

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

**“Complexos de Rutênio Contendo Lapachol e Lausona:
Síntese, Caracterização e suas Propriedades
Quimioterapêuticas”**

Katia Mara de Oliveira*

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

Orientador: Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista

*** Bolsista CNPq**

**São Carlos – SP
2014**

Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da Biblioteca Comunitária UFSCar
Processamento Técnico
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O48c Oliveira, Katia Mara de
Complexos de rutênio contendo lapachol e lausona
: síntese, caracterização e suas propriedades
quimioterapêuticas / Katia Mara de Oliveira. -- São
Carlos : UFSCar, 2015.
122 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de
São Carlos, 2014.

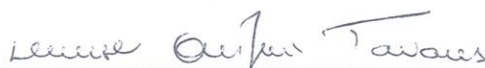
1. Complexos de rutênio. 2. Lapachol. 3. Lausona.
4. Câncer. 5. Bioinorgânica. I. Título.

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 comissão examinadora que avaliou e aprovou a defesa de dissertação de Mestrado Acadêmico da candidata **Katia Mara de Oliveira**, realizada em 21 de março de 2014:*



Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista



Profa. Dra. Denise Crispim Tavares



Prof. Dr. André Luiz Barboza Formiga

Aos meus pais, Valdete e Jader (*in memoriam*), que me deram a vida e ensinaram-me a vivê-la com dignidade. Obrigada por acreditarem em mim e por todo o esforço para que eu chegasse até aqui!

Aos meus irmãos Kledson e Isabelle, por tornarem minha vida mais alegre!

Ao Tiago, pelo apoio e incentivo durante toda essa jornada.
Pela paciência e pelo seu amor acima de tudo!
Amo vocês!

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sempre iluminar o meu caminho;

Ao Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista pela oportunidade oferecida, orientação e por todas as contribuições em minha formação profissional;

À Dra. Milena B. P. Soares pelo lapachol;

Ao Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon e ao mestrando Murilo Carrocia pela colaboração na resolução das estruturas cristalográficas;

Ao Prof. Dr. Paulo Cezar Vieira pela disponibilização do fluorímetro para os ensaios com a BSA;

Ao Departamento de Química da UFSCar e ao Programa de Pós-Graduação em Química, em especial às secretarias Ariane, Cristina e Luciani;

Aos técnicos Ademir Sartori, Luciana Vizotto e Paulo Lambertucci por toda a disponibilidade e ajuda;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química que contribuíram para a minha formação;

Ao Prof. Dr. André Luiz Bogado, meu primeiro orientador, pelos ensinamentos transmitidos;

Ao Rodrigo Corrêa por toda a ajuda nas sínteses;

À doutoranda Angelica pela ajuda na realização dos testes biológicos e pelas valiosas discussões durante o desenvolvimento deste trabalho;

Aos doutorandos Legna e Wilmer pela ajuda nos estudos de interação com o DNA;

À Profa. Dra. Regina Mendes por toda a ajuda nos estudos de interação com a BSA;

Aos amigos de laboratório LERCI: Angelica, Anislay, Claudia, Fabio, Gabriel, João Honorato, João Paulo, Jocely, Juliana, Legna, Lucas Pozzi, Mariana, Monize, Murillo, Raul, Regina Mendes, Rodrigo Corrêa, Vitória e Wilmer. Obrigada pela disponibilidade em ajudar e pelos momentos de descontração;

À Marília Barbosa por toda a ajuda e pelo apoio quando cheguei a São Carlos;

À amiga Fran por todo apoio deste a época da graduação;

Ao CNPq pela bolsa concedida.

MUITO OBRIGADA!!!

“Existe um tempo para melhorar, para se preparar e planjar,
Igualmente existe um tempo para partir para a ação.
Porque um dia é preciso parar de sonhar, tirar os planos da gaveta e,
de algum modo começar”

Amyr Klink

“Não haverá borboletas se a vida não passar por longas e silenciosas
metamorfozes” **Rubem Alves**

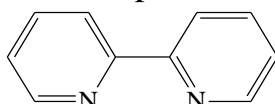
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E ESTRUTURAS

HBV	Hepatite B
HCV	Hepatite C
HPV	Vírus do papiloma humano
FDA	Food and Drug Administration
INCA	Instituto Nacional do Câncer
OMS	Organização Mundial da Saúde
PTA	1,3,5-triaza-7-fosfoadamantano
N-N	Ligantes N-heterocíclicos
P-P	Bifosfinas
MCF-7	Célula tumoral de adenocarcinoma de mama
L929	Célula normal de fibroblasto de camundongo
BSA	Albumina soro bovina
PTBA	Perclorato de tetrabutílamônio
MLCT	Transferência de carga do metal para o ligante
IL	Transição eletrônica intraligante
IC ₅₀	Concentração inibitória do crescimento celular em 50 %
Et ₃ N	Trietilamina
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio
ppm	Partes por milhão
RMN ³¹ P{ ¹ H}	Ressonância magnética nuclear de fósforo desacoplado do hidrogênio
RMN ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN ¹³ C{ ¹ H}	Ressonância magnética nuclear de carbono desacoplado do hidrogênio
HMBC	Correlação heteronuclear de ligações múltiplas
HSQC	Correlação heteronuclear de ligação simples
COSY	Correlação espectroscópica

IV	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho
UV-vis	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível
<i>trans</i>	Isômero de posição <i>trans</i> de um composto inorgânico ou orgânico
<i>cis</i>	Isômero de posição <i>cis</i> de um composto inorgânico ou orgânico
δ	Deslocamento químico nos espectros de RMN
ϵ	Absortividade molar
λ	Comprimento de onda
nm	Nanômetro
π	Ligação pi
σ	Ligação sigma
μ	Micro (1×10^{-6})
J	Constante de acoplamento
ν	Frequência de estiramento
E_{ox}	Potencial de oxidação
Hz	Hertz

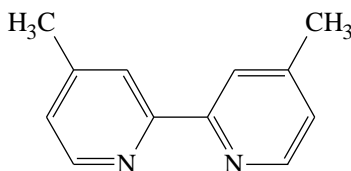
bipy

2,2'-bipiridina



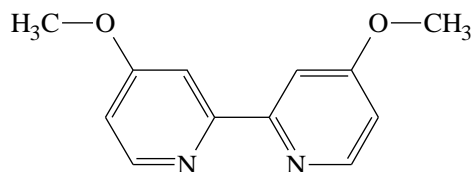
mebipy

4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina



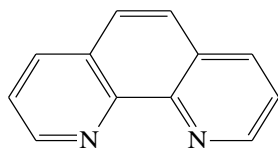
meobipy

4,4'-dimetoxi-2,2'-bipiridina



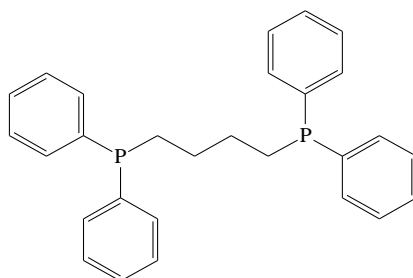
fen

1,10-fenantrolina

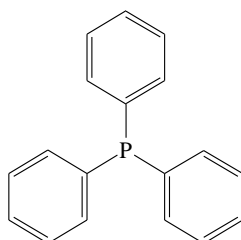


dppb

1,4-bis(difenilfosfina)butano

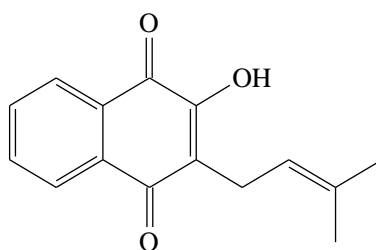
PPh₃

Trifenilfosfina



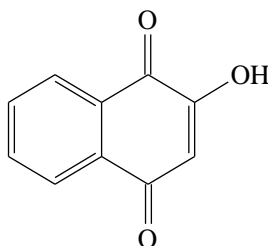
lap

Lapachol



lau

Lausona



LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1 - Valores de IC ₅₀ em $\mu\text{mol L}^{-1}$ de alguns complexos de rutênio contra a linhagem tumoral MDA-MB-231	10
TABELA 4.1 - Dados de condutividade molar em CH ₂ Cl ₂ dos complexos sintetizados	30
TABELA 4.2 - Dados percentuais para os teores de C, H e N, teóricos e experimentais, para os complexos sintetizados.....	31
TABELA 4.3 - Atribuições das principais bandas de absorção na região do infravermelho para o lap e a lau, obtidos em pastilhas de KBr	32
TABELA 4.4 - Atribuições dos principais estiramentos observados para os complexos (1) [Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆ , (2) [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆ e os ligantes lap e lau	34
TABELA 4.5 - Dados de absorvidade molar (ϵ) e tentativa de atribuição das bandas.....	38
TABELA 4.6 - Dados de δ e J para os complexos contendo lap e lau, em CH ₂ Cl ₂ /D ₂ O.....	41
TABELA 4.7 - Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C{ ¹ H} dos ligantes lap, lau e dos complexos (1) [Ru(lap)(dppb)(mebipy)]PF ₆ e (2) [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆ , em DMSO-d ₆	47
TABELA 4.8 - Potenciais de oxidação Ru ^{III} /Ru ^{II} para os complexos contendo lap e lau	50
TABELA 4.9 - Principais distâncias [Å] e ângulos [°] de ligação para o complexo precursor (1) <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(bipy)] e os complexos (2) [Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆ e (3) [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆	53
TABELA 4.10 - Principais distâncias de ligação [Å] para os ligantes lap e lau, e os complexos (1) [Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆ , (2) [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆ e (3) [Ru(lau)(dppb)(fen)]PF ₆	54

TABELA 4.11 - Dados de condutividade molar para os complexos da série 2 em CH ₂ Cl ₂	56
TABELA 4.12 - Dados percentuais para os teores de C, H e N, teóricos e experimentais, para os complexos do tipo <i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (N-N)]PF ₆	56
TABELA 4.13 - Atribuições dos principais estiramentos observados para o ligante lau e o complexo <i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (bipy)]PF ₆	58
TABELA 4.14 - Dados de absorvidade molar (ϵ) e tentativa de atribuição das bandas	60
TABELA 4.15 - Dados de deslocamentos químico (δ) para os complexos da série 2 em CH ₂ Cl ₂ /D ₂ O	61
TABELA 4.16 - Deslocamentos químicos (δ) de RMN ¹³ C{ ¹ H} do ligante lau e do complexo (1) <i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (mebipy)]PF ₆ , em DMSO-d ₆	63
TABELA 4.17 - Valores de potenciais de oxidação Ru ^{III} /Ru ^{II} para os complexos da série 2.....	65
TABELA 4.18 - Dados de condutividade molar para o <i>cis</i> -[Ru(PPh ₃) ₂ (lap) ₂] em CH ₂ Cl ₂	66
TABELA 4.19 - Dados percentuais para os teores de C e N, teóricos e experimentais para o complexo <i>cis</i> -[Ru(PPh ₃) ₂ (lap) ₂].....	67
TABELA 4.20 - Deslocamentos químicos (δ) de RMN ¹³ C{ ¹ H} para o ligante lap e o complexo <i>cis</i> -[Ru(PPh ₃) ₂ (lap) ₂], em CDCl ₃ -d ₆	71
TABELA 4.21 - Resultados obtidos para as constantes de interação com o DNA	75
TABELA 4.22 - Resultados obtidos para K _{SV} , k _q , n e K _b para os complexos da série 1 e ligantes lap e lau.....	79
TABELA 4.23 - Resultados obtidos para K _{SV} , k _q , n e K _b para os complexos da série 2	79
TABELA 4.24 - Parâmetros termodinâmicos para os complexos sintetizados .	82
TABELA 4.25 - Valores de IC ₅₀ em $\mu\text{mol L}^{-1}$ e índice de seletividade (IS) para os complexos da série 1 nas linhagens L929 e MCF-7.....	85

TABELA 4.26 - Valores de IC ₅₀ em $\mu\text{mol L}^{-1}$ e IS para os complexos da série 2 nas linhagens L929 e MCF-7	86
---	----

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1- Estimativa de 2012 e 2013 para os dez tipos de câncer mais incidentes por sexo, exceto pele não melanoma (Elaborada a partir de INCA, 2013).....	2
FIGURA 1.2 - Complexos de platina empregados no tratamento de câncer. (A) cisplatina, (B) carboplatina e (C) oxaloplatina.	6
FIGURA 1.3 - Estruturas dos complexos de rutênio NAMI-A, KP1019, RAPTA-T e RDC11.	10
FIGURA 1.4 - Estruturas dos fármacos daunorrubicina e mitomicina C.	12
FIGURA 1.5 - Estruturas e classificação das quinonas.	13
FIGURA 1.6 - Ipê roxo, principal Bignoniaceae de onde o lapachol é extraído e estrutura do lapachol (Fonte: ÁRVORES BRASILEIRAS).....	13
FIGURA 1.7 - Folhas de henna de onde é extraída a lausona e estrutura da lausona (Fonte: LAWSONIA).	14
FIGURA 1.8 - Retrodoação de fosfinas. (A) Interação $d\pi - d\pi$. (B) Interação $d\pi - \sigma^*$ (HILL, 2002).	16
FIGURA 3.1 - Representação do teste de citotoxicidade.	28
FIGURA 4.1 - Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante lap e do complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	33
FIGURA 4.2 - Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante lau e do complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ em pastilhas de KBr.	34
FIGURA 4.4 - Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para os complexos (A) $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e (B) $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em DMSO.	36
FIGURA 4.3 - Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para os ligantes (A) lau e (B) lap em DMSO.	35

FIGURA 4.5 - Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para os ligantes (A) lap e (B) lau, protonados e desprotonados em DMSO.	37
FIGURA 4.6 - Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o complexo precursor <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(bipy)] em CH ₂ Cl ₂ /D ₂ O.	39
FIGURA 4.7 - Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o complexo [Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆ em CH ₂ Cl ₂ /D ₂ O.....	40
FIGURA 4.8 - Espectro de RMN ^1H do lap, em DMSO-d ₆	42
FIGURA 4.9 - Espectro de RMN ^1H da lau, em DMSO-d ₆	42
FIGURA 4.10 - Espectro de RMN ^1H do complexo [Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆ , em DMSO-d ₆	43
FIGURA 4.11 - Espectro de RMN ^1H do complexo [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆ , em DMSO-d ₆	44
FIGURA 4.12 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do lap, em DMSO-d ₆	45
FIGURA 4.13 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da lau, em DMSO-d ₆	45
FIGURA 4.14 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo [Ru(lap)(dppb)(mebipy)]PF ₆ , em DMSO-d ₆	46
FIGURA 4.15 - Espectro de RMN de HMBC do complexo [Ru(lap)(dppb)(mebipy)]PF ₆ , em DMSO-d ₆	48
FIGURA 4.16 - (A) Voltamograma cíclico e (B) de pulso diferencial do [Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆ em 0,1 mol L ⁻¹ de PTBA, em CH ₂ Cl ₂	49
FIGURA 4.17 - (A) Voltamograma cíclico e (B) de pulso diferencial para o complexo [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆ em 0,1 mol L ⁻¹ de PTBA, em CH ₂ Cl ₂	49
FIGURA 4.18 - Voltamograma cíclico para o complexo [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆ em 0,1 mol L ⁻¹ de PTBA, em acetonitrila	50
FIGURA 4.19 - Estruturas cristalinas dos complexos (A) [Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆ , (B) [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆ e (C) [Ru(lau)(dppb)(fen)]PF ₆ . Todos apresentam uma molécula de CH ₂ Cl ₂ e o contra íon PF ₆ ⁻ , que foram omitidas.	52

FIGURA 4.20 - Estrutura de raios X para o ligante (A) lap e (B) lau (LARSEN <i>et. al.</i> , 1992; TODKARY <i>et. al.</i> , 2006).....	54
FIGURA 4.21 - Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo <i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (bipy)]PF ₆ obtido em pastilhas de KBr.	57
FIGURA 4.22 - Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para o complexo <i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (bipy)]PF ₆ em DMSO.....	59
FIGURA 4.23 - Espectro de RMN ³¹ P{ ¹ H} do complexo <i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (mebipy)]PF ₆ , em CH ₂ Cl ₂ /D ₂ O.....	61
FIGURA 4.24 - Espectro de RMN ¹ H do complexo <i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (mebipy)]PF ₆ , em DMSO-d ₆	62
FIGURA 4.25 - Espectro de RMN ¹³ C{ ¹ H} do complexo <i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (mebipy)]PF ₆ , em DMSO-d ₆	63
FIGURA 4.26 - (A) Voltamograma cíclico e (B) de pulso diferencial do <i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (mebipy)]PF ₆ em 0,1 mol L ⁻¹ de PTBA, em CH ₂ Cl ₂	65
FIGURA 4.27 - Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo <i>cis</i> -[Ru(PPh ₃) ₂ (lap) ₂]PF ₆ e do lap, obtidos em pastilha de KBr.....	67
FIGURA 4.28 - Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo <i>cis</i> -[Ru(PPh ₃) ₂ (lap) ₂], em DMSO.....	68
FIGURA 4.29 - Espectro de RMN ³¹ P{ ¹ H} do complexo <i>cis</i> -[Ru(PPh ₃) ₂ (lap) ₂], em CH ₂ Cl ₂ /D ₂ O.	69
FIGURA 4.30 - Espectro de RMN ¹ H para o complexo <i>cis</i> -[Ru(PPh ₃) ₂ (lap) ₂], em CDCl ₃ -d ₆ com atribuição dos principais sinais referentes as moléculas de lap.	70
FIGURA 4.31 - Espectro de RMN ¹³ C{ ¹ H} para o complexo <i>cis</i> -[Ru(PPh ₃) ₂ (lap) ₂], em CDCl ₃ -d ₆	71
FIGURA 4.32 - Voltamograma cíclico e de pulso diferencial do complexo <i>cis</i> -[Ru(PPh ₃) ₂ (lap) ₂] em 0,1 mol L ⁻¹ de PTBA, em CH ₂ Cl ₂	72
FIGURA 4.33 - Estrutura cristalina do <i>cis</i> -[Ru(PPh ₃) ₂ (lap) ₂] com uma molécula de etanol como solvato.....	72

- FIGURA 4.34** - Espectros de titulações espectroscópicas dos complexos da série 1 com o DNA. (A) $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e (B) $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, nas concentrações de 4×10^{-5} e $3,5 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} , respectivamente, $[\text{DNA}] = 4,48 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em pH 7,4..... 74
- FIGURA 4.35** - Espectro de emissão da BSA em concentrações crescentes do complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$. Concentração da BSA = $2,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, $\lambda_{\text{ex.}} = 280$ nm, pH = 7,4 e $T = 310$ K..... 77
- FIGURA 4.36** - Gráfico de viabilidade celular contra as linhagens L929 para os ligantes lap e lau e MCF-7 para o lap. 83
- FIGURA 4.37** - Gráfico de viabilidade celular contra a linhagem MCF-7 para os complexos da série 1..... 84
- FIGURA 4.38** - Gráfico de viabilidade celular contra as linhagens L929 e MCF-7 para os complexos da série 2..... 86

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 4.1 - Rota sintética para obtenção dos complexos contendo lap ou lau.	29
ESQUEMA 4.2 - Rota sintética empregada para obtenção dos complexos contendo lau do tipo <i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (N-N)]PF ₆	55
ESQUEMA 4.3 - Rota sintética empregada para a obtenção do <i>cis</i> -[Ru(PPh ₃) ₂ (lap) ₂].	66

RESUMO

“COMPLEXOS DE RUTÊNIO CONTENDO LAPACHOL E LAUSONA: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E SUAS PROPRIEDADES QUIMIOTERAPÊUTICAS”

O presente trabalho centra-se na síntese e caracterização de novos complexos de rutênio contendo as naftoquinonas lapachol e lausona, devido as interessantes propriedades biológicas que elas apresentam. Complexos de fórmula geral $[\text{Ru}(\text{L})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$, *trans*- $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{PPh}_3)_2(\text{N-N})]\text{PF}_6$ e *cis*- $[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{lap})_2]$ em que L refere-se aos ligantes lapachol (lap) ou lausona (lau), N-N corresponde a 2,2'-bipiridina, 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina, 4,4'-dimetoxi-2,2'-bipiridina e 1,10-fenantrolina, dppb = 1,4-bis(difenilfosfina)butano e PPh_3 = trifenilfosfina. Todos os complexos sintetizados foram caracterizados por condutividade molar, análise elementar, espectroscopia de absorção na região do infravermelho e na região do UV-visível, ressonância magnética nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, voltametria cíclica e de pulso diferencial, e alguns complexos, por difração de raios X de monocristal. Os complexos foram avaliados quanto à atividade citotóxica na linhagem tumoral MCF-7 (adenocarcinoma de mama) e na linhagem normal L929 (fibroblasto de camundongo), os quais apresentaram resultados muito promissores com valores de IC_{50} na faixa de 0,12 a 1,11 μM . Além disso, os complexos mostraram-se muito mais ativos do que o fármaco de referência, o cisplatina, o qual apresenta IC_{50} de 13,98 μM para a linhagem MCF-7 e 20,14 μM para L929. Para fins de elucidação do possível mecanismo de ação dos complexos, estudos de interação com o ct-DNA e com a albumina de soro bovino (BSA) foram realizados.

ABSTRACT**“RUTHENIUM COMPLEXES CONTAINING LAPACHOL AND LAWSONE: SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND CHEMOTHERAPEUTIC PROPERTIES”**

The present work focuses on the synthesis and characterization of new ruthenium complexes containing the naphthoquinones lapachol and lawsone, due to the interesting biological properties exhibited by them. Complexes of general formula $[\text{Ru}(\text{L})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$, *trans*- $[\text{Ru}(\text{L})(\text{PPh}_3)_2(\text{N-N})]\text{PF}_6$ and *cis*- $[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{lap})_2]$ where L refers to the ligands lapachol (lap) or lawsone (lau), N-N corresponds to 2,2'-bipyridine, 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine, 4,4'-dimethoxy-2,2'-bipyridine and 1,10-phenanthroline, dppb = 1,4-*bis*(diphenylphosphino)butane and PPh₃ = triphenylphosphine. All synthesized compounds were characterized by molar conductivity, elemental analysis, infrared absorption spectroscopy, UV-visible absorption spectroscopy, ³¹P{¹H}, ¹H and ¹³C{¹H} nuclear magnetic resonance, cyclic and differential pulse voltammetry, and for some complexes, by X-ray crystallography. The complexes were evaluated with respect their cytotoxic activity in tumor lines cell MCF-7 (breast adenocarcinoma) and L929 (normal mouse fibroblast), which showed very promising results with IC₅₀ values in the range 0.12 to 1.11 μM. In addition, the complexes proved to be more active than the reference drug, cisplatin, which has IC₅₀ μM to 13.98 MCF-7 lineage and 20.14 uM to L929. For the purpose of elucidating the possible mechanism of complex action, studies of interaction with DNA and with bovine serum albumin (BSA) were performed.

SÚMARIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E ESTRUTURAS	v
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE ESQUEMAS.....	xv
RESUMO	xvi
ABSTRACT.....	xvii
1. CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO	1
1.1- Câncer: definição, causas e tratamentos.....	1
1.2- Desenvolvimento de quimioterápicos inorgânicos.....	4
1.2.1- Complexos de rutênio como quimioterápicos	7
1.3- Produtos naturais: Quinonas	11
1.3.1- Naftoquinonas e suas propriedades farmacológicas.....	13
1.4- Ligantes fosfínicos e bipyridínicos.....	15
2. CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS	18
2.1- Objetivo geral	18
2.2- Objetivos específicos	18
3. CAPÍTULO 3 - PARTE EXPERIMENTAL.....	19
3.1- Obtenção de atmosfera inerte	19
3.2- Solventes.....	19
3.3- Reagentes	19
3.4- Instrumentação e conduta experimental	20
3.4.1- Análise elementar	20

3.4.2- Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV).....	20
3.4.3- Eletroquímica.....	20
3.4.4- Condutimetria	21
3.4.5- Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	21
3.4.6 – Difração de Raios X.....	21
3.5- Sínteses dos complexos precursores de rutênio.....	22
3.5.1- Síntese do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$	22
3.5.2- Síntese do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})]_2(\mu\text{-dppb})$	22
3.5.3- Síntese do complexo <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$	22
3.5.4- Síntese dos complexos do tipo <i>cis,trans</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{N-N})]$	23
3.6- Síntese dos complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{L})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$, onde L = lap ou lau e N-N = bipy, mebipy e fen.....	23
3.7- Síntese dos complexos do tipo <i>trans</i> - $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{PPh}_3)_2(\text{N-N})]\text{PF}_6$, onde N-N = bipy, mebipy, meobipy e fen	24
3.8- Síntese do complexo <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{lap})_2]$	25
3.9- Estudos de interação com o DNA – Titulação Espectroscópica	25
3.10- Estudos de interação com a BSA.....	26
3.11- Testes Biológicos – Avaliação da citotoxicidade	27
4. CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1- Resultados e Discussão - SÉRIE 1	29
4.1.1- Síntese dos complexos de fórmula geral $[\text{Ru}(\text{L})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$, onde L = lap ou lau e N-N = bipy, mebipy e fen.....	29
4.1.1.1- Condutância molar e análise elementar.....	29

4.1.1.2-	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	31
4.1.1.3-	Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta e visível	35
4.1.1.4-	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear	38
4.1.1.5 -	Estudo eletroquímico.....	48
4.1.1.6 -	Difração de raios X.....	51
4.2-	Resultados e Discussão – SÉRIE 2.....	55
4.2.1-	Síntese dos complexos de fórmula geral <i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (N-N)]PF ₆ , onde N-N = bipy, mebipy, meobipy, fen e PPh ₃ = trifenilfosfina.....	55
4.2.1.1-	Condutância molar e análise elementar.....	56
4.2.1.2-	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	57
4.2.1.3-	Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta e visível	58
4.2.1.4 -	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear	60
4.2.1.5-	Estudo eletroquímico.....	64
4.3-	Resultados e Discussão para o complexo <i>cis</i> -[Ru(PPh ₃) ₂ (lap) ₂]	65
4.4-	Avaliação da interação dos complexos com o DNA	73
4.5-	Avaliação da interação dos complexos com a BSA	75
4.5-	Testes Biológicos – Ensaio de Citotoxicidade.....	83
CAPÍTULO 5 - CONCLUSÕES.....		88
CAPÍTULO 6 - REFERÊNCIAS.....		91
CAPÍTULO 7- APÊNDICE		98

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

1.1- Câncer: definição, causas e tratamentos

Na década de 60 as enfermidades que mais causavam temor na sociedade eram as doenças parasitárias e infecciosas. Contudo, nos dias atuais o novo estilo de vida da população, caracterizado, por exemplo, pelo sedentarismo, alimentação inadequada e alto nível de estresse, tem alterado o cenário das doenças mais preocupantes, sendo registrado um aumento significativo da incidência de doenças crônico-degenerativas. Assim as doenças parasitárias e infecciosas deixaram de ser a principal causa de morte, sendo substituídas pelas doenças do aparelho circulatório, que ocupam o primeiro lugar, seguido pelo câncer (INCA, 2013).

O câncer vem ganhando uma dimensão muito grande, convertendo-se em um problema de saúde pública mundial. Estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) apontam que no ano de 2030 podem-se esperar 27 milhões de casos incidentes/provados, 17 milhões de casos de morte provocadas por câncer e ainda 75 milhões de pessoas vivas ainda não diagnosticadas com câncer, mas já portadoras da doença (INCA, 2013).

No Brasil, as estimativas para o ano de 2012, também válidas para o ano 2013 apontam a ocorrência de aproximadamente 518.510 novos casos de câncer, incluindo os casos de pele não melanoma. Conforme mostrado na Figura 1.1, os tipos mais incidentes de câncer para o sexo feminino são o de mama e colo de útero, e para o sexo masculino, próstata, pulmão, traqueia e brônquio (INCA, 2013).

Câncer é o termo empregado para designar um conjunto de mais de uma centena de diferentes doenças relacionadas com o crescimento desordenado de células, podendo se espalhar por tecidos e órgãos do corpo. Estas células

dividem-se rapidamente e tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores malignos (neoplasias), os quais podem se espalhar para outras regiões do corpo (INCA, 2013).

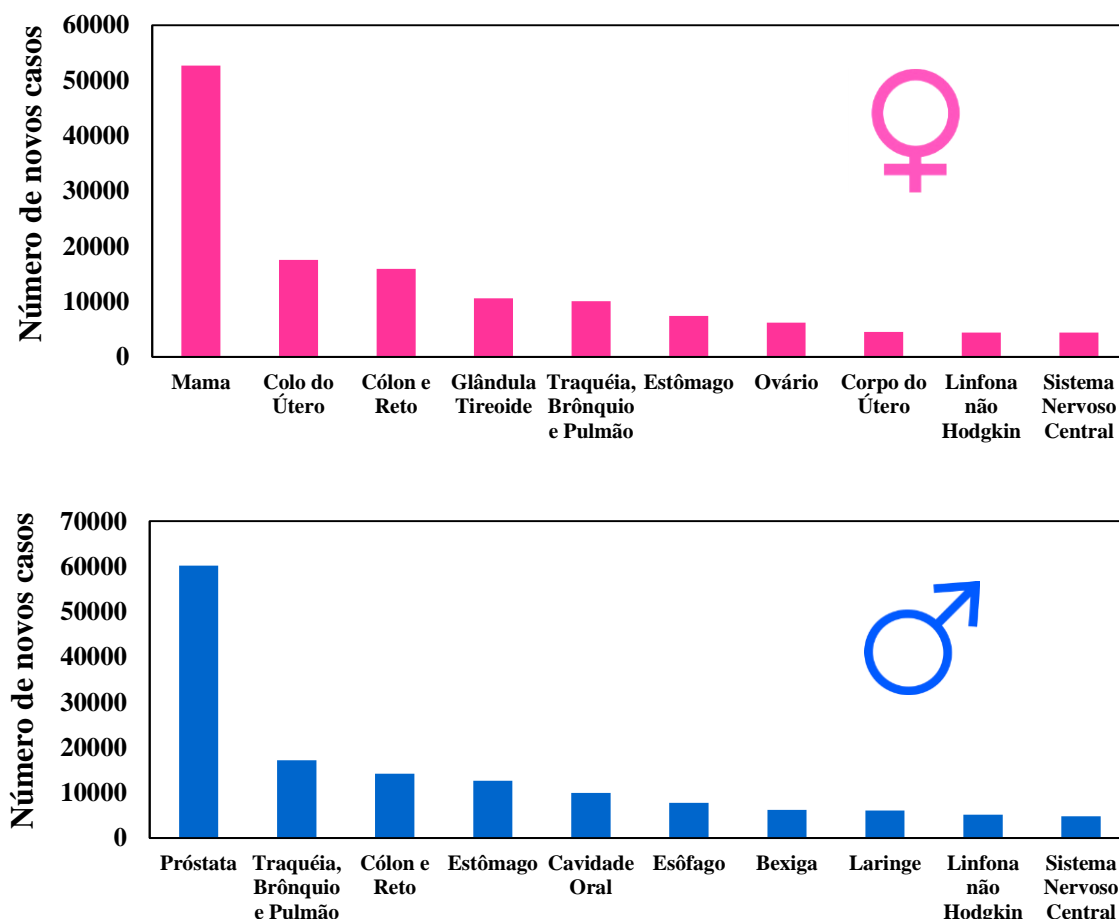


FIGURA 1.1- Estimativa de 2012 e 2013 para os dez tipos de câncer mais incidentes por sexo, exceto pele não melanoma (Elaborada a partir de INCA, 2013).

As causas do câncer são várias, podendo ser encontradas no meio ambiente ou ser hereditária. Cerca de 80 % dos casos de câncer referem-se ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios de uma sociedade. Os outros 20 % são na maioria das vezes, geneticamente pré-determinadas, e estão ligadas à capacidade do organismo de se defender de agressões externas (ALMEIDA *et. al.* 2005).

O uso de tabaco, o consumo de álcool, dieta não saudável e inatividade física estão entre os principais fatores de risco de câncer no mundo.

Infecções crônicas como hepatite B (HBV), hepatite C (HCV) e o vírus do papiloma humano (HPV) estão contribuindo para o aumento do número de casos de câncer em países de baixa e média renda. O câncer de colo de útero, que é causado pelo HPV, é a principal causa de morte por câncer entre as mulheres em países de baixa renda (UMAR *et. al.* 2012; WHO, 2013).

Embora se conheça os inúmeros fatores que contribuem para o desenvolvimento de câncer, ainda assim é impossível definir alguma causa que seja comum a todos eles. O que se sabe é que em algum momento da vida de uma célula ocorre a interferência de algum agente externo a ela, ocasionando uma lesão específica no DNA dessa célula. Ainda pode ser que durante o processo natural de reprodução dessa célula ocorra uma falha na replicação do DNA numa região específica (gene), fazendo com que o processo fuja do controle normal do organismo, resultando numa divisão celular desenfreada, gerando o tumor (BERGEROT *et. al.* 2006).

O crescimento de células cancerígenas é diferente do crescimento de células normais. Neste caso, em vez de morrer as células cancerígenas continuam a crescer e formam novas células anormais. Devido ao crescimento desordenado destas células há a necessidade de que novos vasos sanguíneos sejam formados para que ocorra a nutrição das mesmas, em um processo denominado angiogênese. O acúmulo de massa dessas células formam os tumores malignos (BERGEROT *et. al.* 2006).

As células neoplásicas tem a capacidade de se desprenderem e de migrarem, invadindo tecidos vizinhos, podendo chegar ao interior de um vaso sanguíneo ou linfático, onde são disseminados, chegando a órgãos distantes do local onde o tumor se iniciou. Esse fenômeno é denominado metástase (BERGEROT *et. al.* 2006).

Os tratamentos clássicos utilizados no combate ao câncer são a cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia. Quando existe a possibilidade de retirada do tumor, a cirurgia é o tratamento mais adequado.

O tratamento com base na radioterapia é realizado empregando feixes de radiações ionizantes. Ao interagir com os tecidos, essas radiações (eletromagnéticas ou corpusculares) dão origem a elétrons que ionizam o meio e criam efeitos químicos, como a hidrólise da água e a ruptura das cadeias do DNA. Assim a morte celular pode ocorrer por vários mecanismos, desde a inativação de sistemas vitais para a célula, até a sua incapacidade de reprodução. Contudo, a radiação pode atingir tecidos normais e causar irritações, queimaduras superficiais, inflamação de mucosas e eventualmente diminuição das contagens de células no sangue (INCA, 2013).

A quimioterapia é realizada pela administração de quimioterápicos com o intuito de destruir, controlar ou inibir o crescimento de células doentes. Todavia existem alguns problemas relacionados ao uso de quimioterápicos, visto que estes podem atuar de forma não específica, lesando tanto células malignas como normais, acarretando efeitos colaterais tais como: náuseas, vômitos, perda de cabelo e maior susceptibilidade a infecções (INCA, 2013).

Portanto, é necessária a busca por novos fármacos com características adequadas de eficácia e que possam minimizar os efeitos colaterais provocados pelos atuais quimioterápicos.

1.2- Desenvolvimento de quimioterápicos inorgânicos

O desenvolvimento de quimioterápicos inorgânicos se deu a partir da descoberta das propriedades anticancerígenas do cisplatina (*cis*-[PtCl₂(NH₃)₂], Figura 1.2) em 1965 pelo físico Barnett Rosenberg. Até então o uso de compostos inorgânicos era muito restrito, sendo que apenas

compostos orgânicos e produtos naturais eram estudados. A descoberta do cisplatina tornou-se um marco na história da Química de Coordenação e da Química Inorgânica Medicinal (FONTES *et. al.* 2005; LIPPERT, 1999; WONG e GIANDOMENICO, 1999).

O cisplatina foi administrado a um paciente com câncer pela primeira vez em 1971, e tornou-se disponível para a prática geral de oncologia em 1978, no Canadá, seguido pelos Estados Unidos e pelo resto do mundo (LEBWOHL e CANETTA, 1998).

Um exemplo marcante da eficácia do cisplatina é sua aplicação no tratamento de câncer testicular. Antes da introdução do cisplatina cerca de 90% dos pacientes com câncer testicular morriam, e após sua introdução esse quadro foi revertido e apenas 10% dos casos não foram curados devido à metástase (JUNG e LIPPARD, 2007, SAVA *et. al.* 2012).

O cisplatina é utilizado no tratamento de câncer testicular, ovariano, bexiga, cabeça, pescoço, pulmão e câncer cervical, mas tem apresentado grandes inconvenientes, como a resistência natural adquirida por alguns tumores (WHEATE *et. al.* 2003). Além disso, o cisplatina tem solubilidade limitada em meio aquoso e é administrado por via intravenosa, sendo outro inconveniente para tratamento ambulatorial. Outros problemas relacionados com os efeitos colaterais limitam a dose deste fármaco. Os pacientes tratados com cisplatina podem apresentar sinais graves de nefrotoxicidade (lesão renal), neurotoxicidade (danos ao sistema nervoso) e ototoxicidade (perda auditiva), além da pressão arterial elevada, diarreia, náuseas e vômitos (FUERTES *et. al.* 2003, WHEATE *et. al.* 2003, JUNG e LIPPARD, 2007).

Essas limitações levaram a uma investigação mais profunda do cisplatina e foi um impulso para o desenvolvimento de novos quimioterápicos buscando reduzir a toxicidade, bem como expandir a faixa de uso para outros

tipos de câncer. Com isso vários análogos do cisplatina foram desenvolvidos e atualmente são empregados em todo o mundo como agentes antineoplásicos (WHEATE *et. al.* 2003). Na Figura 1.2 são mostradas algumas estruturas de complexos de platina empregados no tratamento do câncer.

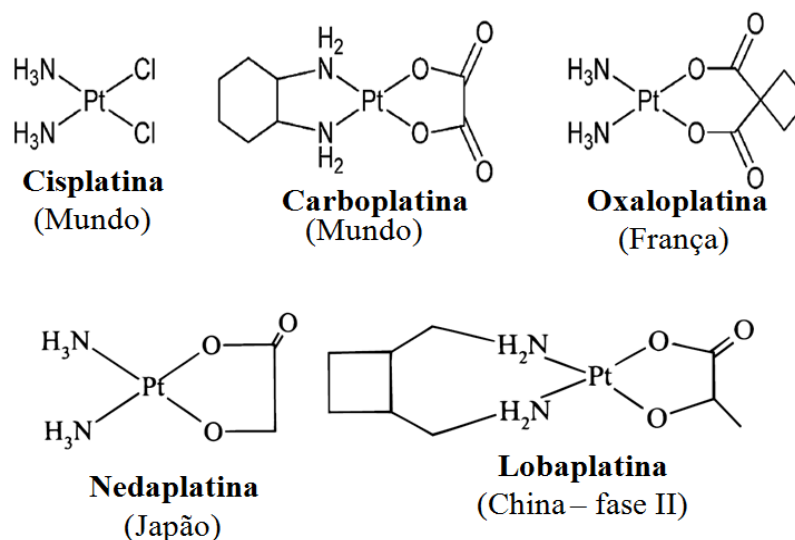


FIGURA 1.2 - Complexos de platina empregados no tratamento de câncer.

Estes complexos são quimicamente semelhantes, mas em nível farmacológico eles apresentam diferentes atividades. O carboplatina (Figura 1.2) apresenta o mesmo espectro de atividade que o cisplatina, contudo apresenta uma menor toxicidade que é atribuída à substituição nucleofílica lenta (por água) do dicarboxilato, e como resultado o carboplatina pode ser administrado em doses mais altas do que o cisplatina (WHEATE *et. al.* 2003). O carboplatina e o cisplatina são empregados no tratamento do câncer em todo o mundo.

O oxaloplatina (Figura 1.2) foi aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) em agosto de 2002 sob o nome de Eloxatin, o qual é administrado em combinação com o 5-Fluorouracil e o Leucovorina. O Eloxatin é empregado no tratamento de câncer colorretal metastático na França e em outros países Europeus (WHEATE *et. al.* 2003).

O nedaplatina foi desenvolvido pela Companhia Farmacêutica Shionogi de Osaka, no Japão e foi aprovado para uso em 1995 apenas no Japão.

Este fármaco é empregado no tratamento de câncer de testículo, cabeça, pulmão, bexiga, ovário, esôfago e câncer de colo de útero. Ao contrário do cisplatina, o nedaplatina apresenta baixa afinidade por proteínas (LEBWOHL e CANETTA, 1998).

O lobaplatina foi introduzido em ensaios clínicos em 1992, e se encontra em fase II para o tratamento de câncer de ovário e cânceres avançados de cabeça e pescoço, sendo usado atualmente na China (WONG e GIANDOMENICO, 1999).

Apesar do sucesso dos novos complexos de platina, muitas das limitações citadas anteriormente ainda são observadas, especialmente a resistência dos tumores e toxicidade. Diante disso muitos cientistas têm direcionado suas pesquisas para a obtenção de complexos com outros metais de transição (SCOLARO *et. al.* 2005; ALESSIO *et. al.*, 2004), buscando obter possíveis vantagens em relação à platina, tais como a presença de sítios de coordenação adicionais (complexos octaédricos), alterações na afinidade do ligante pelo metal e da cinética de substituição e mudanças no estado de oxidação do metal (SCOLARO *et. al.* 2005, MALINA *et. al.* 2001).

1.2.1- Complexos de rutênio como quimioterápicos

Entre os vários complexos de metais de transição testados, os de rutênio têm se destacado como agentes antitumorais. Durante os últimos 20 anos vários complexos de rutênio surgiram na literatura, principalmente projetados para substituir o cisplatina, devido a várias vantagens que eles apresentam, tais como: atividade contra linhagens celulares que são resistentes ao cisplatina e redução dos efeitos colaterais devido a maior seletividade para as células cancerígenas, em comparação com as células normais. Isto ocorre devido à habilidade que o rutênio apresenta de imitar o ferro na ligação com biomoléculas

(transferrina, albumina e outras proteínas) que são responsáveis pela solubilização, transporte e eliminação de ferro no organismo (FRAUSIN *et. al.* 2002; CASTONGUAY *et. al.* 2012). Tendo em vista a necessidade das células cancerígenas por ferro, ocorre uma maior expressão dos receptores de transferrinas nas suas superfícies de tal maneira que os complexos de rutênio acumulam-se nestas células (BERGAMO *et. al.* 2012, CHATTERJEE *et. al.* 2008, FINK, 2010, RADEMAKER-LAKHAI *et. al.* 2004).

Além disso, outros benefícios do emprego de complexos de rutênio como potenciais fármacos são: a versatilidade na troca de ligantes, geometria de coordenação octaédrica e a variabilidade nos estados de oxidação podendo ir de $-II(d^{10})$ até $+VIII(d^0)$, sendo os mais comuns $+II$, $+III$ e $+IV$ em condições fisiológicas (BERGAMO *et. al.* 2012).

Complexos de rutênio têm demonstrado significativas propriedades citotóxicas e antimetastáticas (ZHANG e LIPPARD, 2003). Atualmente dois complexos promissores de rutênio são o $[trans-RuCl_4(1H-imidazol)(DMSO-S)]$ (NAMI-A) e $[trans-RuCl_4(1H-indazol)_2]$ (KP1019) (Figura 1.3), os quais concluíram com êxito os ensaios clínicos de fase I e II e estão passando por mais avaliações (RONCONI e SADLER, 2007; WEBB e WALSBY, 2011; BERGAMO *et. al.* 2012).

O NAMI-A foi desenvolvido em Trieste por Alessio e colaboradores, é um complexo contra carcinoma pulmonar de Lewis, melanoma B16 e carcinoma mamário MCa. Este complexo tem atraído muita atenção porque apresenta capacidade de prevenir a formação de metástase e inibir o seu crescimento, tendo em vista a sua capacidade em aumentar a espessura da membrana em torno do tumor primário e da matriz extracelular, em torno dos vasos sanguíneos do tumor, impedindo que as células tumorais invadam tecidos vizinhos e os vasos sanguíneos (RADEMAKER-LAKAHAI *et al.*, 2004).

O mecanismo preciso de ação do NAMI-A ainda não é conhecido, mas estudos a respeito da sua estrutura demonstraram que a atividade biológica, provavelmente, esta relacionada à liberação progressiva de um ou mais ligantes cloretos (ALESSIO *et. al.*, 2004; WEBB e WALSBY, 2011).

O KP1019 (Figura 1.3) foi elaborado pelo grupo do Keppler e apresenta interessantes propriedades contra tumores colorretais. Estudos realizados para avaliar o possível mecanismo de ação deste complexo mostraram que ele apresenta interação com o DNA semelhante ao cisplatina, mas com uma intensidade mais baixa em termos de ligação. A farmacocinética *in vivo* (incluindo seres humanos) para este complexo apresentou resultados muito próximos daqueles verificados para o NAMI-A, quer em termos de ligação com proteínas ou de eliminação (BERGAMO *et. al.* 2012).

O RAPTA-T (Figura 1.3), desenvolvido por Dyson e Lausanne, é um complexo organometálico do tipo “*piano stool*”, o qual é caracterizado pela presença do ligante PTA (1,3,5-triaza-7-fosfoadamantano). O ligante PTA confere características biológicas ao complexo RAPTA-T para ser ativado seletivamente em ambiente hipóxico (com baixo teor de oxigênio) (YAN *et. al.* 2005). O RAPTA-T é apenas fracamente citotóxico, no entanto, sua citotoxicidade é mais bem expressa em células tumorais do que em células normais e, além disso, ele apresenta a capacidade de modificar o comportamento das células tumorais em termos de invasão e metástase (SÜSS-FINK, G, 2010, BERGAMO *et. al.* 2012).

Experimentos *in vitro* mostraram que o complexo RDC11 (Figura 1.3) apresenta atividade contra tumores ovarianos que são resistentes ao cisplatina, além de não causar efeitos colaterais graves para o fígado, rins, entre outros. Diante disso, o RDC11 representa um forte candidato para testes clínicos onde os primeiros alvos a serem estudados deverão ser os tumores resistentes ao cisplatina (BERGAMO *et. al.* 2012).

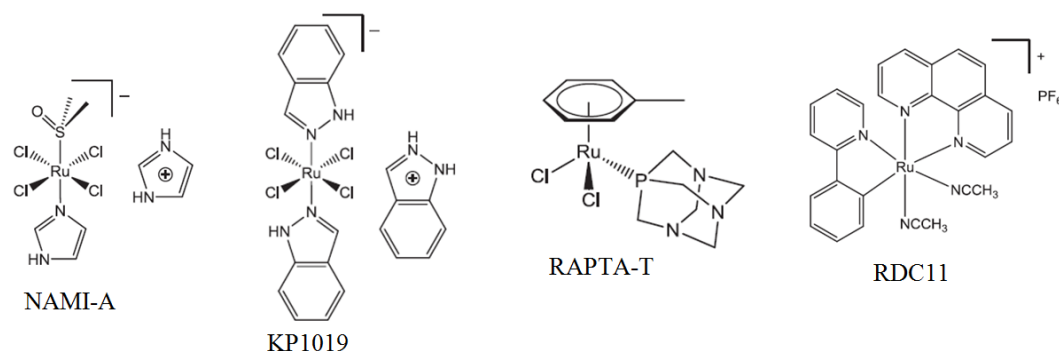


FIGURA 1.3 - Estruturas dos complexos de rutênio NAMI-A, KP1019, RAPTA-T e RDC11.

Nos últimos anos nosso grupo de pesquisa tem se dedicado ao estudo de complexos de rutênio quanto às suas atividades citotóxicas e os resultados obtidos tem se mostrado bastante promissores. Conforme observado pelos dados da Tabela 1.1 os complexos avaliados apresentaram resultados de IC₅₀ (Concentração que inibe 50 % da viabilidade celular) inferiores aos valores de IC₅₀ do cisplatina.

TABELA 1.1 - Valores de IC₅₀ em $\mu\text{mol L}^{-1}$ de alguns complexos de rutênio contra a linhagem tumoral MDA-MB-231

Complexo	IC ₅₀	Complexo	IC ₅₀
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bipy)(dppb)]PF ₆	31,30	<i>ct</i> -[RuCl(CO)(dcpe)(fen)]PF ₆	0,25
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bipy)(dppf)]	3,90	[RuCl(AcpyBz)(dppb)]	0,4
[Ru(pic)(bipy)(dppf)]PF ₆	0,40	[RuCl(AcpyBzNO ₂)(dppb)]	0,8
<i>cc</i> -[RuCl(CO)(bipy)(dppb)]PF ₆	1,90	Cisplatina	2,44

Onde: bipy = 2,2'-bipiridina, dppb = 1,4-*bis*(difenilfosfina)butano, dppf = 1,1'-*bis*(difenilfosfina)ferroceno, pic = ácido picolínico, *cc* refere-se ao átomo de Cl *cis* a CO e CO *cis* ao P da bifosfina; *ct* refere-se ao átomo de Cl *cis* a CO e CO *trans* ao P da bifosfina, dcpe = 1,2-*bis*(dodiclohexilfosfina)etano, AcpyBz = S-benzil-N-(2-acetilpiridina)ditiocarbazato; AcpyBzNO₂ = S-p-nitrobenzil-N-(2-acetilpiridina)ditiocarbazato (LIMA, 2010; BARBOSA, 2007; GRAMINHA, 2010).

Uma estratégia explorada no desenvolvimento de novos candidatos a fármacos consiste em empregar compostos que já apresentem atividade biológica, tendo em vista que a complexação ao metal pode aumentar sua atividade e reduzir efeitos colaterais. Essa estratégia é interessante do ponto de

vista econômico, devido ao prévio conhecimento da atividade dos compostos a serem empregados.

Esta estratégia é explorada para diferentes doenças, um exemplo é a cloroquina, que após a inserção do ferro (ferroquina) na estrutura da molécula, mostrou-se muito mais ativa contra malária em linhagens de *P. falciparum* e já se encontra em ensaios clínicos da fase II (BIOT *et. al.* 2009).

Atividade bastante promissora também foi observada quando a cloroquina foi complexada ao rutênio e avaliada quanto à atividade em linhagens *P. falciparum* (SÁNCHEZ-DELGADO *et. al.*, 1996; RAJAPAKSE *et. al.*, 2009).

1.3- Produtos naturais: Quinonas

O uso de plantas medicinais pela humanidade ocorre desde tempos imemoriais. A utilização de ervas na busca pela cura de doenças talvez tenha sido uma das primeiras formas de utilização de produtos naturais (JUNIOR *et. al.* 2006). Desde então as plantas têm desempenhando um papel dominante no desenvolvimento de sofisticados sistemas da medicina tradicional (CRAGG *et. al.* 2009).

Os produtos naturais são uma fonte inesgotável para a descoberta de novos fármacos pela diversidade estrutural que eles apresentam e também a ampla gama de atividades biológicas (CASTRO *et. al.*, 2013).

As quinonas são um exemplo de produtos naturais que estão amplamente distribuídas na natureza e apresentam uma variedade de papéis no organismo. Essas substâncias apresentam grande importância nos processos bioquímicos vitais e por isso tem se destacado em estudos farmacológicos. Apresentam muitas propriedades importantes, tais como: microbicidas, tripanossomicidas, viruscidas, antitumorais e inibidoras de sistemas celulares

reparadores, pela formação de espécies bioativas derivadas do oxigênio (O_2 , $\cdot OH$, $O_2^{\cdot -}$ e H_2O_2) (SILVA *et. al.* 2003).

As quinonas podem ser tóxicas para as células por diferentes mecanismos, tais como: ciclismo redox, arilação, intercalação, indução de quebras no DNA e geração de radicais livres (BONIFAZI *et. al.*, 2010). Vale ressaltar ainda que recentemente novas descobertas comprovaram a capacidade que as quinonas apresentam de inibir o complexo das topoisomerasas, provocando o desencadeamento da apoptose celular (SILVA *et. al.* 2003).

Nos últimos anos intensificou-se o interesse nestas substâncias e há um número crescente de relatos da avaliação biológica de quinonas sintéticas e naturais (NEVES *et. al.*, 2013; MONTENEGRO *et. al.*, 2010; SILVA JR *et. al.*, 2011; RÍOS-LUCI *et. al.*, 2012). Importantes fármacos anticancerígenos como a daunorrubicina e mitomicina C (Figura 1.4) apresentam o grupo quinona como parte da sua estrutura (BONIFAZI *et. al.*, 2010).

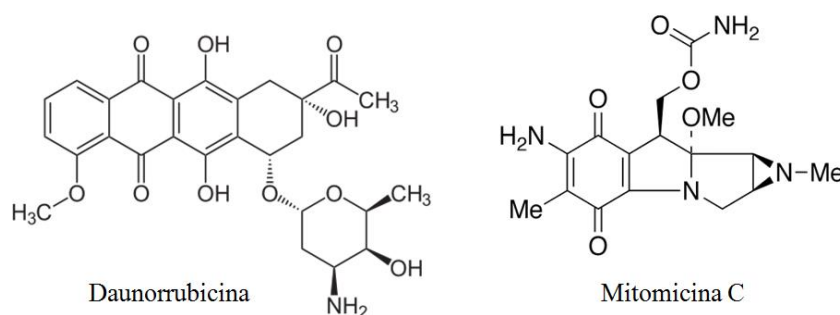


FIGURA 1.4 - Estruturas dos fármacos daunorrubicina e mitomicina C.

De acordo com a sua estrutura molecular, as quinonas são divididas em três grupos, utilizando-se como critério o tipo de sistema aromático que sustenta o anel quinonoídica: benzoquinonas – um anel benzênico; naftoquinonas – um anel naftalênico e antraquinonas – um anel antracênico linear ou angular, como mostrado na Figura 1.5.

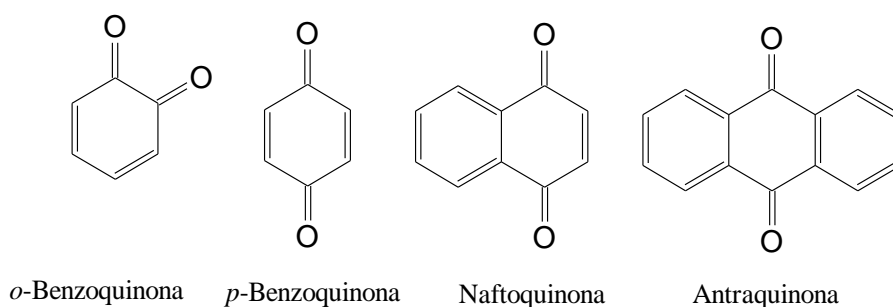


FIGURA 1.5 - Estruturas e classificação das quinonas.

1.3.1- Naftoquinonas e suas propriedades farmacológicas

O lapachol (2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona) (Figura 1.6), considerado o principal representante da classe das naftoquinonas, é isolado de várias espécies de plantas da família Bignoniaceae, particularmente do gênero *Tabebuia avellanedae* (HUSSAIN *et. al.* 2007), sendo encontrado facilmente nas regiões norte e nordeste do Brasil (ARAÚJO *et. al.* 2002).

O lapachol foi isolado pela primeira vez por Paternó em 1882, e em 1896 Hooker estabeleceu sua fórmula química. Fieser, em 1927, sintetizou o lapachol e outras 2-hidroxi-1,4-naftoquinonas substituídas com grupos alquila em C-3, todas elas de reconhecida atividade antimalárica (ROSA, 2000).

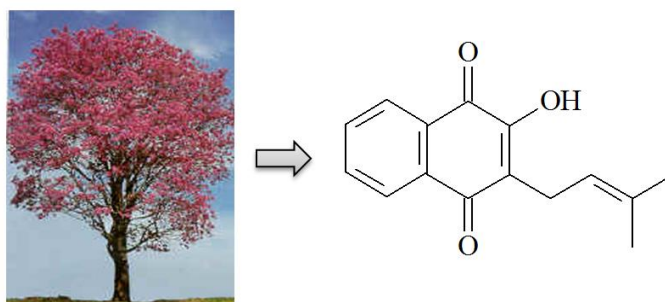


FIGURA 1.6 - Ipê roxo, principal Bignoniaceae de onde o lapachol é extraído e estrutura do lapachol (Fonte: ÁRVORES BRASILEIRAS).

Outra naftoquinona que apresenta propriedades interessantes é a lausona (2-hidroxi-1,4-naftoquinona) (Figura 1.7), a qual é extraída das folhas de henna, principalmente do gênero *Lawsonia Alba*.

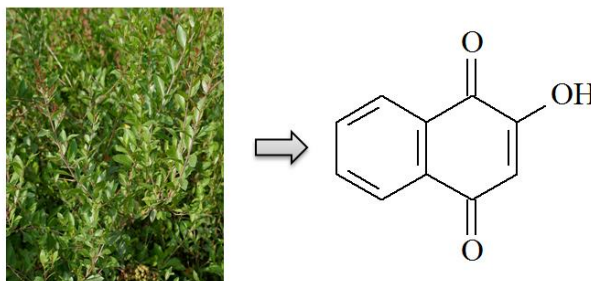


FIGURA 1.7 - Folhas de henna de onde é extraída a lausona e estrutura da lausona (Fonte: LAWSONIA).

Estas naftoquinonas apresentam muitas atividades biológicas, tais como propriedades anticancerígenas, antitripanossomicida, antimalárica, antiviral, antimoluscicida, antimicrobiana e antileishmaniose (NIEHUES *et. al.*, 2012; BUSTAMANTE *et. al.*, 2012; RÍOS-LUCI *et. al.*, 2012, SOUZA *et. al.*, 2013).

O principal interesse nestas naftoquinonas reside na capacidade que elas apresentam de induzir o estresse oxidativo através da formação intracelular de espécies reativas de oxigênio, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o superóxido ($O_2^{\cdot-}$) e o radical hidroxila (HO^{\cdot}). Estas espécies apresentam a capacidade de danificar componentes celulares importantes, interferindo na divisão celular e dessa forma podem induzir a apoptose (NEVES *et. al.*, 2013; SILVA *et. al.* 2003).

Outra propriedade interessante que estes compostos apresentam é a capacidade de inibir as topoisomerases I e II. Estas enzimas são importantes para o funcionamento normal da célula, pois são elas que mantêm a integridade do DNA, reparando-o quando danificado. Qualquer alteração no balanço entre estas enzimas é suficiente para induzir a apoptose (SILVA *et. al.* 2003).

O lapachol foi avaliado clinicamente no tratamento do carcinoma de Walker-256 e do sarcoma de Yoshida, no entanto, apesar da regressão definitiva das neoplasias, os ensaios clínicos foram interrompidos devido aos seus efeitos colaterais observados (SILVA *et. al.* 2003).

Uma alternativa encontrada por pesquisadores para minimizar os efeitos colaterais apresentados pelo lapachol tem sido complexá-lo a metais, podendo assim retardar a sua entrega e melhorar a atividade terapêutica (MATÍNEZ *et. al.*, 2003; CARUSO *et. al.*, 2009, FARFÁN *et. al.*, 2009, OLIVEIRA *et. al.*, 2011).

Recentemente Kandioller *et. al.* reportaram a síntese de complexos metálicos de rutênio, ósmio e ródio contendo lapachol sendo observados resultados mais promissores para o complexo de rutênio, sugerindo assim que o uso do rutênio é relevante para melhorar a atividade do lapachol (KANDIOLLER *et. al.* 2013).

Oramas-Royo *et. al.* sintetizaram complexos de zinco, cobalto, cobre, níquel e manganês contendo a lausona, e obtiveram resultados muito promissores para o complexo de cobre em linhagens tumorais de câncer colorretal (HT-29), carcinoma hepatocelular (HepG2) e carcinoma cervical humano (HeLa) (ORAMAS-ROYO *et. al.* 2013).

1.4- Ligantes fosfínicos e bipyridínicos

Neste trabalho além dos ligantes lapachol e lausona também serão empregados duas classes de ligantes: fosfínicos e bipyridínicos. As fosfinas são ligantes neutros que apresentam um par de elétrons capaz de formar ligações σ estáveis e orbitais híbridos ($\sigma^*d\pi$) capazes de receber elétrons, e, portanto, são adequadas à retrodoação (Figura 1.8). Esse tipo de interação entre metais e ligantes ocorre quando o metal possui orbitais preenchidos, ou com razoável

número de elétrons, e pode doar estes a orbitais vazios do ligante, que apresentem simetria adequada (RODRIGUES, 2010; LIMA, 2010; POELHSITZ, 2005). Neste caso, a densidade eletrônica é compartilhada entre o ligante e o metal, estabilizando as ligações (QUEIROZ e BATISTA, 1996).

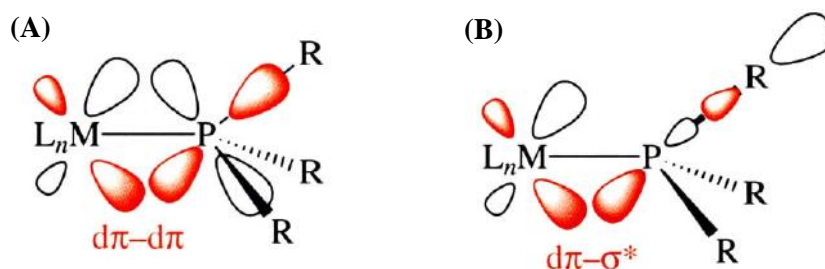


FIGURA 1.8 - Retrodoação de fosfinas. (A) Interação $d\pi - d\pi$. (B) Interação $d\pi - \sigma^*$ (HILL, 2002).

A possibilidade de variar os grupos substituintes (R) das fosfinas, com grupos doadores ou receptores de densidade eletrônica, torna as fosfinas interessantes para o estudo dos efeitos dos ligantes (L) na labilidade da ligação de alguns complexos do tipo P - M - L, como também a afinidade do centro metálico pelo ligante (HILL, 2002).

Outra característica observada nas fosfinas é o acentuado efeito *trans*, que juntamente aos efeitos estéricos, leva à formação de complexos facilmente dissociáveis, o que é indispensável em catalisadores homogêneos e também de interesse na citotoxicidade de complexos fosfínicos (QUEIROZ e BATISTA, 1996).

Os complexos fosfínicos tem despertado muito interesse na área de catálise e na avaliação da atividade antitumoral. Um exemplo de um complexo contendo fosfina é a auronofina, o qual é um fármaco para uso clínico como agente antiartrítico, e também apresenta capacidade de destruir células tumorais (QUEIROZ e BATISTA, 1996).

Outro exemplo é o complexo $[\text{Au}(\text{dppe})_2]\text{Cl}$, que apresenta atividade antitumoral contra linhagens de leucemia (P388 e L1210), carcinoma de

células reticulares M5076, melanona B16 e adenocarcinoma mamário 16/C (QUEIROZ e BATISTA, 1996; MIRABELLI ET. AL. 1987).

Os complexos apresentados na Tabela 1.1, sintetizados no pelo nosso grupo de pesquisa, apresentam atividade antitumoral contra a linhagem adenocarcinoma de mama MDA-MB-231.

De forma similar as fosfinas, os ligantes bipyridínicos são muito versáteis, podendo apresentar diferentes propriedades físicas e químicas de acordo com suas estruturas. Uma característica importante desta classe de ligantes é a capacidade de mimetizar estruturas de moléculas biológicas, como de ácidos nucleicos, proteínas, enzimas, entre outros que possuem propriedades particulares no metabolismo humano. Estes ligantes são adequados à retrodoação, pois possuem orbitais $\rho\pi$ antiligantes vazios, e um par de elétrons capaz de formar ligações σ fortes, estabilizando os íons metálicos em estado de oxidação baixo (LEE, 1997, SANTIAGO, 2004).

Frente ao exposto, buscaremos neste trabalho, sintetizar complexos de rutênio contendo ligantes fosfínicos, bipyridínicos e os bioligantes lapachol e lausona, a fim de avaliar suas atividades biológicas frente a células tumorais.

CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS

2.1- Objetivo geral

O presente trabalho tem por objetivo geral sintetizar e caracterizar complexos do tipo rutênio-naftoquinonas como possíveis candidatos a metalofármacos.

2.2- Objetivos específicos

1- Sintetizar e caracterizar complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{L})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$ em que L = lapachol ou lausona, N-N = 2,2'-bipiridina, 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina, 1,10-fenantrolina e dppb = 1,4-bis(difenilfosfina)butano;

2- Sintetizar e caracterizar complexos do tipo *trans*- $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{PPh}_3)_2(\text{N-N})]\text{PF}_6$ onde lau = lausona, N-N = 2,2'-bipiridina, 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina, 4,4'-dimetoxi-2,2'-bipiridina, 1,10-fenantrolina e PPh_3 = trifenilfosfina;

3- Sintetizar e caracterizar o complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{lap})_2]$, lap = lapachol e PPh_3 = trifenilfosfina;

4- Avaliar a atividade citotóxica dos complexos sintetizados nas linhagens celulares adenocarcinoma de mama (MCF-7) e normal de fibroblasto de camundongo (L929);

5- Avaliar a interação dos complexos com o DNA e BSA.

CAPÍTULO 3 - PARTE EXPERIMENTAL

3.1- Obtenção de atmosfera inerte

Todas as sínteses e análises eletroquímicas foram realizadas sob atmosfera de argônio. Esta foi obtida pela passagem de fluxo de argônio por um sistema de colunas contendo: sílica gel, cloreto de cálcio e catalisador do tipo BTS-R-3-11 (Fluka Chemika), sendo que a última foi mantida a 60°C para o catalisador permanecer ativado. Estes procedimentos foram necessários para desoxigenar e secar o gás comercial de procedência da AGA.

3.2- Solventes

Todos os solventes, Synth P.A. ou Merck P.A., passaram por processos de purificação segundo os métodos usuais da literatura. Os principais solventes utilizados foram: acetona, diclorometano, éter etílico, etanol, metanol, tolueno e hexano. Os solventes deuterados utilizados foram, $\text{CDCl}_3\text{-d}_6$ e DMSO-d_6 .

3.3- Reagentes

Tricloreto de rutênio hidratado ($\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), trifenilfosfina (PPh_3), 1,4-*bis*(difenilfosfina)butano (dppb), 2,2'-bipiridina (bipy), 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina (mebipy), 4,4'-dimetoxi-2,2'-bipiridina (meobipy), 1,10-fenantrolina (fen) de procedência Aldrich, foram utilizados sem qualquer purificação prévia. O perclorato de tetrabutylamônio (PTBA), de procedência Fluka, foi utilizado na preparação de soluções $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em diclorometano, como eletrólito suporte para os procedimentos de análise eletroquímica.

3.4- Instrumentação e conduta experimental

3.4.1- Análise elementar

A determinação do teor de carbono, hidrogênio e nitrogênio foi realizada em um analisador CHN modelo EA 1108 da FISONs, no Laboratório de Microanálise do Departamento de Química da UFSCar.

3.4.2- Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV)

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro Bomem-Michelson FT, modelo MB – 102, na região compreendida entre 4000 e 220 cm^{-1} . As pastilhas foram preparadas minutos antes das análises utilizando KBr (Brometo de Potássio).

3.4.3- Eletroquímica

As medidas de eletroquímica (voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial) foram feitas utilizando-se um potenciostato/galvanostato Electrochemical Analyzer, modelo BAS 100B. As medidas foram realizadas em uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos: um eletrodo de referência (Ag/AgCl), e eletrodos de trabalho e auxiliar de platina, mergulhados em solução de eletrólito de PTBA (0,1 mol L^{-1} em CH_2Cl_2).

3.4.4- Condutimetria

As medidas de condutividade molar foram realizadas utilizando-se um condutivímetro Meter Lab., modelo CDM230. As soluções foram preparadas em CH₂Cl₂ na concentração de 10⁻³ mol L⁻¹.

3.4.5- Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

As medidas de Ressonância Magnética Nuclear foram executadas em um espectrômetro BRUKER DRX 400 MHz pertencente ao Departamento de Química da UFSCar. Os dados foram processados empregando-se software XWIN – NMR versão 1.3, e ACDLABS 10.02. Na obtenção dos espectros de fósforo utilizou-se diclorometano como solvente na presença de um tubo capilar com água deuterada (D₂O).

3.4.6 – Difração de Raios X

Os experimentos de difração de raios X foram realizados pelo Grupo de Química Inorgânica Estrutural e Biológica do Instituto de Química de São Carlos, pelo Msc. Murilo César Carroccia sob supervisão do Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon. Os dados de difração de raios X foram coletados em um difratômetro Bruker APEX II Duo com radiação de MoK α ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$), com monocromador de grafite. As soluções e refinamentos das estruturas foram realizados utilizando-se os programas SHELXS97 (SHELDRICK, 2007) e SHELXL97 (SHELDRICK, 1997). As posições dos átomos de hidrogênio foram calculadas em posições idealizadas e tratados com a opção “riding model” do programa SHELXL97.

3.5- Sínteses dos complexos precursores de rutênio

3.5.1- Síntese do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$

O complexo $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$ foi sintetizado conforme descrito por (STEPHESON e WILKINSON, 1966). Primeiramente, adicionaram-se $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (1,0 g; 4,82 mmol) em 200 mL de metanol deaerado que foram refluxados por 15 minutos sob atmosfera de argônio. A solução foi resfriada e posteriormente, adicionaram-se trifenilfosfina (PPh_3) (5,75g; 21,92 mmol). O sistema foi mantido em refluxo por 3 horas. O produto marrom escuro formado foi filtrado, lavado com metanol e seco sob vácuo. Rendimento 95,0%.

3.5.2- Síntese do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})]_2(\mu\text{-dppb})$

O complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})]_2(\mu\text{-dppb})$ foi preparado segundo procedimento descrito por (BRESSAN e RIGO, 1975). Para isso foi adicionado o complexo $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$ (0,5 g; 0,52 mmol) e a 1,4-*bis*(difenilfosfina)butano (dppb) (0,67 g; 1,57 mmol) em 200 mL de hexano deaerado. O sistema foi mantido sob refluxo por 6 horas. O precipitado verde formado foi filtrado num funil de placa sinterizada, lavado com hexano e seco sob vácuo. Rendimento 95,0%.

3.5.3- Síntese do complexo *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$

O complexo *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ foi sintetizado segundo procedimento descrito por (QUEIROZ, *et al.* 1998). Para isso partiu-se do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})]_2(\mu\text{-dppb})$ (0,5 g; 0,31 mmol) e dois equivalentes de 2,2'-bipiridina (bipy) (0,096 g; 0,61 mmol), os quais foram adicionados em 400 mL de tolueno deaerado. A solução foi refluxada por 48 horas sob agitação

magnética. O produto da reação foi filtrado, lavado com tolueno deaerado e seco sob vácuo. Rendimento 85,0%. O mesmo procedimento foi realizado para os precursores contendo a mebipy e fen.

3.5.4- Síntese dos complexos do tipo *cis,trans*-[RuCl₂(PPh₃)₂(N-N)]

O complexo *cis,trans*-[RuCl₂(PPh₃)₂(bipy)] foi sintetizado a partir do complexo [RuCl₂(PPh₃)₃]. Em um balão de duas bocas foram adicionados (0,50 g; 0,52 mmol) do complexo [RuCl₂(PPh₃)₃] em ~ 15 mL de diclorometano deaerado. Em seguida, foram adicionados (0,09 g; 0,55 mmol) da bipy. A mistura reacional foi mantida sob agitação e atmosfera de argônio por aproximadamente 1 hora. Após esse período reduziu-se o volume da solução para aproximadamente 2 mL e éter etílico deaerado foi adicionado para a precipitação do produto. O precipitado foi filtrado, lavado com éter etílico e seco sob vácuo. Rendimento 85%. O mesmo procedimento foi realizado para os precursores contendo a mebipy, meobipy e fen. Rendimentos: 85-90%.

3.6- Síntese dos complexos do tipo [Ru(L)(dppb)(N-N)]PF₆, onde L = lap ou lau e N-N = bipy, mebipy e fen

O complexo [Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF₆ foi obtido a partir do precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)]. Em um tubo Schlenk foi adicionado o lapachol (20,00 mg; 0,16 mmol) em metanol (20 mL) e diclorometano (5 mL), previamente deaerados. Posteriormente, foram adicionados 50 µL de trietilamina e a solução que era amarela tornou-se vermelha. O complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)] (50,00 mg; 0,13 mmol) e KPF₆ (25,00 mg; 0,27 mmol) foram adicionados ao Schlenk. A solução que era vermelha tornou-se roxa. O sistema foi mantido em agitação por aproximadamente 12 horas. O volume da solução foi reduzido para aproximadamente 3 mL e mantido em agitação até a

formação de um precipitado escuro. O precipitado foi filtrado e lavado com água destilada, éter etílico, e seco sob vácuo. O mesmo procedimento foi realizado para os complexos com os precursores contendo a mebipy e a fen, e também para os complexos contendo a lausona.

- (1) $[\text{Ru}(\text{lapp})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$: Rendimento: 70% (49,69 mg);
- (2) $[\text{Ru}(\text{lapp})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$: Rendimento: 73% (51,20 mg);
- (3) $[\text{Ru}(\text{lapp})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$: Rendimento: 75% (52,67 mg);
- (4) $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$: Rendimento: 64% (42,53 mg);
- (5) $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$: Rendimento: 80% (52,63 mg);
- (6) $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$: Rendimento: 68% (44,79 mg).

3.7- Síntese dos complexos do tipo *trans*- $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{PPh}_3)_2(\text{N-N})]\text{PF}_6$, onde N-N = bipy, mebipy, meobipy e fen

Os complexos contendo a lausona foram obtidos por meio da adição da lausona (12,00 mg; 0,14 mmol) em uma mistura de metanol (15 mL) e diclorometano (10 mL) deaerados. Em seguida, foram adicionados 50 μL de trietilamina à solução. A solução de coloração amarela tornou-se vermelha pela desprotonação da lausona. O complexo *cis,trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})]$ (50,00 mg; 0,12 mmol) e KPF_6 (21,00 mg; 0,23 mmol) foram adicionados. O sistema foi mantido em refluxo por aproximadamente 12 horas. A solução de coloração vermelha tornou-se azul escura. O volume foi reduzido para aproximadamente 3 mL e foi mantida em agitação até observar a formação de um precipitado de coloração escura. O precipitado foi filtrado, lavado com água destilada e éter etílico. O mesmo procedimento foi empregado para os demais complexos com os precursores *cis,trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{mebipy})]$, *cis,trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{meobipy})]$ e *cis,trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{fen})]$.

- (1) *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(bipy)]PF₆: Rendimento: 77% (49,66 mg);
- (2) *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(mebipy)]PF₆: Rendimento: 75% (48,02 mg);
- (3) *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(meobipy)]PF₆: Rendimento: 80% (50,83 mg);
- (4) *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(fen)]PF₆: Rendimento: 73% (46,14 mg).

3.8- Síntese do complexo *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂]

Em um tubo Schlenk o lapachol (25,00 mg; 0,20 mmol) foi dissolvido em uma mistura de etanol (20 mL) e diclorometano (5 mL) previamente deaerados e, em seguida, foi adicionado trietilamina (50 µL). A solução que inicialmente era amarela tornou-se vermelha. Feito isso, foi adicionado o complexo precursor [RuCl₂(PPh₃)₃] (50,00 mg; 0,10 mmol). A solução passou de marrom para azul escuro. O diclorometano foi evaporado, deixando a reação apenas em etanol. O sistema foi mantido em agitação e atmosfera de argônio por aproximadamente 6 horas. O volume foi reduzido para aproximadamente 3 mL e foi mantido em agitação até a formação de um precipitado azul escuro, o qual foi filtrado, lavado com etanol gelado e seco sob vácuo. *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂]: Rendimento 65 % (37,55 mg).

3.9- Estudos de interação com o DNA – Titulação Espectroscópica

Inicialmente preparou-se uma solução de DNA pela adição de aproximadamente 40 mg de ct-DNA (calf thymus) (Sigma Aldrich) em 20 mL de tampão Tris-HCl (4,5 mmol L⁻¹ de Tris HCl, 0,5 mmol L⁻¹ de Tris base e 50 mmol L⁻¹ de NaCl) num pH de 7,4. A concentração exata do ct-DNA foi determinada por espectroscopia na região do UV-vis. Em uma cubeta contendo apenas o tampão (2000 µL) foram adicionados 80 µL da solução de ct-DNA e realizada a medida. Sabe-se que a absorvidade molar do ct-DNA em 260 nm é 6600 mol⁻¹ cm⁻¹ L. Assim, conhecendo-se a absorbância e a absorvidade molar

em 260 nm, e o caminho óptico ($b = 1$ cm), determinou-se a concentração do ct-DNA por meio da lei de Lambert-Beer:

$$A_{260} = \epsilon_{260} \times b \times C$$

As titulações foram realizadas empregando-se duas cubetas: na cubeta 1 foram adicionados 1500 μL de tampão Tris e 500 μL de DMSO, correspondendo ao branco e na cubeta 2 foram adicionados 1500 μL de tampão Tris e 500 μL da solução de complexo em DMSO (em uma concentração que não ultrapasse a Lei de Lambert-Beer). Feito isso, foram realizadas sucessivas adições de 20 μL de ct-DNA em ambas cubetas. As soluções foram homogeneizadas por cerca de 1 minuto, e, em seguida, registrado o espectro.

Vale ressaltar que neste caso o ct-DNA foi adicionado tanto no branco como na amostra para garantir que toda a variação espectral observada fosse oriunda da interação do complexo com o ct-DNA. Além disso, o DMSO foi adicionado ao branco para descontar qualquer possível interação que ele apresente com o ct-DNA.

3.10- Estudos de interação com a BSA

O estudo de interação dos complexos sintetizados com a BSA foi realizado por meio da medida de supressão da fluorescência dos resíduos triptofano. Para isso foi empregado uma solução 2,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de BSA em tampão Tris pH 7,4. A extinção da intensidade de emissão dos resíduos de triptofano em 340 nm (comprimento de onda de excitação 280 nm) foi monitorada utilizando os complexos como supressores em diferentes concentrações (2-60 $\mu\text{mol L}^{-1}$), solubilizados em DMSO.

Os experimentos foram realizados em triplicata empregando uma placa opaca de 96 poços. Em cada poço foram adicionados 180 μL de BSA e

20 µL de solução do complexo. As medidas foram efetuadas em um fluorímetro SpectraMax M3 nas seguintes temperaturas: 22 e 37°C.

3.11- Testes Biológicos – Avaliação da citotoxicidade

Os complexos sintetizados foram avaliados quanto à capacidade de inibir o crescimento de células de adenocarcinoma humano de mama MCF-7 (ATCC HTB-22) e células normais de fibroblasto de camundongo L229 (ATCC CCL-1).

As células foram cultivadas como cultura de monocamada aderente em meio DMEM para o caso da L929 e RPMI no caso da MCF-7, suplementado com soro fetal bovino (FBS) 10%. Penicilina e estreptomicina (100 µg mL⁻¹) foram usadas como antibióticos. As culturas foram mantidas a 37 °C, em atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂. Para a realização dos ensaios de citotoxicidade, as células foram tripsinizadas para a contagem e ajuste da concentração de células. Em seguida, aplicou-se as células em placas de cultura de 96 poços (estéril) (densidade de células 1,5 × 10⁴) (Figura 3.1). As placas foram armazenadas em estufa (37 °C/ 5% CO₂) por 24 h para a adesão celular. Após este tempo os complexos em diferentes concentrações (50 – 0,003 µM) foram adicionados à placa e a mesma foi novamente mantida na estufa por 48 horas.

Após este período, retirou-se todo o meio de cultura das placas e lavou-se duas vezes com PBS (estéril) e, em seguida, adicionou-se 50 µL de MTT (0,5 mg mL⁻¹). As mesmas foram deixadas em estufa por um período de 3-4 horas e adicionou-se isopropanol para solubilizar os cristais formados. Neste período de incubação o MTT é reduzido pela dehidrogenase mitocondrial e assume-se que a viabilidade celular (correspondente à atividade redutiva) é proporcional à produção de cristais de formazan (violeta) que, depois de solubilizado, é medido espectrofotometricamente (MOSMANN, 1983). A

densidade óptica (absorbância dos poços) foi medida em um leitor de microplacas a 540 nm. Para verificar o efeito do solvente DMSO, controles adicionais receberam 0,5% deste solvente.

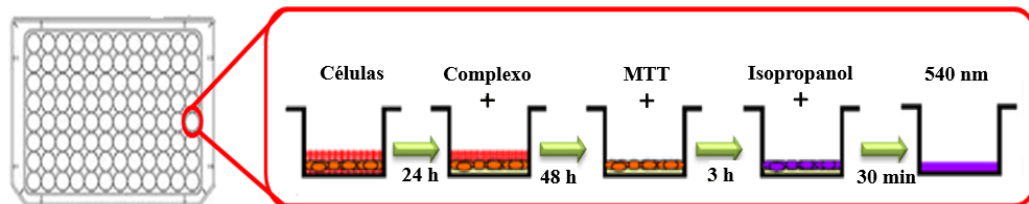


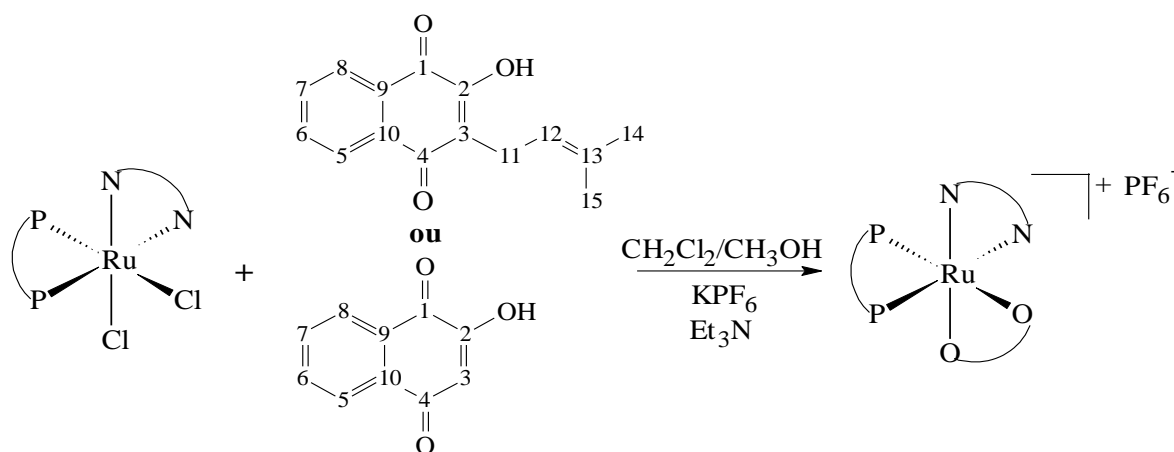
FIGURA 3.1 - Representação do teste de citotoxicidade.

CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1- Resultados e Discussão - SÉRIE 1

4.1.1- Síntese dos complexos de fórmula geral $[\text{Ru}(\text{L})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$, onde $\text{L} = \text{lap}$ ou lau e $\text{N-N} = \text{bipy}$, mebipy e fen

Os complexos contendo lapachol (lap) ou lausona (lau) foram obtidos partindo-se de precursores de fórmula geral *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{N-N})]$, pela substituição dos ligantes cloretos pelo lap ou lau conforme descrito no Esquema 4.1. Foram empregados três ligantes bipyridínicos diferentes a fim de avaliar a relação entre a estrutura e atividade dos complexos.



N-N = 2,2'-bipiridina, 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina e 1,10-fenantrolina

P-P = 1,4-bis(difenilfosfina)butano

O-O = lapachol ou lausona

ESQUEMA 4.1 - Rota sintética para obtenção dos complexos contendo lap ou lau.

4.1.1.1- Condutância molar e análise elementar

As medidas de condutividade molar dos complexos foram realizadas em CH_2Cl_2 e os resultados obtidos indicaram que os complexos são eletrólitos 1:1 (faixa CH_2Cl_2 1:1 = 12 – 77 $\text{ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$) (VELHO, 2006). Isso indica a formação de complexos iônicos com a presença do contra íon PF_6^- , pois o lap e a lau encontram-se coordenados na forma aniônica devido à

desprotonação da hidroxila do grupamento fenólico. Os dados encontrados estão dispostos na Tabela 4.1.

TABELA 4.1 - Dados de condutividade molar em CH₂Cl₂ dos complexos sintetizados

COMPLEXOS	Branco (ohm ⁻¹ cm ² mol ⁻¹)	Condutividade (ohm ⁻¹ cm ² mol ⁻¹)
[Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆	0,027	44,13
[Ru(lap)(dppb)(mebipy)]PF ₆	0,034	45,57
[Ru(lap)(dppb)(fen)]PF ₆	0,041	47,46
[Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆	0,031	44,93
[Ru(lau)(dppb)(mebipy)]PF ₆	0,033	47,56
[Ru(lau)(dppb)(fen)]PF ₆	0,042	44,77

*Concentração dos complexos: $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹.

Os dados de análise elementar (% C, H e N) dos complexos estão de acordo com as composições esperadas. Vale ressaltar que em alguns complexos foram observadas a presença de moléculas de solventes em suas estruturas. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.2.

TABELA 4.2 - Dados percentuais para os teores de C, H e N, teóricos e experimentais, para os complexos sintetizados

COMPLEXOS	ANÁLISE ELEMENTAR		
	% C	% H	% N
[Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆ C ₅₃ H ₄₉ F ₆ N ₂ O ₃ P ₃ Ru .0,8 CH ₃ OH.0,2 CH ₂ Cl ₂	(56,68) 57,12	(4,53) 4,21	(2,45) 2,52
[Ru(lap)(dppb)(mebipy)]PF ₆ C ₅₅ H ₅₃ F ₆ N ₂ O ₃ P ₃ Ru	(60,16) 60,09	(4,87) 5,17	(2,55) 2,64
[Ru(lap)(dppb)(fen)]PF ₆ C ₅₅ H ₄₉ F ₆ N ₂ O ₃ P ₃ Ru .1H ₂ O	(59,41) 59,36	(4,62) 4,56	(2,52) 2,63
[Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆ C ₄₈ H ₄₁ F ₆ N ₂ O ₃ P ₃ Ru .0,3 CH ₂ Cl ₂	(53,14) 53,36	(3,95) 3,80	(2,51) 2,62
[Ru(lau)(dppb)(mebipy)]PF ₆ C ₅₀ H ₄₅ F ₆ N ₂ O ₃ P ₃ Ru .0,6 CH ₂ Cl ₂	(56,01) 55,77	(4,30) 4,03	(2,58) 2,70
[Ru(lau)(dppb)(fen)]PF ₆ C ₅₀ H ₄₁ F ₆ N ₂ O ₃ P ₃ Ru .1CH ₂ Cl ₂	(58,36) 57,90	(4,80) 4,29	(2,65) 2,78

*Valores teóricos estão entre parênteses.

4.1.1.2- Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em pastilhas de KBr e as atribuições foram realizadas por meio de comparações dos espectros dos ligantes livres, precursores e dados da literatura.

Os ligantes lap e lau livres apresentam estiramentos $\nu(\text{C1}=\text{O1})$ e $\nu(\text{C4}=\text{O3})$ em torno de 1640 e 1680 cm^{-1} , respectivamente. Na Tabela 4.3 é apresentada a tentativa de atribuição das principais bandas dos ligantes.

TABELA 4.3 - Atribuições das principais bandas de absorção na região do infravermelho para o lap e a lau, obtidos em pastilhas de KBr

Atribuições	lap (cm ⁻¹)	lau (cm ⁻¹)
v O–H	3354 F	3180 F
v C–H	2974 m	-
v C1=O1	1643 F	1640 F
v C4=O3	1662 F	1679 F
v C2=C3	1592 F	1594 F
v C2–O2	1050 F	982 F
v _{ass} C–H	2911f	-
v _s C–H	2854 f	-
v _{ass} grupo CH ₃ (C14 e C15)	2970 m	-

F- forte; m- média; f- fraca; v - designa uma vibração de estiramento.

Quando complexado observou-se um deslocamento e a ausência de algumas bandas referentes aos ligantes. Os únicos pontos de coordenação do lap e da lau são pela carbonila C1 e pela hidroxila. Nos espectros de infravermelho dos complexos foi observada a ausência da banda referente ao estiramento v(O-H), e o deslocamento do estiramento C1=O1, indicando a coordenação por estes pontos.

Para o complexo [Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF₆ (Figura 4.1) foi observado que o estiramento da carbonila v(C1=O1) deslocou para frequência mais baixa (passou de 1643 cm⁻¹ para 1548 cm⁻¹), condizente com a diminuição da ordem de ligação após a coordenação. Em 1098 cm⁻¹ é observada a banda referente ao estiramento de ligação v(C2–O2). Essa banda sofreu um deslocamento para frequência mais alta devido ao maior efeito ressonante entre as ligações C1=O1 e C2–O2 após a coordenação (CARUSO *et. al.*, 2009). Em 847 e 558 cm⁻¹ são observadas bandas referentes ao contra-íon PF₆⁻. Em 703 cm⁻¹ é observada uma banda que pode ser atribuída à deformação do anel piridínico da bipy. Em 517 e 433 cm⁻¹ são observadas duas bandas que podem

ser atribuídas à ligação $\nu(\text{Ru}-\text{O})$ e $\nu(\text{Ru}-\text{N})$, respectivamente (NAKAMOTO, 2009).

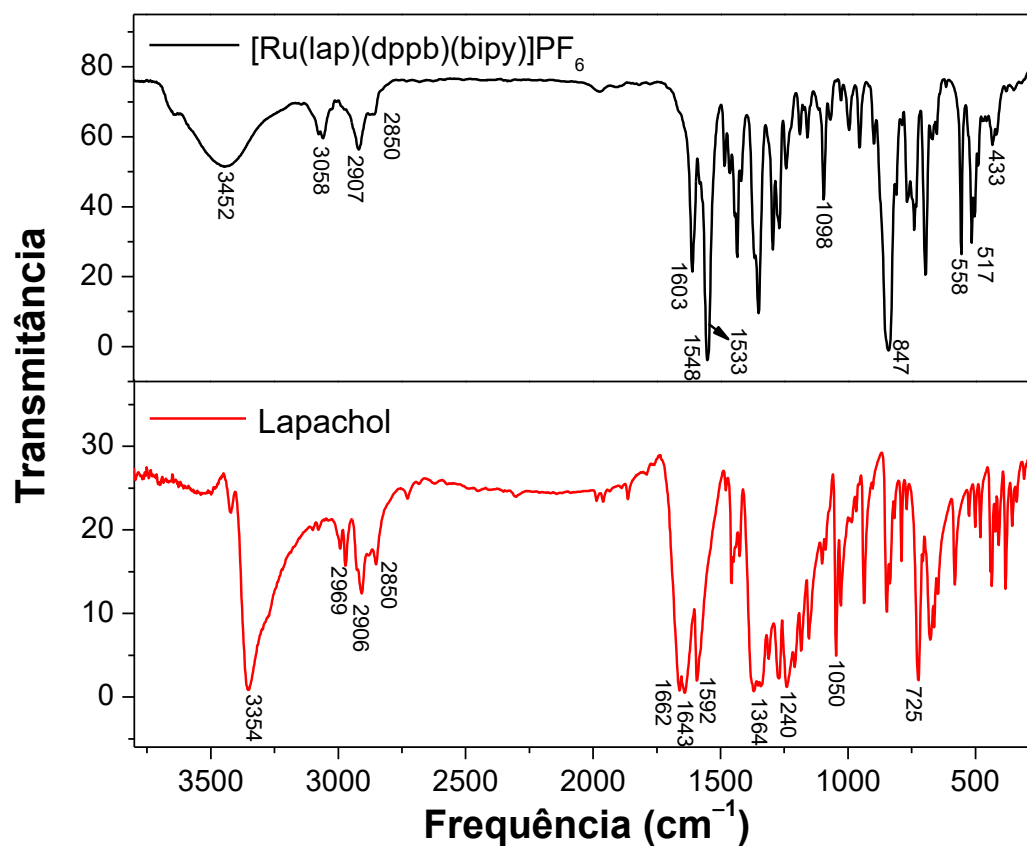


FIGURA 4.1 - Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante lap e do complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em pastilhas de KBr.

Todos os complexos apresentaram comportamento semelhante e na Tabela 4.4 são mostrados os principais estiramentos observados para os complexos $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$.

TABELA 4.4 - Atribuições dos principais estiramentos observados para os complexos (1) [Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF₆, (2) [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF₆ e os ligantes lap e lau

Atribuições	(1)	(2)	lap	lau
v(C1=O1)	1548	1581	1643	1640
v(C4=O3)	1603	1619	1662	1679
v(C2-O2)	1098	1006	1050	982
v(C-H)	2907	2921	2906	-
v(Ru-N)	433	427	-	-
v(Ru-O)	517	515	-	-
v PF ₆ ⁻	847 e 558	840 e 556	-	-

Na Figura 4.2 é mostrado o espectro de absorção na região do infravermelho para o complexo [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF₆ e do ligante lau livre. Os espectros para os demais complexos da série se encontram no apêndice.

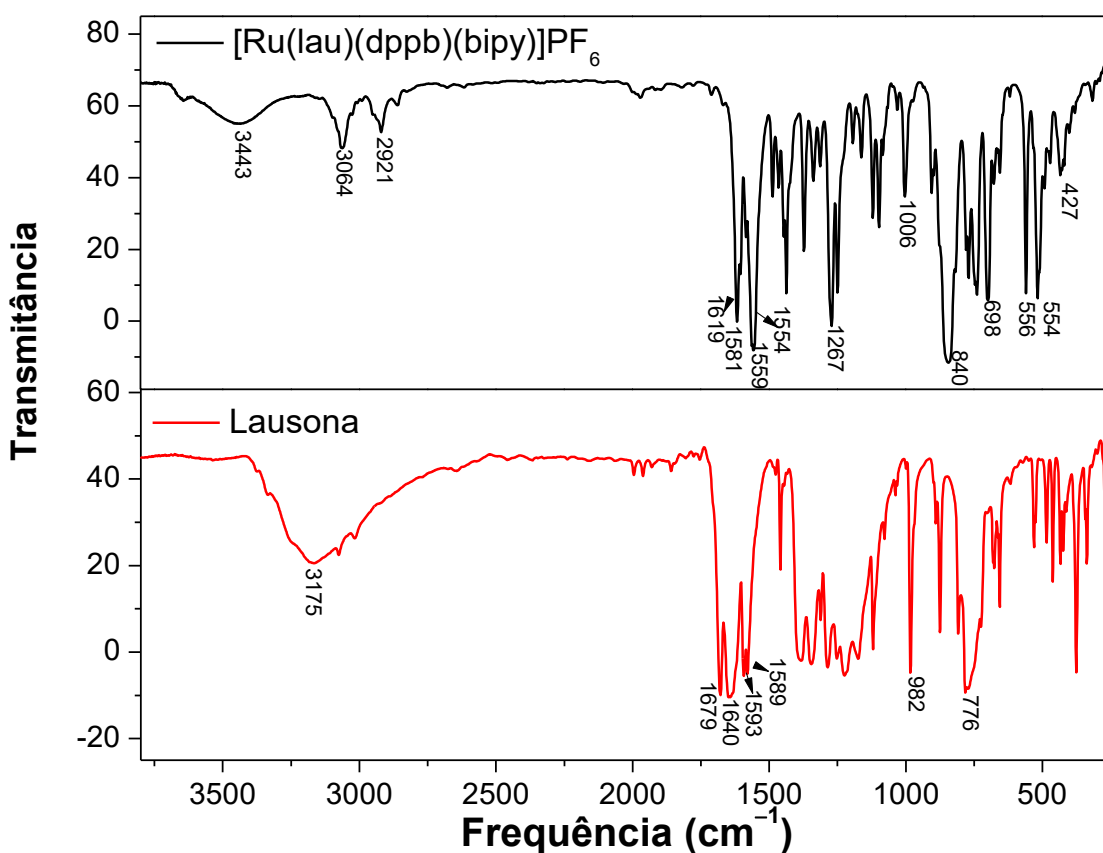


FIGURA 4.2 - Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante lau e do complexo [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF₆, em pastilhas de KBr.

4.1.1.3- Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta e visível

Os espectros de absorção eletrônica na região do ultravioleta e visível foram realizados com o intuito de avaliar os tipos de transições existentes nos complexos e nos ligantes lap e lau. Na Figura 4.3 são apresentados os espectros obtidos para os ligantes lap e lau.

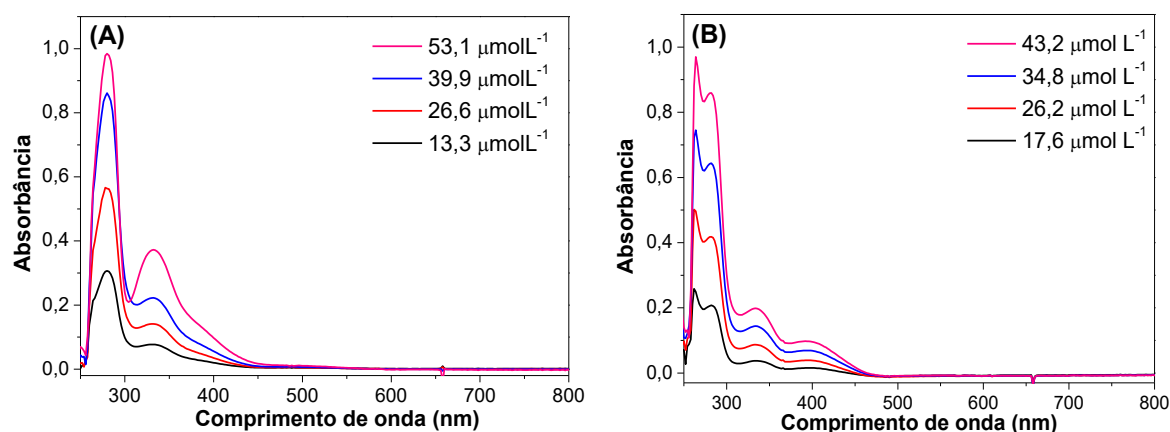


FIGURA 4.3 - Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para os ligantes (A) lau e (B) lap, em DMSO.

Os espectros apresentaram bandas intensas em 280 e 332 nm, para o caso da lau e bandas em 280, 334 e 396 nm para o lap, as quais são referentes às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ dos anéis aromáticos. A banda em 268 nm observada no espectro do lap não foi atribuída, pois provavelmente se deve a absorção do solvente. A banda do solvente no espectro da lau encontra-se sobreposta com a banda em 280 nm.

Na Figura 4.4 são apresentados os espectros para os complexos $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ em DMSO. Os espectros para os demais complexos se encontram no apêndice.

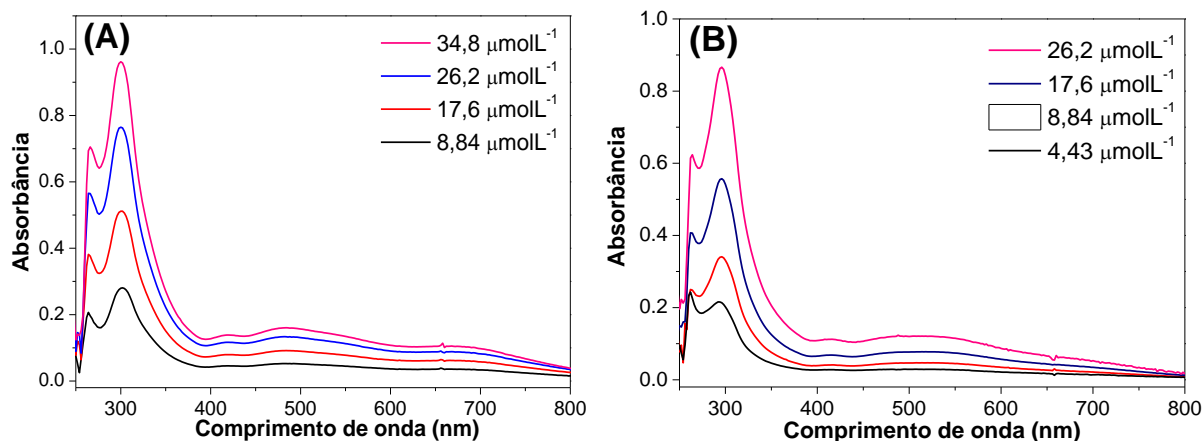


FIGURA 4.4 - Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para os complexos (A) $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e (B) $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em DMSO.

De acordo com a literatura complexos do tipo $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{N-N})]$ apresentam bandas de transferência de carga metal ligante (MLCT) $d\pi_{\text{Ru}} \rightarrow \pi^*_{(\text{bipy})}$, na região compreendida entre 320 e 600 nm e bandas na região de 290 e 300 nm que são provenientes de transições $\pi \rightarrow \pi^*$ dos ligantes (SANTIAGO, 2004).

Os espectros eletrônicos na região do UV-vis desta série de complexos são semelhantes entre si e apresentam misturas de bandas na região de 300 nm, que são referentes às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ dos ligantes lap, lau, bipyridinas e dppb.

Na região de 400 nm foram observadas as transições das bandas MLCT, as quais referem-se a transições dos orbitais $d\pi_{\text{Ru}} \rightarrow 3p\sigma^*d\pi_{(\text{bifosfina})}$ e $d\pi_{\text{Ru}} \rightarrow \pi^*_{(\text{ligantes bipyridínicos, lap e lau})}$, sobrepostas com bandas IL.

As bandas provenientes de transições $d-d$ possuem baixos valores de coeficientes de extinção molar e são facilmente encobertas por outras bandas, por isso não foram claramente detectadas para estes complexos, sendo então atribuídas juntamente com as bandas IL e MLCT.

Na região em torno de 260-270 nm foram observadas bandas que provavelmente se trata de bandas de absorção do solvente, por isso não foram atribuídas.

Foram observadas bandas alargadas em torno de 500 nm que são atribuídas a transições $n \rightarrow \pi^*$ características de complexos contendo quinonas, as quais são responsáveis pela coloração roxa escura dos complexos (FARFÁN *et. al.*, 2009; SINGH, *et. al.*, 1968). Para comprovar a atribuição desta banda registrou-se um espectro de UV-vis dos ligantes lap e lau protonados e desprotonados, e os resultados obtidos são apresentados na Figura 4.5.

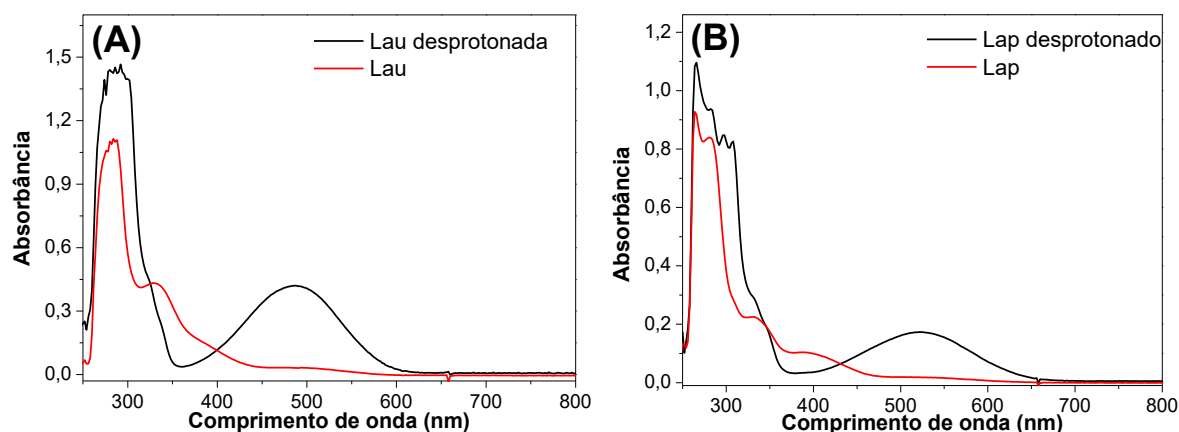


FIGURA 4.5 - Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para os ligantes (A) lap e (B) lau, protonados e desprotonados, em DMSO.

Os ligantes lap e lau desprotonados apresentam uma banda intensa e alargada em torno de 500 nm. Antes da desprotonação os ligantes apresentam uma coloração amarela e após a desprotonação, tornaram-se vermelhos. Sendo assim, essa transição em 500 nm é responsável pela cor observada nos ligantes desprotonados. Como nos complexos os ligantes encontram-se desprotonados, pode-se então inferir que a banda alargada na região de 500 nm tem contribuição dos ligantes lap e lau.

Na Tabela 4.5 são apresentados os dados de absorvidade molar (ϵ) para os complexos e os ligantes lap e lau, bem como uma tentativa de atribuição das bandas. Os valores de absorvidade molar foram calculados pela lei de Lambert-Beer.

TABELA 4.5 - Dados de absorvidade molar (ϵ) e tentativa de atribuição das bandas

Complexos	$\lambda(\text{nm})$	$\epsilon (\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}\text{L})$	Transição
lau	280	$2,14 \times 10^4$	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	332	$5,68 \times 10^3$	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
lau desprotonada	487	$3,07 \times 10^4$	$n \rightarrow \pi^*$
	280	$1,72 \times 10^4$	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
lap	334	$4,23 \times 10^3$	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	396	$1,74 \times 10^3$	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	521	$6,86 \times 10^4$	$n \rightarrow \pi^*$
[Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆	300	$2,94 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$
	416	$3,66 \times 10^3$	IL e MLCT
	486	$5,20 \times 10^3$	IL, MLCT e $n \rightarrow \pi^*_{(\text{lap})}$
	678	$3,60 \times 10^3$	IL, MLCT, $d-d$ e $n \rightarrow \pi^*_{(\text{lap})}$
[Ru(lap)(dppb)(mebipy)]PF ₆	304	$3,16 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$
	550	$4,44 \times 10^3$	IL, MLCT, $n \rightarrow \pi^*_{(\text{lap})}$ e $d-d$
[Ru(lap)(dppb)(fen)]PF ₆	296	ombro	$\pi \rightarrow \pi^*$
	407	$6,30 \times 10^3$	IL e MLCT
	476	$5,57 \times 10^3$	IL, MLCT, $n \rightarrow \pi^*_{(\text{lap})}$ e $d-d$
[Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆	296	$3,58 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$
	415	$4,57 \times 10^3$	IL e MLCT
	516	$4,96 \times 10^3$	IL, MLCT, $n \rightarrow \pi^*_{(\text{lau})}$ e $d-d$
[Ru(lau)(dppb)(mebipy)]PF ₆	293	$3,78 \times 10^4$	$\pi \rightarrow \pi^*$
	536	$5,31 \times 10^3$	IL, MLCT, $n \rightarrow \pi^*_{(\text{lau})}$ e $d-d$
[Ru(lau)(dppb)(fen)]PF ₆	296	ombro	$\pi \rightarrow \pi^*$
	370	$7,84 \times 10^3$	IL e MLCT
	496	$5,72 \times 10^3$	IL, MLCT, $n \rightarrow \pi^*_{(\text{lau})}$ e $d-d$

4.1.1.4- Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

O espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)] (Figura 4.6) apresenta dois dubletos em δ 42,19 ppm e δ 30,43 ppm, evidenciando a formação do isômero *cis*, com uma constante de acoplamento de $^2J = 32,64$ Hz, condizente com um sistema AX. Os demais precursores contendo a mebipy e a fen também apresentam dubletos com deslocamentos químicos em torno de δ 30 e δ 42 ppm.

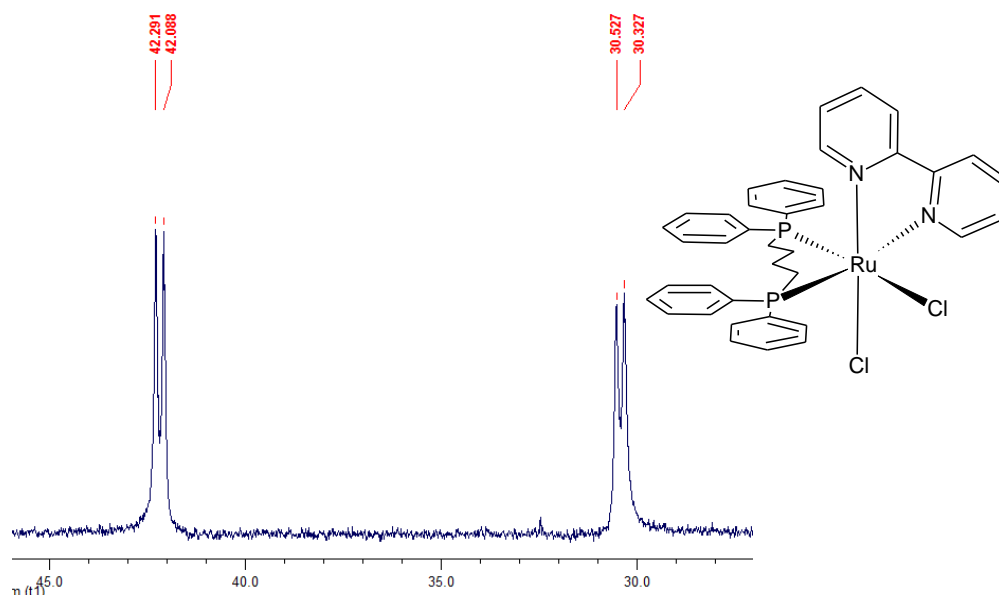


FIGURA 4.6 - Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o complexo precursor $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$, em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$.

Os espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos contendo o lap e a lau também apresentaram dois dubletos mostrando a não equivalência dos átomos de fósforo do ligante bifosfínico. No entanto foram observados deslocamentos dos sinais para regiões de maiores frequências em relação aos precursores. Isso ocorre porque os ligantes lap e lau desblindam mais eficientemente os átomos de fósforo do que os cloretos, ou seja, os fósforos se encontram menos protegidos.

Na Figura 4.7 é apresentado o espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$, o qual apresentou deslocamentos químicos em δ 47,69 e δ 44,51 ppm. Todos os espectros apresentam heptetos em -144 ppm correspondentes ao átomo de fósforo do contra íon PF_6^- . Os espectros dos demais complexos da série se encontram no apêndice.

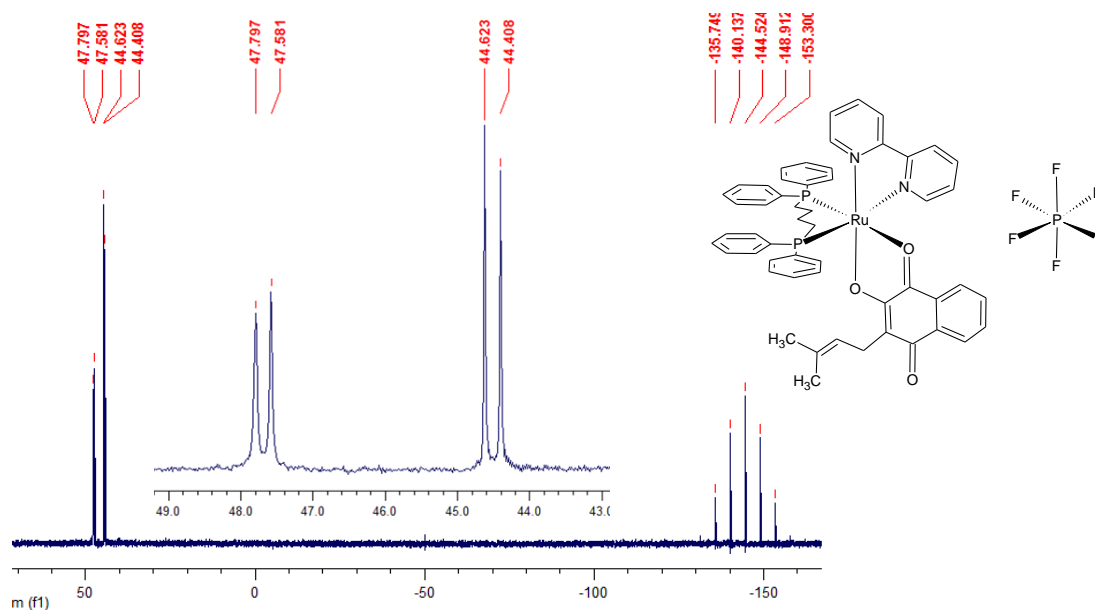


FIGURA 4.7 - Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$.

O dubleto de menor frequência (δ 44,51 ppm) pode ser atribuído ao átomo de fósforo *trans* ao nitrogênio da bipy, enquanto o dubleto em δ 47,69 ppm é referente ao átomo de fósforo *trans* ao oxigênio da carbonila. Isso de fato pode ser relacionado à diferença entre os sinais do precursor e do complexo contendo o lap. No precursor o dubleto observado em δ 30,43 ppm é referente ao átomo de fósforo *trans* ao cloro, enquanto que o dubleto em δ 42,19 ppm é do átomo de fósforo *trans* ao nitrogênio da bipy (SANTIAGO, 2004). Diante disso pode-se inferir que o dubleto em δ 44,51 ppm é referente ao fósforo *trans* ao nitrogênio da bipy, pois o mesmo não sofreu alterações significativas (passou de 42,19 ppm para 44,51 ppm). O dubleto em δ 47,69 ppm pode ser atribuído ao átomo de fósforo *trans* a carbonila do lap, pois foi observado o maior deslocamento para este sinal (passou de δ 30,43 ppm para δ 47,69 ppm).

Com isso pode-se dizer que o átomo de fósforo que gera o dubleto de maior frequência sofre maior influência da coordenação do lap do que aquele *trans* ao nitrogênio da bipy, pois um dos átomos de fósforo continua *trans* ao átomo de nitrogênio da bipy, enquanto o outro não. Os demais complexos

apresentaram resultados semelhantes e os dados de deslocamentos químicos e constantes de acoplamento para os complexos são apresentados na Tabela 4.6.

TABELA 4.6 - Dados de δ e J para os complexos contendo lap e lau, em CH₂Cl₂/D₂O

Complexo	δ (ppm)	$^2J_{PP}$ (Hz)
[Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆	47,69 e 44,51	34,91
[Ru(lap)(dppb)(mebipy)]PF ₆	48,62 e 44,90	35,07
[Ru(lap)(dppb)(fen)]PF ₆	47,89 e 45,21	35,32
[Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆	47,30 e 44,64	34,75
[Ru(lau)(dppb)(mebipy)]PF ₆	48,03 e 44,89	34,83
[Ru(lau)(dppb)(fen)]PF ₆	47,45 e 45,30	34,99

O espectro de RMN ¹H dos complexos obtidos em DMSO-d₆ apresentaram sinais característicos dos ligantes lap e lau, evidenciando a coordenação dos mesmos. O sinal referente ao próton do grupo C2–OH dos ligantes lap e lau livres não foram observados nos espectros dos complexos devido à desprotonação do referido grupo por trietilamina e subsequente coordenação ao íon metálico Ru²⁺. Na Figura 4.8 e 4.9 são apresentados os espectros de RMN ¹H dos ligantes lap e lau livres. Os sinais foram atribuídos com base nos espectros de ¹H e COSY, os quais se encontram no apêndice.

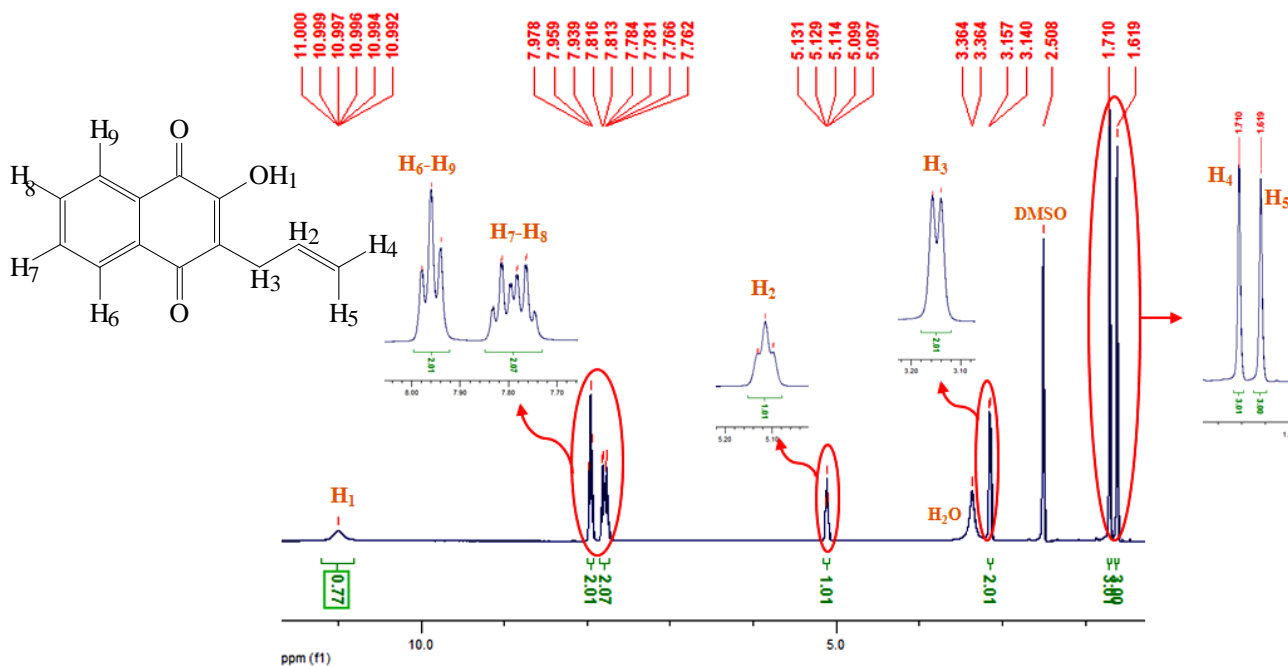


FIGURA 4.8 - Espectro de RMN ^1H do lap, em DMSO- d_6 .

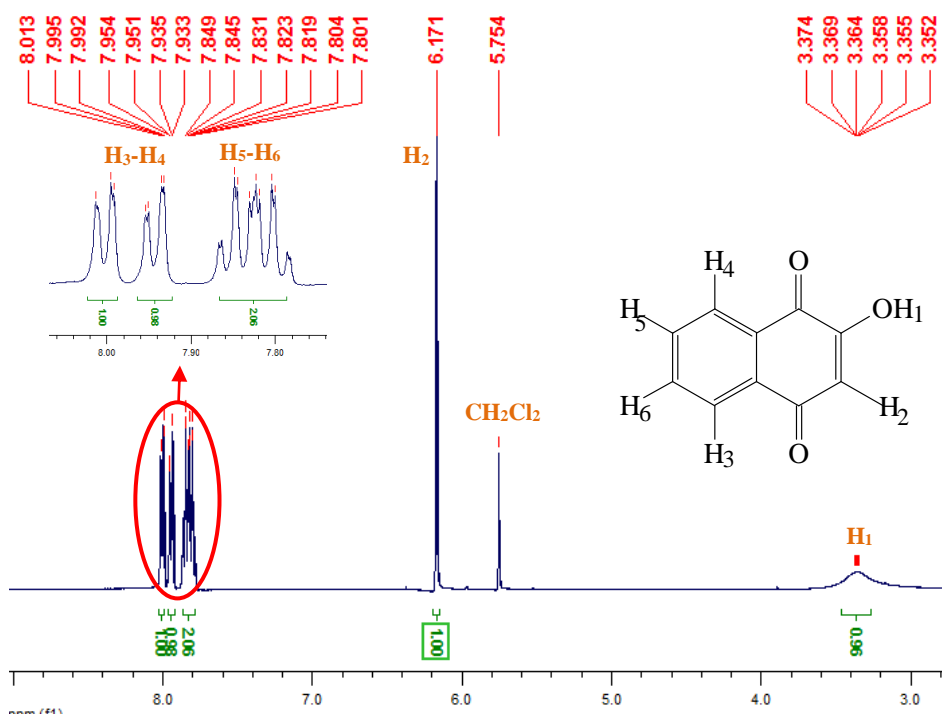


FIGURA 4.9 - Espectro de RMN ^1H da lau, em DMSO- d_6 .

Os espectros de RMN ^1H dos complexos contendo lap e lau se mostraram bastante similares, tendo em vista que todos apresentam um ligante bifosfínico, um ligante bipyridínico substituído e o lap ou a lau. Nas Figuras 4.10 e 4.11 são apresentados os espectros para os complexos

[Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF₆ e [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF₆ com a atribuição de alguns sinais referentes aos prótons dos ligantes lap e lau. Os demais sinais não puderam ser atribuídos individualmente tendo em vista a complexidade estrutural dos complexos, principalmente na região dos aromáticos. No entanto, o valor das integrais corresponde com as estruturas esperadas. Os espectros de RMN ¹H dos demais complexos encontram-se no apêndice.

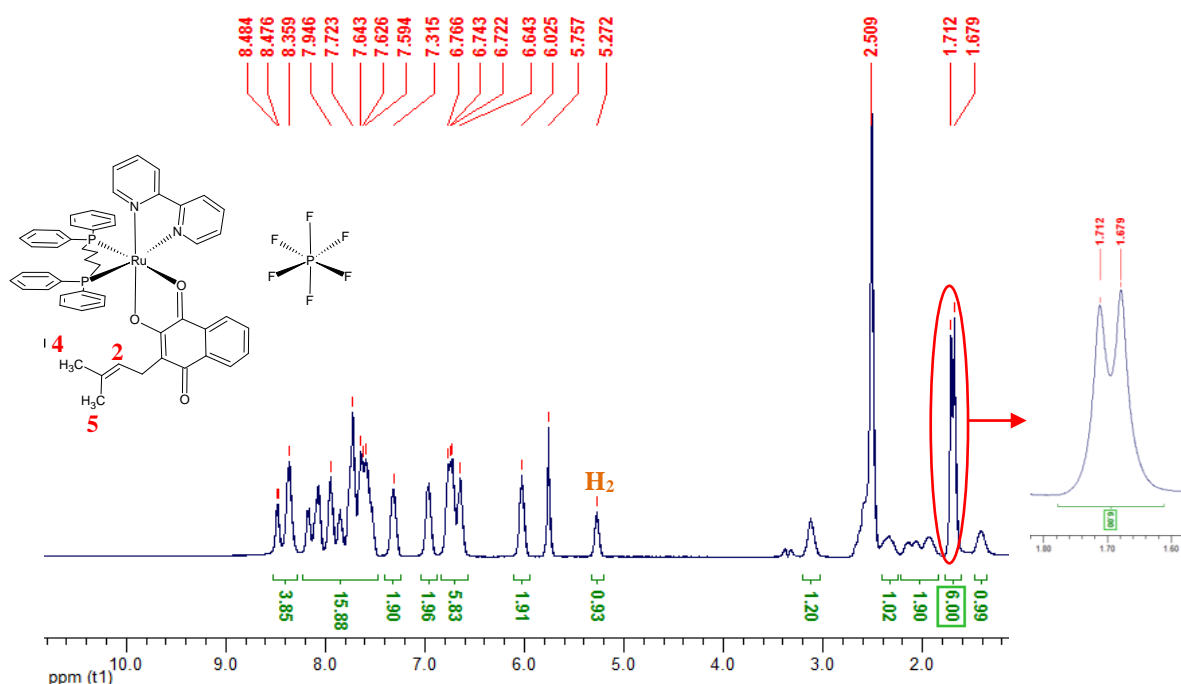


FIGURA 4.10 - Espectro de RMN ¹H do complexo [Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF₆, em DMSO-d₆.

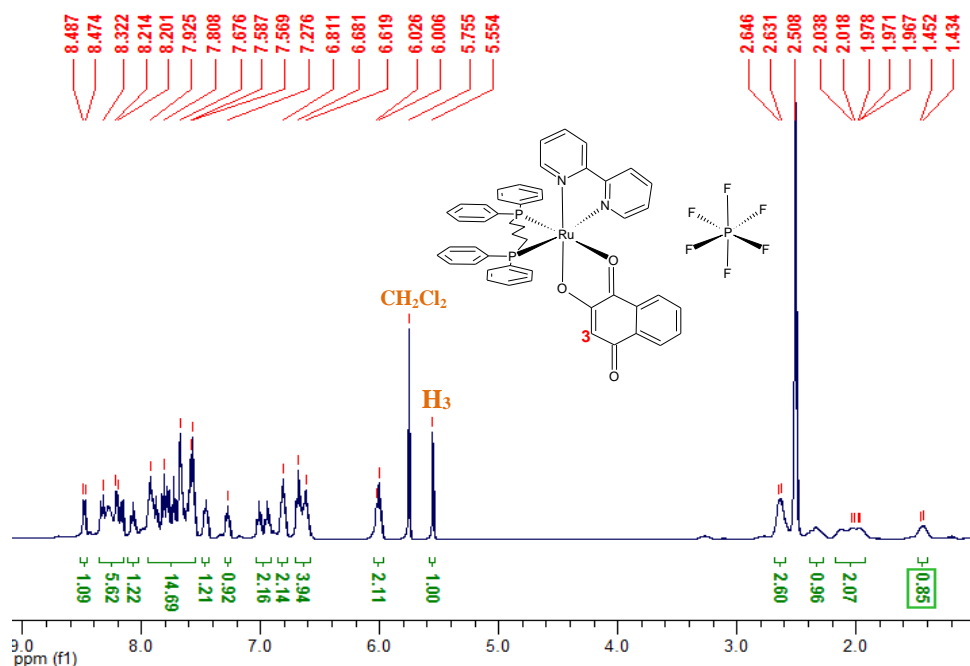


FIGURA 4.11 - Espectro de RMN ^1H do complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em DMSO-d_6 .

É possível observar nos espectros de RMN ^1H dos complexos $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ sinais característicos dos ligantes lap e lau, como os sinais das metilas (H_4 e H_5) e de um próton da cadeia alifática do lap (H_2). No espectro do complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ é possível observar o sinal do próton H_3 do anel da lau. Nos dois casos não foi observado o sinal do próton H_1 da hidroxila, tendo em vista a coordenação por este ponto.

Nas Figuras 4.12 e 4.13 são apresentados os espectros de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do lap e da lau com as devidas atribuições, as quais foram realizadas por correlação direta e indireta dos prótons com os carbonos nos espectros de HSQC e HMBC.

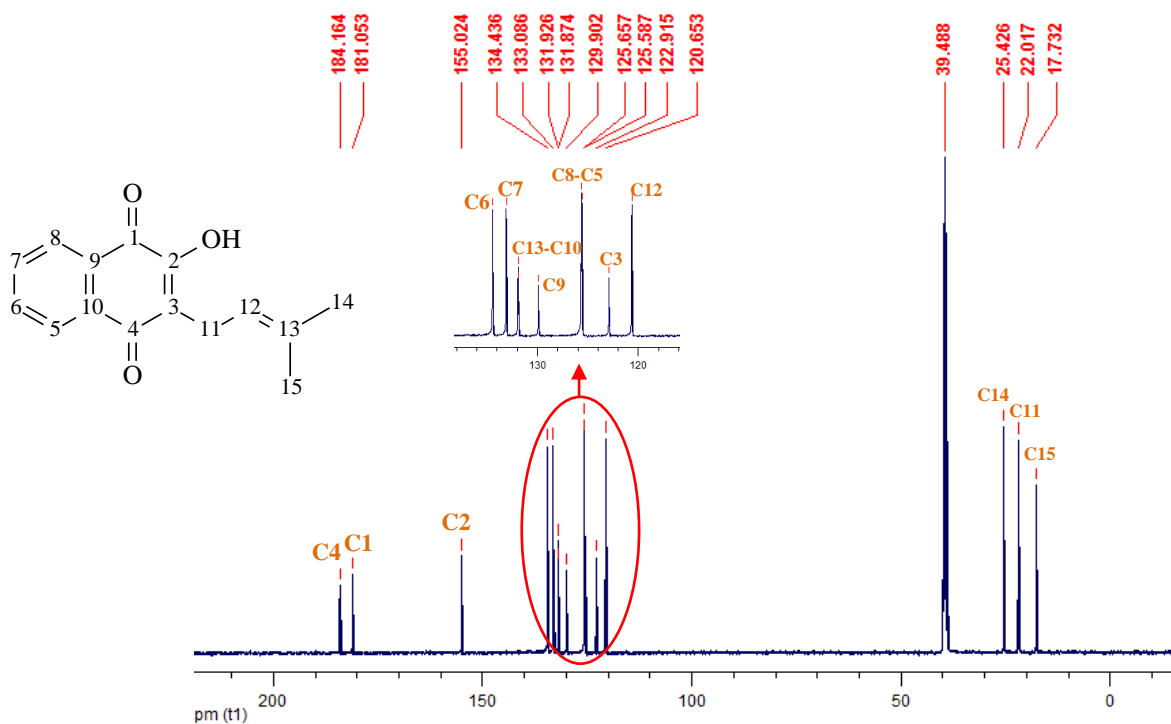


FIGURA 4.12 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do lap, em DMSO- d_6 .

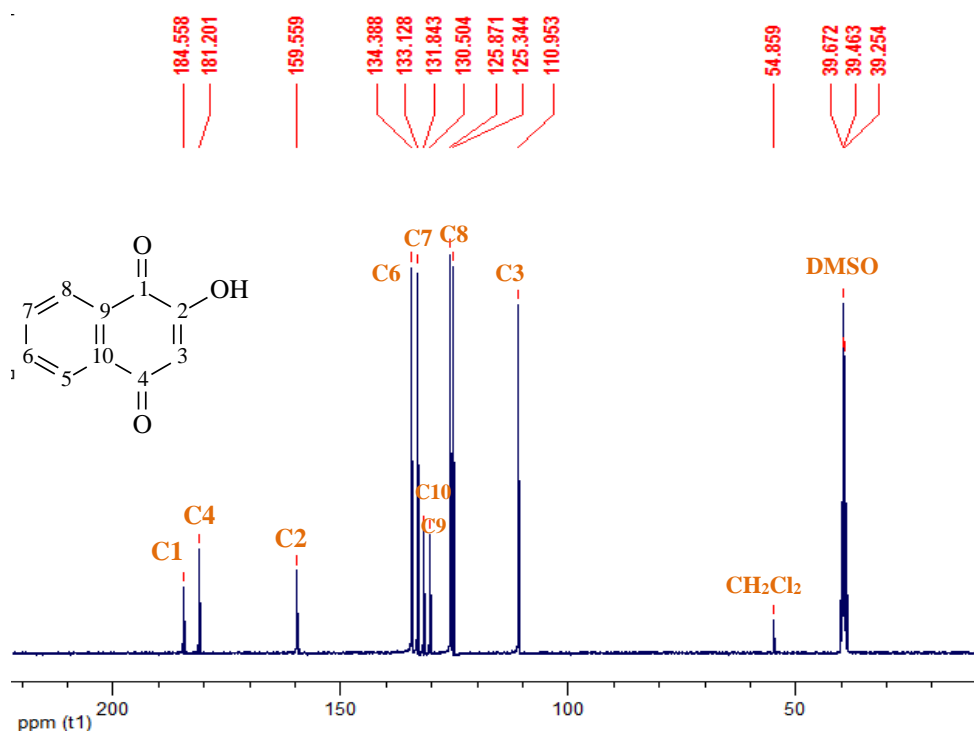


FIGURA 4.13 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da lau, em DMSO- d_6 .

Nos espectros de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ dos complexos foram observados sinais referentes aos ligantes lap e lau, indicando a coordenação. Na Figura 4.14 é apresentado o espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo

[Ru(lap)(dppb)(mebipy)]PF₆ com atribuição de apenas alguns carbonos referentes ao ligante lap. A atribuição de todos os sinais não foi possível em virtude do elevado número de sinais sobrepostos, provenientes dos vários grupos aromáticos presentes no complexo. Os espectros para os demais complexos são apresentados no apêndice.

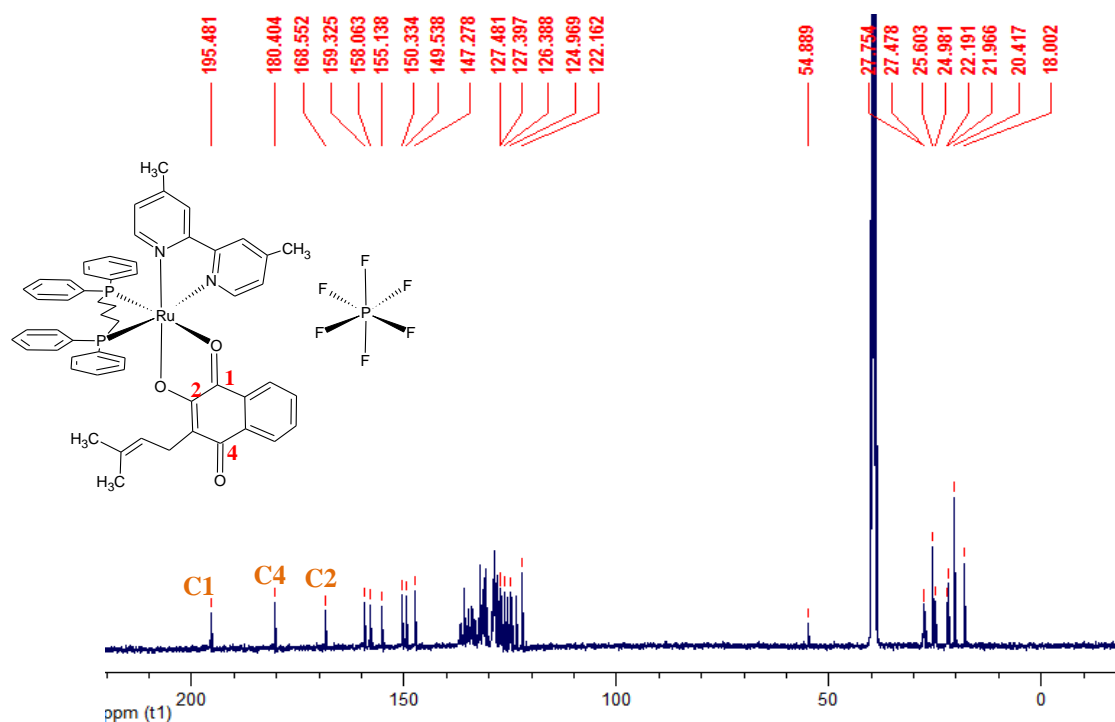


FIGURA 4.14 - Espectro de RMN ¹³C{¹H} do complexo [Ru(lap)(dppb)(mebipy)]PF₆, em DMSO-d₆.

Na Tabela 4.7 é possível observar os principais deslocamentos químicos para o RMN ¹³C{¹H} dos ligantes livres, bem como para os complexos [Ru(lap)(dppb)(mebipy)]PF₆ e [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF₆.

TABELA 4.7 - Deslocamentos químicos de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ dos ligantes lap, lau e dos complexos (1) $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$ e (2) $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em DMSO-d_6

Ligações	δ ppm			
	lap	lau	(1)	(2)
C1=O1	181,05	181,19	195,48	195,46
C2=O2	155,02	159,56	168,55	168,53
C4=O3	184,16	184,55	180,40	180,40

No espectro mostrado na Figura 4.14 e da Tabela 4.7 observa-se um deslocamento do sinal do carbono C1 para regiões de maior frequência, passando de 181 para 195 ppm, aproximadamente. O mesmo foi observado para o carbono C2, que passou de aproximadamente 159 ppm para 168 ppm. Tal fato está relacionado com a mudança de densidade eletrônica nos átomos de carbono C1 e C2. Com a coordenação do oxigênio ao íon metálico Ru^{2+} ocorre uma diminuição de densidade eletrônica no carbono C1 da carbonila e no carbono C2, deixando os mesmos mais desblindados, deslocando seus sinais para regiões de maior frequência. No caso do C4 foi observado um deslocamento para região de menor frequência, isso acontece porque com a coordenação ocorre uma redistribuição eletrônica no anel por onde ocorre a coordenação, tornando o carbono C4 mais blindado, e conseqüentemente seu deslocamento para região de menor frequência. O mesmo comportamento foi observado para os demais complexos, devido à similaridade estrutural dos mesmos (KANDIOLLER *et al.*, 2013).

Para confirmar a atribuição dos sinais dos carbonos mostrados na Figura 4.14, foi realizada uma correlação indireta dos prótons e carbonos no espectro de HMBC mostrado na Figura 4.15.

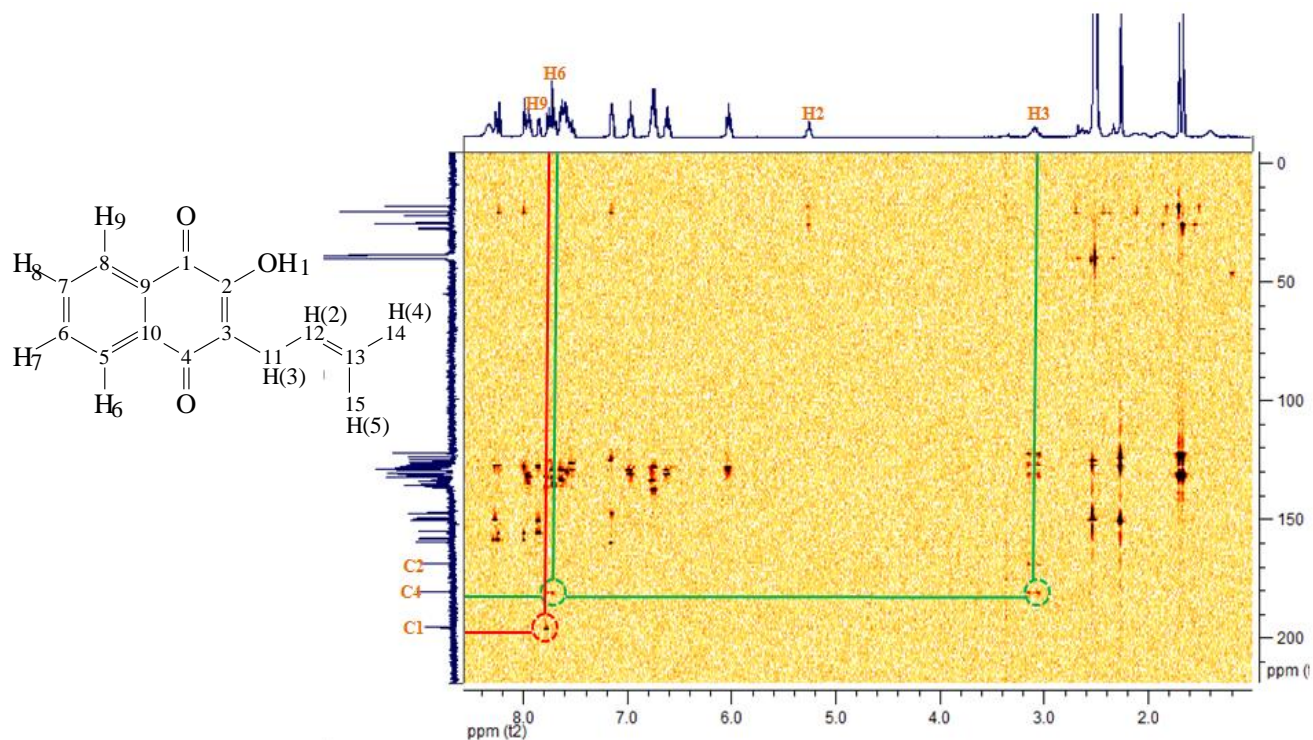


FIGURA 4.15 - Espectro de RMN de HMBC do complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$, em DMSO-d_6 .

De acordo com a Figura 4.15, foi possível distinguir o sinal das carbonilas C1 e C4 pela diferença existente em suas vizinhanças. A carbonila C4 acopla com o H₃ e H₆, enquanto a carbonila C1 acopla com H₉. De acordo com o espectro foi possível constatar que o carbono que mais se deslocou trata-se do carbono C1, confirmando as atribuições realizadas.

4.1.1.5 - Estudo eletroquímico

Os voltamogramas cíclicos e de pulso diferencial dos complexos foram avaliados em solução de CH_2Cl_2 ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA). A partir dos dados eletroquímicos foi possível observar um deslocamento dos potenciais de oxidação $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$ para regiões mais positivas, se comparado com os potenciais dos respectivos precursores. Isso de fato está relacionado com a substituição de dois cloretos nos precursores pelos ligantes lap ou lau. Os cloretos são bons doadores σ e π , enquanto os átomos de oxigênio dos ligantes

lap e lau apresentam fraco caráter doador de densidade eletrônica. Dessa forma ocorrerá uma diminuição da densidade eletrônica do rutênio, conduzindo a um aumento do potencial de oxidação. Vale ressaltar que a substituição de um ou dois átomos de cloro por um ligante qualquer que tenha a capacidade de deixar o centro metálico mais deficiente em elétrons, seja por efeito de retrodoação ou pela menor capacidade de doação σ e π , acarretará um aumento do potencial de oxidação do centro metálico.

Nas Figuras 4.16 e 4.17 é observado o processo de oxidação $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$ para os complexos $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em 1166 e 1279 mV, respectivamente. No complexo precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ é observado um processo reversível de oxidação $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$, em 600 mV.

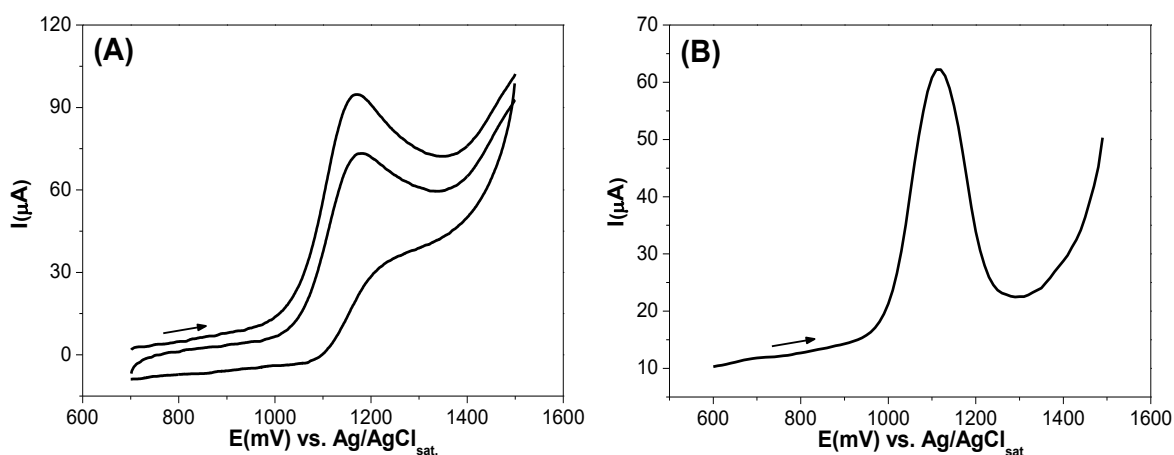


FIGURA 4.16 - (A) Voltamograma cíclico e (B) de pulso diferencial do $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA, em meio de CH_2Cl_2 .

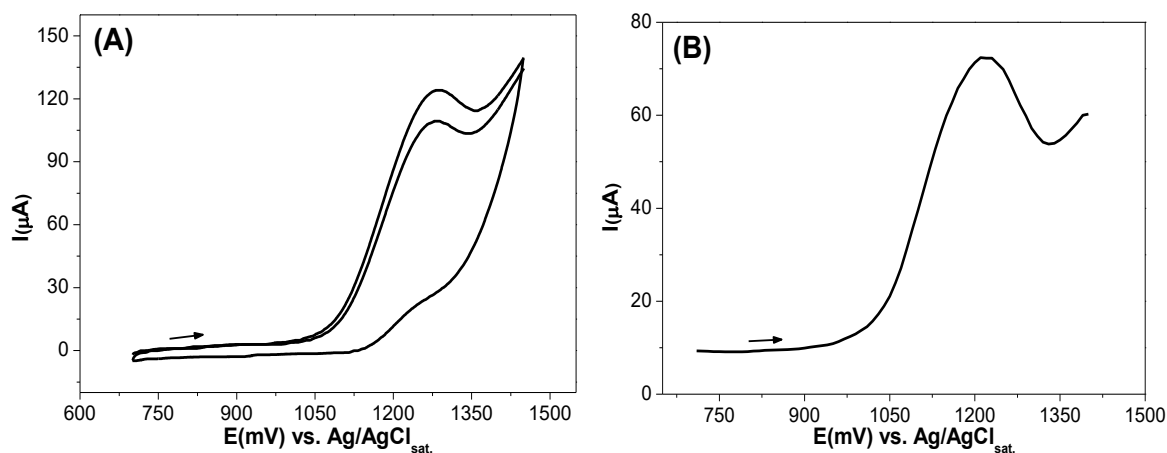


FIGURA 4.17 - (A) Voltamograma cíclico e (B) de pulso diferencial para o complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA, em CH_2Cl_2 .

Na Tabela 4.8 são apresentados os potenciais de oxidação para os complexos contendo lap ou lau.

TABELA 4.8 - Potenciais de oxidação $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$ para os complexos contendo lap e lau

Complexo	$E_{\text{ox.}}$ (mV)
$[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	1166
$[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$	1183
$[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$	1229
$[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	1279
$[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$	1219
$[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$	1230

A fim de verificar se a irreversibilidade apresentada nos voltamogramas é devido à labilização dos ligantes (lap ou lau), registrou-se um voltamograma em acetonitrila, pois sabe-se que este é um solvente coordenante, e caso o ligante seja labilizado, pode ocorrer à coordenação da acetonitrila e um novo processo de oxidação ser observado. Na Figura 4.18 é observado o voltamograma registrado em acetonitrila para o complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$.

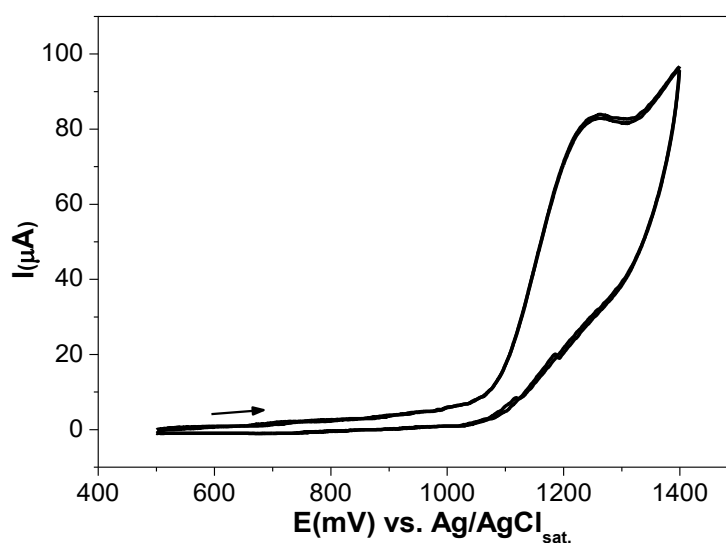


FIGURA 4.18 - Voltamograma cíclico para o complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA, em meio de acetonitrila

De acordo com o voltamograma da Figura 4.18 nenhum novo processo foi observado, ou seja, não ocorre a perda do ligante. Dessa forma provavelmente a irreversibilidade apresentada se deve a processos de oxidação do ligante, gerando uma nova espécie.

4.1.1.6 - Difração de raios X

As estruturas dos complexos desta série foram confirmadas pela análise de difração de raios X. Foram obtidos cristais dos complexos $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$ por meio da difusão lenta, onde os complexos foram solubilizados em CH_2Cl_2 e éter etílico foi utilizado como solvente exterior.

As observações realizadas por meio das técnicas de condutividade, análise elementar e espectroscopia de absorção na região do infravermelho foram confirmadas mediante as estruturas de raios X dos complexos. Os complexos apresentaram estruturas octaédricas distorcidas. Os ligantes lap e lau se coordenaram de forma bidentada ao centro metálico, com o átomo de oxigênio da carbonila em posição *trans* ao átomo de fósforo e o átomo de oxigênio da hidroxila, *trans* ao átomo de nitrogênio dos ligantes bipyridínicos.

Na Figura 4.19 são apresentadas as estruturas cristalinas dos complexos.

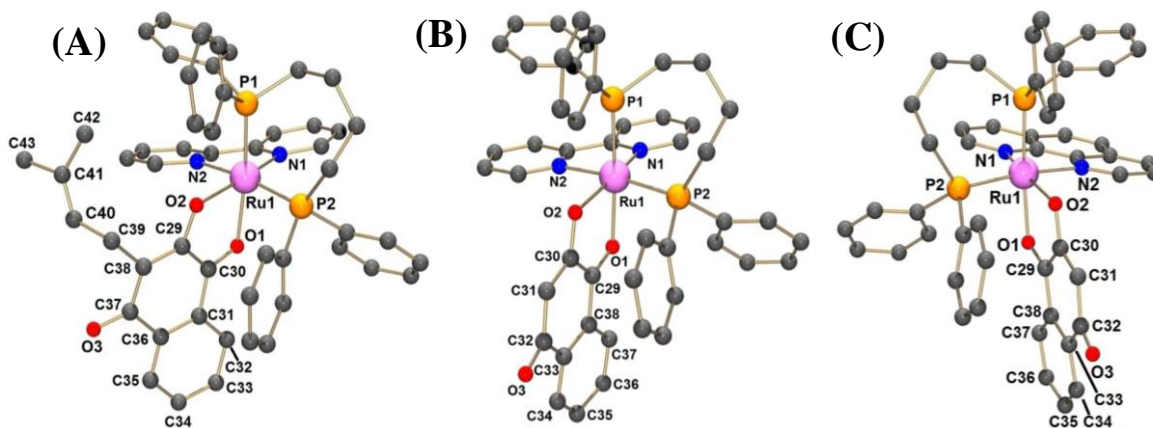


FIGURA 4.19 - Estruturas cristalinas dos complexos (A) $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, (B) $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e (C) $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$. Todos apresentam uma molécula de CH_2Cl_2 e o contra íon PF_6^- , que foram omitidas.

Os parâmetros cristalográficos de refinamento das estruturas estão apresentados no apêndice. Os dados de valores de distâncias [\AA] e ângulos [$^\circ$] de ligação para os complexos $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ são mostrados na Tabela 4.9.

TABELA 4.9 - Principais distâncias [Å] e ângulos [°] de ligação para o complexo precursor (1) *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)] e os complexos (2) [Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF₆ e (3) [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF₆

Ligações	(1)* [Å]	Ligações	(2) [Å]	Ligações	(3) [Å]
-	-	O1-C30	1,249	O1-C29	1,245
-	-	O2-C29	1,300	O2-C30	1,293
-	-	O3-C37	1,234	O3-C32	1,246
Ru-Cl1	2,484	Ru-O1	2,168	Ru-O1	2,161
Ru-Cl2	2,428	Ru-O2	2,088	Ru-O2	2,101
Ru-P1	2,279	Ru-P1	2,279	Ru-P1	2,294
Ru-P2	2,331	Ru-P2	2,308	Ru-P2	2,321
Ru-N1	2,088	Ru-N1	2,097	Ru-N1	2,070
Ru-N2	2,097	Ru-N2	2,077	Ru-N2	2,097
Ligações	(1)* [°]	Ligações	(2) [°]	Ligações	(3) [°]
Cl(1)-Ru-Cl(2)	91,8(1)	N(1)-Ru-O(2)	164,75(7)	N(1)-Ru-O(2)	165,16(11)
Cl(1)-Ru-P(2)	92,8(1)	O(2)-Ru-N(2)	87,84(7)	O(2)-Ru-N(2)	85,67(8)
Cl(1)-Ru-N(2)	81,3(2)	N(1)-Ru-O(1)	95,55(7)	N(1)-Ru-O(1)	94,49(10)
Cl(2)-Ru-P(2)	86,5(1)	O(2)-Ru-O(1)	76,49(6)	O(2)-Ru-O(1)	76,27(10)
Cl(2)-Ru-N(2)	166,6(2)	N(2)-Ru-O(1)	84,37(7)	N(2)-Ru-O(1)	85,63(11)
P(1)-Ru-N(1)	91,6(3)	N(1)-Ru-P(1)	89,95(6)	N(1)-Ru-P(1)	87,22(8)
P(2)-Ru-N(1)	174,3(3)	O(2)-Ru-P(1)	97,38(5)	O(2)-Ru-P(1)	101,46(7)
N(1)-Ru-N(2)	76,7(3)	O(1)-Ru-P(1)	173,53(4)	O(1)-Ru-P(1)	176,63(8)
-	-	N(2)-Ru-P(2)	171,28(6)	N(2)-Ru-P(2)	173,98(9)

*(QUEIROZ *et.al.*, 1998)

No complexo precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)] observa-se que as distâncias Ru-Cl2 *trans* N1 e Ru-Cl1 *trans* P1 são 2,428 e 2,484 Å, respectivamente. No complexo contendo o lap as distâncias Ru-O2 *trans* N1 e Ru-O1 *trans* P1 são 2,088 e 2,168 Å, respectivamente. Nota-se que com a substituição dos cloretos pelo lap ocorre uma diminuição nestes comprimentos de ligação, indicando o efeito retirador de densidade eletrônica do lap. O mesmo comportamento foi observado para os complexos [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF₆ e [Ru(lau)(dppb)(fen)]PF₆.

Na Figura 4.20 é observada a estrutura de raios X para os ligantes lap e lau, e na Tabela 4.10 são apresentadas as principais distâncias de ligação para os mesmos.

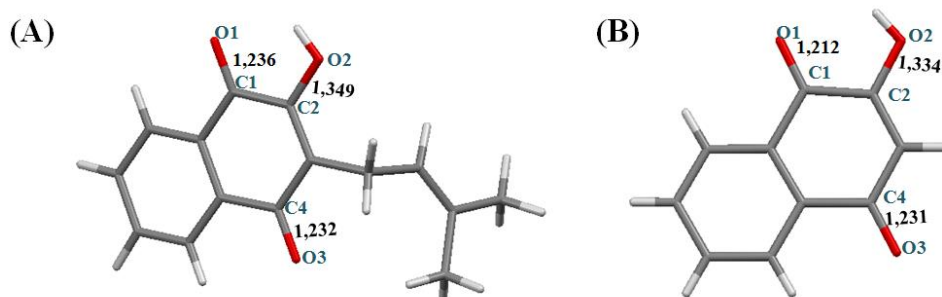


FIGURA 4.20 - Estrutura de raios X para o ligante (A) lap e (B) lau (LARSEN *et. al.*, 1992; TODKARY *et. al.*, 2006).

TABELA 4.10 - Principais distâncias de ligação [Å] para os ligantes lap e lau, e os complexos (1) [Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF₆, (2) [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF₆ e (3) [Ru(lau)(dppb)(fen)]PF₆

Ligações	Distâncias de ligação [Å]				
	lap	lau	(1)	(2)	(3)
C1=O1	1,236	1,212	1,249	1,245	1,253
C2–O2	1,349	1,334	1,300	1,293	1,296
C4=O3	1,232	1,231	1,234	1,246	1,233

De acordo com os dados da Tabela 4.10, verifica-se que após a coordenação pelos átomos de oxigênio O1 e O2 ocorreram variações nas distâncias de ligações quando comparado com os ligantes livres. Analisando a ligação C1=O1 do complexo [Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF₆, a distância de ligação C1=O1(1,249 Å) é mais curta se comparado a ligação C2–O2 (1,300 Å), sugerindo assim uma ligação com caráter de dupla mais forte e mais fraca doação para o metal. Isso é consistente com o fato de a ligação Ru–O1(2,168 Å) apresentar uma maior distância de ligação do que a ligação Ru–O2 (2,088 Å). Além disso, outro fator que deve ser levado em conta é que a ligação Ru–O1 esta *trans* ao átomo de fósforo da dppb, enquanto que a Ru–O2 esta *trans* ao

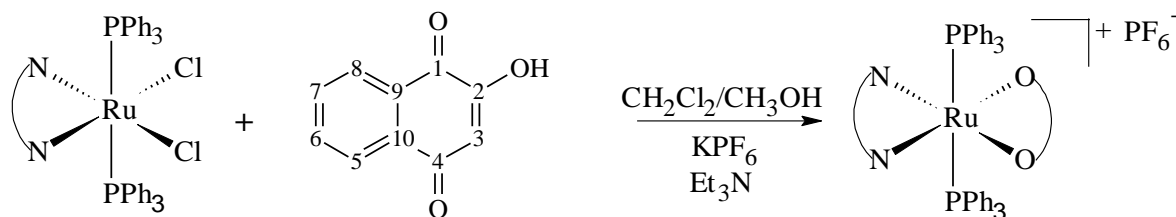
nitrogênio da bipy, e devido à influência *trans* do fósforo, a ligação Ru–O1 é mais longa do que a ligação Ru–O2.

Tal fato também é observado para outros complexos contendo lau reportados na literatura (HERNÁNDEZ-MOLINA *et. al.*, 2007, CARUSO *et. al.*, 2009). O mesmo comportamento foi observado para os complexos [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF₆ e [Ru(lau)(dppb)(fen)]PF₆.

4.2- Resultados e Discussão – SÉRIE 2

4.2.1- Síntese dos complexos de fórmula geral *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(N-N)]PF₆, onde N-N = bipy, mebipy, meobipy, fen e PPh₃ = trifenilfosfina

Os complexos da série 2 foram obtidos partindo-se de precursores do tipo *cis,trans*-[RuCl₂(PPh₃)₂(N-N)] pela substituição dos cloretos pela lau, variando os ligantes bipyridínicos. No Esquema 2 é mostrado a rota sintética empregada para obtenção desta série de complexos.



N-N = 2,2'-bipiridina, 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina, 4,4'-dimetoxi-2,2'-bipiridina e 1,10-fenantrolina

PPh₃ = trifenilfosfina

O-O = lausona

ESQUEMA 4.2 - Rota sintética empregada para obtenção dos complexos contendo lau do tipo *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(N-N)]PF₆.

4.2.1.1- Condutância molar e análise elementar

Os resultados de condutividade molar dos complexos foram obtidos em CH₂Cl₂ e indicaram que os complexos são eletrólitos 1:1 (faixa CH₂Cl₂ 1:1 = 12 – 77 ohm⁻¹ cm² mol⁻¹) (VELHO, 2006). De acordo com estes resultados verifica-se que os complexos apresentam o contra íon PF₆⁻, pois a lau esta coordenada de forma aniônica. Na Tabela 4.11 são apresentados os dados obtidos de condutividade molar para os complexos.

TABELA 4.11 - Dados de condutividade molar para os complexos da série 2 em CH₂Cl₂

COMPLEXOS	Branco (ohm ⁻¹ cm ² mol ⁻¹)	Condutividade (ohm ⁻¹ cm ² mol ⁻¹)
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (bipy)]PF ₆	0,044	33,96
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (mebipy)]PF ₆	0,078	40,20
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (meobipy)]PF ₆	0,057	31,60
<i>trans</i> - [Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (fen)]PF ₆	0,036	39,30

Os dados de análise elementar (Tabela 4.12) dos complexos estão de acordo com as composições esperadas, sendo que em alguns complexos são observadas moléculas de solventes.

TABELA 4.12 - Dados percentuais para os teores de C, H e N, teóricos e experimentais, para os complexos do tipo *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(N-N)]PF₆

COMPLEXOS	ANÁLISE ELEMENTAR		
	% C	% H	% N
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (bipy)]PF ₆ C ₅₆ H ₄₃ F ₆ N ₂ O ₃ P ₃ Ru .1/3 CH ₃ OH	(61,15) 60,92	(3,94) 4,02	(2,55) 2,52
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (mebipy)]PF ₆ C ₅₈ H ₄₇ F ₆ N ₂ O ₃ P ₃ Ru.1C ₄ H ₁₀ O	(61,76) 61,95	(4,20) 4,78	(2,48) 2,33
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (meobipy)]PF ₆ C ₅₈ H ₄₇ F ₆ N ₂ O ₃ P ₃ Ru	(60,05) 60,31	(4,08) 4,18	(2,41) 2,12
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (fen)]PF ₆ C ₅₇ H ₄₂ F ₆ N ₂ O ₃ P ₃ Ru	(60,05) 62,03	(3,86) 3,95	(2,49) 2,33

4.2.1.2- Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho para esta série de complexos apresentaram um comportamento semelhante aos da série 1. A partir dos espectros foi possível observar deslocamentos de bandas referentes aos ligantes devido à coordenação, e conseqüentemente mudança de densidade eletrônica das ligações. Na Figura 4.21 é apresentado o espectro de absorção na região do infravermelho para o complexo *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(bipy)]PF₆ e na Tabela 4.13 são observados os principais estiramentos para o ligante lau e o complexo *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(bipy)]PF₆.

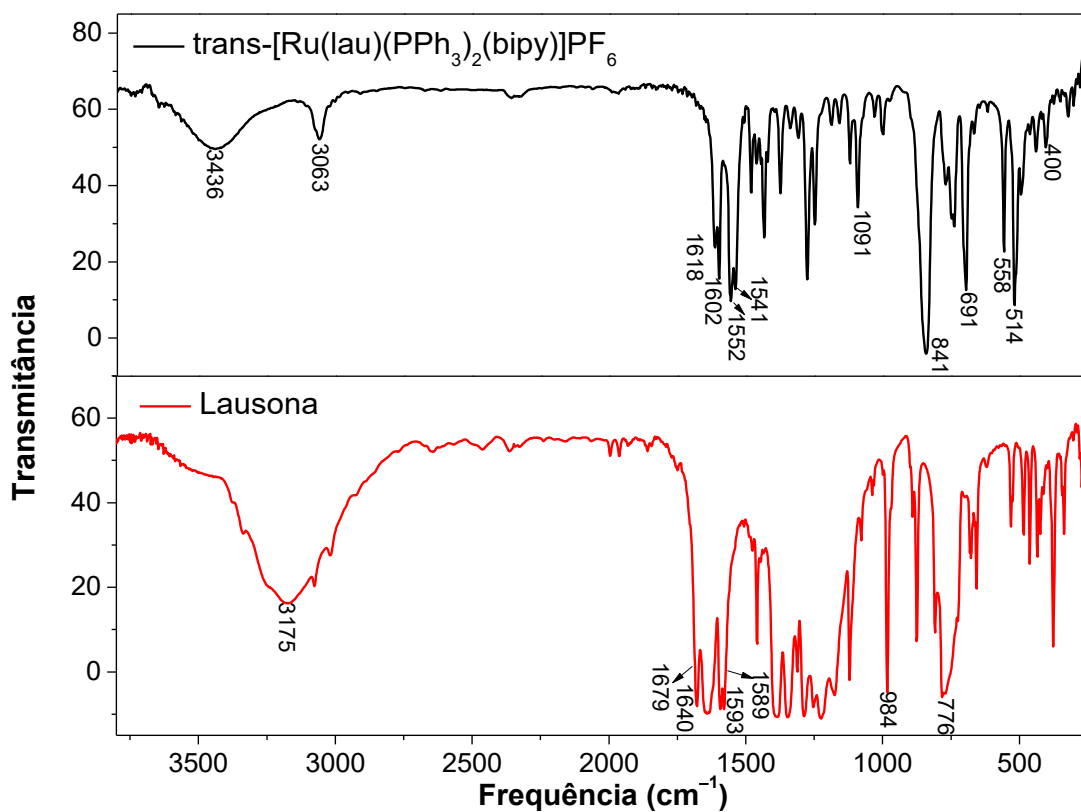


FIGURA 4.21 - Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(bipy)]PF₆, obtido em pastilhas de KBr.

TABELA 4.13 - Atribuições dos principais estiramentos observados para o ligante lau e o complexo *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(bipy)]PF₆

Atribuições	lau	<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (bipy)]PF ₆
$\nu(\text{C1}=\text{O1})$	1640	1602
$\nu(\text{C2}-\text{O2})$	982	1091
$\nu(\text{C4}=\text{O3})$	1679	1618

Com base na Figura 4.21 observa-se o desaparecimento da banda em 3175 cm⁻¹ referente ao estiramento $\nu(\text{O}-\text{H})$, tendo em vista a coordenação pelo oxigênio da hidroxila. Também na região de 1800 a 1700 cm⁻¹ o deslocamento do estiramento da carbonila $\nu(\text{C1}=\text{O1})$ que passou de 1640 cm⁻¹ para 1602 cm⁻¹, devido ao enfraquecimento da dupla ligação em decorrência da coordenação. A carbonila $\nu(\text{C4}=\text{O3})$ também se deslocou para regiões de menores frequências, passando de 1679 cm⁻¹ para 1618 cm⁻¹. A ligação C2–O2 que apresentava um estiramento em 982 cm⁻¹ no ligante livre deslocou-se para 1091 cm⁻¹, tendo em vista a ressonância existente entre as ligações C1=O1 e C2–O2. Em 841 e 558 cm⁻¹ são observadas bandas referentes ao contra-íon PF₆⁻. Em 691 cm⁻¹ é observada uma banda que pode ser atribuída à deformação do anel piridínico da bipy. Em 514 e 400 cm⁻¹ são observadas duas bandas que podem ser atribuídas à ligação $\nu(\text{Ru}-\text{O})$ e $\nu(\text{Ru}-\text{N})$, respectivamente (EL-HENDAWY, 1991; NAKAMOTO, 2009). O mesmo comportamento foi observado para os demais complexos da série e os respectivos espectros são apresentados no apêndice.

4.2.1.3- Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta e visível

Os espectros de absorção eletrônica dos complexos desta série também foram obtidos em DMSO, e na Figura 4.22 é mostrado o espectro do

complexo *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(bipy)]PF₆. Os espectros para os demais complexos são mostrados no apêndice.

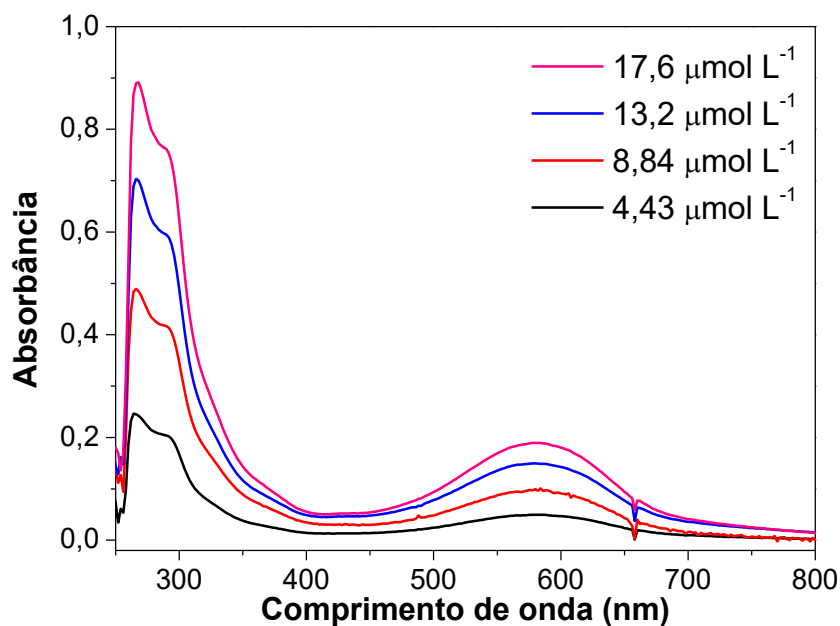


FIGURA 4.22 - Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para o complexo *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(bipy)]PF₆, em DMSO.

A banda observada em 290 nm pode ser atribuída a transições $\pi \rightarrow \pi^*$ dos ligantes fosfínicos, biperidínicos e da lau. Enquanto a banda em 580 nm pode ser atribuída a transições IL, MLCT, *d-d* e transições $n \rightarrow \pi^*$, características de complexos contendo quinonas, conforme discutido para os complexos da série 1. Os complexos desta série apresentaram uma coloração azul que pode ser relacionada com esta transição em torno de 580 nm. A banda observada em torno de 268 nm não foi atribuída, pois provavelmente trata-se de absorção do solvente.

Na Tabela 4.14 são apresentados os dados de absorvidade molar (ϵ) para os complexos, bem como uma tentativa de atribuição das bandas.

TABELA 4.14 - Dados de absorvidade molar (ϵ) e tentativa de atribuição das bandas

Complexos	λ (nm)	ϵ (mol ⁻¹ cm ⁻¹ L)	Transição
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (bipy)]PF ₆	290	ombro	$\pi \rightarrow \pi^*$
	580	11200	IL, MLCT, <i>d-d</i> e $n \rightarrow \pi^*_{(lau)}$
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (mebipy)]PF ₆	290	ombro	$\pi \rightarrow \pi^*$
	592	11500	IL, MLCT, <i>d-d</i> e $n \rightarrow \pi^*_{(lau)}$
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (meobipy)]PF ₆	287	ombro	$\pi \rightarrow \pi^*$
	604	10800	IL, MLCT, <i>d-d</i> e $n \rightarrow \pi^*_{(lau)}$
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (fen)]PF ₆	290	ombro	$\pi \rightarrow \pi^*$
	582	12100	IL, MLCT, <i>d-d</i> e $n \rightarrow \pi^*_{(lau)}$

4.2.1.4 - Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os espectros de RMN ³¹P{¹H} para os complexos desta série apresentaram um singlete em torno de 30 ppm, indicando a equivalência dos átomos de fósforo das PPh₃, os quais estão *trans* entre si. Os espectros de RMN ³¹P{¹H} dos precursores do tipo *cis,trans*-[RuCl₂(PPh₃)₂(N-N)]PF₆ apresentam singletos em torno de 20 ppm. Diante disso, pode-se inferir que a lau é um ligante retirador de densidade eletrônica, deixando o fósforo mais desblindado e conseqüentemente o deslocamento químico dos complexos desloca-se para regiões de maiores frequências. Na Figura 4.23 é mostrado o espectro de RMN ³¹P{¹H} do complexo *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(mebipy)]PF₆. Os espectros para os demais complexos da série são apresentados no apêndice.

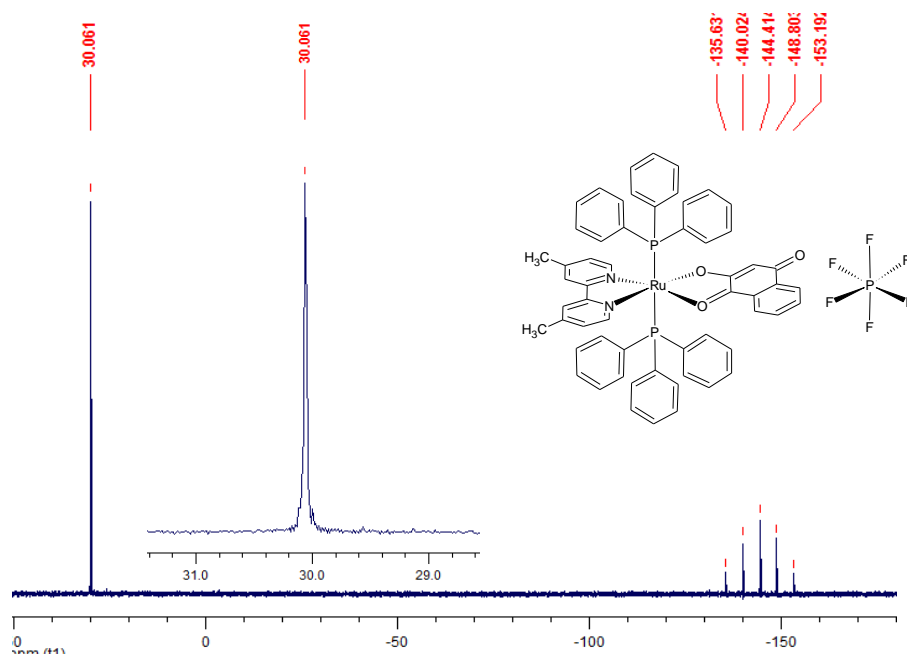


FIGURA 4.23 - Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(mebipy)]PF₆, em CH₂Cl₂/D₂O.

Na Tabela 4.15 são apresentados os deslocamentos químicos para os complexos desta série.

TABELA 4.15 - Dados de deslocamentos químico (δ) para os complexos da série 2 em CH₂Cl₂/D₂O

Complexo	δ (ppm)
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (bipy)]PF ₆	30,68
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (mebipy)]PF ₆	30,06
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (meobipy)]PF ₆	31,46
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (fen)]PF ₆	30,08

Na Figura 4.24 é apresentado o espectro de RMN ^1H do complexo *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(mebipy)]PF₆. Os espectros para os demais complexos são apresentados no apêndice.

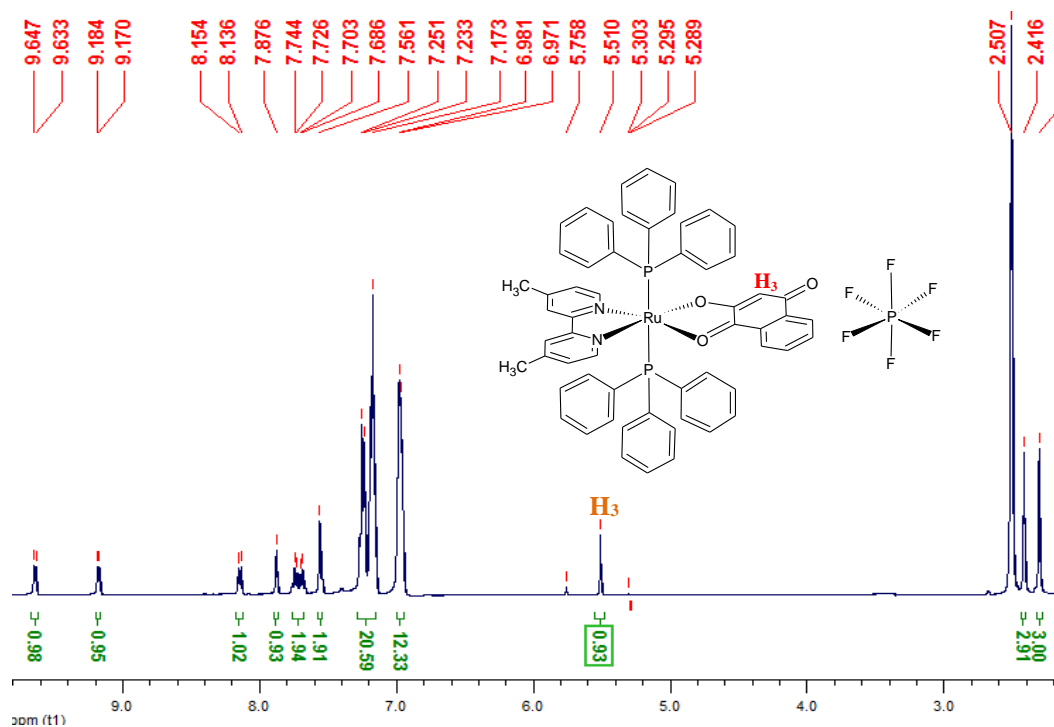


FIGURA 4.24 - Espectro de RMN ^1H do complexo $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{lau})(\text{PPh}_3)_2(\text{mebipy})]\text{PF}_6$, em DMSO-d_6 .

Com base no espectro de RMN ^1H do complexo $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{lau})(\text{PPh}_3)_2(\text{mebipy})]\text{PF}_6$ é possível identificar o sinal de H_3 referente ao hidrogênio do anel da lau em 5,30 ppm. O sinal referente ao hidrogênio da hidroxila não foi observado no espectro, indicando a coordenação pelo oxigênio. Os demais sinais da lau não foram identificados, visto que os mesmos encontram-se sobrepostos, devido à presença de vários anéis aromáticos no complexo. No entanto, as integrais estão de acordo com a estrutura proposta para o complexo. O mesmo perfil foi observado em todos os complexos da série.

Na Figura 4.25 é mostrado o espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{lau})(\text{PPh}_3)_2(\text{mebipy})]\text{PF}_6$ e na Tabela 4.16 estão listados os principais deslocamentos dos carbonos C1, C2 e C4 após a coordenação. Os espectros de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para os demais complexos da série encontram-se no apêndice.

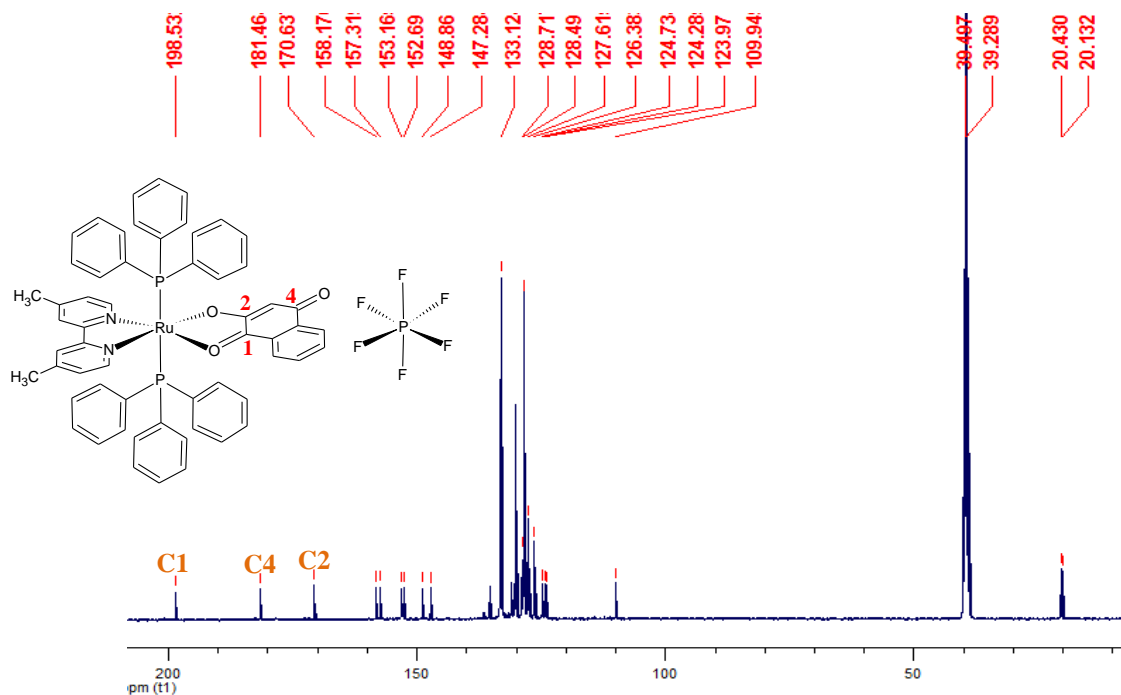


FIGURA 4.25 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(mebipy)]PF₆, em DMSO-d₆.

TABELA 4.16 - Deslocamentos químico (δ) de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do ligante lau e do complexo (1) *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(mebipy)]PF₆, em DMSO-d₆

Ligações	(δ) ppm	
	lau	(1)
C1=O1	181,19	198,53
C2=O2	159,56	170,66
C4=O3	184,55	181,46

No espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(mebipy)]PF₆ (Figura 4.25 e Tabela 4.16) foi possível observar um deslocamento dos sinais referentes aos carbonos C1 e C2, para a regiões de maiores frequências, devido à atração dos elétrons pelo metal, deixando os átomos de carbono C1 e C2 mais desblindados. No caso do carbono C4 foi observado um deslocamento para região de menor frequência devido a redistribuição eletrônica no anel por onde ocorre a coordenação, tornando o carbono C4 mais blindado.

4.2.1.5- Estudo eletroquímico

Os voltamogramas cíclicos dos complexos desta série apresentaram potencias de oxidação mais alto do que para os respectivos precursores, como também foi observado para os complexos da série 1.

Contudo, foi possível observar um deslocamento dos potenciais para regiões menos positivas, se comparados com os potenciais observados para os complexos da série 1, contendo a dppb. Os complexos contendo a PPh₃ possuem os centros metálicos mais ricos em elétrons, sugerindo uma estrutura contendo os ligantes fosfínicos em posição *trans*. Assim a forte competição pela densidade eletrônica do centro metálico no eixo de ligação das fosfinas (efeito *trans* competitivo) dificulta interações de retrodoação rutênio-fósforo, deixando o centro metálico mais rico em elétrons e facilitando o processo de oxidação do centro metálico.

Na Figura 4.26 é apresentado o voltamograma cíclico e de pulso diferencial para o complexo *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(mebipy)]PF₆. O processo de oxidação Ru^{III}/Ru^{II} foi observado em 1003 mV, diferentemente do precursor *cis,trans*-[RuCl₂(PPh₃)₂(mebipy)]PF₆ que apresenta um processo reversível em 310 mV.

Semelhante aos complexos da série 1, os voltamogramas obtidos para estes complexos apresentaram processos irreversíveis, os quais provavelmente refere-se a oxidação do ligante lau, causando uma modificação no complexo, gerando assim uma nova espécie.

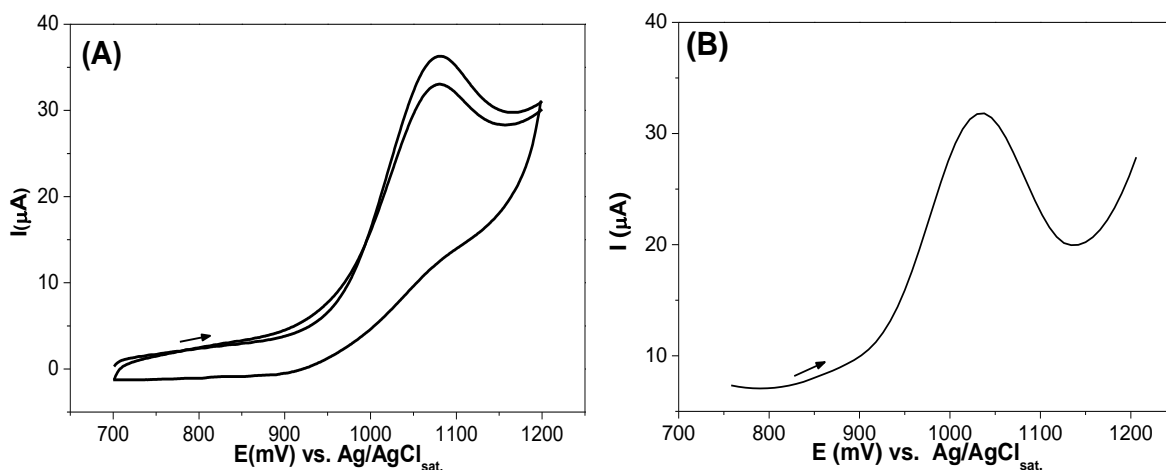


FIGURA 4.26 - (A) Voltamograma cíclico e (B) de pulso diferencial do *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(mebipy)]PF₆ em 0,1 mol L⁻¹ de PTBA, em meio de CH₂Cl₂.

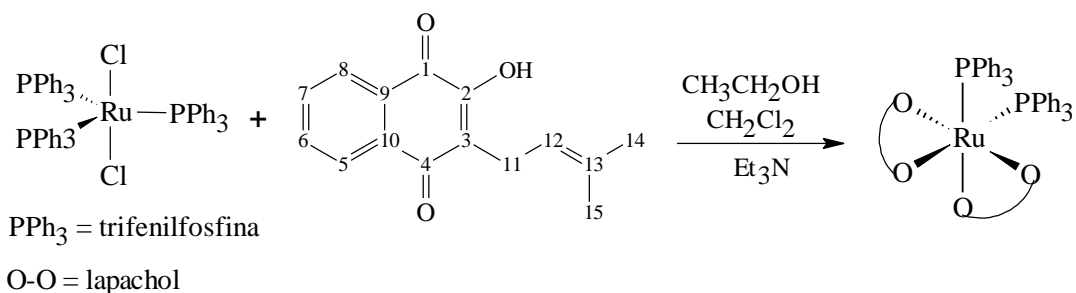
Na Tabela 4.17 são apresentados os valores de potenciais de oxidação Ru^{III}/Ru^{II} para os complexos da série 2.

TABELA 4.17 - Valores de potenciais de oxidação Ru^{III}/Ru^{II} para os complexos da série 2

COMPLEXOS	E _{ox.} (mV)
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (bipy)]PF ₆	1074
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (mebipy)]PF ₆	1003
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (meobipy)]PF ₆	948
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (fen)]PF ₆	1085

4.3- Resultados e Discussão para o complexo *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)]₂

Foi sintetizado um complexo contendo duas moléculas de lap, a partir do precursor [RuCl₂(PPh₃)₃], conforme descrito no Esquema 4.3.



ESQUEMA 4.3 - Rota sintética empregada para a obtenção do *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂].

Os dados de condutividade molar foram importantes para ajudar a elucidar a estrutura do complexo obtido. Sabendo que a coordenação de duas moléculas de lap levaria a um complexo neutro e a coordenação de uma molécula acarretaria em um complexo aniônico, os dados obtidos (Tabela 4.18) evidenciaram a formação de um complexo neutro, contendo duas moléculas de lap coordenadas.

TABELA 4.18 - Dados de condutividade molar para o *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂] em CH₂Cl₂

Medidas	Condutividade molar (ohm ⁻¹ cm ² mol ⁻¹)
1	0,232
2	0,244
3	0,239
Branco	0,034

Faixa para CH₂Cl₂ de eletrólito 1:1 = 12-77 ohm⁻¹ cm² mol⁻¹

Os dados de análise elementar do complexo *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂] (Tabela 4.19) estão de acordo com a composição esperada, sendo observado a presença de uma molécula de etanol.

TABELA 4.19 - Dados percentuais para os teores de C e N, teóricos e experimentais para o complexo *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂]

Resultado	% C	% H
<i>cis</i> -[Ru(PPh ₃) ₂ (lap) ₂] · 1C ₂ H ₆ O	70,76*	5,41*
C ₆₆ H ₅₆ O ₆ P ₂ Ru	70,42	5,06

* Valores teóricos

Os dados de infravermelho também foram muito importantes para comprovar a coordenação de duas moléculas de lap. A partir do espectro de infravermelho foi possível observar a duplicação das bandas referentes aos estiramentos das carbonilas da molécula de lap. Na Figura 4.27 é apresentado o espectro de infravermelho do complexo juntamente com o do lap.

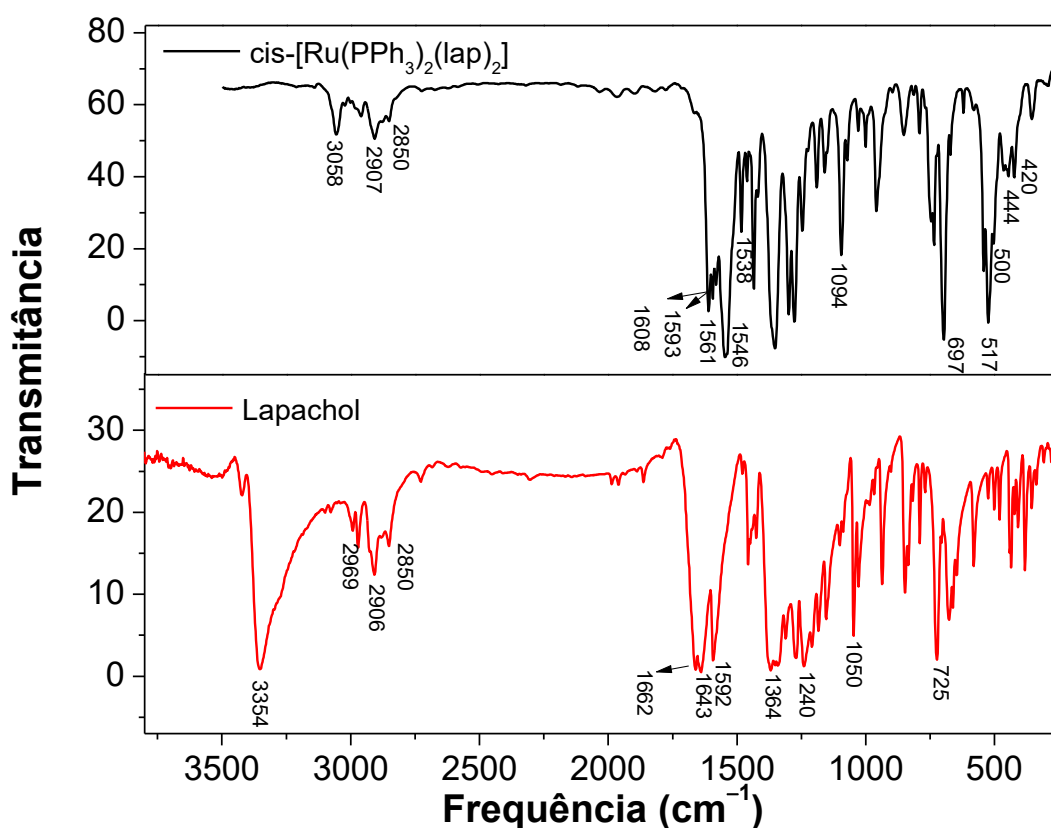


FIGURA 4.27 - Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂]PF₆ e do lap, obtidos em pastilha de KBr.

De acordo com o espectro da Figura 4.27 observa-se a ausência da banda em 3354 cm⁻¹ referente ao estiramento O–H do lap, indicando a sua

coordenação. Ainda nessa região são observadas bandas em 3058, 2907 e 2850 cm^{-1} que referem-se a estiramentos dos grupos C–H aromáticos e alifáticos.

Na região entre 1700 a 1500 cm^{-1} observam-se estiramentos referentes às carbonilas (C1=O1) (ombro em 1561 e 1546 cm^{-1}). Vale ressaltar que estes estiramentos se deslocaram para regiões de menores frequências com relação ao lap livre (1643 cm^{-1}) o que está relacionado ao enfraquecimento do caráter de ligação dupla após a coordenação do oxigênio pelo metal. A banda referente ao estiramento C4=O3 também sofreu deslocamento para a região de menor energia (1608 e 1593 cm^{-1}). Em 1094 cm^{-1} é observada uma banda referente ao estiramento da ligação C2–O2, a qual sofreu um deslocamento para a região de maior frequência em virtude da coordenação do oxigênio pelo metal. Na região entre 900-600 cm^{-1} estão compreendidas as vibrações de deformação angular fora do plano $\delta_{(\text{C-H})}$ para compostos aromáticos. As bandas que aparecem na região de 550-500 cm^{-1} são referentes às ligações P–Ph. As bandas observadas em 444 e 420 cm^{-1} podem ser atribuídas às ligações Ru–O (NAKAMOTO, 2009).

Na Figura 4.28 encontra-se o espectro eletrônico do complexo *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂], obtido em DMSO, cuja solução é de cor azul.

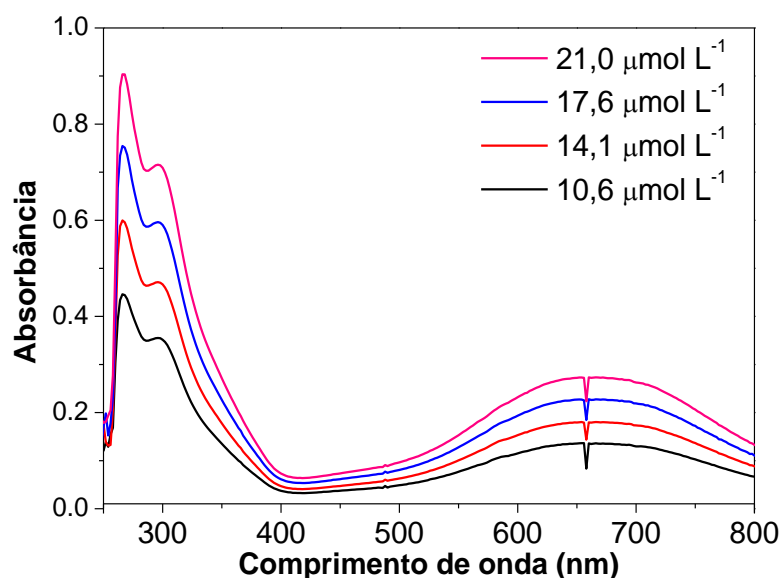


FIGURA 4.28 - Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂], em DMSO.

A banda observada em 297 nm ($\epsilon = 34500 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}\text{L}$) pode ser atribuída às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ dos ligantes fosfínicos e do lap. A banda em 665 nm ($\epsilon = 13100 \text{ mol}^{-1}\text{cm}^{-1}\text{L}$) pode ser atribuída como transições $n \rightarrow \pi^*$ características de complexos contendo quinonas, bem como transições Π , MLCT e $d-d$. Esta banda em 665 nm é responsável pela coloração azul observada para o complexo.

Na Figura 4.29 é mostrado o espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o complexo *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂], o qual apresentou dois dubletos em δ 54,6 e 47,7 ppm ($^2J = 34,3 \text{ Hz}$) (Figura 2). A partir deste resultado pode-se supor a coordenação de duas moléculas de lap e as PPh₃ em posição *cis*.

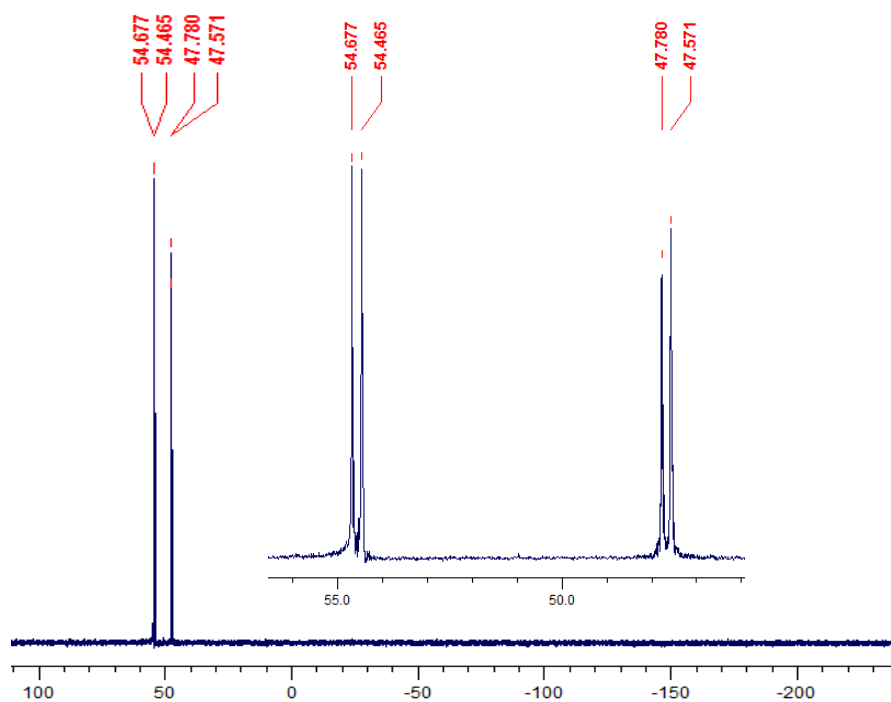


FIGURA 4.29 - Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂], em CH₂Cl₂/D₂O.

Na Figura 4.30 é mostrado o espectro de RMN ^1H do *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂] em CDCl₃-d₆.

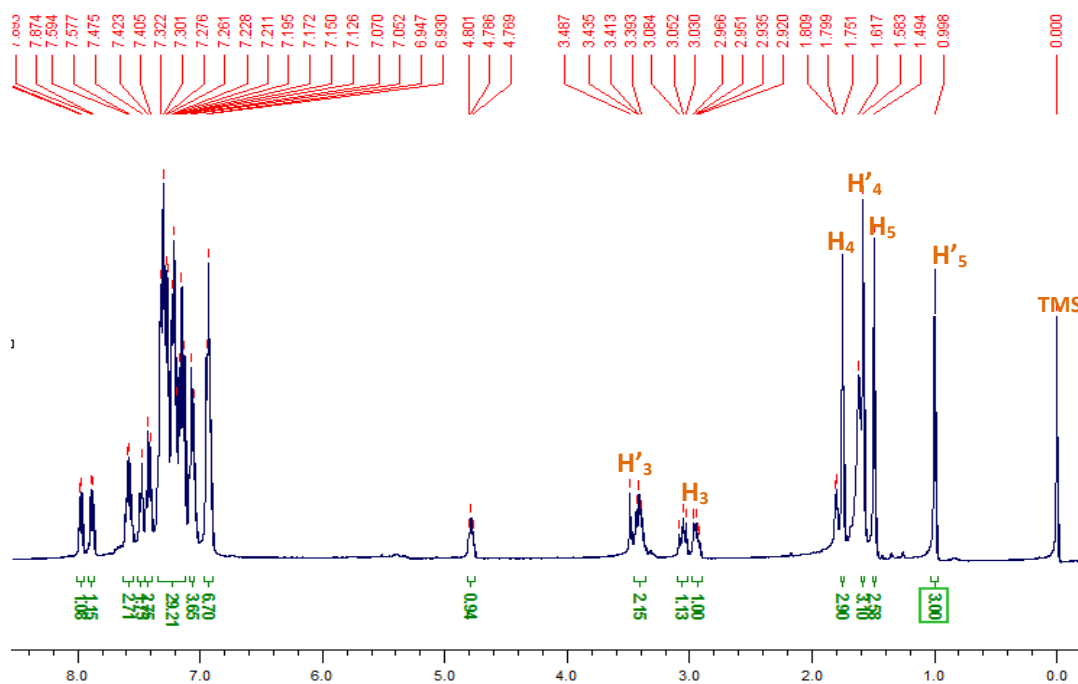


FIGURA 4.30 - Espectro de RMN ^1H para o complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{lap})_2]$, em $\text{CDCl}_3\text{-d}_6$ com atribuição dos principais sinais referentes as moléculas de lap.

Os sinais de hidrogênio no espectro do complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{lap})_2]$ sofreram significativas mudanças em relação aos sinais do lap livre. Houve duplicação dos sinais referentes às metilas do lap, como pode ser observado no espectro da Figura 4.30. Não foi possível a atribuição de todos os sinais, principalmente na região dos aromáticos, devido à presença de vários anéis aromáticos no complexo.

Da mesma forma, no RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ houve duplicação dos sinais dos carbonos do lap, e os carbonos $\text{C1}=\text{O1}$, $\text{C2}-\text{O2}$ e $\text{C4}=\text{O3}$ sofreram significativos deslocamentos no complexo, sugerindo coordenação pela carbonila $\text{C1}=\text{O1}$ e pelo oxigênio da hidroxila $\text{C2}-\text{O2}$. O espectro de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{lap})_2]$ é apresentado na Figura 4.31 e na Tabela 4.20 encontram-se as atribuições dos principais sinais encontrados no espectro.

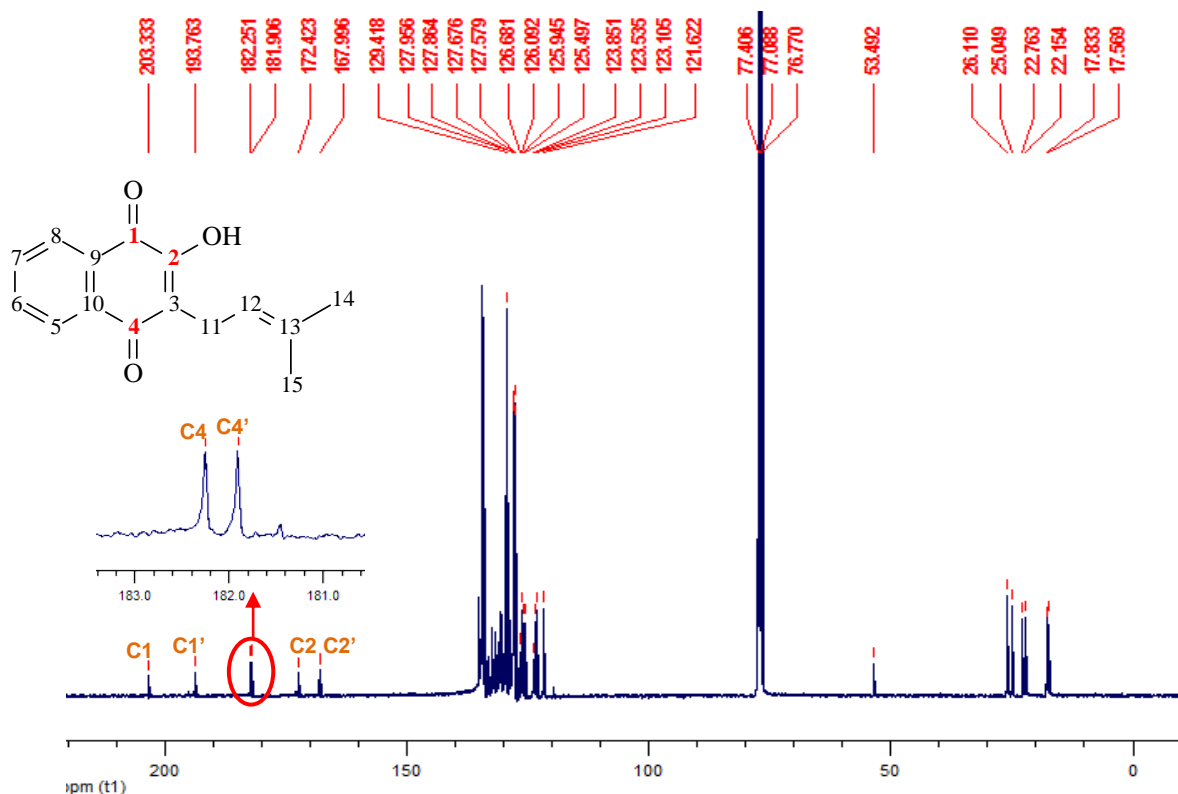


FIGURA 4.31 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{lap})_2]$, em $\text{CDCl}_3\text{-d}_6$.

TABELA 4.20 - Deslocamentos químicos (δ) de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o ligante lap e o complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{lap})_2]$, em $\text{CDCl}_3\text{-d}_6$

Ligações	(δ) ppm	
	lap	$\text{cis-}[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{lap})_2]$
C1=O1	181,05	203,33 e 193,76
C2=O2	155,02	172,42 e 167,99
C4=O3	184,16	182,25 e 181,91

O deslocamento para regiões de maiores frequências observado para os carbonos C2 e C1 se deve a diminuição de densidade eletrônica nos carbonos C1 e C2, deixando os mesmos mais desblindados. O deslocamento para maiores frequências do sinal do C4 se deve à redistribuição de densidade eletrônica do anel após a coordenação do lap (KANDIOLLER *et. al.*, 2013).

Na Figura 4.32 é apresentado o voltamograma cíclico e de pulso diferencial para o complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{lap})_2]$ em CH_2Cl_2 . No voltamograma

cíclico é observado um processo de oxidação $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$ em 783 mV e um processo de redução $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$ em 548 mV, com um potencial de meia onda ($E_{1/2}$) para o par redox ($\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$) de 621 mV e $I_{\text{pa}}/I_{\text{pc}} = 1,05$, indicando um processo reversível.

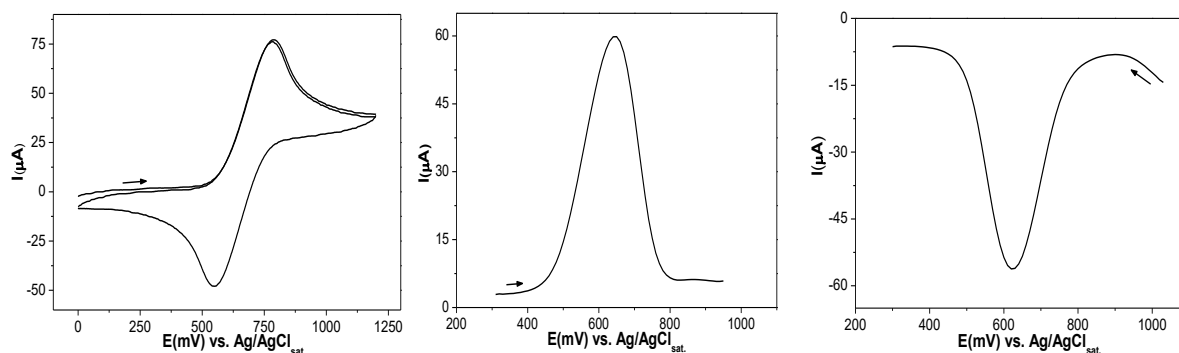


FIGURA 4.32 - Voltamograma cíclico e de pulso diferencial do complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{lap})_2]$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA, em CH_2Cl_2 .

A partir da estrutura cristalográfica do complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{lap})_2]$ mostrada na Figura 4.33, pode-se comprovar a coordenação de duas moléculas de lap, com as PPh_3 em *cis*. De acordo com a estrutura de raios X, verifica-se que um átomo de fósforo se encontra *trans* a um átomo de oxigênio da carbonila e o outro *trans* ao átomo de oxigênio da hidroxila do lap, o que justifica os dois dubletos apresentados no RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. Observa-se ainda que a ligação $\text{C1}=\text{O1}$ apresenta caráter de ligação dupla ($1,257 \text{ \AA}$) e a ligação $\text{C2}-\text{O2}$ apresenta caráter de ligação simples ($1,309 \text{ \AA}$).

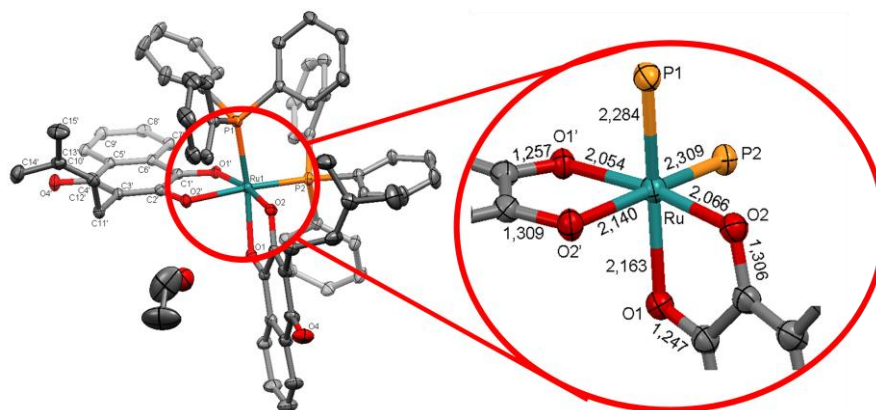


FIGURA 4.33 - Estrutura cristalina do $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(\text{lap})_2]$ com uma molécula de etanol como solvato.

4.4- Avaliação da interação dos complexos com o DNA

Sabe-se que determinar com certeza o mecanismo de ação de um fármaco é uma tarefa muito complexa, tendo em vista que não se sabe como será o comportamento do mesmo no organismo. Pode ser que ocorra a perda de algum ligante no meio biológico ou ainda que o fármaco interaja com alguma biomolécula, a qual poderá ser carreadora do mesmo até o local de interesse, ou ainda a interação com esta biomolécula pode acarretar algum dano à célula e impedir sua replicação. Assim, diversos mecanismos podem ocorrer simultaneamente. Um estudo que pode ser realizado é avaliar a interação dos complexos com biomoléculas, como por exemplo, o DNA. É relatado que o possível mecanismo de ação do cisplatina (fármaco inorgânico utilizado no tratamento de câncer) seja pela interação com as bases nitrogenadas do DNA, impedindo o mesmo de se replicar. Diante disso, neste trabalho foi realizado um estudo para avaliar o comportamento dos complexos sintetizados frente ao DNA.

A espectroscopia de absorção na região do UV-vis é amplamente empregada para estudos de interação de moléculas como o DNA. De acordo com este estudo é possível determinar a afinidade que os complexos apresentam para interagir com o DNA, por meio da determinação da constante de ligação (K_b) entre o complexo e o DNA. Esta constante foi determinada com base nos máximos de absorção para cada complexo, empregando a seguinte equação:

$$\frac{[\text{DNA}]}{(\varepsilon_a - \varepsilon_f)} = \frac{[\text{DNA}]}{(\varepsilon_b - \varepsilon_f)} + \frac{1}{[K_b(\varepsilon_b - \varepsilon_f)]}$$

Onde: ε_a = é o coeficiente de extinção aparente, que corresponde à razão entre a absorvância medida e a concentração do complexo ($A_{\text{observada}}/[\text{Complexo}]$); ε_f = absorvância molar do complexo livre (sem adição de DNA); ε_b = absorvância

molar do complexo ligado ao DNA; K_b = constante de ligação (WOLFE, 1987). A determinação das constantes foi efetuada com base nos máximos de absorção em torno de 298 nm.

Na Figura 4.34 são ilustradas as variações nos espectros eletrônicos dos complexos $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, da série 1. O espectro inicial (vermelho) corresponde ao complexo livre (na ausência de DNA), enquanto as demais curvas foram obtidas após adições sucessivas de DNA-ct a solução do complexo.

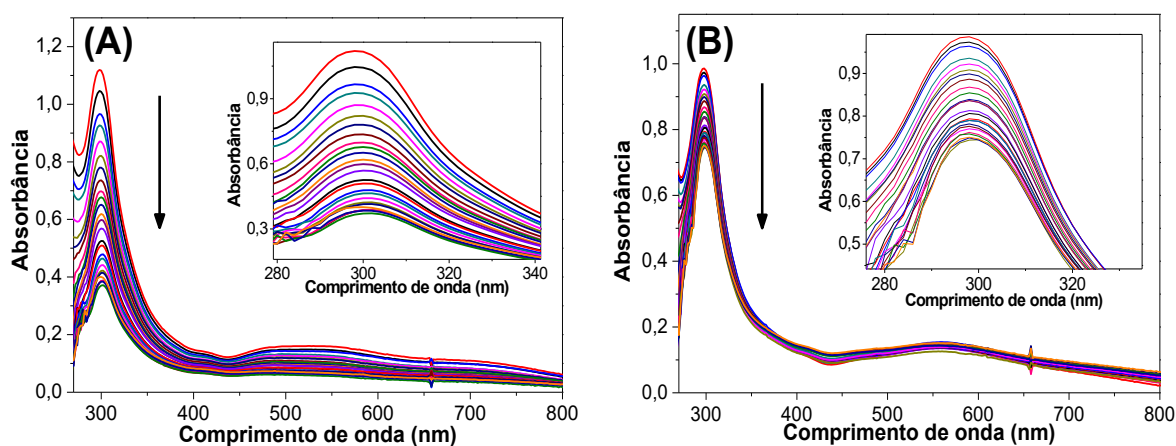


FIGURA 4.34 - Espectros de titulações espectroscópicas dos complexos da série 1 com o DNA. (A) $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e (B) $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, nas concentrações de 4×10^{-5} e $3,5 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} , respectivamente, $[\text{DNA}] = 4,48 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} , em pH 7,4.

Observa-se na Figura 4.34 que a adição de DNA à solução contendo os complexos provoca um hipocromismo (diminuição do coeficiente de extinção molar do complexo) nas bandas dos espectros à medida que são adicionadas pequenas quantidades de ct-DNA, sem alteração significativa nos valores de $\lambda_{\text{máx}}$. A partir das titulações espectrofotométricas determinou-se os valores de K_b para os complexos da série 1, e os resultados são apresentados na Tabela 4.21.

TABELA 4.21 - Resultados obtidos para as constantes de interação com o DNA

COMPLEXO	K_b (L mol ⁻¹)	% Hip.	λ_{max} .
[Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆	$(4,50 \pm 0,50) \times 10^2$	26,43	298/2 nm
[Ru(lap)(dppb)(mebipy)]PF ₆	$(1,17 \pm 0,23) \times 10^3$	49,27	298/2 nm
[Ru(lap)(dppb)(fen)]PF ₆	$(1,15 \pm 0,50) \times 10^3$	29,82	298 nm
[Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆	$(5,61 \pm 1,75) \times 10^3$	1,53	298 nm
[Ru(lau)(dppb)(mebipy)]PF ₆	$(2,68 \pm 0,18) \times 10^3$	9,45	297/2 nm
[Ru(lau)(dppb)(fen)]PF ₆	$(2,44 \pm 0,63) \times 10^3$	7,00	298 nm

Os valores de K_b obtidos são menores do que aqueles obtidos para complexos de rutênio testados em condições semelhantes, com capacidade de intercalação com o DNA. Estes complexos apresentaram constantes da ordem de 10^4 - 10^5 : [Ru(tpy)(dppt)]²⁺ ($K_b = 2,49 \times 10^4$ M⁻¹), [Ru(tpy)(pta)]²⁺ ($K_b = 9,51 \times 10^4$ M⁻¹) e [Ru(tpy)(ptp)]²⁺ ($1,62 \times 10^5$ M⁻¹) (onde tpy = 2,2':6',2"-terpiridina, dppt = 3-(1,10-fenantrolina-2-il)-as-triazina, pta = 3-(1,10-fenantrolina-2-il)-as-triazino[5,6-f]acenaftileno e ptp = 3-(1,10-fenantrolina-2-il)-as-triazino[5,6-f]fenantreno) (CHAO *et. al.*, 2002). Isso indica que os complexos da série 1 apresentam uma fraca interação com o DNA.

O mesmo estudo foi realizado para os complexos da série 2 e para o complexo *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂], no entanto não foi observada nenhuma interação com o DNA, por meio desta técnica. Em outras palavras, a variação espectral observada não provém da interação com o DNA e sim é apenas efeito de diluição.

4.5- Avaliação da interação dos complexos com a BSA

Sabe-se que muitos metalofármacos são chamados de “pró-drogas”, pois seus ligantes podem ser substituídos por outros presentes no meio biológico, em processos de hidrólise ou reações com biomoléculas presentes no

sangue ou no interior da célula, ou ainda sofrer reações de oxido-redução antes de alcançar o alvo biológico. Diante disso, quando se busca novos candidatos a fármacos é essencial buscar entender como será o comportamento dos complexos no organismo.

Embora o DNA seja o alvo biológico mais estudado, existem evidências químicas e bioquímicas do envolvimento de outros alvos. Tendo em vista que a administração intravenosa do fármaco deve seguir um longo caminho até alcançar a célula cancerosa, a sua interação com possíveis alvos biológicos presentes no plasma sanguíneo, na membrana celular ou no citoplasma precisam ser avaliados. Dentre as biomoléculas que podem ser alvos destaca-se a albumina.

A albumina é a proteína mais abundante no plasma sanguíneo, apresentando uma importância muito grande, pois participa de várias funções fisiológicas, como a regulação da pressão osmótica sanguínea e manutenção do pH do sangue. Outra propriedade interessante desta proteína é a capacidade que ela apresenta de ligar-se a uma grande variedade de moléculas. A HSA (Albumina Soro Humana) realiza o transporte e distribuição de várias substâncias endógenas e exógenas como hormônios, aminoácidos, íons metálicos e fármacos (HE e CARTER, 1992). A HSA é a principal transportadora de ácidos graxos que são insolúveis no plasma sanguíneo, além de desempenhar funções como o sequestro de radicais livres de oxigênio e a inativação de vários metabólitos tóxicos lipofílicos como a bilirrubina (CURRY *et. al.*, 1999).

A BSA (Albumina Soro Bovina) é empregada como proteína modelo em sistemas biomiméticos, pois é a proteína mais abundante no sangue bovino (concentração típica de 50 mg/mL) e possui uma estrutura muito similar à estrutura da HSA, apresentando uma percentagem de sequências idênticas de aminoácidos de 76%.

A BSA é uma cadeia polipeptídica simples de 583 resíduos de aminoácidos que são divididos em 3 domínios homólogos I, II e III. A BSA apresenta 2 resíduos de triptofano Trp-134 e Trp-212, localizados no subdomínio IB e IIA, respectivamente. O Trp-134 é localizado em uma região hidrofílica, próximo à superfície da BSA, enquanto o Trp-212 está localizado em um ambiente hidrofóbico, dentro de uma região protéica. Em solução a BSA exibe um forte sinal de fluorescência devido aos resíduos de triptofano, com um máximo em 340 nm quando excitada em 280 nm (KANDAGAL *et. al.*, 2006).

Diversos estudos têm sido realizados com a finalidade de investigar as interações da albumina com diferentes complexos metálicos (GANESHPANDIAN *et. al.*, 2014; MORAIS *et. al.*, 2014).

Neste contexto, os complexos sintetizados foram avaliados quanto à interação com a BSA em diferentes temperaturas. Para isso o espectro de fluorescência da BSA foi obtido na presença de diferentes quantidades dos complexos, numa faixa de 300 a 460 nm sobre uma excitação em 280 nm.

Na Figura 4.35 é observado o espectro de fluorescência da BSA na presença do complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, onde observa-se a diminuição na intensidade de fluorescência a partir da adição do complexo, indicando interação com a BSA.

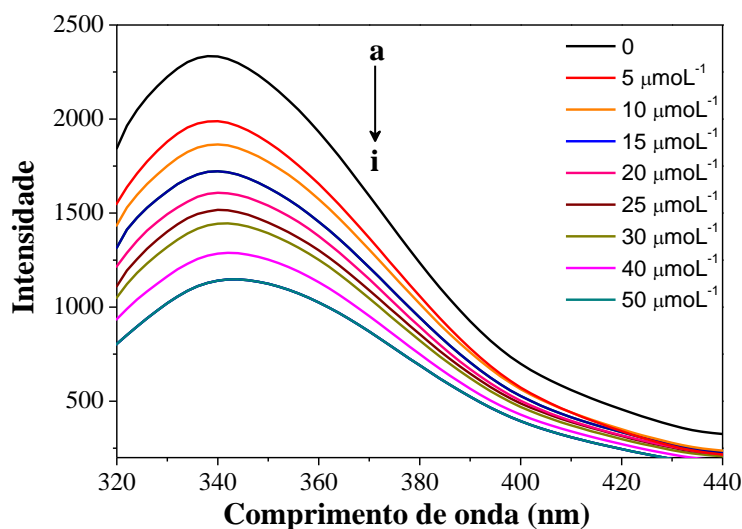


FIGURA 4.35 - Espectro de emissão da BSA em concentrações crescentes do complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$. Concentração da BSA = $2,5 \mu\text{mol L}^{-1}$, $\lambda_{\text{ex.}} = 280 \text{ nm}$, pH = 7,4 e T = 310 K.

Uma análise quantitativa do processo de supressão de fluorescência da BSA pode ser realizada empregando a equação de Stern-Volmer:

$$F_0/F = 1 + K_{sv}[Q] = 1 + k_q t_0 [Q]$$

Onde F_0 equivale à intensidade de fluorescência na ausência do complexo; F é a intensidade de fluorescência na presença do complexo; $[Q]$ é a concentração do complexo e K_{sv} é a constante de Stern-Volmer, k_q é a constante de velocidade de supressão biomolecular, t_0 é o tempo médio de vida de fluorescência da BSA sem o complexo (WANG *et. al.*, 2007). A constante K_{sv} é obtida por meio de um gráfico de F_0/F versus $[Q]$ e a constante k_q é obtida pela razão entre K_{sv} e t_0 ($6,2 \times 10^{-9}$ s).

A supressão da fluorescência refere-se a vários processos que diminuem a intensidade da fluorescência em uma amostra. Essa supressão pode ser classificada como dinâmica ou estática. Uma supressão dinâmica resulta da colisão entre o fluoróforo e o supressor, já a estática é devido à formação do complexo com estado de menor energia entre o fluoróforo e o supressor. Em geral, podem-se distinguir os supressores dinâmicos e estáticos pela diferente dependência da temperatura e da viscosidade. Uma supressão dinâmica depende da difusão, assim altas temperaturas resultam em um coeficiente de difusão alto, e conseqüentemente as constantes de supressão devem aumentar com o aumento da temperatura. Em contrapartida, na supressão estática um aumento da temperatura resulta em valores baixos das constantes de supressão (GANESHPANDIAN *et. al.*, 2014). Dessa forma o espectro de fluorescência da BSA foi registrado em duas temperaturas para determinar se o mecanismo de interação é estático ou dinâmico.

Nas Tabelas 4.22 e 4.23 são apresentados os valores das constantes de Stern-Volmer K_{sv} , assim como a constante velocidade de supressão biomolecular (k_q), calculadas levando em consideração o tempo de vida no estado excitado da BSA ($t_0 = 6,2 \times 10^{-9}$ s).

TABELA 4.22 - Resultados obtidos para K_{sv} , k_q , n e K_b para os complexos da série 1 e ligantes lap e lau

Complexos	T (K)	$K_{sv} \times 10^4$ (M^{-1})	$k_q \times 10^{12}$ ($M^{-1} s^{-1}$)	n	$K_b \times 10^4$ (M^{-1})
[Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆	295	(3,74 ± 0,15)	6,03	1,12	(1,20 ± 0,41)
	310	(3,55 ± 0,20)	5,72	1,12	(1,12 ± 0,15)
[Ru(lap)(dppb)(mebipy)]PF ₆	295	(2,35 ± 0,31)	3,79	0,89	(2,10 ± 0,07)
	310	(2,22 ± 0,25)	3,58	0,94	(1,09 ± 0,19)
[Ru(lap)(dppb)(fen)]PF ₆	295	(3,36 ± 0,49)	5,42	0,98	(3,20 ± 0,29)
	310	(3,28 ± 0,42)	5,29	1,00	(3,05 ± 0,54)
[Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆	295	(2,90 ± 0,07)	4,68	0,97	(2,21 ± 0,69)
	310	(2,86 ± 0,05)	4,61	0,97	(2,11 ± 0,77)
[Ru(lau)(dppb)(mebipy)]PF ₆	295	(2,09 ± 0,44)	3,37	0,89	(1,39 ± 0,52)
	310	(1,93 ± 0,35)	3,11	0,90	(1,28 ± 0,20)
[Ru(lau)(dppb)(fen)]PF ₆	295	(3,76 ± 0,13)	6,06	1,14	(5,70 ± 0,16)
	310	(3,72 ± 0,06)	6,00	1,14	(4,88 ± 0,51)
lap	295	(7,69 ± 0,22)	12,4	0,75	(7,31 ± 0,38)
	310	(7,37 ± 0,10)	11,9	0,76	(7,90 ± 0,53)
lau	295	(4,23 ± 0,06)	6,82	1,21	(4,58 ± 0,65)
	310	(4,17 ± 0,08)	6,72	1,27	(5,30 ± 0,18)

TABELA 4.23 - Resultados obtidos para K_{sv} , k_q , n e K_b para os complexos da série 2

Complexos	T (K)	$K_{sv} \times 10^4$ (M^{-1})	$k_q \times 10^{12}$ ($M^{-1} s^{-1}$)	n	K_b (M^{-1})
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (bipy)]PF ₆	295	(5,64 ± 0,39)	9,10	0,94	(5,91 ± 0,59) × 10 ⁴
	310	(5,33 ± 0,46)	8,60	1,02	(5,19 ± 0,87) × 10 ⁴
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (mebipy)]PF ₆	295	(2,10 ± 0,32)	3,39	0,74	(3,35 ± 0,09) × 10 ³
	310	(1,90 ± 0,22)	3,06	0,77	(3,92 ± 0,12) × 10 ³
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (meobipy)]PF ₆	295	(2,24 ± 0,04)	3,61	1,19	(1,27 ± 0,37) × 10 ⁵
	310	(2,12 ± 0,04)	3,42	1,51	(1,58 ± 0,40) × 10 ⁵
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (fen)]PF ₆	295	(2,06 ± 0,21)	3,32	0,71	(1,79 ± 0,08) × 10 ³
	310	(1,93 ± 0,17)	3,11	0,73	(1,38 ± 0,02) × 10 ³
<i>cis</i> -[Ru(PPh ₃) ₂ (lap) ₂]	295	(4,34 ± 0,06)	7,00	1,10	(1,73 ± 0,12) × 10 ⁵
	310	(4,25 ± 0,05)	6,85	1,11	(2,19 ± 0,50) × 10 ⁵

De acordo com os valores obtidos para K_{sv} e k_q observa-se uma diminuição das constantes com o aumento da temperatura, o que é observado em casos de mecanismo estático. Além disso, verifica-se que os resultados obtidos para k_q são maiores do que o valor máximo possível para o mecanismo dinâmico ($2,0 \times 10^{10} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$), podendo sugerir desta forma que a supressão da BSA

não ocorre por uma colisão dinâmica, e sim pela formação de uma espécie intermediária.

Considerando então que a supressão da fluorescência da BSA ocorre pelo modo estático, ou seja, pela formação de uma espécie intermediária, o equilíbrio entre os reagentes (BSA e complexo) e o produto (BSA:complexo) pode ser representado em função da intensidade da fluorescência e desta forma os parâmetros de ligação podem ser determinados pela seguinte equação:

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

Onde K_b é a constante de ligação entre o complexo e a BSA, n é o número de sítios de ligação por molécula de BSA. A constante K_b é obtida a partir do coeficiente linear da reta obtida por meio do gráfico de $\log(F_0 - F)/F$ versus $\log[Q]$. O número de sítios de ligação do complexo (n) também pode ser calculado a partir do coeficiente angular desta mesma equação da reta (TABASSUM *et. al.*, 2012).

Nas Tabelas 4.22 e 4.23 também são apresentados os resultados obtidos para a constante de ligação K_b e n para os complexos sintetizados e para os ligantes livres lap e lau.

De acordo com os dados da Tabela 4.22, observa-se uma fraca interação dos complexos com a BSA, tendo em vista que K_b é da ordem de 10^4 . No caso dos complexos da série 2 (Tabela 4.23) foi observada uma maior interação com a BSA para o complexo *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(meobipy)]PF₆, o qual apresentou K_b da ordem de 10^5 .

É desejado que ocorra interação entre os complexos e a BSA, mas que esta seja fraca a ponto de que o complexo seja liberado para atingir o alvo desejado. Caso a interação for muito forte, o complexo não atingirá o alvo e ficará ligado à albumina.

A fim de avaliar o tipo de interação incluindo interação hidrofóbica, interações eletrostáticas, forças de van der Waals, ligações de hidrogênio, entre outras, que atuam entre os complexos e a BSA, vários parâmetros termodinâmicos como energia livre de Gibbs (ΔG°), variação de entalpia (ΔH°), e variações de entropia (ΔS°) foram determinados. Estes parâmetros puderam ser determinados com base nas seguintes equações:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K = \Delta H^\circ - T \Delta S^\circ$$

$$\ln \frac{K_{b2}}{K_{b1}} = \left[\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right] \frac{\Delta H^\circ}{R}$$

Onde R = constante dos gases ($8,314 \text{ J mol}^{-1}\text{K}^{-1}$) e K é a constante de interação com a BSA (K_b) (GANESHPANDIAN *et. al.*, 2014).

Na Tabela 4.24 são apresentados os resultados obtidos para os parâmetros termodinâmicos encontrados.

TABELA 4.244 - Parâmetros termodinâmicos para os complexos sintetizados

Complexos	T (K)	ΔG° (kJ mol ⁻¹)	ΔH° (kJ mol ⁻¹)	ΔS° (J mol ⁻¹ K ⁻¹)
[Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆	295	- 23,04	- 3,50	66,24
	310	- 24,03		66,22
[Ru(lap)(dppb)(mebipy)]PF ₆	295	- 24,41	- 3,32	71,49
	310	- 23,96		66,58
[Ru(lap)(dppb)(fen)]PF ₆	295	- 25,44	- 2,43	78,00
	310	- 26,61		78,00
[Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆	295	- 24,53	- 2,35	75,19
	310	- 25,66		75,19
[Ru(lau)(dppb)(mebipy)]PF ₆	295	- 23,40	- 4,18	65,15
	310	- 24,37		65,12
[Ru(lau)(dppb)(fen)]PF ₆	295	- 26,86	- 7,87	64,37
	310	- 27,82		64,35
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (bipy)]PF ₆	295	- 26,95	- 6,58	69,05
	310	- 27,98		69,03
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (mebipy)]PF ₆	295	- 19,91	- 7,96	40,51
	310	- 21,32		43,10
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (meobipy)]PF ₆	295	- 28,82	- 11,07	60,17
	310	- 30,85		56,97
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (fen)]PF ₆	295	- 18,37	- 13,19	17,56
	310	- 18,63		17,55
<i>cis</i> -[Ru(PPh ₃) ₂ (lap) ₂]	295	- 29,58	11,95	140,78
	310	- 30,46		136,81
lap	295	- 27,47	- 3,93	79,80
	310	- 29,06		81,06
lau	295	- 25,44	- 7,40	61,15
	310	- 28,04		66,58

Os tipos de interação que atuam entre os complexos e a BSA podem ser indicados a partir do sinal e da magnitude dos parâmetros termodinâmicos:

- (i) Valores positivos para ΔH° e ΔS° indica o envolvimento de forças hidrofóbicas entre os complexos e a BSA;
- (ii) Valores negativos para ΔH° e ΔS° corresponde a forças de van der Waals e interações por pontes de hidrogênio;
- (iii) Valor negativo de ΔH° e positivo para ΔS° indica interação eletrostática (GANESHPANDIAN *et. al.*, 2014).

De acordo com os dados da Tabela 4.24 é evidente que a interação dos complexos com a BSA é espontânea, uma vez que os valores de ΔG° são

negativos. Pode-se dizer ainda que as forças de interação dos complexos com a BSA são eletrostáticas devido aos valores negativos de ΔH° e positivos de ΔS° , exceto para o complexo *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂], que apresenta interações hidrofóbicas.

4.5- Testes Biológicos – Ensaio de Citotoxicidade

A citotoxicidade dos complexos sintetizados bem como dos ligantes lap e lau puderam ser comparados por meio dos valores obtidos de IC₅₀ (menor concentração de complexo capaz de inibir o crescimento de 50% das células) nas linhagens MCF-7 (adenocarcinoma de mama) e L929 (normal de fibroblasto de camundongo). Os testes de citotoxicidade foram comparados com o fármaco inorgânico cisplatina.

Os ensaios para os ligantes lap e lau mostraram altos valores de IC₅₀ nas linhagens avaliadas (Figura 4.36). Contudo, o lap mostrou-se mais ativo na linhagem normal L929 conforme mostrado na Tabela 4.25. Foi possível observar ainda uma maior toxicidade para os ligantes na linhagem L929 se comparado com a MCF-7.

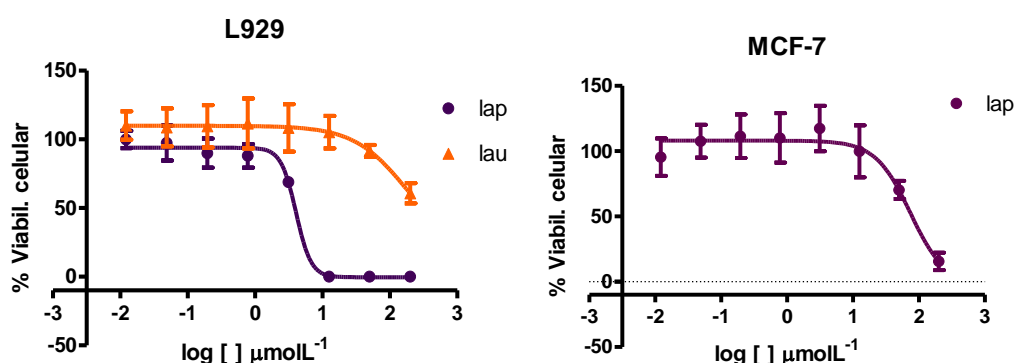


FIGURA 4.36 - Gráfico de viabilidade celular contra as linhagens L929 para os ligantes lap e lau e MCF-7 para o lap.

Com a complexação foram obtidos resultados promissores para os complexos, com valores de IC_{50} abaixo do valor encontrado para o cisplatina, como pode ser observado na Figura 4.37 e na Tabela 4.25.

Fazendo uma relação entre os resultados de IC_{50} para as linhagens MCF-7 e L929 observa-se que os complexos foram muito ativos nas duas linhagens, apresentando valores de IC_{50} muito inferiores aos resultados para o cisplatina. Os complexos $[Ru(lap)(dppb)(fen)]PF_6$ e $[Ru(lau)(dppb)(fen)]PF_6$ apresentaram maior atividade na linhagem MCF-7, se comparado com o resultado para a L929.

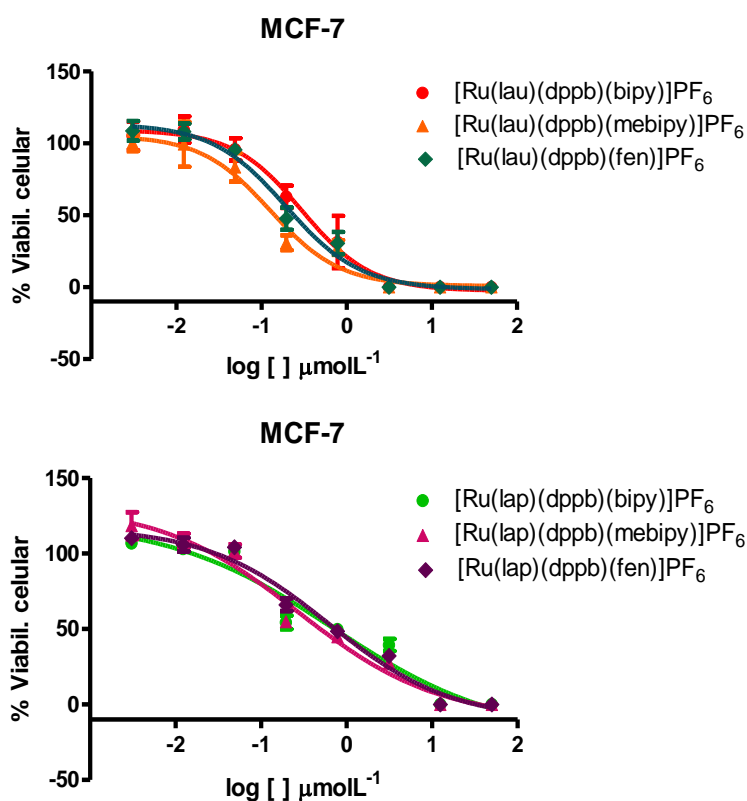


FIGURA 4.37 - Gráfico de viabilidade celular contra a linhagem MCF-7 para os complexos da série 1.

TABELA 4.255 - Valores de IC₅₀ em $\mu\text{mol L}^{-1}$ e índice de seletividade (IS) para os complexos da série 1 nas linhagens L929 e MCF-7

Complexos	L929	MCF-7	IS
lap	4,05 ± 0,21	74,26 ± 0,25	0,05
lau	173,80 ± 0,31	> 200	-
[Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆	0,80 ± 0,15	0,70 ± 0,59	1,14
[Ru(lap)(dppb)(mebipy)]PF ₆	0,26 ± 0,18	0,27 ± 0,19	0,96
[Ru(lap)(dppb)(fen)]PF ₆	1,00 ± 0,38	0,62 ± 0,28	1,61
[Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF ₆	0,70 ± 0,23	0,30 ± 0,18	2,33
[Ru(lau)(dppb)(mebipy)]PF ₆	0,26 ± 0,25	0,22 ± 0,12	1,18
[Ru(lau)(dppb)(fen)]PF ₆	1,22 ± 0,74	0,20 ± 0,19	6,10
Cisplatina	20,14 ± 0,19	8,91 ± 2,60	2,26

Na Figura 4.38 é apresentado o gráfico de viabilidade celular para os complexos da série 2, e na Tabela 4.26 são apresentados os resultados de IC₅₀ obtidos. Os complexos desta série, assim como os da série 1 mostraram-se muito ativos, com valores de IC₅₀ abaixo do valor para o cisplatina.

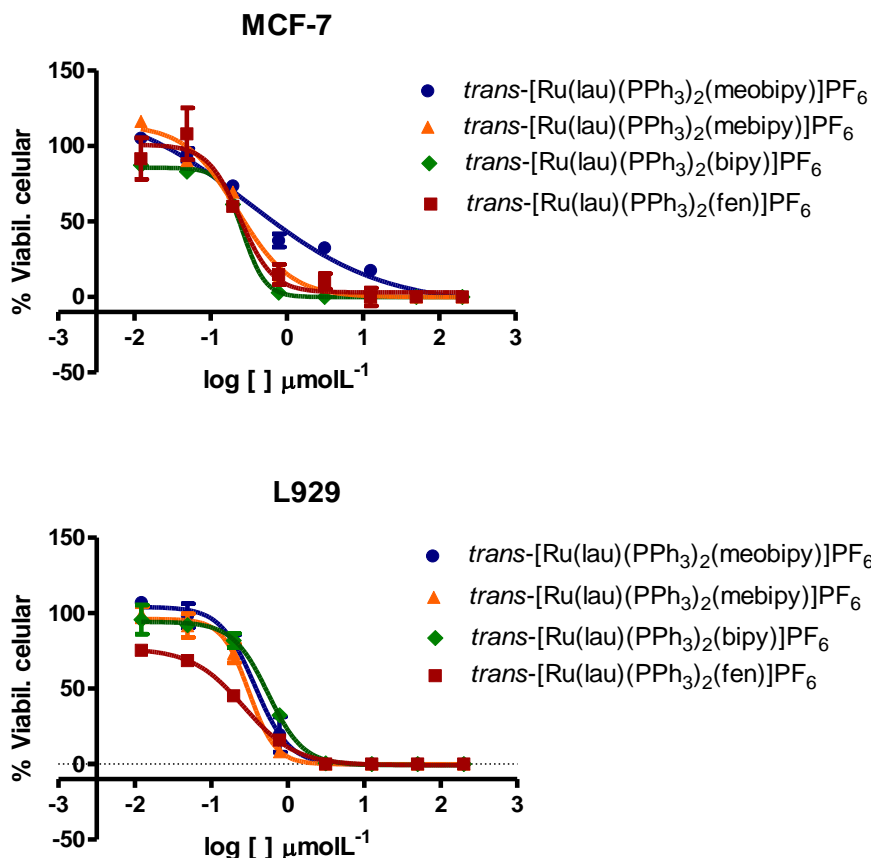


FIGURA 4.38 - Gráfico de viabilidade celular contra as linhagens L929 e MCF-7 para os complexos da série 2.

TABELA 4.266 - Valores de IC_{50} em $\mu\text{mol L}^{-1}$ e IS para os complexos da série 2 nas linhagens L929 e MCF-7

Complexos	L929	MCF-7	IS
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (bipy)]PF ₆	0,55 ± 0,25	0,26 ± 0,18	2,11
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (mebipy)]PF ₆	0,31 ± 0,18	0,23 ± 0,18	1,35
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (meobipy)]PF ₆	0,37 ± 0,19	0,32 ± 0,23	1,16
<i>trans</i> -[Ru(lau)(PPh ₃) ₂ (fen)]PF ₆	0,27 ± 0,18	0,24 ± 0,18	1,12
Cisplatina	20,14 ± 0,19	8,91 ± 2,60	2,26

Todos os complexos da série 1 apresentaram valores de IC_{50} inferiores aos do cisplatina. Apesar dos baixos resultados obtidos para a L929, vale ressaltar que os valores de IC_{50} são muito inferiores ao do fármaco cisplatina, além disso apresentam índices de seletividade próximos ao do

fármaco. Ressalta-se ainda que com a complexação a atividade dos ligantes lap e lau foi potencializada.

Analisando os valores de IC_{50} na linhagem MCF-7 para os complexos da série 1 contendo a lau e os da série 2, onde a diferença consiste na presença da dppb (série 1) e de duas PPh_3 (série 2), observou-se que não há diferenças significativas nos valores de IC_{50} . Dessa forma, a atividade pode estar relacionada com o ligante lau.

Vale ressaltar que os mesmos estudos foram realizados para o complexo *cis*- $[Ru(PPh_3)_2(lap)_2]$, no entanto ele não apresentou nenhuma atividade nas linhagens L929 e MCF-7.

CAPÍTULO 5 - CONCLUSÕES

Neste trabalho foram sintetizados 11 novos complexos de rutênio contendo as naftoquinonas lapachol e lausona, bem como ligantes fosfínicos e bipyridínicos, os quais foram caracterizados por diversas técnicas espectroscópicas.

As composições dos complexos foram evidenciadas por resultados de análise elementar (C, H, N), e as caracterizações pelas técnicas de condutividade molar, espectroscopia de absorção na região do infravermelho e ultravioleta/visível, RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, voltametria cíclica e de pulso diferencial e difração de raios X.

Os dados de condutividade molar mostraram que os complexos sintetizados são eletrólitos 1:1. Apenas o complexo *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂] mostrou-se neutro.

A partir dos espectros de absorção na região do infravermelho foi possível observar bandas características dos ligantes lap e lau, indicando a coordenação. A banda referente ao estiramento O-H dos ligantes não foi observada nos espectros dos complexos, indicando a coordenação pelo oxigênio da hidroxila. As bandas correspondentes aos estiramentos das carbonilas C=O, sofreram deslocamentos para regiões de maior frequência, pois após a coordenação a ligação C=O perde um pouco do caráter de ligação dupla. A presença do contra íon PF₆⁻ foi confirmada por suas bandas características em torno de 840 e 550 cm⁻¹.

Os dados de voltametria cíclica mostraram que os complexos obtidos apresentam potenciais de oxidação mais elevados do que os respectivos precursores. Isso indica que a substituição dos ligantes cloretos pelo lap e/ou lau provocou uma diminuição de densidade eletrônica no rutênio, conduzindo a um aumento do potencial de oxidação, tendo em vista que os cloretos são bons

doadores σ e π , enquanto os átomos de oxigênio dos ligantes lap e lau apresentam fraco caráter doador de densidade eletrônica.

Os espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ permitiram verificar a influência da coordenação dos ligantes lap e lau na esfera de coordenação do rutênio. Os ligantes lap e lau deixam os átomos de fósforo mais desblindados, sendo observado um deslocamento dos sinais para regiões de maior frequência, se comparado com os precursores. Os dados de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e ^1H indicam a coordenação dos ligantes pelo oxigênio da hidroxila e o oxigênio da carbonila C1=O.

A técnica de difração de raios X foi muito importante na elucidação das estruturas dos complexos. As estruturas de raios X dos complexos confirmou a coordenação dos ligantes lap e lau de forma bidentada, onde o átomo de oxigênio da carbonila se encontra *trans* ao átomo de fósforo e o oxigênio da hidroxila *trans* ao nitrogênio dos ligantes bipyridínicos.

Os complexos sintetizados foram avaliados quanto à interação com as biomoléculas DNA e BSA, na tentativa de avaliar o possível mecanismo de ação dos mesmos.

Os complexos da série 1 apresentaram uma fraca interação com o DNA, com constantes na ordem de 10^2 - 10^3 L mol $^{-1}$. Os complexos da série 2 não apresentaram nenhuma interação com o DNA, tendo em vista que a variação espectral observada foi apenas efeito de diluição. Provavelmente o mecanismo de ação destes complexos seja por outra via.

A partir dos estudos de supressão de fluorescência da BSA, foi possível determinar que o mecanismo de interação dos complexos com esta proteína ocorre pelo modo estático. Além disso, observou-se uma fraca interação dos complexos da série 1 com a BSA. Contudo, o complexo da série 2 *trans*-[Ru(lau)(PPh $_3$) $_2$ (meobipy)]PF $_6$ apresentou uma interação relativamente forte com a BSA, com constante K_b da ordem de 10^5 .

Os parâmetros termodinâmicos obtidos foram importantes para ajudar a elucidar a forma de interação dos complexos com a BSA. Com base nos resultados negativos ΔG° foi possível inferir que a interação é espontânea e pode-se dizer ainda que as forças de interação dos complexos com a BSA são eletrostáticas devido aos valores negativos de ΔH° e positivos de ΔS° , exceto para o complexo neutro *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂], que apresentou interações hidrofóbicas.

Os testes de citotoxicidade mostraram resultados promissores nas linhagens MCF-7 e L929, com resultados de IC₅₀ inferiores ao resultado para o fármaco de referência, o cisplatina. Vale ressaltar que os ligantes lap e lau não apresentaram resultados satisfatórios nas linhagens estudadas. No entanto, com a coordenação a atividade dos mesmos foi potencializada.

O complexo *cis*-[Ru(PPh₃)₂(lap)₂] não foi ativo nas linhagens avaliadas.

CAPÍTULO 6 - REFERÊNCIAS

ALESSIO, E.; MESTRONI, G.; BERGAMO, A.; SAVA, G. "Ruthenium antimetastatic agents". *Curr. Top. Med. Chem.*, **4** (15): 1525, 2004.

ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L. LOPES, M. T. P. "Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução". *Quim. Nova*, **28** (1): 118, 2005.

ARAÚJO, E. L.; ALENCAR, J. R. B.; NETO, P. J. R. "Lapachol: segurança e eficácia na terapêutica". *Rev. Bras. Farmacogn.*, **12**: 57, 2002.

ÁRVORES BRASILEIRAS. Disponível em:

<http://sites.unisanta.br/edvalor/arvores_e_ervas/ipe-roxo.htm> acessado em 8 de setembro de 2013.

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, 2007. Dissertação de Mestrado, 129 p.

BERGAMO, A.; GAIDDON, C.; SCHELLENS, J. H. M.; BEIJNEN, J. H.; SAVA, G. "Approaching tumour therapy beyond platinum drugs Status of the art and perspectives of ruthenium drug candidates". *J. Inorg. Biochem.*, **106**: 90, 2012.

BERGEROT, C.; BERGEROT, P. G. Câncer: o poder da alimentação na prevenção e tratamento. 1ª ed. São Paulo: Cultrix, 2006, p. 33.

BIOT, C.; CHAVAIN, N.; DUBAR, F.; PRADINES, B.; TRIVELLI, X.; BROCARD, J.; FORFAR, I.; DIVE, D. "Structure–activity relationships of 4-N-substituted ferroquine analogues: Time to re-evaluate the mechanism of action of ferroquina". *J. Organomet. Chem.*, **694**: 845, 2009.

BONIFAZE, E. L.; RIOS-LUCI, C.; LEÓN, L. G.; BURTON, G.; PADRÓN, J. M.; MISICO, R. I. "Antiproliferative activity of synthetic naphthoquinones related to lapachol. First synthesis of 5-hydroxylapachol". *Bioorg. Med. Chem.*, **18**: 2621, 2010.

BRESSAN, M.; RIGO, P. "Five-coordinate complexes of ruthenium(II) with ditertiary phosphine". *Inorg. Chem.*, **14**: 2286, 1975.

BUSTAMANTE, F. L. S.; SILVA, M. M. P.; ALVES, W. A.; PINHEIRO, C. B.; RESENDE, J. A. L. C.; LANZNASTER, M. "Isomerism and nuclearity control in bis(lawsonato)zinc(II) complexes". *Polyhedron*. **42**: 43, 2012.

CHAO, H.; MEI, W. J.; HUANG, Q. W.; JI, L. N. "DNA binding studies of ruthenium(II) complexes containing asymmetric tridentate ligands". *J. Inor. Biochem.*, **92**: 165, 2002.

CARUSO, F.; MARTÍNEZ, M. A.; ROSSI, M.; GOLDBERG, A.; VILLALBA, M. E. C.; AYMONINO, P. J. "Crystal and molecular structure of manganese(II) lapacholate, a novel

- polymeric species undergoing temperature-reversible metal to ligand electron transfer". *Inorg. Chem.*, **48**: 3529, 2009.
- CASTONGUAY, A.; DOUCET, C.; JUHAS, M.; MAYSINGER, D. "New ruthenium(II) - letrozole complexes as anticancer therapeutics". *J. Med. Chem.*, **55**: 8799, 2012.
- CASTRO, S. L.; EMERY, F. S.; SILVA JR, E. N. "Synthesis of quinoidal molecules: Strategies towards bioactive compounds with an emphasis on lapachones". *Eur. J. Med. Chem.*, **69**: 678, 2013.
- CRAGG, G. M.; GROTHAUS, P. G.; NEWMAN, D. J. "Impact of natural products on developing new anti-cancer agents". *Chem. Rev.*, **109**: 3012, 2009.
- CURRY, S.; BRICK, P.; FRANKS, N. P. "Fatty acid binding to human serum albumin: new insights from crystallographic studies". *Biochimica et Biophysica Acta.*, **1441**: 131, 1999.
- CUTILLAS, N.; YELLOL, G. S.; HARO, C.; VICENTE, C.; RODRÍGUEZ, V.; RUIZ, J. "Anticancer cyclometalated complexes of platinum group metals and gold". *Coord. Chem. Rev.*, **257**:2784, 2013.
- EL-HENDAWY, A. M. "Complexes of lawsone with uranium, molybdenum, ruthenium and osmium, and their use as organic oxidants". *Polyhedron*, **10**:2511, 1991.
- FARFÁN, R. A.; ESPÍNDOLA, J. A.; MARTÍNEZ, M. A.; PIRO, O. E.; AYMÓNINO, P. J. "Synthesis and crystal structure of a new lapacholate complex with nickel(II), [Ni(Lap)₂(DMF)(H₂O)]". *J. Coord. Chem.*, **62** (23): 3738, 2009.
- FONTES, A. P. S.; CESAR, E. T.; BERALDO, H. "A Química Inorgânica na terapia do câncer". *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola*, **6**: 13, 2005.
- FRAUSIN, F.; COCCHIETTO, M.; BERGAMO, A.; SCARCIA, V.; FURLANI, A.; SAVA, G. "Tumour cell uptake of the metastasis inhibitor ruthenium complex NAMI-A and its in vitro effects on KB cells". *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **50**: 405, 2002.
- FUERTES, M. A.; ALONSO, C.; PEREZ, J. M. "Biochemical modulation of Cisplatin mechanisms of action: enhancement of antitumor activity and circumvention of drug resistance". *Chem. Rev.*, **103**: 645, 2003.
- GANESHPIANDIAN, M.; LOGANATHAN, R.; SURESH, E.; RIYASDEEN, A.; AKBARSHAD, M. A.; PALANIANDAVAR, M. "New ruthenium(II) arene complexes of anthracenylappended diazacycloalkanes: effect of ligand intercalation and hydrophobicity on DNA and protein binding and cleavage and cytotoxicity". *Dalton Trans.*, **43**: 1203, 2014.
- GRAMINHA, A. E. Complexos de Ru e Pd com bases de schiff de ditiocarbazatos com interesse bioinorgânico e quimioterápico. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2010. Dissertação de Mestrado, 144 p.
- GUST, R.; BECK, W.; JAOUEN, G.; SCHÖNENBERGER, H. "Optimization of cisplatin for the treatment of hormone dependent tumoral diseases Part 1: Use of steroidal ligands". *Coord. Chem. Rev.*, **253**: 2742, 2009.

HE, X. M.; CARTER, D. C. "Atomic structure and chemistry of human serum albumin". *Nature*. **358**: 209, 1992.

HERNÁNDEZ-MOLINA, R.; KALININA, I.; ESPARZA, P.; SOKOLOV, M.; GONZALEZ-PLATAS, J.; ESTÉVEZ-BRAUN, A.; PÉREZ-SACAU, E. "Complexes of Co(II), Ni(II) and Cu(II) with lapachol". *Polyhedron*. **26**: 4860, 2007.

HILL, A. F. *Organotransition metal chemistry. Tutorial chemistry texts*. 1ª ed. Cambridge: Ed. Royal Society of chemistry, 2002. Cap. 2, p. 22-24.

HUSSAIN, H.; KROHN, K.; AHMAD, V. U.; MIANA, G. A.; ROBERT, I. "Lapachol: an overview". *Arkivoc.*, **2**: 145, 2007.

INCA – Instituto Nacional do Câncer. Estimativa - 2012: Incidência de câncer no Brasil – Rio de Janeiro: INCA, 2011. 118 p. Disponível em: <<http://www1.inca.gov.br/vigilancia/incidencia.html>> acessado em 20 de junho de 2013.

JUNIOR, C. V.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. "Os produtos naturais e a química medicinal moderna". *Quím. Nova*. **29** (2): 326, 2006.

JUNG, Y.; LIPPARD, S. J. "Direct cellular responses to platinum-induced DNA damage". *Chem. Rev.*, **107** (5): 1387, 2007.

KANDAGAL, P. B; ASHOKA, S; SEETHARAMAPPA, J; SHAIKH, S. M. T.; JADEGOUD, Y; IJARE, O. B. "Study of the interaction of an anticancer drug with human and bovine serum albumin: spectroscopic approach". *J. Pharm. Biom. Anal.*; **41**: 393, 2006.

KANDIOLLER, W.; BALSANO, E.; MEIER, S. M.; JUNGWIRTH, U.; GÖSCHL, S.; ROLLER, A.; JAKUPEC, M. A.; BERGER, W.; KEPLER, B. K.; HARTINGER, C. G. "Organometallic anticancer complexes of lapachol: metal centre-dependent formation of reactive oxygen species and correlation with cytotoxicity". *Chem. Commun.*, **49**: 3348, 2013.

LARSEN, I. K.; ANDERSEN, L. A.; PEDERSEN, B. F. "Structures of Two Crystalline Modifications of Lapachol". *Acta Cryst.*, **C48**: 2009, 1992.

LAWSONIA. Disponível em:

<[http://en.wikipedia.org/wiki/File:Lawsonia_inermis_\(Mehndi\)_in_Hyderabad,_AP_W_IMG_0527.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Lawsonia_inermis_(Mehndi)_in_Hyderabad,_AP_W_IMG_0527.jpg)>, acessado em 14 de dezembro de 2013.

LEE, W. -Y. "Tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II) electrogenerated chemiluminescence in analytical science". *Mikrochim. Acta*, **127**: 19, 1997.

LEBWOHL, D.; CANETTA, R. "Clinical Development of Platinum Complexes in Cancer Therapy: an Historical Perspective and an Update". *Eur. J. Cancer.*, **34** (10): 1522, 1998.

LIPPERT, B. "Impact of Cisplatin on the recent development of Pt coordination chemistry: a case study". *Coord. Chem. Rev.*, **182**: 263, 1999.

LIMA, B. A. V. Avaliação das atividades Citotóxicas de Alguns Complexos Fosfínicos de Rutênio (Células Tumorais MDA-MB 231). São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2010. Dissertação de Mestrado, 207 p.

MALINA, J.; NOVAKOVA, O.; KEPPLER, B. K.; ALESSIO, E. & BRABEC, V. “Biophysical analysis of natural, double-helical DNA modified by anticancer heterocyclic complexes of ruthenium(III) in cell-free media”. *J. Biol. Inorg. Chem.*, **6**: 434, 2001.

MARTÍNEZ, M. A.; JIMÉNEZ, M. C. L.; CASTELLANO, E. E.; PIRO, O. E.; AYMONINO, P. J. “Synthesis, structure and properties of a zinc(II) complex with the lapacholate anion and ethanol as ligands”. *J. Coord. Chem.*, **56** (9): 803, 2003.

MIRABELLI, C. K.; HILL, D. T.; FAUCETTE, L. F.; MCCABE, F. L.; GIRARD, G. R.; BRYAN, D. B.; SUTTON, B. M.; BARTUS, J. O. L.; CROOKE, S. T.; JOHNSON, R. K. “Antitumor activity of bis(diphenylphosphino)alkanes, their gold(I) coordination complexes, and related compounds”. *J. Med. Chem.*, **30**: 2181, 1987.

MONTENEGRO, R. C.; ARAÚJO, A. J.; MOLINA, M. T.; FILHO, J. D. B. M.; ROCHA, D. D.; LOPÉZ-MONTERO, E.; GOULART, M. O. F.; BENTO, E. S.; ALVES, A. P. N. N.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; COSTA-LOTUFO, L. V. “Cytotoxic activity of naphthoquinones with special emphasis on juglone and its 5-O-methyl derivative”. *Chem. Biol. Interact.*, **184**: 439, 2010.

MORAIS, T. S.; SANTOS, F. C.; JORGE, T. F.; CÔRTE-REAL, L.; MADEIRA, P. J. A.; MARQUES, F.; ROBALO, M. P.; MATOS, A.; SANTOS, I.; GARCIA, M. H. “New Water-Soluble Ruthenium(II) Cytotoxic Complex: Biological Activity and Cellular Distribution”. *J. Inorg. Biochem.*, **130**: 1, 2014.

MOSMANN, T. “Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays”. *J. Immunol. Methods.*, **65**: 55, 1983.

NAKAMOTO, K. Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds. 6^a edição, Editora Wiley Inter-Science, 2009, p. 285.

NEVES, A. P.; PEREIRA, M. X. G.; PETERSON, E. J.; KIPPING, R.; VARGAS, M. D.; SILVA JR, F. P.; CARNEIRO, J. W. M.; FARRELL, N. P. “Exploring the DNA binding/cleavage, cellular accumulation and topoisomerase inhibition of 2-hydroxy-3-(aminomethyl)-1,4-naphthoquinone Mannich bases and their platinum(II) complexes”. *J. Inorg. Biochem.*, **119**: 54, 2013.

NIEHUES, M.; BARROS, V. P.; EMERY, F. S.; DIAS-BARUFFI, M.; ASSIS, M. D.; LOPES, N. P. “Biomimetic in vitro oxidation of lapachol: A model to predict and analyse the in vivo phase I metabolism of bioactive compounds”. *Eur. J. Med. Chem.*, **54**: 804, 2012.

OLIVEIRA, L. G.; SILVA, M. M.; PAULA, F. C. S.; PEREIRA-MAIA, E. C.; DONNICI, C. L.; SIMONE, C. A.; FRÉZARD, F.; SILVA JR, E. N.; DEMICHELI, C. “Antimony(V) and bismuth(V) complexes of lapachol: synthesis, crystal structure and cytotoxic activity”. *Molecules*. **16**: 10314, 2011.

ORAMAS-ROYO, S.; TORREJÓN, C.; CUADRADO, I.; HERNÁNDEZ-MOLINA, R.; HORTELANO, S.; ESTÉVEZ-BRAUN, A.; HERAS, B. "Synthesis and cytotoxic activity of metallic complexes of lawsone". *Bioorg. Med. Chem.*, **21**: 2471, 2013.

POELHSITZ, G. V. Nitrosilo complexos de rutênio com ligantes bifosfínicos: espectroscopia, eletroquímica, estudo da reatividade e liberação de NO. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2005. Tese de Doutorado, 284 p.

QUEIROZ, S. L.; BATISTA, A. A. "Complexos Fosfínicos e suas Aplicações na Medicina". *Quím. Nova*, **19** (6): 651, 1996.

QUEIROZ, S. L.; BATISTA, A. A.; OLIVA, G.; GAMBARDELLA, M. T.; SANTOS, R. H. A.; MACFARLANE, K. S.; RETTIG, S. J.; JAMES, B. R. "The reactivity of five coordinate Ru(II)[1,4-*bis*(diphenylphosphino)butano] complexes with the N-donor ligands: amonia, pyridine, 4-substitued pyridines, 2,2'-bipyridine, bis(pyridil)amine, 1,10-phenantroline, 4,7-diphenylphenantroline and ethylenediamine". *Inorg. Chimica. Acta.*, **267**: 209, 1998.

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

RAJAPAKSE, C. S. K.; MARTÍNEZ, A.; NAOULOU, B.; JARZECKI, A. A.; SUÁREZ, L.; DEREGNAUCOURT, C.; SINOUE, V.; SCHRÉVEL, J.; MUSI, E.; AMBROSINI, G.; SCHWARTZ, G. K.; SÁNCHEZ-DELGADO, R. A. "Synthesis, Characterization, and *in vitro* Antimalarial and Antitumor Activity of New Ruthenium(II) Complexes of Chloroquine". *Inorg. Chem.*, **48**: 1122, 2009.

RÍOS-LUCI, C.; BONIFAZI, E. L.; LEÓN, L. G.; MONTERO, J. C.; BURTON, G.; PANDIELLA, A.; MISICO, R. I.; PADRÓN, J. M. "β-Lapachone analogs with enhanced antiproliferative activity". *Eur. J. Med. Chem.*, **53**: 264, 2012.

RODRIGUES, C. Estudo sobre o mecanismo de reações de hidrogenação em complexos do tipo [RuCl₂(P)₂(N)₂] [(P)₂ = mono ou bifosfina; N = piridina ou derivados]. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2010. Dissertação de Mestrado, 153 p.

RONCONI, L.; SADLER, P. J. "Using coordination chemistry to design new medicines". *Coord. Chem. Rev.*, **251**: 1633, 2007.

ROSA, M. A. Estudos envolvendo a modificação e a interação do lapachol com compostos de metais de transição. Campinas, Programa de Pós-Graduação em Química – UNICAMP, 2000. Dissertação de Mestrado, 95 p.

SÁNCHEZ-DELGADO, R. A.; NAVARRO, M.; PÉREZ, H.; URBINA, J. A. "Toward a novel metal-based chemotherapy against tropical diseases. 2. Synthesis and antimalarial activity *in vitro* and *in vivo* of new ruthenium and rhodium-chloroquine complexes". *J. Med. Chem.*, **39**: 1095, 1996.

SANTIAGO, M. O. Síntese, caracterização e estudos cinéticos da isomerização de compostos de Ru(II) contendo ligantes (X-bipy) (X=-H, -NO₂, -Me, -COOH, -SMe, O=SMe, -Cl, -

OMe). São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2004. Tese de Doutorado, 147 p.

SAVA, G.; BERGAMO, A.; DYSON, P. J. “Metal-based antitumour drugs in the post-genomic era: what comes next?”. *Dalton Trans.*, **40**: 9069, 2011.

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

SHELDRICK, G. M. “A short history of SHELX”. *Acta Crystallographica*. **64** (1): 112, 2007.

SHELDRICK, G. M. “SHELXL97: A program for crystal structure refinement” Goettingen: University of Goettingen, 1997, Release 97-2. Programa de computador.

SINGH, I.; OGATA, R. T.; MOORE, R. E.; CHANG, C. W. J.; SCHEUER, P. J. “Electronic spectra of substituted naphthoquinones”. *Tetrahedron*. **24**: 6053, 1968.

SILVA, M. N.; FERREIRA, V. F.; SOUZA, M. C. B. V. “Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na β -lapachona e derivados”. *Quím. Nova*. **26**: 407, 2003.

SILVA JR, E. N.; CAVALCANTI, B. C.; GUIMARÃES, T.T.; PINTO, M. C. F. R.; CABRAL, I. O.; PESSOA, C.; COSTA-LOTUFO, L. V.; MORAES, M. O.; ANDRADE, C. K. Z.; SANTOS, M. R.; SIMONE, C. A.; GOULART, M. O. F.; PINTO, A. V. “Synthesis and evaluation of quinonoid compounds against tumor cell lines”. *Eur. J. Med. Chem.*, **46**: 399, 2011.

SOUZA, M. A.; JOHANN, S.; LIMA, L. A. R. S.; CAMPOS, F. F.; MENDES, I. C.; BERALDO, H.; SOUZA-FAGUNDES, E. M.; CISALPINO, P. S.; ROSA, C. A.; ALVES, T. M. A.; SÁ, N. P.; ZANI, C. L. “The antimicrobial activity of lapachol and its thiosemicarbazone and semicarbazone derivatives”. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. **108** (3): 1, 2013.

STEPHESON, T.A; WILKINSON, G. “New complexes of ruthenium(II) and ruthenium(III) with diphenylphosphine, triphenylarizine, trichlorostannate, pyridine and other ligands”. *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **28**: 945, 1966.

SÜSS-FINK, G. “Arene ruthenium complexes as anticancer agents”. *Dalton Trans.*, **39**: 1673, 2010.

TABASSUM, S.; AL-ASBAHY, W. M.; AFZAL, M.; ARJMAND, F. “Synthesis, characterization and interaction studies of copper based drug with Human Serum Albumin (HSA): Spectroscopic and molecular docking investigations”. *J. Photochem. Photobiol., B.*, **114**: 132, 2012.

TODKARY, A. V.; DALVI, R.; SALUNKE-GAWALI, S.; LINARES, J.; VARRET, F.; MARROT, J.; YAKHMI, J. V.; BHADBHADE, M.; SRINIVAS, D.; GEJJI, S. P.; RANE, S. Y. “SOM assembly of hydroxynaphthoquinone and its oxime: Polymorphic X-ray structures and EPR studies”. *Spectrochim. Acta, Part A*. **63**: 130, 2006.

UMAR, A.; DUNN, B. K.; GREENWALD, P. "Future directions in cancer prevention". *Nat. Rev. Cancer*, **12**: 835, 2012.

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, 60 p.

WANG, C-X.; YAN, F-F.; ZHANG, Y-X.; YE, L. "Spectroscopic investigation of the interaction between rifabutin and bovine serum albumin". *J. Photochem. Photobiol., A*, **192**: 23, 2007.

WEBB, M. I.; WALSBY, C. J. "Control of ligand-exchange processes and the oxidation state of the antimetastatic Ru(III) complex NAMI-A by interactions with human serum albumin". *Dalton Trans.*, **40**: 1322, 2011.

WHEATE, N. J.; COLLINS, J. G. "Multi-nuclear platinum complexes as anti-cancer drugs". *Coord. Chem. Rev.*, **241**: 133, 2003.

WHO - World Health Organization. Disponível em: < <http://www.who.int/topics/cancer/en/>> acessado em 20 de junho de 2013.

WOLFE, A.; SHIMER, G. H.; MEEHAN, T. Polycyclic aromatic hydrocarbons physically intercalate into duplex regions of denatured DNA. *Biochemistry*, v. 26, p. 6392-6396, 1987.

WONG, E.; GIANDOMENICO, C. M. "Current status of platinum-based antitumor drugs". *Chem. Rev.*, **99**: 2451, 1999.

ZHANG, C. X.; LIPPARD, S. J. "New metal complexes as potential therapeutics". *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **7**: 481, 2003.

YAN, Y. K.; MELCHART, M.; HABTEMARIAM, A.; SADLER, P. J. "Organometallic chemistry, biology and medicine: ruthenium arene anticancer complexes". *Chem. Commun.*, 4764, 2005.

CAPÍTULO 7- APÊNDICE

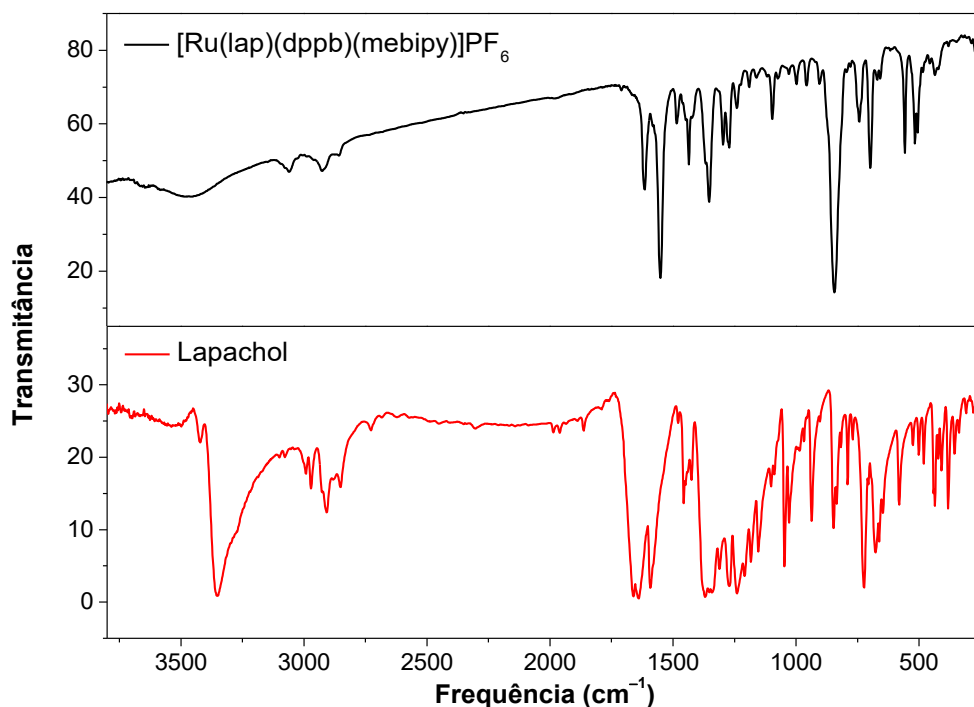


FIGURA A1. Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante lap e do complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$, em pastilhas de KBr.

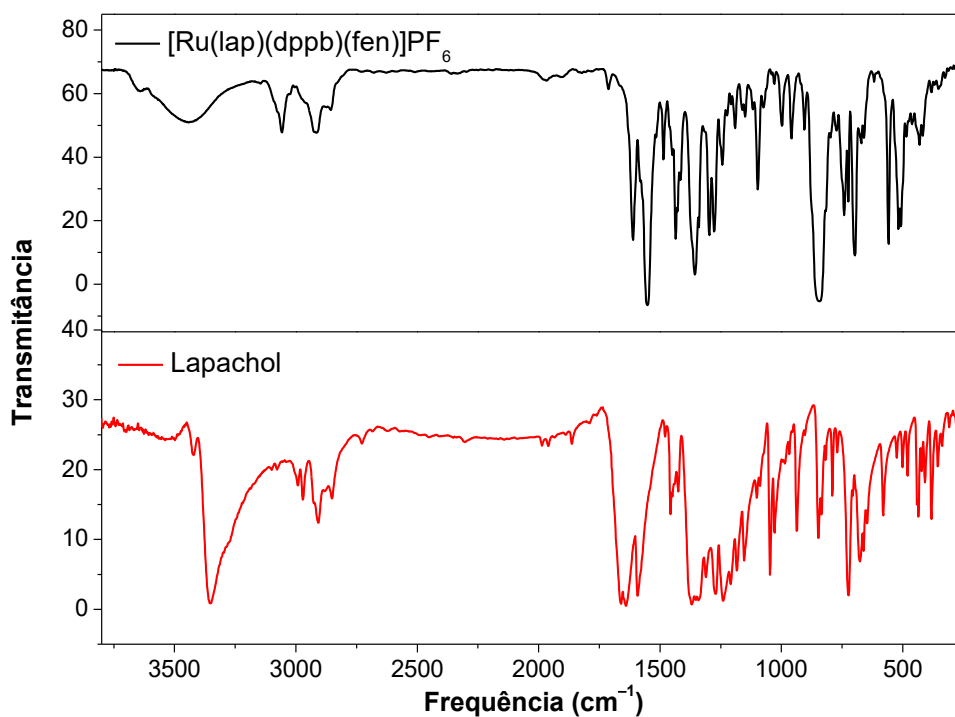


FIGURA A2. Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante lap e do complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$, em pastilhas de KBr.

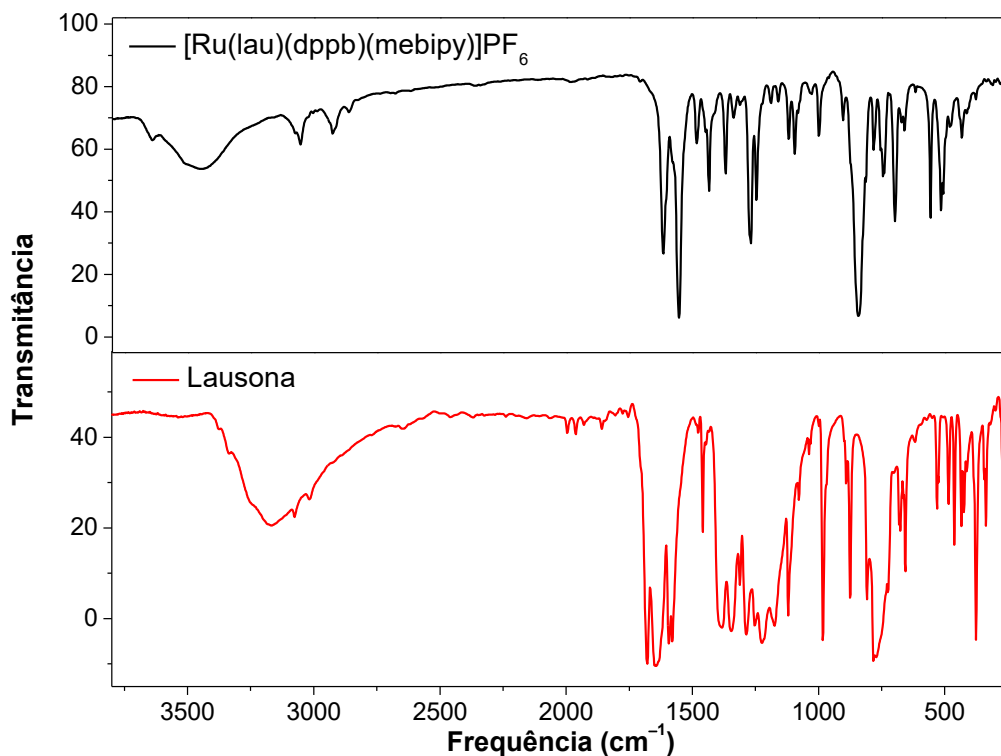


FIGURA A3. Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante lau e do complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$, em pastilhas de KBr.

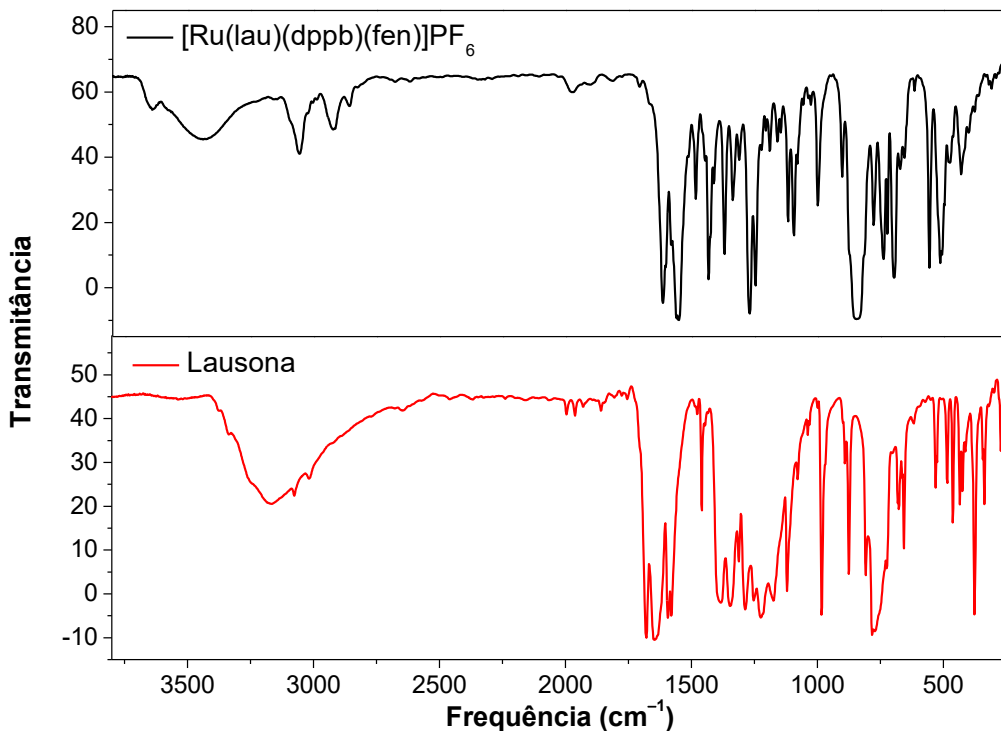


FIGURA A4. Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante lau e do complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$, em pastilhas de KBr.

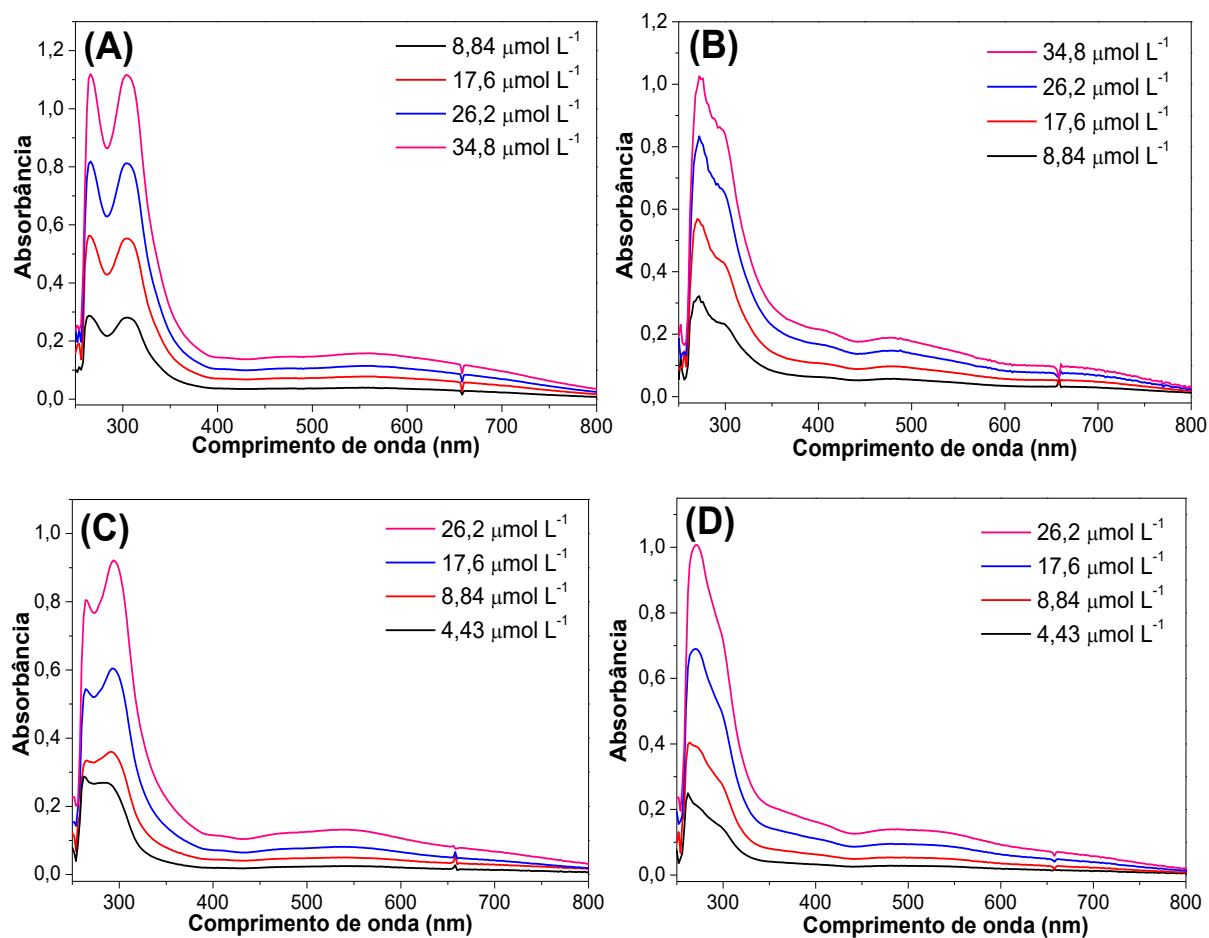


FIGURA A5. Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis para os complexos **(A)** [Ru(lap)(dppb)(mebipy)]PF₆, **(B)** [Ru(lap)(dppb)(fen)]PF₆, **(C)** [Ru(lau)(dppb)(mebipy)]PF₆ e **(D)** [Ru(lau)(dppb)(fen)]PF₆, em DMSO.

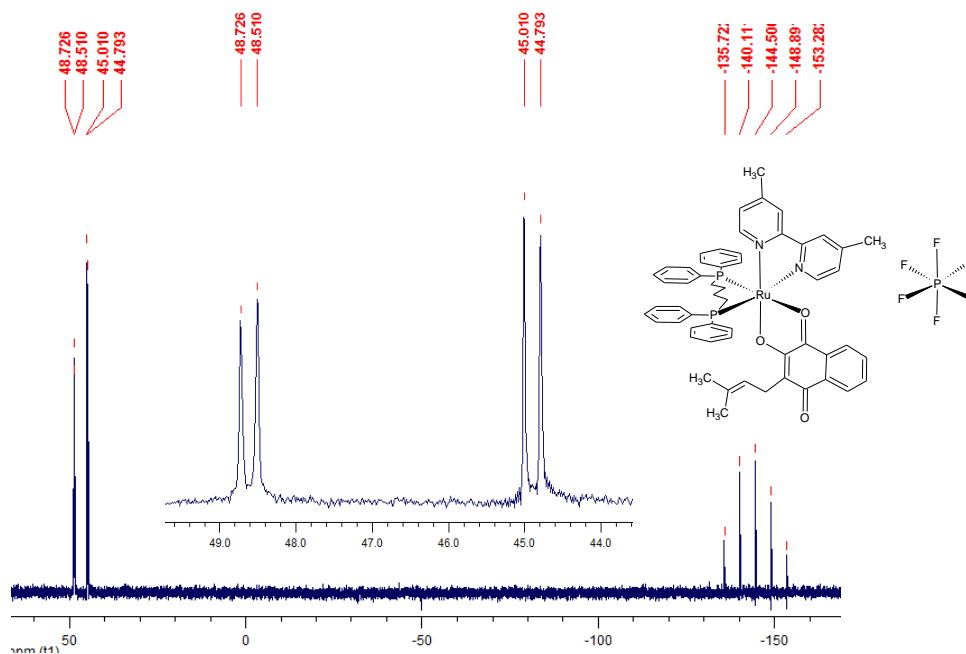


FIGURA A6. Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$, em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$.

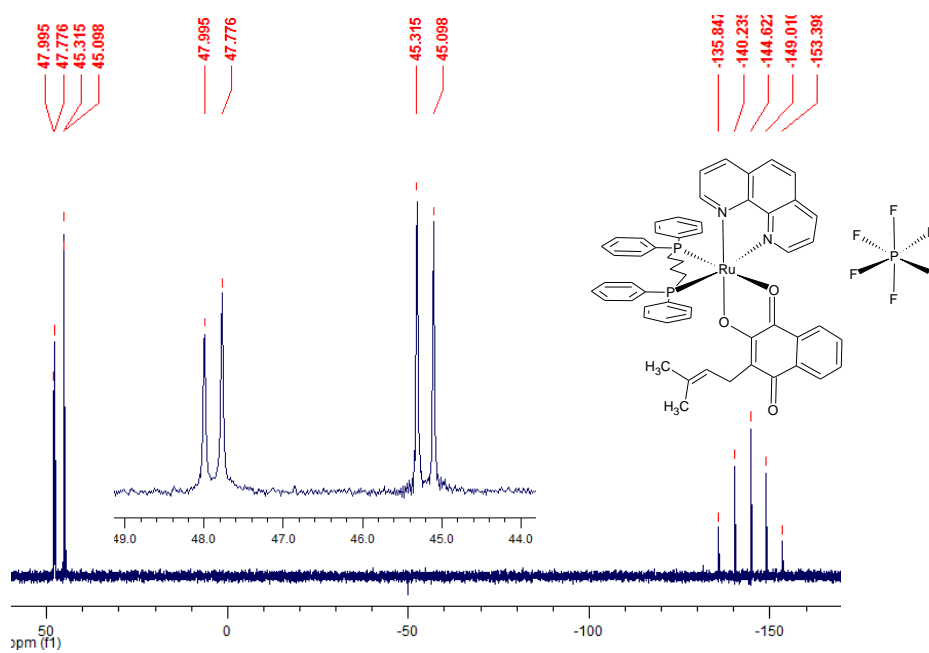


FIGURA A7. Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$, em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$.

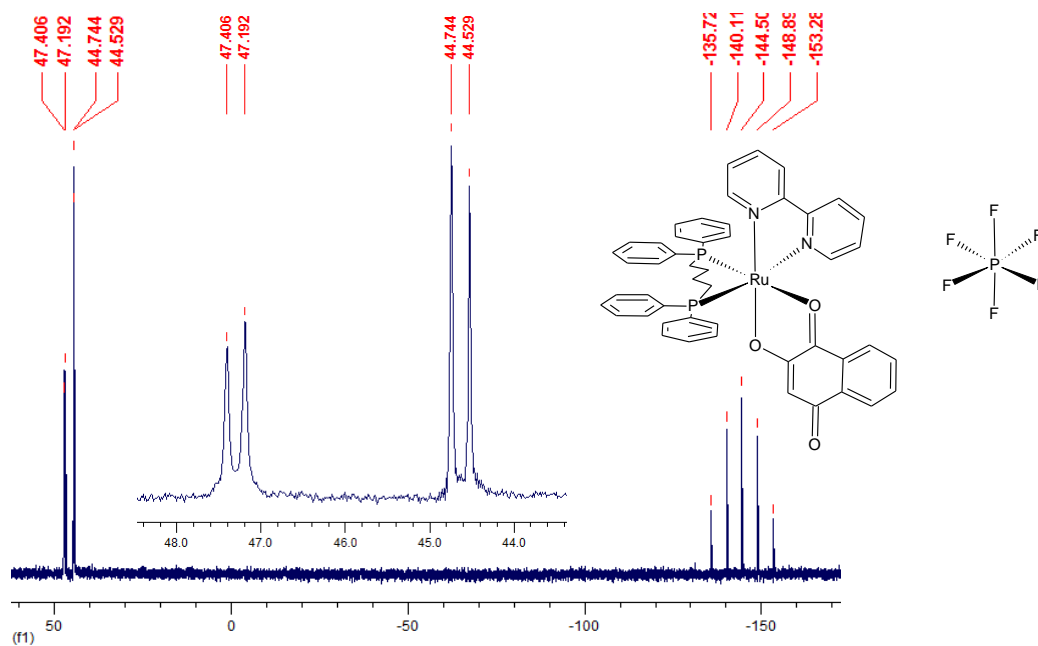


FIGURA A8. Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$.

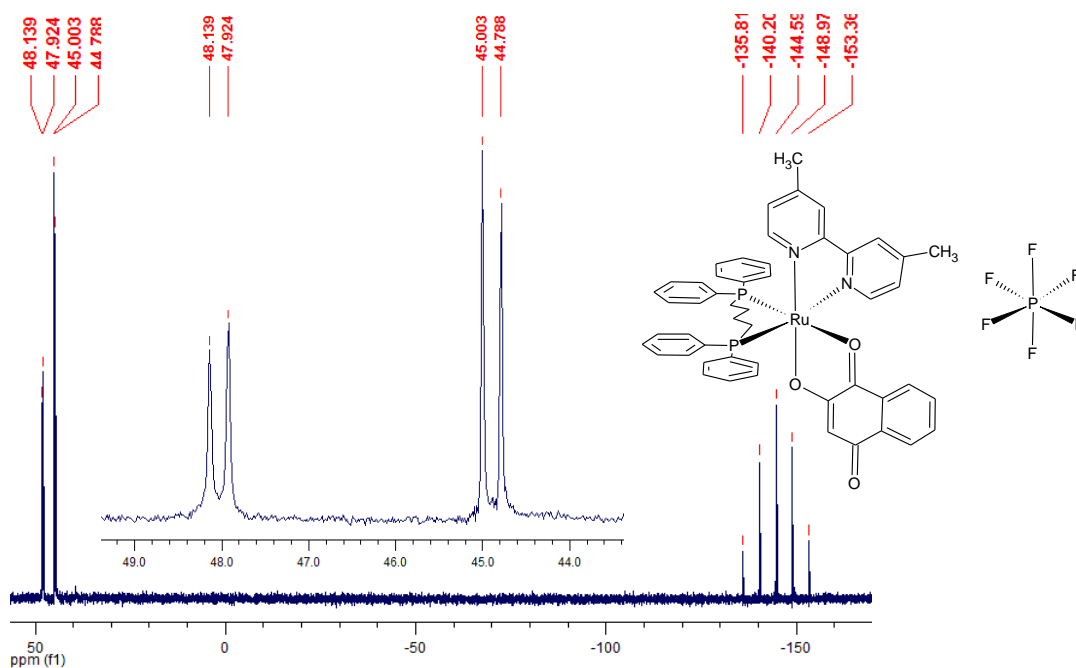


FIGURA A9. Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$, em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$.

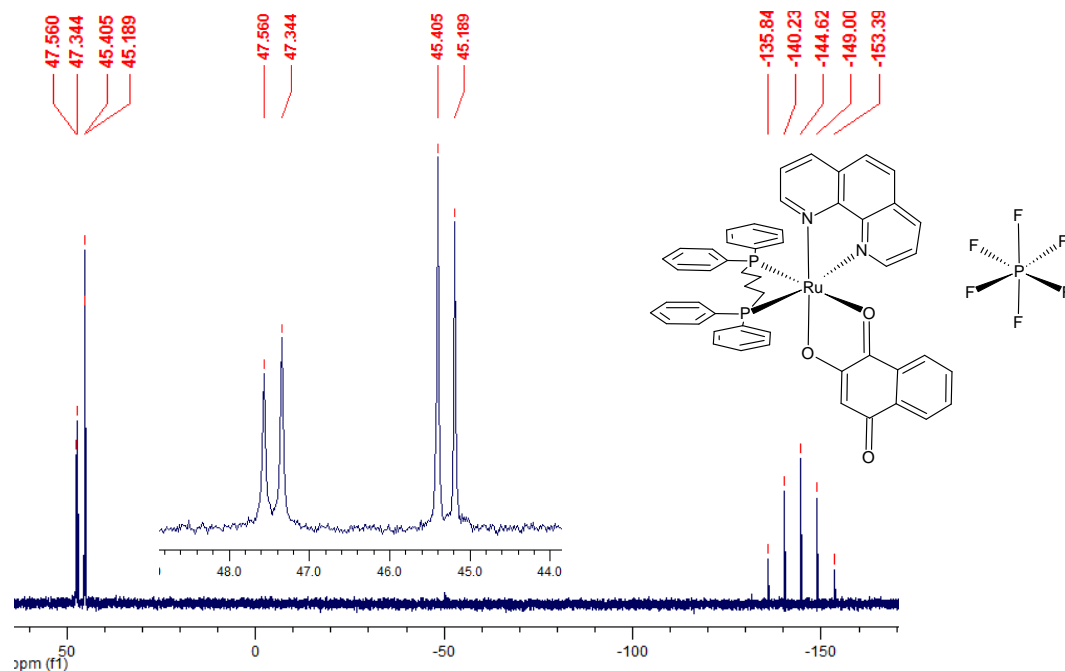


FIGURA A10. Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$, em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$.

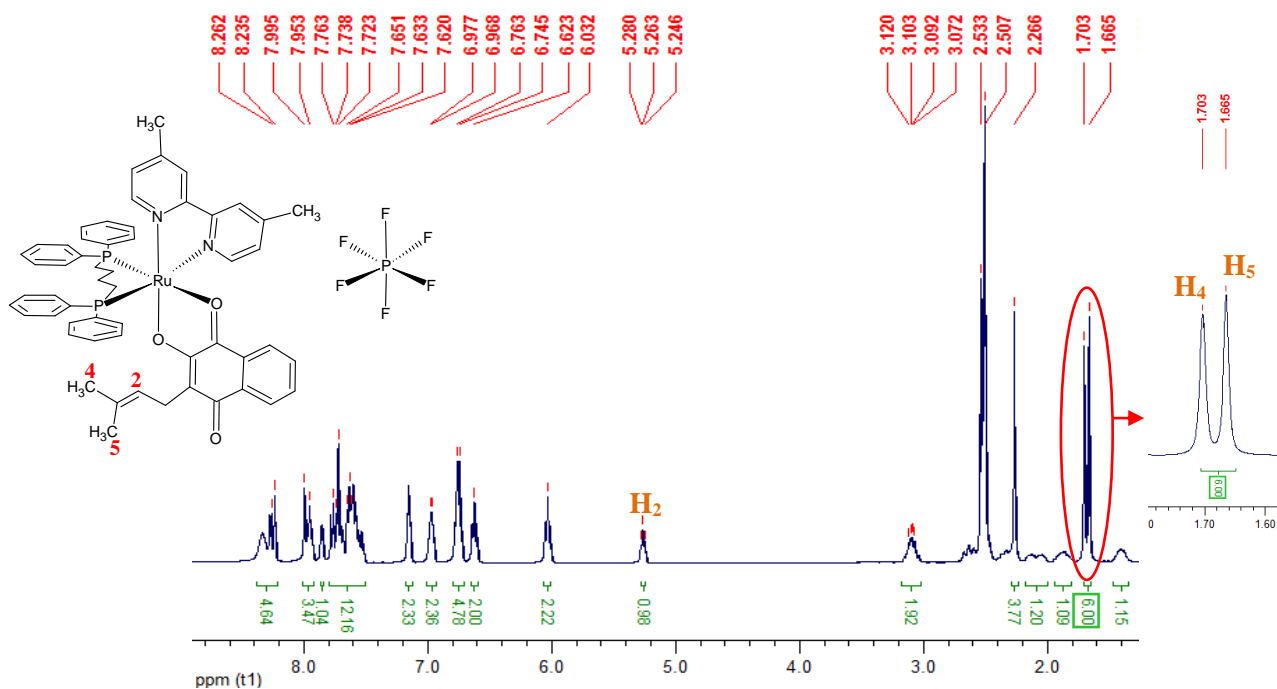


FIGURA A11. Espectro de RMN ^1H do complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$, em DMSO-d_6 .

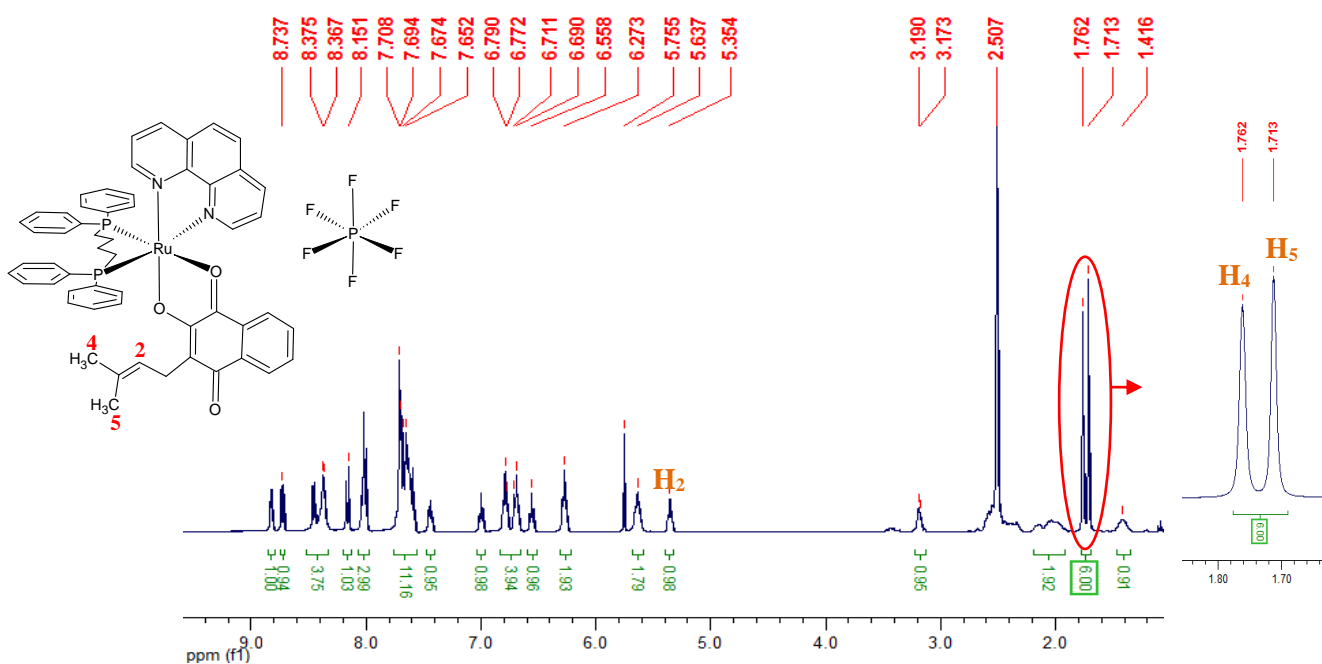


FIGURA A12. Espectro de RMN ^1H do complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$, em DMSO-d_6 .

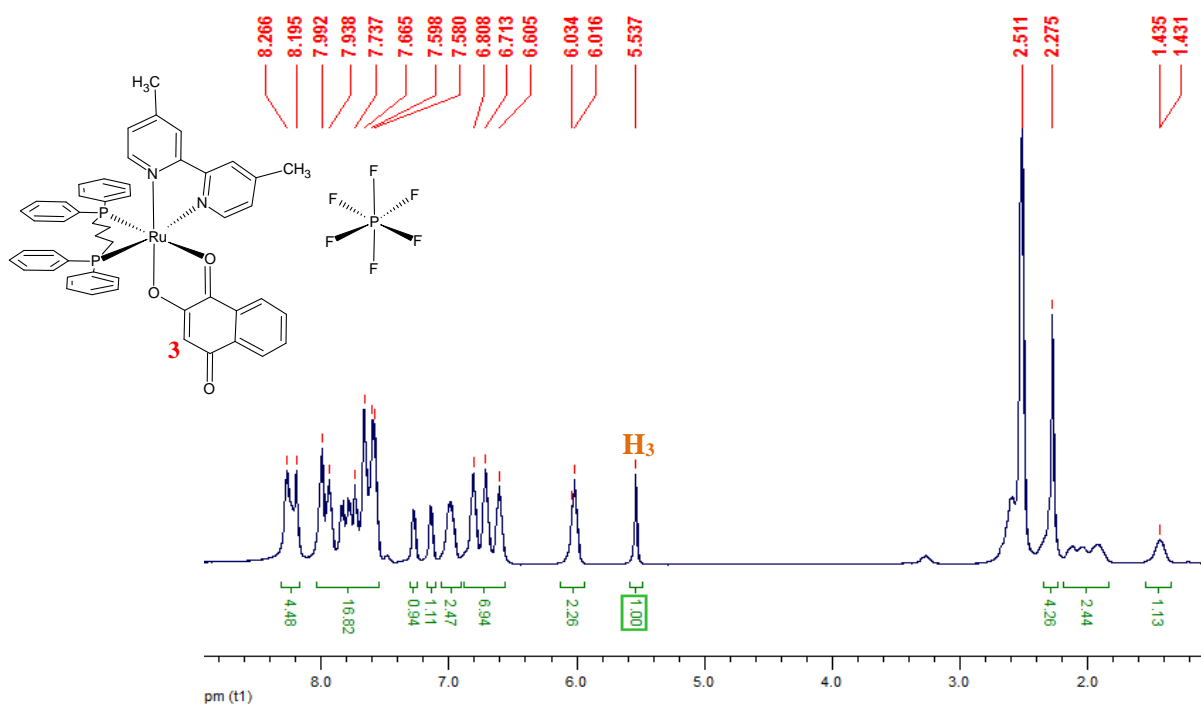


FIGURA A13. Espectro de RMN ^1H do complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$, em DMSO-d_6 .

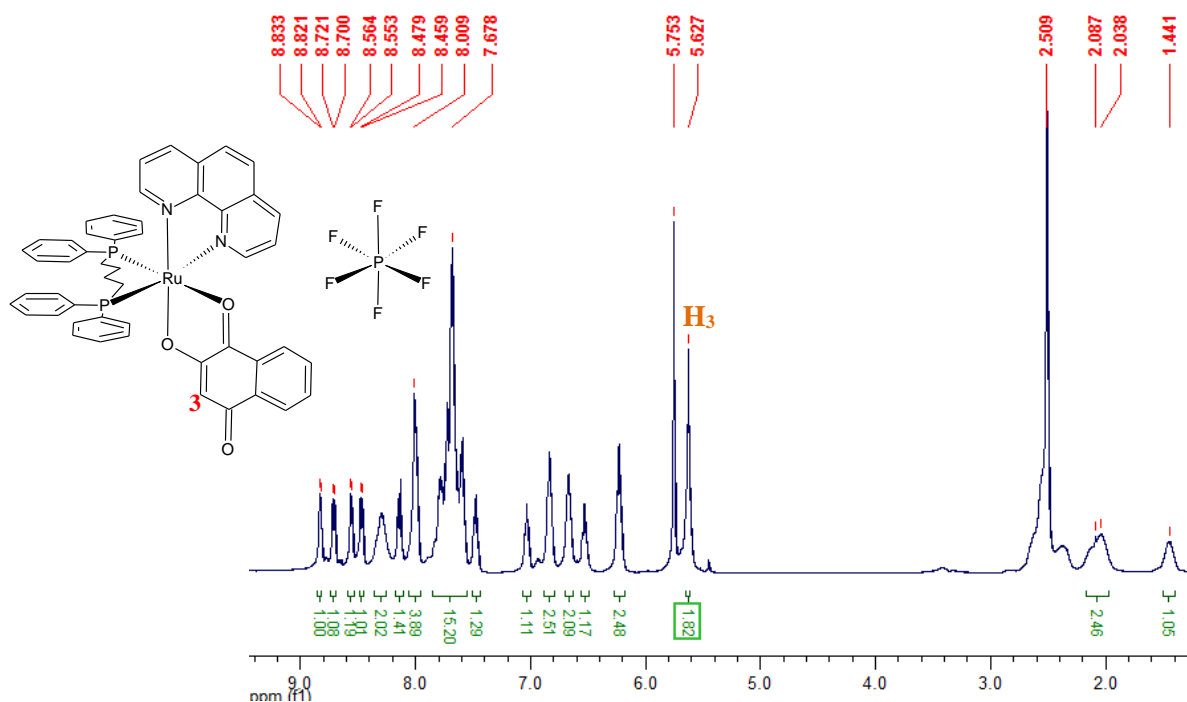


FIGURA A14. Espectro de RMN ¹H do complexo [Ru(lau)(dppb)(fen)]PF₆, em DMSO-d₆.

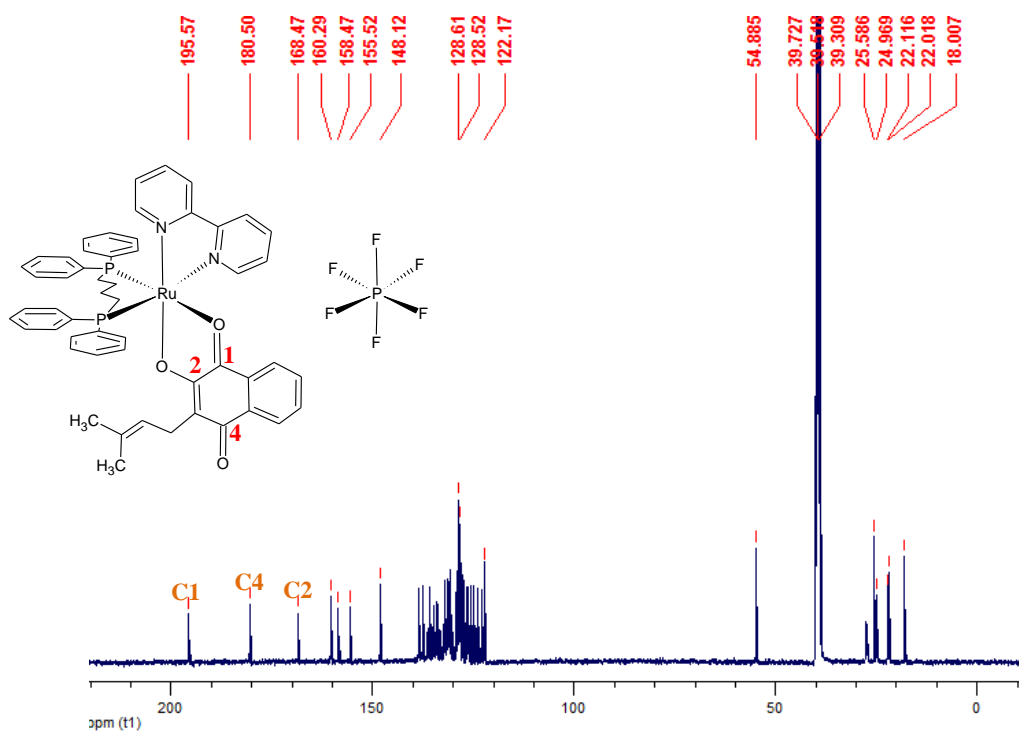


FIGURA A15. Espectro de RMN ¹³C{¹H} do complexo [Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF₆, em DMSO-d₆.

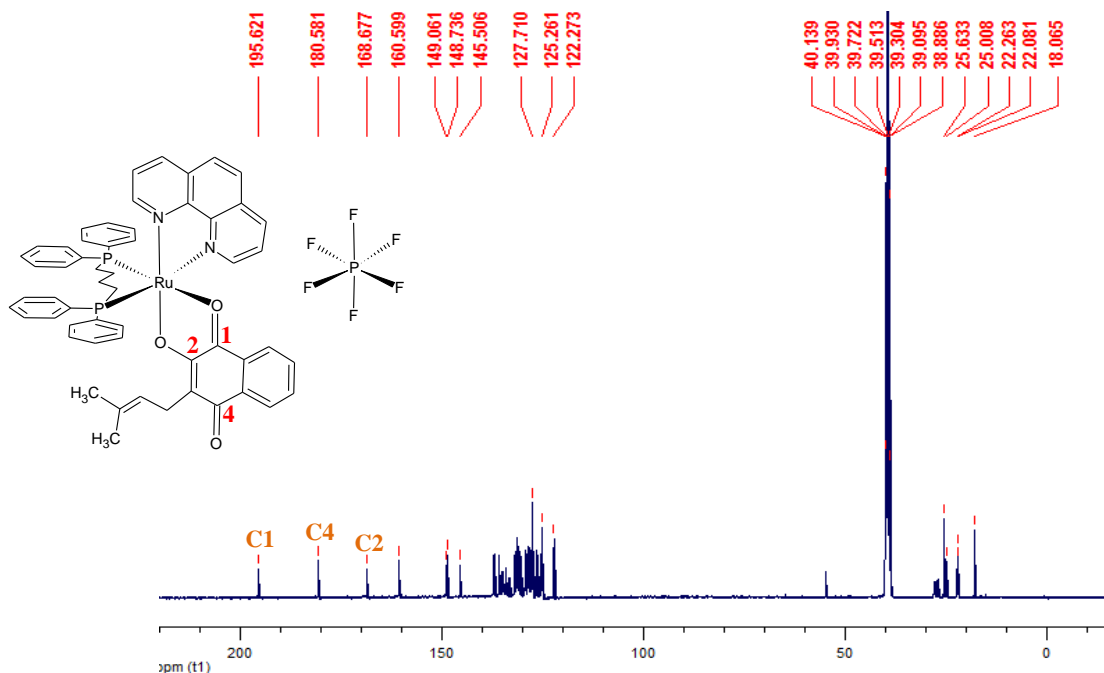


FIGURA A16. Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$, em DMSO-d_6 .

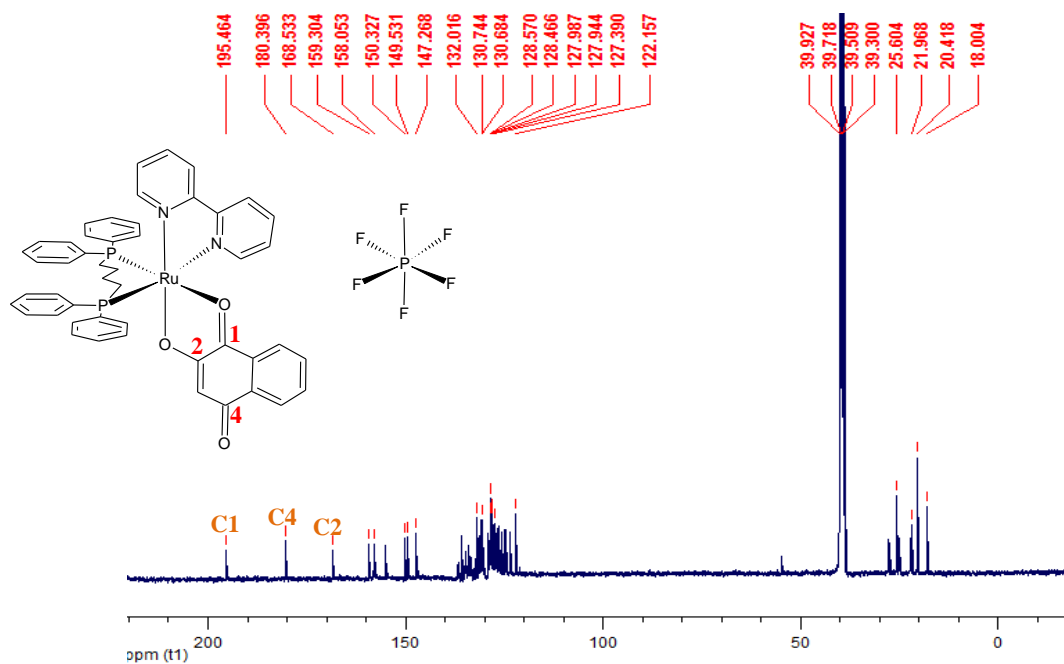


FIGURA A17. Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ em DMSO-d_6 .

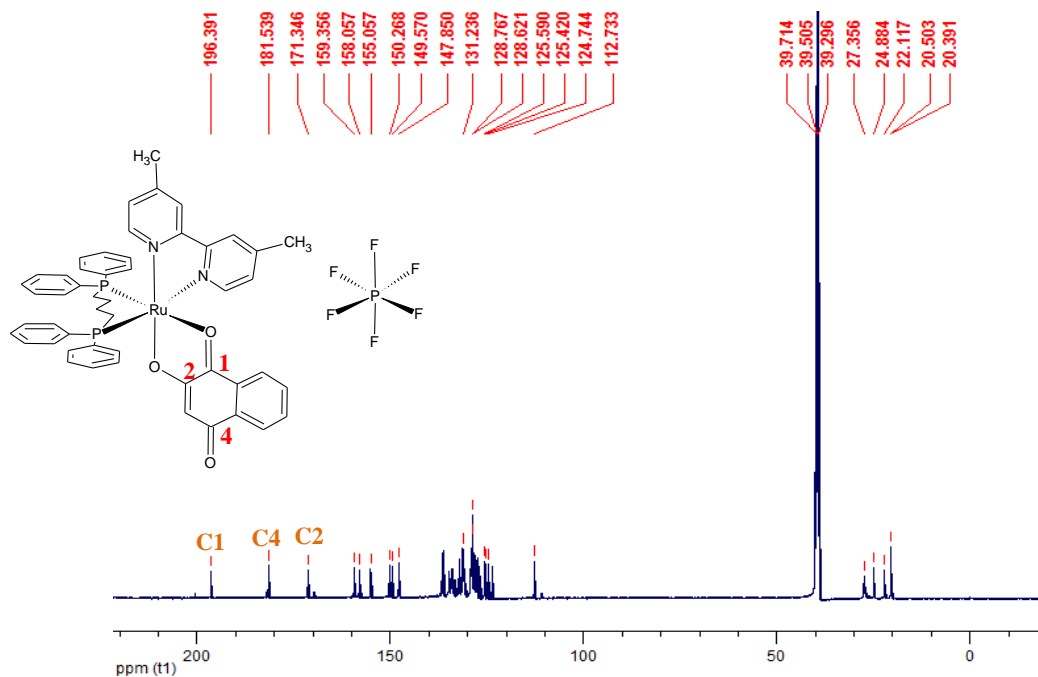


FIGURA A18. Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$, em DMSO-d_6 .

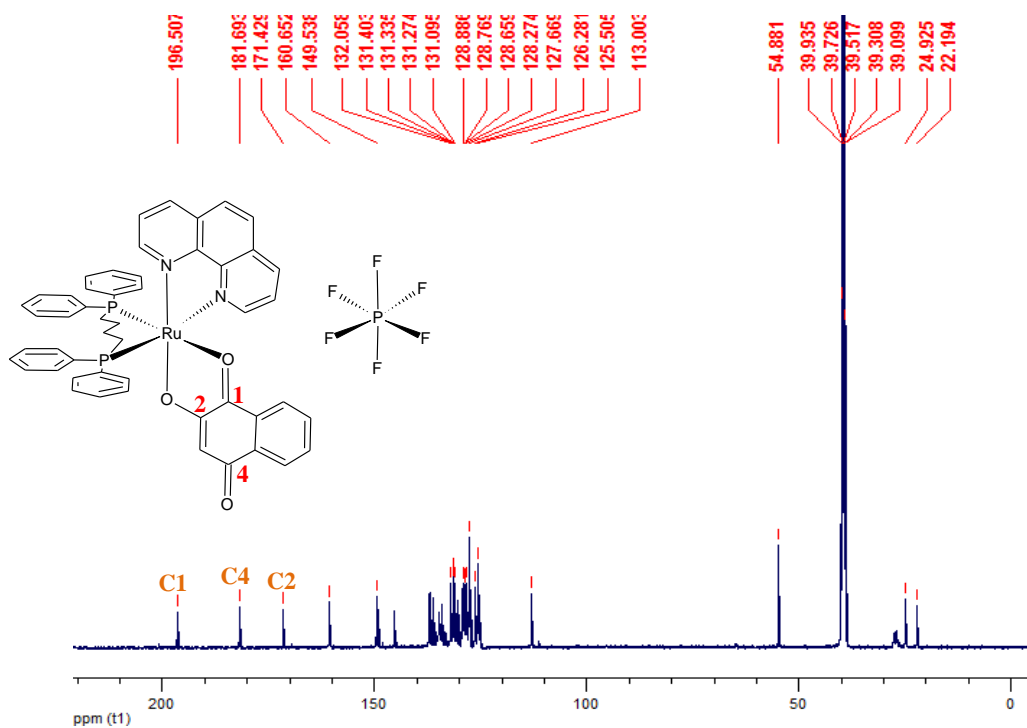


FIGURA A19. Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$, em DMSO-d_6 .

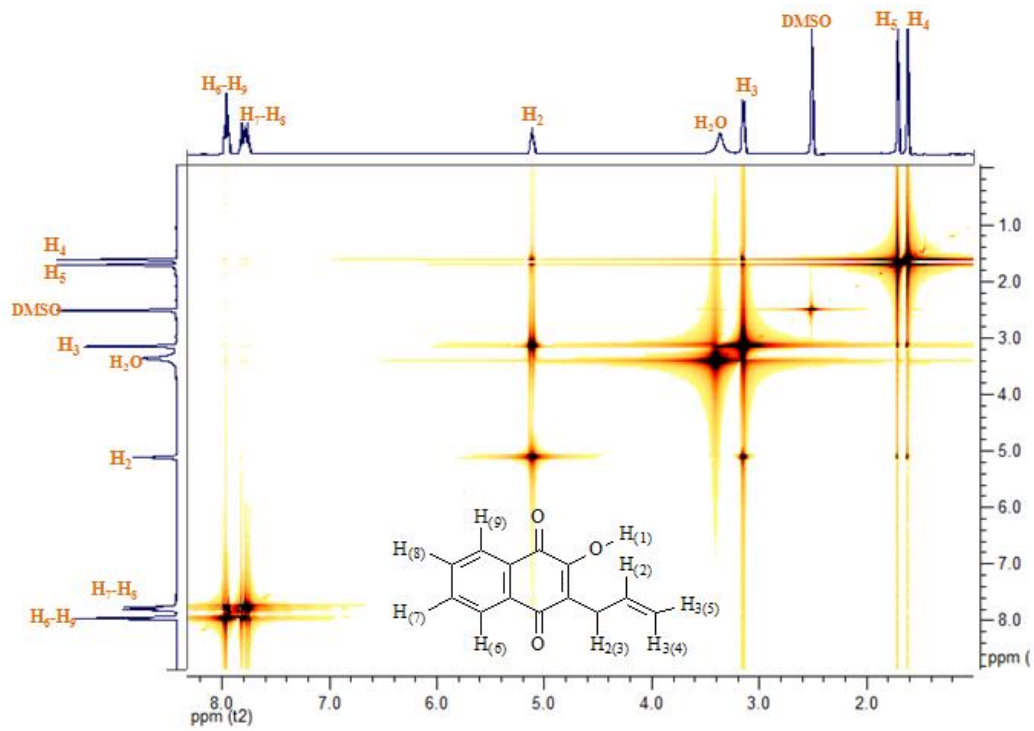


FIGURA A20. Espectro de RMN de COSY do lap, em DMSO-d₆.

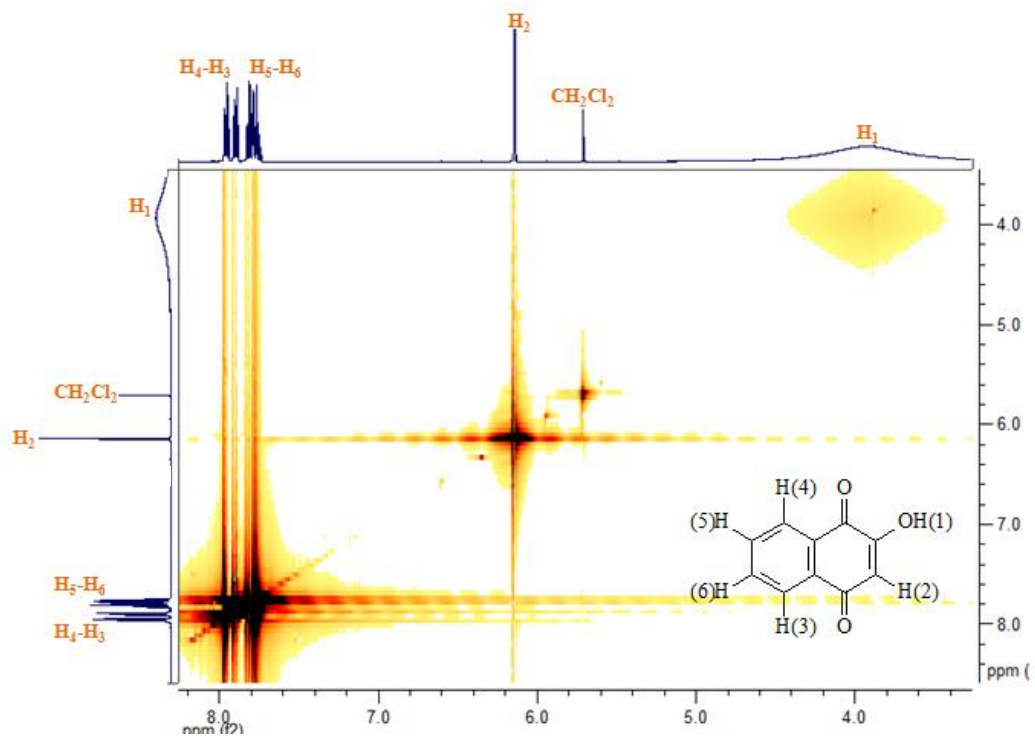


FIGURA A21. Espectro de RMN de COSY da lau, em DMSO-d₆.

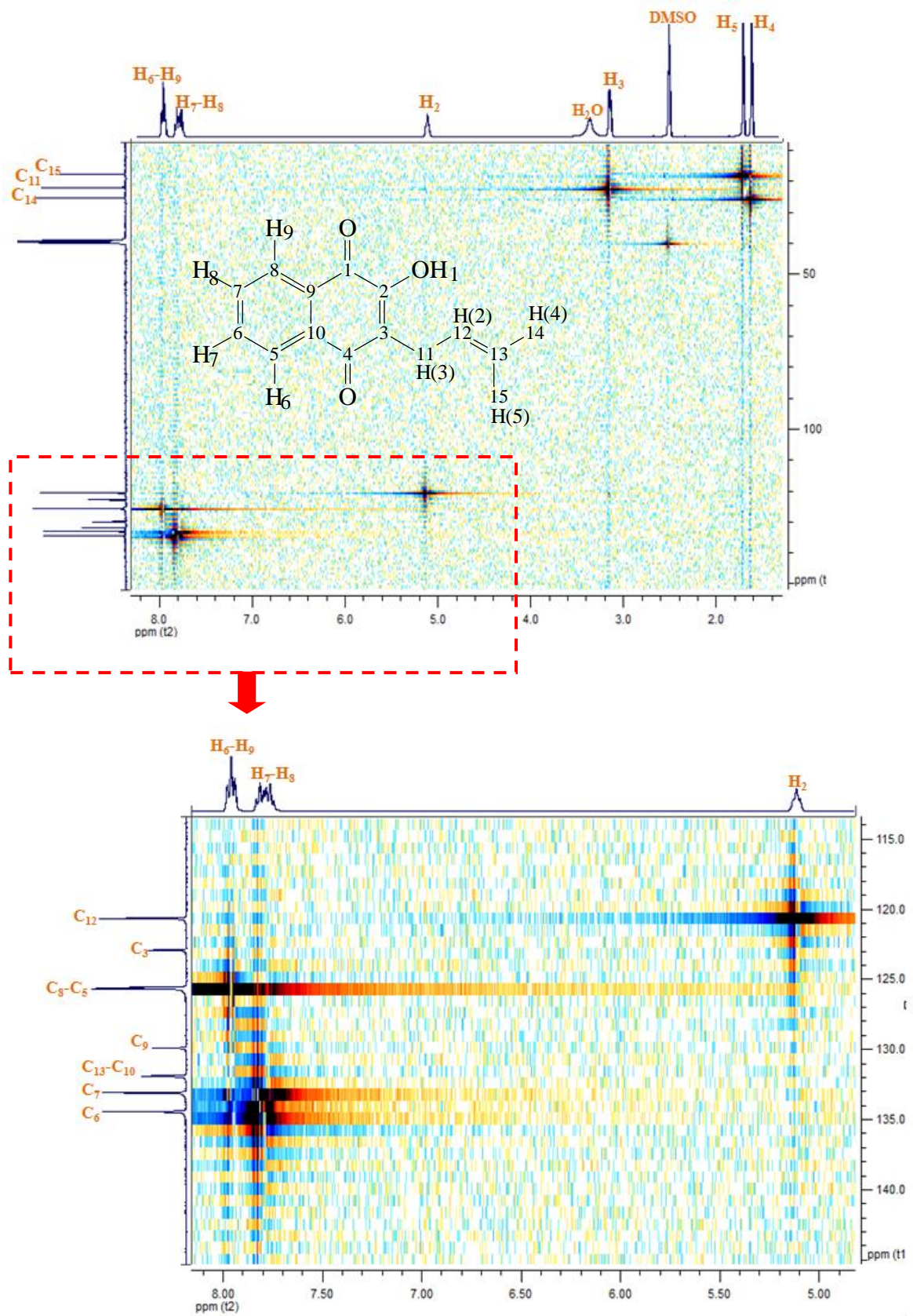


FIGURA A22. Espectro de RMN de HSQC do lap, em DMSO-d₆.

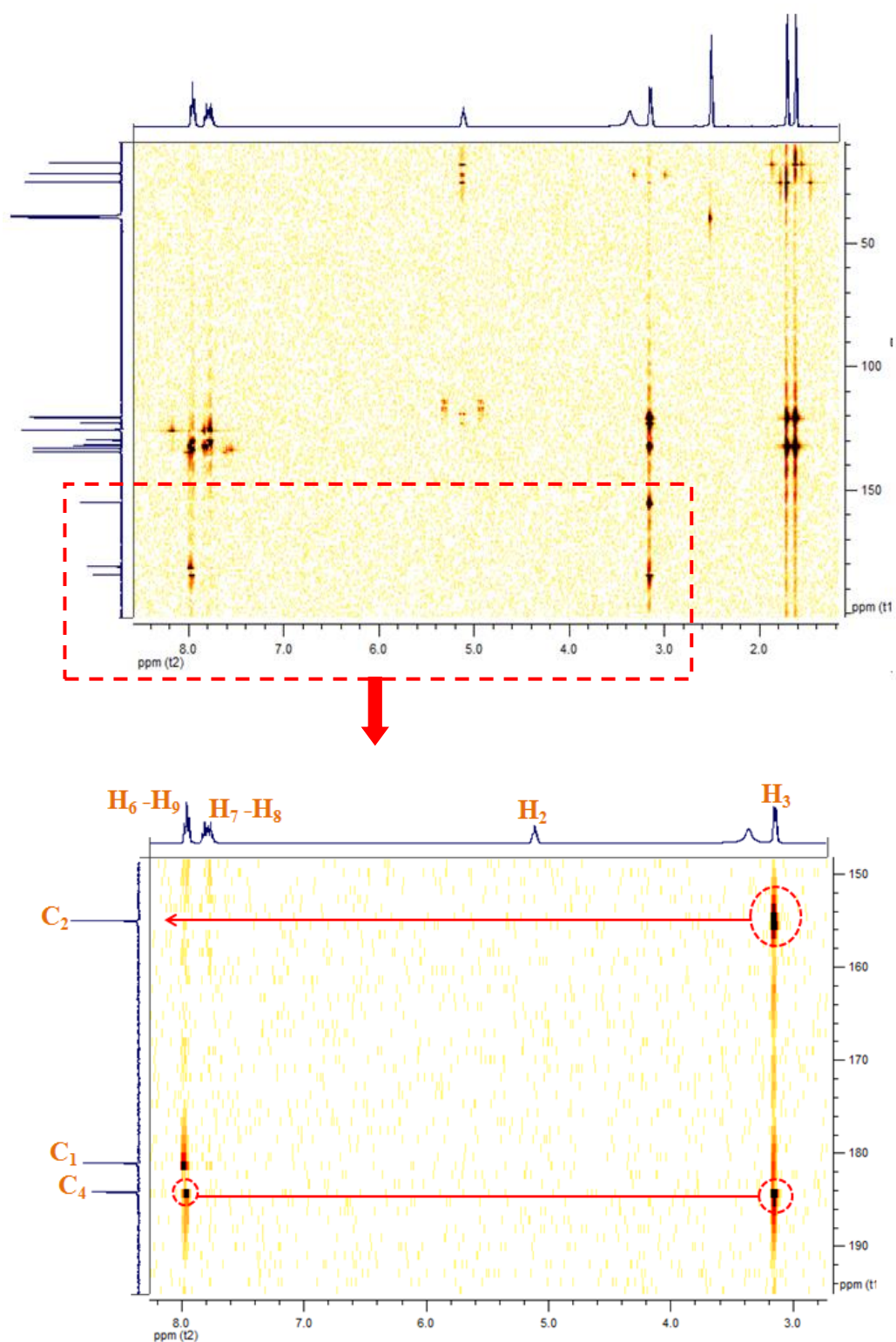


FIGURA A23. Espectro de RMN de HMBC do lap, em DMSO-d₆.

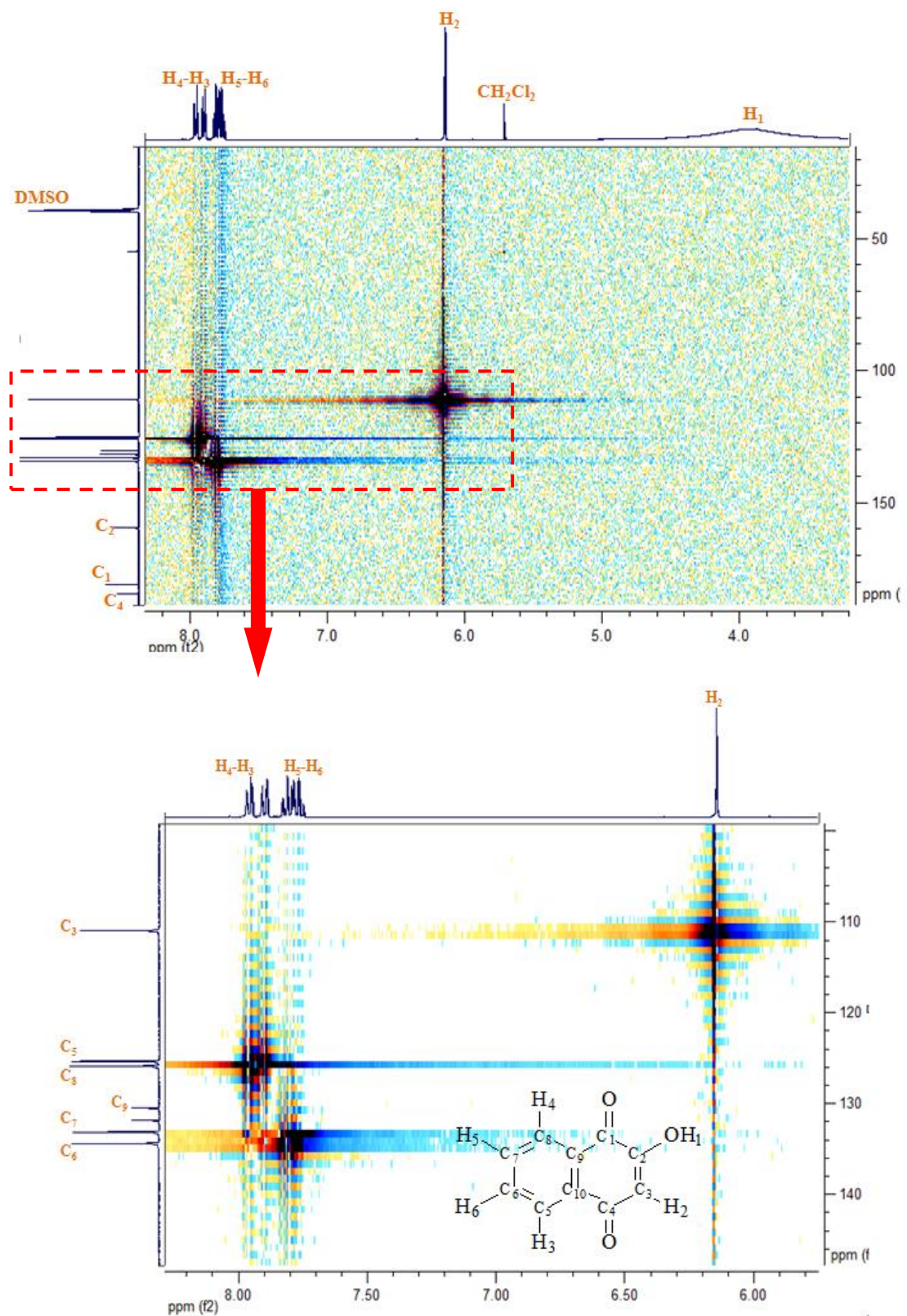


FIGURA A24. Espectro de RMN de HSQC da lau, em DMSO-d₆.

TABELA A1. Dados das estruturas de raios X dos complexos **(1)** [Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF₆, **(2)** [Ru(lau)(dppb)(bipy)]PF₆ e **(3)** [Ru(lau)(dppb)(fen)]PF₆

Complexo	(1)	(2)	(3)
Fórmula	C ₅₄ H ₅₁ Cl ₂ F ₆ N ₂ O ₃ P ₃ Ru	C ₄₉ H ₄₃ Cl ₂ F ₆ N ₂ O ₃ P ₃ Ru	C ₅₁ H ₄₃ Cl ₂ F ₆ N ₂ O ₃ P ₃ Ru
Massa molar	1154.85	1086.73	1110.75
Sistema cristalino	Triclínico	Monoclínico	Monoclínico
Grupo espacial	P-1	P2(1)/c	P2(1)/n
Dimensões da cela unitária	a = 11.7860(2) Å	a = 13.7656(3) Å	a = 18.0711(5) Å
	α = 94.5210(10)°	α = 90°	α = 90°
	b = 12.8648(2) Å	b = 14.7135(3) Å	b = 14.5940(4) Å
	β = 100.4210(10)°	β = 91.8920(10)°	β = 100.8130(10)°
	c = 17.3677(3) Å	c = 23.3155(5) Å	c = 18.6875(5) Å
	γ = 92.8070(10)°	γ = 90°	γ = 90°
Volume	2576.50(7) Å ³	4719.75(17) Å ³	4840.9(2) Å ³
Z	2	4	4
Densidade (calculada)	1.489 mg/m ³	1.529 mg/m ³	1.524 mg/m ³
Coefficiente de absorção	0.569 mm ⁻¹	0.615 mm ⁻¹	0.602 mm ⁻¹
F(000)	1180	2208	2256
Tamanho do cristal	0.394 x 0.124 x 0.071 mm ³	0.338 x 0.172 x 0.101 mm ³	0.33 x 0.24 x 0.12 mm ³
Alcance de θ para coleta	1.59 para 25.44°	1.64 para 25.39°	1.78 para 25.48°
Alcances dos índices	-14 ≤ h ≤ 14, -15 ≤ k ≤ 15, -20 ≤ l ≤ 20	-15 ≤ h ≤ 16, -17 ≤ k ≤ 16, -27 ≤ l ≤ 28	-21 ≤ h ≤ 21, -17 ≤ k ≤ 15, -21 ≤ l ≤ 22
Reflexões coletadas	30352	31214	31854
Reflexões independentes	9463 [R(int) = 0.0211]	8631 [R(int) = 0.0260]	8895 [R(int) = 0.0365]
Correção de absorção	Semi-empírico para equivalentes	Semi-empírico para equivalentes	Semi-empírico para equivalentes
Max. e min. de transmissão	0.9613 e 0.8087	0.9410 e 0.8180	0.9313 e 0.8261
Método de refinamento	Matriz dos mínimos quadrado em F ²	Matriz dos mínimos quadrado em F ²	Matriz dos mínimos quadrado em F ²
Índices R final [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0346, wR2 = 0.0836	R1 = 0.0469, wR2 = 0.1331	R1 = 0.0500, wR2 = 0.1492
Índices R (todos)	R1 = 0.0417, wR2 = 0.0888	R1 = 0.0571, wR2 = 0.1417	R1 = 0.0609, wR2 = 0.1591
Residual máx.. min.	0.781 e -0.836 e.Å ⁻³	1.237 e -0.824 e.Å ⁻³	0.795 e -1.335 e.Å ⁻³

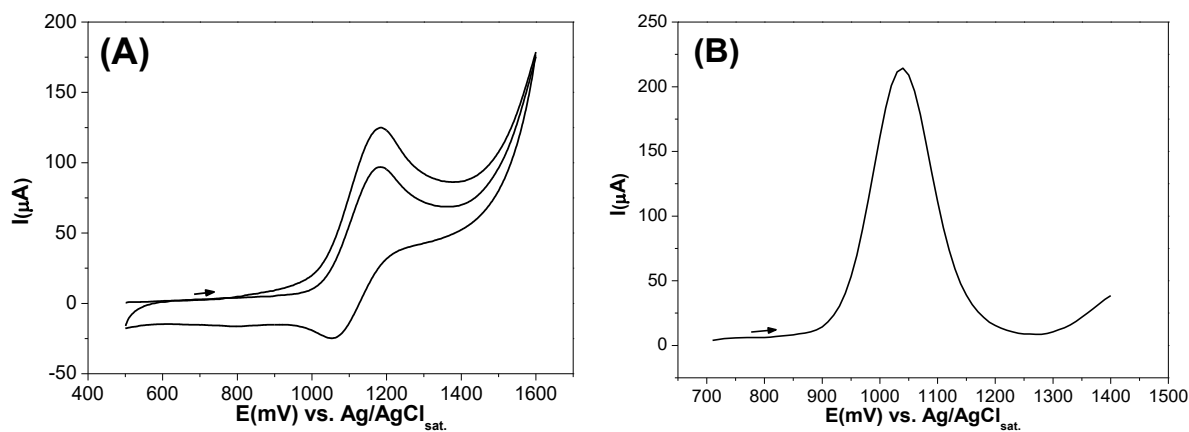


FIGURA A25. (A) Voltamograma cíclico e (B) de pulso diferencial para o complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA, em CH_2Cl_2 .

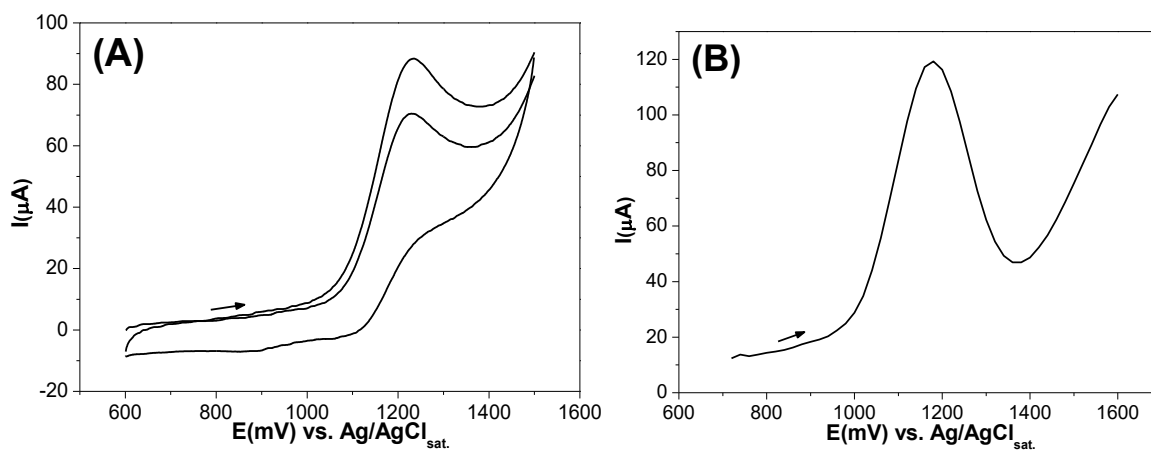


FIGURA A26. (A) Voltamograma cíclico e (B) de pulso diferencial para o complexo $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA, em CH_2Cl_2 .

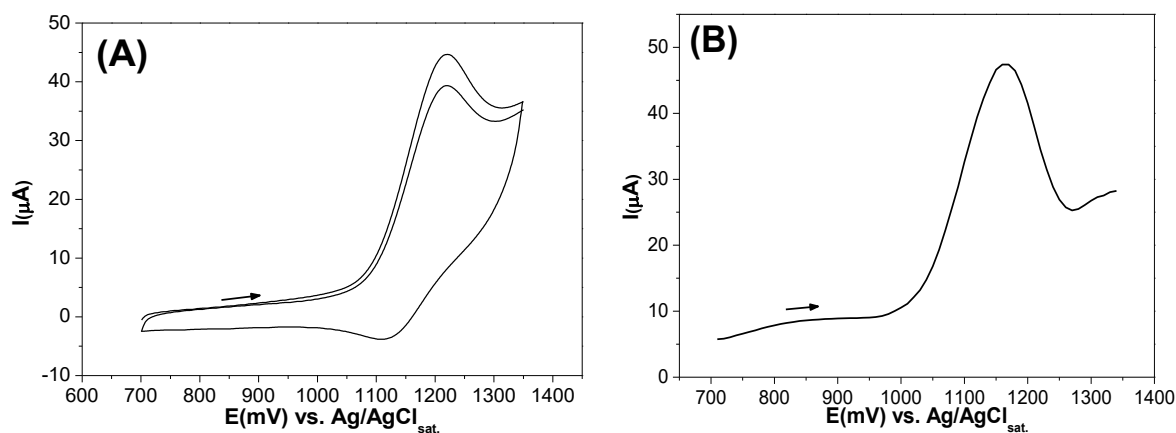


FIGURA A27. (A) Voltamograma cíclico e (B) de pulso diferencial para o complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA, em CH_2Cl_2 .

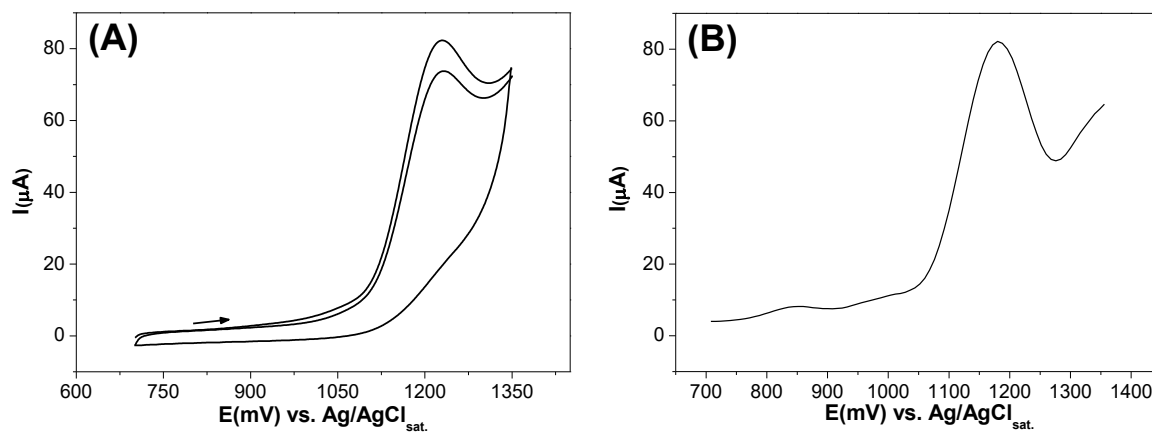


FIGURA A28. (A) Voltamograma cíclico e (B) de pulso diferencial para o complexo $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA, em CH_2Cl_2 .

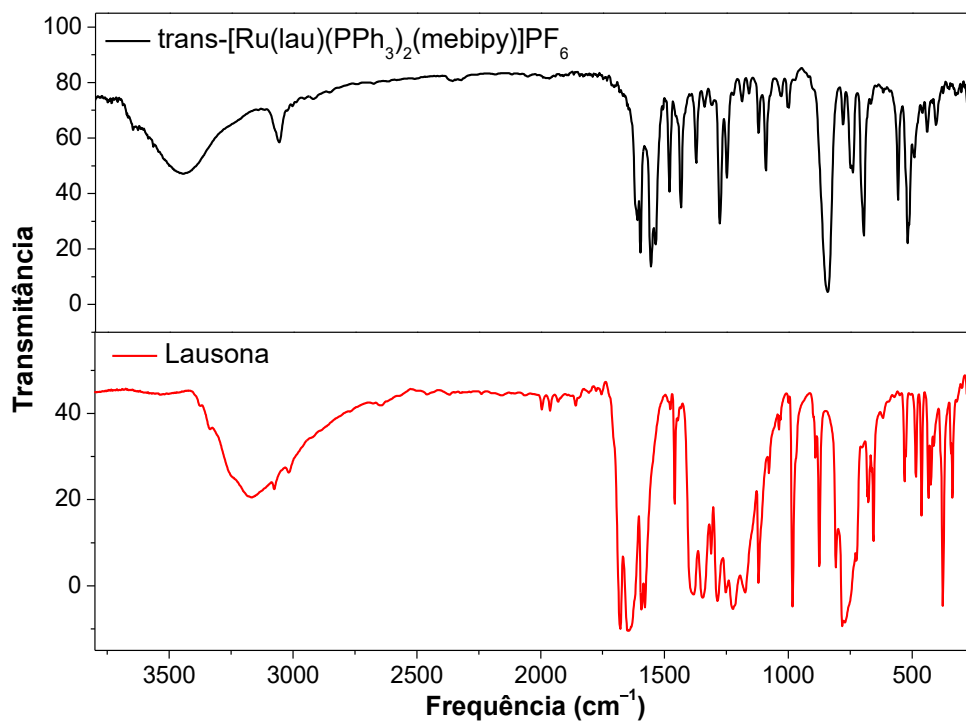


FIGURA A29. Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante lausona e do complexo $\text{trans}-[\text{Ru}(\text{lau})(\text{PPh}_3)_2(\text{mebipy})]\text{PF}_6$, em pastilhas de KBr.

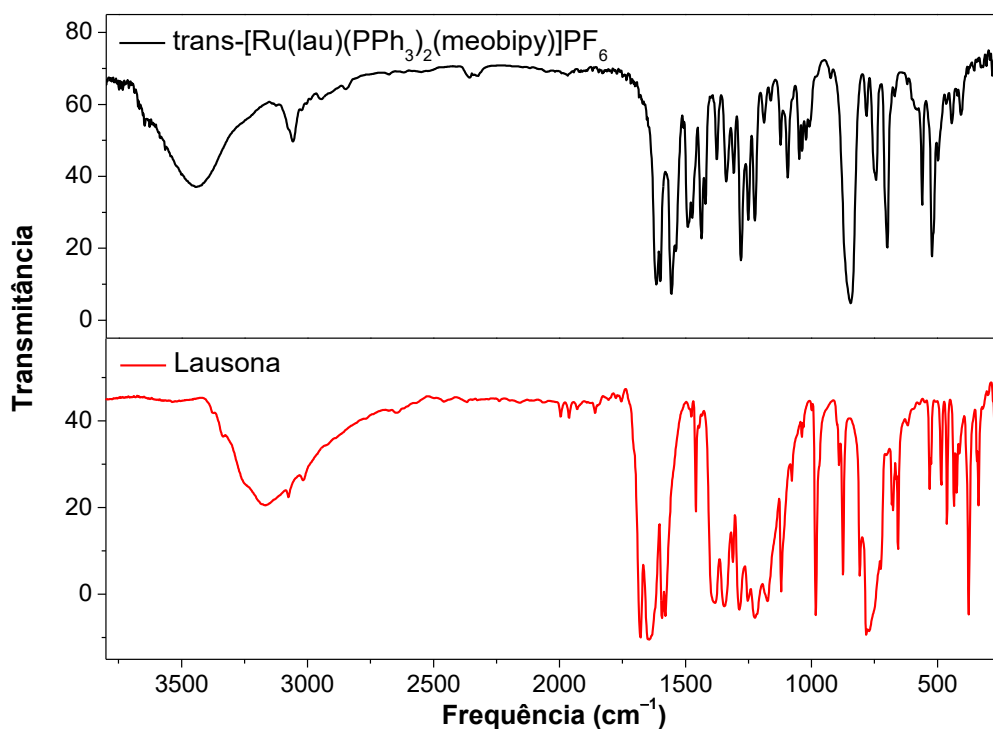


FIGURA A30. Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante lau e do complexo $\text{trans-[Ru(lau)(PPh}_3)_2(\text{meobipy})]\text{PF}_6$, em pastilhas de KBr.

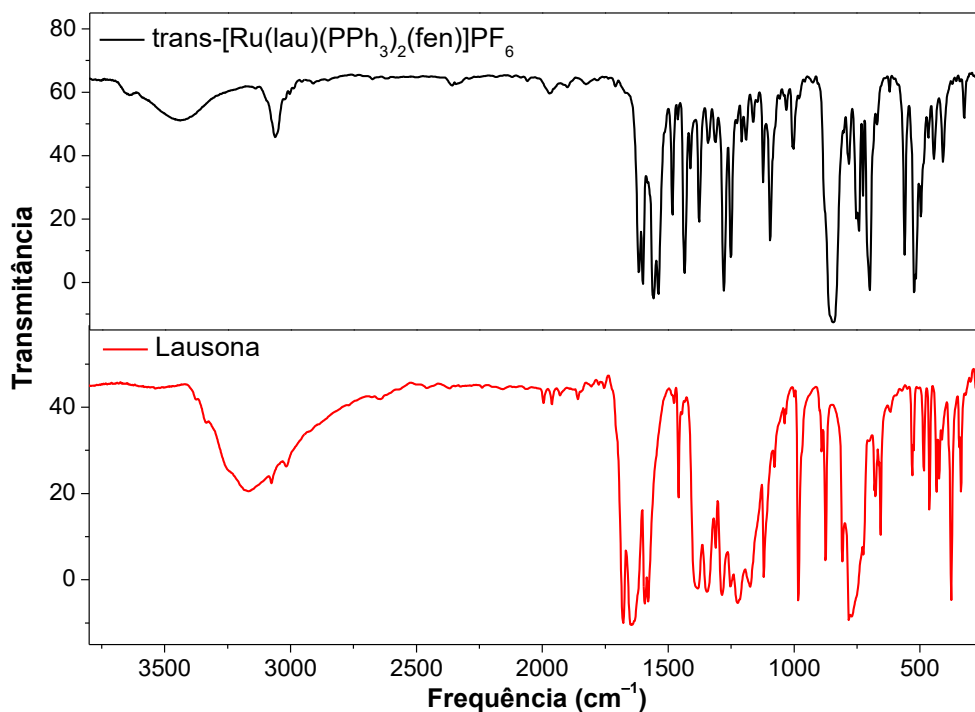


FIGURA A31. Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante lau e do complexo $\text{trans-[Ru(lau)(PPh}_3)_2(\text{fen})]\text{PF}_6$ em pastilhas de KBr.

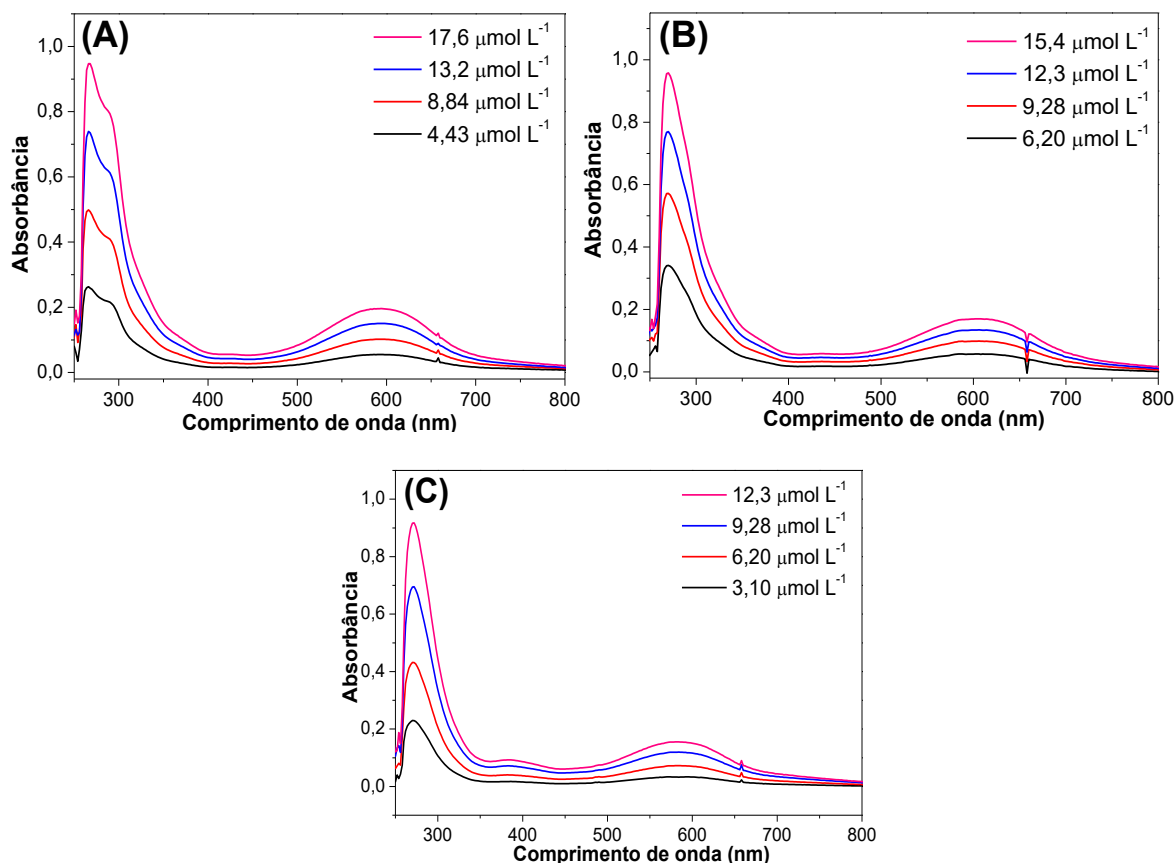


FIGURA A32. Espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis para os complexos (A) *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(mebipy)]PF₆, (B) *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(meobipy)]PF₆ e (C) *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(fen)]PF₆, em DMSO.

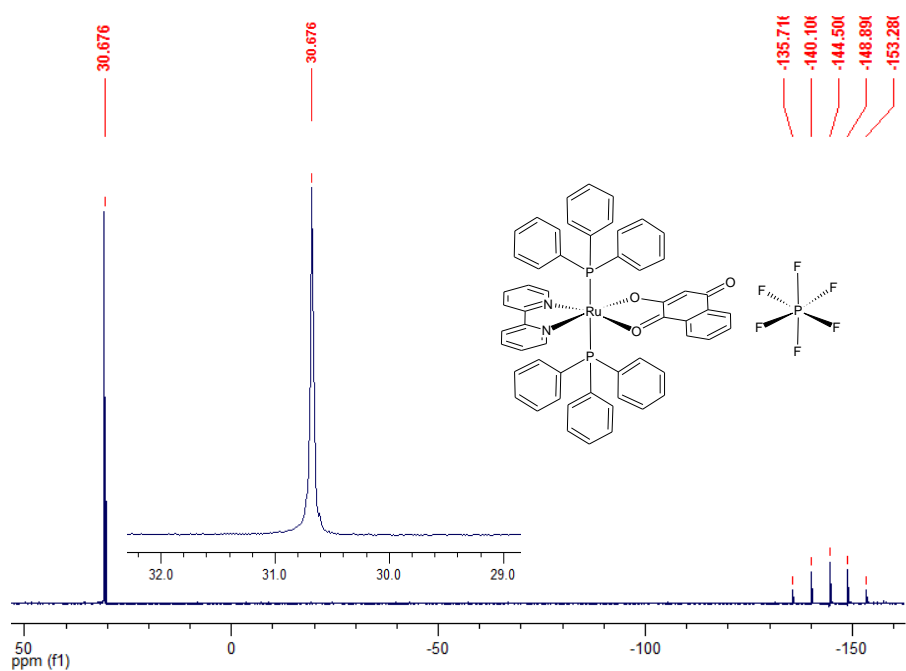


FIGURA A33. Espectro de RMN ³¹P{¹H} do complexo *trans*-[Ru(lau)(PPh₃)₂(bipy)]PF₆ em CH₂Cl₂/D₂O.

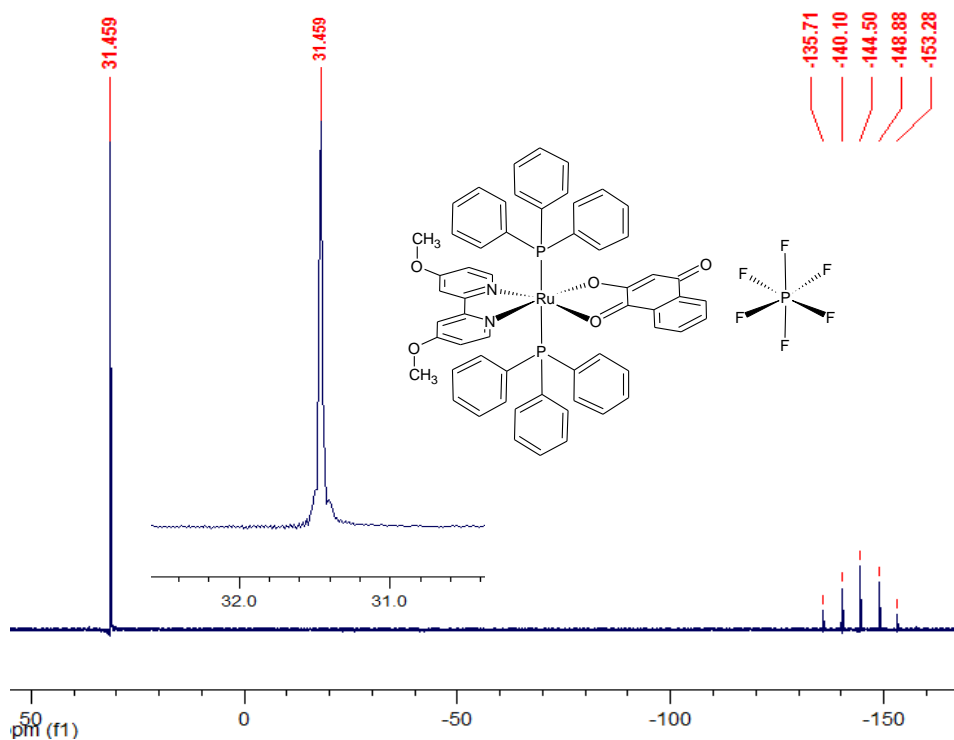


FIGURA A34. Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{lau})(\text{PPh}_3)_2(\text{meobipy})]\text{PF}_6$, em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$.

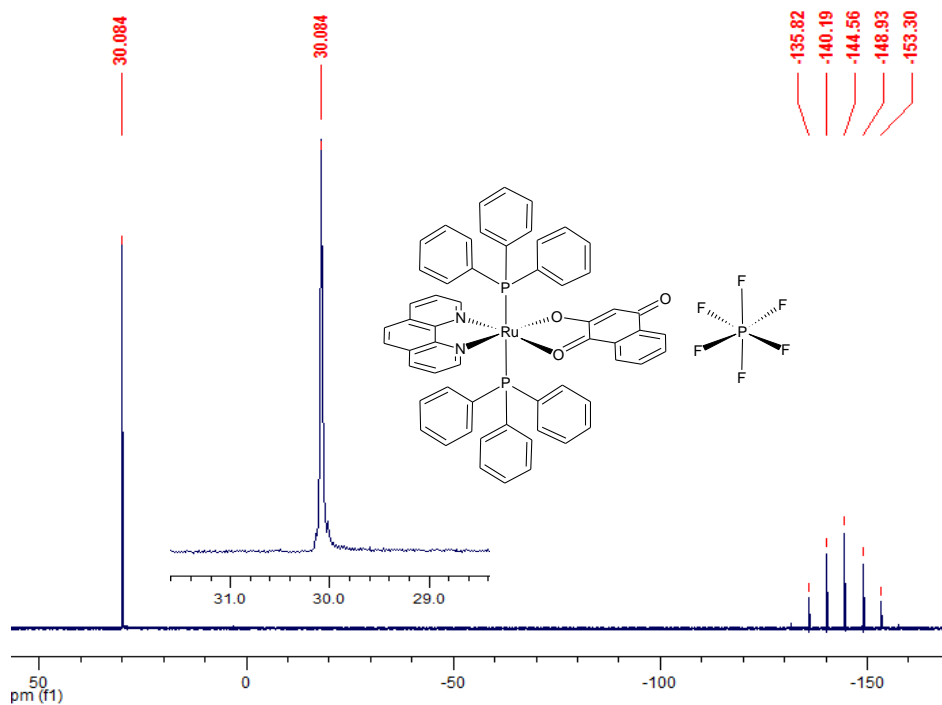


FIGURA A35. Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{lau})(\text{PPh}_3)_2(\text{fen})]\text{PF}_6$, em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$.

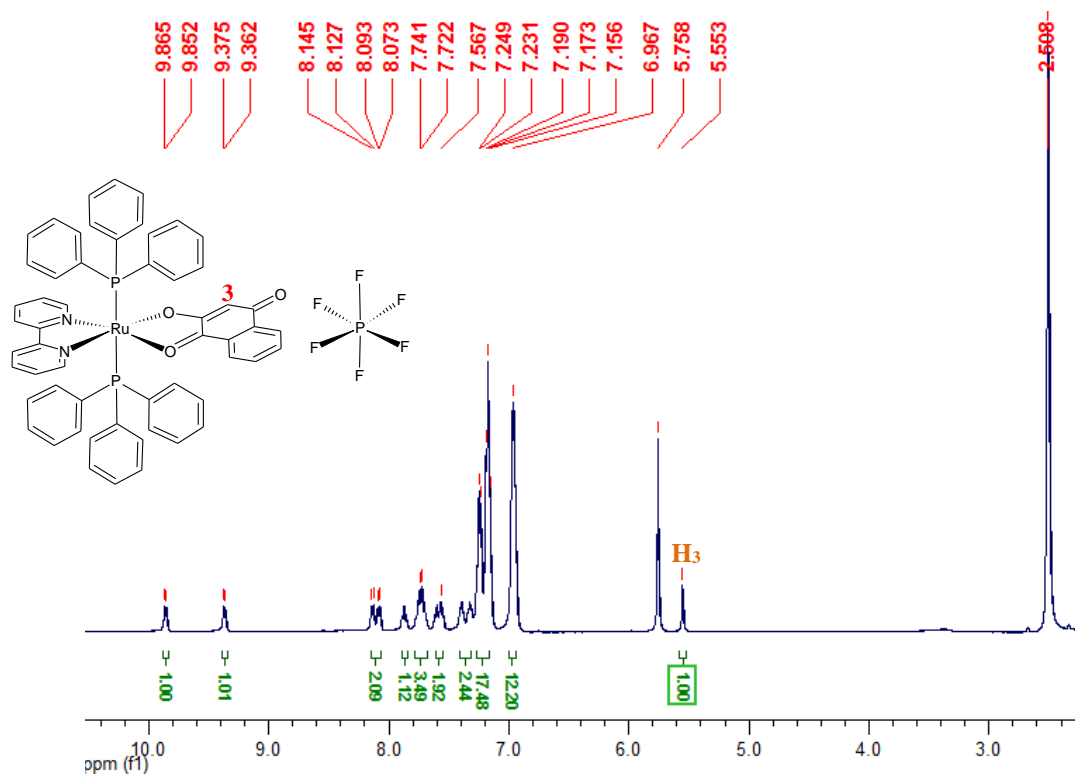


FIGURA A36. Espectro de RMN ^1H do complexo $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{lau})(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em DMSO-d_6 .

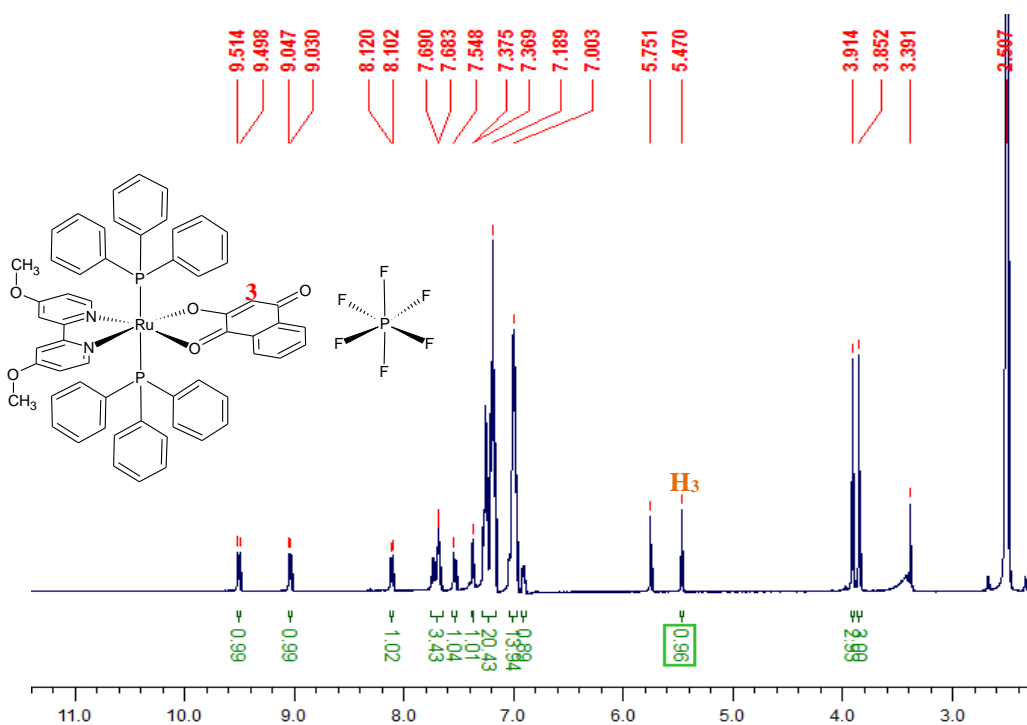


FIGURA A37. Espectro de RMN ^1H do complexo $trans\text{-}[\text{Ru}(\text{lau})(\text{PPh}_3)_2(\text{meobipy})]\text{PF}_6$, em DMSO-d_6 .

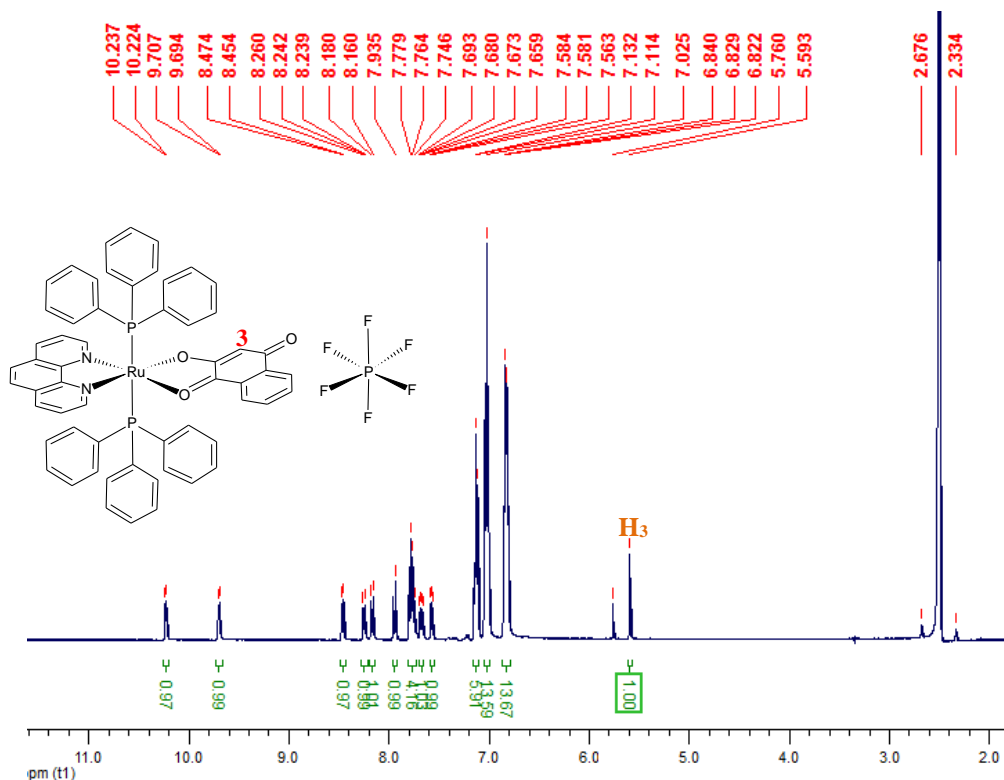


FIGURA A38. Espectro de RMN 1H do complexo $trans-[Ru(lau)(PPh_3)_2(fen)]PF_6$, em DMSO- d_6 .

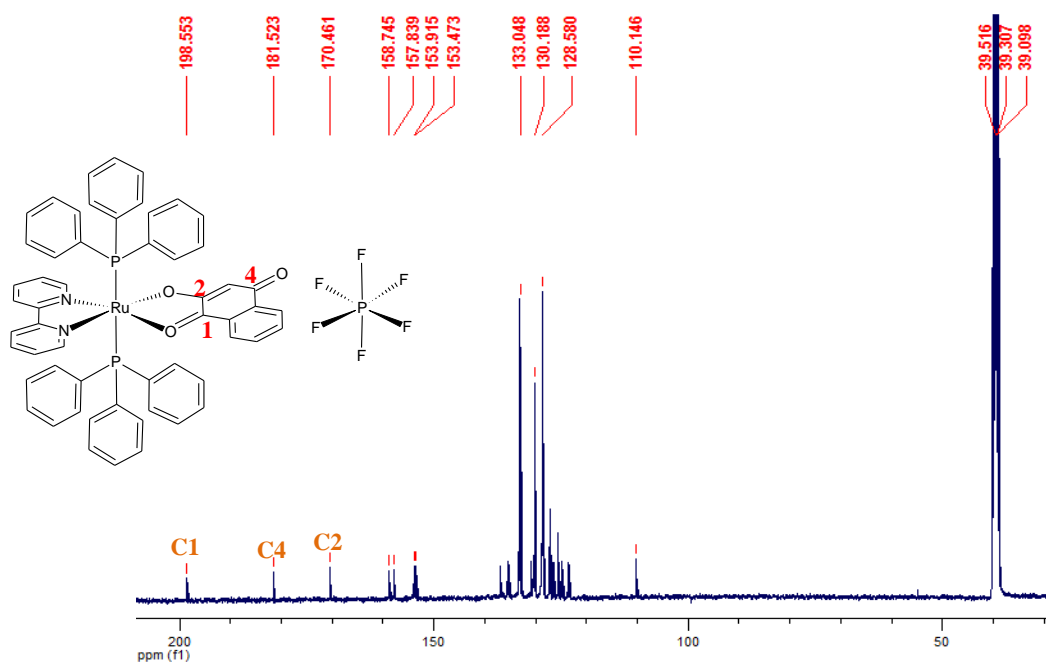


FIGURA A39. Espectro de RMN $^{13}C\{^1H\}$ para o complexo $trans-[Ru(lau)(PPh_3)_2(bipy)]PF_6$, em DMSO- d_6 .

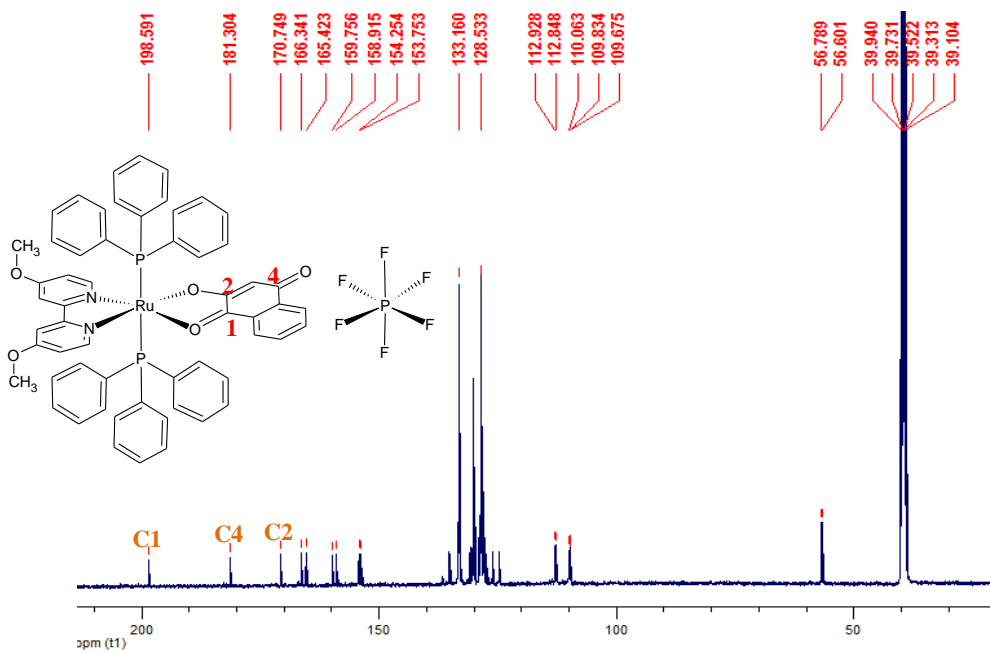


FIGURA A40. Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo $trans\text{-[Ru(lau)(PPh}_3)_2(\text{meobipy})]\text{PF}_6$, em DMSO- d_6 .

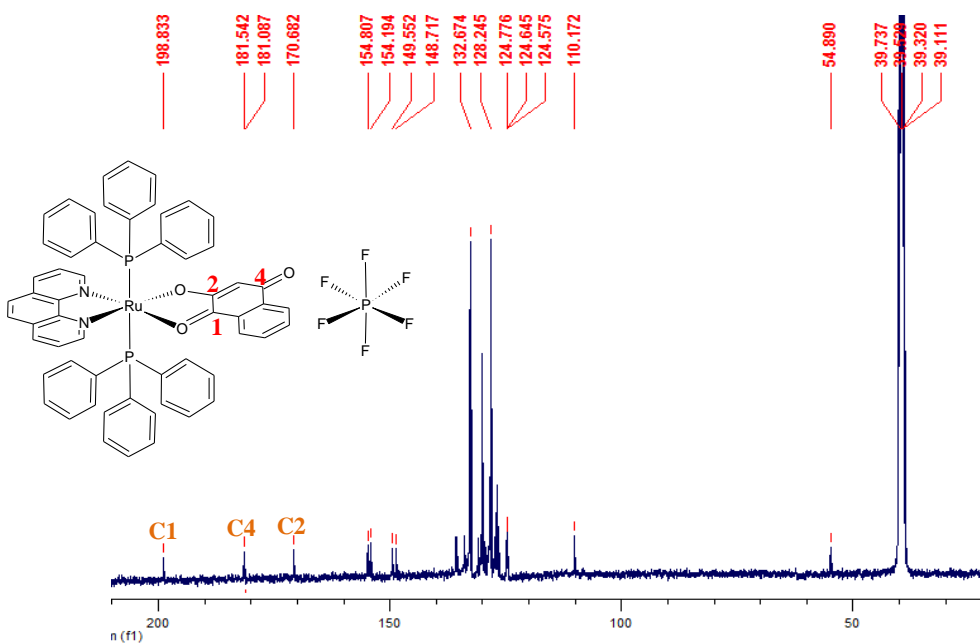


FIGURA A41. Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ para o complexo $trans\text{-[Ru(lau)(PPh}_3)_2(\text{fen})]\text{PF}_6$, em DMSO- d_6 .

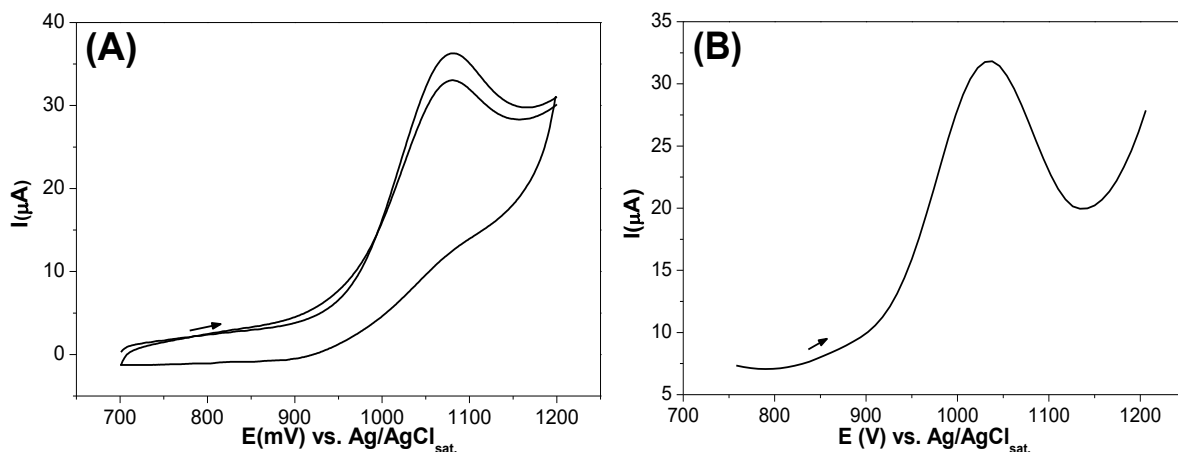


FIGURA A42. (A) Voltamograma cíclico e (B) de pulso diferencial para o complexo $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{lau})(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})]\text{PF}_6$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA, em CH_2Cl_2 .

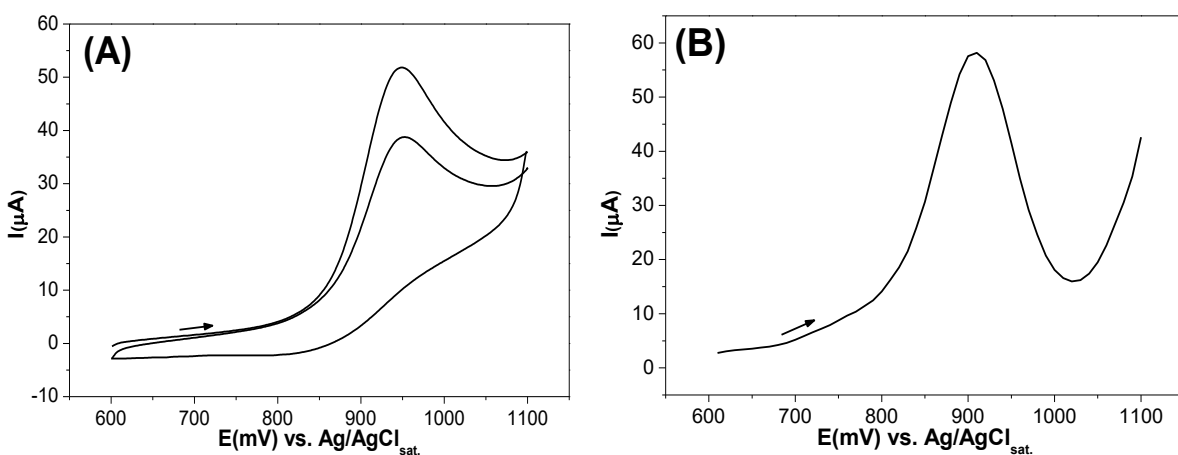


FIGURA A43. (A) Voltamograma cíclico e (B) de pulso diferencial para o complexo $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{lau})(\text{PPh}_3)_2(\text{meobipy})]\text{PF}_6$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA, em CH_2Cl_2 .

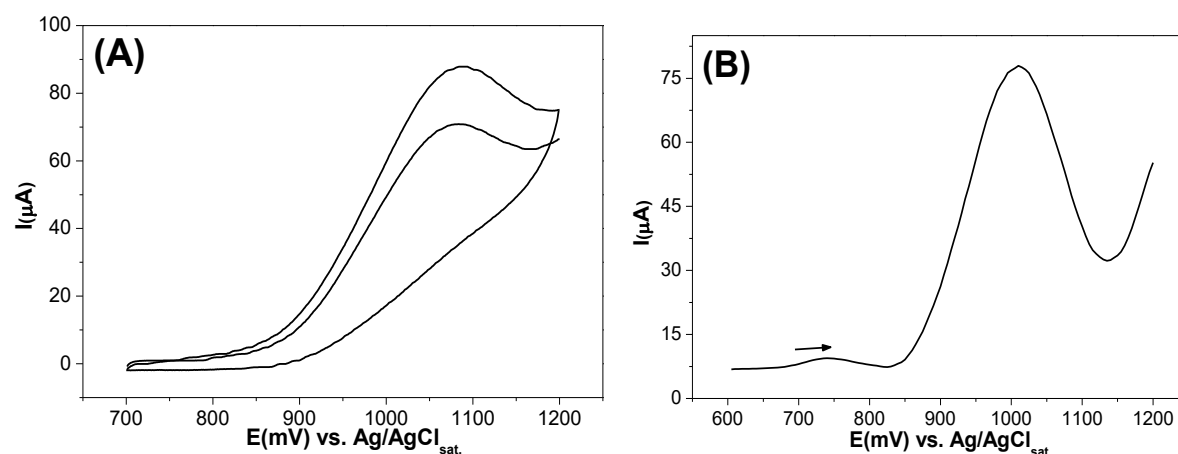


FIGURA A44. (A) Voltamograma cíclico e (B) de pulso diferencial para o complexo $\text{trans-}[\text{Ru}(\text{lau})(\text{PPh}_3)_2(\text{fen})]\text{PF}_6$ em $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA, em CH_2Cl_2 .

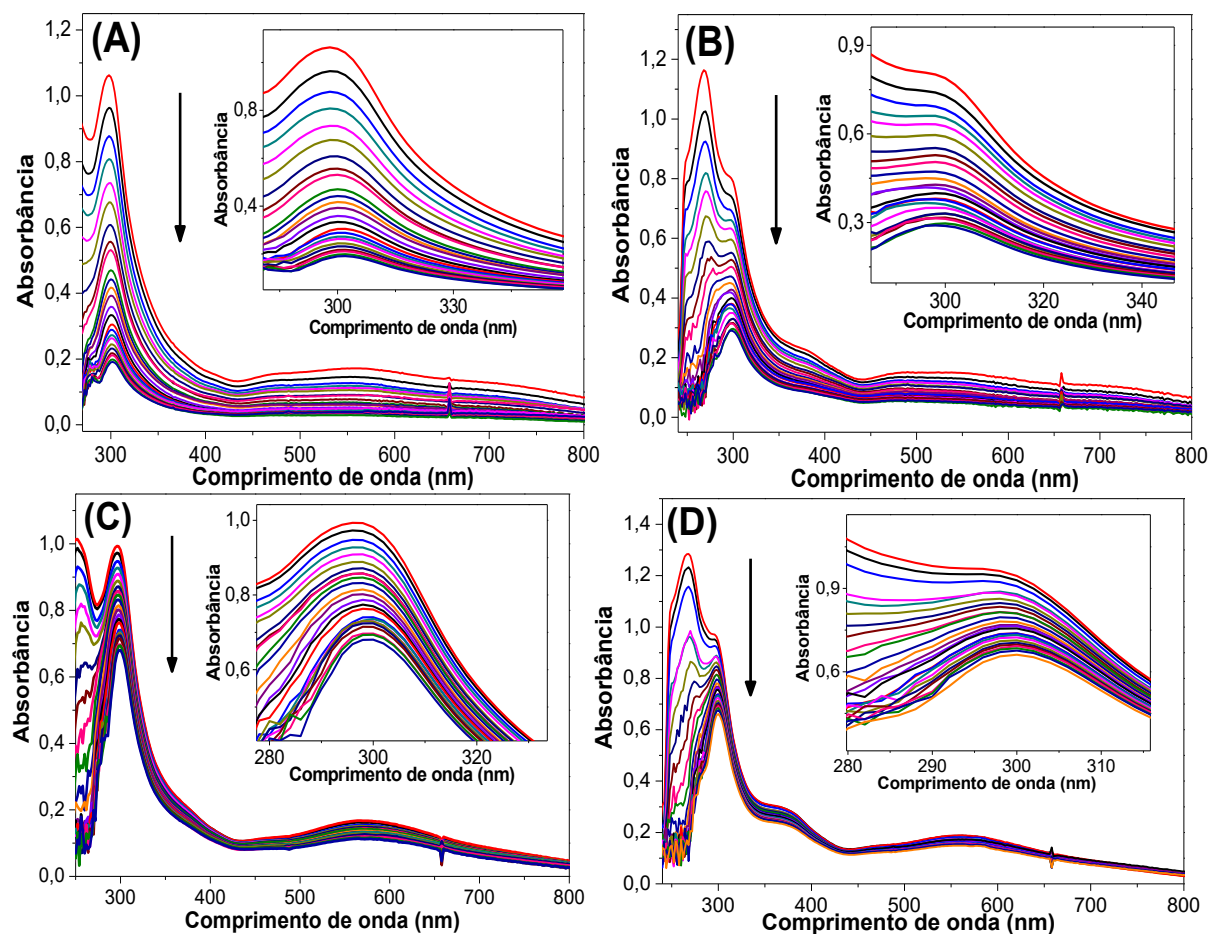


FIGURA A45. Espectros de titulações espectroscópicas dos complexos da série 1 com o DNA. **(A)** $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$, **(B)** $[\text{Ru}(\text{lap})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$, **(C)** $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{mebipy})]\text{PF}_6$ e **(D)** $[\text{Ru}(\text{lau})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$ nas concentrações de $3,5 \times 10^{-5}$, $2,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, $3,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e $3,5 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, respectivamente, $[\text{DNA}] = 4,64 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ em pH 7,4.