

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

***“Complexos de Ru (II) com ligantes de interesse biológico:
síntese,
caracterização e citotoxicidade”***

Melina Andrea Mondelli Fleitas*

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 CAPES

São Carlos - SP
2011

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

M741cr

Mondelli Fleitas, Melina Andrea.

Complexos de Ru (II) com ligantes de interesse biológico :
síntese, caracterização e citotoxicidade / Melina Andrea
Mondelli Fleitas. -- São Carlos : UFSCar, 2011.
128 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São
Carlos, 2011.

1. Química inorgânica. 2. Complexos de rutênio. 3.
Síntese inorgânica. 4. Citotoxicidade. 5. Química
bioinorgânica. 6. Bioligantes. 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

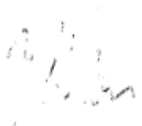
*Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de dissertação de mestrado acadêmico da candidata **Melina Andrea Mondelli Fleitas**, realizada em 04 de fevereiro de 2011:*



Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista



Profa. Dra. María Helvecia Torre Guaytá



Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon

Enquanto estiver vivo, sinta-se vivo.
Se sentir saudades do que fazia, volte a fazê-lo.
Não viva de fotografias amareladas...
Continue, quando todos esperam que desistas.
Não deixe que enferruje o ferro que existe em você.
Faça com que em vez de pena, tenham respeito por você.
Quando não conseguir correr através dos anos, trote.
Quando não conseguir trotar, caminhe.
Quando não conseguir caminhar, use uma bengala.
Mas nunca se detenha.

Agnes Gonxha Bojaxhiu
(Mãre Teresa de Calcutá)

Dedico especialmente este trabalho

Aos meus queridos pais, Hugo Mondelli e Renée Fleitas pelo apoio, incentivo, seus ensinamentos e suas palavras motivadoras... os quero muito!!!

Á Prof. Dra. María H. Torre pelo apoio em todo momento, carinho, ensinamentos e as oportunidades oferecidas...muito obrigada!!!

Á minha irmã Fiorella e seu marido Santiago.

À internet.

AGRADECIMENTOS

Agradeço pela oportunidade e pela infraestrutura oferecida ao Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista.

À Prof. Dra. María H. Torre pelos ensinamentos, apoio, carinho e conselhos.

Aos meus chefes em Uruguai, Profs. Eduardo e Dr. Carlos Kremer pela autorização para vir, e a licença concedida neste tempo em que estive fora.

Aos Prof. Dr. Javier Ellena e Dr. Victor Deflon, da USP-SC pela resolução das estruturas cristalinas.

À Dra. Denise Crispim (UNIFRAN) e à Dra. Heloisa Selistre (UFSCar) pela disponibilização dos seus laboratórios para a realização dos testes biológicos.

À Prof. Rose Maria Carlos pelo seu apoio científico.

Às minhas queridas amigas Edjane Rocha e Marília Barbosa, pelo recebimento, conselhos e apoio. Edjane muito obrigada por ter me mostrado o verdadeiro valor da amizade. Foi um prazer ter te conhecido!!!!

Aos infinitos apoios recebidos de minha querida família começando por meus pais e minha querida irmã e cunhado; os meus amigos em Uruguai Adriana Servetti, Alejandra Zagarzazú, Alicia Mollo, Ana Della Santa, Ana Techera, Andrea Garcia, Carolina Buzó, Eduardo Santi, Gianella Facchin, Jacqueline Soppi-Coppola, Laura Palleiro, Lorena Gonzatto, María Casatroja, Miriam Villella, Mónica Carle, Patricia Sorondo, Rossana Engerman, assim também como aos integrantes de A.E.R.C.U (*“Associazione Emigrati Regione Campania in Uruguay”*), A.N.C.R.I (*“Associazione Nazionale di Combattenti e Riduci Italiani”*) e aos meus colegas de trabalho na Faculdade de Química em Uruguai.

Às secretárias da Pos-Graduação do Departamento de Química da UFSCar, Ariane, Cristina e Luciani, pela sua infinita ajuda.

Aos técnicos do Departamento de Química da Universidade, sempre prestativos e dispostos a ajudar, Ademir, Doraí, Luciana e Paulo.

Aos colegas do laboratório LERCI, pelo seu infinito apoio em todo momento, Andréa Carnizello, Angélica Graminha, Benedito Lima, Claudia

Rodrigues, Eliana Valle, Fábio do Nascimento, Giovanna Trevisan, João Barolli, João Possatto, José Cruz Júnior, Juliana, Leonardo Cantanhede, Lucas Pozzi, Marcio Almeida, Patrick Pires, Rodrigo de Souza.

Aos colegas do laboratório LAFIB.

Aos órgãos de fomento FAPESP e CNPq. À RED CYTED pela oportunidade de ter conhecido professores e alunos de Argentina, Espanha, México, Paraguai, Portugal e Venezuela.

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

LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

2-pyS	Íon 2-mercaptopiridinato
2-pySH	2-mercaptopiridina
4-Mepy	4-metilpiridina
A2780	Câncer ovariano
A375	Melanoma
A498	Câncer de rins
A549	Câncer de pulmão
A.A.A.	Analgésico, antipirético e antiinflamatório
a.C.	Antes de Cristo
A.D.M.E	Absorção, distribuição, metabolização e excreção
A.I.N.E	Antiinflamatório não esteroide
B16F10-Nex2	Melanoma murino
bipy	2,2'-bipiridina
CAS	Chemical Abstracts Subject
cGMP	Guanilato monofosfato cíclico
cNOS	Óxido nítrico sintetase constitutiva
CH1	Câncer de faringe e laringe
d.C.	Depois de Cristo
dmpm	4,6-dimetil-2-mercaptopirimidina ou íon 4,6-dimetil-2-mercaptopirimidinato
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dppb	1,4-bis(difenilfosfina)butano
dppe	1,2-bis(difenilfosfina)etano
dppm	1,1-bis(difenilfosfina)metano
dppp	1,3-bis(difenilfosfina)propano
ϵ	Absortividade molar ($M^{-1}cm^{-1}$)
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
EVSA-T	Câncer de mama
F.N.	Formulário Nacional
FRED	Fator de relaxamento endotélio dependente
GTP	Guanosina trifosfato
H226	Câncer de pulmão
HCT-15	Câncer de colón
HCV29t	Câncer de bexiga
HeLa	Câncer de colo de útero
HL60	Leucemia
IARC/ OMS	Agência Internacional para Pesquisa em Câncer/ Organização Mundial da Saúde
I.C.	Índice de coordenação
IC ₅₀	Concentração da droga requerida para reduzir um 50 % do crescimento celular em relação ao controle

IGROV	Câncer ovariano
I.U.P.A.C.	International Union of Pure and Applied Chemistry
lv	Intravenoso
IV	Infravermelho
Jurkat	Leucemia
Λ	Lambda, comprimento de onda
M19	Melanoma
MCF-7	Câncer de mama
MTD	Dose Máxima Tolerada
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol
NAMI	New Anti-tumor Metastasis Inhibitor
NBu ₄	Cátion tetrabutílamônio
NOSe	Enzima óxido nítrico sintase endotelial
pic	Íon picolínato
picH	Ácido picolínico
³¹ P{ ¹ H}	Fósforo-31 desacoplado de hidrogênio (RMN)
PPh ₃	Trifenilfosfina
PTBA	Perclorato de tetrabutílamônio
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
S.D.	Desviação estandar
sGC	Guanilato ciclase
SiHa	Câncer cervical
SW480	Câncer de colo
TK-10	Carcinoma renal
TMS	Tetrametilsilano
UACC-62	Melanoma
V79	Fibroblastos de pulmão de hamster chinês
WiDr	Câncer de colo

LISTA DE TABELAS

TABELA 01- Medicamentos contendo íons metálicos, usados como fármacos no mundo.....	4
TABELA 02- Alguns regimes para o tratamento de alguns cânceres.....	11
TABELA 03- Drogas à base de platina que receberam aprovação para uso humano em ao menos um país.....	12
TABELA 04- Citotoxicidade de complexos de cobre (II) com indoloquinolina (1a - 4b) ou ligantes “bases de Paullone” em três linhagens de células cancerosas.....	17
TABELA 05- Complexos de cobre (II) que apresentam atividade semelhante à cisplatina, em células de câncer humano.....	18
TABELA 06- Complexos de estanho que apresentam melhor atividade que a cisplatina, em células de câncer humano.....	20
TABELA 07- Atividade citotóxica de tiosemicarbazonas derivadas de 2-piridinoformamida e seus complexos de Ga(III) em células de glioblastoma.....	22
TABELA 08- Atividade citotóxica de alguns complexos de ouro (I).....	23
TABELA 09- Avaliação de complexos de rutênio contendo fosfinas e tiossemicarbazonas como potenciais agentes antitumorais.....	26
TABELA 10- Atividade de complexos bifosfínicos de Au (I), Ag (I) e Cu (I) em ratos portadores de leucemia ip P388, sarcoma de células reticulares ip M5076 e melanoma ip B16 e atividade citotóxica <i>in vitro</i> para células melanoma B16.....	28
TABELA 11- Valores de IC ₅₀ de alguns complexos contra a linhagem celular derivada de tumor humano MDA-MB231 (ensaios em DMSO).....	29
TABELA 12- Valores de IC ₅₀ para nitrosilo complexos de rutênio contra as linhagens Jurkat (leucemia humana), V79 (fibroblastos de pulmão de hamster Chinês) e B16F10-Nex2 (células de melanoma murino) (ZACHI, 2008).....	38
TABELA 13- Valores de IC ₅₀ para nitrosilo complexos de rutênio contra a linhagem MDA-MB231. Complexos dissolvidos em DMSO; tempo de incubação: 48h.....	38
TABELA 14- Ligantes utilizados.....	43
TABELA 15- Frequências (cm ⁻¹) correspondentes às principais bandas e atribuições dos espectros no IV do complexo [RuCl(dmpm) ₂ (NO)].....	61
TABELA 16- Principais valores de distâncias [Å] e ângulos [°] e ν NO (em cm ⁻¹).....	67
TABELA 17- Dados cristalográficos de refinamento da estrutura de	

[RuCl(dmpm) ₂ (NO)].....	70
TABELA 18- Principais distâncias de ligação (Å), presentes no cristal do [RuCl(dmpm) ₂ (NO)].....	71
TABELA 19- Principais ângulos de ligação (°), presentes no cristal do [RuCl(dmpm) ₂ (NO)].....	71
TABELA 20- Dados dos análises elementares dos compostos sintetizados.....	72
TABELA 21- Resultados obtidos do espectro UV-vis para os complexos [Ru(pic) ₂ (dppb)] e [Ru(dmpm) ₂ (dppb)].....	74
TABELA 22- Estiramentos simétricos e assimétricos de alguns complexos sintetizados em nosso laboratório e seu correspondente Δ (cm ⁻¹).....	75
TABELA 23- Frequências (cm ⁻¹) correspondentes às principais bandas e atribuições dos espectros no IV dos complexos [Ru(dppb)(pic) ₂] e [Ru(dppb)(dmpm) ₂].....	76
TABELA 24- Valores de frequências de estiramento de interes, de alguns compostos sintetizados em nosso laboratório.....	77
TABELA 25- Dados de refinamento das estruturas dos complexos (a) [Ru(pic) ₂ (dppb)] e (b) [Ru(dmpm) ₂ (dppb)].....	81
TABELA 26- Principais distâncias de ligação (Å) dos complexos (a) [Ru(pic) ₂ (dppb)] e (b) [Ru(dmpm) ₂ (dppb)].....	82
TABELA 27- Principais ângulos de ligação (°) dos complexos (a) [Ru(pic) ₂ (dppb)] e (b) [Ru(dmpm) ₂ (dppb)].....	82
TABELA 28- Distâncias dos heteroátomos dos ligantes dmpm e pic ao rutênio em outros compostos do rutênio.....	83
TABELA 29- Valores de IC ₅₀ (μM) dos complexos contra a linhagem celular derivada de tumor humano MDA-MB231,U251 e V79.....	84
TABELA 30- Valores de IC ₅₀ dos complexos contra a linhagem celular derivada de tumor humano MDA-MB231 (ensaios em DMSO).....	85

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01.- Estrutura do salvarsan.....	3
FIGURA 02.-Estrutura de alguns fármacos inorgânicos.....	5
FIGURA 03.- Múmia Hatsheput, primeira mulher a desempenhar o posto de faraó..	6
FIGURA 04-.(a)- Tipos de câncer mais incidentes estimados para 2010, exceto pele não melanoma, na população brasileira;(b) tipos de câncer mais incidentes no período 2002-2006 no Uruguai.....	9
FIGURA 05- Estruturas dos fármacos comercializados no mundo à base de platina.....	12
FIGURA 06- Drogas à base de platina que entraram em testes clínicos, mas seus desenvolvimentos não foram continuados por causas ou efeitos não previsíveis na fase I, ou por falta de atividade nas fases II/III de testes clínicos, ou por razões econômicas.....	13
FIGURA 07- Potenciais fármacos a base de platina em testes clínicos (WHEATE <i>et al</i> , 2010).....	14
FIGURA 08- Estruturas dos complexos: (a) análogo ao ácido acetilsalicílico de cobalto, $\text{Co}_2\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_4$ e (b) compostos hexacarbonilos de cobalto.....	16
FIGURA 09- Estrutura dos complexos de cobre (II) citados na TABELA 04.....	17
FIGURA 10 –Estruturas dos compostos de cobre do Tipo 1:[Cu(N-N)(acetilacetato)]NO ₃ e Tipo 2: [Cu(N-N)(glicinato)]NO ₃ (BRAVO-GÓMEZ <i>et al</i> , 2009).....	18
FIGURA 11 –Outras estruturas dos compostos de cobre com atividade antitumoral promissora (RUIZ-AZUARA & BRAVO-GÓMEZ, 2010).....	19
FIGURA 12- Complexos de estanho com promissora atividade antitumoral em algumas linhagens de células cancerosas humanas.....	20
FIGURA 13- Estruturas de complexos de gálio.....	22
FIGURA 14- Compostos de ouro com atividade antitumoral promissora.....	23
FIGURA 15- Estruturas dos compostos: ICR ou [ImH]{ <i>trans</i> -[RuCl ₄ (Im) ₂]} (ICR); KP1019 ou [IndH]{ <i>trans</i> -[RuCl ₄ (Ind) ₂]}, NAMI ou Na{ <i>trans</i> -[RuCl ₄ (Im)(DMSO)]} e NAMI-A ou {[ImH]{ <i>trans</i> -[RuCl ₄ (Im)(DMSO)]}.....	24

FIGURA 16- Estruturas típicas de arenos de Ru (II) e alguns exemplos de ligantes quelantes.....	25
FIGURA 17- Interações de H e estéricas que promovem ligação forte da unidade $\{(\eta^6\text{-areno})\text{Ru}(\text{en})\}^{2+}$ à guanina e ligação fraca com adenina, en = etilenodiamina..	26
FIGURA 18- a: Nucleobases do DNA; b:tautomerismo tiol/tiona da 4.6-dimetil-2-mercaptopirimidina; c: modos de coordenação do ligante.....	30
FIGURA 19- a: Formas moleculares do ác. picolínico em solução ; b: estrutura do ácido picolínico e seu modo de coordenação a metais.....	31
FIGURA 20- Vencedores do Prêmio Nobel em Medicina e Fisiologia em 1998 pelas descobertas com o NO como molécula sinalizadora no sistema cardiovascular.....	33
FIGURA 21- Modos de coordenação do NO a um centro metálico.....	34
FIGURA 22- Esquema da síntese de NO <i>in vivo</i> (IGNARRO, 2000).....	34
FIGURA 23- Ativação do relaxamento da musculatura vascular pela acetilcolina com o NO atuando como molécula mensageira (BUTLER & NICHOLSON, 2003).....	35
FIGURA 24- Estrutura de complexos de rutênio que atuam como capturadores de NO.....	37
FIGURA 25 – Reação de obtenção de monóxido de nitrogênio (NO _(g)).....	43
FIGURA 26- Sistema de geração de monóxido de nitrogênio.....	44
FIGURA 27- Reação de obtenção do $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$	45
FIGURA 28- Reação de obtenção do $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{PPh}_3)]$	46
FIGURA 29- Reação de obtenção do $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2\text{NO}]$	46
FIGURA 30- Reação de obtenção do $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{dppb})]$	47
FIGURA 31- Reação de obtenção do $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$	48
FIGURA 32- Metabolização do XTT em uma solução aquosa de sal de formazan por células viáveis.(GERLIER & THOMASSET, 1986).....	55
FIGURA 33- Espectro eletrônico (UV-vis) do $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$, em CH_2Cl_2	59

FIGURA 34- Espectro de absorção na região do IV de [RuCl(dmpm) ₂ (NO)], em pastilla de KBr.....	60
FIGURA 35- Espectro de RMN ¹ H do complexo [RuCl(dmpm) ₂ (NO)] em CDCl ₃	62
FIGURA 36- Esquema indicando a possível entrada do solvente (CH ₃ CN) no composto [RuCl(dmpm) ₂ (NO)].....	63
FIGURA 37- Voltamograma cíclico do [RuCl(dmpm) ₂ (NO)] em acetonitrila (eletrólito suporte: 0,1 M PTBA vs Ag/AgCl; 100 mVs ⁻¹) e voltametria de pulso diferencial....	64
FIGURA 38- Voltamograma cíclico do [RuCl(dmpm) ₂ (NO)] em acetonitrila (eletrólito suporte: 0,1 M PTBA vs Ag/AgCl; 100 mVs ⁻¹) antes e depois da eletrólise.....	65
FIGURA 39- espectro de absorção na região do infravermelho do [RuCl(dmpm) ₂ (NO)] antes (em vermelho) e depois (em preto) do produto gerado durante a eletrólise, em pastilha de KBr.....	65
FIGURA 40- Voltametria de pulso diferencial do [RuCl(dmpm) ₂ (NO)] em acetonitrila (eletrólito suporte: 0,1 M PTBA vs Ag/AgCl; 100 mVs ⁻¹).....	66
FIGURA 41- Estrutura ORTEP do complexo [RuCl(dmpm) ₂ (NO)]. Elipsóides térmicas com 50 % de probabilidade.....	67
FIGURA 42- Estrutura cristalográfica da cela unitária do cristal de [RuCl(dmpm) ₂ (NO)].....	68
FIGURA 43- Ligações de hidrogênio entre átomos de moléculas vizinhas, na estrutura cristalina do [RuCl(dmpm) ₂ (NO)].....	69
FIGURA 44- Espectros UV-vis do a: [Ru(pic) ₂ (dppb)] e b: [Ru(dmpm) ₂ (dppb)] em CH ₂ Cl ₂ ; caminho óptico 1cm.....	73
FIGURA 45- Espectros IV a: [Ru(pic) ₂ (dppb)] e b: [Ru(dmpm) ₂ (dppb)] em pastilla de KBr.....	75
FIGURA 46- Espectros de RMN de ³¹ P{ ¹ H} dos complexos a: [Ru(pic) ₂ (dppb)] e b: [Ru(dmpm) ₂ (dppb)] em CH ₂ Cl ₂ (capilar de D ₂ O).....	78
Figura 47– Voltamograma cíclico de [Ru(dppb)(pic) ₂] em diclorometano (eletrólito suporte: 0,1 M PTBA vs Ag/AgCl; 100 mVs ⁻¹).....	79
Figura 48 – Voltamograma cíclico de [Ru(dmpm) ₂ (dppb)] em diclorometano (eletrólito suporte: 0,1 M PTBA vs Ag/AgCl; 100 mVs ⁻¹).....	79
FIGURA 49- Estruturas ORTEP dos complexos (a) [Ru(pic) ₂ (dppb)] e	

(b)[Ru(dmpm)₂(dppb)]. Elipsóides térmicas com 50 % de probabilidade.....80

RESUMO

“COMPLEXOS DE RU (II) COM LIGANTES DE INTERESSE BIOLÓGICO: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E CITOTOXICIDADE”

Foram sintetizados e caracterizados três novos complexos de Ru(II), com formulas $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2\text{NO}]$, $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$ e $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{dppb})]$, onde dmpm = 4,6-dimetil-2-mercaptopirimidina, dppb = 1,4-bis(difenilfosfina)butano e pic = íon picolinato. Os dados da caracterização desses compostos são condizentes com as formulações propostas e adicionalmente, foram obtidos cristais dos três complexos e suas estruturas cristalinas foram determinadas por difração de raios X e demonstraram que se tratam de estruturas octaédricas distorcidas. Para o complexo $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2\text{NO}]$ o seu espectro de RMN ^1H mostrou dois singletos em 7,3 e 6,7 ppm atribuídos ao hidrogênio do anel aromático e dois singletos em 2,5 e 2,3 ppm atribuídos ao hidrogênio alifático. Essas diferenças nos singletos em campos mais altos podem ser explicadas avaliando-se as ligações de hidrogênio na estrutura cristalina do composto, que ocorre entre moléculas vizinhas, o que justifica os diferentes sinais observados no RMN de ^1H . O espectro de absorção na região do IV do composto mostrou a presença do grupo NO^+ , com absorção em 1857 cm^{-1} . O voltamograma cíclico deste composto mostrou os processos característicos dos nitrosilos complexos e uma eletrólise do mesmo foi feita para mostrar a liberação do NO, que foi comprovada pelo desaparecimento do pico do NO^+ , característico no espectro de absorção na região do IV.

Os complexos $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$ e $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{dppb})]$ mostraram singletos no RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ em 47,5 e 46,2 ppm, respectivamente, e os voltamogramas cíclicos mostraram processos quasi-reversíveis, atribuídos a Ru^{III}/Ru^{II}.

Foram avaliadas as citotoxicidades dos três compostos (células HeLa, MDA-MB231, V79 e U251), obtendo-se valores promissores para $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{dppb})]$ e $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2\text{NO}]$, quando comparados com o cisplatina (o fármaco de referência). Contudo, para o $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$ não foi obtido um valor de IC_{50} promissor.

ABSTRACT

“RU (II) COMPLEXES WITH LIGANDS OF BIOLOGIC INTEREST: SYNTHESSES, CHARACTERIZATION AND CITOTOXICITY”

Three new Ru(II) complexes were synthesized and characterized. The formulas were $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2\text{NO}]$, $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$ and $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{dppb})]$, where dmpm = 4,6-dimethyl-2-mercaptopyrimidine, dppb = 1,4-bis(diphenylphosphine)butane and pic = picolate ion. The characterization data are in agreement with the proposed formulation and also crystals were obtained and solved by X-ray diffraction. The resolution of the crystal structures confirmed the proposed structures, and demonstrated that they present distorted octahedral configuration. For $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2\text{NO}]$, ^1H RMN showed two singlets, at 7,3 and 6,7 ppm assigned to the hydrogen of the aromatic ring, and two singlets at 2,5 and 2,3 ppm assigned to aliphatic hydrogen. These differences could be explained by evaluating how the intermolecular hydrogen bonds are affecting the aliphatic hydrogen atoms present in the molecule and in the nearest neighborhood these differences could be explained evaluating the hydrogen bonds between neighbouring molecules. The infrared spectrum showed a very intense band in 1857 cm^{-1} assigned to NO^+ group. The cyclic voltammogram of this compound showed processes assigned to the nitrosyl group, and electrolysis was performed to promote the NO release from the compound, which was confirmed by the disappearance of the NO^+ band in the infrared spectrum of the complex.

The complexes $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$ and $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{dppb})]$ showed singlets in $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ RMN at 47,5 and 46,2 ppm, respectively, and the cyclic voltammetry showed one process attributed to $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$.

The cytotoxicity was evaluated for these three complexes (cells HeLa, MDA-MB231, V79 and U251 cells), obtaining promising values for $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{dppb})]$ and $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2\text{NO}]$ when compared with cisplatin (reference drug). Although, for $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$, the value of IC_{50} wasn't as good as was found for the previous ones.

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	1
1.1 Câncer	5
1.1.1 Histórico	5
1.1.1.1 Histórico: Antiguidade	5
1.1.1.2 Histórico: Idade Média, Renascimento e Moderna	6
1.1.2.- Dados estatísticos	8
1.1.3 Origens e causas	9
1.1.4 Tratamento do câncer	10
1.1.5 Quimioterapia em câncer	11
1.1.5.1 Outros metalocomplexos promissores.	14
1.1.5.1.1. Cobalto	15
1.1.5.1.2 Cobre	16
1.1.5.1.3 Estanho	19
1.1.5.1.4 Ferro	20
1.1.5.1.6 Gálio	21
1.1.5.1.7 Ouro	22
1.1.5.1.8 Rutênio	23
1.1.5.1.8 Vanádio	27
1.2 Arquitetura dos compostos	27
1.2.1 Rutênio (Ru)	27
1.2.2 Fosfinas: 1,4(difenilfosfina)butano (dppb)	27
1.2.3 4,6-dimetil-2-mercaptopyrimidina (dmpm).	30
1.2.4 Ácido picolínico (pic)	31
1.2.5 Monóxido de nitrogênio (NO)	32
2. OBJETIVOS	39
3. PARTE EXPERIMENTAL	41
3.1 Atmosfera inerte, solventes, reagentes, ligantes e óxido nítrico	42
3.1.1 Obtenção da atmosfera de Argônio	42
3.1.2 Solventes	42
3.1.3 Reagentes e produtos químicos em geral	42
3.1.4 Ligantes	43

3.1.5	Monóxido de nitrogênio (NO)	43
3.2	Síntese dos complexos precursores.	44
3.2.1	Tricloronitrosilrutênio(II) - [RuCl ₃ NO•2H ₂ O]	44
3.2.2	Síntese dos precursores fosfínicos de rutênio	45
3.2.2.1	[RuCl ₂ (PPh ₃) ₃]	45
3.2.2.2	[RuCl ₂ (dppb)(PPh ₃)]	45
3.3	Síntese dos novos complexos	46
3.3.1	[RuCl(dmpm) ₂ NO]	46
3.3.2	[Ru(pic) ₂ (dppb)]	47
3.3.3	[Ru(dmpm) ₂ (dppb)]	47
3.4	Instrumentação	48
3.4.1	Análise Elementar	48
3.4.2	Medidas de Condutividade	48
3.4.3	Espectroscopia de Absorção na Região do UV-vis	49
3.4.4	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	49
3.4.5	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹ H e ³¹ P{ ¹ H}	49
3.4.6	Medidas Eletroquímicas (Voltametria Cíclica e Voltametria de Pulso Diferencial)	50
3.4.7	Difração de Raios X	50
3.4.8	Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i>	50
3.4.8.1	Linhagem MDA-MB231	51
3.4.8.1.1	Linhagem de células, condições de cultura e incubação com as metalodrogas	51
3.4.8.1.2	Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> (MDA-MB231)	52
3.4.8.1.3	Preparação dos compostos para os ensaios	53
3.4.8.2	Linhagens V79 e U251	53
3.4.8.2.1	Linhagem de células, condições de cultura e incubação com as metalodrogas	54
3.4.8.2.2	Ensaio de citotoxicidade <i>in vitro</i> (V79 e U251)	55
3.4.8.2.3	Preparação dos compostos para os ensaios	56
	4.RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
4.1	Caracterização do [RuCl(dmpm) ₂ (NO)]	58
4.1.1	Análise Elementar	58
4.1.2	Medidas de Condutividade Molar	58
4.1.3	Espectroscopia Eletrônica (UV-vis)	58
4.1.4	Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (IV)	59

4.1.5	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	61
4.1.6	Medidas Eletroquímicas (Voltametria Cíclica e Voltametria de Pulso Diferencial)	62
4.1.6.1	Estudos de liberação de NO - Eletrólise	64
4.1.7	Difração de Raios X	66
4.1.8	Ensaio de citotoxicidade	72
4.2	Caracterização dos [Ru(pic) ₂ (dppb)] e [Ru(dmpm) ₂ (dppb)]	72
4.2.1	Análise Elementar	72
4.2.2	Medidas de Condutividade Molar	72
4.2.3	Espectroscopia Eletrônica (UV-vis)	73
4.2.4	Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (IV)	74
4.2.5	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	77
4.2.6	Medidas Eletroquímicas (Voltametria Cíclica e Voltametria de Pulso Diferencial)	78
4.2.7	Difração de Raios X	80
4.2.8	Ensaio de citotoxicidade	84
	5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	87
	6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
	ANEXOS	
	APÊNDICES	

1.INTRODUÇÃO

1.INTRODUÇÃO

O desenvolvimento da química inorgânica medicinal, estimulado pela descoberta acidental das propriedades antibacterianas da cisplatina, em 1964, tem sido favorecido pelo estudo das propriedades estruturais e de reatividade de complexos metálicos (ZHANG & LIPPARD, 2003). O emprego de metais como agentes terapêuticos vem de longa data, pois já no ano 3000 a.C. os egípcios usavam o cobre para esterilizar a água, os árabes e os chineses empregavam o ouro em uma variedade de medicamentos há mais 3500 anos. Em 1500 a.C., no Egito, vários remédios contendo ferro eram usados, e também o zinco era utilizado na cura de feridas e queimaduras (ORVIG & ABRAMS, 1999). Escritos do século X e da Idade Média referem-se à utilização de sais de mercúrio no tratamento de infecções e no tratamento da epidemia de sífilis. Também foi relatado o uso de compostos químicos com atividade antimicrobacteriana, como o nitrato de prata, compostos de boro e sais de boro com atividades bactericidas e sedativas. (BENITE *et al*, 2007). No Renascimento, na Europa, o cloreto de mercúrio era empregado como diurético, e a essencialidade nutricional do ferro foi descoberta. Mas só nos últimos 100 anos a atividade medicinal de compostos inorgânicos foi lentamente desenvolvida de um modo racional, começando nos primeiros anos do século passado com o uso de $K[Au(CN)_2]$ no tratamento da tuberculose; vários antimonialis, para o tratamento da leishmaniose, e vários sais de ouro com atividade antibacteriana (ORVIG & ABRAMS, 1999). Foi Paul Ehrlich, fundador da quimioterapia, quem introduziu as primeiras idéias sobre relações estrutura-atividade, especialmente na preparação de complexos de arsênio para o tratamento da sífilis, com o composto salvarsan (FIGURA 01). Por sua atuação científica, Paul Ehrlich recebeu o prêmio Nobel em Medicina e Fisiologia em 1908 (BERALDO, 2005). Outro exemplo de complexo metálico, conhecido desde o século XIX (SZCZEPURA & TAKEUCHI, 1990), que tem ação farmacológica, é o nitroprussiato de sódio ($Na_2[Fe(CN)_5(NO)].2H_2O$), que tem em sua estrutura o ligante ativo NO (STOCHEL *et al*, 1998) e é utilizado como vasodilatador no controle da pressão arterial, especialmente em casos de emergência.

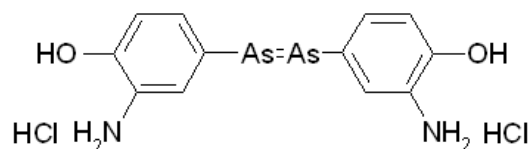


FIGURA 01.- Estrutura do salvarsan.

Em 1924 o chumbo coloidal foi empregado no tratamento do câncer (ALAMA *et al*, 2009); o AsI₃ em 1939 foi usado no tratamento de dermatitis, e compostos de mercúrio, no tratamento da sífilis (benzoato) e como antiséptico tópico (salicilato).

Outros compostos inorgânicos foram utilizados pelas suas aplicações terapêuticas, entre os anos 1900-1960, embora seus usos não tenham sido continuados, devido aos efeitos adversos.

O ano de 1964 marca uma data importante para a química inorgânica, a farmacologia inorgânica e a química inorgânica medicinal. Foi nessa época que o físico americano Barnett Rosenberg, estudando os efeitos do campo elétrico sobre o crescimento de *Escherichia coli*, utilizando eletrodos de platina descobriu que a divisão celular era interrompida, mas não o crescimento das células (HOESCHELE, 2009). O estudo foi aprofundado e descobriu-se que o composto responsável por esse efeito era a cisplatina (*cis*-[PtCl₂(NH₃)₂]). O *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] foi descrito na literatura primeiramente por Reiset, em 1844 e um ano depois por Peyroné, mas foi Alfred Werner, em 1893 que propôs a estrutura desse complexo, sendo que o primeiro era o transplatina e o segundo, a cisplatina (FONTES *et al*, 2005). A determinação unívoca das estruturas desses compostos e os aportes feitos no desenvolvimento da “Teoria de Coordenação” valeram a Werner o Premio Nobel de Química em 1913. Rosenberg, supondo que os compostos poderiam ter ação como antitumorais, testou-os em sarcoma 180 e leucemia L1210, obtendo bons resultados para o isômero cisplatina (WONG & GIANDOMENICO, 1999). Posteriormente, em 1971 a cisplatina entrou em fase I de testes clínicos, e em 1978 foi liberada pela FDA, para uso no tratamento do câncer ovariano e testicular. O impacto desse composto tão grande, pois seu uso na clínica reduziu em cerca de 80 % as mortes por câncer testicular (BERALDO, 2005).

Foi por essa causa que complexos metálicos começaram a despertar maior interesse em possíveis aplicações na medicina e desde então tem-se desenvolvido uma grande quantidade de compostos de coordenação, cujas informações gerais e particulares estão compiladas em diversas fontes de informação.

Na TABELA 01 apresentam-se alguns exemplos de medicamentos contendo íons metálicos usados na atualidade no mundo, e nos ANEXO I e no ANEXO II encontram-se as estruturas de alguns deles.

TABELA 01- Medicamentos contendo íons metálicos, usados como fármacos no mundo.

Nome comercial	Elemento	Fórmula	Atividade farmacológica
Proteinato de prata ^a	Ag (I)	Ag-Albúmina	Antiinfecioso local
Trisenox ^a	As (III)	As ₂ O ₃	Antitumoral
Miocrisina ^b	Au(I)	C ₄ H ₃ AuNa ₂ O ₄ S	Antirreumático
Subnitrato de bismuto ^b	Bi (III)	Bi ₅ O(OH) ₉ (NO ₃) ₄	Antiúlcera
Vitamina B ₁₂ ^a	Co (II)	C ₆₃ H ₈₈ CoN ₁₄ O ₁₄ P	Antianêmico
Nipride ^a	Fe (II)	Na ₂ [Fe(CN) ₅ (NO)]	Vasodilatador
Dotarem ^a	Gd (III)	GdC ₁₆ H ₂₅ O ₈ N ₄	Imagens cerebrais
Camcolit ^a	Li (I)	Li ₂ CO ₃	Desordens bipolares
Platiran ^c	Pt (II)	<i>cis</i> -[PtCl ₂ (NH ₃) ₂]	Antitumoral
Glucantime ^c	Sb (V)	N-metilglucaminaantimonato	Antiinfecioso
Ceretec ^a	Tc	^{99m} Tc(dl-hm-pao)	Radiofármaco

^a SWEETMAN, 2009; ^b OSOL *et al*, 1980; ^c LÉPORI, 2004

Na FIGURA 02 estão representadas as estruturas de alguns desses compostos inorgânicos, usados em medicina.

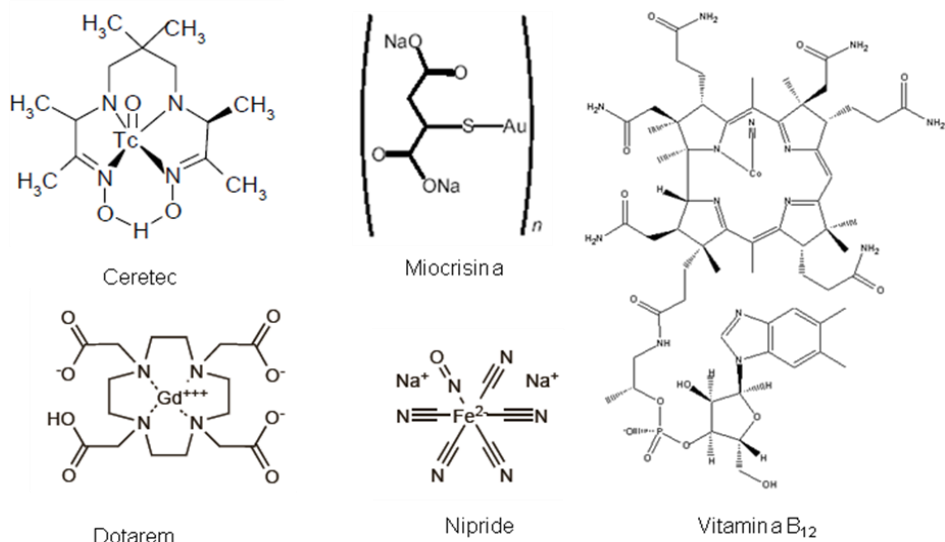


FIGURA 02.-Estrutura de alguns fármacos inorgânicos.

1.1 Câncer

O câncer deve ser uma doença tão antiga quanto o ser humano e há registros de sua existência desde a Pré-História. Tem-se encontrado evidências de câncer em múmias do antigo Egito, em tábuas achadas em Nínive (capital do Império Assírio), em monumentos funerários etruscos e em múmias peruanas. É uma doença que não tem foco geográfico, nem condição social.

1.1.1 Histórico

1.1.1.1 Histórico: Antiguidade

Acharam-se evidências de distintos tipos de câncer em múmias egípcias: mama, osso, bexiga e fígado. Na rainha Hatsheput (FIGURA 03) primeira mulher a desempenhar o cargo de faraó, que viveu no século XV a.C. e governou durante 22 anos, foi detectado em 2007, por análise do DNA de um dente molar, a existência de um câncer ósseo, de origem metastático. Em papiros datados de 1600 a.C. já se encontraram descrições com respeito a esta doença, assim como a terapêutica empregada: tratamentos cirúrgicos, mágicos, mecânicos e farmacológicos.



FIGURA 03.- Múmia Hatsheput, primeira mulher a desempenhar o posto de faraó.

No século V a.C. acreditava-se que quatro elementos governavam o universo: água, ar, fogo e terra, e quatro fluidos (humores) governavam a saúde: sangue, fleuma, bile amarela e bile negra. As doenças resultariam do desequilíbrio dos humores e o câncer foi atribuído a um excesso de bile negra. Hipócrates (460-370 a.C.) foi quem descreveu e classificou a doença. O tratamento na época era a cauterização e o uso de pomadas.

Aulus Cornelius Celsius (25 a.C-50 d.C.), médico romano, descreveu fases de evolução da doença e acreditava que os casos mais iniciais poderiam ser tratados com cirurgia, mas não os tardios, enquanto que Galeno (129-200) pensava que a origem da doença era o desequilíbrio da bile negra e recomendava dietas especiais, além de exorcismos.

1.1.1.2 Histórico: Idade Média, Renascimento e Idade Moderna

Durante muito tempo as doenças continuavam sendo explicadas pelo desequilíbrio dos quatro humores corporais, assim como o câncer era tido como produto de um excesso de bile negra. Avicena (980-1037), de Bagdá, observou que o câncer aumenta lentamente e destrói os tecidos vizinhos. Abucalsis (1013-1106), de Córdoba, recomendava a excisão se a doença estivesse no início e localizável, mas se fosse avançada, nada havia que fazer. Avenzoar (1071-1162), de Córdoba descreveu os cânceres do esôfago e do estômago.

Na Europa o tratamento consistia na cirurgia ou cauterização se o tamanho era pequeno, mas também eram empregadas pastas cáusticas contendo arsênico, sangria, dietas especiais, remédios à base de plantas, pó de caranguejo e encantamentos. Mesmo assim, continuava-se acreditando que não havia cura para o câncer.

William Harvey (1578-1657) colocou por terra a teoria humoral das doenças, e abriu-se o caminho para o conhecimento de sua fisiopatologia e seu tratamento. Foi descrito que o câncer começava como uma doença localizada em um órgão e depois se estendia através dos canais linfáticos para o resto do corpo. Os tumores eram tratados com cirurgia.

Outros pesquisadores começaram a estudar as possíveis causas do câncer e acharam alguns fatores ambientais, como uso de rapé e a fuligem.

No século XIX se começaram a coletar dados sobre o câncer na França e na Itália, e inúmeras intervenções cirúrgicas foram feitas, com sucesso, para a extração de tumores gástricos e extração completa de mama, linfonodos axilares e músculos peitorais.

No início do século XX somente eram curáveis os tumores pequenos e localizados que pudessem ser removidos completamente pela cirurgia. Posteriormente, a radioterapia foi usada após a cirurgia para controlar o crescimento de pequenos tumores que não tivessem sido removidos cirurgicamente. Finalmente a quimioterapia foi acrescentada para destruir as poucas células cancerosas remanescentes.

A maior descoberta sobre o assunto câncer foi a vantagem em usar múltiplos agentes quimioterápicos em lugar de drogas isoladas. Algumas neoplasias com crescimento muito rápido (leucemias, linfomas e alguns cânceres pediátricos) respondem muito bem à quimioterapia combinada e podem ser curadas hoje em dia.

Em meados do século XX, James Watson e Francis Crick elucidaram a estrutura química exata do DNA, obtendo em 1962 o Prêmio Nobel de Medicina. Conhecendo a estrutura do DNA, os cientistas puderam compreender como atuam os genes e como podem ser danificados por mutações. Dessa maneira foi possível evidenciar que era o dano ao DNA por agentes químicos, físicos (radiação) e biológicos (como os vírus) que

freqüentemente levavam ao desenvolvimento do câncer. Descobriram que a maioria dos agentes carcinogênicos causava dano genético (mutações), e estas davam origem a grupos de células anormais (chamados clones). Com o tempo os clones mutantes evoluíam para clones malignos e, com mais danos genéticos e mutações. Assim, o câncer progredia.

Os pesquisadores já identificaram e continuam identificando quais são os genes que, ao serem danificados, podem levar ao câncer, o que é a base para a prevenção, diagnóstico e tratamentos mais específicos e mais eficazes (ALVES & TUBINO, 2009).

1.1.2.- Dados estatísticos

Em dados reportados pela Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (IARC/OMS) no ano 2008 (World Cancer Report), o impacto global do câncer mais que dobrou em 30 anos. Espera-se cerca de 12 milhões de casos para 2010, sendo a terceira causa de morte no mundo. Prediz que a metade dos casos novos e dois terços dos óbitos será em países de médio e baixo desenvolvimento.

Em países como o Brasil e o Uruguai é muito preocupante a situação, já que é a segunda causa de morte na população, depois das doenças cardiovasculares.

No Brasil, as estimativas para o ano de 2010, serão válidas também para o ano de 2011 e apontam para a ocorrência de 489.270 casos novos de câncer (236.240 casos novos para o sexo masculino e 253.030 para sexo feminino). Na FIGURA 04a observa-se os tipos de câncer mais incidentes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009). Os mais incidentes, à exceção do câncer de pele, do tipo não melanoma, serão os cânceres de próstata e de pulmão, no sexo masculino, e os cânceres de mama e do colo do útero, no sexo feminino, acompanhando o mesmo perfil da magnitude observada para a América Latina. A FIGURA 04b mostra os tipos de cânceres no Uruguai, detectados no período 2002-2006, ilustrando que segue o mesmo perfil que no Brasil (retificando a informação anterior), no que refere aos tipos de cânceres informados, mama, próstata, pulmão, colón e reto, entre outros. (BARRIOS *et al*, 2010).

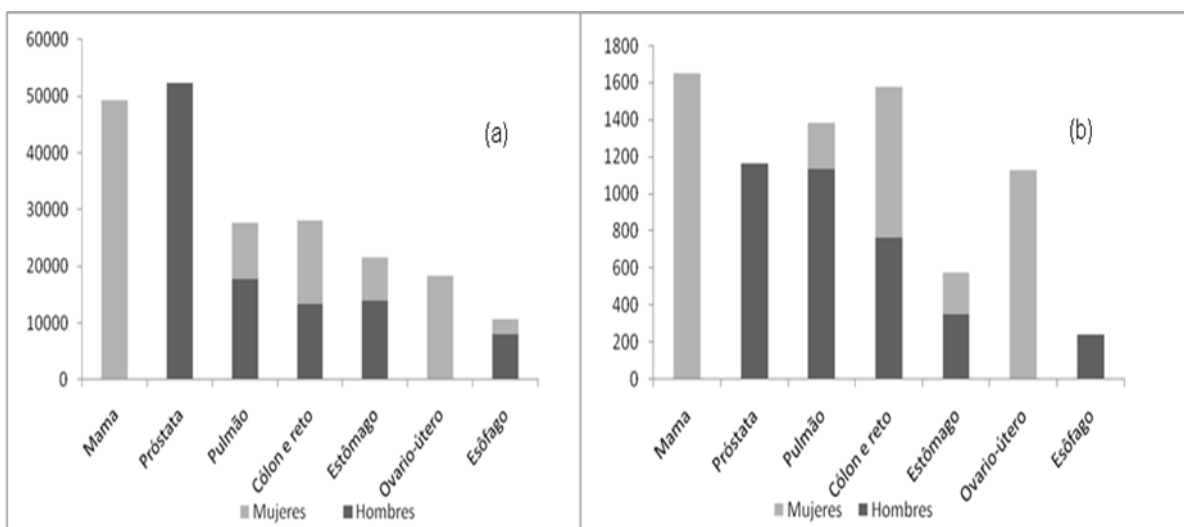


FIGURA 04-.(a)- Tipos de câncer mais incidentes estimados para 2010, exceto pele não melanoma, na população brasileira;(b) tipos de câncer mais incidentes no período 2002-2006 no Uruguai.

1.1.3 Origens e causas

O câncer é originado a partir de uma célula normal, onde ocorre uma mutação genética e não é controlado a tempo. A célula tem mecanismos de reparo, ou seja a célula pode detectar, a tempo, uma falha na informação genética e repará-la, mas às vezes esses mecanismos falham, permitindo que a mutação seja passada para as células das seguintes gerações, e assim por diante. Com o tempo a célula acumula outros defeitos genéticos que não são nem controlados, nem reparados a tempo, gerando células cancerosas. Essas células se diferenciam das normais por serem menos diferenciadas que as normais e possuir uma elevada taxa de replicação, tendo a capacidade de invadir tecidos adjacentes e de ser propagada a outros tecidos através da corrente sanguínea, podendo gerar metástase (ALMEIDA *et al*, 2005).

As causas de câncer são variadas, podendo ser externas ou internas ao organismo, estando inter-relacionadas. As externas referem-se ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios de uma sociedade. As causas internas são, na maioria das vezes, geneticamente pré-determinadas, e estão ligadas à capacidade do organismo de se defender das agressões externas. (INCA, 2010 a).

Cerca de 80% dos casos de câncer estão relacionados ao meio ambiente e os outros 20% a fatores hereditários. Entendendo por meio ambiente, o meio onde o homem se move (onde mora, onde trabalha e o que consome).

1.1.4 Tratamento do câncer

Os tipos principais de tratamento do câncer são mediante cirurgia, radioterapia, quimioterapia ou transplante de medula óssea, ou combinação de várias destas modalidades. Na maioria dos casos é empregada a combinação destas, com alto grau de sucesso, em caso de ser detectado em fases iniciais.

A cirurgia consiste em remover o tumor e pode ser eficaz em caso de não houver metástase. No geral este tratamento é empregado em conjunto com quimioterapia ou radioterapia (onde poderia diminuir o tamanho do tumor, prévio à cirurgia).

A radioterapia é o tratamento no qual se utilizam radiações para destruir um tumor, ou impedir que suas células aumentem. Estas radiações não são vistas, e durante a aplicação o paciente não sente nada. A radioterapia pode ser usada em combinação com a quimioterapia, ou outros recursos, no tratamento dos tumores.

A quimioterapia é o tratamento que utiliza medicamentos para combater o câncer, os quais são aplicados, em sua maioria, na veia, podendo também serem dados por via oral, intramuscular, subcutânea, tópica e intratecal. Os medicamentos se misturam com o sangue e são levados a todas as partes do corpo, destruindo as células doentes que estão formando o tumor e impedindo, também, que elas se espalhem pelo corpo. A desvantagem é que são atacadas tanto células cancerosas quanto normais e geram vários efeitos secundários, como falência renal, náuseas e vômitos, entre outros.

O transplante de medula óssea é o tratamento para algumas doenças malignas que afetam as células do sangue. Ele consiste na substituição de uma medula óssea doente, ou deficitária, por células normais de medula óssea, com o objetivo de reconstituição de uma nova medula. (INCA, 2010 b)

1.1.5 Quimioterapia em câncer

Como já foi mencionado a quimioterapia emprega medicamentos para o tratamento da doença. No “Martindale: The Complete Drug Reference”, nas pp 644-649 encontram-se citados 75 tipos de protocolos mais usuais no tratamento com quimioterápicos, para todos os tipos de cânceres. Os protocolos podem variar um pouco entre instituições, ou como parte de um regime já iniciado. Como exemplos, mostram-se na TABELA 02 alguns desses regimes (SWEETMAN, 2009).

TABELA 02- Alguns regimes para o tratamento de alguns cânceres.

Protocolo	Fármacos, dose e vias de administração	Ciclo	Uso em
EC	Etopósido 100 mg/m ² iv dias 1-3 e carboplatina 450 mg/m ² iv dia 1	28 dias	Câncer de pulmão pequeno
EC	Etopósido 100 mg/m ² iv dias 1-3 e carboplatina 325 mg/m ² iv dia 1	21 dias	Câncer de pulmão não pequeno
ECF	Epirubicina 50 mg/m ² iv dia 1 cisplatina 60 mg/m ² iv dia 1; e fluorouracil 200 mg/m ² continuamente iv, dias 1-4	8 ciclos de 21 dias	Câncer de estômago
EDAP	Etopósido 100-200 mg/m ² continuamente por iv, dias 1-4; dexametasona 40 mg oral ou iv dias 1-5; citrabina 1 g/m ² iv dia 5; e cisplatina 20 mg/m ² continuamente por iv dias 1-4	21-28 dias	Melomas múltiplos e linfomas
EP (PE)	Etopósido 80 mg/m ² iv dias 1-3 e cisplatina 80 mg/m ² iv dia 1	21 dias	Câncer de pulmão (dose padrão)

iv:intravenoso.

Alguns desses protocolos apresentam o uso de fármacos inorgânicos. Atualmente estão sendo comercializados no mercado mundial a cisplatina, a carboplatina e a oxaloplatina, e em alguns países já foi autorizado o uso de outros compostos à base de platina como nedaplatina, lobaplatina e heptaplatina. As estruturas dos fármacos à base de platina estão

representadas na FIGURA 05. Na TABELA 03 mostram-se os fármacos com seus nomes comerciais, onde é comercializado assim como o número de registro do Chemical Abstracts. Também são indicados alguns dos efeitos colaterais ocasionados pelo seu uso (WHEATE *et al*, 2010).

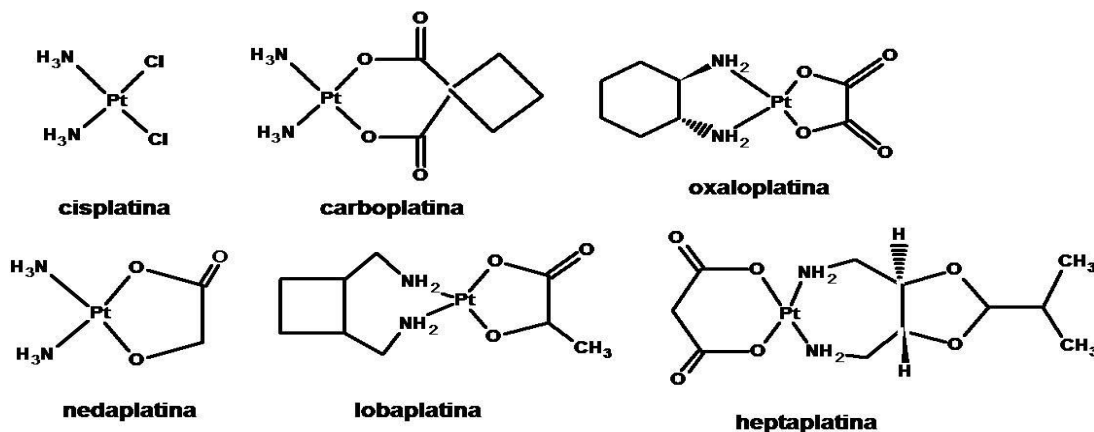


FIGURA 05- Estruturas dos fármacos comercializados no mundo à base de platina.

TABELA 03- Drogas à base de platina que receberam aprovação para uso humano em ao menos um país.

Droga	Nomes comerciais	n° CAS	Efeitos adversos	País	
Cisplatina	Platinol® Platidiam Platosin	Briplatin Platinex® Neoplatin	15663-27-1	Nefrotoxicidade	Mundial
Carboplatina	Paraplatina Carbosin	JM 8 Ribocarbo	41575-94-4	Melosupresão	Mundial
Oxaloplatina	Eloxatin® Dacotin®	Dacplat® Elplat®	61825-94-3	Neurotoxicidade	Mundial
Nedaplatina	Aqupla®	254-S	95734-82-0	Melosupresão	Japão
Lobaplatina			135558-11-1	Trombocitopenia	China
Heptaplatina	Sunpla	SKI2053R	146665-77-2	Nefrotoxicidade /sangramento intraabdominal	Corea

Em 1978 foi liberado ao mercado a cisplatina e somente em 1993 houve a liberação da carboplatina, e em 2002 a liberação da oxaloplatina (liberada em 1996 na França; em 2002 nos Estados Unidos e em 2005 no

Japão), o que indica o grau de dificuldade em chegar à obtenção de fármacos aptos para seu uso como quimioterápicos no tratamento do câncer. Nestes últimos 30 anos, foram feitas muitas pesquisas e um grande número de compostos de coordenação foram testados contra o câncer, mas só foram adicionados aos regimes terapêuticos os já conhecidos, a carboplatina e a oxaloplatina. Além dessas dificuldades, outros fatores como baixa atividade, quando comparada com a cisplatina, ou insuficiência renal imprevisível, ou severa nefrotoxicidade detectadas na fase II de testes clínicos, contribuíram para que os compostos em estudo não chegassem ao mercado consumidor. Na FIGURA 06 mostram-se alguns compostos de platina que não completaram a etapa de testes clínicos (WHEATE *et al*, 2010).

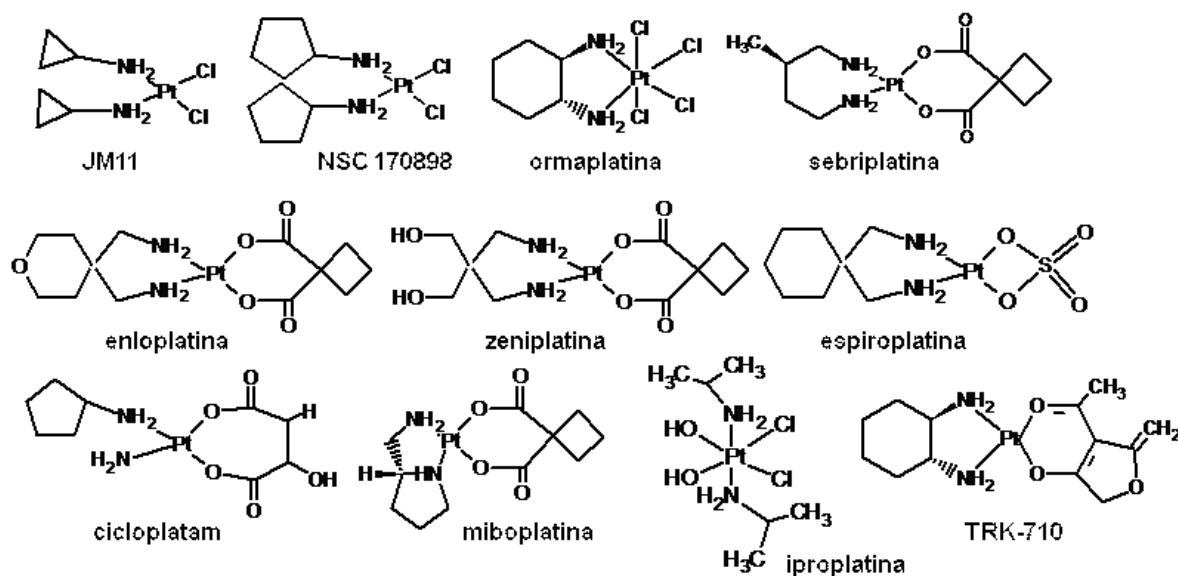


FIGURA 06- Drogas à base de platina que entraram em testes clínicos, mas seus desenvolvimentos não foram continuados por causas ou efeitos não previsíveis na fase I, ou por falta de atividade nas fases II/III de testes clínicos, ou por razões econômicas.

Mais um fator a considerar para esses medicamentos, é que a sua aplicabilidade é ainda limitada, e alguns tumores apresentam resistência natural a eles, enquanto que outros se desenvolvem após o tratamento inicial. Esses compostos são poucos solúveis em água (e isso obriga sua administração por outra via, como a injetável, gerando incômodos ao paciente) e geram efeitos colaterais como náuseas, nefrotoxicidade neurotoxicidade, supressão da medula óssea e ototoxicidade (WHEATE *et al*, 2010). Também,

somando as desvantagens, a carboplatina é ativa nos mesmos tipos de tumores que a cisplatina, e é administrado intravenosamente (WONG & GIANDOMENICO, 1999). Ao mesmo tempo, são inativos frente a algumas linhagens de células cancerosas e em metástase (DYSON & SAVA, 2006).

É por isso que as pesquisas foram direcionadas para a procura de novos metalofármacos contendo platina ou outro metal que possam ser utilizados na clínica, tentando diminuir os efeitos secundários e a resistência ao tratamento.

Para os complexos contendo platina, quatro fármacos se encontram em testes clínicos (satraplatina, picoplatina, ProLindacTM e lipoplatinaTM), sendo que os dois primeiros já estão em fase de serem liberados ao mercado. Os dois primeiros demonstraram eficácia na fase III de testes e estes também podem ser administrados oralmente, o que é muito vantajoso no tratamento, já que o paciente pode ser tratado fora do meio hospitalar. Os dois últimos podem se converter nos primeiros fármacos liposomais/poliméricos à base de platina. Na FIGURA 07 mostram-se as estruturas dos potenciais fármacos picoplatina, ProLindac e satraplatina, sendo que a lipoplatina é uma forma de cisplatina encapsulada liposomicamente (WHEATE *et al*, 2010).

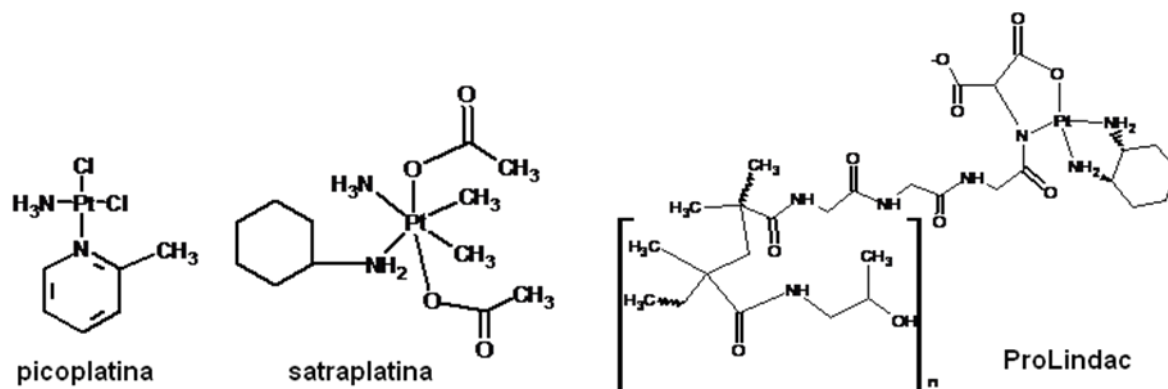


FIGURA 07- Potenciais fármacos a base de platina em testes clínicos (WHEATE *et al*, 2010).

1.1.5.1 Outros metalocomplexos promissores

Outros compostos contendo metais estão sendo desenvolvidos como possíveis antitumorais. A escolha destes compostos foi determinada

levando em consideração os seguintes aspectos: diminuição tanto da toxicidade quanto dos efeitos colaterais; aumento do número de sítios de coordenação, a diferença da Pt (II) que só apresenta quatro sítios de coordenação, existem outros metais em diversos estados de oxidação que possuem quatro, cinco ou seis sítios de coordenação; que sejam seletivos, atacando preferencialmente às células cancerosas e não as saudáveis; e/ou específicos, alcançando o órgão ou o tecido específico onde está sendo desenvolvida a doença.

1.1.5.1.1. Cobalto

Alguns compostos hexacarbonilos de cobalto demonstraram atividade promissora contra várias linhagens de células cancerosas. Por exemplo, o composto análogo ao ácido acetilsalicílico, contendo cobalto, tem se mostrado muito ativo em células de câncer de mama (MCF-7 e MDA-MB231), mostrando um IC₅₀ (µM) de 4,9 e 1,9 respectivamente, sendo que o IC₅₀ (µM) para a cisplatina foi de 2,0 e 4,0 (OTT *et al*, 2005). A sua toxicidade foi atribuída à habilidade de inibir a ciclooxigenase I e II. Esse resultado é promissor, já que a inibição dessas enzimas retarda o crescimento do tumor e melhora a resposta aos regimes convencionais do tratamento do câncer. Na FIGURA 08 estão apresentadas as estruturas do Co₂C₁₂H₁₁O₄ (VAN RIJT & SADLER, 2009) e dos compostos hexacarbonilos de cobalto (OTT *et al*, 2005).

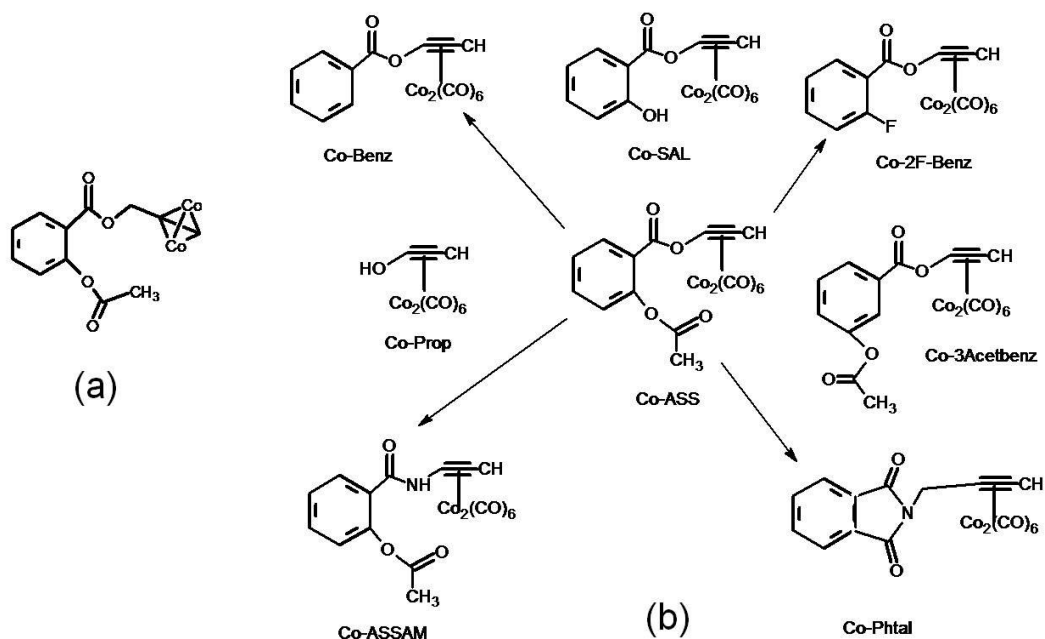


FIGURA 08- Estruturas dos complexos: (a) análogo ao ácido acetilsalicílico de cobalto, $\text{Co}_2\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_4$ e (b) compostos hexacarbonilos de cobalto.

1.1.5.1.2 Cobre

A potencial atividade antitumoral de complexos de cobre tem sido avaliada recentemente mostrando resultados promissores. A vantagem do cobre com respeito a outros complexos contendo metais de transição é que naturalmente se encontra presente em organismos vivos e desenvolve funções tais como transferência de elétrons, reações de oxigenação, e transporte de oxigênio, entre outras (TISATO *et al*, 2010), e não seria um agente estranho no organismo. Nas TABELAS 04 e 05 são mostrados os IC_{50} (μM) de complexos de cobre e nas FIGURAS 09, 10 e 11 as estruturas representativas de alguns deles. (BRAVO-GÓMEZ *et al*, 2009; PRIMIK *et al*, 2010; RUIZ-AZUARA & BRAVO-GÓMEZ, 2010).

TABELA 04- Citotoxicidade de complexos de cobre (II) com indoloquinolina (1a - 4b) ou ligantes “bases de Paullone” em três linhagens de células cancerosas.

Composto ^a	IC ₅₀ (μM) ^b		
	A549	SW480	CH1
1a	1,72 ± 0,03	1,3 ± 0,1	0,40 ± 0,07
1b	0,18 ± 0,04	0,024 ± 0,001	0,030 ± 0,005
2a	1,7 ± 0,1	0,75 ± 0,04	0,33 ± 0,07
2b	0,14 ± 0,01	0,024 ± 0,002	0,026 ± 0,006
3a	1,4 ± 0,3	0,64 ± 0,11	0,41 ± 0,05
3b	0,23 ± 0,01	0,049 ± 0,003	0,065 ± 0,012
4a	1,6 ± 0,1	0,47 ± 0,03	0,36 ± 0,03
4b	0,20 ± 0,03	0,032 ± 0,004	0,052 ± 0,008
5b	0,67 ± 0,15	0,21 ± 0,04	0,064 ± 0,015
6a	1,28 ± 0,03	0,40 ± 0,04	0,28 ± 0,03
6b	0,43 ± 0,03	0,18 ± 0,02	0,080 ± 0,005
cisplatina	n.d	4,5 ± 1,7	n.d
carboplatina	n.d	61 ± 10	n.d
oxaloplatina	n.d	0,30 ± 0,08	n.d

^a As estruturas dos compostos estão na FIGURA XXX. ^b As células foram tratadas por 96 hs. A citotoxicidade foi medida pelo método de MTT. A549: câncer de pulmão; SW480: câncer de colo; CH1: câncer de faringe e laringe . (PRIMIK *et al*, 2010). n.d: não detalhado.

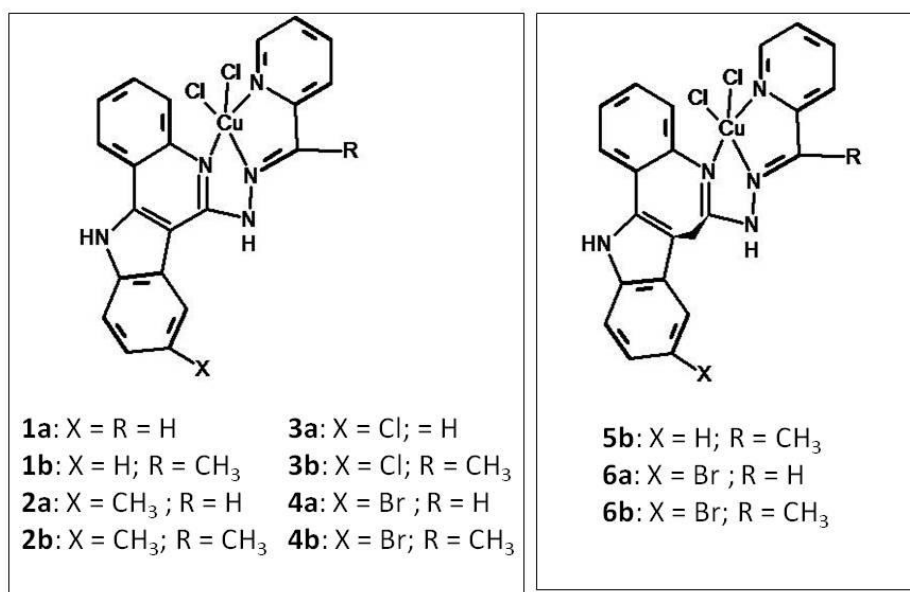


FIGURA 09- Estrutura dos complexos de cobre (II) citados na TABELA 04.

TABELA 05- Complexos de cobre (II) que apresentam atividade semelhante à cisplatina, em células de câncer humano.

Composto ^a	IC ₅₀ (µM) ^b			
	HeLa	SiHa	MCF-7	HCT-15
Tipo 1				
4-Me	1,6 ± 0,1	3,4 ± 0,5	5,6 ± 0,7	6,0 ± 0,9
5-Me	6,2 ± 0,7	3,2 ± 0,2	4,4 ± 0,5	2,6 ± 0,4
4,7-diMe	1,4 ± 0,1	0,96 ± 0,09	4,9 ± 0,6	2,1 ± 0,1
5,6-diMe	3,4 ± 0,5	1,7 ± 0,2	3,9 ± 0,4	1,9 ± 0,3
3,4,7,8-tetraMe	1,9 ± 0,2	1,2 ± 0,1	2,2 ± 0,3	1,4 ± 0,2
5-fenilo	3,9 ± 0,3	3,0 ± 0,3	3,9 ± 0,4	2,5 ± 0,3
4,7-difenilo	4,2 ± 0,6	3,2 ± 0,5	2,2 ± 0,3	3,2 ± 0,4
5-Cl	4,5 ± 0,5	8,8 ± 0,6	9,8 ± 0,5	12,9 ± 0,5
Tipo 2				
5,6-diMe	5,3 ± 0,1	3,1 ± 0,3	4,4 ± 0,3	2,1 ± 0,1
3,4,7,8-tetraMe	1,8 ± 0,0	1,4 ± 0,2	2,6 ± 0,2	1,8 ± 0,4
4,7-difenilo	5,1 ± 0,2	6,6 ± 0,9	4,1 ± 0,4	7,6 ± 0,7
Cisplatina	5,1 ± 0,4	5,4 ± 0,5	5,6 ± 0,8	21,8 ± 2,4

^a As estruturas representam os Tipos 1 e 2 mostrados na FIGURA xxx, substituídas com os grupos indicados nesta TABELA. ^b As células foram tratadas por 24 hs. Linhagens avaliadas: HCT-15: câncer de colo; HeLa: câncer cervical; MCF-7: câncer de mama; SiHa: câncer cervical. Os dados são a media de três experimentos feitos em triplicata (BRAVO-GÓMEZ *et al*, 2009).

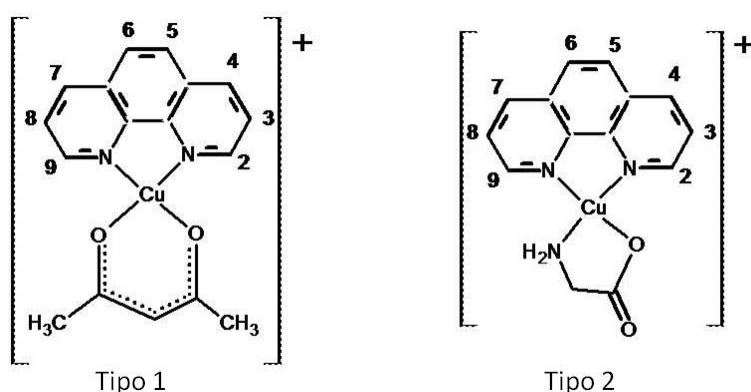


FIGURA 10 –Estruturas dos compostos de cobre do Tipo 1: [Cu(N-N)(acetylacetonato)]NO₃ e Tipo 2: [Cu(N-N)(glicinato)]NO₃ (BRAVO-GÓMEZ *et al*, 2009).

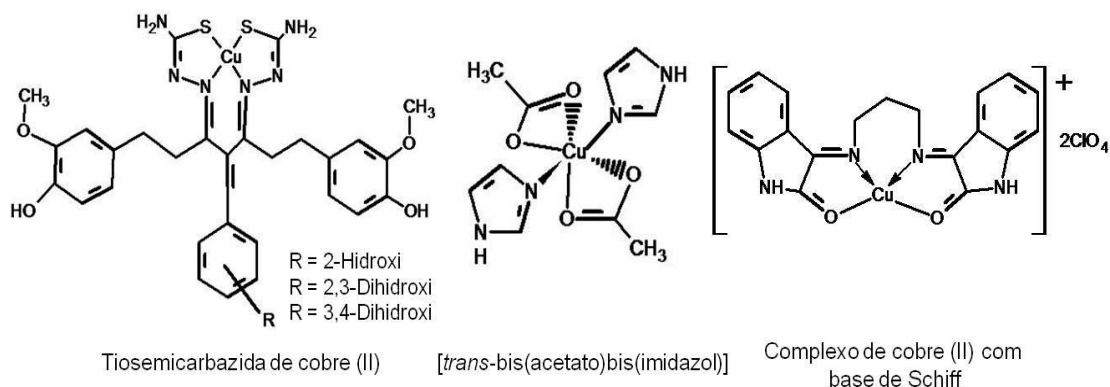


FIGURA 11 –Outras estruturas dos compostos de cobre com atividade antitumoral promissora (RUIZ-AZUARA & BRAVO-GÓMEZ, 2010).

Os valores de IC_{50} detalhados nas TABELAS 04 e 05,encoraja aos investigadores a continuar a linha de pesquisa com complexos de cobre (I ou II) e sua potencial atividade antitumoral.

1.1.5.1.3 Estanho

O conhecimento da atividade citotóxica de compostos de estanho data de 1929, mas os dados são contraditórios. Em 1972 foi mostrado que o composto acetato de trifenilestanho retarda o crescimento de tumores em ratos e a partir de então inúmeros estudos foram feitos com este e com outros compostos (ALAMA *et al*, 2009). Hadjikakou e Hadjiliadis, em recente revisão, mostraram compostos de Sn(IV) que se mostraram mais ativos que a referência (a cisplatina) em diferentes linhagens de células cancerosas humanas. Na TABELA 06 mostram-se esses compostos, e seus IC_{50} , e o da cisplatina, assim como o seu índice de coordenação (I.C.) (HADJIKAKOU & HADJILIADIS, 2009). Na FIGURA 12 encontram-se as estruturas dos compostos da TABELA 06

TABELA 06- Complexos de estanho que apresentam melhor atividade que a cisplatina, em células de câncer humano.

Composto ^a	Linhagem	IC ₅₀ (µg/ml)	I.C ^c	N ^o	Cisplatina IC ₅₀ (µg/ml)
A	HCV29T	0,004	4	4	0,7 ^b
B	A549	0,20-0,020	5	24	3,3 ^b
C	A498	0,03	4	24	2,253
C	EVSA-T	0,007	4	37	0,422
D	H226	0,005	5	27	3,269
C	IGROV	0,006	4	28	0,169
C	M19	0,016	4	17	0,558
D	MCF-7	0,008	5	40	0,699
C	WiDr	0,008	4	40	0,697
E	HeLa	0,005	5	41	0,433
F	Leiomiossarcoma	0,005	5	12	1,2-1,5

^a As estruturas desses compostos estão na FIGURA 09. N^o = n^o de compostos testados nessa linhagem em particular; ^b IC₅₀ em (MATYSIAK & OPOLSKI, 2006); ^c I.C.: índice de coordenação. Linhagens: HCV29T: câncer de bexiga; A549: câncer de pulmão; A498: câncer de rins; EVSA-T: câncer de mama; H226: câncer de pulmão; IGROV: câncer ovariano; M19: melanoma; MCF-7: câncer de mama; WiDr: câncer de colo; HeLa: câncer cervical; Leiomiossarcoma: câncer de útero.

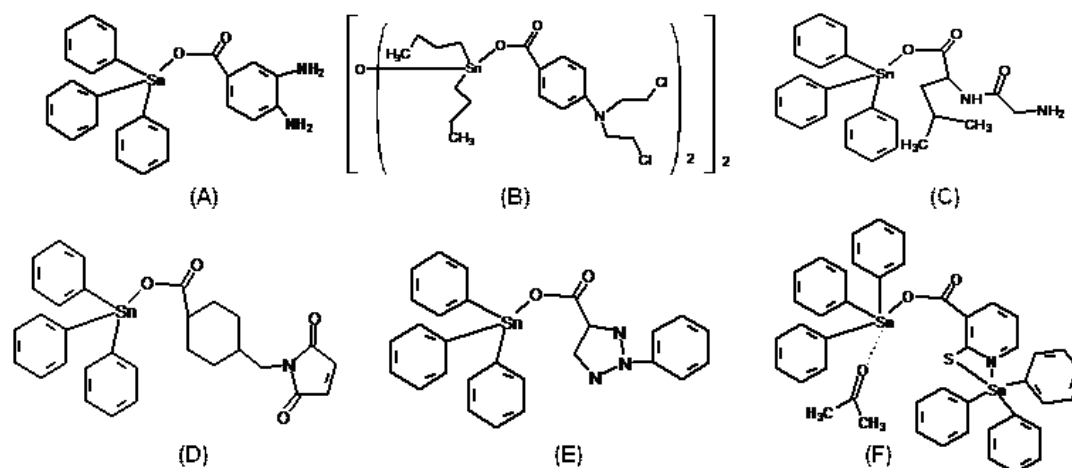


FIGURA 12- Complexos de estanho com promissora atividade antitumoral em algumas linhagens de células cancerosas humanas.

1.1.5.1.4 Ferro

Recentemente, derivados de ferroceno com tamoxifeno tem sido descritos como compostos com atividade antiproliferativa. Outro aspecto a se

destacar é a formação de espécies ativas quando o ferro se liga a agentes quimioterapêuticos, como a bleomicina, para produzir espécies de oxigênio responsáveis pela quebra do DNA. Além disso, a administração com agentes quelantes de ferro, como a desferroxamina em conjunto com cisplatina, etopósido, ou doxorubicina, tem efeitos sinérgicos através da formação de complexos citotóxicos, ou pela captura de ferro na célula cancerosa (ALAMA *et al*, 2009).

1.1.5.1.5 Gálio

As propriedades antitumorais do gálio foram descritas pela primeira vez em 1971, por Hart e colaboradores. O gálio 67 e 68 radiativo, tem-se mostrado promissores no tratamento de câncer ósseo e seus compostos são absorvidos pelas células cancerosas. (COLLERY *et al*, 2002). No momento o 8-quinolinato de gálio (KP46) e o maltolato de gálio estão em testes clínicos (FIGURA 13). Um estudo preliminar feito como o KP46 mostrou atividade em câncer de rins, exibindo estabilização na doença em alguns pacientes por mais de dez meses (ALAMA *et al*, 2009). A vantagem destes compostos é que são administrados por via oral, além de serem menos tóxicos, permitindo um tratamento crônico e maior biodisponibilidade nos tumores, comparado com outras vias de administração e também de importância, os compostos de gálio são sinérgicos com outros fármacos anticancerígenos (COLLERY *et al*, 2002). O nitrato de gálio, mostrou também uma boa ação em pacientes com linfoma, avaliada em 43 %, quando administrado em infusão por via intravenosa contínua (ALAMA *et al*, 2009). Outros compostos de gálio foram sintetizados e testados em glioblastoma (células cancerosas do sistema nervoso), apresentando a maioria dos compostos menor IC₅₀ (µM) com respeito ao padrão, cisplatina. Na TABELA 07 mostram-se os resultados (MENDES *et al*, 2009).

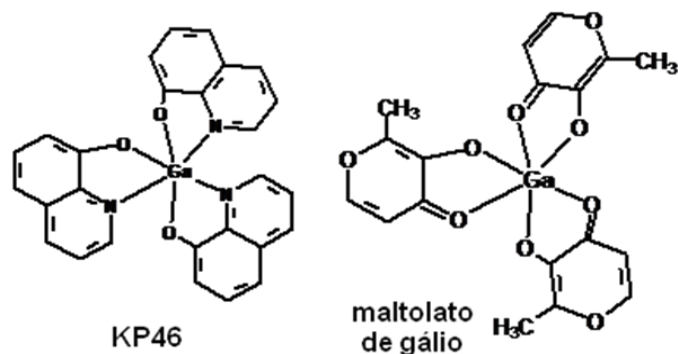


FIGURA 13- Estruturas de complexos de gálio.

TABELA 07- Atividade citotóxica de tiosemicarbazonas derivadas de 2-piridinoformamida e seus complexos de Ga(III) em células de glioblastoma.

Composto	IC ₅₀ (µM)	
	RT2	T98
Cisplatina	17 ± 1	5 ± 3
H2Am4DH	7,28 ± 0,09	3,6 ± 0,3
H2Am4Me	12,2 ± 0,7	32 ± 1
H2Am4Et	359 ± 10	143 ± 41
[Ga(H2Am4DH) ₂] ₂ NO ₃	5,31 ± 0,03	5,7 ± 0,3
[Ga(H2Am4Me) ₂] ₂ NO ₃	0,81 ± 0,03	4,7 ± 0,9
[Ga(H2Am4Et) ₂] ₂ NO ₃	9,6 ± 0,6	4,0 ± 0,6
Ga(NO ₃) ₃	>100	>1000

1.1.5.1.6 Ouro

Alguns compostos de ouro (I) tem uma ampla faixa de atividade antitumoral *in vivo*, especialmente em algumas linhagens de células resistentes à cisplatina. Fosfol complexos contendo ouro (I) (FIGURA 14) apresentaram atividade inibitoria muito potente, em concentrações muito baixas. Outros exemplos são compostos contendo ligantes fosfinas, sendo a auranofina o mais conhecido deles, apesar de ser usado contra a artrite reumatoidea, ele também apresenta boa atividade antitumoral. Na TABELA 08 mostram-se as citotoxicidades de alguns desses compostos, onde pode ser observado que todos os complexos apresentam menor IC₅₀ (µM) que a cisplatina, indicando que são mais ativos.

Compostos de ouro (III), também tem sido investigados, por ser este íon isoeletrônico à platina (II). Porém eles são instáveis e fáceis de serem

reduzidos à ouro (0) no meio biológico. Apesar disso alguns complexos de ouro (III) tem incorporado ligantes para aumentar a estabilidade do centro metálico e tem exibido baixo IC₅₀ em algumas linhagens de células cancerosas. Podemos considerar como ligantes algumas porfirinas, compostos bipyridínicos, ditiocarbamatos, e os ligantes oxo, gerando compostos dinucleares. Na FIGURA 14 mostram-se alguns compostos de ouro (ALAMA *et al*, 2009; VAN RIJT & SADLER, 2009).

TABELA 08- Atividade citotóxica de alguns complexos de ouro (I).

Composto	IC ₅₀ (µM)±S.D.					
	HL60	A549	MCF-7	A375	HCT-15	HeLa
[AuCl(PET ₃)]	0,52±0,13	0,85±0,01	0,84±0,01	0,78±0,31	0,97±0,17	0,90±0,21
[AuBr(PET ₃)]	0,62±0,06	1,21±0,54	1,44±0,41	1,02±1,00	1,08±0,82	0,63±0,32
[Au(CN)(PET ₃)]	0,19±0,07	0,41±0,06	0,45±0,12	0,21±0,23	0,08±0,01	0,09±0,02
[Au(SCN)(PET ₃)]	0,21±0,12	0,71±0,02	0,65±0,11	0,37±0,29	0,32±0,02	0,18±0,01
[Au(dedc)(PET ₃)]	0,96±1,21	1,22±0,96	1,63±0,58	1,47±0,77	0,92±0,01	0,54±0,07
[Au(xant)(PET ₃)]	0,19±0,06	0,33±0,47	0,41±0,21	0,13±0,27	0,61±0,13	0,13±0,61
[Au(tu)(PET ₃)]	2,84±1,29	3,01±1,01	3,28±1,12	2,23±1,03	2,75±1,43	1,84±0,25
Auranofina	0,23±0,11	0,75±0,05	0,98±0,32	0,34±0,21	0,11±0,02	0,15±0,03
Cisplatina	4,56±1,13	29,21±1,92	19,04±1,51	2,37±1,23	20,34±1,31	8,50±1,51

S.D.:desvio padrão. As células foram tratadas por 72 hs.A citotoxicidade foi medida pelo método de MTT. HL60: leucemia; A549: câncer de pulmão; MCF7: câncer de mama; A375: melanoma; HCT-15: câncer de colo; HeLa: câncer cervical (GANDIN *et al*, 2010)

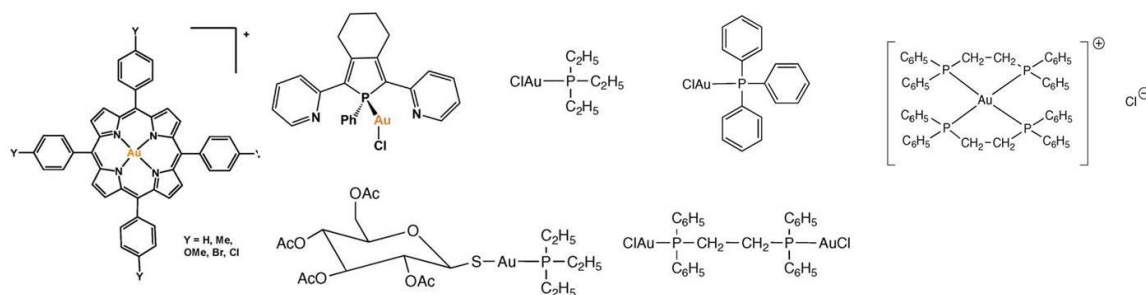


FIGURA 14- Compostos de ouro com atividade antitumoral promissora.

1.1.5.1.7 Rutênio

Complexos de Ru (III) têm sido extensivamente avaliados como potenciais agentes antitumorais (CLARKE *et al*, 1999), onde alguns deles exibem propriedades farmacológicas encorajadoras (CLARKE, 2002). Em 1987, Keppler relatou a síntese e caracterização estrutural do [ImH][*trans*-

$\text{RuCl}_4(\text{Im})_2$ (Im = imidazol), ou ICR, que apresenta interessantes propriedades antitumorais em modelos animais e inspirou a síntese de compostos relacionados, como o $[\text{indH}][\text{trans-RuCl}_4(\text{ind})_2]$ ou KP1019, ind = indazol (KEPPLER, 1993), que já finalizou estudos em testes clínicos fase I, iniciando a fase II (BERGAMO *et al*, 2010). Por outro lado, o grupo do Prof. Enzo Alessio, em Trieste, Itália, tem estudado uma série de compostos de Ru (III) possuindo DMSO como ligante. O composto conhecido por NAMI (acrônimo para New Anti-tumor Metastasis Inhibitor), é ativo contra carcinoma de Lewis de pulmão, melanoma B16 e carcinoma mamário (Mca) e possui um efeito anti-metastático, não apresentado pela cisplatina (BERGAMO *et al*, 2002; SAVA *et al*, 1999; SAVA & BERGAMO, 2000). O NAMI-A é derivado do NAMI, pela substituição do Na^+ por ImH^+ , sendo que foi o primeiro complexo de rutênio a entrar em testes clínicos. Estes complexos apresentam uma baixa toxicidade, não afetando o crescimento de tumores primários e não exibindo citotoxicidade contra células tumorais *in vitro* (BERGAMO *et al*, 2002). NAMI-A é um composto que *in vitro* apresenta efeitos pró-adesivos que completou a fase I (clinical trial) no Instituto de Câncer da Holanda (RADEMAKER-LAKHAI *et al*, 2004) e está em fase II de testes clínicos (BERGAMO *et al*, 2010). É interessante observar que o NAMI-A não exibe citotoxicidade contra células tumorais *in vitro*, mas sim *in vivo*. Na FIGURA 15 mostram-se as estruturas dos complexos previamente mencionados.

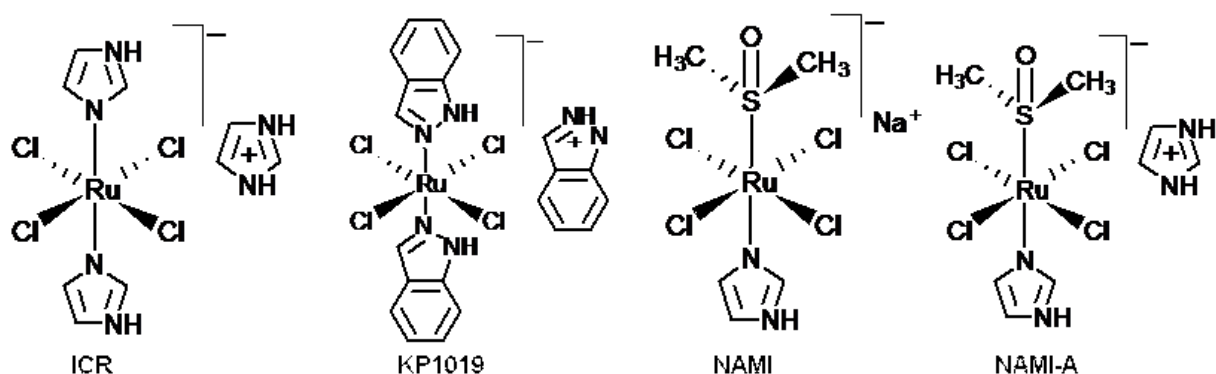


FIGURA 15- Estruturas dos compostos: ICR ou $[\text{ImH}]\{\text{trans-}[\text{RuCl}_4(\text{Im})_2]\}$ (ICR); KP1019 ou $[\text{IndH}]\{\text{trans-}[\text{RuCl}_4(\text{Ind})_2]\}$, NAMI ou $\text{Na}\{\text{trans-}[\text{RuCl}_4(\text{Im})(\text{DMSO})]\}$ e NAMI-A ou $\{[\text{ImH}]\{\text{trans-}[\text{RuCl}_4(\text{Im})(\text{DMSO})]\}\}$.

Também a potencial atividade anticâncer dos arenos de Ru (II) têm sido explorada utilizando-se compostos de fórmula geral $[\eta^6-$

areno)Ru(X)(Y)(Z)], FIGURA 16, (KAI *et al*, 2005). Encontrou-se que se os ligantes Y e Z forem quelantes observa-se aumento da atividade anticâncer, isto devido á maior estabilidade dos complexos formados. Quando X, Y e Z são ligantes monodentados, observou-se que não apresentam atividade citotóxica contra a linhagem celular A2780 (carcinoma de ovário) (KAI *et al*, 2005). As observações experimentais indicaram uma relação estrutura-atividade na qual um ligante areno, mais hidrofóbico, e a presença de apenas um ligante para ser substituído estão associados a altas atividades citotóxicas.

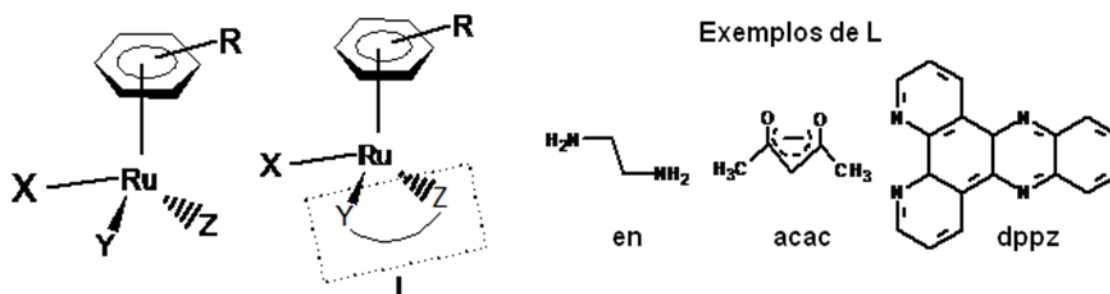


FIGURA 16- Estruturas típicas de arenos de Ru (II) e alguns exemplos de ligantes quelantes.

Nesta mesma linhagem A2780, os complexos citados acima, contendo etilenodiamina, 1-2-diaminobenzeno e acetilacetonato são bastante ativos. Entretanto, quando o ligante quelante é a 2,2'-bipiridina ou o *N,N,N,N*-tetrametiletilenodiamina os complexos apresentaram baixa citotoxicidade (KAI *et al*, 2005). A FIGURA 17 ilustra a ligação forte existente entre a unidade $\{(\eta^6\text{-areno})\text{Ru}(\text{en})\}^{2+}$ com um dos nitrogênios da base guanina e a interação de H dos NH_2 do ligante etilenodiamina com o oxigênio da guanina. O mesmo não ocorre com a base adenina, na qual dois grupos NH_2 se repelem impedindo a aproximação do nitrogênio da base (CHEN *et al*, 2003).

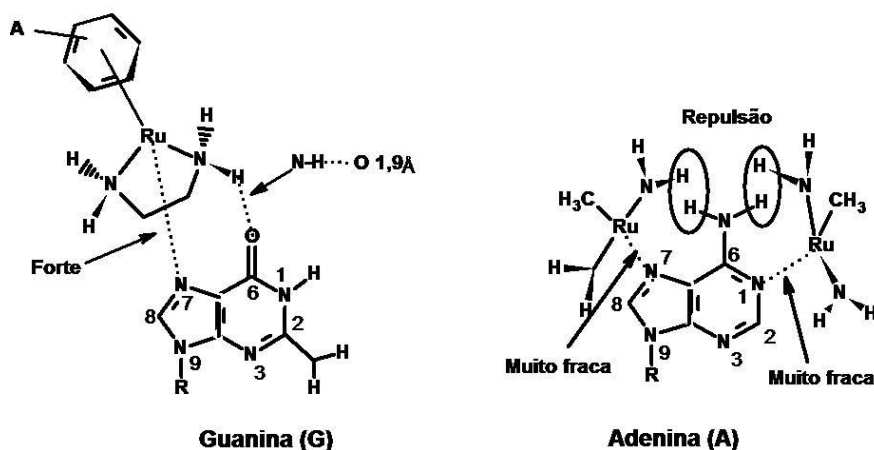


FIGURA 17- Interações de H e estéricas que promovem ligação forte da unidade $\{(\eta^6\text{-areno})\text{Ru}(\text{en})\}^{2+}$ à guanina e ligação fraca com adenina, en = etilenodiamina.

Nosso grupo de pesquisas, particularmente, tem conseguido relevantes resultados em estudos envolvendo complexos de rutênio contendo fosfinas em suas estruturas. Em estudos recentes, foi mostrado que compostos contendo fosfinas e tiossemicarbazonas em suas estruturas são bastante promissores em termos de suas atividades citotóxicas em células tumorais das linhagens UACC-62 (melanoma), TK-10 (carcinoma renal) e MCF-7 (câncer de mama) (GRAMINHA *et al*, 2008a). Como pode ser observado da TABELA 09, o composto $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{H2Bz4M})]\text{Cl}$ não só é mais ativo que a colchicina e o etopósido, fármacos comerciais, como também é seletivo para a linhagem UACC-62 (melanoma), o que é desejável para qualquer fármaco.

TABELA 09- Avaliação de complexos de rutênio contendo fosfinas e tiossemicarbazonas como potenciais agentes antitumorais.

Composto	UACC-62	TK-10	MCF-7
$[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{PPh}_3)]$	185 ± 12	73 ± 0	85 ± 7
$[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$	200 ± 0	143 ± 45	129 ± 50
$[\text{RuCl}(\text{dppb})(2\text{BzDH})]\text{Cl}$	194 ± 4	149 ± 6	110 ± 29
$[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{H2BzDH})]\text{PF}_6$	191 ± 9	143 ± 12	106 ± 26
$[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{H2Bz4M})]\text{Cl}$	183 ± 14	84 ± 21	65 ± 1
$[\text{RuCl}(\text{dppb})(2\text{Bz4M})]\text{PF}_6$	170 ± 33	150 ± 4	108 ± 26
$[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{H2Bz4Ph})]\text{Cl}$	186 ± 16	120 ± 37	90 ± 9
$[\text{RuCl}(\text{dppb})(2\text{Bz4Ph})(\text{PPh}_3)]\text{PF}_6$	195 ± 13	101 ± 6	83 ± 3
Colchicina	141 ± 16	67 ± 1	79 ± 8
Etopósido	135 ± 12	41 ± 32	74 ± 2

Atividade citocida ≥ 100 ; UACC-62: melanoma; TK-10: câncer renal e MCF-7: câncer de mama.

1.1.5.1.8 Vanádio

O primeiro estudo dos possíveis efeitos antitumorais de compostos contendo sais de vanádio data do ano 1965 (KIELER *et al*, 1965). Após essa data foram avaliados compostos contendo vanádio como íon vanadilo (vanádio em estado de oxidação V) ou íon vanadato (vanádio em estado de oxidação IV) em diversas linhagens de células tumorais (EVANGELOU, 2002; KLEIN *et al*, 2008; KOSTOVA, 2005 & RAY *et al*, 2006) mostrando atividade promissora (BISHAYEE *et al*, 2010). Na bibliografia consultada foram encontradas as atividades antitumorais do VOSO_4 (EVANGELOU, 2002), do Na_3VO_4 (KLEIN *et al*, 2008), do NH_4VO_3 (RAY *et al*, 2006); e outros compostos tais como bis(etilmaltolato) de oxovanádio, vanado tartrato de diamônio, vanadiltartrato de amônio (BISHAYEE *et al*, 2010).

1.2 Arquitetura dos compostos

1.2.1 Rutênio

O rutênio é um metal que pode se apresentar em vários estados de oxidação, sendo os mais estáveis II, III e IV, apresentando vantagens tais como: (a) métodos seguros de sínteses de seus compostos e obtenção de produtos estáveis; (b) habilidade em se complexar a diversos ligantes, modificando as velocidades de troca e substituição de ligantes (CLARKE, 2002).

No meio biológico o rutênio pode assumir propriedades semelhantes ao de seu congênere mais leve da Tabela Periódica, o ferro (Fe), sendo então uma das hipóteses para ele atingir o alvo é utilizar os mecanismos de transporte do ferro até a célula (CLAIRE & PAUL, 2008).

1.2.2 Fosfinas: 1,4(difenilfosfina)butano (dppb)

A atividade antitumoral das fosfinas em complexos de coordenação encontra-se descrita na literatura (SIMON *et al*, 1979; QUEIROZ

& BATISTA, 1996). A auranofina é capaz de destruir células cancerosas em diversas culturas (BERNERS-PRICE *et al*, 1986). A atividade antitumoral de um composto análogo, porém sem fosfina, AuSGlu(Ac)₄, diminui 150 vezes, sugerindo que o agente ativo seja a fosfina. Para o composto Et₃PAuSGlu(Ac)₄ o IC₅₀ é 1,5 µM, enquanto que para o sem fosfina é 150 µM. É importante destacar que os ligantes fosfínicos quando livres são também ativos, ainda que em menor extensão (BERNERS-PRICE *et al*, 1987). Outros íons metálicos (Ag, Cu, Ru, Rh, Pt, Pd) contendo fosfinas como ligantes foram avaliados em varias linhagens celulares (TABELA 10, QUEIROZ & BATISTA, 1996). Entretanto, é possível que os complexos como um todo sejam, de fato, as espécies ativas e não propriamente a fosfina, embora isto também possa ser viável e que as fosfinas tenham razoável grau de citotoxicidade.

TABELA 10- Atividade de complexos bifosfínicos de Au (I), Ag (I) e Cu (I) em ratos portadores de leucemia ip P388, sarcoma de células reticulares ip M5076 e melanoma ip B16 e atividade citotóxica *in vitro* para células melanoma B16.

Composto	MTD ^a	P388	M5076		IC ₅₀ ^c (µM)
	mmol/Kg/dia		ILS ^b %	B16	
[Au(dppe) ₂]Cl	3	83±24 ^d	57±15	38±9 ^c	4,5
[Au(dppe) ₂]NO ₃	3	90±17	i	i	4
[Au(dppp) ₂]Cl	3	89±28 ^h	116	34±6 ^h	0,6
[Au(dppey) ₂]Cl	1,5	92±26 ^f	69	35	2
[Au(eppe) ₂]NO ₃	4	54±16 ^g	46	i	5
[Au(depe) ₂]NO ₃	4	40/30	i	i	17
[Ag(dppe) ₂]NO ₃	3	89/90	48	i	4
[Ag(depe) ₂]NO ₃	1	50/40	i	i	4
[Ag(dppey) ₂]NO ₃	5	60/40	i	i	i
[Cu(dppey) ₂]Cl	3	66±20	40	42	i
[Cu(dppp) ₂]Cl	2	89±149	i	32/47	i
[(CuCl ₂)(dppe) ₃]	2	100/115	60	54	3
Cisplatina	6	125	i	i	0,9

^a Dose máxima tolerada em rato; ^b Aumento da vida média de ratos portadores de tumores ip; dados separados por / representam dados gerados em experimentos distintos. Uma droga é considerada ativa se produz > 50 % ILS em leucemia P388 e > 25 % ILS nos outros dois sistemas de tumores; ^c IC₅₀ é a concentração para diminuir um 50 % o numero de colônias formadas após exposição de 2 horas ao composto; ^d baseado em 33 experimentos diferentes; ^e 5 experimentos; ^f 7 experimentos; ^g 4 experimentos; ^h 3 experimentos; i: não foi reportado

Em nosso laboratório temos trabalhando na síntese e caracterização de complexos de rutênio contendo fosfinas, há duas décadas e recentemente começou-se a avaliar a potencial atividade antitumoral desses compostos, obtendo resultados promissores, estimulando nossas pesquisas. A título de exemplo, apresentam-se na TABELA 11 alguns desses complexos, destacando os resultados para o ligante o qual foi estudado neste trabalho, a 1,4-bis(difenilfosfina)butano (dppb).

TABELA 11- Valores de IC₅₀ de alguns complexos contra a linhagem celular derivada de tumor humano MDA-MB231 (ensaios em DMSO).

Complexo	IC₅₀ (μM)
[Ru(dmpm)(Me-bipy)(dppb)]PF ₆	0,43 ⁿ
[Ru(dmpm)(bipy)(dppb)]PF ₆	0,46 ⁿ
[RuCl ₂ (bipy)(dppb)]	31,3 ⁿ
Composto com CO	
cc-[RuCl(CO)(bipy)(dppb)]PF ₆ ^a	1,9 ^o
Cisplatina	63*
Compostos com aminoácidos^p	
[Ru(L-Met)(bipy)(dppb)]PF ₆ ^b	5,0
[Ru(L-Leu)(bipy)(dppb)]PF ₆ ^c	7,1
[Ru(L-Gli)(bipy)(dppb)]PF ₆ ^d	14,5
[Ru(L-Lis)(bipy)(dppb)]PF ₆ ^e	16,2
[Ru(L-Try)(bipy)(dppb)]PF ₆ ^f	21,3
[Ru(L-Ser)(bipy)(dppb)]PF ₆ ^g	24,1
[Ru(L-Val)(bipy)(dppb)]PF ₆ ^h	26,2
[Ru(L-Trp)(bipy)(dppb)]PF ₆ ⁱ	28,2
[Ru(L-Ala)(bipy)(dppb)]PF ₆ ^j	28,5
Compostos com tiossemicarbazonas^q	
[RuCl(2Ac4mT)(dppb)] ^k	5,1 ± 0,1
[RuCl(2Fo4mT)(dppb)] ^l	1,3 ± 0,4
[RuCl(2Bz4mT)(dppb)] ^m	1,3 ± 0,1

^acc indica as posições do "Cl" em relação a "CO" e deste em relação ao "P" da bifosfina; ^bL-Met = L-Metionina; ^cL-Leu = L-Leucina; ^dL-Gli = L-Glicina; ^eL-Lis = L-Lisina; ^fL-Try = L-Tirosina; ^gL-Ser = L-Serina; ^hL-Val = L-Valina; ⁱL-Trp = Triptofano; ^jL-Ala = L-Alanina; ^k2-acetilpiridina-4-*m*-toluil-tiossemicarbazona; ^l2-Formil-4-*m*-toluil-tiossemicarbazona; ^m2-benzoil-4-*m*-toluil-tiossemicarbazona; * Período de incubação de 48 horas; ⁿ LIMA, 2010 ^o BARBOSA, 2008; ^p ALMEIDA, 2009; ^q GRAMINHA *et al*, 2008 b)

1.2.3 4,6-dimetil-2-mercaptopirimidina (dmpm)

Nos últimos anos as mercaptopirimidinas tem sido muito estudadas, devido as suas semelhanças com as nucleobases dos ácidos nucleicos (citosina, timina e uracilo) (FIGURA 18a). Além de possuírem dois átomos doadores, o enxofre (mole) e o nitrogênio (duro), presentes nas suas estruturas, permitindo que esses átomos possam unir-se ao mesmo tempo, tanto aos metais moles, quanto aos duros. Também apresentam duas formas tautoméricas, tiol e tiona (FIGURA 18b) que conferem a este ligante, maior riqueza química. Cabe destacar a grande variedade de seus modos de coordenação ao metal (monodentado neutro, bidentado, ligante ponte, monodentado aniônico, ou ligar ao mesmo tempo a dois centros metálicos) (FIGURA 18c) (RAPER, 1996; RAPER, 1997).

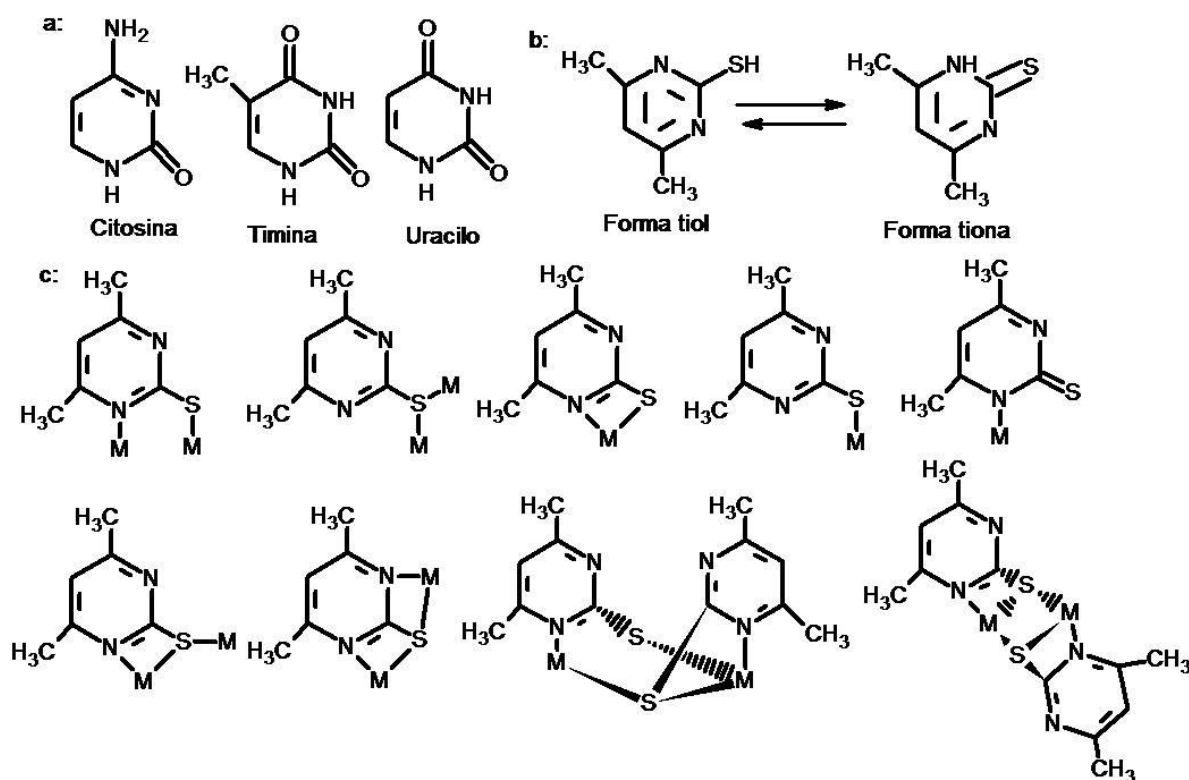


FIGURA 18- a: Nucleobases do DNA; b:tautomerismo tiol/tiona da 4.6-dimetil-2-mercaptopirimidina; c: modos de coordenação do ligante.

As mercaptopirimidinas são substâncias que possuem várias atividades farmacológicas, tais como analgésicas, antiinflamatórias e anticancerígenas, e recentemente alguns compostos mostraram atividades

antiinflamatórias, antiparkinsonianas androgênicas e anabólicas, assim como propriedades analgésicas, antiarrítmicas e antitumorais (PARVEEN *et al*, 2010).

No nosso laboratório temos sintetizado e avaliado as atividades antitumorais de alguns compostos contendo este ligante, obtendo bons resultados preliminares na linhagem MDA-MB231 (câncer de mama). Na TABELA 09 os compostos $[\text{Ru}(\text{dmpm})(\text{Me-bipy})(\text{dppb})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{dmpm})(\text{bipy})(\text{dppb})]\text{PF}_6$ apresentaram um IC_{50} de 0,43 e 0,46 μM respectivamente, e para os compostos $[\text{Ru}(\text{dmpm})(\text{bipy})(\text{P-P})]\text{PF}_6$, onde P-P = dppe, dppp ou dppf, foram obtidos IC_{50} entre 0,14 e 0,20 μM (LIMA, 2010), o que são ótimos resultados comparado com a cisplatina, que tem um IC_{50} de 63 μM

1.2.4 Ácido picolínico (pic)

A molécula do ácido picolínico, dependendo do pH, pode existir em três formas: como cátion picolinium (em meio fortemente ácido), como zwitterion (em meio ácido) ou como ânion picolinato (em meio neutro ou básico)(FIGURA 19a) (MIN *et al*, 1995). O íon picolonato (pic) se liga aos íons metálicos na forma bidentada N,O formando anéis de 5 membros (FIGURA 1.16b) (GHATAK *et al*, 1995).

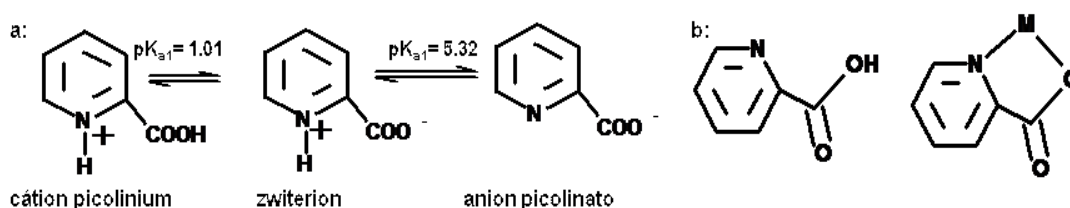


FIGURA 19- a: Formas moleculares do ác. picolínico em solução ; b: estrutura do ácido picolínico e seu modo de coordenação a metais.

O ácido picolínico encontra-se naturalmente no corpo humano, sendo um metabólito intermediário da degradação do triptofano. Tem propriedades antivirais e antibacterianas, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, e foi avaliado primeiramente no tratamento de herpes labiais (HEFFERNAN *et al*,

2007), apresentando funções moduladoras e estimuladoras da resposta dos macrófagos no sistema imunológico. Em concordância com o último tem-se demonstrado que a administração de ácido picolínico a macrófagos infestados com *Mycobacterium avium* reduz seu crescimento e produz completa mycobacteriostasis (PAIS & APPELBERG, 2000). Comercialmente, o trispicolinato de cromo (III) ($[\text{Cr}(\text{pic})_3]$) existe em comprimidos, sendo empregado como suplemento de cromo, e estão sendo investigadas suas propriedades no controle da glicemia em pacientes com diabetes mellitus, sendo que alguns nomes comerciais são Ripped Max na Argentina, Edul K-200 no Chile e Chroma-Pak nos Estados Unidos (SWEETMAN, 2009).

Nosso grupo de pesquisa vem empregando este ligante nas sínteses de alguns complexos de rutênio, que apresentam resultados promissores tanto em linhagens de células cancerosas de MDA-MB231 (câncer de mama), quanto contra *Mycobacterium tuberculosis*. Os compostos *cis*- $[\text{Ru}(\text{pic})(\text{dppm})_2]$ e *cis*- $[\text{Ru}(\text{pic})(\text{dppm})_2]$ apresentaram valores de IC_{50} iguais a $0,50 \mu\text{M}$ em células cancerosas e valores de MIC (Concentração Inibitória Mínima) $0,69$ e $0,22 \mu\text{M}$ em *Mycobacterium tuberculosis* respectivamente (sendo que o MIC para o fármaco padrão, a isoniazida, é de $0,36 \mu\text{M}$) (PAVAN *et al*, 2010).

1.2.5 Monóxido de nitrogênio (NO)

Até os anos 80 os efeitos do NO na natureza e sobre o homem não eram tidos como benéficos. O NO gerado como gás de escapamento dos carros é liberado na atmosfera e transformado em NO_2 , gás de cor marrom, que reagindo com a energia liberada dos raios ultravioletas emitidos pelo sol provoca um “smog fotoquímico”. A sua exposição à poluição causa irritação bronquial, branqueia as folhas das árvores e acelera a corrosão da borracha (BUTLER & NICHOLSON, 2003)

Em 1987, com a publicação da descoberta que o fator de relaxamento endotélio dependente (FRED), presente no corpo humano, era provocado pelo NO (IGNARRO *et al*, 1987; PALMER *et al*, 1987), aumentou o interesse pelo estudo dessa molécula, gerando inúmeros artigos e até uma

publicação seriada nomeada *Nitric Oxide*, publicada desde 1995 pela Elsevier, dedicada integralmente às pesquisas que vem sendo feitas sobre esta substância. Tal foi o interesse que a revista *Science*, no ano 1992 escolheu o NO como a molécula do ano (CULOTTA & KOSHLAND, 1992). No ano posterior foi considerada como a estrela surpreendente da bioquímica pela revista *Chemical and Engineering News* (FELDMAN *et al*, 1993), e no ano 1998 Robert Furchgott, Louis Ignarro e Ferid Murad (ver FIGURA 20) obtiveram o Prêmio Nobel em Medicina e Fisiologia “...pelas descobertas com o NO como molécula sinalizadora no sistema cardiovascular”.

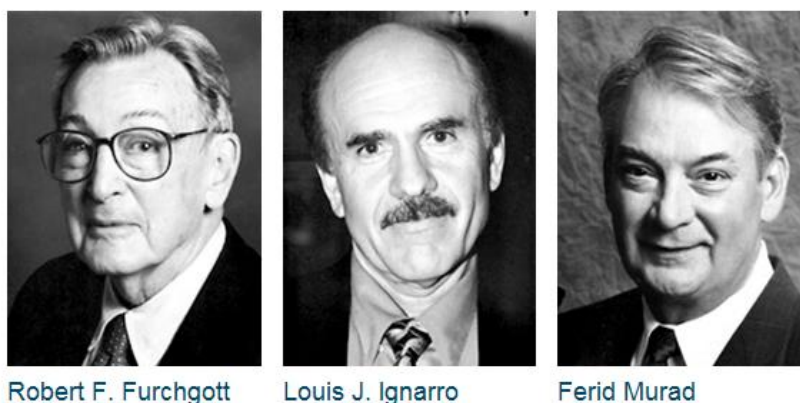


FIGURA 20- Vencedores do Prêmio Nobel em Medicina e Fisiologia em 1998 pelas descobertas com o NO como molécula sinalizadora no sistema cardiovascular.

O óxido nítrico é a menor e a mais simples molécula biologicamente ativa. É a única molécula endógena que cumpre variadas funções no organismo, como neurotransmissor, autacoide, mediador constitutivo e induzível, molécula citoprotetora e molécula citotóxica. O NO tem a ver com diversas atividades realizadas pelo sistema imunológico e em diversos órgãos como cérebro, pâncreas, pulmões, útero e pênis, assim como agente vasodilatador, diminuindo a pressão sanguínea e com processos como a memória e aprendizagem (IGNARRO, 2000).

Do ponto de vista químico, o NO pode se ligar a um centro metálico via nitrogênio formando nitrosilo complexos (M-NO) ou via oxigênio, formando isonitrosilo complexos (M-ON) (RICHTER-ADDO & LEGZDINS, 1992). Na prática a ligação com centros metálicos é dominada pela primeira forma, e a segunda forma é vista como um estado metaestável em alguns

nitrosilos ou ligando-se a centros metálicos mais eletropositivos, como lítio ou sódio. O NO coordenado pode adotar geometria linear ou angular com respeito ao centro metálico, refletindo as diferentes interações da ligação M-NO (FIGURA 21).

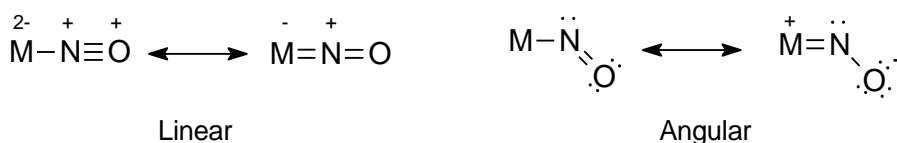


FIGURA 21- Modos de coordenação do NO a um centro metálico.

Quando os comprimentos de ligação são curtos (entre 1,60 e 1,75 Å) e a frequência de estiramento do NO no infravermelho (ν NO entre 1650 e 1985 cm^{-1}) é alta, a forma linear predomina. Uma hibridização *sp* do átomo de nitrogênio é observada e os orbitais π^* disponíveis estão propícios a receber densidade eletrônica do metal. Assim, a forma angular apresenta maiores comprimentos das ligações (entre 1,80 e 1,95 Å) e menores frequências de estiramento no infravermelho (ν NO entre 1525 e 1590 cm^{-1}), sendo o centro metálico rico em elétrons (RICHTER-ADDO & LEGZDINS, 1992).

In vivo, o NO é produzido nas células de maneira contínua. A isoforma da enzima óxido nítrico sintase endotelial (NOS_e) produz o NO oxidando o aminoácido L-arginina para formar L-citrulina (ver FIGURA 22). O NADPH e o O₂ são empregados como co-substratos, envolvendo a transferência de 5 elétrons.

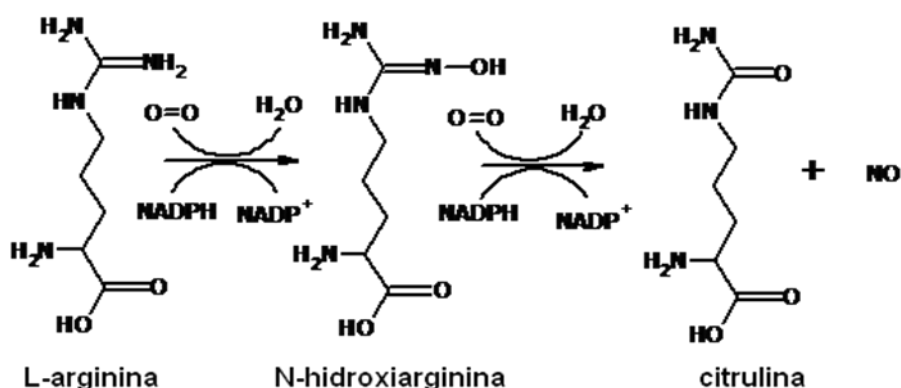


FIGURA 22- Esquema da síntese de NO *in vivo* (IGNARRO, 2000).

Em uma de suas funções, no processo de vasodilatação, mensageiros químicos celulares se ligam a receptores apropriados e específicos na membrana da célula endotelial, provocando a abertura de canais para a entrada do íon Ca^{2+} . O Ca^{2+} entra na célula, ativando a enzima NOS e, o NO é produzido. Este último difunde-se da célula endotelial para a muscular, onde a enzima sGC (guanilato ciclase) é ativada, transformando a GTP (guanossina trifosfato) em cGMP (guanilato monofosfato cíclico). O aumento na concentração do cGMP causa o relaxamento muscular e aumento de fluxo sanguíneo ((BUTLER & NICHOLSON, 2003). Na FIGURA 23 é mostrado um esquema do processo.

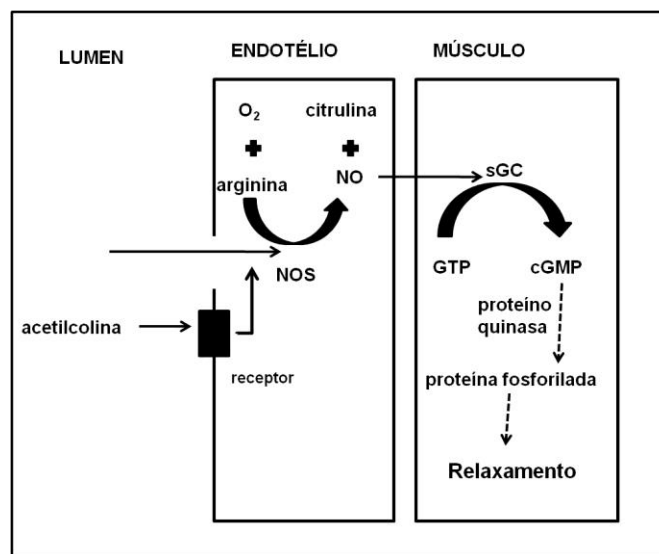


FIGURA 23- Ativação do relaxamento da musculatura vascular pela acetilcolina com o NO atuando como molécula mensageira (BUTLER & NICHOLSON, 2003).

Contudo, como essa molécula participa de inúmeros processos biológicos, e quando a concentração é alterada por algum fator, efeitos adversos são observados, gerando certas patologias. Quando a enzima cNOS (óxido nítrico sintetase constitutiva) é inibida, aumenta a pressão, podendo levar à hipertensão. No entanto, quando tem lugar a produção em excesso de NO, pode levar à epilepsia, esclerose múltipla, falha hepática, choque séptico e até a morte, se não é controlada a tempo o excesso de NO (EBRAHIMZADEH *et al*, 2010).

Para controlar esses efeitos algumas substâncias têm sido desenvolvidas com diversos fins, dependendo do caso, para entregar NO ao

sistema, ou para capturar o NO que o sistema tem em excesso. Como exemplo, no mercado farmacêutico atualmente se conta com o Nipride ($[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{2-}$) e o trinitrato de glicerina como potentes vasodilatadores. Seus efeitos são evidentes, 10 - 15 segundos depois de serem administrados debaixo da língua. A liberação de NO têm sido postulada através de uma transferência de elétron do Fe^{2+} ou CN^- para o íon nitrosônio (NO^+). Este metabolismo, levando ao NO livre, fornece imediato alívio da alta pressão sangüínea por relaxamento da vasculatura coronária constricta. A redução do $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{2-}$ fornece o $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{3-}$, que libera CN^- levando ao pentacoordenado $[\text{Fe}(\text{CN})_4(\text{NO})]^{2-}$ que é a espécie liberadora do NO (BAKHTIAR & OCHIAI, 1999).

Outras estratégias tem se desenvolvido para controlar a produção excessiva de NO, mas ainda não existem fármacos disponíveis comercialmente. Algumas dessas estratégias são: a) inibir a enzima óxido nítrico sintase; b) diminuir a quantidade de arginina presente nas células; e c) remover o NO com o uso de um capturador específico, que não seja tóxico. Alguns complexos de rutênio tem se mostrado bastante promissores, tanto como capturadores, quanto como doadores de NO.

Com o objetivo de diminuir a concentração de óxido nítrico no organismo desenvolveram-se uma série de metalo-drogas, chamadas capturadoras ou "scavengers", que formam um complexos estáveis com o NO, removendo-o do meio (CHEN & SHEPHERD, 1997; CHEN *et al*, 1999). Como exemplo, pode-se citar $\text{K}[\text{Ru}(\text{Hedta})\text{OH}_2]$, $\text{K}_2[\text{Ru}(\text{Hedta})\text{Cl}]$ e *trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{nic})_4]$, que são as espécies (a), (b) e (c) da FIGURA 24, respectivamente (FRICKER *et al*, 1997, WANG *et al*, 2005). A princípio o NO presente no meio coordenar-se-ia ao rutênio substituindo a molécula de água em (a) e (d) o cloreto em (b) e (c). O novo complexo formado seria eliminado pelo organismo. Outro exemplo é o *trans*- $[\text{RuCl}(\text{cyclam})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ (MARCONDES *et al*, 2002), sendo o cyclam = 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano, que possui a propriedade de captar NO (FIGURA 24 (d)).

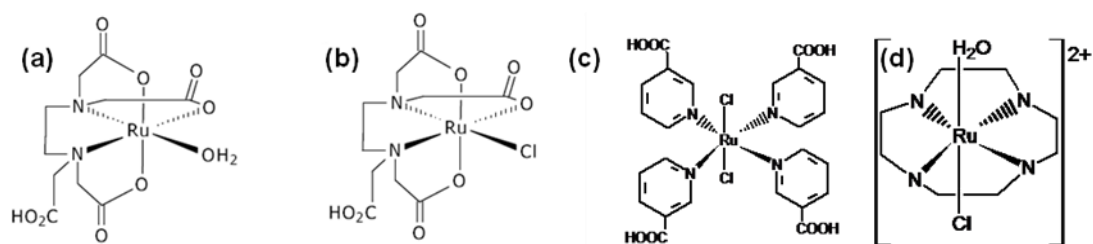


FIGURA 24- Estrutura de complexos de rutênio que atuam como capturadores de NO.

A habilidade de compostos de coordenação de rutênio de atuarem como “consumidores”, e/ou como provedores de óxido nítrico, tem despertado muito interesse no estudo de suas propriedades. Para conhecer estas propriedades, diversos grupos de pesquisa desenvolveram e estudaram uma série de compostos nitrosilo de rutênio, tais como complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{L})\text{Cl}_n(\text{NO})]$, onde L são ligantes fosfínicos, estudados por nosso grupo (BATISTA *et al*, 1997; BATISTA *et al*, 2001) e complexos do tipo *trans*- $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{L}(\text{NO})](\text{BF}_4)_3$, onde L é imidazol, L-histidina, piridina e nicotinamida, amplamente investigados por Franco e colaboradores (BORGES *et al*, 1998; GORELSKY *et al*, 2000).

A redução química e eletroquímica do NO^+ são formas de se conseguir sua liberação a partir de um estímulo específico, pois, em muitos complexos, o ligante nitrosilo perde a sua afinidade pelo metal ao ser reduzido a NO^0 ou NO^- .

Outra estratégia para liberar o NO é utilizar compostos que sejam fotoquimicamente ativos, ou seja, liberam NO quando submetidos a algum tipo de estímulo fotoquímico (FORD & LAVERMAN, 2005). FLITNEY *et al*, em 1996 estudaram clusters metálicos do tipo $[\text{Fe}_4\text{S}_4(\text{NO})_4]$ e $[\text{Fe}_4\text{S}_3(\text{NO})_7]^-$. Experimentos fotoquímicos irradiando em comprimentos de onda de 457,9 e 514,5 nm, mostraram que o mecanismo de liberação de NO depende da presença de oxigênio no meio. Utilizando essa classe de compostos o grupo do professor P. C. Ford conduziu outros estudos relevantes (BOURASSA *et al*, 1997; KUDO *et al*, 1997). Em decorrência, muitos complexos metálicos tiveram seu comportamento fotoquímico amplamente investigado. Os compostos do tipo $[\text{RuCl}_3\text{NO}]$ e $\text{K}_2[\text{RuCl}_5\text{NO}]$ liberam NO quando expostos à luz ultravioleta (UV).

Atuando como antitumoral o comportamento dos nitrosilos compostos tem apresentado resultados promissores, quando comparados com o cisplatina. O exemplo mais conhecido da literatura é o composto *cis*-(Cl, Cl)RuCl₂(terpy)(NO)]Cl, quando comparado com o seu precursor [RuCl₃(terpy)], os quais foram avaliados contra células da linhagem A2780 (carcinoma de ovário humano) e foi visto que o nitrosilo complexo (IC₅₀ 0,49 μM) apresentou melhor atividade que o complexo sem o grupo nitrosilo (IC₅₀ 11 μM). A melhora da atividade pode ser devida à presença do NO (KARIDI *et al*, 2005). Outros nitrosilo complexos foram avaliados em diversas linhagens de células e tem se mostrado bastante citotóxicos (TORSONI, 1999; ZACHI,2008). Os resultados são mostrados na TABELA 12.

TABELA 12- Valores de IC₅₀ para nitrosilo complexos de rutênio contra as linhagens Jurkat (leucemia humana), V79 (fibroblastos de pulmão de hamster Chinês) e B16F10-Nex2 (células de melanoma murino) (ZACHI, 2008).

Compostos	IC ₅₀ (μM)		
	Jurkat	V79 ^b	B16F10-Nex2
<i>trans</i> -[Ru(NO)(NH ₃) ₄ pic](BF ₄) ₃	12	Nd	6
<i>trans</i> -[Ru(NO)(NH ₃) ₄ py](BF ₄) ₃	21	930,5	1
<i>trans</i> -[Ru(NO)(NH ₃) ₄ isn](BF ₄) ₃	35	743,0	86
Vincristina ^a	68	Nd	

^aControle positivo; ^bTORSONI, 1999

Em nosso grupo de pesquisas temos avaliado a atividade antitumoral de diversos nitrosilo complexos em células de câncer de mama MDA-MB231 e tem dado também bons resultados, o que nos encoraja para continuar nessa linha de pesquisa (TABELA 13).

TABELA 13- Valores de IC₅₀ para nitrosilo complexos de rutênio contra a linhagem MDA-MB231. Complexos dissolvidos em DMSO; tempo de incubação: 48h.

Complexo	IC ₅₀ (μM)
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (NO)(dppp)(py)]PF ₆ ^a	19,0 ± 3,0
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (NO)(dppp)(4-Mepy)]PF ₆ ^a	7,4± 3,7
<i>trans</i> -[RuCl(NO)(dppe) ₂](PF ₆) ₂	2,0
[RuCl(NO)(dcpe)(Me-bipy)](PF ₆) ₂	2,0- 20,0
<i>fac</i> -[RuCl ₃ (NO)(dppf)] ^b	10± 3
RuCl ₃ NO.2H ₂ O ^{b,c}	>200
Cisplatina	63 ± 5

^aGOLFETO *et al*, 2010; ^b VON POELHSITZ *et al*, 2007 b; ^c Concentração máxima empregada = 200 μM .

2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Os objetivos principais deste trabalho são:

1) Obtenção de compostos de rutênio com os ligantes 4,6-dimetil-2-mercaptopirimidina (dmpm) e ácido picolínico (pic), com formulas $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$ (A) e $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{dppb})]$ (B), a partir do precursor $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{PPh}_3)]$;

2) Obtenção do composto $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2\text{NO}]$ (C), a partir do precursor $[\text{RuCl}_3\text{NO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}]$;

3) Caracterização dos novos complexos, com auxílio das seguintes técnicas: análise elementar; medidas de condutividade; espectroscopia de absorção na região do Uv-vis/IV; espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$; medidas eletroquímicas (voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial) e difração de raios X.

4) Avaliação das citotoxicidades *in vitro* dos compostos A, B, e C em células cancerosas e saudáveis.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Atmosfera inerte, solventes, reagentes, ligantes e óxido nítrico

3.1.1 Obtenção da atmosfera de Argônio

Todas as preparações dos complexos foram feitas sob atmosfera inerte. Esta foi obtida pela passagem de fluxo de argônio por uma coluna de purificação composta de camadas alternadas de anéis de vidro (0,5 cm de diâmetro x 0,5 cm de altura) e catalisador do tipo BTS - R - 3 - 11 (Fluka Chemika), mantido a uma temperatura de 60 °C para o catalisador permanecer ativado, seguindo então para colunas contendo sílica gel e cloreto de cálcio, respectivamente. A coluna contendo o catalisador é reativada periodicamente com H₂ a 120 °C durante pelo menos 24 horas. Estes procedimentos foram necessários para desoxigenar e secar o gás comercial de procedência Aga.

3.1.2 Solventes

Os seguintes solventes, Synth P.A. ou Merck P.A., passaram por processos de purificação segundo os métodos usuais da literatura (PERRIN *et al*, 1980): diclorometano, éter etílico, e metanol. O diclorometano grau HPLC foi utilizado como fornecido para realizar estudos eletroquímicos. Água e clorofórmio deuterados foram utilizados como recebidos da Fluka Chemika e/ou Aldrich.

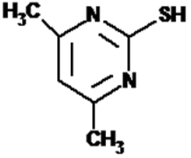
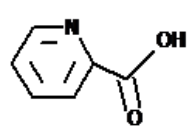
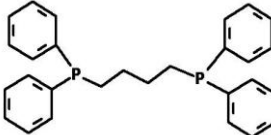
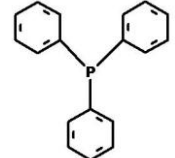
3.1.3 Reagentes e produtos químicos em geral

Tricloreto de rutênio hidratado (RuCl₃•3H₂O) de procedência Aldrich, foi utilizado sem previa purificação. Os seguintes reagentes também foram utilizados como fornecidos: ácido nítrico (Merck P.A. ou Synth P.A), NaOH (Synth), cal sodada (Vetec), brometo de potássio (KBr - Merck P.A.) e perclorato de tetrabutylamônio (PTBA –Fluka Chemika).

3.1.4 Ligantes

A 1,4-bis(difenilfosfina)butano (97%) de procedência Aldrich, o ácido picolínico, de procedência Alfa Aesar (99 %), e a trifenilfosfina (PPh₃) de procedência Fluka ≥ 98,5 %, foram utilizados como recebidos. A 4,6-dimetil-2-mercaptopirimidina foi cedida pelo Prof. Dr. Ernesto Schulz Lang, da Universidade de Santa Maria, Rio Grande do Sul. Na TABELA 14 estão as estruturas dos ligantes utilizados.

TABELA 14- Ligantes utilizados.

Ligantes N-heterocíclicos		Ligantes fosfínicos	
			
4,6-dimetil-2-mercaptopirimidina	ácido picolínico	1,4-bis(difenilfosfina)butano	Trifenilfosfina

3.1.5 Monóxido de nitrogênio (NO)

O gás monóxido de nitrogênio foi gerado em frasco de Knipp pela redução do ácido nítrico, 33%, por cobre metálico, seguindo a reação:

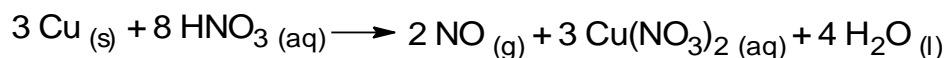


FIGURA 25 – Reação de obtenção de monóxido de nitrogênio (NO (g)).

Em seguida, o NO formado foi passado por frasco lavador contendo solução concentrada de hidróxido de sódio, com o objetivo de retirar possíveis resíduos de ácido nítrico que poderiam estar sendo arrastados pelo fluxo de NO. Após a lavagem em NaOH, o gás passou por um frasco contendo cal sodada, que tem a propriedade de reter todo o NO₂, característico por apresentar uma coloração castanha, eventualmente presente. Este procedimento garantiu que apenas NO chegasse à saída da linha de gás

(LEVAGGI *et al*, 1972). Uma representação desse sistema de geração de NO está apresentada na FIGURA 26.

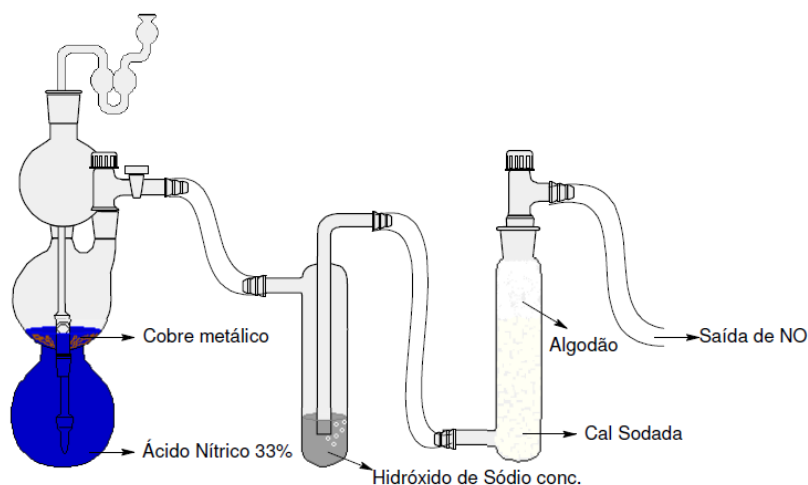


FIGURA 26- Sistema de geração de monóxido de nitrogênio.

3.2 Síntese dos complexos precursores

Os precursores de rutênio foram sintetizados seguindo métodos descritos na literatura (FAIRY & IRVING, 1966, STEPHENSON & WILKINSON, 1966). A pureza dos mesmos foi avaliada por técnicas espectroscópicas (RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, IV, UV-vis) e eletroquímicas (voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial), de acordo com a conveniência, para cada complexo.

3.2.1 Tricloronitrosilrutênio(II) - $[\text{RuCl}_3\text{NO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}]$

O $[\text{RuCl}_3\text{NO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ foi obtido por modificação de procedimento descrito na literatura (FAIRY & IRVING, 1966). A um frasco tipo Schlenk de 100 mL, contendo 30 mL de metanol previamente desoxigenado, adicionaram-se 0,500 g (1,91 mmol) de $\text{RuCl}_3\cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Um fluxo lento de NO foi borbulhado na solução, por aproximadamente 1 hora, ao término do qual fez-se vácuo no sistema e injetou-se NO novamente, mantendo esta atmosfera por cerca de mais 1 hora. Repetiu-se este procedimento algumas vezes (pelo menos 5 vezes), fazendo-se vácuo no sistema e injetando NO. Ao final de aproximadamente 5 horas, a solução resultante foi transferida para um balão

com capacidade de 50 mL e roto-evaporada até secura. O balão foi armazenado em dessecador contendo pentóxido de fósforo sob vácuo, por no mínimo 48 horas para sua utilização, para que o composto secasse totalmente. Rendimento: (0,50 g) 94,7%.

3.2.2 Síntese dos precursores fosfínicos de rutênio

3.2.2.1 [RuCl₂(PPh₃)₃]

O precursor [RuCl₂(PPh₃)₃], foi obtido pela redução do tricloreto de rutênio com trifenilfosfina, a partir de modificações parciais de procedimento descrito na literatura (STEPHENSON & WILKINSON, 1966), onde 1,00 g de RuCl₃·3H₂O (3,80 mmol) foi dissolvido em 200 mL de metanol (MeOH) previamente desoxigenado, sob refluxo e atmosfera inerte por aproximadamente 15 minutos. Em seguida 5,75 g de PPh₃ (21,9 mmol) foram adicionados. A solução continuou sob refluxo e atmosfera inerte por três horas. O precipitado marrom escuro formado foi filtrado, utilizando um funil de placa porosa, lavado com metanol e hexano desoxigenados, para a retirada de excesso de fosfina livre (PPh₃), e seco a vácuo. Rendimento: (3,30 g) 90,0%.

O esquema abaixo representa a reação de obtenção do [RuCl₂(PPh₃)₃].

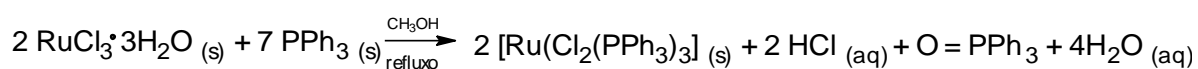


FIGURA 27- Reação de obtenção do [RuCl₂(PPh₃)₃].

3.2.2.2 [RuCl₂(dppb)(PPh₃)₃]

O precursor [RuCl₂(dppb)(PPh₃)₃], foi sintetizado como descrito na literatura (JUNG *et al*, 1984), onde 1,00 g de [RuCl₂(PPh₃)₃] (1,04 mmol) foi dissolvido em 10 mL de diclorometano previamente desoxigenado, e foram adicionados 0,470 g de dppb (1,10 mmol), permanecendo sob agitação e atmosfera inerte por 30 minutos. Em seguida, a solução foi filtrada para a retirada do produto binuclear formado ([Ru₂Cl₄(dppb)₃]) e ao filtrado foi adicionado 40 mL de etanol previamente desoxigenado. O precipitado verde

formado foi filtrado utilizando-se um funil de placa porosa, lavado com hexano para a retirada de excesso de bifosfina livre (dppb) e seco a vácuo. Rendimento: (0,85 g) 95%.

O esquema abaixo representa a reação de obtenção do $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{PPh}_3)]$.

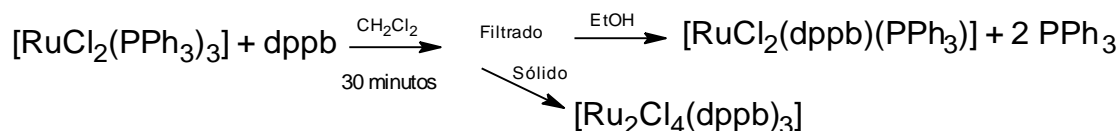


FIGURA 28- Reação de obtenção do $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{PPh}_3)]$.

3.3 Síntese dos novos complexos

3.3.1 $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2\text{NO}]$

Em um balão de duas bocas de 50 mL de capacidade contendo 5 mL de metanol previamente desaereado foram dissolvidos 70 mg (0,25 mmol) do $[\text{RuCl}_3\text{NO} \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$. Por outro lado, 95 mg (0,53 mmol) do ligante como cloridrato ('dmpm•HCl') foram solubilizados em 5 mL de metanol na presença de trietilamina (0,10 mL; 0,72 mmol) e posteriormente transferido, via cânula, para a solução do complexo. A solução foi mantida sob agitação e atmosfera inerte por 24 hs. Diminuiu-se o volume da solução até aproximadamente 3 mL e precipitou-se com água. O precipitado foi lavado com água e éter e seco a vácuo. Rendimento (47,7 mg) 39,2 %.

O esquema abaixo representa a reação de obtenção do $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2\text{NO}]$.

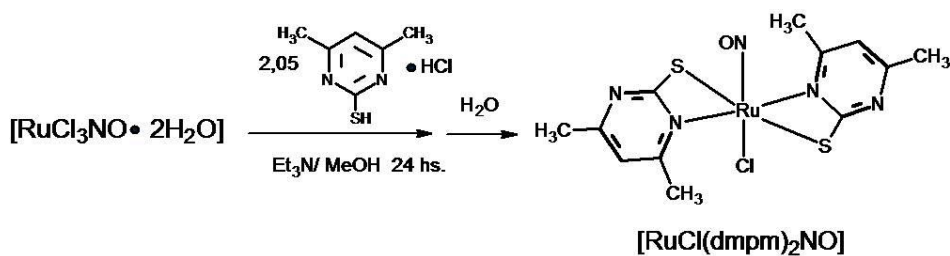


FIGURA 29- Reação de obtenção do $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2\text{NO}]$.

3.3.2 [Ru(pic)₂(dppb)]

Em um balão de duas bocas de 50 mL de capacidade contendo 10 mL de metanol previamente desoxigenado foi adicionado 50 mg (0,06mmol) do precursor [RuCl₂(dppb)(PPh₃)] e adicionou-se 16 mg (0,13mmol) de ác. picolínico. A solução foi mantida em refluxo sob agitação e atmosfera inerte por 8 hs. Diminuiu-se o volume da solução até aproximadamente 3 mL e precipitou-se com éter. O precipitado foi lavado com metanol, água, hexano e éter e seco a vácuo. Rendimento: (40 mg) 89,2 %.

O esquema abaixo representa a reação de obtenção do [Ru(pic)₂(dppb)].

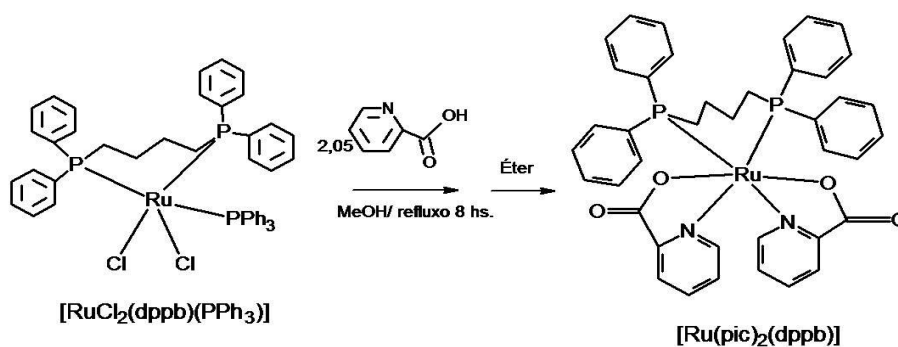


FIGURA 30- Reação de obtenção do [Ru(pic)₂(dppb)].

3.3.3 [Ru(dmpm)₂(dppb)]

Em um balão de duas bocas de 50 mL de capacidade contendo 10 mL de metanol previamente desoxigenado foram suspensos 70 mg (0,08 mmol) do precursor [RuCl₂(dppb)(PPh₃)]. 30 mg (0,17 mmol) do ligante cloridrato de 4,6-dimetil-2-mercaptopirimidina ('dmpm•HCl') foram solubilizados em 10 mL de metanol na presença de trietilamina (0,10 mL; 0,72 mmol) e posteriormente transferido, via cânula, para a suspensão do complexo. A mistura reacional foi mantida sob agitação e atmosfera inerte por 24 hs. Obteve-se um precipitado e uma solução de cor amarela. O precipitado foi lavado com água e éter e seco a vácuo. A solução foi concentrada e a adição

de água levou á precipitação de sólido amarelo-laranja. Rendimento: (35 mg) 53,4 %.

O esquema abaixo representa a reação de obtenção do $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$.

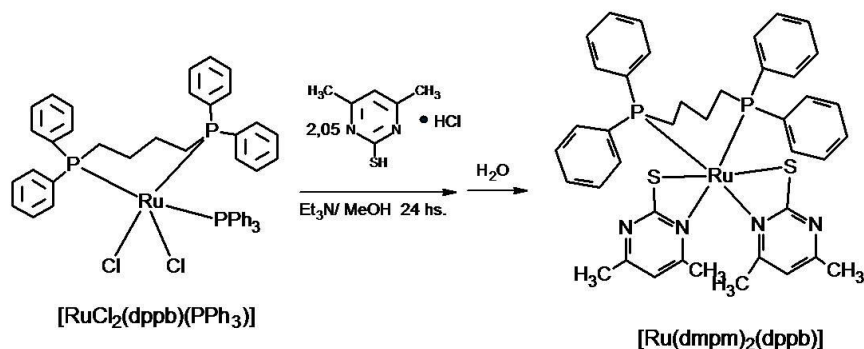


FIGURA 31- Reação de obtenção do $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$.

3.4 Instrumentação

Os compostos obtidos foram caracterizados tanto em solução como no estado sólido, pelas técnicas adequadas, da maneira abaixo descrita:

3.4.1 Análise Elementar

As determinações das porcentagens de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre foram realizados em um analisador CHN modelo EA 1108 da FISIONS. O analisador CHN estão disponíveis para uso no Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos - UFSCar.

3.4.2 Medidas de Condutividade

As medidas de condutividade molar foram realizadas utilizando um condutímetro Meter Lab., modelo CDM230 equipado com cela de platina com constante igual a $0,089 \text{ cm}^{-1}$, utilizando-se soluções em diclorometano com concentrações iguais a $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ em diclorometano.

3.4.3 Espectroscopia de Absorção na Região do UV-vis

Os espectros de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-vis) foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro HEWLETT PACKARD DIODE ARRAY -8452A. Os compostos foram dissolvidos em CH_2Cl_2 de modo a se obter soluções de concentração da ordem de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, sendo posteriormente diluídas para concentrações desejadas. As medidas foram feitas utilizando-se cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm na região compreendida entre 230 e 800 nm.

3.4.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro BOMEM MICHELSON FT MB-102, na região compreendida entre 4000 e 200 cm^{-1} . As amostras sólidas foram diluídas em KBr. Este foi mantido em estufa à 120° C e previamente triturado antes de ser utilizado.

3.4.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$

Os espectros de RMN de ^1H e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ foram obtidos em um espectrômetro BRUKER DRX 400 MHz ($400,13 \text{ MHz}$ para ^1H ; $161,98 \text{ MHz}$ para ^{31}P) ou em um ARX 200 MHz ($81,02 \text{ MHz}$ para ^{31}P). Para os espectros de RMN de ^1H foram utilizados os solventes deuterados adequados (CDCl_3) e os deslocamentos químicos foram determinados em relação ao tetrametilsilano (TMS), quando corresponder.

As amostras para RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ foram solubilizadas nos solventes comuns adequados e um capilar contendo D_2O foi introduzido no interior do tubo de RMN, que teve a finalidade de ser a referência externa para a frequência do deutério. Os deslocamentos químicos na RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ foram reportados relativos ao H_3PO_4 85% (aq).

Os equipamentos acima citados estão disponíveis em nosso laboratório ou no Departamento de Química da UFSCar.

3.4.6 Medidas Eletroquímicas (Voltametria Cíclica e Voltametria de Pulso Diferencial)

As medidas eletroquímicas foram obtidas em um potenciostato Electrochemical Analyzer BAS-100B. Foram feitas as medidas em uma célula eletroquímica de vidro, com capacidade para 10 mL. Foi utilizado um sistema convencional de três eletrodos: um de referência Ag/AgCl em solução 0,1 mol.L⁻¹ de PTBA no solvente adequado, mantido no interior de um capilar de Luggin-Haber; e os eletrodos de trabalho e auxiliar, de platina. Foram preparadas as soluções eletrolíticas (PTBA - 0,1 mol.L⁻¹) de modo a se obter concentrações dos complexos a serem analisados da ordem de 1,0 x 10⁻³ mol.L⁻¹. Os potenciais anódicos (Epa) e catódicos (Epc) foram determinados diretamente dos voltamogramas.

3.4.7 Difração de Raios X

As estruturas cristalinas foram resolvidas pela técnica de difração de raios X, utilizando-se difratômetros Bruker Nonius KappaCCD (USP, São Carlos) ou Bruker Smart Apex II (UNB, Universidade de Brasília) utilizando radiação da linha K α do molibdênio (0,71070 Å). e monocromador de grafite. As estruturas foram resolvidas com o programa SHELXS 97 (SHELDRICK, 1997a) usando métodos diretos, sucessivos mapas de Fourier-Diferença permitiram a localização dos átomos não hidrogênios. Excetuando-se os átomos de hidrogênio, todos os demais foram refinados anisotropicamente. Os refinamentos foram feitos através do programa SHELXL 97 (SHELDRICK, 1997b). As estruturas foram resolvidas pelo grupo de cristalografia chefiado pelo Prof.Dr. Eduardo E. Castellano do Instituto de Física da USP - São Carlos, em colaboração principalmente com o Prof. Dr. Javier Ellena, e pelo Prof. Víctor Deflon. do Instituto de Química de São Carlos da USP.

3.4.8 Ensaios de citotoxicidade *in vitro*

Foram realizados ensaios *in vitro* dos complexos obtidos tanto em linhagens de células saudáveis quanto de células cancerosas.

3.4.8.1 Linhagem MDA-MB231

Os compostos analisados foram avaliados pela capacidade de inibir o crescimento *in vitro* de células tumorais usando linhagens de células derivadas de tumor humano, a MDA-MB231 (câncer de mama). Esses testes de citotoxicidade *in vitro* contra MDA-MB231 (câncer de mama) foram realizados pela aluna de doutorado Angélica E. Graminha utilizando a estrutura disponibilizada pela Profa. Dra. Heloísa S. Selistre de Araújo no Departamento de Ciências Fisiológicas da UFSCar.

3.4.8.1.1 Linhagem de células, condições de cultura e incubação com as metalodrogas

As células MDA-MB231, disponíveis no laboratório de Bioquímica do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFSCar, são 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. Foram cultivadas como cultura de monocamada aderente em meio DMEM, e mantidas a 37 °C em uma atmosfera umidificada contendo 5 % de CO₂. Durante o crescimento das células o meio de cultura deve ser trocado a cada 2-3 dias para o melhor desenvolvimento destas. O crescimento das células pode ser acompanhado dia a dia com o auxílio de um microscópio. Quando a garrafa contém uma boa quantidade de células realiza-se a contagem das células, sendo que para a linhagem MDA-MB231, devido á aderência, realizou-se um procedimento conhecido por tripsinização, que é a remoção das células para seu uso posterior nos experimentos.

A contagem das células é feita ajustando o volume para que cada 200 µL contenha a quantidade desejada de células (50.000 células). Após a aplicação das células em placa para microcultura de 96 poços (estéril), com a densidade desejada de células por poço (em 200 µL), adicionaram-se os compostos em diferentes concentrações em triplicata, sendo o tempo de incubação de 48 hs. Para a linhagem MDA-MB231, após a aplicação da célula,

armazena-se a placa em estufa (37 °C / 5 % CO₂) por 24 horas para que ocorra a adesão celular. Após esse tempo, o meio de cultura é removido e adiciona-se 200 µL de meio de cultura DMEM sem soro. Finalmente, os compostos em diferentes concentrações são adicionados em triplicata, sendo o tempo de incubação de 48 hs.

3.4.8.1.2 Ensaios de citotoxicidade *in vitro* (MDA-MB231)

Os compostos foram avaliados em células de câncer mamário humano (MDA-MB231) usando o ensaio com MTT (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)2,5-Difenil Brometo de Tetrazolium) – (MOSMANN, 1983), que consiste em uma determinação colorimétrica de viabilidade celular durante tratamento *in vitro* com a droga. Este ensaio colorimétrico de microcultura, desenvolvido como um estágio inicial para o “screening” de drogas mede a quantidade de MTT reduzido pela dehidrogenase mitocondrial e assume que a viabilidade celular (correspondente à atividade redutiva) é proporcional à produção de cristais de formazan (violeta) depois de 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 IC₅₀ é desejado e implica citotoxicidade ou antiproliferação a baixas concentrações da droga. O valor de IC₅₀ representa a concentração da droga que é necessária para reduzir 50 % o crescimento celular.

Para o “screening” inicial foram preparadas três concentrações de cada complexo (20 mM, 2 mM e 0,2 mM) utilizando-se DMSO para solubilizar os mesmos. Considerando-se 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 µL, toma-se uma alíquota de 2 µL de cada concentração de complexo e adiciona-se ao poço. Desta maneira as concentrações finais dos complexos são 200 µM, 20 µM e 2 µM. As soluções dos compostos são preparadas no fluxo laminar utilizando-se materiais estéreis (DMSO e frascos de armazenagem).

A viabilidade celular foi calculada da seguinte forma:

Viabilidade celular (%) = $(O_D \text{ teste} / O_D \text{ controle}) \times 100$,

onde: O_D teste = densidade ótica dos compostos testados e

O_D controle = densidade ótica do controle

3.4.8.1.3 Preparação dos compostos para os ensaios

Para o “screening” inicial foram preparadas três concentrações de cada complexo (20 mM, 2 mM e 0,2 mM) utilizando-se DMSO, para solubilizar os mesmos. Considerando-se que a concentração final de DMSO junto às células não deve ultrapassar 1 % e que o volume do 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. A máxima quantidade de DMSO nos poços foi de 0,96 %. Em experimentos realizados paralelamente não se observou diferença na proliferação de células em grupos de controle com ou sem DMSO a 1% (CORRAL *et al*, 2009). As concentrações finais dos complexos foram 200 μ M, 20 μ M e 2 μ M. As soluções dos compostos foram preparadas no fluxo laminar utilizando-se materiais estéreis (DMSO e frascos de armazenagem).

3.4.8.2 Linhagens V79 e U251

Os compostos analisados foram avaliados pela capacidade de inibir o crescimento *in vitro* de células fibroblásticas (células saudáveis) provenientes de pulmão de hamster chinês (V79) e células cancerosas do sistema nervoso (U251). Antes das células serem usadas, uma série de procedimentos e materiais são descritos a seguir. Esses testes de citotoxicidade *in vitro* contra V79 e U251 foram realizados pela aluna de doutorado Andréa Prado Carnizello, utilizando a estrutura disponibilizada pela Profa. Dra. Denise Crispim Tavares no Laboratório de Mutagênese e Antimutagênese do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade de Franca (UNIFRAN), Franca-SP.

3.4.8.2.1 Linhagem de células, condições de cultura e incubação com as metalodrogas

As linhagens empregadas foram fibroblastos de pulmão de hamster Chinês (células V79) e câncer de sistema nervoso (células U251), compradas diretamente do Banco de Células do Rio de Janeiro – BCRJ/UFRJ. Estas linhagens encontram-se estocadas em nitrogênio líquido (-195 °C), em alíquotas de 1×10^6 células/mL em uma solução de congelamento composta de 50 % de meio de cultura (Ham-F10 sem vermelho fenol + DEM, na proporção 1:1, Sigma-Aldrich), 40 % de soro bovino fetal (Nutricell) e 10% de DMSO (Sigma-Aldrich).

Para a realização dos experimentos, as células foram descongeladas e colocadas em cultivo em meio de cultura (Ham-F10 sem vermelho fenol + DEM, na proporção 1:1, Sigma-Aldrich), suplementado com 10 % de soro bovino fetal (Nutricell), 1,2 g/mL de bicarbonato de sódio (Sigma-Aldrich), 0,1 g/mL de estreptomicina (Sigma-Aldrich) e 0,06 g/mL penicilina (Sigma-Aldrich).

As células foram cultivadas em monocamadas em 10 mL de meio de cultura utilizando-se frascos descartáveis de 25 cm² de área (Corning) a 37 °C em estufa de B.O.D. (Marconi). A cada dois ou três dias, as células foram sub-cultivadas, usando-se PBS para lavá-las e ATV (solução de tripsina 0,2 % mais versene 0,02 %, Instituto Adolfo Lutz) na proporção de 1 ATV: 1 PBS, para desprender as células da superfície interna do frasco de cultura. Após o despreendimento das células, cerca de 1,5 mL de meio de cultura completo foi adicionado ao frasco para a inativação do ATV e homogeneizado. Uma pequena quantidade de células foi, então, colocada em cultivo em novos frascos contendo 10 mL de meio de cultura, sendo incubado a 37 °C, o ciclo celular foi de 12 a 24 hs sob as condições de cultivo.

A contagem das células foi realizada ajustando o volume para que 100 µL contenha a quantidade desejada de células (10.000 células). Após a aplicação das células em placa para microcultura de 96 poços (estéril) com a densidade desejada de células por poço (em 100 µL), adicionaram-se os compostos em diferentes concentrações em triplicata, sendo o tempo de incubação de 24 hs. Para as duas linhagens V79 e U251, após a adição dos

compostos ao meio de cultura, acrescenta-se $\approx 20 \mu\text{L}$ de solução contendo as células (≈ 10.000 células), armazena-se a placa em estufa ($37^\circ\text{C} / 5\% \text{CO}_2$) por 24 hs para que ocorra a adesão celular. Após esse tempo o meio de cultura contendo os compostos é removido e adiciona-se $100 \mu\text{L}$ de PBS e $50 \mu\text{L}$ de solução do kit XTT (ROCHE). A placa de microcultura vai novamente para a estufa de B.O.D. (Marconi) permanecendo por um período de incubação de 17 hs.

3.4.8.2.2 Ensaios de citotoxicidade *in vitro* (V79 e U251)

Os compostos foram avaliados em fibroblastos de pulmão de hamster chinês (células V79) e câncer de sistema nervoso (células U251), utilizando a metodologia do ensaio *in vitro* do kit XTT da ROCHE: kit 1 XTT labeling reagent $5 \times 25\text{mL}$ (sódio 3'-[1-(fenilaminocarbonilo)-3,4-tetrazolio]-bis(4-metoxi-6-nitro) benzeno ácido sulfônico hidratado), in RPMI 1640, sem vermelho de fenol (1 mg/mL estéril) e kit 2 XTT $5 \times 0.5 \text{ ml}$ PMS (N-metil dibenzopirazina metil sulfato) $0,383 \text{ mg/mL}$ (1.25 mM), em solução tampão fosfato (PBS), estéril. Esta metodologia consiste na determinação colorimétrica de viabilidade celular durante tratamento *in vitro* com a droga. Este ensaio é baseado na clivagem do sal de XTT tetrazolio amarelo em um corante formazan laranja por células metabolicamente ativas, FIGURA 32, esta conversão somente ocorre em células viáveis. O corante formazan formado é solúvel em solução aquosa e é diretamente quantificado utilizando um espectrofotômetro de varredura de multiplaca, leitor de ELISA.

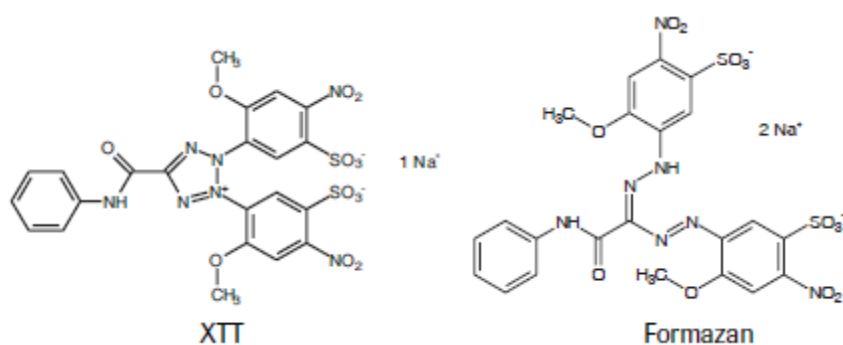


FIGURA 32- Metabolização do XTT em uma solução aquosa de sal de formazan por células viáveis.(GERLIER & THOMASSET,1986).

Após o período de incubação uma solução formazan, de cor laranja, é formada, a qual é espectrofotometricamente quantificada utilizando o leitor de ELISA. Um aumento no número de células vivas resulta em um aumento no total da atividade das dehidrogenases mitocondriais na amostra. Este aumento é diretamente proporcional à quantidade de formazan laranja formado, onde é monitorado por absorvância entre 450 e 500 nm, densidade óptica de cada poço. 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 da droga.

3.4.8.2.3 Preparação dos compostos para os ensaios

Para o “screening” inicial foram preparadas duas concentrações mães de cada complexo (solução 1: 645 μ M e solução 2: 62,5 μ M). Pesou-se 1 mg do complexo que foi diluído em 2 mL de meio de cultura, utilizando-se DMSO para solubilizar os mesmos. Considerando-se que a concentração final de DMSO junto às células não deve ultrapassar 5 % e que o volume de meio de cultura em cada poço é 100 μ L, adicionaram-se as seguintes alíquotas de 31 μ L; 15,5 μ L; 7,7 μ L; 3,8 μ L; da solução 1 para as respectivas concentrações 200, 100, 50 e 25 μ M e alíquotas de 20; 10; 5 e 1,6 μ L para as respectivas concentrações 12,5; 6,25; 3,125 e 1,0 do complexo $[Ru(pic)_2(dppb)]$, onde completa-se com o meio de cultura necessário para resultar em 100 μ L para a concentração final. Desta maneira as concentrações finais dos complexos são 200 μ M, 20 μ M e 2 μ M. As soluções dos compostos são preparadas na capela de fluxo laminar utilizando-se materiais estéreis (DMSO e frascos de armazenagem).

A viabilidade celular foi calculada da mesma forma que no item 3.4.8.1.3.

4.RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos obtidos neste trabalho foram caracterizados tanto em solução, quanto em estado sólido. Considerando as diferenças dos complexos, optou-se por apresentar os resultados e discussão por técnica empregada na caracterização dos mesmos. Além disso, os resultados serão discutidos de acordo com o precursor utilizado.

4.1 Caracterização do $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$

4.1.1 Análise Elementar

Para o composto $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$, $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{OS}_2\text{ClRu}$, foram obtidos os seguintes valores experimentais e teóricos para a análise elementar. Exptal. (calcd.) % C 29,50 (29,00); % H 3,17 (3,41), % N 13,22 (13,34) e % S 14,41(13,90). Os valores dos teores de C, H, N e S são condizentes com a estrutura proposta.

4.1.2 Medidas de Condutividade Molar

Foi medida a condutividade molar do $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$ a partir de soluções de concentração $1,0 \times 10^{-3}$ M, em CH_2Cl_2 e CH_3CN . Os resultados foram comparados com valores encontrados na literatura (GEARY,1971; VELHO, 2006). Essa informação é consistente com a estrutura proposta, obtendo um resultado em CH_2Cl_2 1, 77 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, e de 11,93 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ em CH_3CN , equivalente a soluções não eletrolíticas.

4.1.3 Espectroscopia Eletrônica (UV-vis)

O espectro eletrônico do complexo foi registrado em solução de diclorometano e apresentou absorções na região do visível e ultravioleta. As atribuições das bandas observadas nos espectros eletrônicos foram feitas por comparação com os espectros do ligante livre e do precursor. O espectro está apresentado na FIGURA 33.

Para o complexo $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$ é observada uma banda em 306 nm com alta absorvidade molar ($\epsilon = 17650 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), atribuída à transição intraligante ($\pi \rightarrow \pi^*$), e um ombro pouco visível, em 396 nm ($\epsilon = 2090 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) correspondente a uma transferência de carga metal ligante (Ru \rightarrow N-heterocíclicos) (MALECKI *et al*, 2005 & VON POELHSITZ, 2005b).

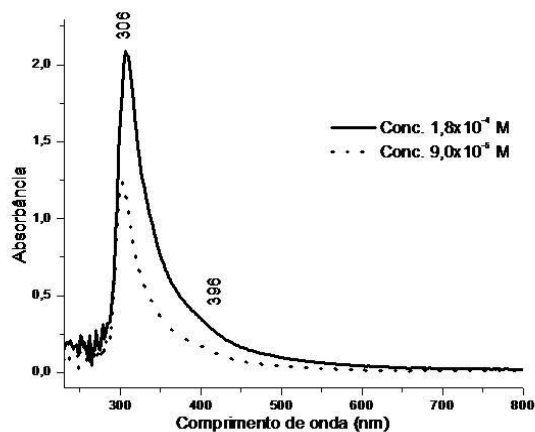


FIGURA 33- Espectro eletrônico (UV-vis) do $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$, em CH_2Cl_2 .

4.1.4 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (IV)

A espectroscopia de absorção na região do IV foi empregada para a caracterização do complexo. O espectro de absorção na região do IV do complexo sintetizado apresentou modos vibracionais que estão de acordo com a estrutura proposta. As atribuições foram feitas em comparação com os espectros do precursor metálico, do ligante livre e de outros complexos descritos na literatura. Para melhor visualização o espectro é apresentado na região de $2000\text{-}200 \text{ cm}^{-1}$

O espectro de absorção na região do infravermelho para o $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$ (ver FIGURA 34 e atribuições das principais bandas na TABELA 15) mostrou uma banda intensa em 1857 cm^{-1} correspondente a $\nu \text{ NO}$, característica do NO^+ ligado ao rutênio. Essa ligação é considerada linear, pois é caracterizada por alta frequência de estiramento do NO^+ ($\nu \text{ NO}^+$: $1650\text{-}1985 \text{ cm}^{-1}$) (RICHTER-ADDO & LEGZDINS, 1992). A banda de fraca intensidade em 591 cm^{-1} atribuiu-se ao $\nu \text{ Ru-N}$ (NAKAMOTO, 1997). Observaram-se bandas correspondentes à presença do ligante coordenado (dmpm) em 1587, 1434 e

1269 cm^{-1} (VON POELHSITZ *et al*, 2005a). A baixa intensidade das bandas fracas da vibração $\nu(\text{C}=\text{S})$ do grupo $\text{NHC}=\text{S}$ em 1203 e 1183 cm^{-1} , indicam coordenação pelo enxofre e diminuição da força de ligação do $\text{C}=\text{S}$ a uma intermediária entre a dupla e a ligação simples $\text{C}-\text{S}$, que no ligante livre essas bandas são fortes, em 1214 e 1187 cm^{-1} . Outra evidencia que o ligante dmpm liga-se pelo nitrogênio é a diminuição da intensidade da banda em 842 cm^{-1} , correspondente ao γ $\text{N}-\text{H}$ (MARTOS-CALVENTE *et al*, 2003). Comparando a frequência do estiramento do NO com outros compostos semelhantes sintetizados em nosso laboratório, observa-se que não sofre mudanças importantes, pois em complexos contendo o mesmo ligante dmpm (duas moléculas, uma ligada de modo bidentado pelo enxofre e pelo nitrogênio, e a outra ligada só pelo enxofre), mas mudando a fosfina $[\text{Ru}(\text{N},\text{S})(\text{S})\text{NO}(\text{dppe})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{N},\text{S})(\text{S})\text{NO}(\text{c-dppen})]\text{PF}_6$ os estiramentos do NO se encontram em 1850 e 1860 cm^{-1} , respectivamente, (VON POELHSITZ *et al*, 2005b).

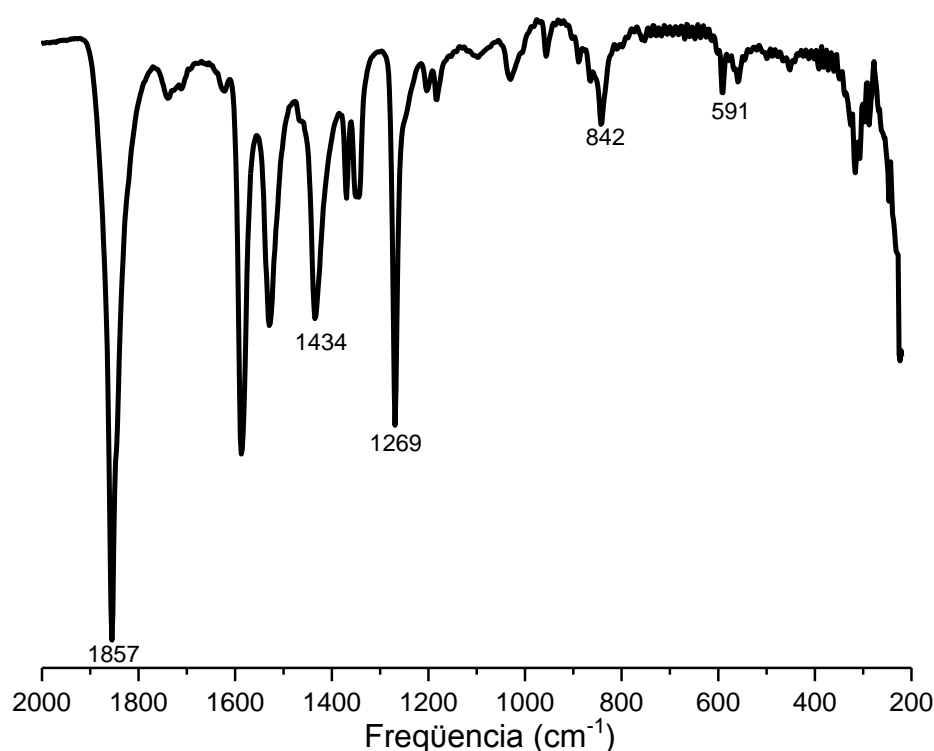


FIGURA 34- Espectro de absorção na região do IV de $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$, em pastilla de KBr .

TABELA 15- Frequências (cm⁻¹) correspondentes às principais bandas e atribuições dos espectros no IV do complexo [RuCl(dmpm)₂(NO)].

Atribuição	[RuCl(dmpm) ₂ (NO)]
ν CH (Φ)	3119 f; 3069 f
ν s CH ₃ + overtone	2924 m; 2852 m
ν NO ⁺	1857 F
ν C=C + ν C=N	1587 F; 1529 m
ν N=C + δ(CH)+ δ(NH)	1434 m
δ CH ₃	1376 f
ν C-S	1269 F
ν C-S em NHC-S	1203 f; 1183 f
CH ₃ rocking	1032 f, 956 f
γ N-H	842 f
δ Ru-N-O	591 f
Ru-S	313 f
Ru-Cl	237 f

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

4.1.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear é basicamente outra forma de absorção, como são o IV e o UV-vis. Fundamenta-se na absorção de ondas de rádio por amostras colocadas num campo magnético. A amostra excitada regressa ao seu estado inicial emitindo energia na região das radiofrequências.

O espectro de hidrogênio ¹H foi obtido (FIGURA 35) utilizando CDCl₃ como solvente . O espectro apresentou dois singletos na zona dos hidrogênios aromáticos em 7,2 e 6,7 ppm, e dois singletos em 2,5 e 2,3 ppm, na zona dos hidrogênios alifáticos. A integração dos picos gerou uma relação 1:1 na região dos aromáticos e 6:6 na região dos alifáticos. Em primeira instância isto poderia sugerir a formação de dois complexos, ou a de um complexo misturado com o ligante, como impureza. Porém uma análise mais detalhada nos permitiu concluir que foi obtido um único composto em solução, onde as interações dos hidrogênios em cada molécula com os átomos

próximos em moléculas vizinhas são diferentes, afetando a magneticidade do próton e gerando sinais diferentes. Isto será melhor discutido no item 4.1.7 com base na estrutura cristalográfica obtida e será e melhor é observado na FIGURA 43.

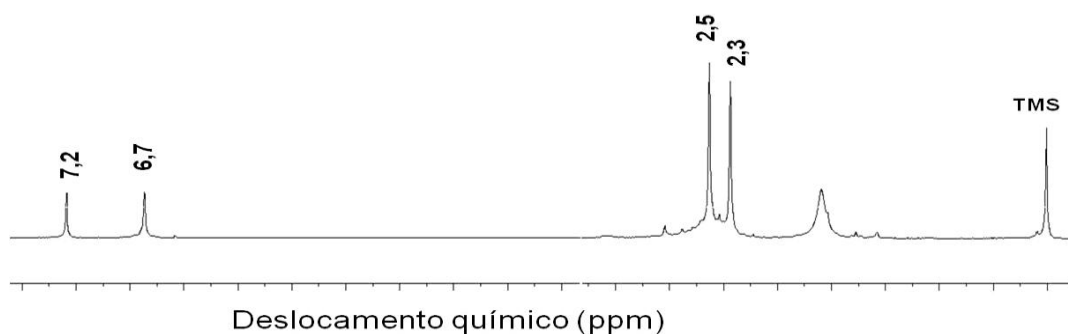


FIGURA 35- Espectro de RMN ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$ em CDCl_3 .

4.1.6 Medidas Eletroquímicas (Voltametria Cíclica e Voltametria de Pulso Diferencial)

As técnicas eletroquímicas (voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial) permitem a avaliação da energia necessária para efetuar a oxidação ou redução de determinada espécie química. Para compostos de coordenação esta energia, na forma de potencial, fornece entendimentos adicionais aos estudos de propriedades receptoras e doadoras dos ligantes, devido ao fato de estarem intimamente ligadas à densidade eletrônica nas camadas de valência do metal (FAULKNER, 1983).

O comportamento eletroquímico dos compostos sintetizados foi estudado pelo uso das técnicas de voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial. As medidas foram realizadas utilizando o método de arranjo convencional contendo três eletrodos, consistindo de um eletrodo de platina como eletrodo de trabalho, um auxiliar de platina e um de referência de Ag/AgCl . Os voltamogramas foram obtidos em solução de acetonitrila utilizando PTBA ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) como eletrólito suporte e velocidade de varredura igual a 100 mV.s^{-1} .

Comportamentos variados foram observados nos estudos eletroquímicos do complexo nitrosilo de rutênio do tipo $\{\text{RuNO}\}^6$, sendo estes

largamente estudados. Baseando-se nos resultados da literatura foram feitas atribuições e discussões envolvendo eletroquímica dos nitrosilos precursores e de seus derivados. Levando em consideração os resultados obtidos neste trabalho e os da literatura, que serão citados mais adiante, foram feitas as atribuições e discussões envolvendo eletroquímica dos nitrosilos precursores e de seus derivados.

Para o complexo $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$ foi obtido o voltamograma, mostrado na FIGURA 37. Na primeira varredura no sentido anódico, não se observa nenhum processo eletroquímico. Continuando a varredura para potencial catódico surgem dois processos bem definidos. Esses processos são atribuídos a reduções $\text{Ru-NO}^+/\text{Ru-NO}^0$, em -700 mV e $\text{Ru-NO}^0/\text{Ru-NO}^-$ em -1207 mV. Após as reduções surgem três processos anódicos: o primeiro em -1078 mV correspondente à oxidação $\text{Ru-NO}^-/\text{Ru-NO}^0$, o segundo em -685 mV correspondente a $\text{Ru-NO}^0/\text{Ru-NO}^+$ e um terceiro, em 1110 mV correspondente á oxidação do NO livre gerado (LOPES, 1997). Outra possível sugestão a esse terceiro processo é a liberação de NO com entrada de solvente (CH_3CN) no complexo, gerando a espécie $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{dmpm})_2(\text{CH}_3\text{CN})]^-$.

Para verificar a possível entrada do solvente (CH_3CN) no composto $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$, foi medida a condutividade de uma solução 1×10^{-3} M em acetonitrila (esquema em FIGURA 36), sem aplicação de potencial, por três dias, e não foi observada nenhuma mudança apreciável no valor de condutividade, mantendo o número de íons em solução, indicando que não houve troca do qualquer ligante pela acetonitrila. Entretanto, é possível que com a saída, via eletroquímica do NO^+ , a espécie $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{dmpm})_2(\text{CH}_3\text{CN})]^-$ tenha sido formada em solução, o que será verificado oportunamente.

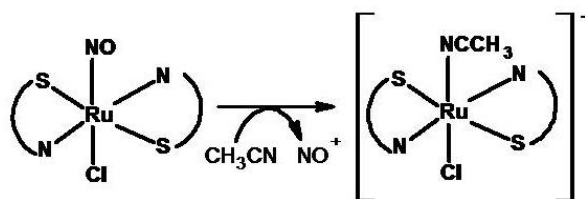


FIGURA 36- Esquema indicando a possível entrada do solvente (CH_3CN) no composto $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$.

Na voltametria de pulso diferencial são observados os mesmos processos detectados nos experimentos de voltametria cíclica. O pico anódico

em 1110 mV, correspondente ao NO livre foi detectado, pois iniciou-se a varredura em -1500 mV, onde o NO já tinha sido gerado em solução. Para confirmar que o NO gerado era liberado, foi realizada uma eletrólise cujos resultados são discutidos na seguinte seção (4.1.6.1).

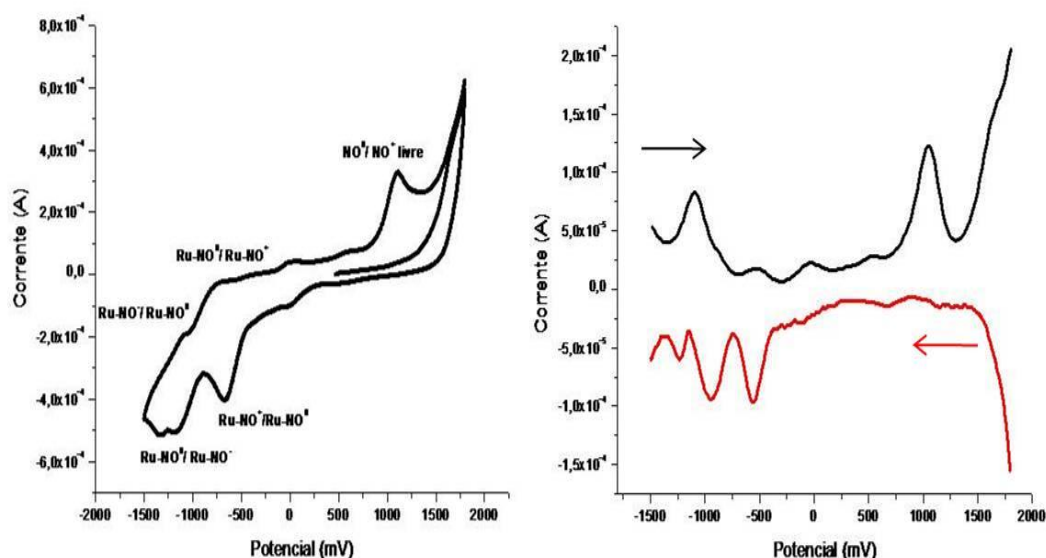


FIGURA 37- Voltamograma cíclico do $[RuCl(dmpm)_2(NO)]$ em acetonitrila (eletrólito suporte: 0,1 M PTBA vs Ag/AgCl; 100 mVs^{-1}) e voltmetria de pulso diferencial.

4.1.6.1 Estudos de liberação de NO - Eletrólise

Para esse mesmo complexo foi realizada uma eletrólise a 1200 mV para certificar-se que o NO gerado poderia ser liberado. Uma vez terminada a eletrólise, foi feito um voltamograma, mostrado na FIGURA 38 (em cor vermelho), e também foi obtido um espectro de absorção na região do infravermelho para verificar se o NO foi liberado ou não. Isto é facilmente observado nesse espectro, mediante o desaparecimento ou eliminação da banda correspondente ao estiramento correspondente á $\nu\text{ NO}$, já que esta banda é intensa no espectro de absorção na região do infravermelho, que no caso deste composto foi em 1857 cm^{-1} . O aparecimento de um pico no espectro de absorção na região do IV, em torno de 2000 cm^{-1} é indicativo da presença da acetonitrila no complexo, sugerindo que com a saída do nitrosilo,

após sua redução, a acetonitrila se incorpora da esfera de coordenação do centro metálico, formando o $\text{NBu}_4[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{dmpm})_2(\text{CH}_3\text{CN})]$.

O espectro de absorção na região do infravermelho do produto da eletrólise é mostrado na FIGURA 39, confirmando a liberação do NO mediante o desaparecimento dessa banda. O experimento também foi acompanhado por medidas de voltametria de pulso diferencial em distintos tempos, onde é observado o consumo com o tempo do pico em 1050 mV (ver FIGURA 40).

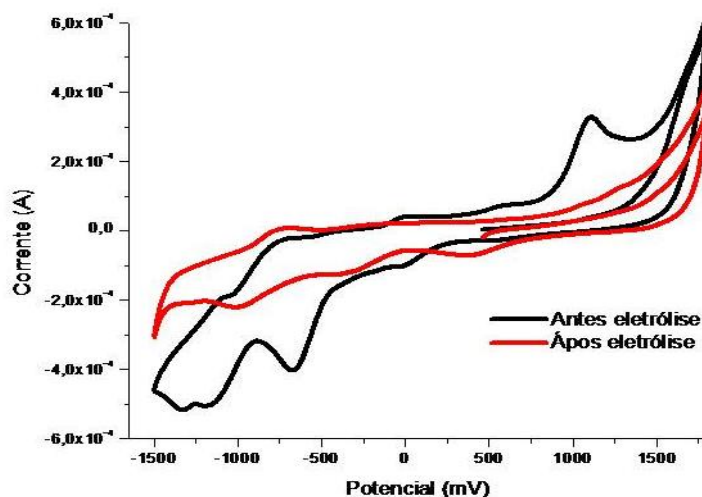


FIGURA 38- Voltamograma cíclico do $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$ em acetonitrila (eletrólito suporte: 0,1 M PTBA vs Ag/AgCl; 100 mVs^{-1}) antes e depois da eletrólise.

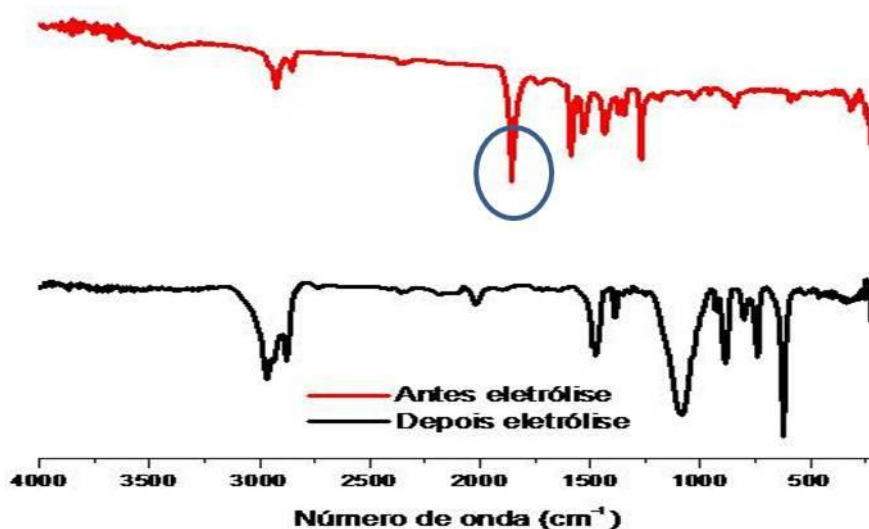


FIGURA 39- espectro de absorção na região do infravermelho do $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$ antes (em vermelho) e depois (em preto) do produto gerado durante a eletrólise, em pastilha de KBr.

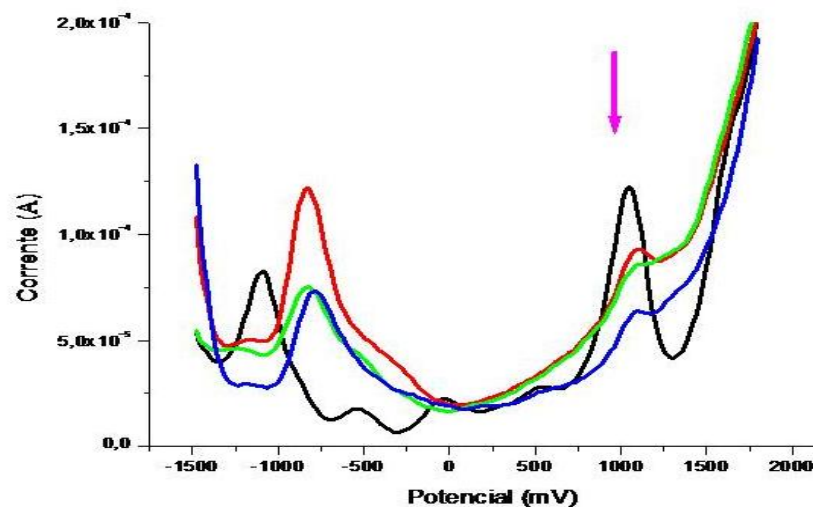


FIGURA 40- Voltametria de pulso diferencial do $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$ em acetonitrila (eletrólito suporte: 0,1 M PTBA vs Ag/AgCl; 100 mVs^{-1}).

4.1.7 Difração de Raios X

A técnica de difração de Raios X é uma ferramenta para determinar a conformação dos átomos das moléculas no espaço.

Cristais de $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$ foram obtidos pela evaporação lenta do sólido obtido em uma solução de diclorometano à temperatura ambiente. A estrutura cristalina apresentou geometria octaédrica, ligeiramente distorcida, devido à presença de diferentes átomos na esfera de coordenação do centro metálico.

Na FIGURA 41 pode observar-se a estrutura ORTEP do complexo, com 50 % de probabilidade. Os ligantes dmpm encontram-se na posição equatorial da molécula, ligando-se ao rutênio de modo bidentado pelos átomos de nitrogênio e enxofre. Também se observa nesta estrutura, que átomos iguais se encontram em posição *trans*, ou seja, enxofre *trans* a enxofre e nitrogênio *trans* a nitrogênio. O ligante nitrosilo é praticamente linear, com um ângulo de $175,4^\circ$. Essa informação em conjunto com os comprimentos das ligações Ru-N bem como a frequência de estiramento do NO em 1857 cm^{-1} , confirmam o nitrosilo coordenando na forma NO^+ , sendo semelhante ao observado para outros nitrosilos complexos sintetizados em nosso grupo de

pesquisa, cujas estruturas cristalográficas foram resolvidas (GOLFETO, 2008; VON POELHSITZ *et al*, 2002; VON POELHSITZ *et al*, 2006).

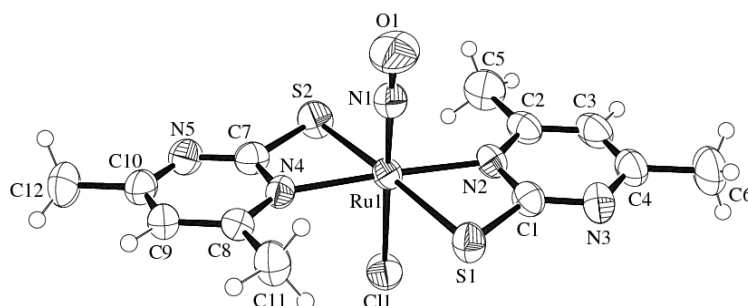


FIGURA 41- Estrutura ORTEP do complexo $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$. Elipsóides térmicas com 50 % de probabilidade.

Na TABELA 16 são listados os comprimentos de ligação do rutênio com o íon nitrosônio (NO^+), e do cloreto *trans* ao NO, o ângulo Ru-N-O e o valor da frequência νNO de vários outros complexos sintetizados em nosso laboratório.

TABELA 16- Principais valores de distâncias [Å] e ângulos [$^\circ$] e νNO (em cm^{-1}).

Composto	$d(\text{Ru-Cl})^a$	$d(\text{Ru-NO})$	$d(\text{N-O})$	$\angle\text{Ru-N-O}$	νNO
$[\text{RuCl}_2(\text{NO})\text{dppp}(\text{py})]\text{PF}_6^b$	2,3509(11)	1,722(4)	1,158(5)	177,7(4)	1877
$[\text{RuCl}_2(\text{NO})\text{dppp}(4\text{-Mepy})]\text{PF}_6^b$	2,3442(11)	1,736(4)	1,128(4)	177,7(4)	1875
$[\text{RuCl}_2(\text{NO})\text{dppp}(4\text{-Phpy})]\text{PF}_6^b$	2,3475(16)	1,722(5)	1,155(6)	178,0(5)	1867
<i>fac</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{NO})\text{dppm}]^c$	2,3584(2)	1,787(6)	1,029(6)	178,7(6)	1876
<i>fac</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{NO})\text{dppe}]^c$	2,350(1)	1,750(3)	1,128(5)	178,6(4)	1874
<i>fac</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{NO})\text{dppp}]^c$	2,3679(13)	1,734(5)	1,152(5)	176,9(4)	1875
$[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2\text{NO}]^d$	2,3432(9)	1,733(3)	1,152(4)	175,4(3)	1857

^a*trans* ao NO; ^b GOLFETO, 2008; ^c VON POELHSITZ *et al*, 2006; ^d Este trabalho.

Na TABELA 16 observa-se que o ligante nitrosilo é essencialmente linear, com valores de $\angle\text{Ru-N-O}$ próximos à 180° , apesar de que esses valores não têm uma correlação com respeito à νNO , pois pequenas variações no ângulo, podem modificar à νNO muito (20 cm^{-1}) ou pouco (1 cm^{-1}).

A distância Ru-N deve refletir a extensão da retrodoação entre os centros de Ru e NO envolvidos. Deste modo, era de se esperar que a $d(\text{Ru-N})$ diminuísse na medida em que a intensidade desta ligação aumentasse. Isto implica que um acúmulo de densidade eletrônica sobre o orbital π^* NO deve significar uma diminuição da energia νNO . Como evidenciado pelos resultados da Tabela 16 não há correlação entre valores de νNO e as distâncias $d(\text{Ru-N})$ e $d(\text{N-O})$ apesar de ocuparem uma significativa faixa de valores, respectivamente de 1,722 a 1,787 Å e de 1,029 a 1,158 Å (VON POELHSITZ, 2005b). As distâncias Ru-Cl são semelhantes ao encontrado em complexos análogos (BATISTA *et al*, 1997 e VON POELHSITZ *et al*, 2002).

Na FIGURA 42 mostra-se a cela unitária para o complexo $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$, a qual se mostrou constituída por quatro moléculas de composto.

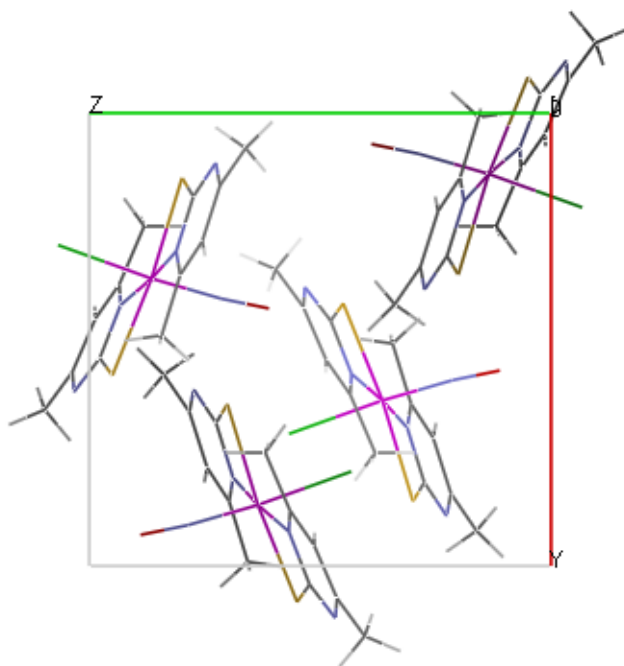


FIGURA 42- Estrutura cristalográfica da cela unitária do cristal de $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$.

A FIGURA 43 mostra as ligações de hidrogênio entre átomos de moléculas vizinhas na estrutura cristalina do $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$. Pode-se observar que as vizinhanças do H9 e H3 são diferentes em termos de ligações de hidrogênio, podendo gerar diferenças nos deslocamentos químicos destes

hidrogênios, que esperava-se, inicialmente, serem simétricos. Essa diferença pode explicar a presença dos dois singletos de hidrogênios de anéis aromáticos obtidos no RMN de ^1H do composto. (ver FIGURA 35). É interessante ressaltar que estas ligações de hidrogênio permanecem mesmo quando o composto é dissolvido em CDCl_3 .

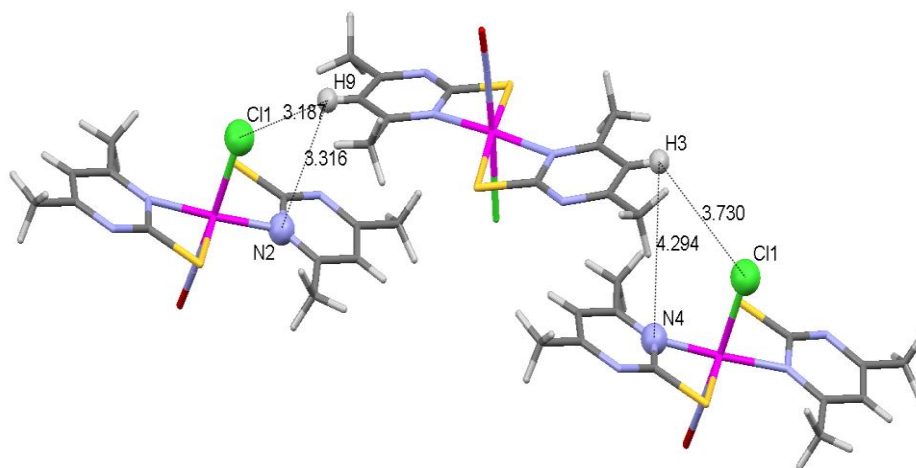


FIGURA 43- Ligações de hidrogênio entre átomos de moléculas vizinhas, na estrutura cristalina do $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2(\text{NO})]$.

TABELA 17- Dados cristalográficos de refinamento da estrutura de [RuCl(dmpm)₂(NO)].

Fórmula empírica	C₁₂H₁₄N₅OS₂ClRu
Peso molecular	444,92
Temperatura	293(2) K
Comprimento de onda	0,71073 Å
Sistema cristalino	Ortorrômbico
Grupo espacial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Dimensões da cela unitaria	a = 10,5309(3) Å b = 10,6960(2) Å c = 15,0784(5) Å
Volume	3924,19(8) Å ³
Z	4
Densidade (calculada)	1,740 Mg/m ³
Coeficiente de absorção	1,333 mm ⁻¹
F(000)	888
Tamanho do cristal	0,22 x 0,27 x 0,35 mm ³
Faixa de ângulos θ para a aquisição	3,81 to 26,37°
Faixa de índices	-13 ≤ h ≤ 13, -13 ≤ k ≤ 13, -17 ≤ l ≤ 18
Reflexões coletadas	
Reflexões independentes	3415 [R(int) = 0,0319]
Compleitude a theta = 26.37°	98,3 %
Correção da absorção	Gaussiano
Max e min. de transmissão	0,813 and 0,646
Método de refinamento	Matriz de mínimos quadrados em F ²
Dados / parâmetros	3415 / 0 / 204
Bondade do ajuste F ²	1,059
Índices R final [I>2sigma(I)]	R1 = 0,0307, wR2 = 0,0778
Índices R (todos os dados)	R1 = 0,0309, wR2 = 0,0781
Parâmetro de estrutura absoluta	0,47(3)
Residual máx., mín.	0,391 and -0,667 e.Å ⁻³

Nas TABELAS 18 e 19 são fornecidos os principais comprimentos e ângulos de ligação do [RuCl(dmpm)₂(NO)].

TABELA 18- Principais distâncias de ligação (Å), presentes no cristal do [RuCl(dmpm)₂(NO)].

Ligação	Distância(Å)
Ru(1)-N(1)	1,733(3)
Ru(1)-N(4)	2,081(3)
Ru(1)-N(2)	2,093(3)
Ru(1)-Cl(1)	2,3432(9)
Ru(1)-S(2)	2,4301(9)
Ru(1)-S(1)	2,4477(9)
C(1)-S(1)	1,723(3)
C(7)-S(2)	1,718(2)
N(1)-O(1)	1,152(4)

As distancias C-S observadas no complexo são maiores que no ligante livre na forma tiona (C=S 1,68 Å) (PENFOLD, 1953) e menores que C-S simples (forma tiol C-S 1,81 Å) (PAULING, 1960), diminuindo o caráter da dupla ligação C=S do ligante no complexo, devido à desprotonação do grupo SH, nas condições de reação. Estes dados estão condizentes com os dados do espectro de absorção na região do infravermelho.

TABELA 19- Principais ângulos de ligação (°), presentes no cristal do [RuCl(dmpm)₂(NO)].

Ligação	Ângulos (°)	Ligação	Ângulos (°)
N(1)-Ru(1)-N(4)	92,66(12)	N(4)-Ru(1)-S(1)	113,58(8)
N(1)-Ru(1)-N(2)	91,51(13)	N(2)-Ru(1)-S(1)	67,28(8)
N(4)-Ru(1)-N(2)	175,75(11)	Cl(1)-Ru(1)-S(1)	86,85(3)
N(1)-Ru(1)-Cl(1)	175,97(11)	S(2)-Ru(1)-S(1)	174,23(3)
N(4)-Ru(1)-Cl(1)	86,98(8)	C(1)-S(1)-Ru(1)	79,76(13)
N(2)-Ru(1)-Cl(1)	88,92(8)	C(7)-S(2)-Ru(1)	79,80(12)
N(1)-Ru(1)-S(2)	95,96(11)	O(1)-N(1)-Ru(1)	175,4(3)
N(4)-Ru(1)-S(2)	67,72(8)	C(2)-N(2)-Ru(1)	136,6(3)
N(2)-Ru(1)-S(2)	110,98(8)	C(1)-N(2)-Ru(1)	103,1(2)
Cl(1)-Ru(1)-S(2)	87,62(4)	C(8)-N(4)-Ru(1)	137,0(2)
N(1)-Ru(1)-S(1)	89,62(11)	C(7)-N(4)-Ru(1)	102,9(2)

4.1.8 Ensaios de citotoxicidade

Para este composto foi avaliada sua citotoxicidade em células de câncer de colo de útero (HeLa), obtendo um valor de IC₅₀ (μM) de 18,4±0,5, indicando um resultado promissor quando comparado com o fármaco padrão (cisplatina), que tem um valor de IC₅₀ (μM) de 100,0.

4.2 Caracterização dos complexos [Ru(pic)₂(dppb)] e [Ru(dmpm)₂(dppb)]

4.2.1 Análise Elementar

Os resultados das análises dos teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre dos compostos sintetizados, mostrados na TABELA 20, fornecem uma indicação de suas composições moleculares, que por sua vez são condizentes com as estruturas propostas.

TABELA 20- Dados dos análises elementares dos compostos sintetizados.

Composto	%C (calc)	%H (calc)	%N (calc)	%S (calc)
[Ru(pic) ₂ (dppb)]•CH ₂ Cl ₂	57,19 (57,44)	3,44 (3,27)	4,34 (4,47)	---
[Ru(dmpm) ₂ (dppb)]	59,64 (59,61)	4,98 (5,25)	6,98 (6,95)	8,29 (7,96)

4.2.2 Medidas de Condutividade Molar

As medidas de condutividade molar (Λ) foram efetuadas utilizando-se concentrações de 1,0x10⁻³ M, em CH₂Cl₂. O resultado foi comparado com valores encontrados na literatura (GEARY,1971; VELHO, 2006). Os valores foram 1,65 μS.cm⁻¹ para [Ru(pic)₂(dppb)] e 3,28 μS.cm⁻¹ para [Ru(dmpm)₂(dppb)], indicam que são moléculas neutras, consistente com as estruturas propostas.

4.2.3 Espectroscopia Eletrônica (UV-vis)

Os espectros eletrônicos dos complexos foram registrados em soluções de diclorometano e apresentaram absorções na região do visível e ultravioleta. As atribuições das bandas observadas nos espectros eletrônicos foram feitas por comparação com os espectros do ligante livre e do precursor. Os espectros estão apresentados na FIGURA 44.

Os espectros dos compostos $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{dppb})]$ e $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$, apresentam similaridades entre si, com bandas na região do UV (até 350 nm), referentes à transições intraligante ($\pi \rightarrow \pi^*$), tanto da bifosfina quanto do pic ou do dmpm (GHATAK *et al*, 1995). Os ombros em 421 nm e 354 nm para o primeiro e o segundo, respectivamente, são atribuídos à transições de transferência de carga metal ligante ($\text{Ru} \rightarrow \text{N}$ -heterocíclicos). Na TABELA 21 mostram-se as atribuições e os valores das absortividades molares.

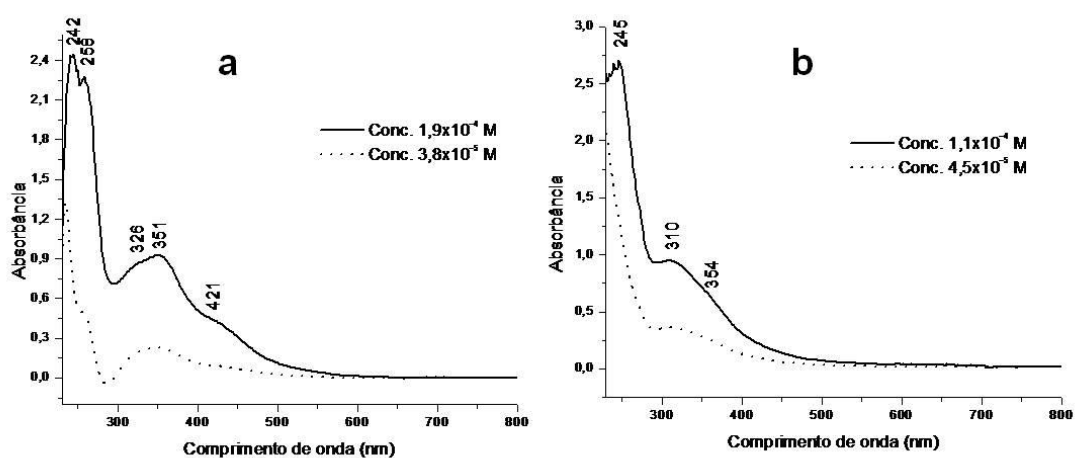


FIGURA 44- Espectros UV-vis do a: $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{dppb})]$ e b: $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$ em CH_2Cl_2 ; caminho óptico 1 cm.

TABELA 21- Resultados obtidos do espectro UV-vis para os complexos [Ru(pic)₂(dppb)] e [Ru(dmpm)₂(dppb)].

Composto	λ (nm)	ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	Transição
[Ru(pic) ₂ (dppb)]	258	11903	$\pi \rightarrow \pi^*$
	326	4603	$\pi \rightarrow \pi^* + \text{TCLM}$
	351	4873	$\pi \rightarrow \pi^* + \text{TCLM}$
	421(ombro)	2324	TCML
[Ru(dmpm) ₂ (dppb)]	245	24154	$\pi \rightarrow \pi^*$
	310	8511	$\pi \rightarrow \pi^* + \text{TCLM}$
	354 (ombro)	6187	$\pi \rightarrow \pi^* + \text{TCLM}$
	425 (ombro)	3872	TCLM

4.2.4 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (IV)

Para os complexos [Ru(pic)₂(dppb)] e [Ru(dmpm)₂(dppb)] (FIGURA 38 (a) e (b)) a coordenação do ligante fosfínico é evidenciada pelas bandas em 1484 (1482 no complexo contendo dmpm), 1435 (1432), 1096 (1092), 743 (747) e 697 (695) cm⁻¹ (TABELA 23), características de fosfinas aromáticas e são praticamente insensíveis à troca dos outros ligantes.

No complexo [Ru(pic)₂(dppb)] (FIGURA 45a), a ligação do metal ao ácido picolínico foi comprovada pelo deslocamento das bandas do carboxilato correspondentes aos estiramentos, tanto assimétricos quanto simétricos em 1630 e 1350 cm⁻¹ ($\Delta=280$ cm⁻¹), respectivamente, que no caso do ligante livre estão em 1607 e 1290 cm⁻¹. Outros complexos sintetizados em nosso laboratório contendo este ligante mostraram que o estiramento simétrico ($\nu_s(\text{COO})$) não muda apreciavelmente entre os complexos e houveram deslocamentos maiores que o primeiro (ver TABELA 22). A diferença entre as freqüências vibracionais ν_{as} e ν_s do grupo -COO⁻ no complexo (315 – 338 cm⁻¹) é um indicativo do tipo de coordenação deste grupo ao metal (NAKAMOTO, 1997), mostrando que este grupo se coordenou ao metal de modo monodentado.

TABELA 22- Estiramentos simétricos e assimétricos de alguns complexos sintetizados em nosso laboratório e seu correspondente Δ (cm^{-1}).

Composto	Banda (cm^{-1})	Δ (cm^{-1})
	$\nu_{\text{as}}(\text{COO})$; $\nu_{\text{s}}(\text{COO})$	
Hpic	1730-1700	
[Ru(pic)(dppb)(bipy)]PF ₆	1671 F; 1333 m	338
[Ru(pic)(dppb)(Me-bipy)]PF ₆ ^a	1658 F; 1334 m	324
[Ru(pic)(dppb)(Cl-bipy)]PF ₆ ^a	1663 F; 1335 m	328
[Ru(pic)(bipy)(dppf)]PF ₆ ^a	1655 m; 1350 m	305
[Ru(pic)(bipy)(dppp)]PF ₆ ^a	1662 m; 1352 f	310
[Ru(pic)(bipy)(dppe)]PF ₆ ^a	1656 F; 1350 m	306
[Ru(pic)(bipy)(dppm)]PF ₆ ^a	1651 F; 1336 M	315
[Ru(pic) ₂ (PPh ₃) ₂] ^b	1652 F; 1335 m	317

^a LIMA, 2010; ^b VON POELHSITZ *et al*, 2007 a

No complexo [Ru(dmpm)₂(dppb)] (FIGURA 45b), as bandas que indicaram a coordenação do ligante 4,6-dimetil-2-mercaptopirimidina ocorreram em 1573, 1529 cm^{-1} , 1432, 1267 e 1191 cm^{-1} , que no ligante livre aparecem em 1631, 1600, 1434, 1269 e 1183 cm^{-1} . A evidência que o rutênio está ligado ao nitrogênio é a diminuição na intensidade da banda que no ligante livre aparece em 848 cm^{-1} e no complexo aparece um uma banda de muito baixa intensidade em 852 cm^{-1} (MARTOS-CALVENTE *et al*,2003; VON POELHSITZ *et al*, 2005a).

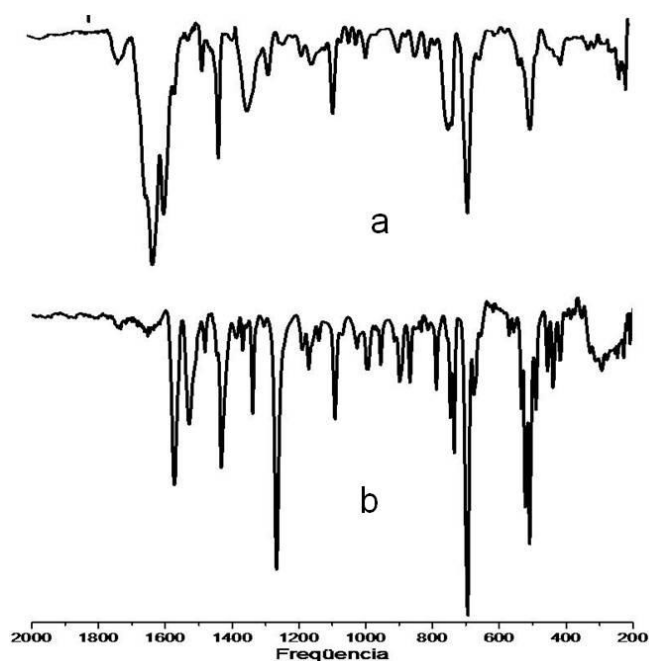


FIGURA 45- Espectros IV a: [Ru(pic)₂(dppb)] e b: [Ru(dmpm)₂(dppb)] em pastilla de KBr.

TABELA 23- Frequências (cm⁻¹) correspondentes às principais bandas e atribuições dos espectros no IV dos complexos [Ru(dppb)(pic)₂] e [Ru(dppb)(dmpm)₂].

Atribuição	[Ru(dppb)(pic) ₂]	[Ru(dmpm) ₂ (dppb)]
ν CH (Φ)	3080 sh 3022f	3061 f; 3041 f
ν_{as} CH ₂	2926 f	2917 f
ν_{as} COO	1630 f	
ν C=C + ν C=N	1565 m	1573 m; 1529 m
ν C=C (Φ) fosf.	1597F,1435F	1482f; 1432m
ν_s COO	1350 m	
ν C-S		1267 F
ν C-S em NHC-S		1191 f; 1171 f
ν C-O	1158	
ν P-C	1096 m	1091 m
ν P-C alifático	742 m	746 f
γ Anel	697 F	696 F
ν Ru-N	618 f	618 f
δ P-C	511 m	523 F; 510 F
ν Ru-N	544 f	
ν Ru-S		311 f

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.

Comparando os complexos, [RuCl(dmpm)₂(NO)] e [Ru(dmpm)₂(dppb)], contendo o ligante 4,6-dimetil-2-mercaptopirimidina, as bandas correspondentes ao ligante não sofrem deslocamentos significativos quando coordenadas. As bandas correspondentes aos estiramentos ν C=C e ν C=N aparecem em 1587 e 1529 cm⁻¹ para o primeiro complexo e em 1573; 1529 cm⁻¹ para o segundo, ν N=C + δ (CH)+ δ (NH) nos dois complexos aparecem em 1432 e 1434 cm⁻¹, e o estiramento correspondente a ν C-S aparece em 1269 cm⁻¹ para o primeiro e 1267 cm⁻¹ para o segundo complexo (MARTOS-CALVENTE *et al*,2003). Esses estiramentos também são mantidos para outros complexos, sintetizados em nosso laboratório. Na TABELA 24 são dados alguns exemplos, apresentando intensidades da mesma ordem de magnitude.

TABELA 24- Valores de freqüências de estiramento de interes, de alguns compostos sintetizados em nosso laboratório.

Complexo	ν C=C e	ν N=C +	ν C-S
	ν C=N	δ (CH)+ δ (NH)	
[Ru(dmpm, -N,S)(dmpm – S)(NO)(dppe)](PF ₆) ^a	1588; 1524	1437	1248
[Ru(dmpm, -N,S)(dmpm – S)(NO)(c-dppen)](PF ₆) ^a	1588; 1524	1437	1248
[Ru(dmpm)(bipy)(dppf)] ^b	1602; 1525	1435	1269
[Ru(dmpm)(bipy)(dppe)]PF ₆ ^b	1603; 1529	1435	1269
[Ru(dmpm)(bipy)(dppp)]PF ₆ ^b	1603; 1527	1435	1269
[Ru(dmpm) ₂ (dppb)] ^c	1573, 1529	1432	1267
[RuCl(dmpm) ₂ (NO)] ^c	1583, 1529	1434	1269

^a (VON POELHSITZ et al, 2005a); ^b (LIMA, 2010); ^c Este trabalho; Freqüências em cm-1

4.2.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Para os compostos [Ru(pic)₂(dppb)] e [Ru(dmpm)₂(dppb)] espectros RMN de ³¹P{¹H} foram obtidos em CH₂Cl₂ e apresentaram um singlete em 46,2 ppm para o primeiro e 47,5 ppm para o segundo complexo (FIGURA 46 (a) e (b)), o que significa que os átomos de fósforo são magneticamente equivalentes. Isto nos diz que os átomos de fósforo encontram-se *trans* a um mesmo tipo de átomo, no caso, nitrogênio que é comum a ambos os ligantes. As estruturas dos cristais destes compostos foram resolvidas (do item 4.2.7), mostrando que, de fato, os nitrogênios são os átomos que estão *trans* aos átomos de fósforo.

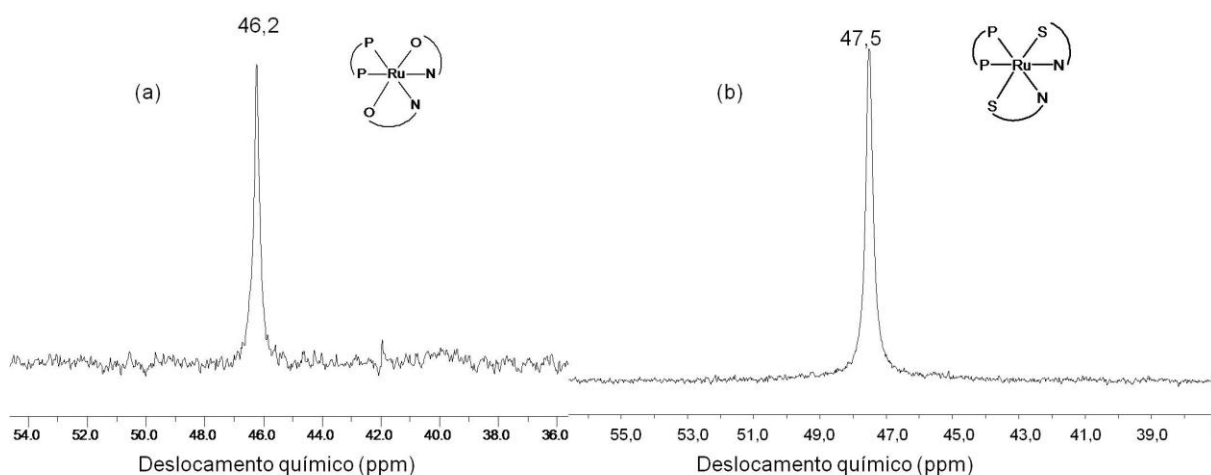


FIGURA 46- Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos a: $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{dppb})]$ e b: $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$ em CH_2Cl_2 (capilar de D_2O)

O complexo $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{PPh}_3)_2]$, previamente sintetizado e caracterizado em nosso laboratório mostrou também um singlete em 49,1 ppm (PAVAN *et al*, 2010), apoiando a idéia que os átomos *trans* ao fósforos das fosfinas são os nitrogênios.

4.2.6 Medidas Eletroquímicas (Voltametria Cíclica e Voltametria de Pulso Diferencial)

O estudo eletroquímico para o complexo contendo ácido picolínico mostrou um processo quasi-reversível com $E_{1/2} = 638,5$ mV ($E_{\text{pa}} = 702$ mV e $E_{\text{pc}} = 575$ mV) correspondente ao par redox $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$, com $i_{\text{pa}}/i_{\text{pc}} = 1,1$ (FIGURA 47). Se comparamos com o potencial encontrado para o $[\text{Ru}(2\text{-pyS})_2(\text{dppb})]$ encontra-se $E_{1/2} = 340,0$ mV, significando que este último apresenta um centro metálico menos estabilizado com respeito ao primeiro devido à presença de um ligante com maior capacidade doadora de elétrons ((VON POELHSITZ *et al*, 2005b). Por outro lado, com o complexo $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{PPh}_3)_2]$ sintetizado em nosso laboratório, observou-se uma variação em +40 mV no valor de $E_{1/2}$ (680,0 mV), e igual E_{pc} (580 mV), indicando que a mudança da fosfina não altera muito a região onde se encontra o processo redox $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$.

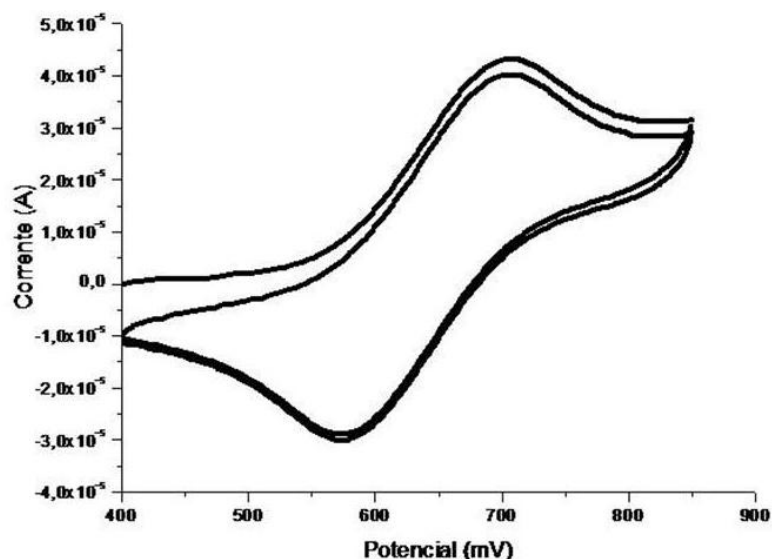


Figura 47– Voltamograma cíclico de $[Ru(dppb)(pic)_2]$ em diclorometano (eletrólito suporte: 0,1 M PTBA vs Ag/AgCl; 100 mVs^{-1}).

Para o complexo $[Ru(dmpm)_2dppb]$, estudo eletroquímico mostrou um processo quase-reversível com $E_{1/2} = 432\text{ mV}$ ($E_{pa} = 495\text{ mV}$ e $E_{pc} = 369\text{ mV}$), correspondente ao par redox Ru^{III}/Ru^{II} (FIGURA 48).

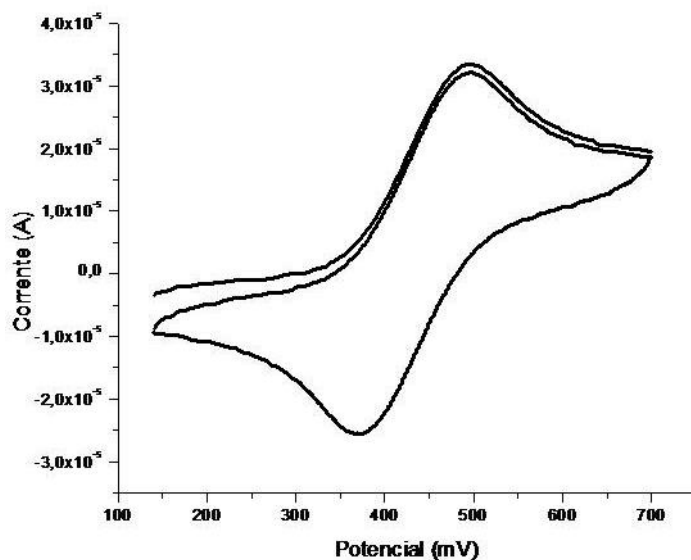


Figura 48 – Voltamograma cíclico de $[Ru(dmpm)_2(dppb)]$ em diclorometano (eletrólito suporte: 0,1 M PTBA vs Ag/AgCl; 100 mVs^{-1}).

4.2.7 Difração de Raios X

Cristais dos complexos $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{dppb})]$ e $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$ foram obtidos pela evaporação lenta dos sólidos obtidos em soluções de diclorometano, à temperatura ambiente. As estruturas cristalinas apresentaram geometria octaédrica dos complexos, ligeiramente distorcidas, devido à presença de diferentes átomos na esfera de coordenação do centro metálico. O rutênio, como mostra a FIGURA 49 está ligado a dois átomos de fósforo provenientes da difenilfosfinabutano, e as duas moléculas dos outros ligantes, coordenadas de forma bidentadas ao rutênio por um nitrogênio *trans* ao fósforo e o outro heteroátomo em outra posição. Este resultado demonstrou que a hipótese discutida no item 4.2.5 foi confirmada, sendo os nitrogênios os átomos *trans* ao fósforo.

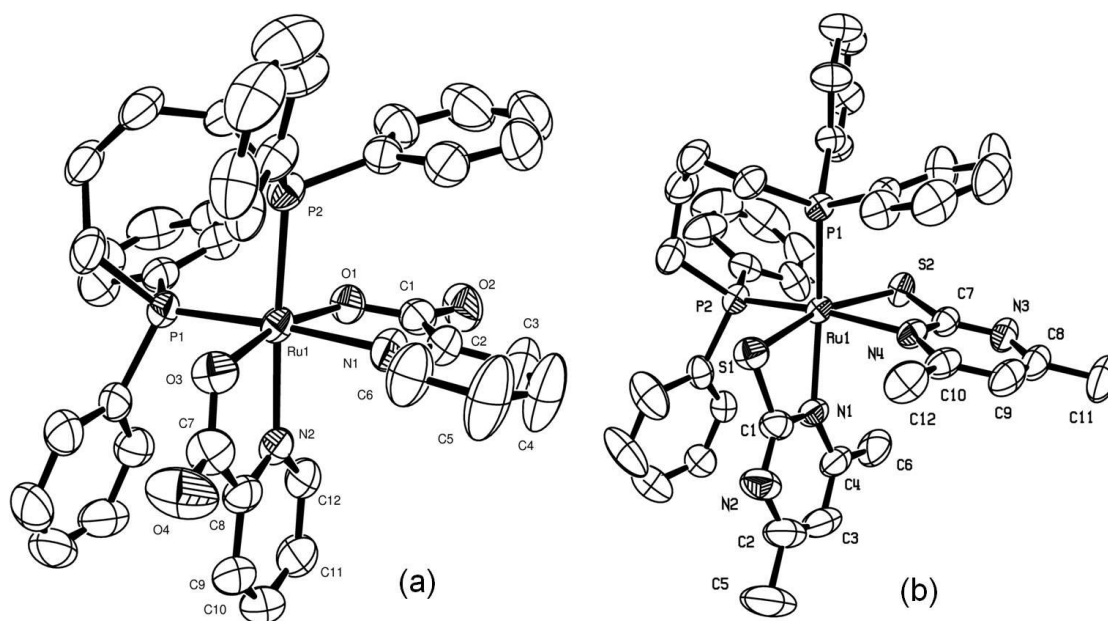


FIGURA 49- Estruturas ORTEP dos complexos (a) $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{dppb})]$ e (b) $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$. Elipsóides térmicos com 50 % de probabilidade.

Nas TABELAS 25, 26 e 27 são apresentados os dados de refinamento das estruturas da FIGURA 40, assim como os comprimentos das ligações do rutênio com os ligantes dmpm, pic e dppb, e os principais ângulos contendo o átomo de rutênio. Na TABELA 28 são apresentados os

comprimentos de ligação Ru-N, Ru-O e Ru-S de outros compostos sintetizados em nosso laboratório com os ligantes pic e dmpm.

TABELA 25- Dados de refinamento das estruturas dos complexos (a) [Ru(pic)₂(dppb)] e (b) [Ru(dmpm)₂(dppb)].

Fórmula empírica	C₄₀ H₃₆ N₂ O₄ P₂ Ru (•H₂O•0,5 CH₃OH) (a)	C₄₀ H₄₂ N₄ P₂ Ru S₂ (b)
Peso molecular	805,76	805,91
Temperatura	296(2) K	296(2) K
Comprimento de onda	0,71073 Å	0,71073 Å
Sistema cristalino	Monoclínico	Triclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /n	P $\bar{1}$
Dimensões da cela unitaria	a = 15,9275(2) Å	a = 11,7322(2) Å
	b = 11,49100(10) Å	b = 12,3193(2) Å
	c = 20,8163(2) Å	c = 14,5400(3) Å
Volume	3717,77(7) Å ³	1880,97(6) Å ³
Z	4	2
Densidade (calculada)	1,440 Mg/m ³	1,423 Mg/m ³
Coeficiente de absorção	0,556 mm ⁻¹	0,647 mm ⁻¹
F(000)	1660	832
Tamanho do cristal	0,40 x 0,33 x 0,21 mm ³	1,00 x 0,46 x 0,26 mm ³
Faixa de ângulos θ para a aquisição	1,47 to 26,31°.	1,46 to 26,37°.
Faixa de índices	-18 ≤ h ≤ 19, -14 ≤ k ≤ 13, -25 ≤ l ≤ 25	-14 ≤ h ≤ 4, -15 ≤ k ≤ 15, -18 ≤ l ≤ 18
Reflexões coletadas	32354	28472
Reflexões independentes	7555 [R(int) = 0,0305]	7649 [R(int) = 0,0177]
Completitude a theta = 26.31°	99,9 %	99,5 %
Correção da absorção	A partir de equivalentes semi-empíricos	A partir de equivalentes semi-empíricos
Max e min. de transmissão	0,7454 e 0,6589	0,7454 e 0,6397
Método de refinamento	Matriz de mínimos quadrados em F ²	Matriz de mínimos quadrados em F ²
Dados / parâmetros	7555 / 0 / 471	7649 / 0 / 446
Bondade do ajuste F ²	1,032	1,040
Índices R final [$I > 2\sigma(I)$]	R1 = 0,0354, wR2 = 0,0776	R1 = 0,0276, wR2 = 0,0707
Índices R (todos os dados)	R1 = 0,0543, wR2 = 0,0859	R1 = 0,0313, wR2 = 0,0739
Parâmetro de estrutura absoluta	0,449 and -0,339 e.Å ⁻³	1,003 and -0,535 e.Å ⁻³

TABELA 26- Principais distâncias de ligação (Å) dos complexos (a) [Ru(pic)₂(dppb)] e (b) [Ru(dmpm)₂(dppb)].

Ligação	Distância(Å) (a)	Ligação	Distância(Å) (b)
Ru(1)-O(1)	2,0829(17)	Ru(1)-N(1)	2,1808(18)
Ru(1)-O(3)	2,0922(18)	Ru(1)-N(4)	2,2300(17)
Ru(1)-N(2)	2,106(2)	Ru(1)-P(1)	2,2602(5)
Ru(1)-N(1)	2,118(2)	Ru(1)-P(2)	2,2683(6)
Ru(1)-P(1)	2,2886(7)	Ru(1)-S(2)	2,4120(5)
Ru(1)-P(2)	2,3012(7)	Ru(1)-S(1)	2,4159(6)

TABELA 27- Principais ângulos de ligação (°) dos complexos (a) [Ru(pic)₂(dppb)] e (b) [Ru(dmpm)₂(dppb)].

	Ângulos (°) (a)		Ângulos (°) (b)
O(1)-Ru(1)-O(3)	166,99(7)	N(1)-Ru(1)-N(4)	80,73(7)
O(1)-Ru(1)-N(2)	91,40(7)	N(1)-Ru(1)-P(1)	162,58(5)
O(3)-Ru(1)-N(2)	77,73(8)	N(4)-Ru(1)-P(1)	95,03(5)
O(1)-Ru(1)-N(1)	78,08(8)	N(1)-Ru(1)-P(2)	92,50(5)
O(3)-Ru(1)-N(1)	93,50(8)	N(4)-Ru(1)-P(2)	167,46(5)
N(2)-Ru(1)-N(1)	83,95(8)	P(1)-Ru(1)-P(2)	94,46(2)
O(1)-Ru(1)-P(1)	100,34(5)	N(1)-Ru(1)-S(2)	102,44(5)
O(3)-Ru(1)-P(1)	87,18(6)	N(4)-Ru(1)-S(2)	66,52(5)
N(2)-Ru(1)-P(1)	91,23(6)	P(1)-Ru(1)-S(2)	91,12(2)
N(1)-Ru(1)-P(1)	174,86(6)	P(2)-Ru(1)-S(2)	105,13(2)
O(1)-Ru(1)-P(2)	89,92(5)	N(1)-Ru(1)-S(1)	67,09(5)
O(3)-Ru(1)-P(2)	100,29(6)	N(4)-Ru(1)-S(1)	99,80(5)
N(2)-Ru(1)-P(2)	174,76(6)	P(1)-Ru(1)-S(1)	97,32(2)
N(1)-Ru(1)-P(2)	91,36(7)	P(2)-Ru(1)-S(1)	87,08(2)
P(1)-Ru(1)-P(2)	93,53(2)	S(2)-Ru(1)-S(1)	164,61(2)
C(19)-P(1)-Ru(1)	121,35(9)	C(13)-P(1)-Ru(1)	109,28(7)
C(13)-P(1)-Ru(1)	110,50(8)	C(19)-P(1)-Ru(1)	126,24(7)
C(25)-P(1)-Ru(1)	117,23(11)	C(25)-P(1)-Ru(1)	114,14(8)
C(35)-P(2)-Ru(1)	109,79(8)	C(29)-P(2)-Ru(1)	118,76(8)
C(29)-P(2)-Ru(1)	118,91(11)	C(28)-P(2)-Ru(1)	116,94(9)
C(28)-P(2)-Ru(1)	122,11(10)	C(35)-P(2)-Ru(1)	113,45(7)
C(7)-O(3)-Ru(1)	116,70(18)	C(7)-S(2)-Ru(1)	83,15(8)
C(1)-O(1)-Ru(1)	116,81(18)	C(1)-S(1)-Ru(1)	82,04(8)
C(12)-N(2)-C(8)	118,5(2)	C(4)-N(1)-Ru(1)	141,72(18)
C(12)-N(2)-Ru(1)	127,28(19)	C(1)-N(1)-Ru(1)	100,03(14)
C(8)-N(2)-Ru(1)	114,20(17)	C(10)-N(4)-Ru(1)	143,35(16)
C(6)-N(1)-Ru(1)	127,9(2)	C(7)-N(4)-Ru(1)	98,85(12)
C(2)-N(1)-Ru(1)	113,22(19)		

TABELA 28- Distâncias dos heteroátomos dos ligantes dmpm e pic ao rutênio em outros compostos do rutênio.

	d (Ru-N) (Å)	d (Ru-S) (Å)	d (Ru-O)
[Ru(dmpm)(bipy)(dppb)]PF ₆ ^a	2,177(2)	2,4059(9)	
[Ru(dmpm)(bipy)(dppe)]PF ₆ ^b	2,161(3)	2,4032(8)	
[Ru(dmpm)(bipy)(dppp)]PF ₆ ^b	2,1630(18)	2,4061(6)	
[Ru(dmpm)(bipy)(dppf)]PF ₆ ^b	2,165(3)	2,3921(10)	
[Ru(dmpm-N,S)(dmpm-S)(NO)(dppe)]PF ₆ ^c	2,105(9)	Ru(S) 2,430(3); Ru(N,S)2,419(3)	
[Ru(dmpm) ₂ (dppb)] ^d	2,1808(18); 2,2300(17)	2,4120(5); 2,4159(6)	
[Ru(pic)(bipy)(dppf)]PF ₆ ^b	2,118(2)		2,0935(19)
[Ru(pic)(bipy)(dppe)]PF ₆ ^b	2,131(3)		2,087(10)
[Ru(pic) ₂ (dppb)] ^d	2,106(2); 2,118(2)		2,0829(17) 2,0922(18)

^aNASCIMENTO *et al*, 2008; ^b LIMA, 2010; ^c VON POELHSITZ *et al*, 2005 a; ^d Este trabalho

Na Tabela 28 os comprimentos de ligação Ru-N dos compostos contendo pic são menores que em compostos contendo dmpm. Uma explicação ao encontrado pode ser devido a que quando o pic está ligado de modo bidentado ao íon metálico forma anéis de cinco membros, muito estáveis e dando maior rigidez ao complexo, enquanto que o ligante dmpm quando coordenado de modo bidentado forma anéis de quatro membros, menos estáveis. Os comprimentos de ligação Ru-S são maiores que os de Ru-N, isso se deve ao fato de o enxofre apresentar raio atômico (1,04 Å) maior que o raio atômico do nitrogênio (0,70 Å). O complexo [Ru(dmpm-N,S)(dmpm-S)(NO)(dppe)]PF₆ apresenta o maior comprimento de ligação Ru-S, pois o ligante dmpm se acha coordenado de modo monodentado, menos estável. Também, a partir da tabela, é observado que os comprimentos de ligação Ru-O são menores que os de Ru-N, isto se deve a que o raio atômico do oxigênio (0,66 Å) é menor que o de nitrogênio (0,70 Å). Em resumo, os comprimentos de ligação são Ru-S > Ru-N > Ru-O, para os complexos da TABELA 28.

4.2.8 Ensaios de citotoxicidade

Os dois complexos e seus ligantes foram testados nas seguintes linhagens: MDA-MB231 (câncer de mama), U251 (câncer do sistema nervoso), V79 (fibroblastos de pulmão de hamster chinês). Os resultados estão apresentados na TABELA 29.

TABELA 29- Valores de IC₅₀ (μM) dos complexos contra a linhagem celular derivada de tumor humano MDA-MB231, U251 e V79.

Complexos	IC ₅₀ (μM)		
	MDA-MB231	U251	V79
[Ru(pic) ₂ (dppb)]	2,5 ± 1,4	150	9,5 ± 1,2
[Ru(dmpm) ₂ (dppb)]	>200	> 103	40
picH	>200	>200	103,2 ± 2,7
dmpm	>200	>452	>200
cisplatina	87,5 ± 12,6	50	200

Para que uma substância apresente atividade promissora como antitumoral, é desejável maior toxicidade em células cancerosas que em células saudas, isto quer dizer que o IC₅₀ do complexo em células cancerosas deve ser menor que em células saudas.

Neste caso o composto mais promissor é [Ru(pic)₂(dppb)], pois em células de câncer de mama (MDA-MB231) apresenta um IC₅₀ menor quando comparado com a droga de referência (cisplatina). Além disso a citotoxicidade nessas células é quase quatro vezes maior do que nas células saudas, indicando que o complexo inibe mais o crescimento em células cancerosas que saudas. Por outro lado, o complexo [Ru(dmpm)₂(dppb)] não foi suficientemente efetivo nas células cancerosas testadas. A única diferença entre estes dois compostos é a presença de ligantes diferentes, mas esses ligantes foram também avaliados nas mesmas condições não mostrando atividade, o que poderia estar indicando que esses complexos atuam como tais na célula, sendo então de interesse conhecer, por exemplo, outras propriedades físico-químicas, não estudadas neste trabalho, como o coeficiente de repartição do complexo, para ver que quantidade de complexo está alcançando a célula ou a quantidade de rutênio presente na célula.

Outro dado interessante é o valor de IC₅₀ (18,4 µM) encontrado para o composto [RuCl(dmpm)₂NO], sintetizado neste trabalho, quando comparado com o [Ru(dmpm)₂(dppb)], o qual não está mostrando atividade citotóxica. Apesar que foram estudados em linhagens diferentes, são comparados com a referência, o cisplatina.

Outros compostos sintetizados em nosso laboratório contendo esses ligantes tem se mostrado muito ativos. Na TABELA 30 mostram-se os resultados de IC₅₀ obtidos em linhagem MDA-MB231.

TABELA 30- Valores de IC₅₀ dos complexos contra a linhagem celular derivada de tumor humano MDA-MB231 (ensaio em DMSO).

Compostos	IC₅₀ (µmol.L⁻¹)
[Ru(dmpm)(bipy)(dppf)]PF ₆ ^a	0,18 ± 1,61
[Ru(dmpm)(bipy)(dppp)]PF ₆ ^a	0,19 ± 0,52
[Ru(dmpm)(bipy)(dppe)]PF ₆ ^a	0,14 ± 1,19
[Ru(dmpm)(bipy)(dppb)]PF ₆ ^b	0,46 ± 0,02
[Ru(dmpm)(Me-bipy)(dppb)]PF ₆ ^b	0,43 ± 0,08
[Ru(dmpm-N,S)(dmpm-S)(NO)(dppe)]PF ₆ ^c	2- 20
[Ru(pic)(bipy)(dppf)]PF ₆ ^a	0,4 ± 0,1
[Ru(pic)(bipy)(dppp)]PF ₆ ^a	3,3 ± 0,2
[Ru(pic)(bipy)(dppe)]PF ₆ ^a	7,6 ± 0,1
[Ru(pic)(bipy)(dppm)]PF ₆ ^a	14,58 ± 4,47
<i>cis</i> -[Ru(pic)(dppm) ₂]PF ₆ ^d	0,48 ± 0,13
<i>cis</i> -[Ru(pic)(dppe) ₂]PF ₆ ^d	0,53 ± 0,16
<i>cis</i> -[Ru(pic) ₂ (PPh ₃) ₂] ^d	20 – 200
[Ru(pic)(bipy)(dppb)]PF ₆ ^e	4,2 ± 1,5
[Ru(pic)(Me-bipy)(dppb)]PF ₆ ^e	1,2 ± 0,1
[Ru(pic)(Cl-bipy)(dppb)]PF ₆ ^e	4,4 ± 0,6

^a LIMA, 2010; ^b NASCIMENTO *et al*, 2008; ^c VON POELHSITZ *et al*, 2005 a; ^d VON POELHSITZ *et al*, 2007 a; ^e SOUZA *et al*, 2007

Como é mostrado na TABELA 30, a maioria destes complexos apresentaram uma ótima atividade citotóxica contra células MDA-MB231, com valores muito menores que o fármaco padrão (cisplatina, IC₅₀ mostrado na TABELA 29). Como exemplo podemos citar os compostos [Ru(dmpm)(bipy)(dppb)]PF₆ e [Ru(dmpm)(Me-bipy)(dppb)]PF₆, que

apresentaram o mesmo IC_{50} , enquanto que para o complexo $[Ru(dmpm)_2(dppb)]$ o IC_{50} foi maior a 200 μM . Outro exemplo são os complexos $[Ru(pic)(bipy)(dppb)]PF_6$ e $[Ru(pic)(Me-bipy)(dppb)]PF_6$ que, quando avaliados apresentaram uma diferença maior nos IC_{50} com respeito ao caso anterior, mas é mantida a ordem do IC_{50} ($\mu mol.L^{-1}$). Por outro lado, os complexos $[Ru(pic)_2(dppb)]$ e $[Ru(pic)_2(PPh_3)_2]$ mostraram comportamento citotóxico bastante diferente.

Estudos de interação com o DNA que compreenderam o experimento de dicroísmo circular realizados sobre o complexo sintetizado em nosso laboratório $[Ru(pic)(bipy)(dppb)]PF_6$ ($IC_{50} = 4,2 \pm 1,5 \mu M$), demonstraram em principio uma interação fraca com o DNA. Esses tipos de interações fracas podem ser eletrostáticas ou ligações de hidrogênio. A literatura consultada em referência a outros compostos de rutênio sugere que existe a possibilidade de interações fracas já seja com o fosfato do DNA (CHITAPRIYA *et al*, 2010), interações eletrostáticas ou interação por intercalação (UMA & PALANIANDAVAR, 2004; SATHYARAJ *et al*, 2010) ou com o sulco (OTERO *et al*, 2007). Outros alvos de compostos do rutênio poderiam ser proteínas (GRAS *et al*, 2010). Estes fatos são diferentes ao tipo de interação estabelecido pelo cisplatina, que é uma interação covalente com o N7 da guanina do DNA. Em suma, ao atuar por diferentes mecanismos de ação compostos de platina e de rutênio poderiam em principio administrar-se conjuntamente com o propósito de diminuir a resistência ao fármaco e atacar ao mesmo tempo diversos alvos das células cancerosas, impedindo sua rápida replicação e detendo o crescimento celular anômalo e o avanço da doença.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Foram sintetizados e caracterizados três compostos de rutênio (II) com ligantes N-heterocíclicos e/ou fosfínicos, com o intuito de se estudar tanto a sua estrutura quanto a sua citotoxicidade em diversas linhagens celulares. Destes compostos foram obtidos cristais, o que nos possibilitou entender melhor sobre a parte estrutural de cada composto. Em particular, no caso do $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2\text{NO}]$, cujo espectro de RMN ^1H apresentou dois singletos em 7,3 ppm e 6,7 ppm (aromático) e dois singletos em 2,5 ppm e 2,3 ppm (metilos), este resultado sugeriu a formação de um composto onde as interações dos hidrogênios em cada molécula com os átomos vizinhos de moléculas próximas não são iguais, afetando a magneticidade do hidrogênio e gerando sinais diferentes.

A eletrólise do complexo $[\text{RuCl}(\text{dmpm})_2\text{NO}]$ mostrou a liberação do NO, verificada também pelo desaparecimento da banda de absorção na região do infravermelho. Para este complexo a avaliação em células HeLa (câncer de colo de útero) deu um IC_{50} de 18,4 μM , o qual é um resultado promissor, quando comparado com o fármaco padrão (cisplatina), que apresentou um IC_{50} de 100,0 μM .

Os compostos $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{dppb})]$ e $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$ foram sintetizados e caracterizados com sucesso, e suas estruturas resolvidas por difração de raios X. Foi avaliada a atividade potencial em células de MDA-MB231 (câncer de mama), U251 (células cancerosas do sistema nervoso) e em células V79 (fibroblastos provenientes de pulmão de hamster chinês), encontrando para o $[\text{Ru}(\text{pic})_2(\text{dppb})]$ um IC_{50} baixo em relação com o cisplatina, o qual é um resultado promissor, mas não para o composto $[\text{Ru}(\text{dmpm})_2(\text{dppb})]$.

Outros compostos contendo NO foram sintetizados, $[\text{RuCl}(\text{pic})\text{NO}](\text{pic})$, $[\text{RuCl}_3(4\text{-Mepy})_2\text{NO}]\cdot\text{H}_2\text{O}$ e $[\text{RuCl}(2\text{-pyS})\text{NO}](2\text{-pyS})\cdot\text{H}_2\text{O}$, porém não tiveram o grau de pureza suficiente para poder ser avaliados em testes biológicos. Pretende-se purificar esses compostos e continuar com esses estudos (dados de sínteses e caracterização no APÊNDICE).

Como sugestão de trabalhos futuros poderá caracterizar-se os produtos finais da fotoquímica dos compostos sintetizados e caracterizados e

comparar os resultados com os compostos contendo NO e fosfinas previamente sintetizados em nosso laboratório.

Este trabalho permitiu ampliar o número de compostos sintetizados e caracterizados em nosso laboratório, avaliando sua atividade citotóxica em linhagens tanto de células cancerosas quanto de células saudáveis.

6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAMA, A., TASSO, B., NOVELLI, F., SPARATORE, F.” Organometallic compounds in oncology: implications of novel organotin as antitumor agents”. *Drug Discovery Today*. **14**:500, 2009.

ALMEIDA, M. A P. *Complexos de rutênio contendo aminoácidos, com propriedades citotóxicas em células tumorais*. São Carlos, Programa de Pós-graduação em Química UFSCar, 2009. Dissertação de mestrado 130 p.

ALMEIDA, V. DE; LEITÃO, A.; REINA B.; MONTANARI, C.;DONNICI, C.& LOPES P. “Câncer e agentes neoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução”. *Química Nova*, **28**: 118, 2005

ALVES,E. & TUBINO, P. *História da oncologia*, 2009, 5 pp. http://e-groups.unb.br/fm/hismed/arquivos/historia_da_oncologia.pdf, acessada 07/09/2010.

BAKHTIAR, R. & OCHIAI, E.I. “Pharmacological applications of inorganic complexes”. *General Pharmacology*, **32**: 525, 1999.

BARBOSA, M. I. F., *Complexos carbonílicos de rutênio. ‘De um gás tóxico a uma droga com potencial agente citotóxico*. São Carlos, Programa de Pós-graduação em Química -UFSCar-São Carlos, 2008. Dissertação de mestrado, 108 p.

BARCELLOS, P. (Ed.), MINISTÉRIO DA SAÚDE, AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Formulário Nacional*, Brasília, Editora Anvisa, 2005, 174 p.

BARRIOS, E.; VASALLO, J.; ALONSO, R.; GARAU, M.; MUSETTI, C. *III Atlas de incidência del cáncer en el Uruguay*, Montevideo, Comisión Honoraria de Lucha Contra el Cáncer, 2010, 119 p.

BATISTA, A.; QUEIROZ, S.; DE OLIVEIRA, L.; SANTOS R.; GAMBARDELLA, M. “Nitrosyl ruthenium complexes with general formula $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\text{P-P})]$ (P-P = $\{\text{PPh}_2(\text{CH}_2)_n\text{PPh}_2\}$, $n = 1-3$ and $\{\text{PPh}_2-\text{CH} = \text{CH}-\text{PPh}_2\}$). X-ray structure of $[\text{RuCl}_3(\text{NO})\{\text{PPh}_2(\text{CH}_2)_3\text{PPh}_2\}]$.” *Polyhedron* **16**: 927, 1997.

BATISTA, A.; QUEIROZ S.; HEALY, P.; BUCKLEY, R.; BOYD, S.; BERNERS-PRICE, S.;CASTELLANO, E.; ELLENA, J. “A novel coordination mode for a pyridylphosphine ligand. X-ray structures of $[\text{RuCl}_2(\text{NO})\text{L}]$ (I) and $[\text{RuCl}_2(\text{NO})\text{L}]$ center dot DMSO (II) (L = $[(2\text{-py})_2\text{PC}_2\text{H}_4\text{POO}(2\text{-py})_2]$.” *Canadian Journal of Chemistry* **79**: 1030, 2001.

BENITE, A.;DE PAULA, S., BARREIRO, E. “Considerações sobre a química bioinorgânica medicinal”. *Revista Eletrônica de Farmácia*. **4**: 131, 2007

- BERALDO, H. "Contribuições da Química Inorgânica Para a Química Medicinal". *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola*, **6**: 4,2005.
- 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**: 1331, 2002.
- BERGAMO, A.; MASI, A.; PEACOCK, A.; HABTEMARIAM, A.; SADLER, P. & SAVA, G. "In vivo tumour and metastasis reduction and in vitro effects on invasion assays of the ruthenium RM175 and osmium AFAP51 organometallics in the mammary cancer model". *Journal of Inorganic Biochemistry*, **104**: 79, 2010.
- BERNERS-PRICE, S.; MIRABELLI, C.; JOHNSON, R.; MATTERN, M.; MCCABE, L.; FAUCETTE, F.; SUNG, C.; MONG, S.; SADLER, P. & CROOKE, S. "In vivo antitumor-activity and in vitro cytotoxic properties of Bis[1,2-Bis(diphenylphosphino)ethane]gold (I) chloride". *Cancer Research*, **46**: 5486, 1986.
- BERNERS-PRICE, S.; NORMAN, R. & SADLER, P. "The autooxidation and proton dissociation constants of tertiary diphosphines: relevance to biological activity". *Journal of Inorganic Biochemistry*, **31**: 197, 1987.
- BISHAYEE, A.; WAGHRAY, A.; PATEL, M. & CHATTERJEE, M. "Vanadium in the detection, prevention and treatment of cancer: The *in vivo* evidence". *Cancer Letters*, **294**: 1, 2010.
- BOGADO, A. L. *Complexos fosfínicos de rutênio: hidrogenação, ROMP-hidrogenação*. São Carlos, Programa de Pós-graduação em Química UFSCar, 2007. Tese de Doutorado. 273 p.,
- BORGES, S.; DAVANZO, C.; CASTELLANO E.; Z-SCHPECTOR, J.; SILVA, S.; FRANCO, D. "Ruthenium nitrosyl complexes with n-heterocyclic ligands." *Inorganic Chemistry* **37**: 2670, 1998.
- BOURASSA, J.; DEGRAF, F.; KUDO, S.; WINK, D.; MITCHELL, J.; FORD, P. "Photochemistry of Roussin's red salt, $\text{Na}_2[\text{Fe}_2\text{S}_2(\text{NO})_4]$, and of Roussin's black salt, $\text{NH}_4[\text{Fe}_4\text{S}_3(\text{NO})_7]$. In situ nitric oxide generation to sensitize gamma-radiation induced cell death." *Journal of the American Chemical Society* **119**: 2853, 1997.
- BRAVO-GÓMEZ, M.; GARCÍA-RAMOS, J.; GRACIA-MORA, I. & RUIZ AZUARA, L. "Antiproliferative activity and QSAR study of copper (II) mixed chelate $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{acetylacetonato})\text{NO}_3]$ and $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{glycinato})\text{NO}_3]$ complexes, (Casiopéínas[®])". *Journal of Inorganic Biochemistry* **103**:299, 2009.

BUTLER, A. & NICHOLSON, R. *Life, death and nitric oxide*. Cambridge, Royal Society of Chemistry, 2003. 154 p.

CHEN, Y.; SHEPHERD, R. E. $[\text{Ru}_2^{\text{II}}(\text{ttha})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$ is a rapid NO Scavenger (ttha⁶⁻ = triethylenetetraminehexaacetate). *Journal of Inorganic Biochemistry* **68**:183, 1997.

CHEN, Y.; LIN, F. & SHEPHERD, R. "N-15 NMR and electrochemical studies of $[\text{Ru-II}(\text{hedta})]^-$ complexes of NO, NO⁺, NO₂⁻, and NO⁻." *Inorganic Chemistry* **38**: 973, 1999.

CHEN, H.; PARKINSON, J.; MORRIS, R.; SADLER, P. "Highly Selective Binding of Organometallic Ruthenium Ethylenediamine Complexes to Nucleic Acids: Novel Recognition Mechanisms" *Journal of the American Chemical Society*, **125**: 173, 2003.

CHITAPRIYA, N.; HAHALINGAM, V.; ZELLER, M.; LEE H. & NATARAJAN, K. "Synthesis, characterization, DNA binding and cleavage studies of Ru(II) complexes containing oxime ligands". *Journal of Molecular Structure*, **984**: 30, 2010.

CLAIRE, S.; PAUL, J. "Ruthenium in medicine: current clinical uses and future prospects". *Platinum Metals Reviews*, **45**: 62, 2001.

CLARKE, M. "Ruthenium metallopharmaceuticals". *Coordination Chemistry Reviews*, **232**: 69, 2002.

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

COLLERY, P.; KEPPLER, B.; MADOULET, C. & DESOIZE, B., "Gallium in cancer treatment". *Clinical Reviews in Oncology/Hematology*, **42**: 283, 2002

CORRAL, E.; HOTZE, A. C.; DEN DULK, H.; LECZKOWSKA, A.; RODGER, A.; HANNON, M. J.; REEDIJK, J. "Ruthenium polypyridyl Complexes and Their modes of interaction with DNA: Is there a correlation between these interactions and the antitumor activity of the compounds?". *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **14**: 439, 2009.

CULOTTA, E. & KOSHLAND, Jr.de. "NO news is good news". *Science*, **258** (5090): 1862, 1992.

DYSON, P. & SAVA, G. "Metal-based antitumor drugs in the post genomic era". *Dalton Transactions*, **16**:1929, 2006.

EBRAHIMZADEH, M.; NABAHI, S. F.; NABAHI, S. M. & POURMORAD, F. "Nitric oxide radical scavenging potential of some Elburz medicinal plants". *African Journal of Biotechnology*, **9**: 5212, 2010.

- EVANGELOU, A. "Vanadium in cancer treatment". *Critical Reviews in Oncology/ Hematology*, **42**: 249, 2002.
- FAIRY, M. & IRVING, R. "Complexes of ruthenium nitrosyl trihalides". *Journal of the Chemical Society A - Inorganic Physical Theoretical*, **5**: 475, 1966.
- FELDMAN, P.; GRIFFITH, O. & STUEHR, D. "The surprising life of nitric oxide" *Chemical and Engineering News*, **20**: 26, 1993.
- FLITNEY, F.; MEGSON, I.; THOMSON, J.; KENNOVIN, G. & BUTLER, A. "Vasodilator responses of rat isolated tail artery enhanced by oxygen-dependent, photochemical release of nitric oxide from iron-sulphur-nitrosyls." *British Journal of Pharmacology* **117**: 1549, 1996.
- FONTES, A., CÉSAR, E. & BERALDO, H., "A química inorgânica na terapia do câncer." *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola*, **6**:13, 2005.
- FORD, P. & LAVERMAN, L. "Reaction mechanisms relevant to the formation of iron and ruthenium nitric oxide complexes." *Coordination Chemistry Reviews* **249**: 273, 2005.
- FRICKER, S.; SLADE, E.; POWELL, N.; VAUGHAN, O.; HENDERSON, G.; MURRER, B.; MEGSON, I.; BISLAND, S. & FLITNEY, F. "Ruthenium complexes as nitric oxide scavengers: a potential therapeutic approach to nitric oxide mediated diseases." *British Journal of Pharmacology* **122**:1441, 1997.
- GANDIN, V.; POTAMITOU, F.; RIGOBELLO, M.; DANI, B.; SORRENTINO, F.; TISATO, F.; BJÖRNSTEDT, M.; BINDOLI, A.; STURARO, A.; RELLA, R. & MARZANO, C. "Cancer cell death induced by phosphine gold (I) compounds targeting thioredoxin reductase". *Biochemical Pharmacology*, **79**: 90, 2010.
- GEARY, W. "Use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds". *Coordination Chemistry Reviews*, **7**: 81, 1971.
- GERLIER, D. & THOMASSET, N. "Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation". *Journal of Immunological Methods*, **94** : 57, 1986.
- GHATAK, N.; CHAKRAVARTY, J. & BHATTACHARYA, S. "Synthesis, characterization and electron transfer properties of some picolinate complexes of ruthenium". *Polyhedron*, **14**: 3591, 1995.
- 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, 91 p.
- GOLFETO, C.; VON POELHITZ, G. SELISTRE-DE-ARAUJO, H.; ARAUJO, M.; ELLENA, J.; CASTELLANO, E.; LOPES, L.; MOREIRA, I. & BATISTA, A.

“Syntheses, characterization and cytotoxic activities of the [RuCl₂(NO)(dppp)(L)]PF₆ complexes.” *Journal of Inorganic Biochemistry*, **104**: 489, 2010.

GORELSKY, S.; LEVER, A. & FRANCO, D. “Electronic spectra of *trans*-[Ru(NH₃)₄(L)(NO)]^{3+/2+} complexes.” *Inorganica Chimica Acta*. **300-302**:698, 2000.

GRAMINHA, A.; RODRIGUES, C.; BATISTA, A.; TEIXEIRA, L.; FAGUNDES, E. & BERALDO, H. “Ruthenium (II) complexes of 2-benzoylpyridine-derived thiosemicarbazones with cytotoxic activity against tumor cell lines”. *Spectrochimica Acta A*, **69**: 1073, 2008 a.

GRAMINHA, A.; TEIXEIRA, L.; BERALDO, H.; SALISTRE-DE-ARAUJO, H.; ELLENA, J.; CASTELLANO, E. & BATISTA, A. “Ruthenium (II) complexes of thiosemicarbazones with cytotoxic activity against human tumor cell”. *20th Brazilian Meeting on Inorganic Chemistry*, 2008 b.

GRAS, M.; THERRIEN, B.; SÜSS-FINK, G.; CASINI, A.; EDAFE, F. & DYSON, P. “Anticancer activity of new organo-ruthenium, rhodium and iridium complexes containing the 2-(pyridine-yl)thiazole *N,N*-chelating ligand”. *Journal of Organometallic Chemistry*, **695**: 1119, 2010.

HADJIKAKOU, S. & HADJILIADIS, N. “Antiproliferative and anti-tumor activity of organotin compounds”. *Coordination Chemistry Reviews*, **253**: 235, 2009.

HEFFERNAN, M.; NELSON, M. & ANADKAT, M. “A pilot study of the safety and efficacy of picolinic acid gel in the treatment of acne vulgaris”. *British Journal of Dermatology*, **156**: 548, 2007.

HOESCHELE, J. “In remembrance of Barnett Rosenberg” *Dalton Transactions*, 10648, 2009

IGNARRO, L. ; BUGA, G.; WOOD, K. & BYRNS, R. “Endothelium-derived relaxing factor from pulmonary-artery and vein possesses pharmacological and chemical-properties identical to those of nitric-oxide radical” *Circulation Research*, **61**: 866, 1987.

IGNARRO, L. *Nitric Oxide: Biology and Pathobiology*. 1^a. Ed. San Diego, Academic Press, 2000. 1017 p.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA),
http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/cancer/site/oquee_acessada_07/09/2010 a.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA),
<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/cancer/site/tratamento/> acessada 07/09/2010 b.

JUNG, C.; GARROU, P.; HOFFMAN, P. & CAULTON, K. "Reexamination of the Reactions of $\text{Ph}_2\text{P}(\text{CH}_2)_n\text{PPh}_2$ ($n = 1-4$) with $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3$ ". *Inorganic Chemistry*, **23**: 726, 1984.

KAI, Y.; MELCHART, M.; HABTEMARIAM, A. & SADLER, P. "Organometallic chemistry, biology and medicine: ruthenium arene anticancer complexes". *Chemical Communications*, (38): 4764, 2005.

KARIDI, K.; GAROUFIS, A.; TSIPIS, A.; HADJILIADS, N.; DEN DULK, H. & REEDIK, J. "Syntheses, characterization, *in vitro* antitumor activity, DNA-binding properties and electronic structure (DFT) of the new complex *cis*-(Cl,Cl)[$\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}_2(\text{NO}^+)(\text{terpy})$ Cl." *Dalton Transactions*, **7**:1176, 2005.

KEPPLER, B. *Metal complexes in cancer chemotherapy*, VCH, Weinheim, Germany, 1993.

KIELER, J.; GROMEK, A. & NISSEN, N. "Studies on the antineoplastic effect of vanadium salts". *Acta Chirurgica Scandinavica*, **343**: 154, 1965.

KLEIN, A.; HOLKO, P.; LIGEZA, J. & KORDOWIAK, A. "Sodium orthovanadate affects growth of some human epithelial cancer cells (A549, HTB44, DU145), *Folia Biologica (Kraków)*, **56**: 115, 2008.

KOSTOVA, I. "Titanium and vanadium complexes as anticancer agents". *Anticancer Agents in Medicinal Chemistry*, **9**: 827, 2009.

KUDO, S.; BOURASSA, J.; BOGGS, S.; SATO, Y.; FORD, P. " *In situ* nitric oxide (NO) measurement by modified electrodes: NO labilized by photolysis of metal nitrosyl complexes." *Analytical Biochemistry*. **247**:193, 1997.

LEPORI, L.R. (DIR.) *P.R. Vade-mécum*, São Paulo, Soriak, 2004, 802 p.

LIMA, B.A.V., *Avaliação das atividades citotóxicas de alguns complexos fosfínicos de rutênio (Células tumorais, MDA-MB231)*. São Carlos, Programa de Pós-graduação em Química UFSCar, 2010. Dissertação de mestrado 207 p.

LEVAGGI, D.; SIU, W. & FELDSTEIN, M. "Quantitative separation of nitric oxide from nitrogen dioxide at atmospheric concentration". *Environmental Science & Technology*, **6**: 250, 1972.

LOPES, L. G. F. *Controle da reatividade do NO no trans-nitrosiltriethylfosfitotetraminorutênio (II)*. São Carlos. Programa de Pós-Graduação em Química- IQSC-USP, 1997. Tese de Doutorado, 95 p.

MALECKI, J.; JAWORSKA, M. & KRUSZYNSKI, R. "Synthesis, molecular, crystal and electronic structure of $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\text{PPh}_3)(\text{HPz})]$ ". *Polyhedron*, **24**: 359, 2005.

- MARCONDES, F.; FERRO, A.; SOUZA-TORSONI, A.; SUMITANI, M.; CLARKE, M.; FRANCO, D.; TFOUN, E.; KRIEGER, M. "In vivo action of new NO donor/scavenger ruthenium cyclam complexes on blood pressure." *Life Sciences* **70**: 2735, 2002.
- MARTOS-CALVENTE, R.; DE LA PEÑA O'SHEA, V.; CAMPOS-MARTIN, J. & FIERRO J. "The usefulness of density functional theory to describe the tautomeric equilibrium of 4,6-dimethyl-2-mercaptopyrimidine in solution". *Journal of Physical Chemistry A*, **107**: 7490, 2003.
- MATYSIAK, J.; OPOLSKI, A., "Synthesis and antiproliferative activity of N-substituted 2-amino-5-(2,4-dihydroxyphenyl)-1,3,4-thiadiazoles". *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, **14**: 4483, 2006.
- MENDES, I.; SOARES, M.; SANTOS, R. DOS; PINHEIRO, C. & BERALDO, H., "Gallium (III) complexes of 2-pyridineformamide thiosemicarbazones: Cytotoxic activity against malignant glioblastoma". *European Journal of Medicinal Chemistry*, **44**:1870, 2009.
- MIN, S.; KIM, K. & SOO, M. "Adsorption of picolinic and nicotinic acids on a silver sol surface investigated by Raman spectroscopy". *Journal of Molecular Structure*, **344**: 195, 1995.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE & INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. *Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil* Rio de Janeiro , Instituto Nacional de Câncer, INCA, Rio de Janeiro, 2009, 98 p.
- MOSMANN, T. "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cyto-toxicity assays". *Journal of Immunological Methods*, **65**: 55, 1983.
- NASCIMENTO, F.; VON POELHSITZ, G.; PAVAN, F.; SATO, D.; LEITE, C.; SELISTRE DE ARAÚJO, H.; ELLENA, J.; CASTELLANO, E.; DEFLON, V. & BATISTA, A. "Syntheses, characterization, X-ray structure and *in vitro* antimycobacterial and antitumoral activities of Ru (II) phosphine/diimine complexes containing the "SpymMe₂" ligand, SpymMe₂= 4,6-dimethyl-2-mercaptopyrimidine." *Journal of Inorganic Biochemistry*, **102**: 1783, 2008.
- NAKAMOTO, K. *Infrared and Raman of inorganic and coordination compounds*, 5^a ed., New York, Wiley-Interscience, 1997. 771 p..
- ORVIG, C. & ABRAMS, M. "Medicinal inorganic chemistry: introduction" *Chemical Reviews*, **99**: 2201, 1999.
- OSOL, A. (Ed); CHASE, G.D.(Ed); GENNARO, A.R. (Ed); GIBSON, M.R. (Ed); BOYD, C.G. (Ed); HARVEY, S.C. (Ed); KING, R.E. (Ed); MARTIN, A.N. (Ed); SWINYARD, E.A. (Ed); ZINK, G.L. (Ed), *Remington's Pharmaceutical sciences*, Easton, Mc.Graw-Hill, 1980, 1928 p.

OTERO, L.; SMIRCICH, P. VIEITES, M.; CIGANDA, M.; CARDOSO SEVERINO, P.; TRENZI, H.; CERECETTO, H.; GAMBINO, D. & GARAT, B. "DNA conformational changes and cleavage by ruthenium (II) nitrofurylsemicarbazone complexes". *Journal of Inorganic Biochemistry*, **101**: 74, 2007.

OTT, I.; SCHMIDT, K.; KIRCHER, B.; SCHUMACHER, P.; WIGLEND, T. & GUST, R. "Antitumor-active cobalt alkyne complexes derived from acetylsalicylic acid: studies on the mode of drug action". *Journal of Medicinal Chemistry*, **48**: 622, 2005.

PAIS, T. & APPELBERG, R. "Macrophage control of mycobacterial growth induced by picolinic acid is dependent on host cell apoptosis". *Journal of Immunology*, **164**: 389, 2000.

PALMER, R.; FERRIGE, A. & MONCADA, S. "Nitric-oxide release accounts for the biological-activity of endothelium-derived relaxing factor." *Nature*, **327** (6122): 524, 1987.

PARVEEN, H.; HAYAT, F.; SALAHUDDIN, A. & AZAM, A. "Syntheses, characterization and biological evaluation of novel 6-ferrocenyl-4-aryl-2-substituted pyrimidine derivatives". *European Journal of Medicinal Chemistry*, **45**: 3497, 2010.

PAULING, L. *The Nature of the Chemical Bond*. 3^a Ed. Cornell University Press, New York, 1960. 644 p.

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

PENFOLD, B. "The crystal structure of alpha-thiopyridone." *Acta Crystallographica*, **6**:707, 1953.

PERRIN, D.; ARMAREGO, W. & PERRIN, D. *Purification of laboratory chemicals*. 2^a ed. New York, Pergamon Press, 1980. 391 p.

PRIMIK, M.; GÖSCHL, S.; JAKUPEC, M.; ROLLER, A.; KEPPLER, B. & ARION, V. "Structure-activity relationships of highly cytotoxic copper (II) complexes with modified indolo[3,2-c]quinoline ligands". *Inorganic Chemistry*, **49**: 11084, 2010.

QUEIROZ, S. & BATISTA A. Complexos fosfínicos e suas aplicações na medicina. *Química Nova*, **19**: 651, 1996.

RADEMAKER-LAKHAI J.; VAN DER BONGARD, D.; PLUIM D.; BENIJNEN J. H.; & SCHELLENS, L. "A phase I and pharmacological study with imidazolium trans-DMSO-imidazole-tetrachlororuthenate, a novel ruthenium anticancer agent". *Clinical Cancer Research*, **10**:3717, 2004.

RAPER, E. "Complexes of heterocyclic thionates. Part 1. Complexes of monodentate and chelating ligands". *Coordination Chemistry Reviews*, **153**: 199, 1996.

RAY, R.; RANA, B.; SWAMI, B.; VENU, V. & CHATTERJEE, M. "Vanadium mediated apoptosis and cell cycle arrest in MCF7 cell line". *Chemico-Biological Interactions*, **163**: 239, 2006.

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

RUIZ-AZUARA, L. & BRAVO-GÓMEZ, M. "Copper compounds in cancer chemotherapy". *Current Medicinal Chemistry*, **17**: 3606, 2010.

SATHYARAJ, G.; WEYHERMÜLLER, T. & UNNI NAIR, B. "Synthesis, characterization and DNA binding studies of new ruthenium (II) bisterpyridine complexes". *European Journal of Medicinal Chemistry*, **45**: 284, 2010.

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

SAVA, G.; ALESSIO, E.; BERGAMO, A. & MESTRONI, G. "*Metallo-pharmaceuticals*" Topics in Biological Inorganic Chemistry M. J. Clarke and P. J. Sadler Eds., Springer, Berlin, 1:143,1999.

SHELDRICK, G. M. *SHELXS-97. Program for Crystal Structure Resolution*. University of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997a.

SHELDRICK, G. M.; *SHELXL-97. Program for Crystal Structures Analysis*. University of Göttingen, Göttingen, Germany, 1997b.

SILVERSTEIN, R.; WEBSTER, F.; KIEMLE, D. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 7^a Ed, Maryland,. John Wiley & Sons, 2005. 502 p.

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

SOUZA, G.; VON POELHSITZ, G.; BATISTA, A. & ARAUJO, H. "Complexos de Ru(II) como potenciais agentes citotóxicos na linhagem celular tumoral MDA-MB-231." In: 30 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007, Águas deLindóia-SP. Livro de resumos da 30 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2007.QI-168.

STEPHENSON, T. & WILKINSON, G. "New complexes of ruthenium (2) and (3) with triphenylphosphine triphenylarsine trichlorostannate pyridine and other ligands". *Journal of Inorganic & Nuclear Chemistry*, **28**: 945, 1966.

STOCHEL, G.; WANAT, A.; KULIS, E.; STASICKA, Z. "Light and metal complexes in medicine". *Coordination Chemistry Reviews*. **171**: 203, 1998.

SWEETMAN, S.C.(Ed), *Martindale: The complete drug reference*. 36 Ed. London, Chicago, Pharmaceutical Press., 2009, 3720 p.

SZCZEPURA, L. & TAKEUCHI, K. "Synthesis and characterization of novel (cyclopentadienyl)nitroruthenium complexes". *Inorganic Chemistry*. **29**: 1772, 1990.

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

TORSONI, A. S. *Efeito hipotensor e estudos toxicológicos do complexo trans-[Ru(NH₃)₄P(OEt)₃NO]*. Campinas, Unicamp, 1999. Dissertação de Mestrado, Unicamp 137 p.

UMA, P. & PALANIANDAVAR, M. "DNA binding and cleavage activity of [Ru(NH₃)₄(diimine)]Cl₂ complexes." *Inorganica Chimica Acta*, **357**: 901, 2004.

VAN RIJT, S. & SADLER, P.J. "Current applications and future potential for bioinorganic chemistry in the development of anticancer drugs". *Drug Discovery Today*, **14**:1089, 2009.

VELHO, R. G. *Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química- UFSCar, 2006. Dissertação de mestrado 170 p.

VON POELHSITZ, G.; PEREZ, M.; ANDRADE, L.; LINHARES, S.; ELLENA, J.; CASTELLANO, E.; FERREIRA, A. & BATISTA, A. "*fac*-[RuCl₃(NO)dppb] (I) and *mer*- [RuCl₃(NO)diop] complexes: syntheses, characterization and X-ray structures". *Polyhedron*, **21**: 2221 2002.

VON POELHSITZ, G., BATISTA, A.; ELLENA, J.; CASTELLANO, E.; SCHULZ E. "Synthesis and characterization of nitrosyl complexes containing 4,6-dimethyl-pyrimidine-2-thiolato ('SpymMe₂') as ligand: [Ru('SpymMe₂',-N,-S)('SpymMe₂',-S)(NO)(P-P)](PF₆) (P-P= 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane or 1,2-bis(diphenylphosphino)ethylene. X-ray structure of [Ru('SpymMe₂',-N,-S)('SpymMe₂',-S)(NO)(dppe)](PF₆)."
Inorganic Chemistry Communications, **8**: 805, 2005a.

VON POELHSITZ, G. *Nitrosilo complexos de rutênio com ligantes bifosfínicos: espectroscopia, electroquímica, estudo da reatividade e liberação de NO*. São

Carlos, Programa de Pós Graduação em Química- UFSCar, 2005b. Tese de Doutorado, 285 p.

VON POELHSITZ, G.; LIMA R.; CARLOS, R.; FERREIRA, A.; BATISTA, A.; DE ARAÚJO, A.; ELLENA, J. & CASTELLANO, E. "Influence of ligands on de *fac* (hv) reversible *mer* isomerization in [RuCl₃(NO)(P-P)] complexes, [P-P(Delta) = R₂P(CH₂)_(n)PR₂ (n=1-3) and R₂P(CH₂)POR₂, PR₂-CH=CH-PR₂, R=Ph and (C₆H₁₁)₂P-(CH₂)₂-P(C₆H₁₁)₂]." *Inorganica Chimica Acta*, **359**: 2896, 2006.

VON POELHSITZ, G.; BATISTA, A.; DE ARAUJO, M.; DEFLON, V.; COSTA-NETO, C.; HEINRICH, T.; LEITE, C.; PAVAN, F. & SELISTRE-DE-ARAÚJO, H. "Estudo das atividades antitumoral e antimicobacteriana de novos complexos de Ru(II)." In III Workshop de Química Inorgânica 30 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química: Águas de Lindóia, SP, 2007 a.

VON POELHSITZ, G.; BOGADO, A.; DE ARAUJO, M.; SELISTRE DE ARAÚJO, H.; ELLENA, J.; CASTELLANO, E. & BATISTA, A. "Synthesis, characterization, X-ray structure and preliminary in vitro antitumor activity of the nitrosyl complex *fac*-[RuCl₃(NO)(dppf)], dppf = 1,10bis(diphenylphosphine)ferrocene." *Polyhedron* **26**: 4707, 2007 b.

WANG, P. G.; CAI, T. B.; TANIGUCHI N. (Eds) *Nitric Oxide Donors*. Weinheim, Wiley VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, 2005, 390 p.

WHEATE, N.; WALKER, S.; CRAIG, G. & OUN, R. "The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials". *Dalton Transactions*, **39**: 8113, 2010.

WONG, E. & GIANDOMENICO, C. "Current status of platinum-based antitumor drugs" *Chemical Reviews*, **99**: 2451, 1999.

ZACHI, R. O. *Nitrosilos complexos de rutênio. Equilíbrio químico, envolvimento em sistemas vegetais e citotoxicidades em modelos de câncer*. São Carlos, Instituto de Química de São Carlos- Universidade de São Paulo-USP, 2008. Dissertação de Mestrado. 2008, 166 p.

ZHANG, C. & LIPPARD, S. "New metal complexes as potential therapeutics". *Current Opinion in Chemical Biology*, **7**: 481, 2003.

ANEXOS

ANEXO I- Medicamentos contendo íons metálicos usados como fármacos no mundo

	Composto	Fórmula	Atividade farmacológica	Metal	Observações
1	Acediasulfona de sodio	$C_{14}H_{13}N_2NaO_4S$	Antibacteriano ouvido	Na	
2	Acetarsol	$C_8H_{10}AsNO_5$	Amebiasis, triconomiasis	As	Osarbon
3	Acetato de fenilmercurio	$C_8H_8HgO_2$	Antiséptico, antibacteriano	Hg	
4	Acetato de hidroxocobalamina	$C_{64}H_{93}CoN_{13}O_{17}P$	Antianémico	Co	
5	Acetato de prezatida cúprica	$C_{28}H_{46}CuN_2O_8 \cdot 2C_2H_4O_2$	Cura de feridas	Cu	
6	Acetilsalicilato de alumínio	$C_{18}H_{15}AlO_9$	Inibidor da função plaquetaria	Al	
7	Ácido arsanílico	$C_6H_8AsNO_3$	Antibacteriano	As	
8	Ácido gadobénico	$C_{22}H_{28}GdN_3O_{11}$	Meio de contraste RMN em SNC e figado	Gd	
9	Ácido gadopentético	$C_{14}H_{20}GdN_3O_{10}$	Meio de contraste	Gd	
10	Ácido gadotérico	$C_{16}H_{25}GdN_4O_8$	Meio de contraste	Gd	
11	Ácido gadotexico	$C_{23}H_{30}GdN_3O_{11}$	Meio de contraste	Gd	
12	Ácido mersálico	$C_{13}H_{17}HgNO_6$	Diurético	Hg	
13	Ácido selenioso	H_2SeO_3	Deficiência de Selênio	Se	
14	Alcloxa	$C_4H_9Al_2ClN_4O_7$	Dermatologia	Al	
15	Aldioxa	$C_4H_7AlClN_4O_5$	Dermatologia	Al	
16	Alendronato sódico	$C_4H_{18}NO_{10}P_2Na$	Inibidor da reabsorção óssea	Na	Minusorb®, Ostenan®
17	Alginato cálcico	$CaC_{14}H_{20}O_{13}$	Cura de feridas	Ca	Curasorb®, Sorbsan®
18	Aloxiprin	$Al_2O_2 \cdot C_9H_8O_4$	Analgésico Antiinflamatório	Al	
19	Alumínio, Aspirinato	$C_{18}H_{15}AlO_9$	AAA	Al	
20	Antimoniato de meglumina	$C_7H_{18}NO_8Sb$	Leishmania	Sb	
21	Arsenilato de sodio	$C_6H_7AsNNaO_3$	Antibacteriano veterinário	As	

	Composto	Fórmula	Atividade farmacológica	Metal	Observações
22	Ascorbato ferroso	$C_{12}H_{14}FeO_{12}$	Deficiência de ferro	Fe	
23	Aspartato ferroso	$C_8H_{12}FeN_2O_8 \cdot 4H_2O$	Deficiência de ferro	Fe	
24	Auranofina	$C_{20}H_{34}AuO_9PS$	Antirreumática	Au	
25	Aurotioglucosa	$C_6H_{11}AuO_5S$	Artrite reumatoidea	Au	
26	Aurotiomalato de sodio	$Na_3[C_8H_7Au_2O_7S_2]$	Artrite reumatoidea	Au-	
27	Aurotioprol	$C_3H_6AuNaO_4S_2$	Artrite reumatoidea	Au	
28	Aurotiosulfato de sodio	$Na_3Au(S_2O_3)_2 \cdot 2H_2O$	Artrite reumatoidea	Au	
29	Azul de Prussia	$Fe_4[Fe(CN)_6]_3$	Envenenamento por TI	Fe	
30	Bacitracina de zinco	$C_{66}H_{101}N_{17}O_{16}SZn$	Antibacteriano	Zn	
31	Benzoato de lítio	$C_7H_5LiO_2$	Diurético	Li	
32	Borato de fenilmercurio	$C_6H_5HgOH \cdot C_6H_5HgOBOH)_2$	Antiséptico, antibacteriano	Hg	
33	Bromfenaco de sodio	$C_{15}H_{11}BrNaO_3 \cdot H_2O$	AINE	Na	
34	Bromolactobionato de calcio	$Ca(C_{12}H_{21}O_{12})_2 \cdot CaBr_2 \cdot 6H_2O$	Insomnio e desordens de	Ca	
35	Bumadizona de calcio	$(C_{19}H_{21}N_2O_3)_2Ca \cdot H_2O$	AINE	Ca	
36	Butibufeno de sodio	$C_{14}H_{19}NaO_2$	AINE	Na	
37	Carbaspirina de calcio	$C_{19}H_{18}CaN_2O_9$	AAA	Ca	
38	Carbonato de lantano	$La_2CO_3 \cdot xH_2O$	Hiperfosfatemia (falha aos rins)	La	
39	Carbonato de lítio	Li_2CO_3	Desordens bipolares	Li	
40	Carboplatina	$C_6H_{12}N_2O_4Pt$	Antineoplásico	Pt	
41	Carboximaltosa férrica	$Fe([C_6H_{10}O_5]_n C_6H_{11}O_7)_x$	Antianémico	Fe	
42	Cianocobalamina	$C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$	Antianémico	Co	
43	Ciclofos sódico	$C_2H_3Cl_3NaO_4P$	Sedativo, hipnótico	Na	
44	Cisplatina	$(NH_3)_2 \cdot PtCl_2$	Antineoplásico	Pt	

	Composto	Fórmula	Atividade farmacológica	Metal	Observações
45	Citrato cálcico ferroso	$C_{12}H_{10}Ca_2FeO_{16}$	Deficiência de ferro	Fe	
46	Citrato de amonio e ferro	$C_6H_{11}FeNO_7 \cdot H_2O$	Antianémico	Fe	ITEB ₁₂ forte
47	Citrato de zinco	$C_{12}H_{10}O_{14}Zn \cdot 3H_2O$	Deficiência de zinco	Zn	
48	Citrato de lítio	$C_6H_5Li_3O_7 \cdot 4H_2O$	Estabilizador do humor	Li	Litarex®
49	Cloridrato de alumínio	$Al_2(OH)_5Cl \cdot xH_2O$	Hiperhidroses	Al	
50	Clorofila a	$C_{55}H_{72}MgN_4O_5$	Úlceras, feridas, suplemento	Mg	Emorfom Clorofila
51	Closantel de sódico	$C_{22}H_{14}Cl_2I_2N_2O_2Na$	Antihelmintico	Na	
52	Cobanamida	$C_{72}H_{100}CoN_{18}O_{17}P$	Antianémico	Co	
53	Cuproedetato cálcico	$C_{10}H_{12}CaCuN_2O_8 \cdot 2H_2O$	Deficiência de cobre	Cu,	
54	Diclofenaco de potássio	$C_{14}H_{10}Cl_2KNO_2$	AINE	K	
55	Diclofenaco de sódio	$C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$	AINE	Na	
56	Dipirona de sódio	$C_{13}H_{16}N_3NaO_4S \cdot H_2O$	Analgésico	Na	
57	Dobesilato cálcico	$C_{12}H_{10}CaO_{10}S_2$	Antihemorroidal	Ca	Eflevar
58	Ebselan	$C_{13}H_9NOSe$	Antioxidante	Se	
59	Edetato de dicobalto	$C_{10}H_{12}Co_2N_2O_8$	Envenenamento por CN ⁻	Co	Kelocyanot
60	Edetato de sódio e cálcio	$C_{10}H_{12}CaN_2Na_2O_8 \cdot xH_2O$	Envenenamento por Pb	Ca,	
61	Edetato trissódico de zinco	$C_{14}H_{18}N_3Na_3O_{10}Zn$	Envenenamento por Am, Cm e Pu	Zn	
62	Estibocaptato de sódio	$C_{12}H_{11}NaO_{12}S_6Sb_2$	Antileishmania	Sb	
63	Estibofeno	$C_{12}H_4Na_5O_{16}S_4Sb \cdot 7H_2O$	Antileishmania	Sb	
64	Estiboglunato de sódio	$C_{12}H_{17}O_{17}Sb_2Na_3$	Antileishmania	Sb	
65	Fenolsulfonato de zinco	$C_{12}H_{10}O_8S_2Zn$	Dermatologia	Zn	
66	Fenoprofeno de cálcio	$(C_{15}H_{13}O_3)_2Ca \cdot 2H_2O$	AINE	Ca	
67	Feredetato sódico	$C_{10}H_{12}FeN_2NaO_8 \cdot H_2O$	Deficiência de ferro	Fe	

Composto	Fórmula	Atividade farmacológica	Metal	Observações
68	Ferristene	$C_8H_{11}NO_3S \cdot (Fe_2O_3)_{0.275}$	Fe	
69	Ferrocilinato	$C_{11}H_{20}FeNO_9 \cdot 2H_2O$	Fe	
70	Ferumóxido	$(Fe_2O_3)_m(FeO)_n$	Fe	EE.UU: Feridex
71	Foscarnet de sodio	$CNa_3O_5P \cdot 6H_2O$	As	
72	Fosfato férrico	$Fe_4(P_2O_7)_3$	Fe	Incremin
73	Fosfosal	$C_7H_7O_6P$		
74	Fumarato ferroso	$C_4H_2FeO_4$	Fe	
75	Gadobenato de meglumina	$C_{22}H_{28}GdN_3O_{11} \cdot 2C_7H_{17}NO_5$	Gd	
76	Gadobutrol	$C_{18}H_{31}GdN_4O_9$	Gd	Gadovist
77	Gadodiamida	$C_{16}H_{26}GdN_5O_8$	Gd	Omniscan
78	Gadofosveset trisodio	$C_{33}H_{38}GdN_3Na_3O_{14}P$	Gd	Vasovist
79	Gadopentetato de meglumina	$C_{14}H_{20}GdN_3O_{10} \cdot 2C_7H_{17}NO_5$	Gd	Magnevistan
80	Gadoterato de meglumina	$C_{16}H_{25}GdN_4O_8 \cdot 2C_7H_{17}NO_5$	Gd	
81	Gadoteridol	$C_{17}H_{29}GdN_4O_7$	Gd	Prohance
82	Gadotexato de sodio	$C_{22}H_{28}GdN_3Na_2O_{11}$	Gd	
83	Gadoversetamida	$C_{20}H_{34}GdN_5O_{10}$	Gd	Optimark
84	Gentisato de sodio	$C_7H_5NaO_4 \cdot 2H_2O$	Na	
85	Glucoeptato ferroso	$Fe(C_7H_{13}O_8)_2$	Fe	Egestan ferro
86	Gluconato de cinco	$C_{12}H_{22}O_{14}Zn$	Zn	
87	Gluconato de cobre	$C_{22}H_{22}CuO_{14}$	Cu	
88	Gluconato de manganês	$C_{12}H_{22}MnO_4$	Mn	
89	Heptaplatina	$C_{11}H_2ON_2O_6Pt$	Pt	Cor: Sunpla
90	Hidrargafeno	$C_{33}H_{24}Hg_2O_6S_2$	Hg	
91	Hidroxiapatita	$Ca_3(PO_4)_2 \cdot Ca(OH)_2$	Ca	Ossopam

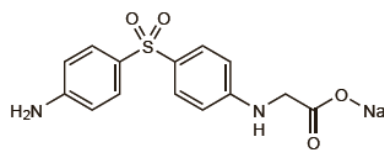
	Composto	Fórmula	Atividade farmacológica	Metal	Observações
92	Hidroxocobalamina	$C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P$	Antianémico	Co	
93	Indometacina de sodio	$C_{19}H_{15}ClNaO_4 \cdot 3H_2O$	AINE	Na	
94	Iodeto de rubidio	RbI	Oftalmologia	Rb	
95	Lobaplatina	$C_9H_{18}N_2O_3Pt$	Antineoplásico	Pt	
96	Lonazolaco de calcio	$C_{34}H_{24}CaCl_2N_4O_4$	AINE	Ca	
97	Loxoprofeno de sodio	$C_{15}H_{17}O_3Na \cdot 2H_2O$	AINE	Na	
98	Mangatodipirtrisodio	$C_{22}H_{27}MnN_4Na_3O_{14}P_2$	Meio de contraste figado e	Mn	
99	Mecobalamina	$C_{63}H_{91}CoN_{13}O_{14}P$	Antianémico	Co	
100	Melarsomina	$C_{13}H_{21}AsN_8S_2$	Antihelmintico	As	
101	Melarsoprol	$C_{12}H_{15}AsN_6OS_2 \cdot H_2O$	Tripanosomiasis africana	As	
102	Merbromina	$C_{20}HgBr_2Na_2O_6$	Desinfetante de uso tópico	Hg	
103	Mercurio amoniacal	NH_2HgCl	Infecções na pele e psoríasis	Hg	
104	Mercurobutol	$C_{10}H_{13}ClHgO$	Antiséptico, antifúngico	Hg	
105	Naproxeno sódico	$C_{14}H_{13}NaO_3$	AINE	Na	
106	Nedaplatina	$C_2H_8N_2O_3Pt$	Antineoplásico	Pt	Jpn:Aqupla
107	Nitrato de cério	$Ce(NO_3)_3$	Queimaduras	Ce	
108	Nitrato de gálio	$GaNO_3$	Hipercalcemia, antineoplásico	Ga	
109	Nitroprusiato sódico	$Na_2[Fe(CN)_5NO] \cdot 2H_2O$	Hipotensivo rápido	Na	
110	Oleato de cobre	$Cu(C_{18}H_{33}O_2)_2$	Pediculosis	Cu	
111	Oxaloplatina	$C_8H_{14}N_2O_4Pt$	Antineoplásico	Pt	
112	Parecoxib de sodio	$C_{19}H_{17}N_2NaO_4S$	AINE	Na	

Composto	Fórmula	Atividade farmacológica	Metal	Observações
113	Pentetato de calcio e trisódio	$C_{14}H_{18}N_3Na_3O_{10}Zn$	Ca	Envenenamento por metais pesados e radiativos (Pu, Am, Cm)
114	Picoplatina	$C_6H_{10}Cl_2N_2Pt$	Pt	Antineoplásico
115	Piritiona de zinco	$C_{10}H_8N_2O_2S_2Zn$	Zn	Pitiriasis versicolor
116	Prata coloidal		Ag	Antibacteriano
117	Propargermanio	$(C_3H_5GeO_{3,5})_n$	Ge	Hepatite B
118	Protoporfirina de estanho		Sn	Tratamento da porfiria
119	Queratinato de ouro		Au	Artrite reumatoide
120	Ranelato de estrôncio	$C_{12}H_6N_2O_8SSr_2$	Sr	Osteoporose
121	Roxarsona	$C_6H_6AsNO_6$	As	Promotor de crescimento em
122	Salicilato de lítio	$C_7H_5LiO_3$	Li	Medicina homeopática
123	Salicilato de magnésio	$C_{14}H_{10}MgO_6 \cdot 4H_2O$	Mg	AAA
124	Satraplatina	$C_{10}H_{22}Cl_2N_2O_4Pt$	Pt	Antineoplásico
125	Succinato de lítio	$C_4H_6 \cdot xLi$	Li	Dermatite seborreica
126	Sulfadiazina de prata	$C_{10}H_9AgN_4O_2S$	Ag	Queimaduras, antimicrobiano
127	Sulfatiazol de prata	$C_9H_9N_3O_2S_2Ag$	Ag	Queimaduras
128	Sulfato de bário	$BaSO_4$	Ba	Meio de contraste radiografias
129	Sulfato de condroitina sódica	$(C_{14}H_{19}NO_{14}SNa_2)_4$	Na	Inibidor Resorção óssea
130	Tartrato de antimônio e potássio	$C_8H_4K_2O_{12}Sb_2 \cdot 3H_2O$	Sb	Antileishmania
131	Tartrato de antimônio e sódio	$C_8H_4Na_2O_{12}Sb_2$	Sb	Antileishmania
133	Tetramolibdato de amônio	$(NH_4)_2MoS_4$	Mo	Envenenamento por CN^-
134	Tioacetarsamida	$C_{11}H_{12}AsNO_5S_2$	As	Antihelmíntico veterinário

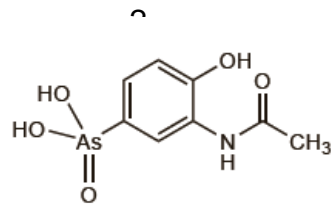
135	Tiosalicilato de sodio	$C_7H_5O_2NaS$	Osteoartrite, febre reumática	Na
136	Tolmetim de sodio	$C_{15}H_{14}NNaO_3 \cdot 2H_2O$	AINE	Na
137	Tomarsal	$C_9H_9HgNaO_2S$	Antiséptico de uso tópico	Hg
138	Triparsamida	$C_8H_{10}AsNaO_4 \cdot H_2O$	Tripanosomiasis	As
139	Tripicolinato de cromo	$C_{18}H_{12}N_3O_6Cr$	Suplemento alimentar	Cr
140	Trisalicilato de colina e magnésio	$C_{26}H_{29}O_{10}NMg$	AAA	Mg
141	Trisiloxano de drometizol	$C_{24}H_{39}N_3O_3Si$	Anti UV-A	Si
142	Tryparsam	$C_8H_{10}AsNaO_4 \cdot H_2O$	Tripanosomiasis	As

Dados extraídos do SWEETMAN, 2009

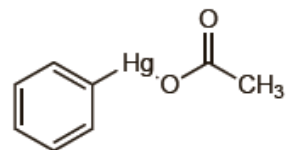
ANEXO II- Estruturas de alguns medicamentos contendo íons metálicos citados no ANEXO I



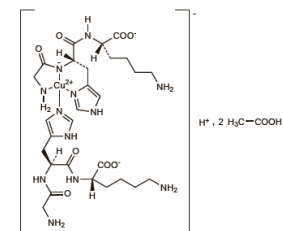
1



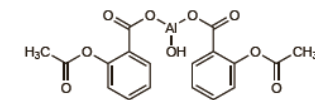
2



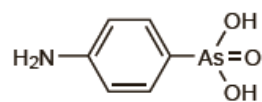
3



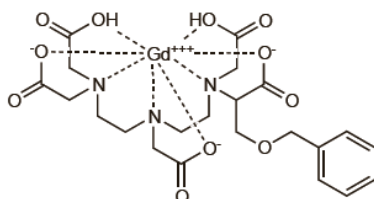
5



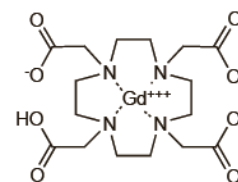
6



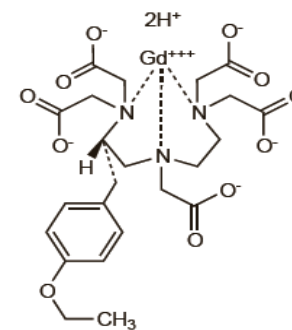
7



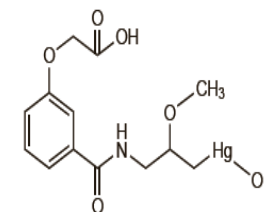
8



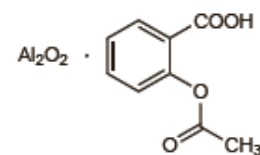
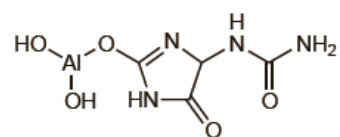
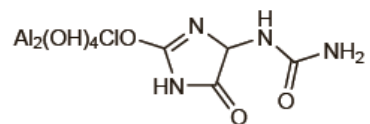
9



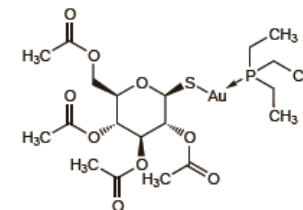
11



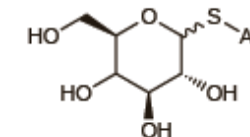
12



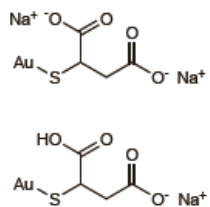
111



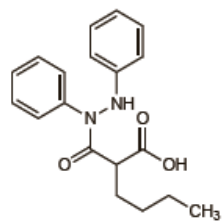
25



14

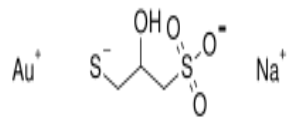


26

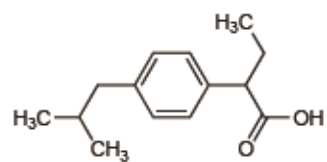


35

15

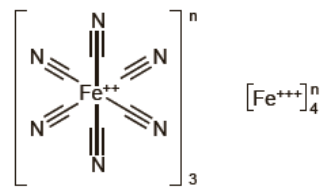


27

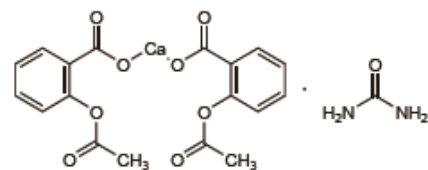


36

18

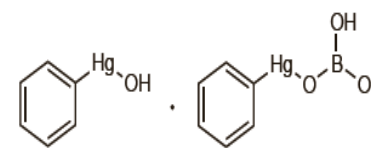


29

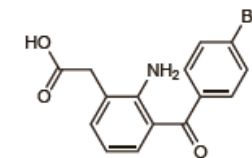
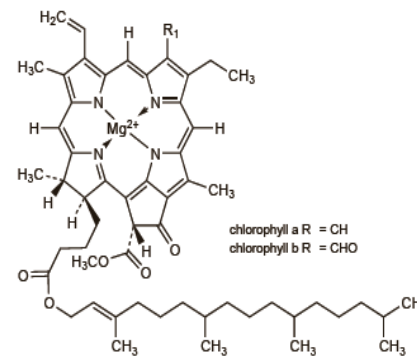


37

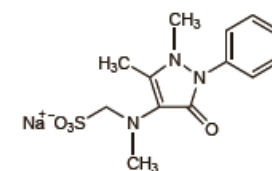
24



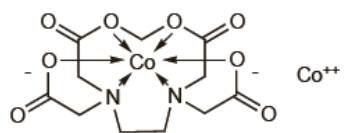
32



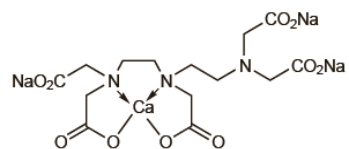
33



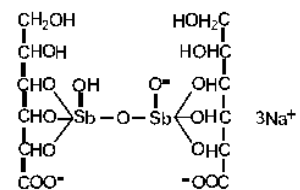
56



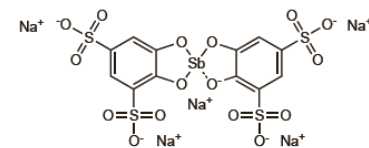
59



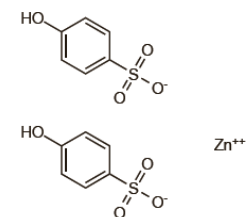
60



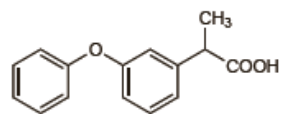
62



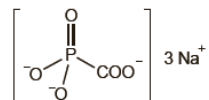
63



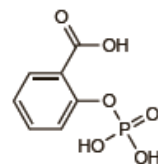
65



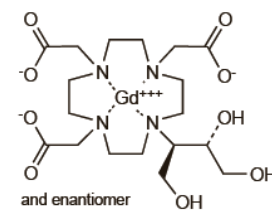
66



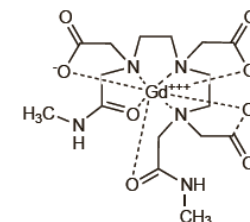
71



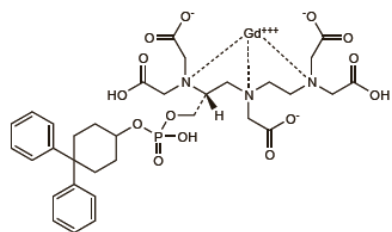
73



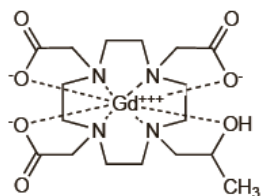
76



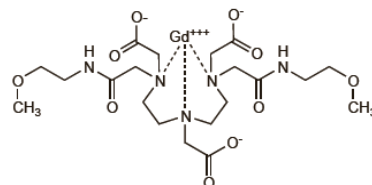
77



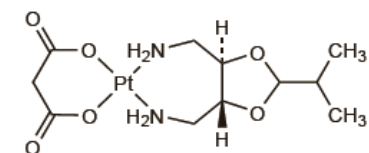
78



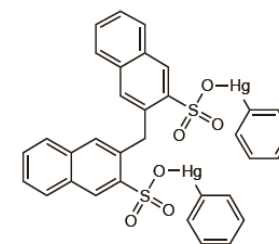
81



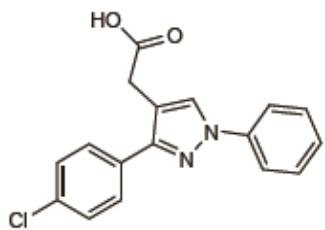
83



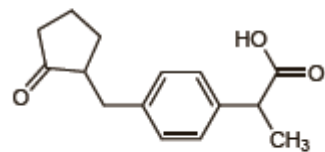
89



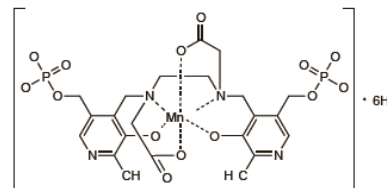
90



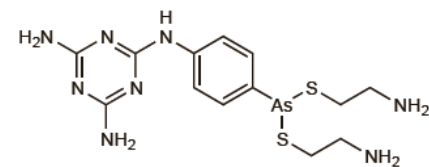
96



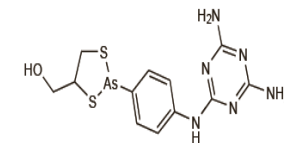
97



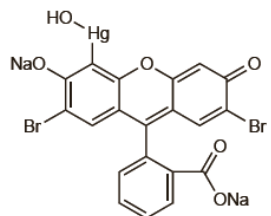
98



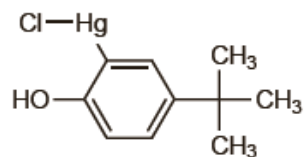
100



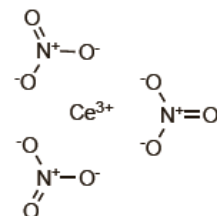
101



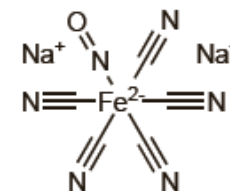
102



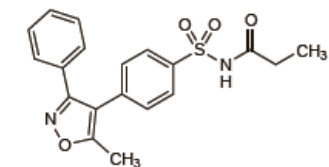
104



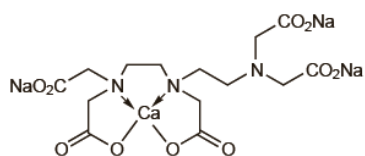
107



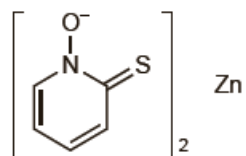
109



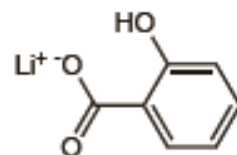
111



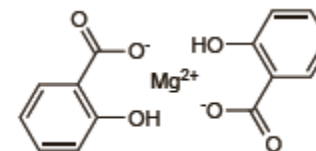
113



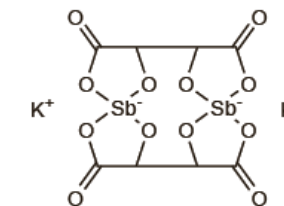
116



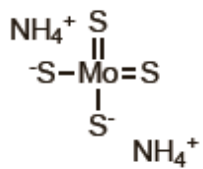
123



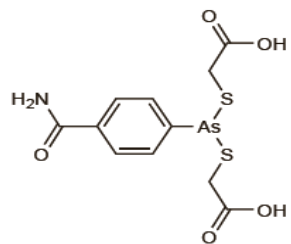
124



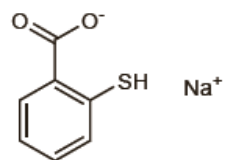
131



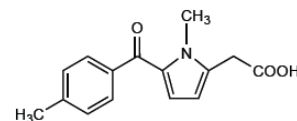
133



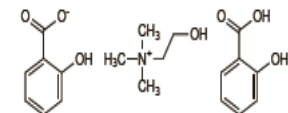
134



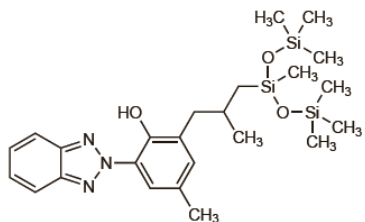
135



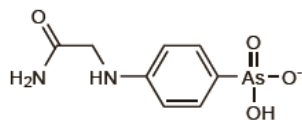
136



140



141



142

APÊNDICES

APÊNDICES

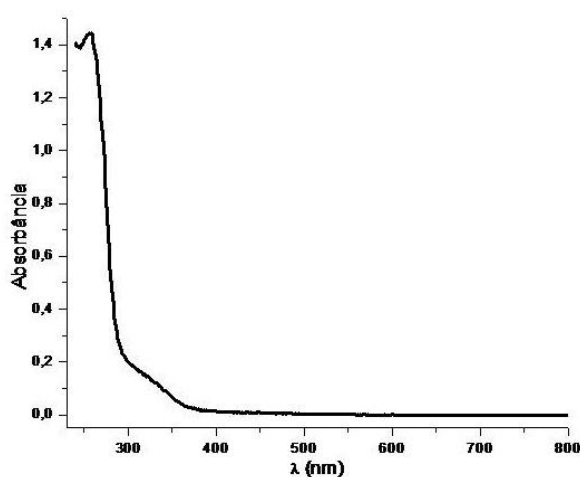
Nesta seção serão apresentadas as sínteses adicionais, onde o produto obtido não atingiu o grau de pureza necessário para continuar com os testes biológicos.

Síntese e caracterização de [RuCl(pic)NO]pic

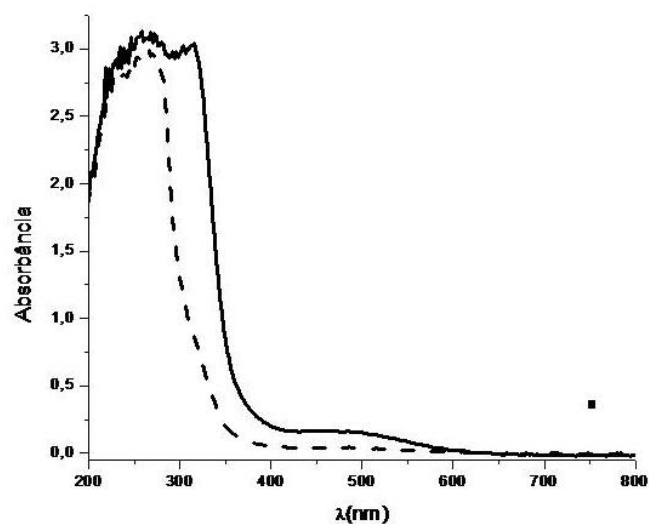
Em um balão de duas bocas de 50 mL de capacidade contendo 5 mL de metanol previamente desaereado foram dissolvidos 100 mg (0,37 mmol) do [RuCl₃NO] e 104 mg (0,85 mmol) de ácido picolínico (picH). A solução foi mantida sob agitação e atmosfera inerte por 24 hs. Evaporou-se a solução e o sólido seco a vácuo. Rendimento (90 mg) 59 %.

Medidas de condutividade em água 155 μ S/cm (21 °C), condizente com eletrólito 1:1.

Espectroscopia de Absorção na Região do UV-vis



(a)

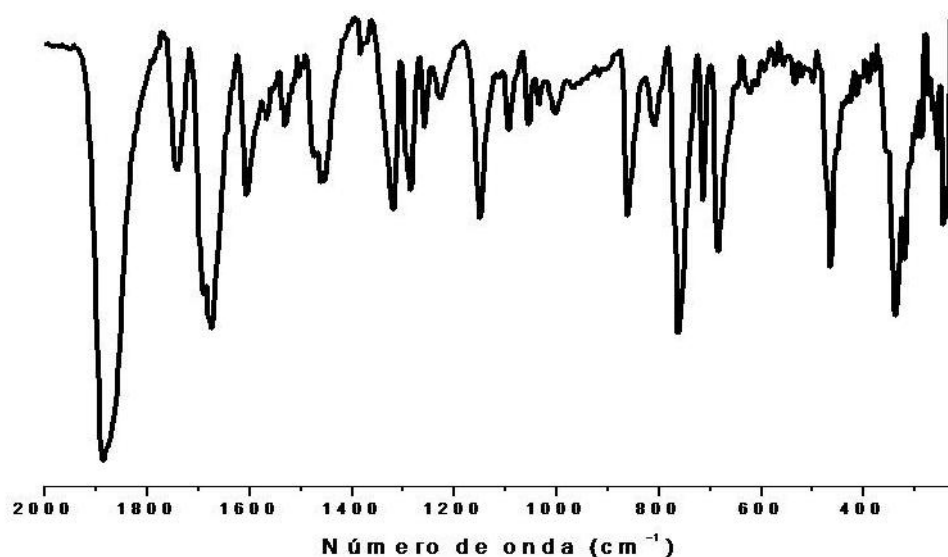


(b)

Espectro UV-vis de [RuCl(pic)NO]pic (a) em CH₃CN; (b) em H₂O; caminho óptico 1cm.

Composto	λ (nm)	ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	Transição
[RuCl(pic)NO]pic (acetonitrila)	257	15380	$\pi \rightarrow \pi^*$
	325	1469	$\pi \rightarrow \pi^* +$ TCLM
[RuCl(pic)NO]pic (agua)	264	26242	$\pi \rightarrow \pi^*$
	324	5990	$\pi \rightarrow \pi^* +$ TCLM
	482	706	$\pi \rightarrow \pi^*$

Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (IV)



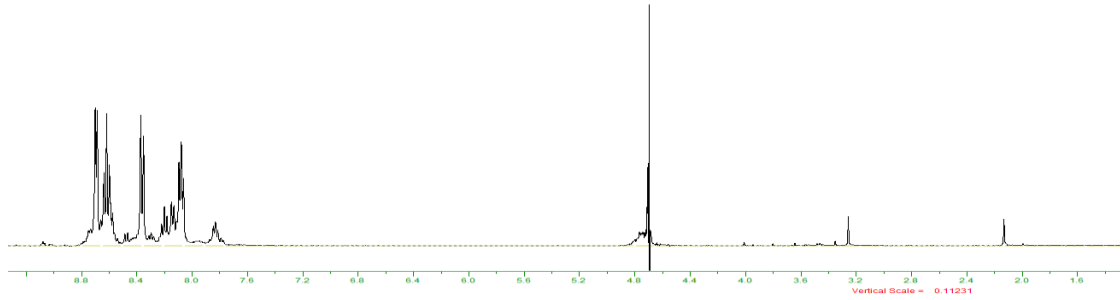
Espectro IV de [RuCl(pic)NO]pic, em pastilla de KBr.

Freqüências (cm⁻¹) correspondentes às principais bandas e atribuições dos espectros no IV do complexo [RuCl(pic)(picH)NO]

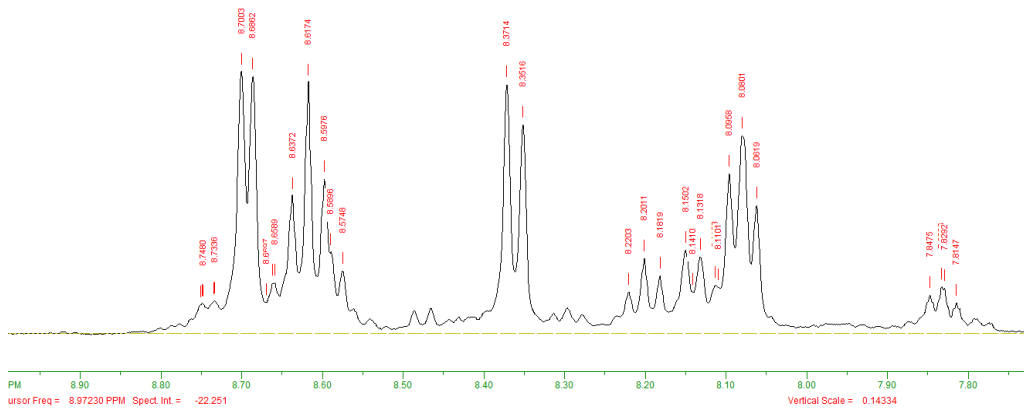
Atribuição	[RuCl(pic)NO](pic)
ν CH (Φ)	3097 (f); 3060 (f)
ν_{as} CH ₂	2930 (f)
ν NO	1886 (F)
ν_{as} COO	1674 (F)
ν C=C + ν C=N	1605 (F) ; 1567 (m); 1450 (m)
ν_s COO	1320 (f)
ν C-O	1149 (m)
γ Anel	762 (F)
ν Ru-N (NO)	592 (f)
ν Ru-N (pic)	535 (f)
ν Ru-Cl	288 (f)

F = muito forte; m = média; f = fraca; ν - designa uma vibração de estiramento

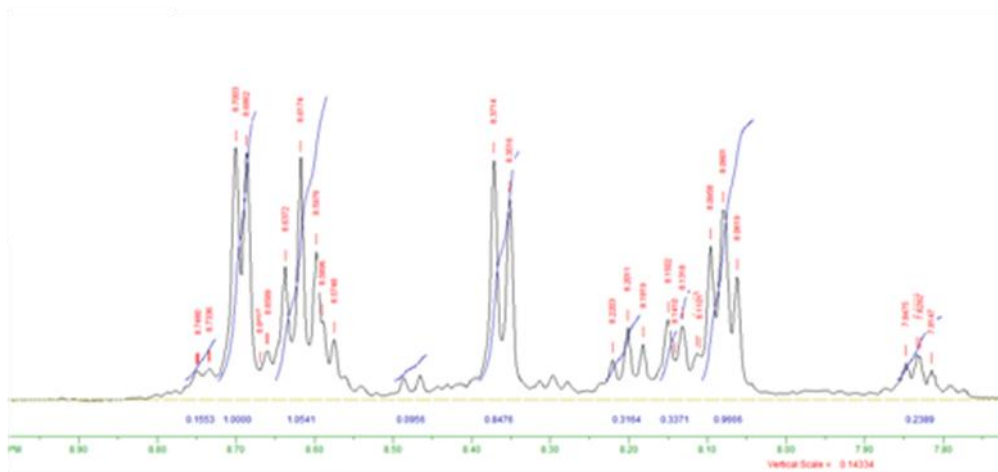
Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)



RMN em D₂O em região 1,2- 9,5 ppm

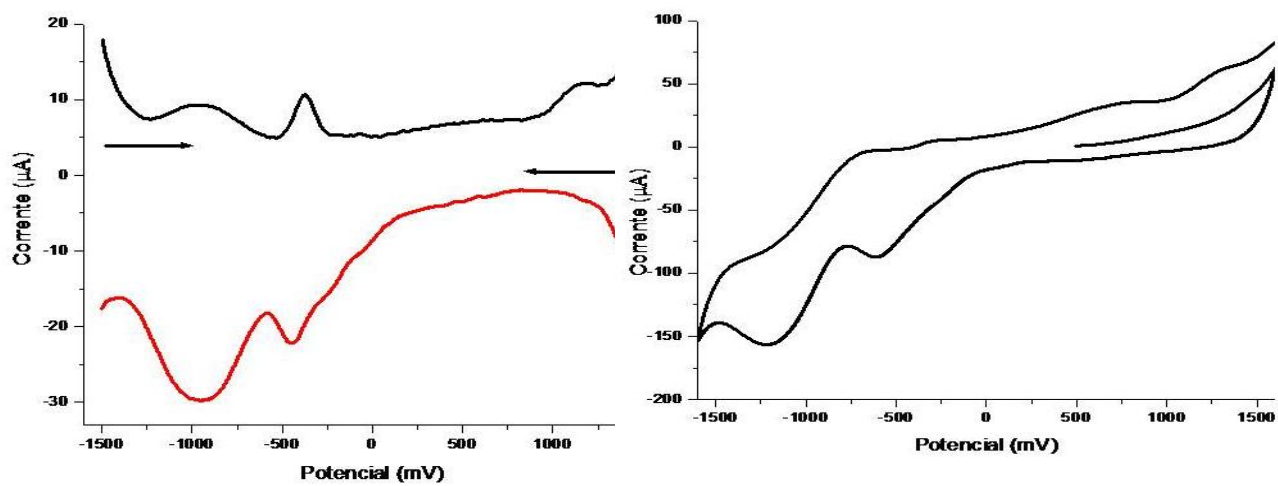


RMN em D₂O em região 7,6- 9,0 ppm

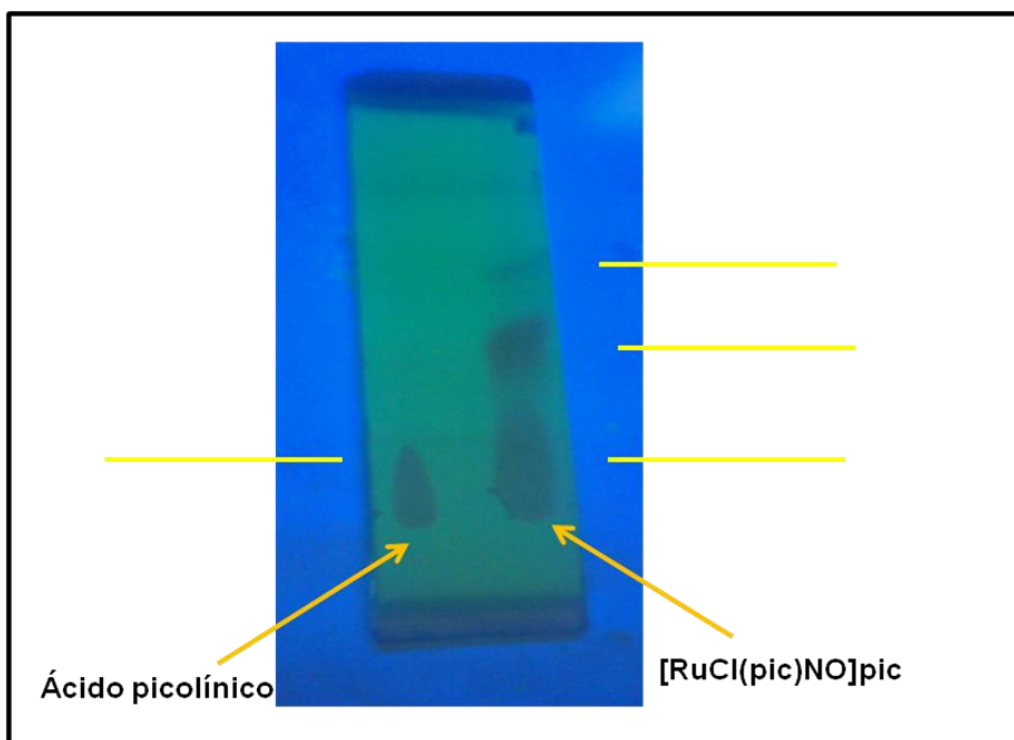


RMN ¹H em D₂O

Estudos eletroquímicos em CH₂Cl₂



Cromatografia em capa delgada



Síntese e caracterização de $[\text{RuCl}_3(4\text{-Mepy})_2\text{NO}]\cdot\text{H}_2\text{O}$

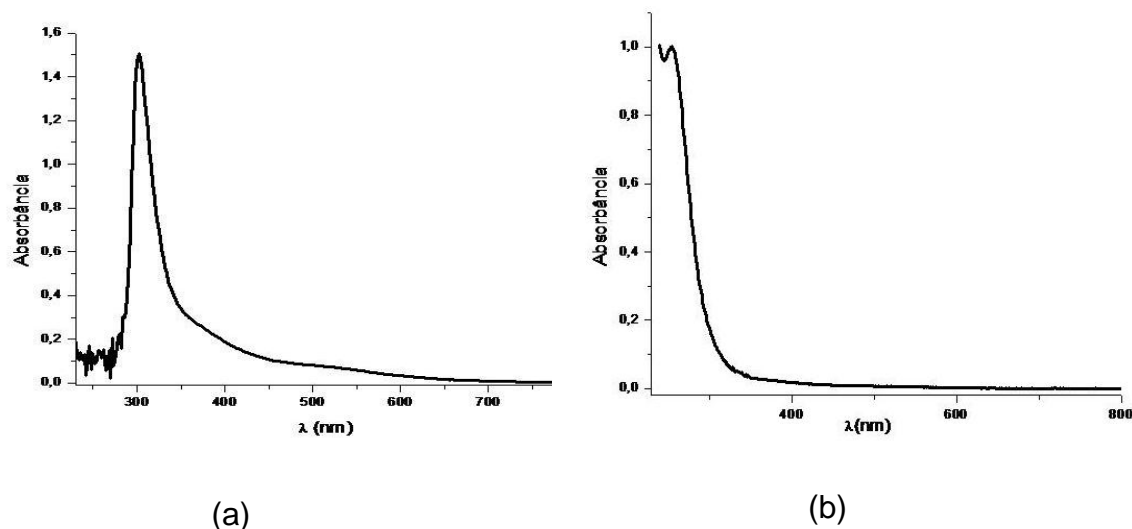
Em um balão de duas bocas de 50 mL de capacidade contendo 5 mL de metanol previamente desaereado foram dissolvidos 90 mg (0,33 mmol) do $[\text{RuCl}_3\text{NO}]$ e 61,5 mg (0,66 mmol) de 4-metilpiridina (4-Mepy). A solução foi mantida sob agitação e atmosfera inerte por 24 hs. Diminuiu-se o volume da solução até aproximadamente 1 mL, e foram adicionados 2 mL de acetona e precipitou-se com água. O precipitado foi lavado com água e éter e seco a vácuo. Rendimento (73 mg) 50 %.

Análise Elementar

Composto	%C (calc)	%H (calc)	%N (calc)
$[\text{RuCl}_3(4\text{-Mepy})_2(\text{NO})]$	32,87(32,63)	3,57 (3,65)	9,48 (9,51)

Medidas de condutividade em MeOH $12,9 \mu\text{S}/\text{cm}$ ($18,6 \text{ }^\circ\text{C}$), condizente com não eletrólito.

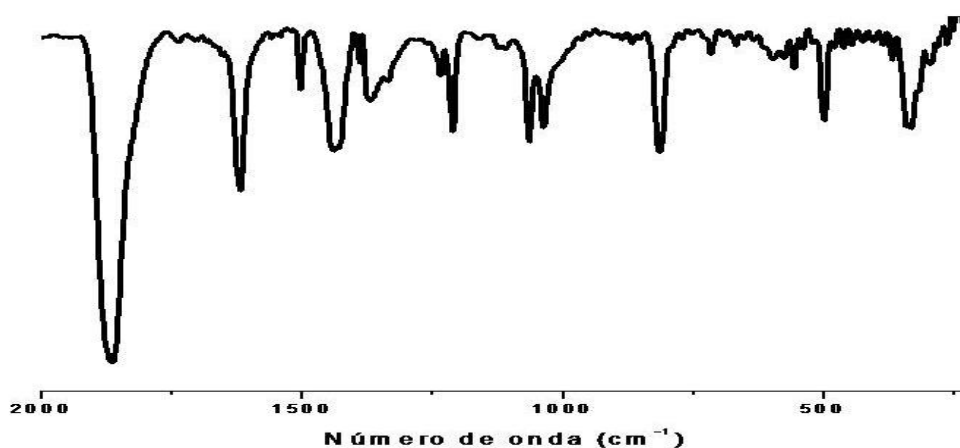
Espectroscopia de Absorção na Região do UV-vis



Espectro UV-vis de $[\text{RuCl}_3(4\text{-Mepy})_2\text{NO}]\cdot\text{H}_2\text{O}$, (a) em MeOH;(b) em CH_3CN caminho óptico 1cm.

Composto	λ (nm)	ϵ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹)	Transição
[RuCl ₃ (4-Mepy) ₂ NO].H ₂ O	302	1439	$\pi \rightarrow \pi^*$
(MeOH)	378 (sh)	234	$\pi \rightarrow \pi^*$
	517	77	d $\pi \rightarrow \pi^*$
[RuCl ₃ (4-Mepy) ₂ NO].H ₂ O	253	11058	$\pi \rightarrow \pi$
(CH ₃ CN)			

Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (IV)



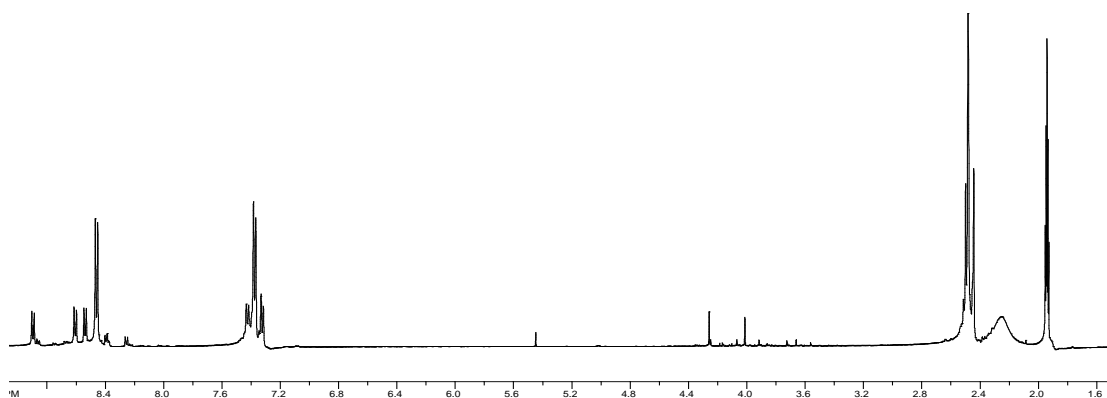
Espectro IV de [RuCl₃(4-Mepy)₂NO].H₂O, em pastilha de KBr.

Freqüências (cm⁻¹) correspondentes às principais bandas e atribuições dos espectros no IV do complexo [RuCl₃(4-Mepy)₂NO].H₂O

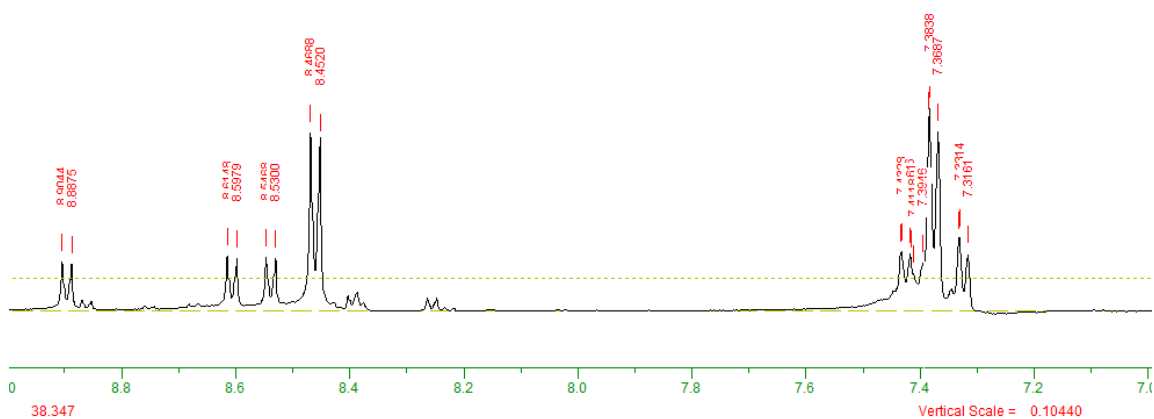
Atribuição	[RuCl ₃ (4-Mepy) ₂ NO].H ₂ O
ν CH (Φ)	3097 (f); 3053 (f)
ν_{as} CH ₃ e ν_s CH ₃	2921 (f); 2851 (f)
ν NO	1864 (F)
ν C=C + ν C=N	1619 (F) ; 1430 (m)
γ Anel	815 (F)
ν Ru-N (NO)	589 (f)
ν Ru-N (4-Mepy)	498 (f)

F = muito forte; m = média; f = fraca; ν - designa uma vibração de estiramento

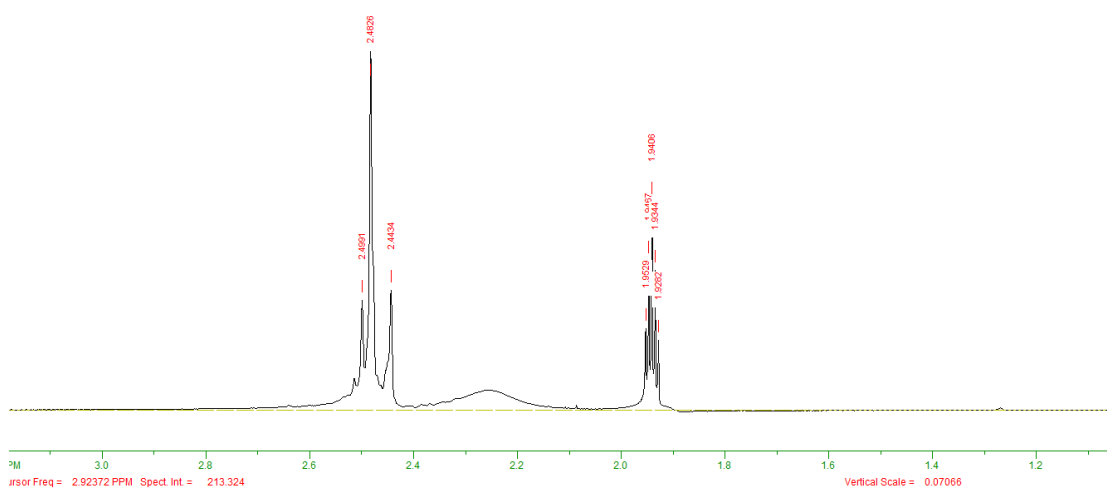
Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)



RMN ¹H em CD₃CN, região 1,1- 10,0 ppm



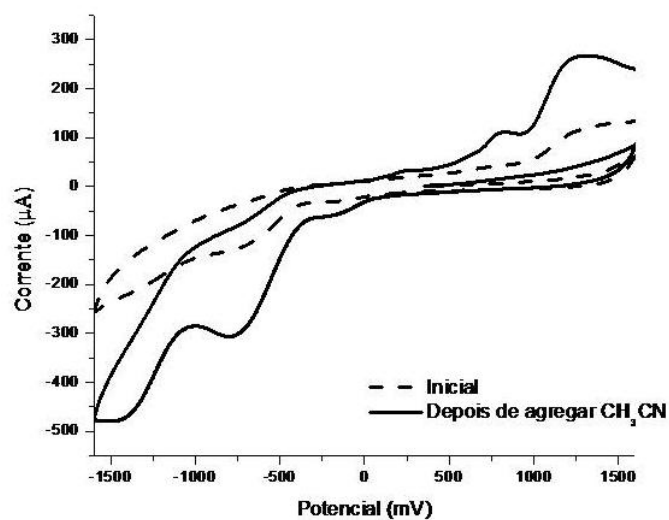
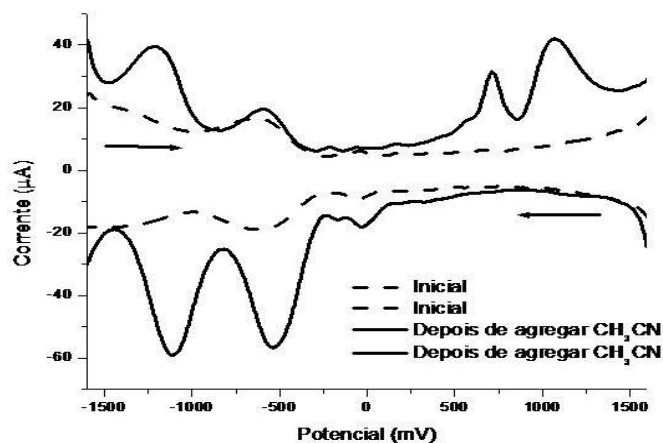
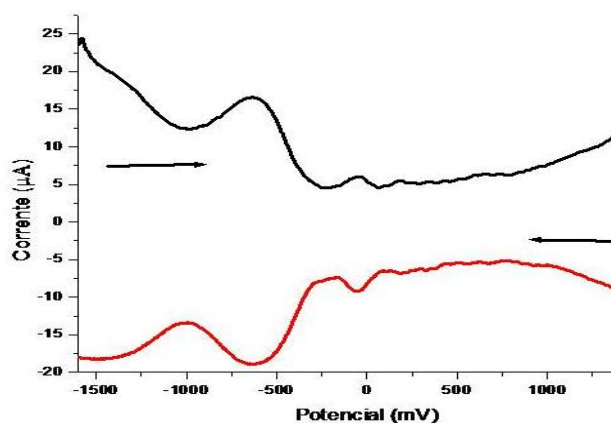
Região 7,2 – 9,0 ppm



Região 1,1 – 3,4 ppm

RMN ^1H em CD_3CN

Estudos eletroquímicos



Síntese e caracterização de $[\text{RuCl}(\text{2-pyS})\text{NO}](\text{2-pyS})\cdot\text{H}_2\text{O}$

Em um balão de duas bocas de 50 mL de capacidade contendo 5 mL de metanol previamente desaerado foram dissolvidos 95 mg (0,35 mmol) do $[\text{RuCl}_3\text{NO}]$ e 87 mg (0,78 mmol) de 2-mercaptopiridina (2-pySH). A solução foi mantida sob agitação e atmosfera inerte por 24 hs. Evaporou-se a solução e

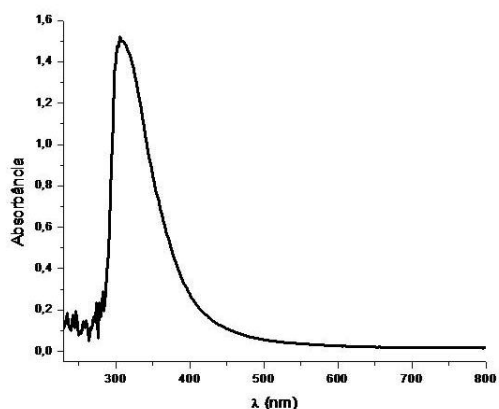
foram agregados 2 mL de diclorometano e precipitou-se com hexano. O precipitado foi filtrado e seco a vácuo. Rendimento (65 mg) 46 %.

Análise Elementar

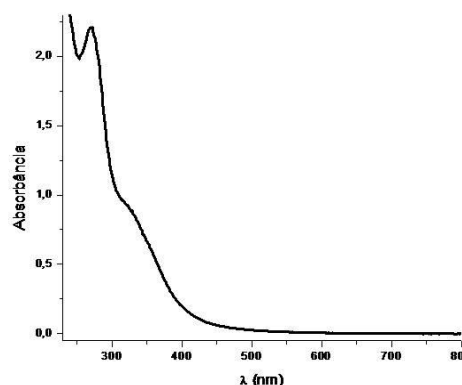
Composto	%C (calc)	%H(calc)	%N(calc)	%S (calc)
[RuCl(2-pyS)(2-pySH)NO].H ₂ O	29,84 (29,59)	2,21 (2,73)	9,72 (10,35)	15,75 (15,80)

Medidas de condutividade em metanol 42,0 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (21 °C), condizente com eletrólito 1:1.

Espectroscopia de Absorção na Região do UV-vis



(a)

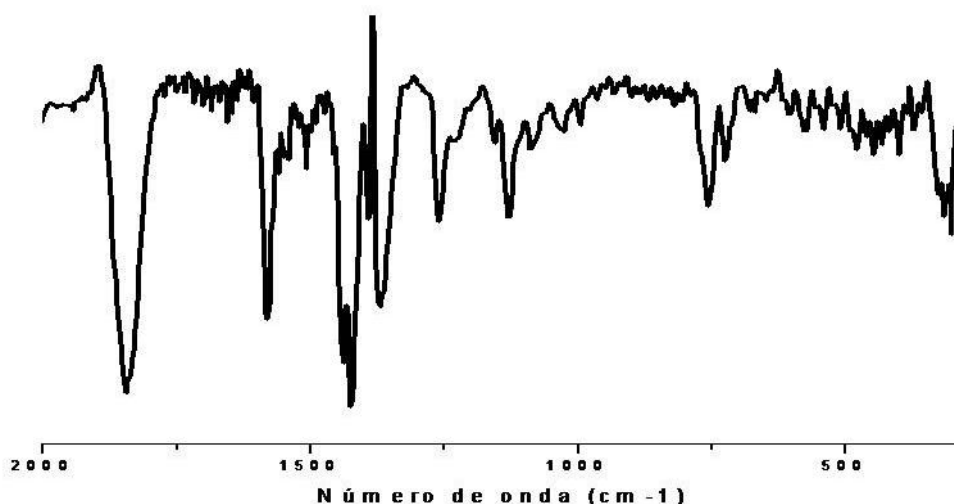


(b)

Espectro UV-vis de [RuCl(2-pyS)NO](2-pyS).H₂O, (a) em MeOH; (b) em CH₃CN, caminho óptico 1cm.

Composto (solvente)	$\lambda(\text{nm})$ (nm)	$\epsilon (\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1})$	Transição
[RuCl(2-pyS) NO](2-pyS).H ₂ O (MeOH)	307	7610	$\pi \rightarrow \pi^*$
[RuCl(2-pyS)NO](2-pyS).H ₂ O (CH ₃ CN)	269	12772	$\pi \rightarrow \pi^*$
	326 (sh)	5177	$\pi \rightarrow \pi^*$

Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (IV)



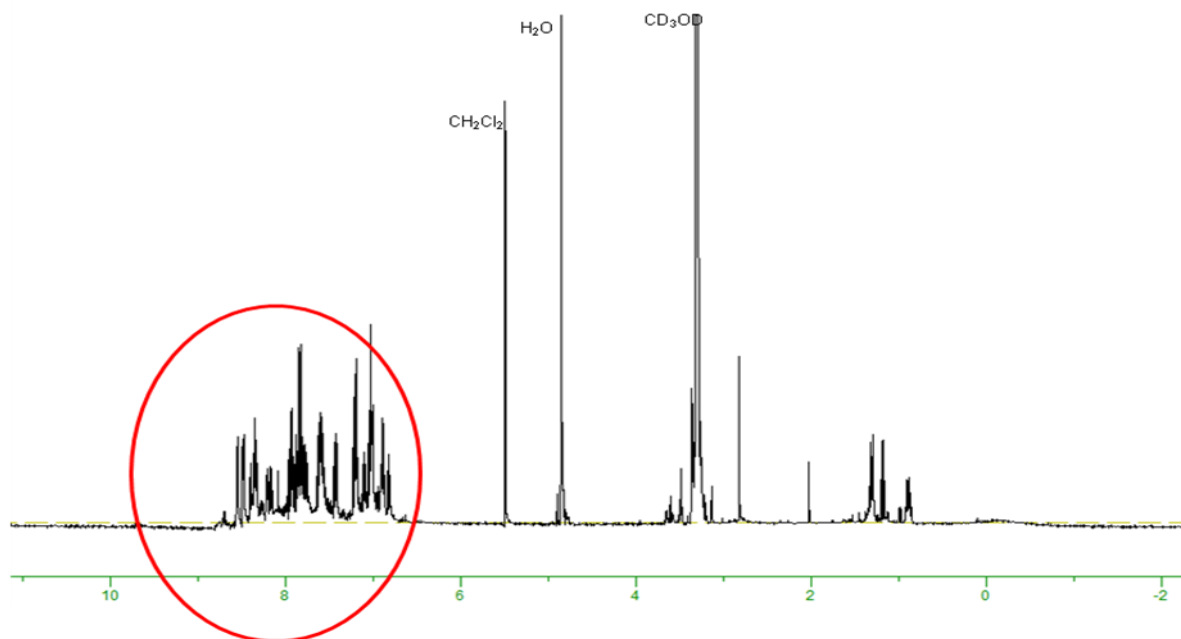
Espectro IV de $[[\text{RuCl}(2\text{-pyS})\text{NO}](2\text{-pyS})\cdot\text{H}_2\text{O}]$, em pastilha de KBr.

Freqüências (cm^{-1}) correspondentes às principais bandas e atribuições dos espectros no IV do complexo $[\text{RuCl}(2\text{-pyS})\text{NO}](2\text{-pyS})\cdot\text{H}_2\text{O}$

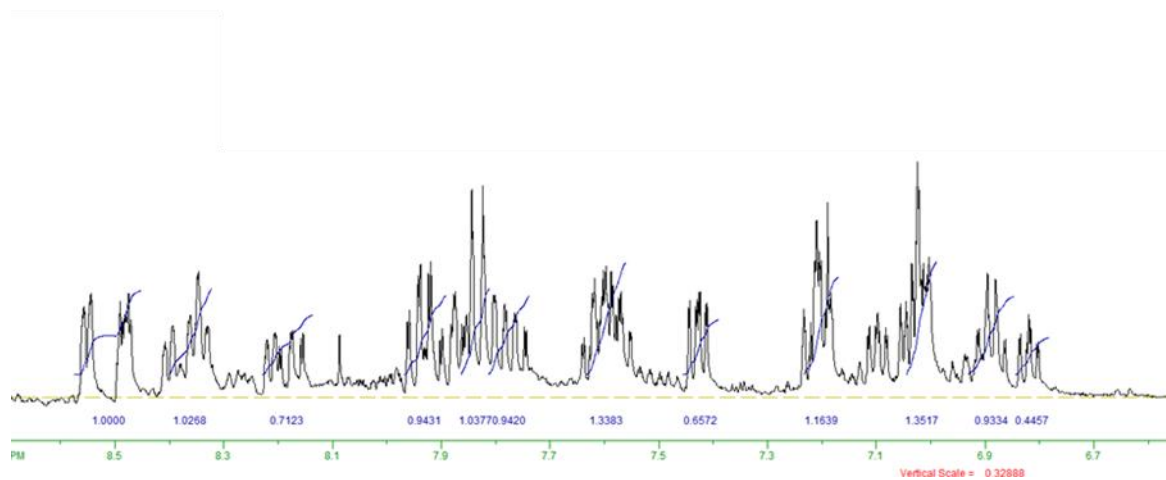
Atribuição	$[\text{RuCl}(2\text{-pyS})\text{NO}](2\text{-pyS})\cdot\text{H}_2\text{O}$
ν CH (Φ)	3079 f; 3066 f
ν s CH_3 + overtone	2924 m; 2852 m
ν NO	1842 F
ν C=C + ν C=N	1582 F; 1550 m
ν N=C + δ (CH) + δ (NH)	1439 F; 1424 F
ν C=S	1261 m
ν C=S em NHC=S	1156; 1129 m
γ N-H	852 f
δ Ru-N (NO)	604 f
Ru-S	316 f

F = muito forte; m = média; f = fraca; ν - designa uma vibração de estiramento

Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)



RMN ^1H em CD_3OH



Estudos eletroquímicos

