂, em PTBA 0,1 mol·L⁻¹ em CH₃CN vs. Ag/AgCl.

Ao contrário do observado durante os experimentos eletroquímicos do nitrosilo-complexo, o produto final da eletrólise apresenta apenas um par redox. A explicação para tal fato é que, primeiramente, houve a formação do ct -[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ que ao final da eletrólise havia isomerizado para o cc -[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆. Tal fato pode ser explicado devido à isomerização da acetonitrila coordenada da posição *trans* ao átomo de fósforo da bifosfina para a posição *trans* ao átomo de nitrogênio da bipyridina, como foi observado para o [RuCl(BzCN)(dppb)(bipy)]PF₆ (BzCN = benzonitrila), recentemente publicado por nosso grupo de pesquisa, uma vez que com a acetonitrila estando *trans* à bipy, a diminuição da densidade eletrônica no centro metálico é mais eficiente, pois o efeito competitivo por elétrons π do metal entre a CH₃CN e a bipyridina é pequena quando comparada com a competição entre acetonitrila e bifosfina (VALLE, 2009).

Nesse trabalho foi demonstrada a substituição do átomo de cloro *trans* ao fósforo do cis -[RuCl₂(dppb)(bipy)] pelo ligante benzonitrila, porém com o tempo este composto se isomeriza passando a apresentar a BzCN em posição *trans* ao átomo de nitrogênio. Este fenômeno foi demonstrado também utilizando acetonitrila, o que levou a conclusão que este não é ocasionado por efeito estérico e sim por efeito

competitivo (VALLE, 2009). A FIGURA 4.40 representa os dois possíveis isômeros obtidos em tal substituição.

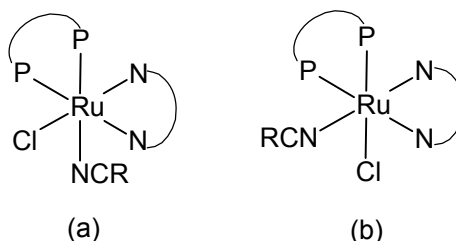


FIGURA 4.40. Representação das estruturas dos isômeros obtidos com ligantes do tipo NCR (acetonitrila ou benzonitrila): (a) posicionado *trans* ao fósforo ou *ct* e (b) *trans* ao nitrogênio ou *cc*.

Ao término da eletrólise, o produto obtido nesta foi precipitado e separado do eletrólito, sendo posteriormente submetido a experimentos de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN (FIGURA 4.41). Para responder algumas questões levantadas durante a eletrólise, o produto *cc*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ foi sintetizado (seção 3.10) e caracterizado, sendo sua caracterização e estudos de isomerização descritos abaixo.

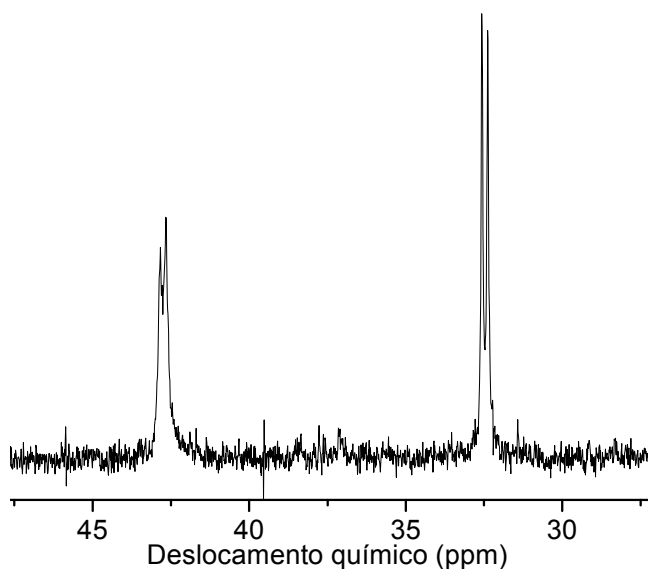


FIGURA 4.41: Espectro de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN do *cc*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ obtido ao final da eletrólise do *ct*-[RuClNO(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ em CH₃CN.

Para observar se a substituição do NO por acetonitrila se dá apenas quando este é reduzido para sua forma NO⁰, foi procedido um experimento de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN em acetonitrila, FIGURA 4.42, no qual foi observado além dos dupletos relativos ao

nitrosilo-complexo, o aparecimento de dois dubletos característicos do isômero *ct*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ e pequena proporção de dubletos característicos do *cc*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆. Este experimento evidencia que a substituição ocorre sem a necessidade da redução do NO coordenado e esta apenas acelera o processo de substituição.

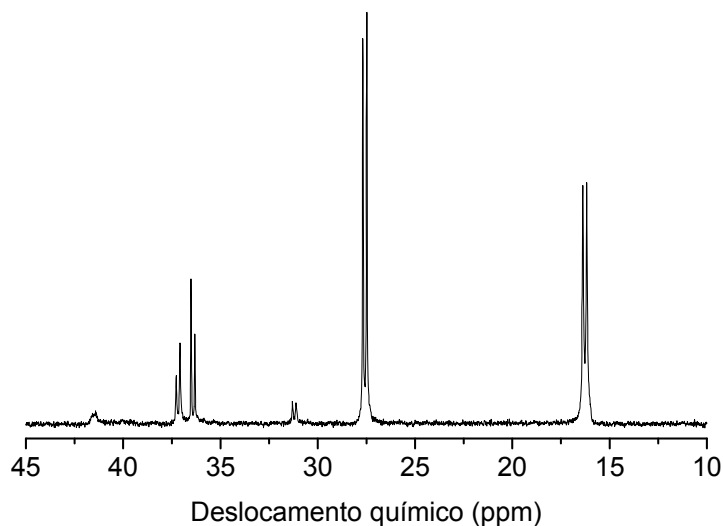


FIGURA 4.42: Espectro de ³¹P{¹H} RMN do *ct*-[RuClNO(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ em CH₃CN, mostrando a formação do isômero *cc*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆.

4.5 *cc*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)

4.5.1 ³¹P{¹H} RMN

A FIGURA 4.43 representa o espectro de ³¹P{¹H} RMN para o *cc*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆.

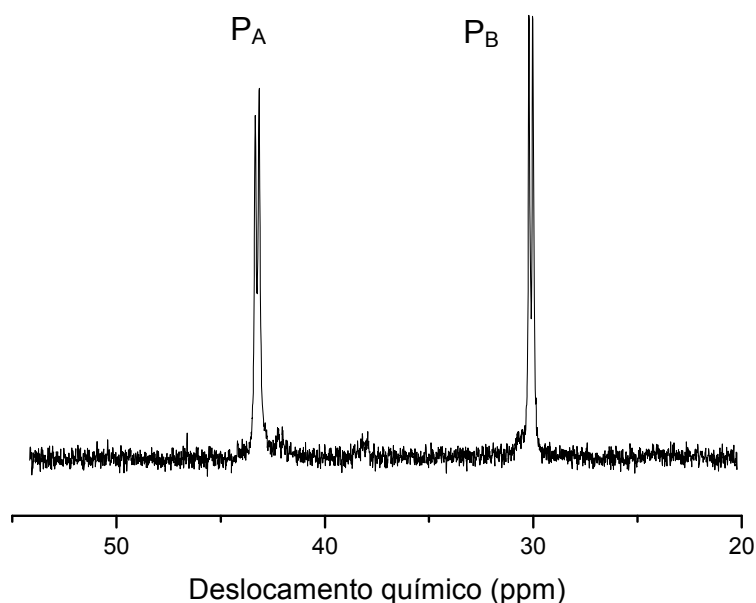


FIGURA 4.43. Espectro de ³¹P{¹H} RMN do *cc*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ em CH₂Cl₂.

A observação de dois dupletos confirma a geometria sugerida para tal complexo, bem como seus valores de deslocamento químico são semelhantes aos encontrados no trabalho de VALLE (2009). Para determinar se, de fato, enquanto procedendo com a voltametria cíclica e de pulso diferencial do *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ o processo de oxidação em 1185 mV se referia ao isômero *ct*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ procedeu-se com um experimento de ³¹P{¹H} RMN do *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)] em acetonitrila (FIGURA 4.44).

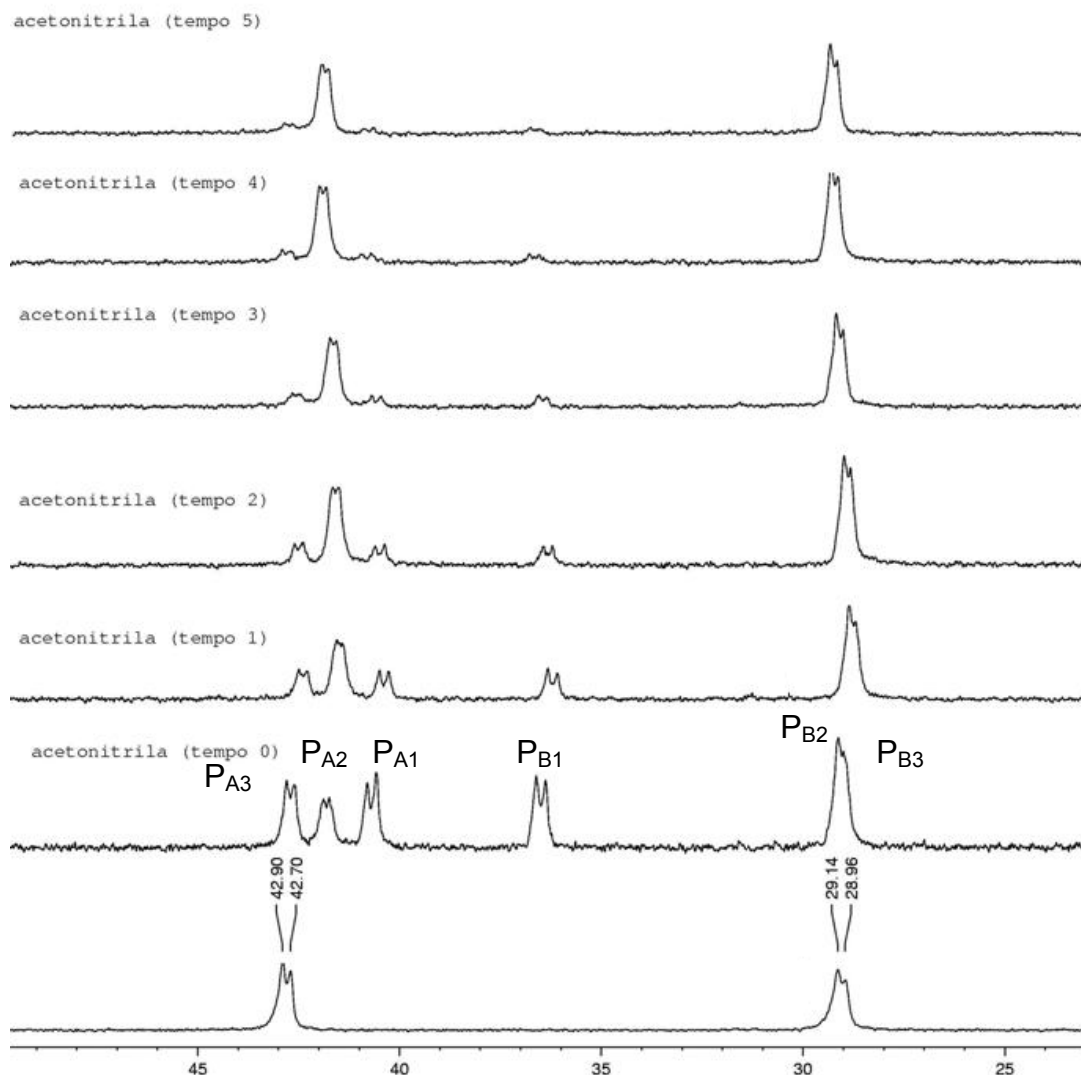


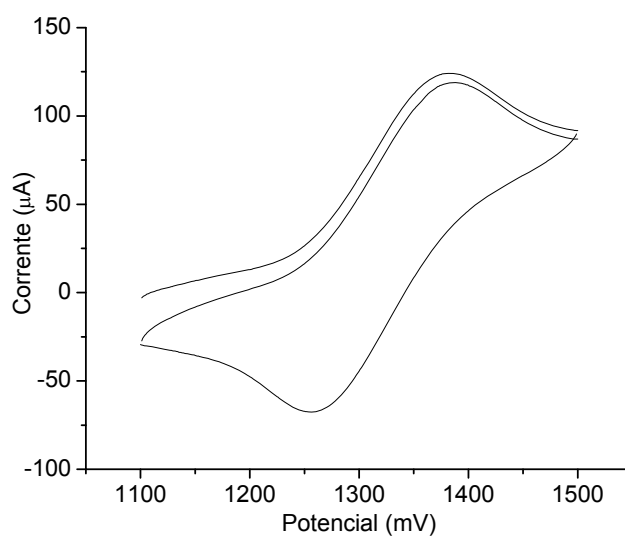
FIGURA 4.44. Espectro de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN para o $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$ em CH_3CN .

Os espectros de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN acima mostram o acompanhamento da reação entre o $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$ e a acetonitrila formando inicialmente dois isômeros. Observa-se a formação de dois pares de dubletos, sendo o par $\text{P}_{\text{A}1}$ e $\text{P}_{\text{B}1}$ relativo ao isômero *ct*, enquanto o par $\text{P}_{\text{A}2}$ e $\text{P}_{\text{B}2}$ relativo ao isômero *cc* e o par $\text{P}_{\text{A}3}$ e $\text{P}_{\text{B}3}$ referente ao precursor $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$. Tal atribuição é feita analisando-se que no isômero *ct*, a acetonitrila se encontra em posição *trans* ao fósforo, o que faz com que os dubletos se encontrem mais próximos um do outro, enquanto no *cc* em que o fósforo se encontra *trans* a um ligante cloreto os dubletos se afastam, de forma semelhante ao observado para o precursor $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]$. Após 30 minutos de reação, o produto final apresenta espectro de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN com apenas dois dubletos mais afastados, sendo que o dubleto $\text{P}_{\text{B}2}$ encontra-

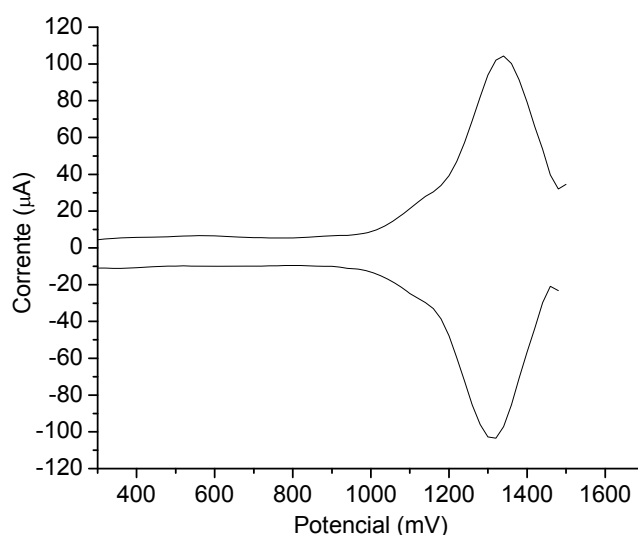
se no mesmo deslocamento químico que o duplete em campo mais alto do precursor como representado acima, na FIGURA 4.44.

4.5.2 Voltametria cíclica e de pulso diferencial

A FIGURA 4.45 representa os voltamogramas cíclico e de pulso diferencial para o $cc\text{-[RuCl(CH}_3\text{CN)(dppb)(5-mebipy)]PF}_6$. É possível observar que o par redox é o mesmo observado ao final da eletrólise do $ct\text{-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF}_6)_2$.



(a)



(b)

FIGURA 4.45: Voltamogramas cíclico (a) e de pulso diferencial (b) para o $cc\text{-[RuCl(CH}_3\text{CN)(dppb)(5-mebipy)]PF}_6$, em PTBA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em CH_3CN vs. Ag/AgCl.

Na voltametria de pulso diferencial, observa-se um alargamento nos processos de oxidação e redução, relativos a resquícios do isômero *ct*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆ não completamente convertido à *cc*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆.

4.5.3 Medidas de condutividade molar

Para avaliar se houve de fato a troca de um ligante aniônico (Cl⁻) por um ligante neutro (CH₃CN), procedeu-se com experimento de condutividade. O valor de condutividade encontrado para solução com concentração de 1X10⁻³ mol.L⁻¹ do composto em acetona foi de 127,6 μS·cm⁻¹ (T = 25° C), valor este que se encontra dentro da faixa esperada para eletrólitos 1:1 (faixa de 59-188 μS·cm⁻¹) (GEARY, 1971).

4.6 – *cc*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂

4.6.1 ³¹P {¹H} RMN

O espectro de ³¹P {¹H} RMN obtido para o composto *cc*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ encontra-se representado na FIGURA 4.46. Como se pode observar pelos dados contidos na TABELA 4.18, os valores de deslocamento químico dos dubletos observados para este composto e para o *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ são bastante próximos, porém no *cc* os dubletos apresentam-se sob a forma de falsos singletos, o que caracteriza que seus valores de J são pequenos e portanto apresentam diferença na coordenação. Os falsos singletos foram identificados como dubletos após a integração dos sinais, a qual mostra que se trata da relação 1:1.

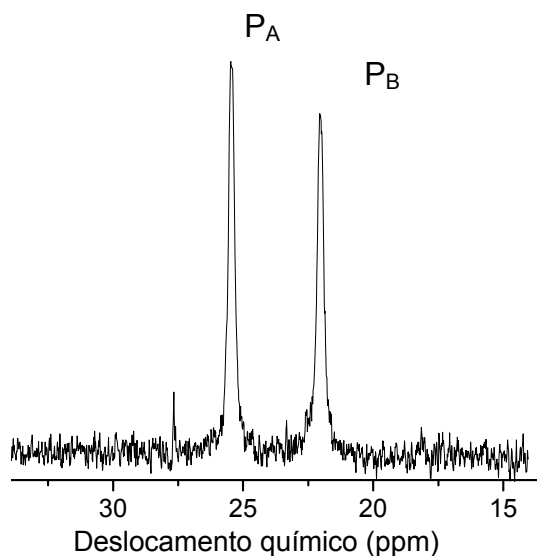


FIGURA 4.46. Ressonância magnética nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo *cc*- $[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(5\text{-mebipy})](\text{PF}_6)_2$ em CH_2Cl_2 .

TABELA 4.20. Valores de deslocamentos químicos e constantes de acoplamento para compostos do tipo $[\text{RuClNO}(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]^{2+}$.

Complexo	δP_A (ppm)	δP_B (ppm)	$^2J_{p-p}$ (Hz)
<i>ct</i> - $[\text{RuClNO}(\text{dppb})(5\text{-mebipy})](\text{PF}_6)_2$	26,9	17,1	36,4
<i>cc</i> - $[\text{RuClNO}(\text{dppb})(5\text{-mebipy})](\text{PF}_6)_2$	26,0	22,6	14,9

4.6.2 Medidas de condutividade molar

Foram realizados experimentos de condutividade elétrica utilizando solução do complexo com concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, sendo acetona o solvente. O resultado nos leva a crer que o composto obtido possui o NO^+ em sua estrutura, uma vez que o valor obtido ($181,8 \mu\text{S}/\text{cm}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$) é referente à proporção ânion/cátion de 2:1. A faixa aceita para eletrólitos 2:1 é de $122 - 335 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (GEARY, 1971).

4.6.3 Espectroscopia de absorção na região do UV/vis

O espectro eletrônico do cc -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ encontra-se na FIGURA 4.47.

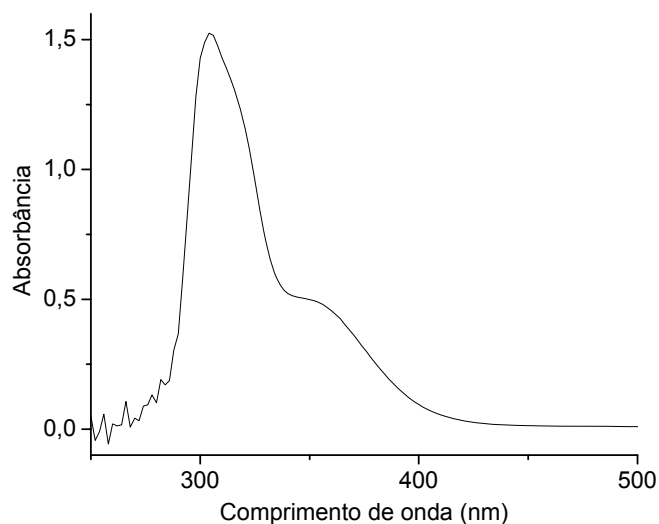


FIGURA 4.47: Espectro de absorção na região do UV/vis para cc -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ em CHCl₃. C=1,25 x10⁻⁴ mol.L⁻¹.

Como é possível observar na TABELA 4.21, as bandas de transferência de carga metal-ligante observadas para o isômero cc estão todas em região de alta energia, e estas apresentam maior energia que as observadas para o isômero ct -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂. As energias de transição são menores no isômero ct devido à competição existente entre o NO e o fósforo da bifosfina pela densidade eletrônica do metal, uma vez que o NO e o fósforo se encontram *trans* posicionados. No isômero cc o fósforo se encontra *trans* ao cloro e o NO *trans* ao nitrogênio da bipyridina e, portanto estes não competem como ocorria no caso do ct , retirando então mais efetivamente densidade eletrônica do metal, consequentemente aumentando as energias de transição do tipo TCML.

TABELA 4.21. Bandas observadas no espectro eletrônico para *cc*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ em CH₂Cl₂; λ , nm; $\epsilon \times 10^{-4} \text{mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Complexo	IL	TCML	TCML
	$\pi \rightarrow \pi^*$	Ru-NO	Ru-bipy
<i>ct</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂	256 (1,60)	324 (0,67)	362 (0,18)
<i>cc</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂	304 (1,20)	316 (0,10)	352 (0,39)

4.6.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

A formação do nitrosilo complexo de rutênio foi confirmada pela observação de uma banda de intensidade forte em 1895 cm⁻¹. O espectro apresentado na FIGURA 4.48 mostrou-se bastante semelhante aos espectros de compostos análogos sintetizados por GOLFETO (2008), bem como ao análogo contendo NO coordenado *trans* a um átomo de fósforo. As atribuições das bandas dos compostos sintetizados neste trabalho se encontram listadas na TABELA 4.22.

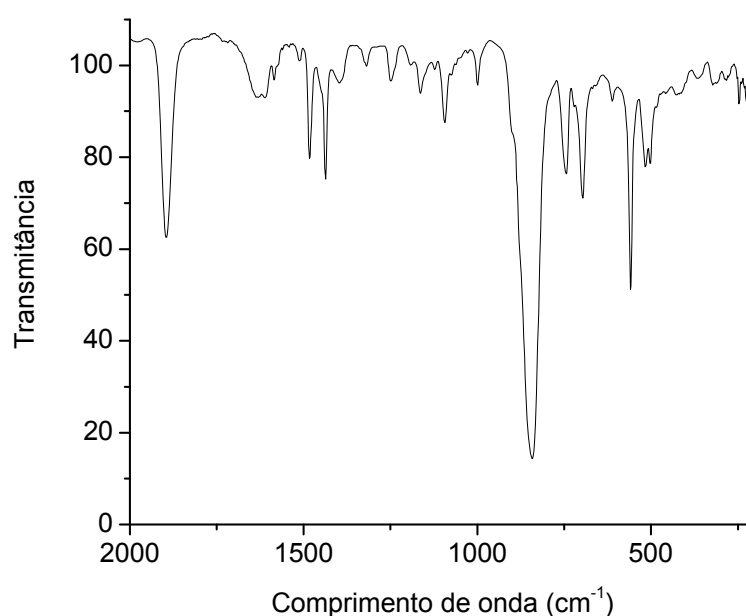


FIGURA 4.48. Espectro no IV do composto *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ em pastilha de KBr.

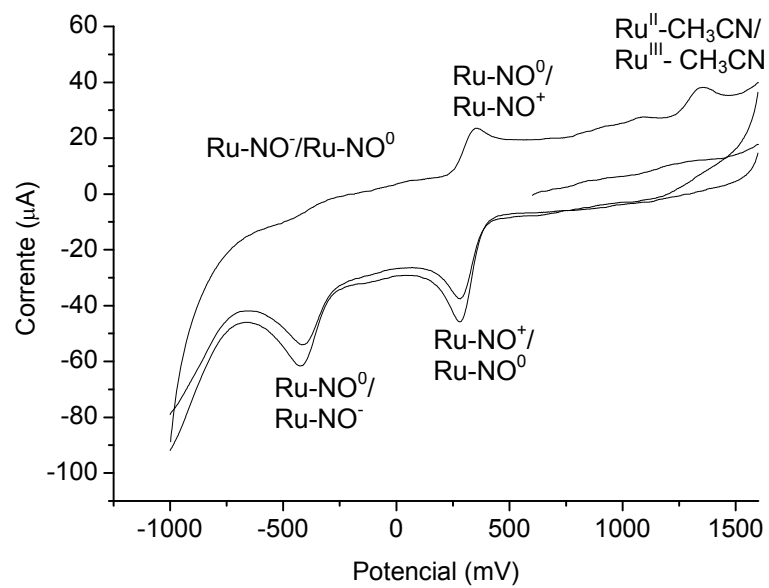
TABELA 4.22. Principais modos vibracionais para compostos de fórmula geral $[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(5\text{-mepipy})]^{2+}$ em cm^{-1} .

Modos vibracionais	$ct\text{-}[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(5\text{-mepipy})]^{2+}$	$cc\text{-}[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(5\text{-mepipy})]^{2+}$
ν NO (F)	1891	1895
ν C=N (f)	1615	1615
ν_{as} (C = C) (m)	1437	1437
ν P-C	1095	1094
ν P-F (F)	841	841
δ (C-H) _{ar} (m)	741	743
δ (C-H) (m)	695	696
δ P-C(ϕ) (m)	512	516
ν Ru-Cl (f)	294	246

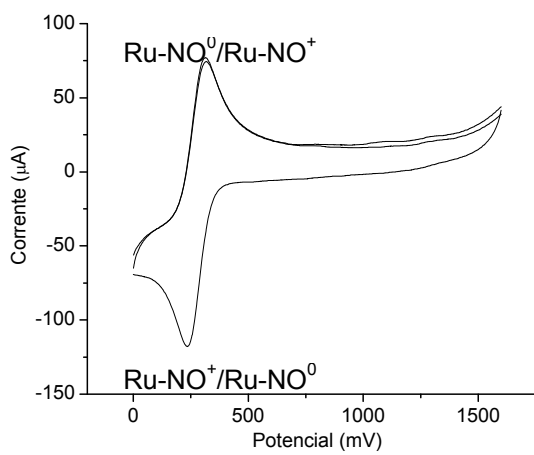
F = muito forte; m = média; f = fraca; ν - designa uma vibração de estiramento; δ - designa uma vibração de deformação; γ - designa uma vibração de deformação fora do plano; β - designa uma vibração de deformação no plano.

4.6.5 Voltametria cíclica e de pulso diferencial

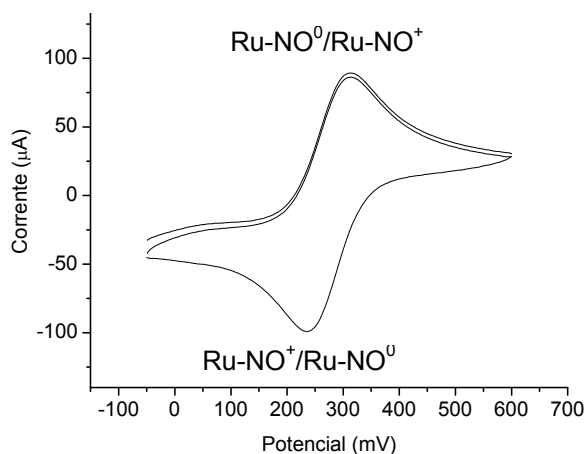
A FIGURA 4.49 mostra os voltamogramas cíclicos para o $cc\text{-}[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(5\text{-mepipy})](\text{PF}_6)_2$. A primeira varredura, partindo do potencial de repouso para potencial anódico, não apresenta processos de oxidação. Partindo para varredura para potencial catódico surge um processo em 280 mV atribuído à redução do $\text{Ru-NO}^+/\text{Ru-NO}^0$ e outra redução em -420 mV atribuído à redução $\text{Ru-NO}^0/\text{Ru-NO}^-$.



(a)



(b)



(c)

FIGURA 4.49. Voltametria cíclica (a) faixa de -1000 mV a 1600 mV (b) faixa de 0 mV a 1600 mV e (c) faixa de 0 mV a 600 mV do complexo $cc\text{-}[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(5\text{-mebipy})](\text{PF}_6)_2$ em PTBA $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ em CH_3CN vs. Ag/AgCl .

Na segunda varredura para potencial anódico, surge um processo em 350 mV que é atribuído à oxidação $\text{Ru-NO}^0/\text{Ru-NO}^+$ e um processo em 1360 mV, que pode ser atribuído a oxidação $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$ no complexo formado após a liberação do NO, sendo este substituído por acetonitrila. Tal constatação foi corroborada pela dependência destes dois últimos processos de oxidação pelo processo de redução em -450 mV, que devido à sua irreversibilidade caracteriza que a redução $\text{Ru-NO}^0/\text{Ru-NO}^-$ faz com que o NO seja liberado e então substituído pela acetonitrila. Tal fato é demonstrado na FIGURA 4.49 (b).

A FIGURA 4.49 (c) mostra apenas o par redox $\text{Ru-NO}^0/\text{Ru-NO}^+$ e $\text{Ru-NO}^+/\text{Ru-NO}^0$, mostrando que se trata de um processo reversível ($i_{\text{pa}}/i_{\text{pc}} = 0,99$). Comparando os processos centrados no ligante NO nos dois compostos obtidos neste trabalho, sugere-se que o par redox $\text{Ru-NO}^0/\text{Ru-NO}^+$ e $\text{Ru-NO}^+/\text{Ru-NO}^0$ é reversível para o $cc\text{-}[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]^{2+}$ e não para o $ct\text{-}[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(5\text{-mebipy})]^{2+}$ porque estes se encontram *trans* a átomos diferentes (nitrogênio e fósforo, respectivamente). Sendo que no caso do último, por estar *trans* a um átomo de fósforo que é um ligante com forte influência *trans*, após o NO^+ coordenado ser reduzido à NO^0 é liberado devido a tal influência.

Para confirmar se de fato há a dependência dos processos em 1060 e 1300 mV da redução NO^0/NO^- , procedeu-se um experimento de eletrólise redutiva, aplicando-se potencial em -1000 mV. Ao final da eletrólise, obteve-se um voltamograma de pulso diferencial onde se observa que não há mais existência de nenhum dos processos atribuídos ao NO. Por outro lado, o processo em 1300 mV também não foi observado. Observa-se apenas um processo em torno de 2300 mV, tentativamente atribuído ao processo de oxidação do composto formado com duas acetonitrilas coordenadas ao rutênio (FIGURA 4.50).

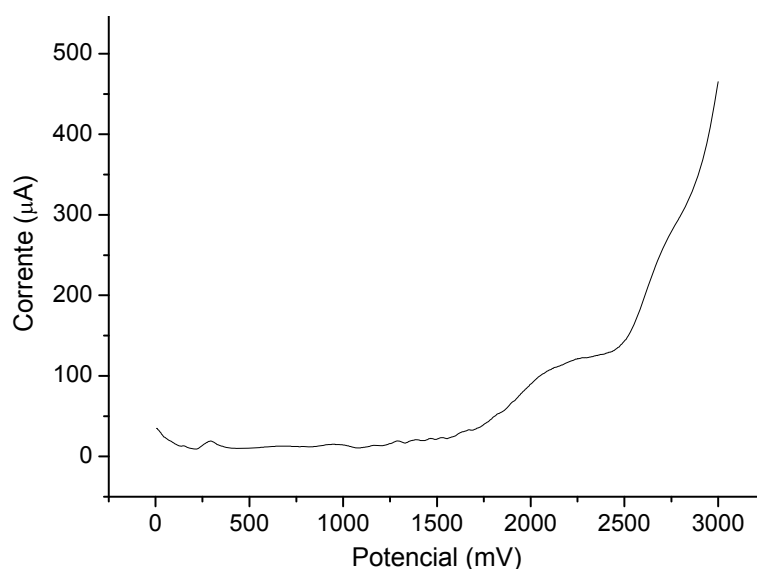
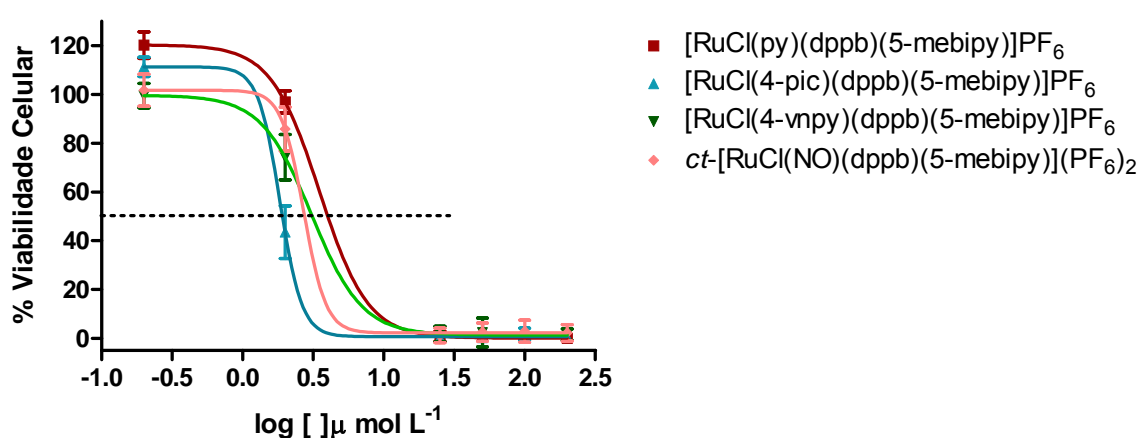


FIGURA 4.50. Voltamograma de pulso diferencial para o produto da eletrólise. Solvente acetonitrila, velocidade de varredura $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ em PTBA $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ vs. Ag/AgCl.

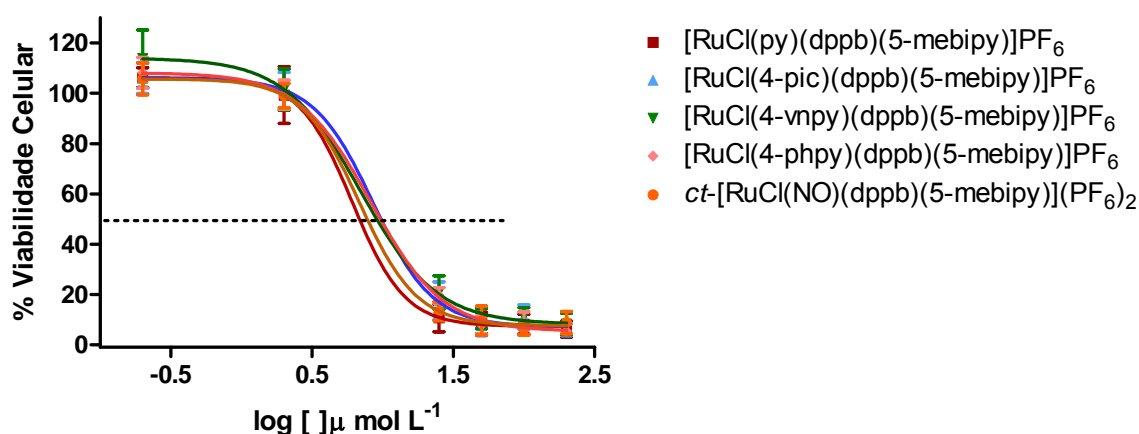
5. ENSAIOS PRELIMINARES DE CITOTOXICIDADE E ATIVIDADE CONTRA *Mycobacterium tuberculosis*

5.1 Ensaios de citotoxicidade

Cinco compostos deste trabalho foram testados *in vitro* contra as células tumorais MDA-MB231 (câncer de mama) e K562 (leucemia mielóide aguda). Os resultados obtidos neste estudo encontram-se representados na FIGURA 5.1 e listados na TABELA 5.1.



(a)



(b)

FIGURA 5.1: Gráficos de viabilidade celular dos compostos avaliados contra as linhagens de células (a) MDA-MB231 e (b) K562.

TABELA 5.1: Valores de IC₅₀ encontrados nos ensaios *in vitro* de citotoxicidade.

Complexo	IC₅₀ (μmol L⁻¹)	
	K562	MDA-MB231
[RuCl(py)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	6,1 ± 0,2	3,5 ± 0,1
[RuCl(4-pic)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	8,5 ± 0,4	1,8 ± 0,6
[RuCl(4-vnpy)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	6,9 ± 0,1	3,1 ± 0,8
[RuCl(4-phpy)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	8,2 ± 0,2	-
[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂	6,8 ± 0,2	2,7 ± 0,7
<i>Cisplatina</i>	na	87,5 ± 12,6

na – não avaliado

Na TABELA 5.1 podemos observar que os compostos até então testados apresentaram baixos valores de IC₅₀, o que é desejável para um candidato a fármaco antitumoral, sendo seus valores de IC₅₀ inferiores ao do cisplatina. Entretanto, não se observa nenhuma grande diferença entre os valores de IC₅₀ dos compostos para que pudéssemos fazer alguma consideração quanto às diferenças estruturais destes e suas diferentes citotoxicidades. Os compostos apresentaram pequena diferença de atividade contra as linhagens de células K562 e MDA-MB231, porém tal diferença não é expressiva para que possamos inferir que há seletividade entre as células tumorais testadas.

Os demais compostos deste trabalho ainda se encontram em fase de testes.

5.2 Ensaios de atividade antituberculose

Oito dos compostos obtidos neste trabalho foram submetidos a ensaios de atividade contra *Mycobacterium tuberculosis*. Os compostos testados, bem como seus MICs encontram-se dispostos na TABELA 5.2.

TABELA 5.2: Valores de MIC encontrados para os compostos testados *in vitro* contra *Mycobacterium tuberculosis*.

Composto	MIC* ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	MIC (μM)
[RuCl(py)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	12,50	12,86
[RuCl(4-pic)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	12,50	12,68
[RuCl(4-vnpy)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	12,50	12,53
[RuCl(4-phpy)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	12,50	11,93
[RuCl(NO ₂)(dppb)(5-mebipy)]	6,25	7,88
[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5-mebipy)]	6,25	7,78
<i>cis</i> -[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF ₆) ₂	12,50	11,71
<i>cc</i> -[RuCl(MeCN)(dppb)(5-mebipy)]PF ₆	12,50	13,39

*Mínima concentração necessária para inibição de 90% das células. MIC da isoniazida (fármaco padrão) = 0,03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ou 0,36 μM .

Os resultados obtidos mostram atividade de todos os compostos submetidos ao ensaio. Os complexos *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] e *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)] apresentaram os menores valores de MIC o que nos leva a crer que os grupos nitro coordenados ao rutênio sejam os responsáveis por tal atividade. Também é importante observar que estes complexos foram os únicos complexos neutros testados neste trabalho e que, possivelmente esta característica possua alguma influência na atividade destes complexos.

Comparando os resultados obtidos neste trabalho com os de alguns compostos testados do nosso laboratório (TABELA 1.5), podemos observar que os nitro-compostos obtidos neste trabalho são bastante promissores como possíveis fármacos contra tuberculose, devido aos seus baixos valores de MIC. Cabe ressaltar também que os valores de MIC para os compostos estudados neste trabalho são todos muito semelhantes, o que nos leva a crer que a atividade dos complexos não é dependente dos ligantes monodentados utilizados na síntese de cada um deles, mas sim da estrutura do complexo como um todo.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todos os compostos obtidos neste trabalho mostraram-se estáveis, inclusive em solução, e de fácil manuseio. Os espectros de ressonância magnética nuclear de fósforo para os complexos da série *cis*-[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]⁺ (L=piridina e derivados) apresentaram dois dubletos muito próximos, sendo esta proximidade e em alguns casos a coalescência destes sinais, justificada pela grande semelhança magnética entre os átomos de fósforo *trans* ao nitrogênio da bipyridina e os fósforos *trans* posicionados ao nitrogênio dos N-heterocíclicos. Neste trabalho demonstramos também que tal coalescência é dependente da viscosidade do solvente utilizado, bem como da temperatura do experimento de RMN. Os potenciais redox dos complexos da série *cis*-[RuCl(L)(dppb)(5-mebipy)]⁺ encontram-se em torno de 1000 mV, o que demonstra a diminuição da densidade eletrônica do centro metálico com a substituição do ligante cloro por ligantes N-heterocíclicos, fato este observado pelo alto valor de $E_{1/2}$ nos voltamogramas cíclicos, necessitando uma maior energia para oxidação do metal. Nos espectros eletrônicos, foram observadas bandas de transferência de carga metal ligante na região do visível do tipo TCML $d\pi(\text{Ru}) \rightarrow \pi^*(\text{Cl})$ e TCML $d\pi(\text{Ru}) \rightarrow \pi^*(\text{bipy})$, transições intraligante dos ligantes piridínicos, bipyridina e bifosfina na região do ultravioleta. Estruturas cristalográficas foram obtidas para os complexos contendo os ligantes 4-vnpy, 4-phpy e 4-pic, confirmando as estruturas propostas pelas demais técnicas de caracterização.

Os nitro-complexos obtidos apresentaram em seus espectros de ressonância magnética nuclear de fósforo dois dubletos, sendo os sinais observados para o *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] mais próximos que os do *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)], devido às alterações eletrônicas ocasionadas pela substituição do cloro pelo ligante nitro. Os espectros vibracionais na região do infravermelho apresentaram bandas características da coordenação do NO₂⁻, sendo que o *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] apresentou um estiramento simétrico e um assimétrico para o ligante nitro coordenado, enquanto o *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)] apresentou duas bandas de cada tipo de estiramento. Isto se deve aos diferentes átomos a que estes se encontram *trans* posicionados. Os voltamogramas cíclicos e de pulso diferencial mostram dois processos de oxidação para ambos os complexos, havendo no caso do *cis*-[RuCl(NO₂)(dppb)(5-mebipy)] a formação de um par redox

com potencial mais baixo que os demais, atribuído ao *cis*-[RuCl(NO₃)(dppb)(5-mebipy)] formado após a oxidação do ligante nitro. Procedendo com eletrólise oxidativa em 1200 mV, pudemos observar o isolamento deste novo par redox, o qual por ³¹P{¹H} RMN, pudemos observar a formação de dois dubletos em campo baixo, em frequências muito próximas do *cis*-[RuCl(NO₃)(dppb)(5-mebipy)], o qual foi obtido por reação entre o *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)] e NH₄NO₃⁻. Não foi possível, até o momento isolar este produto para caracterizá-lo por outras técnicas. Foi obtida a estrutura cristalográfica do *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)], que além de comprovar que os nitritos se encontram coordenados ao rutênio pelo nitrogênio, ainda nos permitiu entender a razão pela qual o *cis*-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5-mebipy)] apresenta duas bandas de estiramento do NO₂⁻, devido a grande diferença de comprimentos de ligação entre os dois ligantes nitro.

Dois nitrosilo-complexos foram obtidos neste trabalho, o *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂ e o *cc*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂. Ambos apresentaram dois dubletos em campo alto, mais alto que os demais compostos deste trabalho nos espectros de ³¹P{¹H} RMN, sendo estes de campo alto devido ao efeito competitivo exercido entre o NO e os fósforos da bifosfina pela densidade eletrônica do metal. Os espectros de absorção na região do UV/vis para ambos mostram que suas transições eletrônicas se encontram em regiões de maior energia que as dos demais complexos obtidos neste trabalho, devido à forte habilidade π-aceptora de elétrons do NO que faz com que seja maior a energia das transições envolvendo o centro metálico. Os espectros vibracionais na região do infravermelho apresentaram bandas características do estiramento de NO. Os experimentos de voltametria cíclica e de pulso diferencial para ambos apresentam processos centrados no ligante nitrosilo, sendo possível visualizar os processos redox centrados no rutênio apenas quando o NO é liberado e substituído por uma molécula de solvente. O produto da substituição do NO por uma molécula de acetonitrila foi isolado após proceder eletrólise redutiva em 300 mV com o composto *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂, gerando o complexo *cc*-[RuCl(CH₃CN)(dppb)(5-mebipy)]PF₆, o produto foi caracterizado e seu espectro de ressonância de fósforo apresenta dois dubletos mais separados e em campo mais baixo que o nitrosilo que deu origem a este. Procedendo um experimento de ³¹P{¹H} RMN do *cis*-[RuCl₂(dppb)(5-mebipy)] em acetonitrila, pudemos observar a substituição do cloreto *trans* a um átomo de fósforo (isômero *ct*) e, posteriormente, a isomerização deste

complexo para o isômero *cc* como observado após a eletrólise do *ct*-[RuCl(NO)(dppb)(5-mebipy)](PF₆)₂.

Cinco dos compostos obtidos neste trabalho foram testados contra duas linhagens de células tumorais, MDA-MB231 (câncer de mama) e K562 (leucemia mielóide aguda), apresentando-se promissores agentes antitumorais. Os demais compostos obtidos neste trabalho serão testados em breve. Os ensaios preliminares de atividade contra *Mycobacterium tuberculosis* realizados para oito dos complexos obtidos foram promissores, sendo que os nitro-compostos foram os mais ativos.

Em suma, este trabalho propiciou explorar diversos aspectos da química dos complexos bifosfínicos e bipyridínicos de rutênio(II), sendo que os estudos aqui presentes poderão ser de grande auxílio na elucidação dos mecanismos de ação dos compostos aqui discutidos como possíveis fármacos antitumorais e antituberculose.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIRD, R. E.; CUMMINGS, J.; RITCHIE, A. A.; MUIR, M.; MORRIS, R. E.; CHEN, H.; SADLER, P. J.; JODRELL, D. I. "In vitro and in vivo activity and cross resistance profiles of novel ruthenium (II) organometallic arene complexes in human ovarian cancer". *Brit. J. Cancer*, **86**: 1652-1657, 2002.

AKIYAMA, S-I.; CHEN, Z-S.; SUMIZAWA, T.; FURUKAWA, T.: "Resistance to cisplatin". *Anti-Cancer Drug Des.*, **14**:143-151, 1999.

ALESSIO, E.; MESTRONI, G.; SAVA, G.; BERGAMO, A.; COLUCCIA, M.; MESSORI, L. *Cytotoxic, Mutagenic and Carcinogenic Potencial of Heavy Metals Related to Human Environment*. Dordrecht/Norwell, Kluwer Academic, 1997. 652p.

ALLARDYCE, C. S.; DYSON, P. J. "Ruthenium in medicine: Current clinical uses and future prospects" *Platinum Met. Rev.*, **45**: 62-69, 2001.

ALVES, O. L. "Técnicas de síntese em atmosfera inerte". *Química Nova*, **9**: 276-281, 1986.

ANG, W. H.; DYSON, P. J. "Classical and non-classical ruthenium-based anticancer drugs: Towards targeted chemotherapy". *Eur. J. Inorg. Chem.*, **20**: 4003-40018, 2006.

BERGAMINI, P.; BERTOLASI, V.; MARVELLI, L.; CANELLA, A.; GAVIOLI, R.; MANTOVANI, N.; MANAS, S.; ROMEROSA, A. "Phosphinic platinum complexes with 8-thiotheophylline derivatives: Synthesis, characterization, and antiproliferative activity". *Inorg. Chem.*, **46**: 4267-4276, 2007.

BERGAMO, A.; GAVA, B.; ALESSIO, E.; MESTRONI, G.; SERLI, B.; COCCHIETTO, M.; ZORZET, S. & SAVA, G. "Ruthenium-based NAMI-A type complexes with in vivo selective metastasis reduction and in vitro invasion inhibition unrelated to cell cytotoxicity". *International Journal of Oncology.*, **21**(6): 1331-1338, 2002.

BERNERS-PRICE, S. J.; C. K.; JOHNSON, R. K.; MATTERN, M. R.; McCABE, F. L.; FAUCETEE, L. F.; SUNG, C. M.; MONG, S. M.; SADLER, P. J.; CROOKE, S. T. "In vivo antitumor activity and in vitro cytotoxic properties of bis[1,2-bis(diphenylphosphino)ethane]gold(I) chloride". *Cancer research*, **46**: 5486-5493, 1986.

BERNERS-PRICE, S. J.; NORMAN, R. E.; SADLER, P. J. "The autoxidation and proton dissociation-constants of tertiary diphosphines - relevance to biological-activity". *J. Inorg. Biochem.*, **31**(3): 197-209, 1987.

BERNERS-PRICE, S. J.; SADLER, P. J. "Phosphines in medicine". *Chemistry in Britain*, **23**: 541-544, 1987.

BERNERS-PRICE, S. J.; SADLER, P. J. "Phosphines and metal phosphine complexes: relationship of chemistry to anticancer and other biological activity". *Struct. Bonding (Berlin)*, **70**: 27-102, 1988.

BERNERS-PRICE, S. J.; BOWEN, R. J.; GALETTIS, P.; HEALY, P. C.; MCKEAGE, M. J. "Structural and solution chemistry of gold(I) and silver(I) complexes of bidentate pyridyl phosphines: selective antitumour agents". *Coord. Chem. Rev.*, **185-186**: 823-836, 1999.

BERTINI, I.; GRAY, H. B.; LIPPARD, S. J.; VALENTINI, J. S. *Bioinorganic Chemistry*. Mill Valley, University Science Books, 1994. 766p.

BINCOLETTO, C.; TERSARIOL, I. L. S.; OLIVEIRA, C. R.; DREHER, S.; FAUSTO, D. M.; SOUFEN, M. A.; NASCIMENTO, F. D.; CAIRES, A. C. F. "Chiral cyclopalladated complexes derived from N,N-dimethyl-1-phenethylamine with bridging bis(diphenylphosphine)ferrocene ligand as inhibitors of the cathepsin B activity and as antitumoral agents". *Bioorg. Med. Chem.*, **13**: 3047-3055, 2005.

BORGES, S. D. S.; DAVANZO, C. U.; CASTELLANO, E. E.; Z-SCHPECTOR, J., SILVA, S. C.; FRANCO, D. W. "Ruthenium Nitrosyl Complexes with N-Heterocyclic Ligands". *Inorganic Chemistry*, **37**(11): 2670-2677, 1998.

BOULIKAS, T.; VOUGIOUKA, M. "Cisplatin and platinum drugs at the molecular level". *Oncol. Rep.* **10**: 1663-1682, 2003.

BRABEC, V.; KASPARKOVA, J. "Platinum-based drugs". *Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents*, 489-506, 2005.

BUSTAMANTE, F. L. S.; SOUZA, E. T.; LANZMASTER, M.; SCARPELLINI M. "Complexos ativados por hipóxia: uma estratégia para o combate ao câncer". *Rev. Virtual Quim.*, **1**(2): 138-148, 2009.

BRYAN, N. S.; FERNANDEZ, B. O.; BAUER, S. M.; GARCIA-SAURA, M. F.; MILSOM, A. B.; RASSAF, T.; MALONEY, R. E.; BHARTI, A.; RODRIGUEZ, J.; FEELISCH, M. "Nitrite is a signaling molecule and regulator of gene expression in mammalian tissues". *Nat. Chem. Biol.*, **1**: 290-297, 2005.

CALLAHAN, R. W.; MEYER, T. J. "Reversible electron transfer in ruthenium nitrosyl complexes". *Inorganic Chemistry*, **16**(3): 574-581, 1977.

CAIRES, A. C. F.; ALMEIDA, E. T.; MAURO, A. E.; HEMERLY, J. P.; VALENTINI, S. R. "Síntese e atividade citotóxicas de alguns azido-ciclopaladatos estabilizados com ligantes bifosfínicos". *Química Nova*, **22**: 329-334, 1999.

CECIL, R. L. *Tratado de medicina interna*, 22^a ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2005, 1225p.

CHATTOPADHYAY, U. "Tumour immunotherapy: developments and strategies". *Immunology Today*, **20**: 480-482, 1999.

CHEN, H.; PARKINSON, J. A.; PARSONS, S.; COXALL, R. A.; GOULD, R. O.; SADLER, P. J. "Organometallic ruthenium(II) diamine anticancer complexes: arene-nucleobase stacking and stereospecific hydrogen-bonding in guanine adducts". *J. Am. Chem. Soc.*, **124**: 3064–3082, 2002.

CHEN, H.; PARKINSON, J. A.; NOVÁKOVÁ, O.; BELLA, J.; WANG, F.; DAWSON, A.; GOULD, R.; PARSONS, S.; BRABEC, V.; SADLER, P. J. "Induced-fit recognition of DNA by organometallic complexes with dynamic stereogenic centers". *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **100**: 14623–14628, 2003.

CHEN, J. C. LI, J.; QIAN, L.; ZHENG, K. C. "Electronic structures and SARs of the isomeric complexes alpha-, beta-, gamma-Ru(mazpy)₂Cl₂ with different antitumor activities". *Theochem.*, **728**: 93–101, 2005.

CHOY, H. "Satraplatin: an orally available platinum analog for the treatment of cancer." *Expert Rev. Anticancer Ther.*, **6**(7): 973–982, 2006.

CLARKE, M. J. "Oncological Implications of the Chemistry of Ruthenium". *Met. Ions Biol. Syst.*, **11**: 231-283, 1980.

CLARKE, M. J.; ZHU, F.; FRASCA, D. R. "Non-platinum chemotherapeutic metallopharmaceuticals". *Chemical Reviews*, **99**(9): 2511-2534, 1999.

CLARKE, M. J. "Ruthenium metallopharmaceuticals", *Coord. Chem. Rev.*, **236**: 209-233, 2003.

CLARKE, M. J.; GAUL, J. B. "Chemistry relevant to the biological effects of nitric oxide and metallonitrosyls". *Structure and Bonding*, **81**: 147-181, 1993.

CLARKE, M. J.; BITLER, S.; RENNERT, D.; BUCHBINDER, M.; KELMAN, A. D. "Reduction and subsequent binding of ruthenium ions catalyzed by subcellular components". *J. Inorg. Biochem.*, **12**(1): 79-87, 1980.

CLEARE, M. J.; HOESCHELE, J. D. "Studies on the antitumor activity of group VIII transition metal complexes". I. Platinum (II) complexes". *Bioinorg. Chem.*, **2**: 187-210, 1973.

COFFER, M. T.; SHAW III, C. F.; EIDNESS, M. K.; WATKINS, J. M.; ELDER, R. C. "Reactions of auranofin and Et₃PAuCl with bovine serum-albumin". *Inorg. Chem.*, **25**(3): 333-339, 1986.

COPPENS, P.; LEISEROWITZ, L.; RABINOVICH, D. "Calculation of absorption corrections for camera and diffractometer data." *Acta Cryst.*, **18**: 1035-1038, 1965.

COTTON, F. A.; WILKINSON, G. *Advanced Inorganic Chemistry*, New York: John Wiley & Sons, 1988. 1488p.

CRABTREE, R. H. *The Organometallic Chemistry of the Transition Metals*, John Wiley & Sons: New York, 1988. 560p.

DABROWIAK, J. C. "Bleomycin". *Advances in Inorganic Biochemistry*, **4**: 69-113 1982.

DASH, K. C.; SCHMIDBAUER, H. "Inorganic Drugs in Deficiency and Disease." *Metal Ions Biol. Syst.*, **14**: 179, 1982.

DEKOCK R. L., GRAY H. B. *Chemical structure and bonding*, 2 ed. Benjamin, University Science Books, 1989. 491p.

DENIS, L. K.; ANTONIO, S. F. *Harrison: Medicina interna*, Rio de Janeiro, McGraw-Hill, 2006. 1565p.

DENNY W. A., WILSON W. R. "Considerations for the design of nitrophenyl mustards as agents with selective toxicity for hypoxic tumor cells" *J. Med. Chem.*, **29**: 879-887, 1986.

DESOIZE B., MADOULET C. "Particular aspects of platinum compounds used at present in cancer treatment". *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **42**: 317-325, 2002.

DHUBHGHAILL, O. M.; HAGEN, W.; KEPPLER, B. K.; LIPPONER, K. G.; SADLER, P. J. "Aqueation of the anticancer complex *trans*-[RuCl₄(HIm)₂]- (HIm = Imidazole)". *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 3305-3310, 1994.

DO NASCIMENTO, F. B.; VON POELHSITZ, G.; PAVAN, F. R.; SATO, D. N.; LEITE, C. Q. F.; SELISTRE-DE-ARAÚJO, H. S.; ELLENA, J. A.; CASTELLANO, E. E.; DEFLON, V. M.; BATISTA, A. A. "Synthesis, characterization, X-ray structure and *in*

in vitro antimycobacterial and antitumoral activities of Ru(II) phosphines/diimine complexes containing the "SpymMe₂" ligand, SpymMe = 4,6-dimethyl-2-mercaptopyrimidine." *Journal of Inorganic Biochemistry*. **102**: 1783-1789, 2008.

DOUGAN, S. J.; HABTEMARIAM, A.; MCHALE, S. E.; PARSONS, S.; SADLER P. J. "Catalytic organometallic anticancer complexes". *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **105**: 11628–11633, 2008.

DU BOIS, A.; LÜCK, H-J.; MEIER, W. ; ADAMS, H-P. ; MÖBUS, V. ; COSTA, S.; BAUKNECHT, T.; RICHTER, B.; WARM, M.; SCHRÖDER, W.; OLBRICHT, S.; NITZ, U.; JACKISCH, C. EMONS, G.; WAGNER, U. KUHN, W.; PFISTERER, J. "A randomized clinical trial of cisplatin/paclitaxel versus carboplatin/paclitaxel as first-line treatment of ovarian cancer". *Journal of the National Cancer Institute*, **95**(17): 1320-1330, 2003.

DUBYAK G. R. & KLEINZELLER A. "The insulin-mimetic effects of vanadate in isolated rat adipocytes. Dissociation from effects of vanadate as a (Na⁺-K⁺)ATPase inhibitor" *J. Biol. Chem.*, **255**: 5306-5312, 1980.

ELDER, R. C.; EIDNESS M. K. "Synchrotron x-ray studies of metal-based drugs and metabolites" *Chem. Reviews*, **87**: 1027-1046, 1987.

ENRAF-NONIUS. *COLLECT*. Nonius BV, The Netherlands, 1997-2000.

FARRER, N. J.; SADLER, P. J. "Photochemotherapy: targeted activation of metal anticancer complexes". *Aust. J. Chem.*, **61**: 669–674, 2008.

FARRUGIA, L. J. "ORTEP-3 for Windows". *J. Appl. Cryst.*, **30**: 565, 1997.

FEELISCH, M.; FERNANDEZ, B. O.; BRYAN, N. S.; GARCIA-SAUR, M. F.; BAUER, S.; WHITLOCK, D. R.; FORD, P. C.; JANERO, D. R.; RODRIGUEZ, J.; ASHRAFIAN, H. "Tissue processing of nitrite in hypoxia". *The Journal of Biological Chemistry.*, **283**(49): 33927-33934, 2008.

FINK, D.; NEBEL, S.; AEBI, S.; ZHENG, H.; CENNI, B.; NEHME, A.; CHRISTEN, R. D.; HOWELL, S. B. "The role of DNA mismatch repair in platinum drug resistance". *Cancer Res.*, **56**: 4881–4886, 1996.

FONTECAVE, M. & PIERRE, J. L. "The basic chemistry of nitric oxide and its possible biological reactions". *Bulletin de la Societe Chimique de France*, **131**(6): 620-631, 1994.

FORD, P. C.; LAVERMAN, L. E. "Reaction mechanisms relevant to the formation of iron and ruthenium nitric oxide complexes" *Coordination Chemistry Reviews*, **249**: 391-403, 2005.

FRAUSIN, F.; SCARCIA, V.; COCCHIETTO, M.; FURLANI, A.; SERLI, B.; ALESSIO, E.; SAVA, G. "Free exchange across cells, and Echistatin-sensitive membrane target for the metastasis inhibitor NAMI-A (imidazolium *trans*-imidazole dimethylsulfoxide tetrachlororuthenate) on KB tumor cells". *J. Pharm. Exp. Therap.*, **313**: 227-233, 2005.

GALANSKI, M.; JAKUPEC, M. A.; KEPPLER, B. K. "Update of the preclinical situation of anticancer platinum complexes: novel design strategies and innovative analytical approaches". *Curr. Med. Chem.*, **12**: 2075-2094, 2005.

GEARY, W. J. "Use of Conductivity Measurements in Organic Solvents for the Characterization of Coordination Compounds". *Coordination Chemistry Reviews.*, **7**(1): 81-122, 1971.

GEREMIA, S.; ALESSIO, E.; TODONE, F. "Synthesis and crystal structure of new Ru(III)-sulfoxide complexes containing a planar N-ligand: *mer, cis*-RuCl₃(1Me-Im)₂(S-dmso) and [4Et-pyH][*trans*-RuCl₄(4Et-py)(S-dmso)]". *Inorg. Chim. Acta*, **253**: 87-90, 1996.

GOLFETO, C. C. "*Nitrosilo Complexos de Rutênio: Síntese, Caracterização e Avaliação de suas Potencialidades Citotóxicas*". São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2008. Dissertação de Mestrado, 91p.

GOODWIN, J. B.; MEYER, T. J. "The Preparation of Ruthenium Nitrosyl Complexes Containing 2,2'-bipyridine and 1,10-phenanthroline". *Inorganic Chemistry*, **10**: 471-474, 1971.

GRIFFITH, D.; BERGAMO, A.; PIN, S.; VADORI, M.; MÜLLER-BUNZ, H.; SAVA, G.; MARMION, C. J. "Novel platinum pyridinehydroxamic acid complexes: Synthesis, characterisation, X-ray crystallographic study and nitric oxide related properties". *Polyhedron*, **26**(16): 4697-4706, 2007.

GROESSL, M.; REISNER, E.; HARTINGER, C. G.; EICHINGER, R.; SEMENOVA, O.; TIMERBAEV, A. R.; JAKUPEC, M. A.; ARION, V. B.; KEPPLER, B. K. "Structure-Activity Relationships for NAMI-A-type Complexes (HL)[*trans*-RuCl₄L(S-dmso)ruthenate(III)] (L = Imidazole, Indazole, 1,2,4-Triazole, 4-Amino-1,2,4-Triazole, and 1-Methyl-1,2,4-triazole): Aquation, Redox Properties, Protein Binding, and Antiproliferative Activity". *J. Med. Chem.*, **50**: 2185-2193, 2007.

GUIDELLI, R.; PERGOLA, F.; RASPI, G. "Voltammetric Behavior of Nitrite Ion on Platinum in Neutral and Weakly Acidic Media". *Analytical Chemistry*, **44**: 745, 1972.

GUO, Z.; SADLER, P.J. "Advances in inorganic chemistry." *Medicinal inorganic chemistry*, Elsevier, p. 183–306, 2000

HARHAJI, L.; VUCKOVIC, O.; MILJKOVIC, D.; STOSIC-GRUJICIC, S.; TRAJKOVIC, V. "Iron down-regulates macrophage anti-tumour activity by blocking nitric oxide production" *Clinical and Experimental Immunology*, **137**: 109-116, 2004.

HARTINGER, C. G.; ZORBAS-SEIFRIED, S.; JAKUPEC, M. A.; KYNAST, B.; ZORBAS, H.; KEPPLER, B. K. "From bench to bedside – preclinical and early clinical development of the anticancer agent indazolium *trans*-[tetrachlorobis(1H-indazole)ruthenate(III)] (KP1019 or FFC14A)". *Journal of Inorganic Biochemistry*, **100**(5-6): 891-904, 2006.

HARTMANN, M.; LIPPONER, K. G.; KEPPLER, B. K. "Imidazole release from the antitumor-active ruthenium complex imidazolium *trans*-tetrachlorobis (imidazole) ruthenate(III) by biologically occurring nucleophiles". *Inorg. Chim. Acta*, **267**: 137-141, 1998.

HECHT, S. H. "*Bleomycin: Chemical, Biochemical and Biological Aspects*", New York, Springer-Verlag, 1979. 479p.

HEYLIGER, C. E.; TAHILIANI A. G., McNEIL J. H. "Effect of vanadate on elevated blood glucose and depressed cardiac performance of diabetic rats". *Science*, **227**: 1474-1477, 1985.

HOLLAND, J. F.; FREI, E. "Cancer Medicine", 5 Ed., Ontário, BC Decker, 2000. 2502 p.

HOTZE, A. C. G.; VELDERS, A. H.; UGOZZOLI, F.; BIAGINI-CINGI, M.; MANOTTI-LANFREDI, A. M.; HAASNOOT, J. G.; REEDIJK, J. "Synthesis, characterization, and crystal structure of alpha-[Ru(azpy)₂(NO₃)₂] (azpy=2-(Phenylazo)pyridine) and the products of its reactions with guanine derivatives". *Inorg. Chem.*, **39**: 3838-3844, 2000.

HOTZE, A. C. G.; CASPERS, S. E.; D. DE VOS, S. E.; KOOIJMAN, H.; SPEK, A. L.; FLAMIGNI, A.; BACAC, M.; SAVA, G.; HAASNOOT, J. G.; REEDIJK, J. "Structure-dependent in vitro cytotoxicity of the isomeric complexes Ru(L)₂Cl₂ (L = o-tolylazopyridine and 4-methyl-2-phenylazopyridine) in comparison to [Ru(azpy)₂Cl₂]. *J. Biol. Inorg. Chem.*, **9**: 354–364, 2004.

HUPP, J. T.; WELCH, J. L.; KEEFE, M. H.; BELANGER, S. "Rapid Derivatization of Mesoporous Thin-Films Materials based on Re(I) Zinc-Porphyrin 'Molecular Squares': Selective Modification of Mesopore Size and Shape by Binding of Aromatic Nitrogen Donor Ligands". *Coordination Chemistry Reviews*, **190-192**: 29-45, 1999.

IGNARRO, L. J. *Nitric oxide: Biology and Pathobiology*. 1st ed. San Diego, Academic Press, 2000. 1017p.

ISAB, A. A.; SHAW III, C. F.; LOCKE, J. "GC-MS and O-17 NMR tracer studies of Et₃PO formation from auranofin and H₂¹⁷O". *Inorg. Chem.*, **27**: 3406-3409, 1988.

JAIN, R. K. "Barriers to drug delivery in solid tumors." *Sci. Am.*, **271**: 58-65, 1994.

JAKUPEC, M. A.; ARION, V. B.; KAPITZA, S.; REISNER, E.; EICHINGER, A.; PONGRATZ, M.; MARIAN, B.; KEYSERLINGK, N. G. V.; KEPPLER, B. K. "KP1019 (FFC14A) from bench to bedside: Preclinical and early clinical development - An overview" *Int. Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, **43**: 595-596, 2005a.

JAKUPEC, M. A.; REISNER, E.; EICHINGER, A.; PONGRATZ, M.; ARION, V. B.; GALANSKI, M.; HARTINGER, C. G.; KEPPLER, B. K. "Redox-active antineoplastic ruthenium complexes with indazole: Correlation of in vitro potency and reduction potential". *Journal of Medicinal Chemistry*, **48**: 2831-2837, 2005b.

JAMES, B. R.; PATRICK, B. O.; CYR, P. W. "A remarkable temperature-dependent, accidental degeneracy of ³¹P NMR chemical shifts in Ru(II) diphosphine/diimine complexes". *Chemistry communication*, 1570-1571, 2001.

JAMES, B. R. *Homogeneous Hydrogenation*, New York, John Wiley & Sons 1973. 620p.

JOHNSON, R. K.; MIRABELLI, C. K.; FAUCETTE, L. F.; MCCABE, F. L.; SUTTON, B. M.; BRYAN, D. L.; GIRARD, G. R.; HILL, D. T. "Antitumor-activity of compounds related to bis(diphenylphosphine)ethane and its chlorogold(I) coordination complex". *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, **26**: 254, 1985.

KAIM, W.; SCHWEDERSKI, B. *Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life*. Portland, John Wiley & Sons, 1994. 414p.

KARIDI, K.; GAROUFIS, A.; TSIPIS, A.; HADJILIADIS, N.; DEN DULK, H. & REEDIJK, J. "Synthesis, characterization, *in vitro* antitumor activity, DNA-binding properties and electronic structure (DFT) of the new complex *cis*-(Cl,Cl)[Ru^{II}Cl₂(NO⁺)(terpy)]Cl". *Dalton Transactions*, **7**: 1176-1187, 2005.

KAPITZA, S.; JAKUPEC, M. A.; UHL, M.; KEPPLER, B. K.; MARIAN, B. "The heterocyclic ruthenium(III) complex KP1019 (FFC14A) causes DNA damage and oxidative stress in colorectal tumor cells" *Cancer Letters*, **226**: 115-121, 2005.

KATZUNG, B. B. *Farmacologia Básica e Clínica*. 9 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1994. 991p.

KEPPLER, B. K.; HARTMANN, M. "New tumor-inhibiting metal complexes. Chemistry and antitumor properties". *Metal-Based Drugs*, **1**: 145-149, 1994.

KLEIN, A. V.; HAMBLEY, T. W. "Platinum drug distribution in cancer cells and tumors". *Chem. Rev.*, **109**: 4911-4920, 2009.

KOSTOVA, I. "Ruthenium complexes as anticancer agents". *Current. Med. Chem.*, **13**: 1085-1107, 2006.

LALA, P. K.; CHAKRABORTY, C. "Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumor progression". *The Lancet Oncology*, **2**(3): 149-156, 2001.

LANG, D. R.; DAVIS, J. A.; LOPES, L. G.; FERRO, A. A.; VASCONCELLOS, L. C.; FRANCO, D. W.; TFOUNI, E.; WIERASZKO, A.; CLARKE, M. J. "Controlled NO-releasing Compound: Synthesis, Molecular Structure, Spectroscopy, Electrochemistry, and Chemical Reactivity of R,R,S,S-*trans*-[RuCl(NO)(cyclam)]²⁺(1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane)". *Inorganic Chemistry*, **39**(11): 2294-2300, 2000.

LAUFER, R. B. "Paramagnetic metal complexes as water proton relaxation agents for NMR imaging: theory and design" *Chem. Reviews* **87**: 901-927, 1987.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L. "Princípios de bioquímica", 3^a ed., São Paulo: Sarvier, 1995, 839p.

LIDE D. R. *Handbook of Chemistry and Physics*. 83^a ed., New York, CRC Press, 2002-2003, 2664 p.

LIPPARD, S. J. "New chemistry of an old molecule: *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂]" *Science*, **218**: 1075-1082, 1982.

LOPES, L. G. F. "Controle da Reatividade do NO no trans-Nitrosiltriethylfosfitotetraminrutênio(II). São Carlos, Programa de Pós-graduação - IQSC -USP, 1997. Tese de doutorado, 95p.

LUNDBERG, J. O.; WEITZBERG, E.; GLADWIN, M. T. "The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics". *Nat. Rev. Drug. Discov.*, **7**: 156–167, 2008.

MCAULIFFE, C. A.; MACKIE, A. G. "P – donor ligands" In: *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*. 2ª Ed., New York, Wiley, 1994, 6696 p.

MALINA, J.; NOVAKOVA, O.; KEPPLER, B. K.; ALESSIO, E.; BRABEC, V. "Biophysical analysis of natural, double-helical DNA modified by anticancerheterocyclic complexes of ruthenium(III) in cell free media". *J. Biol. Inorg. Chem.*, **6**: 435-445, 2001.

MARKMAN, M. "Toxicities of the platinum antineoplastic agents". *Expert Opin. Drug Saf.*, **2**: 597-607, 2003.

MARZANO, C.; PELLEI, M.; ALIDORI, S.; BROSSA, A.; LOBBIA, G. G.; TISATO, F.; SANTINI, C. "New copper(I) phosphane complexes of dihydridobis(3-nitro-1,2,4-triazolyl)borate ligand showing cytotoxic activity". *J. Inorg. Biochem.*, **100**: 299-304, 2006.

MATHIAS, C. J. "Differentiation *in vivo* of the sequential blood cell invasion following ureter obstruction of the rabbit kidney" *Nucl. Med. Biol.* **15**: 25-32, 1989.

MAZUMDER, U. K.; GUPTA, M.; KARKI, S. S.; BHATTACHARYA, S.; RATHINASAMY, S.; THANGAVEL, S. "Synthesis, anticancer and antibacterial activity of some novel mononuclear Ru(II) complexes". *Chem. Pharm. Bull.*, **52**: 178-185, 2004.

McEVOY, G. K. *AHFS Drug Information*, Bethesda, American Society of Health-System Pharmacists, 2000, 3546 p.

MEDICINS SAN FRONTIÈRE: http://www.msf.ch/fileadmin/userupload/uploads/rapports/2006_10_30_tb/TBPipeline.pdf

MELLISH, K. J.; BARNARD, C. F.; MURRER, B. A.; KELLER, L. R. "DNA-binding properties of novel *cis*- and *trans* platinum-based anticancer agents in 2 human ovarian carcinoma cell lines". *Int. J. Cancer*, **62**: 717–723, 1995.

MELINO, G.; BERNASSOLA, F.; CATANI, M. V.; ROSSI, A.; CORAZZARI, M.; SABATINI, S.; VILBOIS, F.; GREEN, D. R. "Nitric oxide inhibits apoptosis via AP-1-dependent CD95L transactivation" *Cancer Research*, **60**: 2377-2383, 2000.

MESTRONI, G.; ALESSIO, E.; SAVA, G.; PACOR, S.; COLUCCIA, M. B.K. *Metal Complexes in Cancer Chemotherapy*. Weinheim, VCH, 1993, 157 p.

MESTRONI, G.; ALESSIO, E.; SAVA, G.; PACOR, S.; COLUCCIA, M.; BOCCARELLI, A. "Water-soluble ruthenium(III)-dimethyl sulfoxide complexes: chemical behaviour and pharmaceutical properties". *Metal-Based Drugs*, **1**: 41-63, 1994.

MIKLAVCIC, D.; SERSA, G.; NOVAKOVIC, S.; REBERSEK, S. "Tumor bioelectric potential and its possible exploitation for tumor growth retardation". *J. Bioelect.*, **9**: 133-149, 1990.

MILJKOVIC, D.; MARKOVIC, M.; BOGDANOVIC, N.; STOJKOVIC, M. M.; TRAJKOVIC, V. "Necrotic tumor cells oppositely affect nitric oxide production in tumor cell lines and macrophages" *Cellular Immunology*, **215**: 72-77, 2002.

MOMEKOV, G.; MOMEKOVA, D. "Recent developments in antitumor platinum coordination compounds" *Expert Opin. Ther. Patents*, **16**(10): 1383-1403, 2006.

MOSMANN, T. "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cyto-toxicity assays". *J. Immun. Meth.*, **65**: 55, 1983.

MURA, P.; CAMALLI, M.; MESSORI, L.; PICCIOLI, F.; ZANELLO, P.; CORSINI, M. "Synthesis, structural characterization, solution chemistry, and preliminary biological studies of the ruthenium(III) complexes [TzH][trans-RuCl₄(Tz)₂] and [TzH][trans-RuCl₄(DMSO)(Tz)] · (DMSO), the thiazole analogues of antitumor ICR and NAMI-A" *Inorganic Chemistry*, **43**: 3863-3870, 2004.

NAKAMOTO, K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*. 5^a ed. Parte B, New York, Wiley-Interscience, 1997, 384 p.

ORME, I.; *et al.* "Search for new drugs for treatment of Tuberculosis". *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45**: 1943, 2001.

OTWINOWSKI, Z.; MINOR W. "HKL Denzo and Scalepack". In *Methods in Enzymology*, v. 276, New York, Academic Press, 1997, 700 p.

PAVAN, F. R.; "Atividade anti-*Mycobacterium tuberculosis* intra e extracelular e citotoxicidade dos complexos de rutênio e vanádio e seus ligantes." Araraquara, Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia-UNESP, 2009. Dissertação de mestrado, 109 p.

PAVAN, F. R.; VON POELHSITZ, G.; DO NASCIMENTO, F. B.; LEITE, S. R. A.; BATISTA, A. A.; DEFLON, V. M.; SATO, D. N.; FRANZBLAU, S. G.; LEITE, C. Q. F. "Ruthenium(II) phosphines/picolinate complexes as antimycobacterial agents". *European Journal of Medicinal Chemistry*. **45**: 598-601, 2010.

PARSHALL, G. W. *Homogeneous Catalysis*. New York, John Wiley & Sons. 1980. 499p.

PERRIN, D. D.; ARMAREGO, W. L. F.; PERRIN, D. R. *Purification of Laboratory Chemicals*, 2^a Ed., New York, Pergamon Press, 1980. 544p.

PICCIOLI, F.; SABATINI, S.; MESSORI, L.; ORIOLI, P.; HARTINGER, C. G.; KEPPLER, B.K. "A comparative study of adduct formation between the anticancer ruthenium(III) compound HInd *trans*-[RuCl₄(Ind)₂] and serum proteins". *Journal of Inorganic Biochemistry*, **98**(6): 1135-1142, 2004.

PIGNOLET, L. H. *Homogeneous Catalysis With Metal Phosphine Complexes*, Plenum Press: New York, 1983. 343p.

PIZARRO, A. M.; SADLER P. J. "Unusual DNA binding modes for metal anticancer complexes". *Biochimie*, **91**: 1198–1211, 2009.

QUEIROZ, S. L.; BATISTA, A. A.; OLIVA, G.; GAMBARDELLA, M. T. P.; SANTOS, R. H. A.; MACFARLANE, K. S.; RETTIG, S. J.; JAMES, B. R. "The reactivity of five-coordinate Ru(II) (1,4-bis(diphenylphosphino)butane) complexes with the N-donor ligands: ammonia, pyridine, 4-substituted pyridines, 2,2'-bipyridine, bis(*o*-pyridyl)amine, 1,10-phenanthroline, 4,7-diphenylphenanthroline and ethylenodiamine". *Inorganica Chimica Acta*, **267**: 209-221, 1998.

RADEMAKER-LAKHAI, J. M.; VAN DEN BONGARD, D.; PLUIM, D., BEIJNEN J. H.; SCHELLENS, J. H. M. "A phase I and pharmacological study with imidazolium-trans-DMSO-imidazole-tetrachlororuthenate, a novel ruthenium anticancer agent". *Clin. Cancer Res.*, **10**: 3717–3727, 2004.

RAYMOND, E.; FAIVRE, S.; CHANEY, S.; WOYNAROWSKI, J.; CVITKOVIC, E. "Cellular and molecular pharmacology of oxaliplatin". *Mol. Cancer Ther.*, **1**: 227-235, 2002.

REISNER, E.; ARION, V. B.; KEPPLER, B. K.; POMBEIRO, A. J. L. "Electron-transfer activated metal-based anticancer drugs." *Inorg. Chim. Acta*, **361**: 1569-1583, 2008.

RICHTER-ADDO, G. B. & LEGZDINS, P. *Metal Nitrosyls*. New York, Oxford University Press, 1992. 383 p.

RILLEMA, D. P.; ALLEN, G.; MEYER, T. J.; CONRAD, D. "Redox Properties of Ruthenium (II) Tris Chelate Complexes Containing the Ligands 2,2'-Bipyrazine, 2,2'-Bipyridine, and 2,2'-Bipyrimidine". *Inorganic Chemistry*, **22**: 1617-1622, 1983.

ROAT-MALONE, R. *Bioinorganic Chemistry: A short course*, New Jersey, John Wiley & Sons, 2002, 368 p.

ROSE, W. C.; CROSSWELL, A. R.; SCHURIG, J. E.; CASAZZA, A. M. "Preclinical antitumor activity of orally administered platinum (IV) complexes". *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **32**:197-203, 1993.

ROSENBERG, B.; VAN CAMP, L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, V. H. "Platinum compounds: A new class of potent antitumour agents [24]". *Nature*, **222**: 385-386, 1969.

ROSENBERG, B. "Cisplatin: Its history and possible mechanism of action". em: *Cisplatin current status and new development*. New York, Academic Press, 1980, 542 p.

SAKURAI, H.; TSUCHIYA, K.; NAKATSUKA, M.; SOFUE, M.; KAWADA, J.; ISHIKAWA, S.; YOSHIDA, H.; KOMAZAWA, K. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **8**: 193-200, 1990.

SANTIAGO, M. O. *Síntese, Caracterização e Estudos Cinéticos da Isomerização de Compostos de Ru(II) Contendo Ligantes (X-bipy) (X= -H, -NO₂, -Me, -COOH, -SMe, -O=SMe, -Cl, -OMe)*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2004. Tese de doutorado, 147p.

SAUAIA, M. G. *Liberção de Óxido Nítrico a partir de Complexos Mono e Binucleares de Rutênio. Aspectos Químicos e Fotoquímicos*. Ribeirão Preto, Programa de Pós-Graduação em Química – FFCLRP-USP, 2005. Tese de doutorado, 170 p.

SAVA, G.; PACOR, S.; MESTRONI, G.; ALESSIO, E. "Na[*trans*-RuCl₄(dmsO)Im], a metal-complex of ruthenium with antimetastatic properties". *Clin. Exp. Metastasis*, **10**: 67-73, 1992a.

SAVA, G.; PACOR, S.; MESTRONI, G.; ALESSIO, E. "Effects of the Ru(III) complexes [*mer*-RuCl₃(dmsO)₂Im] and Na[*trans*-RuCl₄(dmsO)Im] on solid mouse-tumors". *Anti-Cancer Drugs*, **3**: 25-31, 1992b.

SAVA, G.; PACOR, S.; COLUCCIA, M.; MARIGGIO, M.; COCCHIETTO, M.; ALESSIO, E.; MESTRONI, G. "Response of MCa mammary-carcinoma to cisplatin and to Na[*trans*-RuCl₄(dmsO)Im] - selective-inhibition of spontaneous lung metastasis by the ruthenium complex". *Drug Invest.*, **8**: 150-161, 1994.

SAVA, G.; PACOR, S.; BERGAMO, A.; COCCHIETTO, M.; MESTRONI, G.; ALESSIO, E. "Effects of ruthenium complexes on experimental-tumors - irrelevance of cytotoxicity for metastasis inhibition". *Chem. Biol. Interact.*, **95**: 109-126, 1995.

SAVA, G.; GAGLIARDI, R.; COCCHIETTO, M.; CLERICI, K.; CAPOZZI, I.; MARRELLA, M.; ALESSIO, E.; MESTRONI, G.; MILANINO, R. "Comparison of the effects of the antimetastatic compound ImH[*trans*-RuCl₄(dmsO)Im] (NAMI-A) on the arthritic rat and on MCa mammary carcinoma in mice". *Pathol. Oncol. Res.*, **4**: 30-36, 1998.

SAVA, G.; CLERICI, K.; CAPOZZI, I.; COCCHIETTO, M.; GAGLIARDI, R.; ALESSIO, E.; MESTRONI, G.; PERBELLINI, A. "Reduction of lung metastasis by ImH[*trans*-RuCl₄(DMSO)Im]: mechanism of the selective action investigated on mouse tumors". *Anti-Cancer Drugs.*, **10**(1): 129-138, 1999a.

SAVA, G.; ALESSIO, E.; BERGAMO, E.; MESTRONI, G. "Sulfoxide ruthenium complexes: non-toxic tools for the selective treatment of solid tumor metastases". *Top. Biol. Inorg. Chem.*, **1**: 143-169, 1999b.

SAVA, G.; BERGAMO, A. "Ruthenium-based compounds and tumour growth control (Review)". *International Journal of Oncology.*, **17**(2): 353-365, 2000.

SCHÖDER, M.; STEPHENSON, T. A. Ruthenium. Em: WILKINSON, G. (ed.). *Comprehensive Coordination Chemistry. The synthesis, reactions and applications of coordination compounds.* 1.ed. Nova Iorque, Pergamon Press, 1987. v. 4, cap. 45, p. 279-518.

SCOLARO, C.; BERGAMO, A.; BRESCACIN, L.; DELFINO, R.; COCCHIETTO, M.; LAURENCZY, G.; GELDBACH, T. J.; SAVA, G.; DYSON, P. J. "*In vitro* and *in vivo* evaluation of ruthenium(II)-arene PTA complexes". *J. Med. Chem.*, **48**: 4161-4171, 2005.

SEDDON, E. A.; SEDDON, K. R. *The Chemistry of Ruthenium.* New York, Elsevier Publishing Company, 1984, 1373 p.

SERLI, B.; ZANGRANDO, E.; IENGO, E.; MESTRONI, G.; YELLOWLEES, L.; ALESSIO, E. "Synthesis and structural, spectroscopic, and electrochemical characterization of new ruthenium dimethyl sulfoxide nitrosyls." *Inorganic Chemistry*, **41**: 4033-4043, 2002.

SHARMAN, W. M.; ALLEN, C. M.; VAN LIER, J. E. "Photodynamic Therapy: Basic Principles and Clinical Applications". *Drug Discovery Today*, **4**(11): 507-517, 1999.

SHELDRIK, G. M. *Acta Cryst.* **A64**: 112-122, 2008.

SIMON, T. M.; KUNISHIMA, D. H.; VIBERT, G. J.; LORBER, A. "Inhibitory effects of a new oral gold compound on hela cells". *Cancer*, **44**: 1965, 1979.

SMITH, C. A.; SUTHERLANDSMITH, A. J.; KEPPLER, B. K.; KRATZ, F.; BAKER, E. N. "Binding of ruthenium(III) anti-tumor drugs to human lactoferrin probed by high resolution X-ray crystallographic structure analyses" .*Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **1**: 424-431, 1996.

SMITH II, J. W. ; MCINTYRE, K. J.; ACEVEDO, P. V.; ENCARNACION, C. A.; TEDESCO, K. L.; WANG, Y.; ASMAR, L.; O'SHAUGHNESSY, J. A. "Results of a phase II open-label, nonrandomized trial of oral satraplatin in patients with metastatic breast cancer". *Breast Cancer Res. Treat.*, **118**: 361-367, 2009.

STEPHENSON, T. A.; WILKINSON, G. A. "New complexes of ruthenium (II) and (III) with triphenylphosphine, triphenylarsine, trichlorostannate, pyridine and other ligands". *Journal of Inorganic Nuclear Chemistry*, **28**: 945-956, 1996.

STRUCK, R. F.; SHEALEY, Y. F. "Tertiary phosphines and phosphine oxides containing a 2-haloethyl group". *J. Med. Chem.*, **9**: 414-416, 1966.

SULLIVAN, B. P.; SALMON, D. J.; MEYER, T. J. "Mixed phosphine 2,2'-bipyridine complexes of ruthenium". *Inorganic Chemistry*, **17**: 3334-341, 1978.

SUTTON, B. M.; MCGUSTY, E.; WALZ, D. T.; DIMARTINO, M. J. "Oral gold. Antiarthritic properties of alkylphosphinegold coordination complexes." *Journal of Medicinal Chemistry*, **15**(11): 1095-1098, 1972.

TAKAHARA, P. M.; ROSENZWEIG, A. C.; FREDERICK, C. A.; LIPPARD ,S. J. "Crystal structure of double-stranded DNA containing the major adduct of the anticancer drug cisplatin". *Nature*, **377**: 649-652, 1995.

TOLMAN, C. A. "Steric effects of phosphorus ligands in organometallic chemistry and homogeneous catalysis". *Chem. Rev.*, **77**: 313-348, 1977.

VAN RIJT, S. H.; SADLER, P. J. "Current applications and future potential for bioinorganic chemistry in the development of anticancer drugs". *Drug discovery today*, **23/24**: 1089-1097, 2008.

VALLE, E. M. A. "*Cinética da Interação de N-Heterocíclicos com o cis-[RuCl₂(dppb)(bipy)]* (dppb = 1,4-bis(difenilfosfina)butano, bipy = 2,2'-bipiridina)" São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2005. Dissertação de mestrado, 75 p.

VALLE, E. M. A.; DO NASCIMENTO, F. B.; FERREIRA, A. G.; BATISTA, A. A.; MONTEIRO, M. C. R.; MACHADO, S. de P.; ELLENA, J. A.; CASTELLANO, E. E.; de AZEVEDO, E. R. "Sobre uma degenerescência acidental nos deslocamentos químicos de RMN de ³¹P{¹H} em complexos difosfínicos de Rutênio". *Química. Nova*, **31**(4): 807-812, 2008.

VALE, E. M. A.; LIMA, B. A. V.; FERREIRA, A. G.; DO NASCIMENTO, F. B.; DEFLOON, V. M.; B. A. V.; DIÓGENES, I. C. N.; ABRAM, U.; ELLENA, J.; CASTELLANO, E. E.; BATISTA, A. A. "Driving forces in substitution reactions of octahedral complexes: the influence of the competitive effect". *Polyhedron*, In Press., 2009.

VELDERS, A. H.; KOOIJMAN, H.; SPEK, A. L.; HAASNOOT, J. G.; DE VOS, D.; REEDIJK, J. "Strong differences in the in vitro cytotoxicity of three isomeric dichlorobis(2-phenylazopyridine)ruthenium(II) complexes". *Inorg. Chem.*, **39**: 2966-2967, 2000.

VERKADE, J. G.; QUIN, L.D. "Phosphorus-31 NMR Spectroscopy in Stereochemical Analysis". Florida, VCH Publishers, 1987, 717p.

VON POELHSITZ, G. *Nitrosilo Complexos de Rutênio com Ligantes Bifosfínicos: Espectroscopia, Eletroquímica, Estudo da Reatividade e Liberação de NO*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2005. Tese de doutorado, 284p.

VON POELHSITZ, G.; BOGADO, A. L.; de ARAUJO, M. P.; SELISTRE-DE-ARAÚJO, H. S.; ELLENA, J. A.; CASTELLANO, E. E.; BATISTA, A. A. "Synthesis, characterization, X-ray structure and preliminary *in vitro* antitumor activity of the

nitrosyl complex *fac*-[RuCl₃(NO)(dppf)], dppf=1,1 -bis(diphenylphosphine)ferrocene". *Polyhedron*, **26**(16): 4707, 2007.

WATANABE, H.; NAKAI, M.; KOMAZAWA, K.; SAKURAI, H. "A new orally active insulin-mimetic vanadyl complex: bis(pyrrolidine-N-carbodithioato)-oxovanadium(IV)" *Journal of Medicinal Chemistry*, **37**(7): 876-877, 1994.

WIKE-HOOLEY, J. L.; HAVEMAN, J.; REINHOLD, H. S. "The relevance of tumor pH to the treatment of malignant disease". *Radiother. Oncol.*, **2**: 343-366, 1984.

WHIFFEN, D. H. "Vibrational frequencies and thermodynamic properties of fluoro-, chloro-, bromo-, and iodo-benzene". *Journal of the Chemical Society*, **JUN**: 1350-1356, 1956.

WORLD HEALTH ORGANIZATION: Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing. Geneva: WHO Report, WHO/HTM/TB/2007.376, (2007).

WONG, E.; GIANDOMENICO, C. M. "Current Status of Platinum-Based Antitumor Drugs". *Chemical Reviews*, **99**(9): 2451-2466, 1999.

WOLF, J.; WOLFRAM, S.; GRÜNWARD, W. H.; SCWAB, P.; SCHULZ, M. "Ruthenium trichloride, tricyclohexylphosphane, 1-alkynes, magnesium, hydrogen, and water – ingredients of an efficient one-pot synthesis of ruthenium catalysts for olefin metathesis". *Angewandte Chemie*, **37**: 1124-1126, 1998.

WOSIKOWSKI, K.; LAMPHERE, L.; UNTEREGGER, G.; JUNG, V.; KAPLAN, F.; XU, J. P.; RATTEL, B.; CALIGIURI, M. "Preclinical antitumor activity of the oral platinum analog satraplatin". *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **60**: 589-600, 2007.

XIAO, S. X.; TROGLER, W. C.; ELLIS, D. E.; BERKOVITCH-YELLIN, Z. "Nature of the frontier orbitals in phosphine, trimethylphosphine, and trifluorophosphine". *Journal of the American Chemical Society*, **105**: 7033-7037, 1983.

XIE, K. P.; FIDLER, I. J. "Therapy of cancer metastasis by activation of the inducible nitric oxide synthase". *Cancer and Metastasis Reviews*, **17**(1): 55-75, 1998.

YAMAMOTO, A. *Organotransition Metal Chemistry: From Bonding to Catalysis*, New York, Plenum Press, 1986, 1160 p.

YUEN, V. G.; ORVIG, C.; MCNEILL, J. H. "Glucose-lowering effects of a new organic vanadium complex, bis(maltolato)oxovanadium(IV)". *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **71**: 263-269, 1993.

ZICHE, M.; MORBIDELLI, L.; CHOUDHURI, R.; ZHANG, H. T.; DONNINI, S.; GRANGER, H. J.; BICKNELL, R. "Nitric oxide synthase lies downstream from vascular endothelial growth factor-induced but not basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis." *Journal of Clinical Investigation*, **99**: 2625-2634, 1997.