

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

“SOBRE A INFLUÊNCIA DE FOSFINAS E DO LIGANTE ISOCIANIDA DE *P*-TOLUENOSULFONILMETILA NA CITOTOXICIDADE DE COMPOSTOS DE Ru(II)”

Rafael Gomes da Silveira*

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

Orientador: Profa. Dra. Wânia da Conceição Moreira
Coorientador: Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista

* bolsista CNPQ

São Carlos - SP
2018



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

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

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Tese de Doutorado do candidato Rafael Gomes da Silveira, realizada em 17/08/2018:

Prof. Dra. Wania da Conceição Moreira
UFSCar

Prof. Dr. Edenir Rodrigues Pereira Filho
UFSCar

Prof. Dr. Filipe Vieira Rocha
UFSCar

Prof. Dr. Luciano Moraes Lião
UFG

Prof. Dr. Pedro Paulo Corbi
UNICAMP

“What we know is a drop, what we don't know is an ocean.”

Isaac Newton

A todas pessoas que fizeram parte desta longa jornada. Ao meu pai Ailton Pedro, a minha mãe Sonia Maria, a minha avó Maria Terezinha e minhas irmãs Naira Patrícia e Larissa e a minha esposa Beatriz Nogueira que sempre me ajudou e que sem ela com certeza não estaria aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Sonia Maria e Ailton Pedro, que apesar de todas dificuldades sempre fizeram de tudo para que seus filhos tivessem a oportunidade de não seguir os caminhos já traçados por uma sociedade tão desigual e injusta.

A minhas irmãs Naira e Larissa, minha avó Tereza, às minhas “feras” que amo tanto (Izabela, João Victor, Pedro, Gustavo Antônio, Angel, Rubem e Marcus Augusto).

Ao Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista, pela oportunidade de conhecer o mundo científico com todo apoio, paixão pela química, incentivo, discussões científicas e convivência durante este longo período de doutorado, contribuindo com meu crescimento profissional. Muito obrigado!

A Profa. Dra. Marcia Regina Cominetti (Gerontologia-UFSCar) pela disposição de seu laboratório para a execução dos testes biológicos. A Msc. Beatriz Nogueira, pela realização dos ensaios com células tumorais. A Msc. Liany Johanna pela realização dos ensaios de apoptose.

Aos Professores Dr. Ernesto Castellano pela ajuda com a cristalografia de raios-X e por suas conversas sobre cosmologia, evolução, misticismo e por compartilhar sua experiência de vida. Ao Dr. Rodrigo Correa (UFOP), Dr. Javier Elena (IFSC-USP) e Dr. Victor Marcelo Deflon (IQSC-USP) pela ajuda nas resoluções das estruturas cristalográficas. Ao prof. Dr. Aleksey E. Kuznetsov pelos ensinamentos sobre química teórica, ao prof. Dr. Fillipe Vieira Rocha pela ajuda com discussão de dados biológicos.

Aos amigos: Claudinha (que nos faz tanta falta), Legna, Katia, Wilmer, Angel, Rodrigo, Gabriel, Raul, Letícia, Monize, Anislay, Jocely, Mariana, Majo, Luciano, Celis, Taise, Tamires, Gregory, Angélica, Chico, Catão, Juan, Luan, Victor, Herisson, Marcus, Ana Cristina e tantos outros que não foi

possível citar aqui. Obrigada pelos momentos de descontração e todas as parcerias científicas.

A minha esposa Beatriz Nogueira, que é meu porto seguro, a pessoa sempre ao meu lado sempre disposta a me acompanhar independente das dificuldades, presente nas minhas conquistas e fracassos, tanto pessoais como científicos e agora no final do meu doutorado renovando os planos para os próximos desafios a serem superados.

Aos amigos que fiz na UFSCar, USP e na Embrapa, Mitchel, Tiago Almeida, Gelson Tiago, Juan Tenório, Luan Farrineli, Elson, Herrison, Jullimar, Rodrigo, Edjane, Caio, Pablo.

Ao professor Dr. Tiago Venancio pela ajuda na realização e discussão dos experimentos de RMN.

A professora Dr^a. Wânia da Conceição Moreira por toda atenção durante esse período.

Ao Departamento de Química da UFSCar e ao Programa de Pós-Graduação em Química, em especial às secretárias Ariane, Cristina e Luciani pela dedicação e por sempre ajudar a resolver os mais variados problemas;

Aos técnicos Ademir Sartori, Luciana Vizotto e Paulo Lambertucci pela disponibilidade e ajuda;

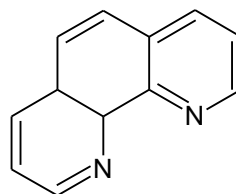
Ao CNPq, pela bolsa concedida.

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

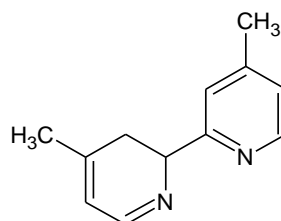
Å	Angstrom (10^{-10} m)
Acetone-d ₆	Acetona deuterada
A-549	Células de carcinoma de pulmão
CD ₂ Cl ₂	Diclorometano deuterado
<i>cis</i>	Isômero de posição <i>cis</i> de um composto inorgânico ou orgânico
COSY ¹ H- ¹ H	Correlação espectroscópica de hidrogênio
Da	Dalton, unidade de massa
DMEM	Meio de Eagle modificado por Dulbecco (Dulbecco's Modified Eagle Medium)
DRX	Difração de raios-X
DU-145	Células de câncer próstata
E ^{1/2}	Potencial de meia onda
E _{pa}	Potencial de pico anódico
E _{pc}	Potencial de pico catódico
f	Intensidade fraca da transmitância da banda no I.V.
F	Intensidade forte da transmitância da banda no I.V.
FDA	Food and Drug Administration (USA)
HSA	Albumina sérica humana (Human Serum Albumin)
Hz	Unidade de frequência em Hertz
IC ₅₀	Concentração de inibição do crescimento celular em 50 %
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IV	Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho
J	Constante de acoplamento
m	Intensidade média da transmitância da banda no I.V.
MLCT	Transferência de carga do metal para o ligante
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio
N-N	Ligantes N-heterocíclicos
nm	Nanômetro (10^{-9} m)
OMS	Organização Mundial da Saúde
P-P	Ligantes fosfínicos
ppm	Partes por milhão
PTBA	Perclorato de tetrabutílamônio

RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$	Ressonância Magnética Nuclear de ^{31}P desacoplado do ^1H
RPMI	Meio <i>Roswell Park Memorial Institute</i>
UV-vis	Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta e Visível
δ	Deslocamento químico nos espectros de RMN
ϵ	Coefficiente de extinção molar ou absorvidade molar
λ	Comprimento de onda
μ	Micro (10^{-6})
ν	Frequência de estiramento
γ	Vibrações de deformação angular fora do plano
ν_{sim}	Vibrações de estiramento simétrico
ν_{ass}	Vibrações de estiramento assimétrico
π	Ligação pi
σ	Ligação sigma

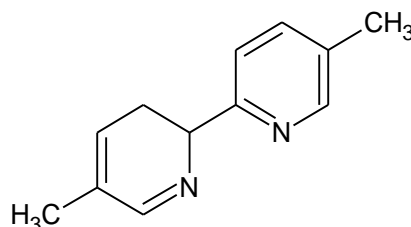
phen 1,10-fenantrolina



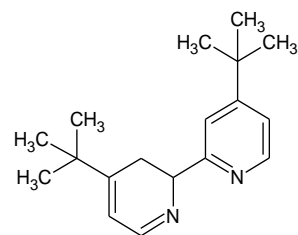
44bipy 4,4'-Dimetil-2,2'-bipiridina



55bipy 5,5'-Dimetil-2,2'-bipiridina

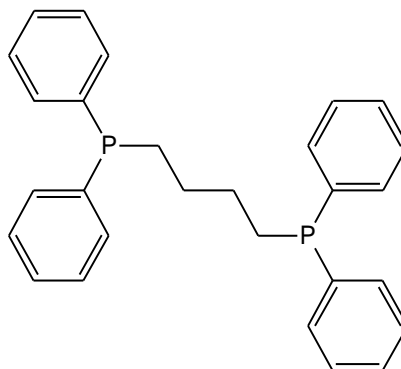


dtbipy

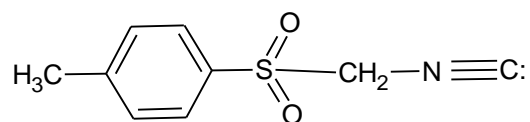
4,4'-Di-terc-butil-2,2'-
bipiridina

dppb

1,4-bis(difenilfosfina)butano



Tol

Isocianida de
p-Toluenosulfonilmetila

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1 - Valores de IC_{50} (μM) em várias linhagens celulares tumorais para alguns complexos de rutênio sintetizados no LERCI.....	18
TABELA 4.2 – Dados de condutância molar para os complexos 1a-6a e 1b-8b.....	54
TABELA 4.3 - Dados de análise elementar para os complexos 1a-6a e 1b-8b.	55
TABELA 4.4 - Atribuições das frequências vibracionais (cm^{-1}) dos complexos 1a-5a	57
TABELA 4.5 - Atribuições das frequências vibracionais (cm^{-1}) dos complexos 1b-8b.	59
TABELA 4.6 - Dados dos espectros eletrônicos dos complexos 1a-6a em DMSO. ($\epsilon/mol^{-1} cm^{-1} L$) λ/nm	62
TABELA 4.7 - Dados dos espectros eletrônicos dos complexos 1b-8b em DMSO. ($\epsilon/mol^{-1} cm^{-1} L$) λ/nm	62
TABELA 4.8- Dados de voltametria cíclica para os compostos 1a-8b ($50 mV s^{-1}$, Ag/AgCl). 67	
TABELA 4.9 - Valores de deslocamentos químicos (δ) e constante de acoplamento para os complexos 1a-5a e 1b-8b, em acetona/ D_2O	73
Tabela 4.10 – Faixa dos prótons alifáticos e integral, faixa dos H aromáticos mais blindados e faixa dos H aromáticos menos blindados nos espectros de RMN 1H dos compostos 1a-5a....	78
TABELA 4.11 – Dados das distâncias interprotons calculadas por NOE e DFT para os complexos 1a-5a	90
TABELA 4.12 – Faixa selecionada do espectro de 1H e integral dos prótons para os compostos 1b-8b.....	94
TABELA 4.13 – Atribuição dos deslocamentos químicos para os sinais referentes aos carbonos do grupo isonitrila ($:C\equiv N-$), metileno ($-CH_2-$), metila ($-CH_3$) do ligante Tol e dos ligantes diimínicos para os compostos 1b-8b, em acetona- d_6	101
TABELA 4.14 - Dados cristalográficos e refinamento para 1a, 2a e 5a.	105
TABELA 4.15 - Comprimentos de ligação (Å) e ângulos ($^\circ$) selecionados das estruturas 1a, 2a, 5a e precursor.	106
TABELA 4.16 - Dados cristalográficos e refinamento para complexos $[RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF_6$ (2b), $[RuCl(PPh_3)_2(bipy)(Tol)]PF_6$ (5b) e $[RuCl(PPh_3)_2(44bipy)(Tol)]PF_6$ (7b).....	112
Tabela 4.17 - Comprimentos de ligação (Å) e ângulos ($^\circ$) selecionados das estruturas $[RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF_6$ (2b), $[RuCl(PPh_3)_2(bipy)(Tol)]PF_6$ (5b) e $[RuCl(PPh_3)_2(44bipy)(Tol)]PF_6$ (7b).....	113

<i>TABELA 4.18 - Comprimentos de ligações selecionados (Å) para os dados obtidos por difração de raios-X e calculados por DFT para os complexos 1a-5a.....</i>	<i>114</i>
<i>TABELA 4.19 - deslocamentos químicos (δ) experimentais e teóricos para ^1H na região de 6,09 a 7,56.....</i>	<i>116</i>
<i>TABELA 4.20 - Dados obtidos pela equação de Stern-Volmer para a interação dos complexos 1a-6a com HSA (DP = desvio padrão).....</i>	<i>125</i>
<i>TABELA 4.21 - Dados obtidos pela equação de Stern-Volmer para a interação dos complexos 1b-8b, com HSA (DP = desvio padrão).....</i>	<i>125</i>
<i>TABELA 4.22 - Dados obtidos pela equação de Stern-Volmer para a interação dos complexos 1a-6a com HSA (DP = desvio padrão).....</i>	<i>127</i>
<i>TABELA 4.23 - Dados obtidos pela equação de Stern-Volmer para a interação dos complexos 1b-8b com HSA (DP = desvio padrão).....</i>	<i>127</i>
<i>TABELA 4.24 - Parâmetros termodinâmicos calculados para os compostos 1a-6a.....</i>	<i>129</i>
<i>TABELA 4.25 - Parâmetros termodinâmicos calculados para os compostos 1b-8b.....</i>	<i>130</i>
<i>TABELA 4.26 - Dados de lipofilicidade (Log P) dos complexos 1a-6a e 1b-8b.....</i>	<i>133</i>
<i>TABELA 4.27 - Valores de IC_{50} em $\mu\text{mol L}^{-1}$ para os complexos e ligantes avaliados nas linhagens tumorais e não tumoral.....</i>	<i>135</i>

LISTA DE FIGURAS

<i>FIGURA 1.1 – A química inorgânica medicinal e suas aplicações (adaptado De FARRER⁹). 2</i>	
<i>FIGURA 1.2 - Exemplos de compostos usados com sucesso em terapias e diagnósticos cotendo metais na estrutura, sendo a estruturas propostas da Arsfenamina por Paul Erlich (A) e por Lloyd, et. al. (B e C) ¹¹.....</i>	3
<i>FIGURA 1.3 - Representação da formação de tumor e metástase (adaptado De Smart.servier¹⁸).</i>	5
<i>FIGURA 1.4 - Representação dos principais tipos de câncer e números de morte causadas em 2015 no mundo.</i>	6
<i>FIGURA 1.5 - Porcentagens de incidência pelos principais tipos de câncer no Brasil para o biênio 2018-2019, exceto câncer de pele não melanoma (adaptado de INCA¹⁹).</i>	6
<i>FIGURA 1.6 - Estágios de crescimento tumoral (*linfonodos são estruturas do sistema linfático que filtram a linfa antes de ser devolvida para o sistema sanguíneo).</i>	7
<i>FIGURA 1. 7 - Principais métodos de tratamento para câncer, (A) - Cirurgia, (B) - Radioterapia, (C) - Quimioterapia e (D) recentemente Terapia gênica.....</i>	8
<i>FIGURA 1.8 - Estrutura obtida por difração de raios-X de monocristal para o complexo cis-[PtCl₂(NH₃)₂], conhecido como cisplatina.</i>	10
<i>FIGURA 1.9 - Representação esquemática do modo de ação do cisplatina (adaptado site³⁶).</i>	11
<i>FIGURA 1.10 - Estrutura cristalina da molécula formada com coordenação do cisplatina ao DNA (adaptado de TODD ³⁷).</i>	12
<i>FIGURA 1.11 - Estruturas de alguns complexos de platina utilizados no tratamento do câncer.</i>	13
<i>FIGURA 1.12 – Genealogia de complexos inibidores de tumor e primeiras evidências de atividade terapêutica de compostos de rutênio in vivo.</i>	15
<i>FIGURA 1.13 - Isômeros simétricos (a, b, c) e isômeros assimétricos (d, e, f) do ligante biperidina.</i>	20
<i>FIGURA 1.14 - Representação estrutural de alguns ligantes diimínicos.</i>	21
<i>FIGURA 1.15 – Estrutura de ressonância do grupo isonitrila.</i>	24
<i>FIGURA 1.16 - Estrutura obtida por difração de raios-X do ligante isocianida de p-toluenosulfonilmetina.¹⁰⁷</i>	25
<i>FIGURA 4.1 Espectro vibracional na região do infravermelho para o ligante Tol, livre.</i>	58
<i>FIGURA 4.2 - Espectro vibracional na região do infravermelho para [RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF₆.</i>	59

<i>FIGURA 4.3 - Espectros de absorção na região do UV-vis para os complexos 1a-6a em DMSO.</i>	61
<i>FIGURA 4.4 - Voltamograma cíclico do precursor cis-[RuCl₂(dppb)(bipy)], obtido em CH₂Cl₂ (0,1M PTBA, Ag/AgCl), com velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹.</i>	64
<i>FIGURA 4.5 - Voltamograma cíclico do complexo [Ru(dppb)(bipy)₂](ClO₄)₂ (1a), obtido em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), com velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹.</i>	65
<i>FIGURA 4.6 - Voltamograma cíclico do complexo [Ru(bipy)₃](PF₆)₂, obtido em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), com velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹.</i>	66
<i>FIGURA 4.7 - Voltamograma cíclico do complexo [RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF₆ (4b), obtido em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), com velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹.</i>	67
<i>FIGURA 4.8 - Estrutura obtida por difração de raios-X para o composto [RuCl(dppb)(bipy)(CO)]PF₆.¹⁴²</i>	68
<i>FIGURA 4.9 - Estruturas e espectros de RMN ³¹P{¹H} dos isômeros trans-[RuCl₂(dppb)(bipy)] (A) e cis-[RuCl₂(dppb)(bipy)] (B), em CH₂Cl₂ / D₂O.</i>	70
<i>FIGURA 4.10 - Espectros de RMN de ³¹P{¹H} dos complexos 1a-5a, em acetona /D₂O.</i>	71
<i>FIGURA 4.11 - Espectros de RMN de ³¹P{¹H} dos complexos 1b-4b, em acetona /D₂O.</i>	72
<i>FIGURA 4.12 - Espectros de RMN de ³¹P{¹H} dos complexos 5b-8b, em acetona /D₂O.</i>	73
<i>FIGURA 4.13 - Espectro de RMN de ¹H do precursor cis-[RuCl₂(dppb)(bipy)] em CD₂Cl₂.</i>	76
<i>FIGURA 4.14 - Estrutura do composto [Ru(dppb)(bipy)₂](ClO₄)₂ (1a), com numeração dos ligantes bipy e posições dos hidrogênios das fenilas.</i>	77
<i>FIGURA 4.15 - Espectro de RMN de ¹H do complexo [Ru(dppb)(bipy)₂](ClO₄)₂ (1a), em acetona-d₆.</i>	77
<i>FIGURA 4.16 - Experimento ¹H-¹H COSY do precursor cis-[RuCl₂(dppb)(bipy)] (A) e do complexo [Ru(dppb)(bipy)₂](ClO₄)₂ (B).</i>	80
<i>FIGURA 4.17 - Espectro de RMN de ¹H do complexo [Ru(dppb)(bipy)(NO₃)]ClO₄, em acetona-d₆.</i>	82
<i>FIGURA 4.18 - ¹H-¹H COSY espectro do precursor [Ru(dppb)(bipy)(NO₃)]ClO₄ em acetona-d₆.</i>	83
<i>FIGURA 4.19 - Estruturas mostrando a proximidade espacial do precursor cis-[RuCl₂(dppb)(bipy)] (A), e para o complexo [Ru(dppb)(bipy)₂](ClO₄)₂ (B), evidenciando a inversão de deslocamento químico e interação π-π stacking.</i>	84
<i>FIGURA 4.20 - Experimento ¹H-¹H NOESY 2D do precursor cis-[RuCl₂(dppb)(bipy)], em CD₂Cl₂.</i>	85

FIGURA 4.21 - Experimento ^1H - ^1H NOESY 2D para o composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (1a), em acetona- d_6 .	86
FIGURA 4.22 - Espectro 1-D NOESY para o composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (1a), irradiando os prótons em $\delta 6,24$, em acetona- d_6 .	87
FIGURA 4.23 - Experimentos NOESY 2D (A), principais acoplamentos espaciais observados no complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (B) e o experimento NOESY 1D usado para calcular as distâncias interpróton, irradiando o próton em 6,20 ppm (C), em acetona- d_6 .	88
FIGURA 4.24 - Distâncias calculadas por NOE e DFT para o complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (1a).	89
FIGURA 4.25 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$ (6a), em acetona- d_6 .	91
FIGURA 4.26 - Espectro de RMN de ^1H do ligante Tol, em acetona- d_6 .	91
FIGURA 4.27 - Espectro de RMN de ^1H do composto $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (1b), em acetona- d_6 .	93
FIGURA 4.28 - Experimento ^1H - ^1H COSY do complexo $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (1b), em acetona- d_6 .	93
FIGURA 4.29 - Espectro de RMN de ^1H do composto $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (5b), em acetona- d_6 .	95
FIGURA 4.30 - Experimento ^1H - ^1H COSY do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (5b), em acetona- d_6 .	95
FIGURA 4.31 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e DEPT-135 do composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$, em acetona- d_6 .	96
FIGURA 4.32 - Experimento ^1H - ^{13}C HSQC do composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (1a), em acetona- d_6 .	97
FIGURA 4.33 - Experimento ^1H - ^{13}C HMBC do composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (1a), em acetona- d_6 .	97
FIGURA 4.34 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do ligante Tol, em acetona- d_6 .	98
FIGURA 4.35 - Experimento de HSQC do ligante Tol, em acetona- d_6 .	99
FIGURA 4.36 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e experimento DEPT-135 do complexo $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (1b), em acetona- d_6 .	100
FIGURA 4.37 - Experimento de HMBC do composto $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (1b), em acetona- d_6 .	100
FIGURA 4.38 - Estrutura obtida por difração de raios-X do precursor $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$, elipsoides com 30% de probabilidade.	102

FIGURA 4.39 - Estrutura obtida por difração de raios-X do complexo $[Ru(dppb)(bipy)_2](ClO_4)_2$, (A) vista frontal e (B) vista por cima, elipsoides com 30% de probabilidade.	103
FIGURA 4.40 - Estrutura obtida por difração de raios-X do complexo $[Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO_4)_2$, elipsoides com 30% de probabilidade.	104
FIGURA 4.41 - Estrutura obtida por difração de raios-X do complexo $[Ru(dppb)(bipy)(55bipy)](ClO_4)_2$, elipsoides com 30% de probabilidade.	104
FIGURA 4.42 - Diferenciação dos tipos de interações $\pi-\pi$ entre <i>cis</i> - $[RuCl_2(dppb)(bipy)]$ (A) e o complexo $[Ru(dppb)(bipy)_2](ClO_4)_2$ (B).	107
FIGURA 4.43 - Detalhes das interações $\pi-\pi$ intramolecular nos complexos $[Ru(dppb)(bipy)_2](ClO_4)_2$ (a), $[Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO_4)_2$ (b) e $[Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO_4)_2$ (c).	108
FIGURA 4.44 - Representação da interação entre os grupos fenilas da fosfina em posição paralela “offset” com os ligantes aromáticos diimínicos, a seta amarela representa atração entre região pobre em elétrons da fenila e a região rica em elétrons da diimína. A seta rosa representa a repulsão entre os ligantes e a região dos orbitais representada em azul claro.	108
FIGURA 4.45 - Estrutura cristalina do complexo $[RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF_6$ (2b), onde o PF_6^- foi omitido para melhor visualização, elipsoides com 30% de probabilidade.	110
FIGURA 4.46 - Estrutura cristalina do complexo $[RuCl(PPh_3)_2(bipy)(Tol)]PF_6$ (5b), onde o PF_6^- foi omitido para melhor visualização, elipsoides com 30% de probabilidade.	111
FIGURA 4.47 - Estrutura cristalina do complexo $[RuCl(PPh_3)_2(44bipy)(Tol)]PF_6$ (7b), onde o PF_6^- foi omitido para melhor visualização, elipsoides com 30% de probabilidade.	111
FIGURA 4.48 - Sobreposição das estruturas cristalográficas (em amarelo) e calculadas por DFT (em vermelho) para os complexos 1a, 2a e 5a.	114
FIGURA 4.49 - Comparação entre os espectros de RMN de 1H teórico e experimental (A), orbital HOMO-3 (B), orbital LUMO (C) e sobreposição dos orbitais HOMO-3 e LUMO evidenciando o π -stacking (D).	115
FIGURA 4.50 - Gráfico de viscosidade para complexos da série 1 (1a-6a).	119
FIGURA 4.51 - Gráfico de viscosidade para complexos série 2 (1b-4b).	119
FIGURA 4.52 - Gráfico de viscosidade para complexos da série 2 (5b-8b).	120
FIGURA 4.53 - Esquema da estrutura secundária de HSA com subdomínios codificados por cores da seguinte forma: IA - vermelho; IB - vermelho claro; IIA - verde; IIB - verde claro; IIIA - azul; IIIB - azul claro. ¹⁶⁰	121

<i>FIGURA 4.54 - Supressão da fluorescência da HSA frente a diferentes concentrações 0; 1,56; 3,12; 6,25; 12,50; 25,0; 50,0; 100,0; 200,0 mM do complexo [Ru(dppb)(bipy)₂](ClO₄)₂ (1a).</i>	123
<i>FIGURA 4.55 - Gráficos de Stern-Volmer de F₀/F versus [complexo] para HSA na presença de diferentes concentrações do complexo [Ru(dppb)(bipy)₂](ClO₄)₂, excitação = 280 nm, [HSA] = 5,0 x10⁻⁶ mol L⁻¹.</i>	124
<i>FIGURA 4.56 – Gráficos de Stern-Volmer de log(F₀-F)/F versus log[Q] para HSA na presença de diferentes concentrações do complexo [Ru(dppb)(bipy)₂](ClO₄)₂ (1a), excitação = 280 nm, [HSA] = 5,0 x10⁻⁶ mol L⁻¹.</i>	126
<i>FIGURA 4.57 - Representação do equilíbrio das espécies no equilíbrio entre fases orgânica e aquosa.</i>	132
<i>FIGURA 4.58 - Acompanhamento da estabilidade do composto [Ru(dppb)(bipy)(dtbipy)](ClO₄)₂ por RMN ³¹P{¹H} durante 168 horas em DMSO.</i>	138
<i>FIGURA 4.59 - Acompanhamento da estabilidade do composto [Ru(dppb)(bipy)(dtbipy)](ClO₄)₂ por RMN ³¹P{¹H} durante 168 horas em DMSO/meio.</i>	139
<i>FIGURA 4.60 - Acompanhamento da estabilidade do composto [Ru(dppb)(55bipy)(Tol)]PF₆ por RMN ³¹P{¹H} durante 168 horas em DMSO.</i>	140
<i>FIGURA 4.61 - Acompanhamento da estabilidade do composto [Ru(dppb)(55bipy)(Tol)]PF₆ por RMN ³¹P{¹H} durante 168 horas em DMSO/meio.</i>	141
<i>FIGURA 4.62 - Acompanhamento da estabilidade do composto [Ru(PPh₃)₂(44bipy)(Tol)]PF₆ por RMN ³¹P{¹H} durante 168 horas em DMSO.</i>	141
<i>FIGURA 4.63 - Acompanhamento da estabilidade do composto [Ru(PPh₃)₂(44bipy)(Tol)]PF₆ por RMN ³¹P{¹H} durante 168 horas em DMSO/meio.</i>	142
<i>FIGURA 4.64 - Estudo morfológico sob microscópio invertido (100x) de células A549, tendo 0,5% DMSO no controle e as células tratadas nas concentrações 1, 2 e 5 vezes o IC₅₀ dos complexos [RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF₆ (4b) e [RuCl(PPh₃)₂(44bipy)(Tol)]PF₆ (7b).</i>	143
<i>FIGURA 4.65 – Estudo de migração celular A549 em 0 e 48h para o controle e compostos [RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF₆ (4b) e [RuCl(PPh₃)₂(44bipy)(Tol)]PF₆ (7b) nas concentrações do IC₅₀.</i>	144
<i>FIGURA 4.66 - Formas mais comuns do DNA plasmidial.</i>	145
<i>FIGURA 4.67 – Padrão da eletroforese em Gel de agarose do plasmídeo pBR322 e dos complexos [RuCl(dppb)(55bipy)]PF₆ (4b) e [RuCl(PPh₃)₂(44bipy)]PF₆ (7b) nas razões complexo/plasmídeo 0.25; 0.50; 1.0 e 1.5.</i>	147

<i>FIGURA 4. 68 – Estrutura do complexo formado entre dodecamero do DNA (CGCGAATTCGCG)₂ com o ligante Hoechst 33258 (A) e a estrutura do ligante Hoescht (B).</i> ¹⁷²	148
<i>FIGURA 4.69 - Espectro de fluorescência de competitividade DNA/hoescht e complexo [RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF₆ (4b) em diversas concentrações (Ri= 0; 0.03; 0.06; 0.09; 0.12; 0.15; 0.18; 0.21; 0.24; 0.27; 0.30) a 298K com excitação em 370 nm.</i>	149
<i>FIGURA 4.70 - Espectro de fluorescência da competitividade DNA/hoescht e complexo [RuCl(PPh₃)₂(44bipy)(Tol)]PF₆ (7b) em diversas concentrações (Ri= 0; 0.03; 0.06; 0.09; 0.12; 0.15; 0.18; 0.21; 0.24; 0.27; 0.30) a 298K com excitação em 370 nm.</i>	149
<i>FIGURA 4.71 – Ensaio de citometria de fluxo para a marcação com PE Anexina-V e 7ADD de células da linhagem A549, incubadas durante 48 horas na presença do controle negativo, 32 μM de camptotecina e 0.5, 2.5 e 5 μM do composto [RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF₆ (4b).</i> ..	151
<i>FIGURA 4.72 - Ensaio de citometria de fluxo para a marcação com PE Anexina-V e 7ADD de células da linhagem A549, incubadas durante 48 horas na presença do controle negativo, 32 μM de camptotecina e 0.5, 2.5 e 5 μM do composto [RuCl(PPh₃)₂(44bipy)(Tol)]PF₆ (7b).</i>	152

RESUMO

“SOBRE A INFLUÊNCIA DE FOSFINAS E DO LIGANTE ISOCIANIDA DE *P*-TOLUENOSULFONILMETILA NA CITOTÓXICIDADE DE COMPOSTOS DE Ru(II)” O presente trabalho teve como objetivo principal a obtenção de novos compostos de Ru(II) com ligantes diimínicos, fosfínicos e isocianida de *p*-toluenosulfonilmetila, caracterizá-los por diversas técnicas físicas e espectroscópicas, estudar a interação com as biomoléculas DNA e albumina de soro humano (HSA), além de suas propriedades citotóxicas. Desta forma, reportamos a síntese de quatorze novos compostos e a caracterização por análise elementar, voltametria cíclica, condutância molar, espectroscopia na região do ultravioleta (UV-vis), espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FT-IR), ressonância magnética nuclear ($^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, DEPT-135, COSY, HMBC e HSQC) e difração de raios-X, quando possível a obtenção de monocristal. Para os complexos contendo apenas ligantes diimínicos e fosfínicos foram observados importantes efeitos eletrônicos e estéricos provocados por interações π -stacking. Tal efeito propiciou um comportamento diferenciado nos hidrogênios dos grupos fenilas fosfínicos nos experimentos de RMN, o qual também foi possível observar por cristalografia de raios-X e por cálculos de DFT. Os estudos de interação dos complexos com o DNA por medidas de viscosidade indicam que os compostos interagem fracamente com esta biomolécula. Foram selecionados dois compostos com ligante diiminico, fosfínico e o ligante Isocianida de *p*-toluenosulfonilmetila para estudos de interação com DNA por eletroferese em gel e ensaio de competitividade com Hoescht 33258, onde os resultados indicam que os compostos interagem eletrostaticamente e/ou pelo sulco menor do DNA. Os estudos de interação com HSA, realizados por titulações fluorimétricas, mostram que os compostos apresentam constantes de interação (K_b) na ordem de 10^4 - 10^6 , indicando interação moderada a forte com esta proteína, e o mecanismo

de interação é estático. Os dados de citotoxicidade nas linhagens humanas tumorais A549 (pulmão) e DU-157 (próstata) e não tumoral MCR-5 (pulmão), mostram que os compostos que apresenta, o ligante Isocianida de *p*-toluenosulfonilmetila são os mais promissores, mostrando-se até 140 vezes mais ativos que o fármaco de referência e até 3 vezes mais seletivos.

ABSTRACT

"ON THE INFLUENCE OF PHOSPHINES AND THE *P*-TOLUENESULFONYLMETHYL ISOCYANIDE IN THE CYTOTOXICITY OF RU (II) COMPOUNDS" The main objective of the present work was to obtain new Ru(II) complexes with ligands diimino, phosphinic and isocyanide *p*-toluenesulfonylmethyl, to characterize them by diverse physical and spectroscopic techniques, to study the interaction with biomolecules DNA and human serum albumin (HSA), besides to evaluate their cytotoxic properties. In this way, we reported the synthesis of fourteen new complexes and the characterization by elemental analysis, cyclic voltammetry, molar conductance, ultraviolet (UV-vis) spectroscopy, infrared spectroscopy (FT-IR), nuclear magnetic resonance ($^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, DEPT-135, COSY, HMBC and HSQC) and Single crystal X-ray diffraction, when possible to obtain single crystal. For the complexes containing only diimine and phosphinic ligands, there were important electronic and steric effects caused by π -stacking interactions. Such effect lead to a differentiated behavior in the hydrogens of the phosphinic phenyl groups in the NMR experiments, it was also possible to observe the same effect by crystallography of X-rays and by DFT calculations. Studies of interaction of complexes with DNA by viscosity measurements indicate that the compounds interact poorly with this biomolecule. Two compounds with diimino phosphinic linker and the *p*-toluenesulfonylmethyl isocyanate ligand were selected for interaction studies with gel electrophoresis DNA and competitive assay with Hoescht 33258, where the results indicates that compounds interacting electrostatically and/or by the minor groove of the DNA. The HSA interaction studies, carried out by fluorimetric titrations, show that both compounds present interaction constants (K_b) on the order of 10^4 - 10^6 , indicating moderate to strong interaction with this protein. For all cases, the interaction mechanism is static. Cytotoxicity data in human tumor cell lines A549 (lung) and DU-157 (prostate)

and non-tumor MCR-5 (lung), show that the compounds bearing the *p*-toluenesulfonylmethyl isocyanide ligand are the most promising, showing up to 140 times more active than the reference drug and up to 3 times more selective.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO	1
1.1 – O desenvolvimento de novos fármacos	1
1.2 – A química inorgânica medicinal	2
1.3 – O Câncer	4
1.3.1 – Metalofármacos no tratamento do câncer	9
1.4 – O estudo da interação com alvos moleculares biológicos	19
1.5 – Ligantes <i>N</i> -heterocíclicos (diiminas).....	20
1.6 - O ligante isocianida de <i>p</i> -toluenosulfonilmetila.	23
CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS	26
2.1 – Objetivo geral.....	26
2.2 – Objetivos específicos	26
CAPÍTULO 3 – PARTE EXPERIMENTAL	28
3.1 – Materiais.....	28
3.1.1 – Obtenção da atmosfera de Argônio	28
3.1.2 – Solventes.....	28
3.1.3 – Reagentes químicos em geral	28
3.2 – Técnicas experimentais	29
3.2.1 – Condutância Molar	29
3.2.2 – Espectroscopia vibracional na região do infravermelho	29

3.2.3 – Espectroscopia de absorção eletrônica UV-Vis	29
3.2.4 – Análise elementar (C, H, N e S).....	30
3.2.5 – Voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial.....	30
3.2.6 – Espectroscopia de ressonância magnética nuclear	30
3.2.7 – Difração de raios X.....	32
3.2.8 – Cálculos teóricos	33
3.2.9 – Determinação do coeficiente de partição (log P)	34
3.2.10 - Estudo de interação dos complexos com DNA, por viscosidade 34	
3.2.11 – Titulação Espectrofluorimétrica com a HSA	35
3.2.12 – Testes de citotoxicidade	36
3.2.13 - Estudo de estabilidade.....	37
3.2.14 - Eletroforese em gel	37
3.2.15 – Estudo de migração/cicatrização celular (Wound Healing). 38	
3.2.16 – Estudo de morfologia celular	38
3.2.17 - Estudo de competitividade dos complexos com Hoescht 33258. 38	
3.2.18 - Ensaio de Apoptose.....	39
3.3 – Síntese dos complexos	40
3.3.1 – Síntese dos precursores.....	40
3.3.1.1 – Síntese de $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$	40

3.3.1.2 - Síntese de $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{N-N})]$; (N-N = 2,2'-bipiridina; 1,10-fenantrolina; 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina; 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina).....	40
3.3.1.3 - Síntese de $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)(\text{dppb})]$	41
3.3.1.4 - Síntese de $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{N-N})]$; (N-N = 2,2'-bipiridina; 1,10-fenantrolina; 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina; 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina).....	41
3.3.2 - Síntese dos compostos.....	42
3.3.2.1 Síntese dos complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{NN})](\text{ClO}_4)_2$ 42	
3.3.2.2 - Síntese do complexo $[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$	44
3.3.2.3 - Síntese dos complexos do tipo $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{N-N})(\text{Tol})]\text{PF}_6$; (N-N = 2,2'-bipiridina; 1,10-fenantrolina; 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina; 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina).....	45
3.3.2.4 - Síntese dos complexos do tipo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(\text{N-N})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ 47	
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4.1 - Síntese dos complexos dicatiônicos de fórmula geral $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{N-N})](\text{ClO}_4)_2$ e $[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$	51
4.2 – Caracterização dos complexos	53
4.2.1 – Condutância molar e análise elementar	53
4.2.2 - Espectroscopia vibracional na região do infravermelho.....	56
4.2.3 - Espectroscopia de Absorção na Região do UV-Visível	60

4.3.4.1 - Voltametria cíclica (CV).....	63
4.3.4 – Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	69
4.3.4.1 – Ressonância Magnética Nuclear de fósforo - $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$	69
4.3.4.2- Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio 1D e 2D RMN ^1H e ^1H - ^1H COSY.	74
4.3.4.3 – Ressonância magnética nuclear de carbono RMN - ^{13}C , HSQC, DEPT-135, HSQC e HMBC.	96
4.3.5 – Difração de raios X de monocristal.....	102
4.3.6 – Cálculos teóricos	113
4.4 – Avaliação do Potencial Biológico dos Complexos de Rutênio..	117
4.4.1 – Avaliação da Interação dos Complexos com DNA.....	117
4.4.1.1 – Viscosidade	117
4.4.2 – Avaliação da interação dos complexos com albumina soro humana (HSA).	120
4.4.3 – Coeficiente de Partição (Log P)	131
4.4.4 – Ensaio de Citotoxicidade	134
4.4.5 – Estudo de estabilidade	137
4.4.6 – Ensaio morfológico	142
4.4.7 – Estudo de migração celular	144
4.4.8 – Estudo de eletroforese em gel	145
4.4.1 – Ensaio de competitividade com Hoestch33258	147

4.4.2 – Estudo de morte celular	150
CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES	153
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	156
Apêndice	174

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

1.1 – O desenvolvimento de novos fármacos

O objetivo principal da química medicinal é o desenho e a descoberta de novos compostos que apresentem propriedades adequadas aos seus usos como fármaco¹. No Brasil e no mundo, vários grupos de pesquisa se dedicam à busca por novos compostos biologicamente ativos com potencial uso na medicina. Estas pesquisas justificam-se pela constante necessidade de obtenção de novos fármacos, já que para algumas doenças os disponíveis no mercado apresentam-se pouco ativos, além de ser relativamente comum o aparecimento de resistência após o uso prolongado. Há, desta forma, a necessidade de reduzir efeitos colaterais causados pelos fármacos utilizados.^{2,3}

O principal órgão mundial de regulamentação do uso de novos fármacos é a agência americana FDA (*Food and drug administration*), que estabelece os critérios de segurança, estudos necessários e normas para liberação do uso por humanos de novos fármacos, para que o produto ingresse no mercado, com níveis confiáveis de segurança para os pacientes.^{4,5}

Todo o caminho, desde o projeto inicial do desenvolvimento de um fármaco até sua liberação pelas agências reguladoras para uso como fármacos é extremamente difícil, demorado e muito caro. Neste contexto a química medicinal tem papel fundamental no planejamento e descoberta de novos compostos orgânicos ou inorgânicos, síntese, purificação, caracterização e segurança de seu uso pelos pacientes, além de estudos biológicos, para verificar suas atividades contra determinada doença.⁶ Desta forma, uma equipe grande de profissionais nas mais variadas áreas do conhecimento como química, física, matemática, farmácia, medicina e biologia são fundamentais para alcançar o objetivo do desenvolvimento de um fármaco.

1.2 – A química inorgânica medicinal

Compostos inorgânicos são usados há milhares de anos, onde registros historicamente comprovados de metais com uso farmacêutico remetem às antigas civilizações da Mesopotâmia, do Egito, da Índia e China. Hoje já é bastante estabelecido que íons metálicos desempenham papéis fundamentais em uma grande quantidade de processos biológicos, e em diversos campos de conhecimento relacionado com a aplicação de compostos inorgânicos na terapia ou diagnóstico de doenças, como mostrado na FIGURA 1.1.⁷⁻⁹

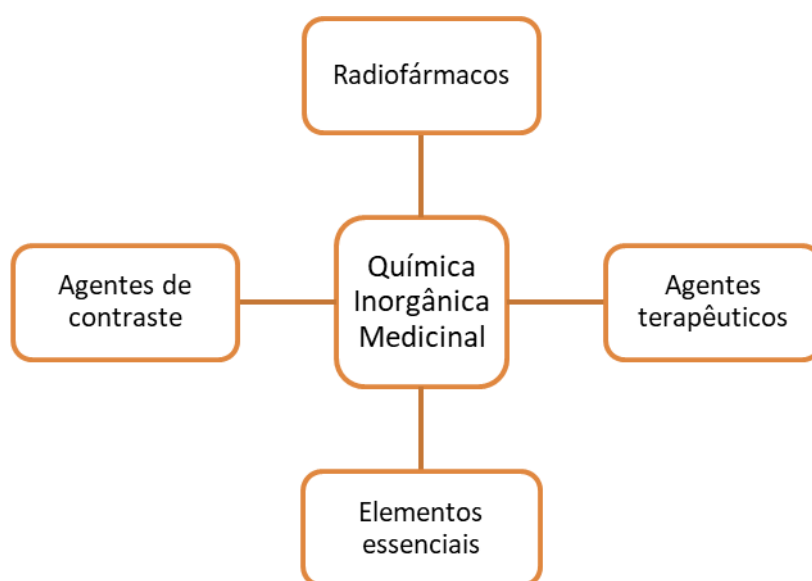


FIGURA 1.1 – A química inorgânica medicinal e suas aplicações (adaptado De FARRER⁹).

A química inorgânica medicinal apresenta uma ampla faixa de possibilidades de pesquisa e desenvolvimento. A grande diversidade de íons metálicos com aplicação no diagnóstico e tratamento médico, como pode ser observado na FIGURA 1.2, além de serem estudados por vários pesquisadores ao redor do mundo. O uso diário de radioisótopos em muitos hospitais como contraste para obtenção de imagens (MRI, PET) como íons Gd^{3+} ou Tc^{+} possibilitam diagnosticar tumores malignos, doenças cardiológicas e aterosclerose de forma precoce, pois melhoram a resolução das imagens, sendo possível, por exemplo, acompanhar visualmente a atividade do cérebro em tempo real.

Um importante metalofármaco para o desenvolvimento da química bioinorgânica na medicina foi o composto denominado salvarsan, um agente antimicrobiano à base de arsênio, desenvolvido em 1912 por Paul Ehrlich, que se mostrou muito eficaz no tratamento da sífilis.¹⁰ Porém, o grande legado dos estudos com vários compostos de arsênio visando o tratamento da sífilis, foi a percepção que a reatividade e toxicidade dos compostos mudam de acordo com a variação dos ligantes da esfera de coordenação do centro metálico, o que permitiu assim direcionar o estudo para a obtenção de uma molécula específica, a arsfenamina, obtendo a partir de um metal cujos complexos exibiam alta toxicidade um fármaco eficiente no tratamento da sífilis^{8,11}.

Quando o composto arsfenamina foi sintetizado não haviam tantas técnicas de caracterização disponíveis que possibilitassem uma proposta estrutural inequívoca. Desta forma com os dados disponíveis Erlich propôs inicialmente uma estrutura molecular bimetalúca com dois átomos de arsênio formando uma ligação dupla entre si como mostrado na FIGURA 1.2 (A).

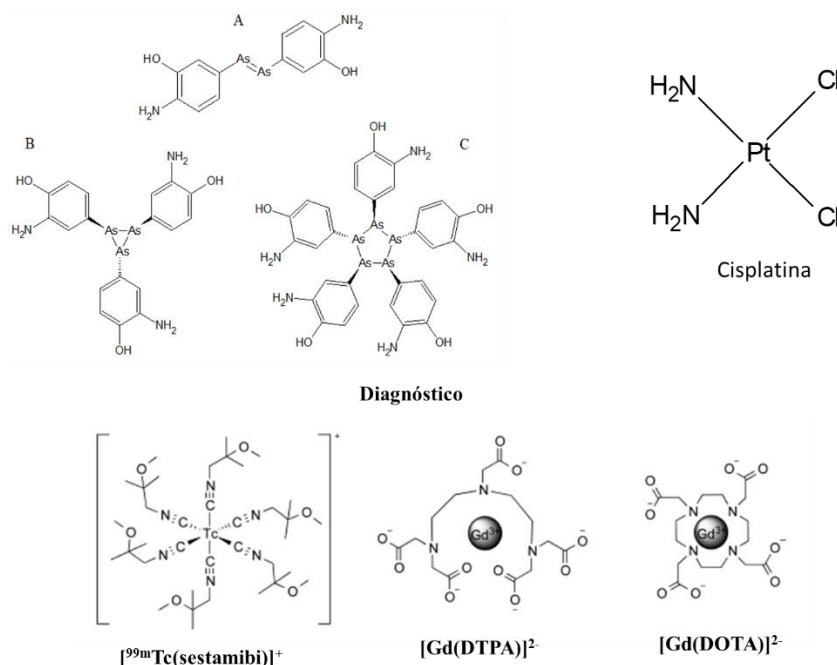


FIGURA 1.2 - Exemplos de compostos usados com sucesso em terapias e diagnósticos cotendo metais na estrutura, sendo a estruturas propostas da Arsfenamina por Paul Erlich (A) e por Lloyd, *et. al.* (B e C)¹¹

Durante quase um século a estrutura deste composto deixou inconsistências entre dados obtidos por diversas técnicas, sendo que apenas em 2005, com o grande avanço das técnicas de espectrometria de massas com ionização por eletrospray foi obtida uma estrutura coerente com as caracterizações, onde foi proposta uma mistura de moléculas cíclicas com anéis metálicos de arsênio de três e cinco membros como mostrado na FIGURA 1.2 (B) e (C).¹¹

A arsfenamina foi usada durante três décadas como o principal fármaco no tratamento da sífilis, e só foi possível sua substituição após a descoberta da penicilina, em 1929. De acordo com o exposto acima a arsfenamina destaca-se como uma das primeiras estruturas onde foi possível relacionar propriedades estruturais com atividade biológica, o que ainda hoje é uma ferramenta importante para a química medicinal no desenvolvimento de novos fármacos.^{8,11}

Atualmente é reportada uma grande quantidade de trabalhos mostrando cada vez mais as propriedades de complexos inorgânicos com variados centros metálicos, com grande potencial para serem usados na medicina, tais como, anticâncer (Ru, Ga, Pt, In, Ti, Au, Sn), antimicrobianos (As, Cu, Zn, Ag, Bi, Hg), antiartrite (Au), antipsicótico (Li), antiúlcera (Bi), antiácidos (Ca, Mg, Na, Al), anti-hipertensivo (Fe, Zn), miméticos de enzimas (Fe, Cu, Mn), radiofármacos (Re, Y, Pb, Tc) e agentes quelantes.^{8,12-17}

1.3 – O Câncer

O corpo humano é constituído por trilhões de células, que apresentam mecanismos que regulam o crescimento e a divisão celular de acordo com as necessidades do organismo. Quando as células envelhecem e/ou ficam danificadas, morrem e são substituídas por novas células, completando assim um ciclo celular. Em algumas situações esse mecanismo de replicação/reparação celular para de ser regulado pelo organismo, o que leva à formação de tumores que podem ser benignos ou malignos.

Assim sendo, o termo câncer é usado de forma geral para designar um grande grupo de doenças que podem afetar qualquer parte do corpo e apresentam como característica em comum o crescimento celular ilimitado e desordenado, que nos casos mais graves podem apresentar a capacidade de invasão de outros órgãos, conhecido como metástase, como representado na FIGURA 1.3. Esse comportamento de crescimento anormal e descontrolado das células pode levar ao comprometimento das funções do órgão afetado levando o indivíduo à morte.

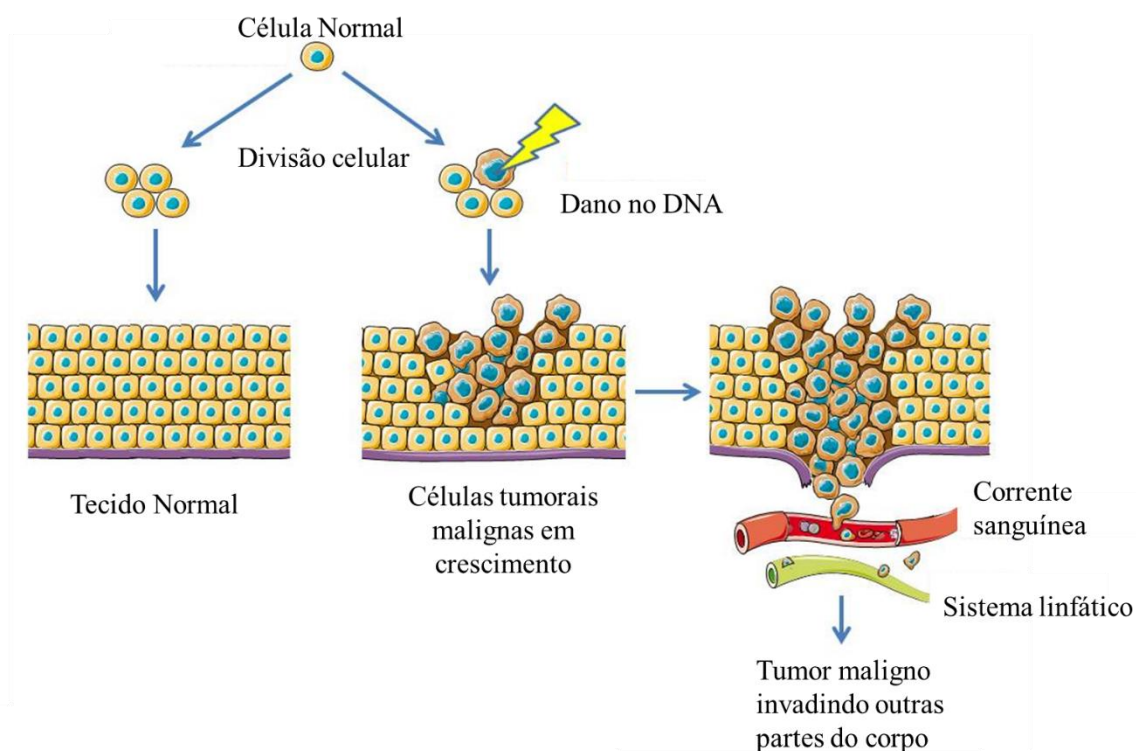


FIGURA 1.3 - Representação da formação de tumor e metástase (adaptado De Smart.servier¹⁸).

O câncer é um grave problema de saúde pública, estando entre as principais causas de morte, tanto em países desenvolvidos como em países em desenvolvimento. Segundo a Organização Mundial da Saúde (WHO) os tipos mais comuns são câncer de pulmão, fígado, estômago, próstata, mama e esôfago. Apenas em 2015 ocorreram aproximadamente 8.8 milhões de mortes ao redor do mundo causada por câncer, sendo os principais tipos e o número de mortes

mostrados na FIGURA 1.4. De todas as mortes registradas 70% são em países com população de baixa e média renda, sendo estimadas que no ano de 2030 ultrapassem os 27 milhões de novos casos.¹⁹

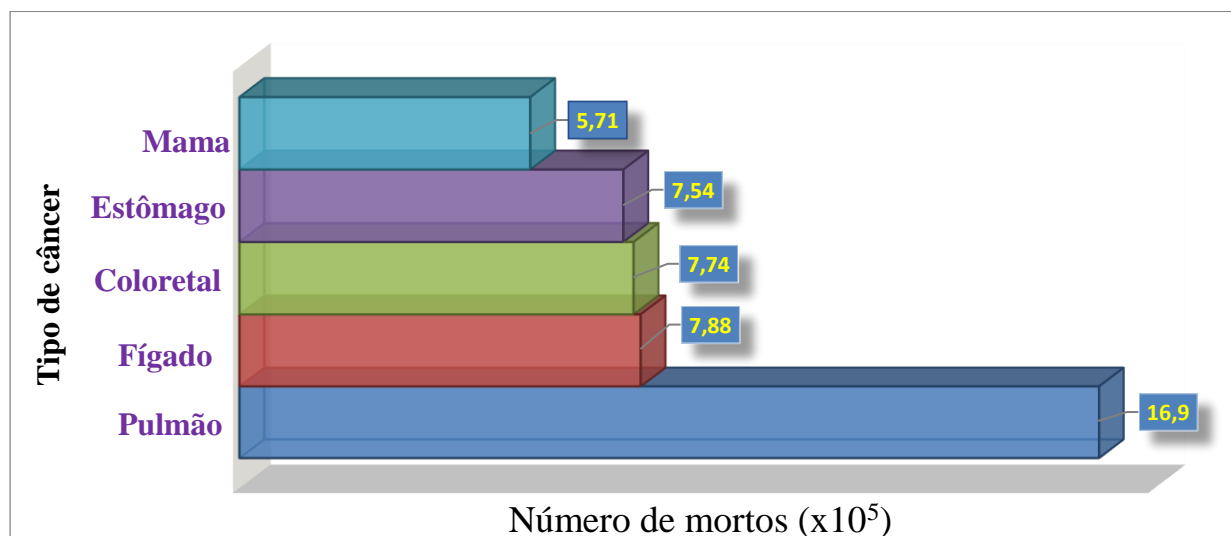


FIGURA 1.4 - Representação dos principais tipos de câncer e números de morte causadas em 2015 no mundo.

No Brasil, dados do Instituto Nacional de Câncer (INCA) mostram que para o biênio 2018-2019 serão registrados cerca de 640 mil novos casos de câncer. Os tipos de câncer mais incidentes foram as neoplasias malignas da pele, mama, próstata, pulmão, reto e colo do útero (FIGURA 1.5).¹⁹

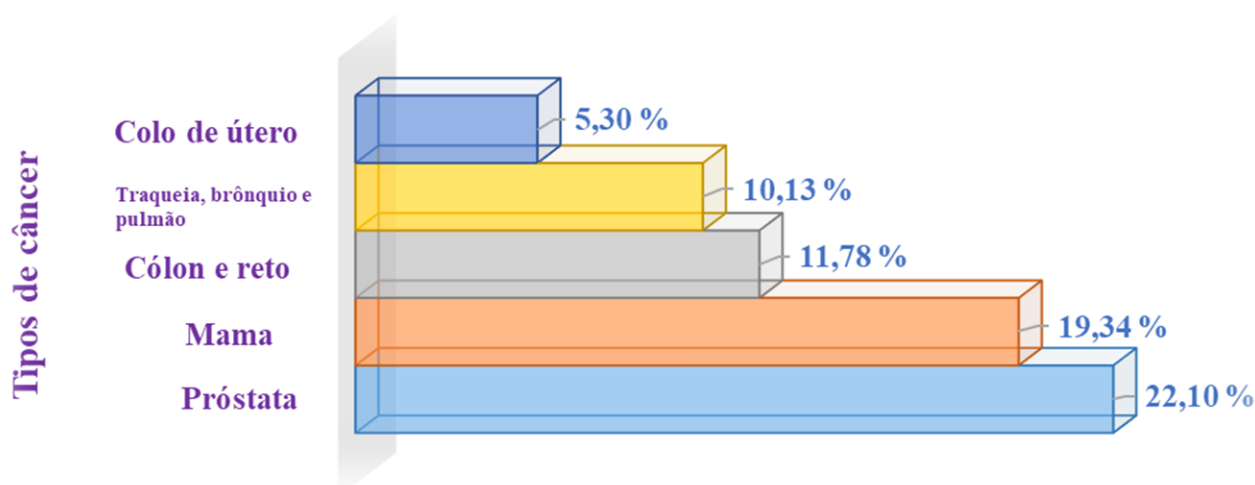


FIGURA 1.5 - Porcentagens de incidência pelos principais tipos de câncer no Brasil para o biênio 2018-2019, exceto câncer de pele não melanoma (adaptado de INCA¹⁹).

O tratamento do câncer apresenta melhor possibilidade de cura quando a doença é diagnosticada de forma precoce. De forma geral, o avanço do tumor é classificado em quatro estágios, como pode ser visto na FIGURA 1.6. O surgimento do câncer ocorre pela transformação de uma célula normal em tumoral, em um processo que geralmente progride de uma lesão pré-cancerosa para um tumor maligno. Vários fatores podem aumentar a probabilidade do surgimento do câncer, sendo os mais comuns o uso de tabaco, alcoolismo, dieta não saudável e sedentarismo, impossibilitando a determinação de uma causa comum a todos os casos de câncer relatados.^{20,21}

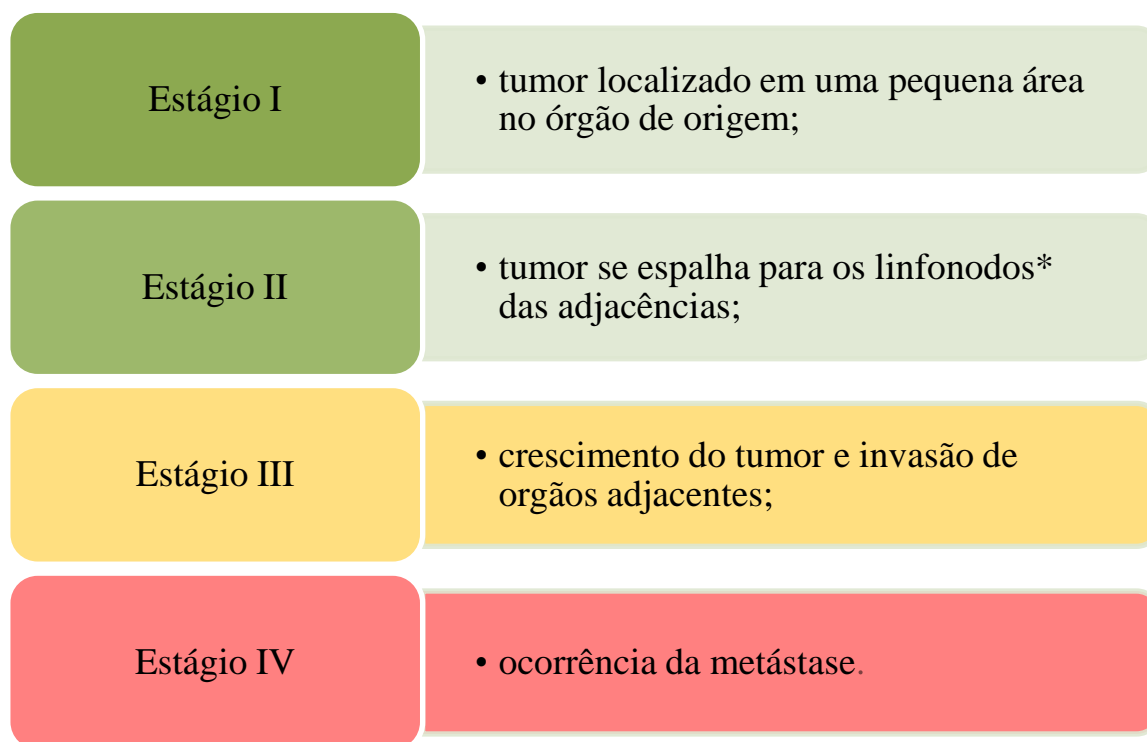


FIGURA 1.6 - Estágios de crescimento tumoral (*linfonodos são estruturas do sistema linfático que filtram a linfa antes de ser devolvida para o sistema sanguíneo).

As mudanças que ocorrem em nível celular podem, ser atribuídas à associação entre fatores genéticos com agentes externos, tais como carcinogênicos físicos (radiação ultravioleta e ionizante), carcinogênicos químicos (tabaco, amianto, aflatoxina, Arsênio, etc.) e carcinogênicos biológicos (infecções por certos vírus, bactérias ou fungos).²² Outro fator relevante que é associado ao surgimento do câncer é o envelhecimento, pois a incidência de

câncer aumenta drasticamente com a idade, sendo que estudos indicam que provavelmente esse aumento é devido à acumulação de riscos para câncer específico, combinado com a tendência dos mecanismos de reparo das células serem menos efetivos à medida que a pessoa envelhece.^{23,24}

Os métodos de tratamento para o câncer têm evoluído bastante e os procedimentos utilizados dependem de cada paciente, tipo de câncer e estágio da doença. Desta forma as terapias disponíveis para tratamento do câncer são a cirurgia, radioterapia, quimioterapia e recentemente foi aprovada nos EUA a terapia gênica com previsão dos primeiros tratamentos de forma experimental no Brasil em 2018 (FIGURA 1. 7).^{25,26} A cirurgia tem sido efetiva em casos onde o tumor se encontra no primeiro estágio de crescimento, porém quando o tumor já se encontra em estágios mais avançados, a utilização da radioterapia e quimioterapia se faz necessária.²⁷

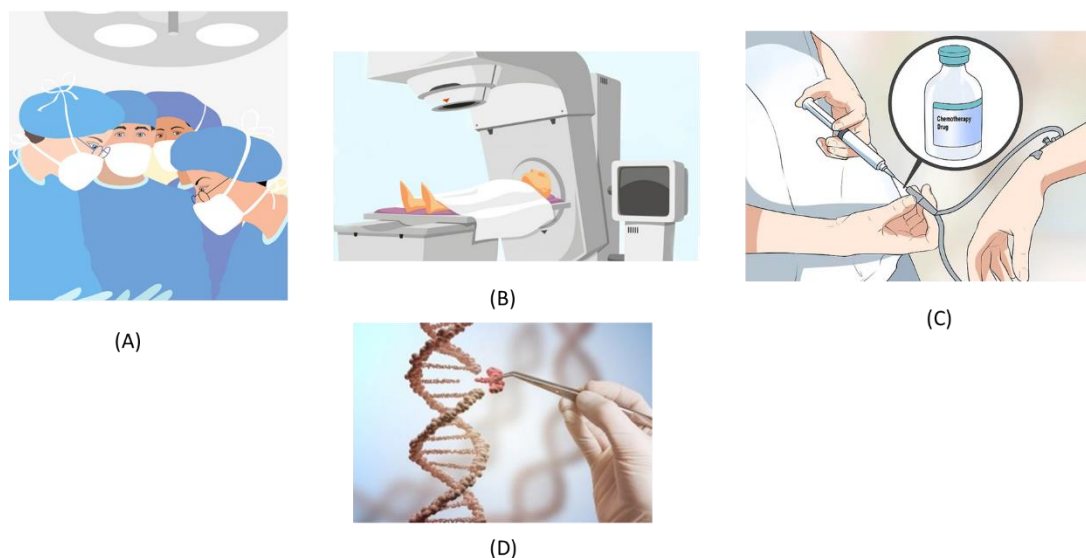


FIGURA 1. 7 - Principais métodos de tratamento para câncer, (A) - Cirurgia, (B) - Radioterapia, (C) - Quimioterapia e (D) recentemente Terapia gênica.

A radioterapia tem como objetivo diminuir o tamanho do tumor, onde os feixes de radiação ionizantes são direcionados à região do tumor, sendo capazes de interagir com tecidos, dando origem a elétrons que ionizam o meio, causando danos nas estruturas das células, ocasionando a ruptura das cadeias do DNA. O objetivo é provocar danos que levem à incapacidade de reprodução das

células. O problema gerado por esta técnica é que a radiação utilizada pode causar danos também a células normais ocasionando uma série de efeitos indesejáveis.²⁸

Para um grande número de casos de câncer, o tratamento mais indicado é a quimioterapia, sendo o fármaco administrado ao paciente pelo sistema circulatório de forma que seja possível atingir o tumor. Vários fatores são considerados para que seja escolhido o fármaco adequado à quimioterapia como, tipo de câncer, estágio da doença, saúde geral e idade do paciente. Devido à forma de distribuição e ação do fármaco, os quimioterápicos podem atuar de maneira não específica, ocasionando lesões tanto em células cancerosas, como em células normais, originando também uma série de efeitos colaterais.¹⁹ Outra situação a ser considerada é o relato de vários casos de tumores resistentes à fármacos utilizados atualmente no tratamento do câncer. Assim, o estímulo ao desenvolvimento de novos quimioterápicos, e se possível com diferentes mecanismos de ação, é de grande importância, fazendo da busca por fármacos com ação antitumoral comprovada e efeitos colaterais minimizados, um desafio aos químicos medicinais.

1.3.1 – Metalofármacos no tratamento do câncer

Apesar dos metais de transição ocuparem uma importante posição em processos biológicos, a indústria farmacêutica, tradicionalmente, tem maior quantidade de fármacos em desenvolvimento a partir de moléculas orgânicas. Dentre todos os metalofármacos disponíveis, o de maior reconhecimento no tratamento do câncer é a cisplatina, ou *cis*-diaminodicloroplatina(II) (Platinil®), sendo um complexo de Pt^{2+} , com geometria quadrada planar. Sua estrutura foi determinada por difração de raios-X de monocristal, sendo depositada na base de dados cristalográfica com número CCDC 1133046,²⁹ mostrada na FIGURA 1.8.

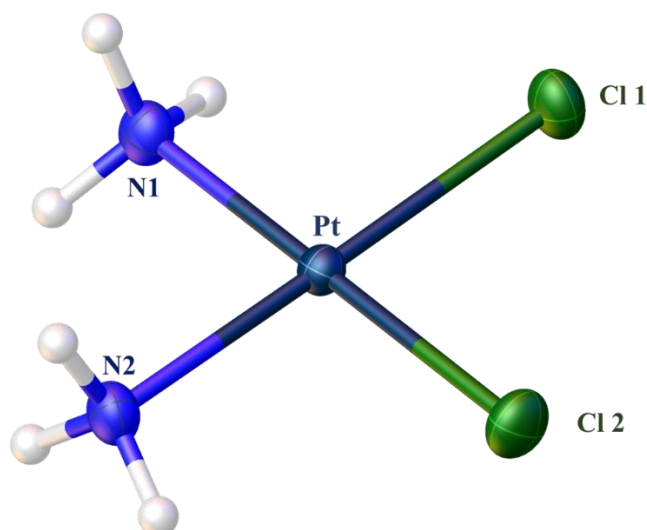


FIGURA 1.8 - Estrutura obtida por difração de raios-X de monocristal para o complexo *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂], conhecido como cisplatina.

O complexo *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] foi sintetizado por Peyrone em 1844,³⁰ porém suas propriedades anticancerígenas foram descobertas mais de 100 anos depois, na década de 60, por Barnett Rosenberg e colaboradores, por acaso, quando o grupo estudava a influência da corrente elétrica no crescimento da bactéria *Escherichia coli*, utilizando eletrodos de platina no sistema de geração de corrente. Este experimento mostrava que a colônia de bactéria tinha seu crescimento inibido, porém os dados obtidos por Rosenberg indicavam que essa inibição não ocorria devido à corrente elétrica gerada, mas sim devido ao produto da oxidação do eletrodo de platina, que reagia com a amônia presente no meio de cultura, proveniente da solução tampão de amônia, o que posteriormente mostrou-se ser compostos de platina do tipo *cis*-[Pt(NH₃)_nCl_{6-n}].^{31,32}

Após identificar o complexo responsável pela atividade biológica, o composto foi então patentado, e aprovado pela FDA em dezembro de 1978. A cisplatina foi o primeiro complexo inorgânico a entrar em uso clínico, no mundo, para o tratamento do câncer. Ainda hoje a quimioterapia com complexos de platina é a base dos principais tratamentos do câncer.³³⁻³⁵

O uso da cisplatina apresentou-se como um espetacular avanço principalmente no tratamento do câncer ovariano, bexiga, cervical, pulmonar e

testicular, além de ser administrada também em conjunto com outros fármacos.³¹ Outro fato de extrema importância é que antes da utilização deste fármaco na oncologia, a taxa de mortalidade dos pacientes com câncer testicular era de aproximadamente 90%, e após a regulamentação do uso da cisplatina, o índice de mortalidade caiu para aproximadamente 10%. Esta drástica diminuição de mortalidade é uma das principais conquistas na química bioinorgânica.^{31,32}

Apesar de ser extremamente difícil a atribuição exata do mecanismo de ação de um fármaco, existe um consenso entre os pesquisadores de que o provável mecanismo de ação do cisplatina é sua interação com o DNA, uma vez que o fármaco entra na corrente sanguínea, alcançando o meio extracelular, onde a concentração de íons cloreto é da ordem de 100 mM, inviabilizando a hidrólise do composto mantendo o complexo com sua estrutura original. Porém, a cisplatina é um composto com capacidade de permear a membrana celular, já no interior da célula, a concentração de íons cloreto é de aproximadamente 3 a 4 mM, o que viabiliza a liberação do cloreto e consequente hidrólise do complexo, substituindo os átomos de cloro por moléculas de água,^{8,32} conforme pode-se ver na FIGURA 1.9.

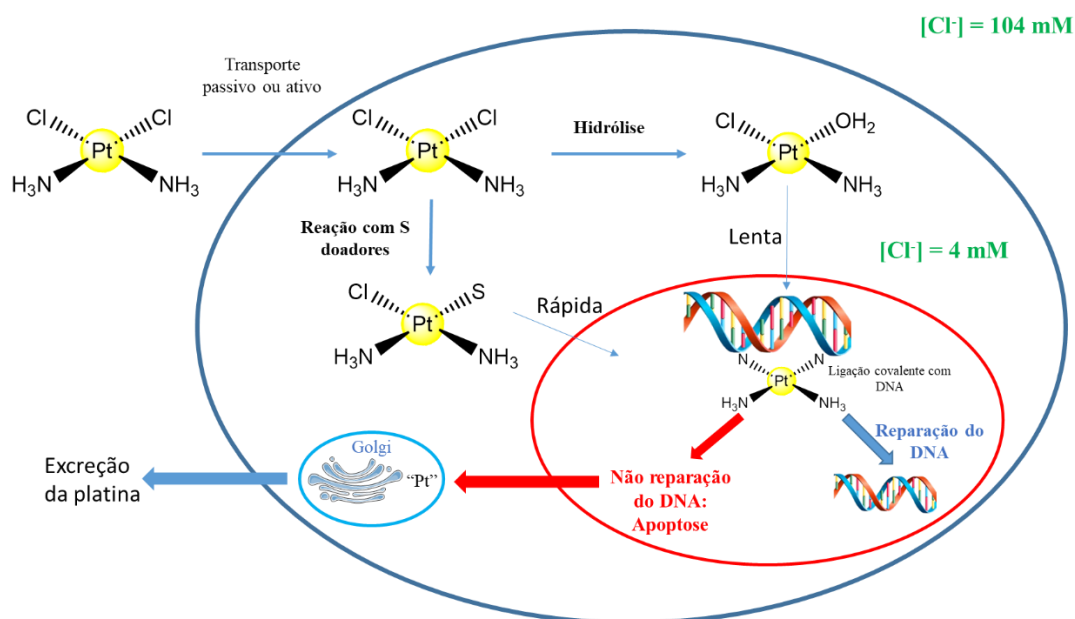


FIGURA 1.9 - Representação esquemática do modo de ação do cisplatina (adaptado site³⁶).

A estrutura obtida após a labilização dos ligantes cloro e formação do aquo-complexo, possibilita a interação com vários sítios no interior da célula, como carbonatos, sulfatos, nitrogênios ou enxofres de proteínas. Esta proposta é amplamente aceita devido às estruturas obtidas a partir de dados de difração de raios-X de proteínas. Observa-se que a coordenação da platina nas bases nitrogenadas, ligando-se principalmente ao nitrogênio da posição 7 da guanina. Assim, a formação do complexo/DNA é do tipo covalente, com a ligação direta do centro metálico à cadeia do DNA, provocando fortes modificações estruturais nesta biomolécula (FIGURA 1.10), o que interfere no ciclo celular de forma a impedir a sua replicação e em alguns casos pode desencadear mecanismos de morte celular, quando os danos causados não forem passíveis de reparo.³⁷

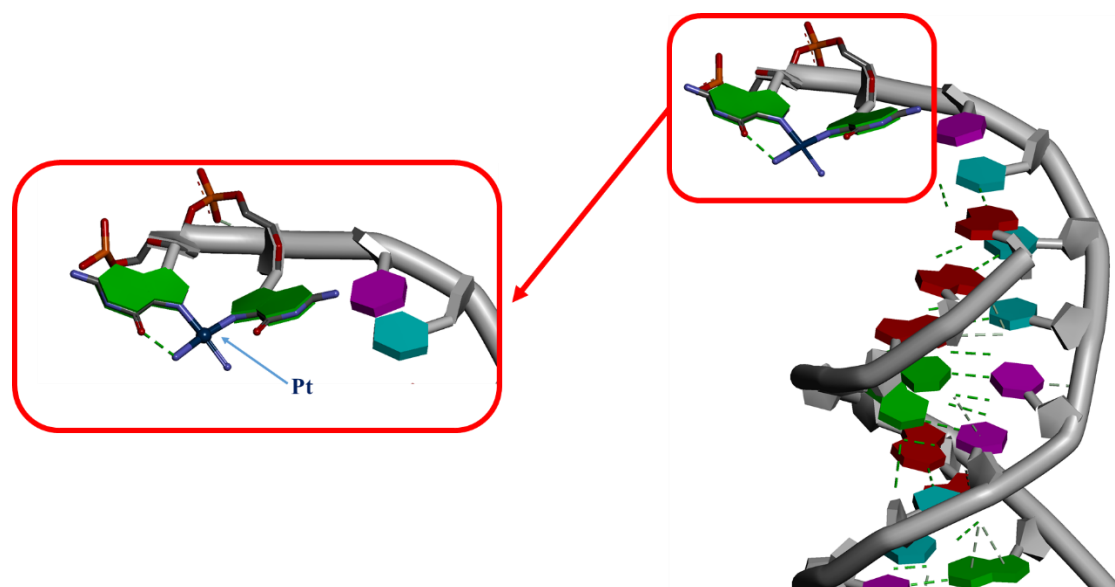


FIGURA 1.10 - Estrutura cristalina da molécula formada com coordenação do cisplatina ao DNA (adaptado de TODD ³⁷).

Um grande problema geralmente enfrentado pelos pacientes tratados com a cisplatina é o surgimento de efeitos colaterais como nefrotoxicidade, ototoxicidade, neurotoxicidade, hipertensão, diarreia, náuseas e vômito. Em casos mais graves estes efeitos podem inviabilizar o uso da medicação, devido a estas e outras limitações que surgem com o tempo prolongado de uso do medicamento. Complexos similares ao cisplatina foram desenvolvidos, buscando a diminuição da toxicidade e manutenção e/ou melhora da atividade antitumoral.

Modificações estruturais podem levar a alterações que influenciam diretamente na atividade biológica do composto, como aumento da potência e/ou redução de efeitos colaterais, por exemplo. Na FIGURA 1.11, são mostrados alguns compostos análogos da cisplatina que se apresentam ativos no tratamento do câncer, porém com propriedades físico-químicas diferentes, onde pode-se destacar a alteração na velocidade da reação de hidrólise, que produz o aquo-complexo que irá interagir com as biomoléculas. Uma importante correlação que permitiu sugerir a importância estrutural da cisplatina com a atividade biológica foi obtida quando compara-se a atividade biológica dos complexos *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] e *trans*-[PtCl₂(NH₃)₂], onde apenas a cisplatina é altamente ativo, e o isômero *trans* pouco ativo, fato justificado pela maior estabilidade do composto, conferindo resistência à reação de hidrólise^{31,38}.

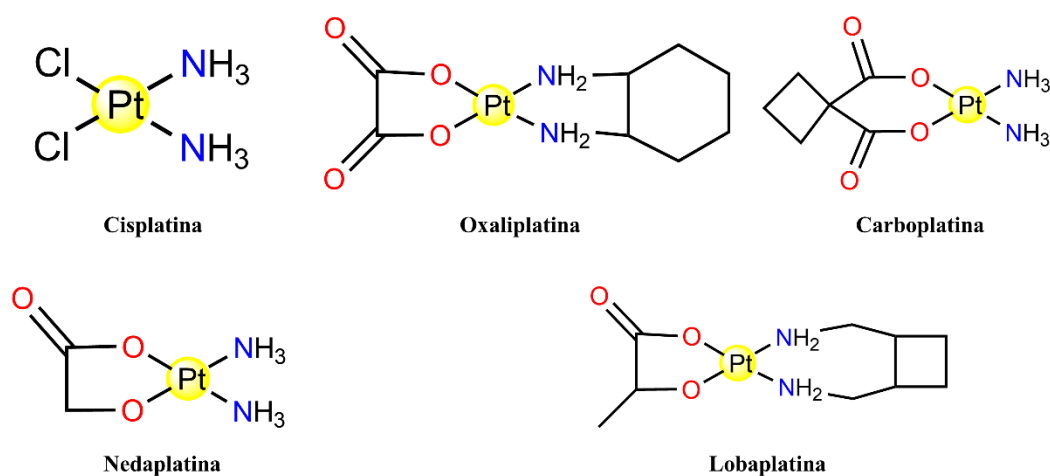


FIGURA 1.11 - Estruturas de alguns complexos de platina utilizados no tratamento do câncer.

O uso da cisplatina no tratamento de vários tipos de câncer é ainda hoje reconhecido como um dos mais bem-sucedidos usos da química inorgânica na medicina. Este fato não demorou a despertar o interesse de vários grupos de pesquisa para compreender porque o composto tem tal atividade e se é possível compostos com outros centros metálicos apresentarem potencial para aplicação na quimioterapia. Um dos pontos principais no desenvolvimento de um fármaco

anticâncer é encontrar compostos que sejam ativos e com alta citotoxicidade frente às células tumorais, e com a menor citotoxicidade possível nas células normais, ou seja, a necessidade de doses menores e apresentar boa seletividade, pois assim pode-se minimizar os efeitos colaterais.

Dentre a grande quantidade de compostos de metais de transição reportados na literatura, os complexos de rutênio apresentam papel de destaque, sendo que nas últimas décadas a química do rutênio tem sido amplamente explorada.³⁹⁻⁴⁴ Tais compostos mostram-se eficazes nas mais diversas áreas, como química de materiais, catálise, fotoquímica, eletroquímica, além da química medicinal.⁴⁵⁻⁴⁸ Estruturalmente uma das vantagens de se utilizar metais diferentes da platina é a verificação do comportamento dos compostos que apresentam diferentes números de coordenação, estados de oxidação variados, e cinéticas de troca de ligantes diferentes, isto quando possível a labilização de um ligante e assim poder comparar propriedades novas obtidas com os compostos já estudados.^{49,50}

Os complexos de rutênio apresentam algumas vantagens em comparação aos compostos de platina, mostrando em alguns casos maior seletividade às células cancerígenas, redução de efeitos colaterais, dentre os quais o principal é apresentar atividade citotóxica contra células resistentes a cisplatina.⁵¹ Estudos recentes mostram que alguns complexos de rutênio marcados com isótopos radioativos possuem a capacidade de se acumular em tecidos tumorais, podendo assim não só exercer a atividade antitumoral como também permitir a visualização do tumor por técnicas cintilográficas.^{49,52}

Outro destaque é o uso de complexos de rutênio contendo ligantes nitrogenados e fármacos com atividades antitumorais, coordenados ao metal. Estes complexos exibem a capacidade de interagir com ácidos nucleicos, em sítios específicos da superfície de proteínas, alterando suas atividades. Estas interações com biomoléculas podem levar à perda da atividade das mesmas, fazendo com

que o complexo apresente maior efeito citotóxico, influenciando diretamente no efeito terapêutico do composto.^{53,54}

O grupo de pesquisa do professor Bernhard K. Keppler tem sintetizado uma série de complexos de rutênio com atividade antitumoral, sendo grande parte destes complexos aniônicos, contendo quatro ligantes clorido na esfera de coordenação e ligantes *N*-heterocíclicos além de cátions imidazol ou sódio como contra íon. Nesta família de complexos, destacam-se três, o NAMI-A (*New Metastatic Anti-tumor Metastasis Inhibitor*), KP1019 e NKP1339 (FIGURA 1.12) que chegaram a etapa de testes clínicos. Apesar de não terem conseguido o esperado sucesso para uso clínico nos fornecem fortes evidências de possibilidade de uso de compostos de rutênio na medicina.^{55,56}

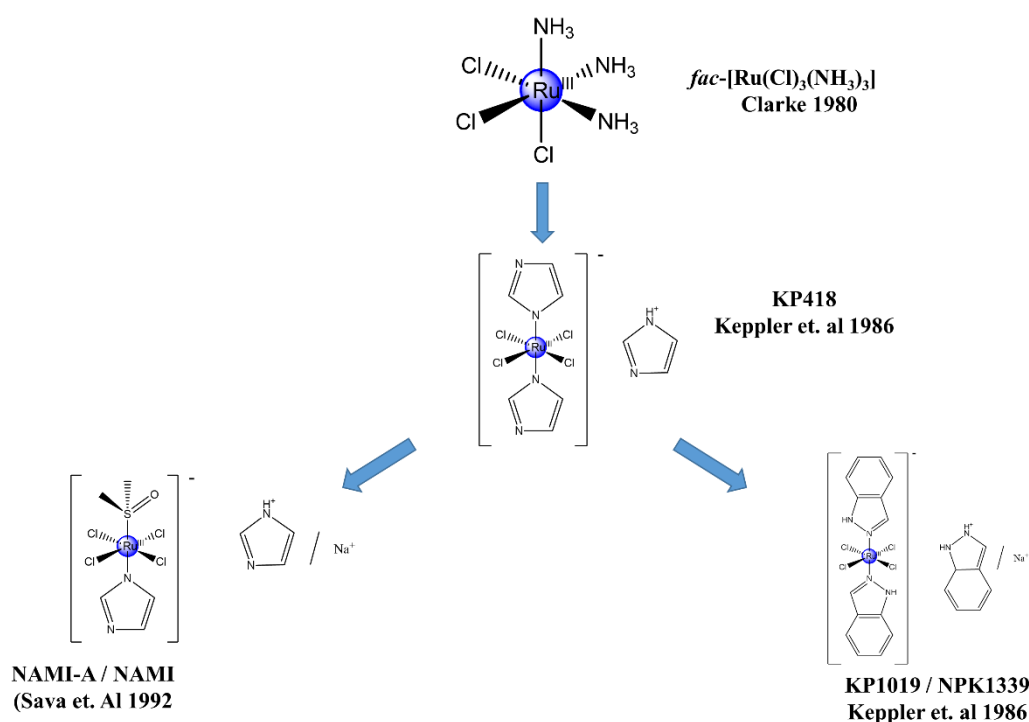


FIGURA 1.12 – Genealogia de complexos inibidores de tumor e primeiras evidências de atividade terapêutica de compostos de rutênio *in vivo*.

O composto NAMI-A é ativo contra carcinomas mamários (Mca), pulmonares (Lewis) e melanoma (B16), inibindo o crescimento destes tumores, aumentando a espessura da membrana que envolve tumores primários e

consequentemente impedindo a vascularização do mesmo. Em decorrência destes efeitos o tumor é impedido de invadir tecidos vizinhos ou entrar na corrente sanguínea, diferindo assim do cisplatina, por exibir interessante efeito antimetastático.⁴⁹

Nos testes clínicos realizados com o NAMI-A, na fase I, foi possível observar que os pacientes exibiram tolerância moderada ao complexo. Na fase II, o estudo foi realizado em pacientes com câncer de pulmão, que já haviam sido tratados com gencitabina, fármaco orgânico utilizado no tratamento do câncer de pulmão (*Non-Small Cell Lung Cancer* - NSCLC), o tratamento foi feito em combinação com este fármaco. Nesta fase, os resultados mostraram que os pacientes exibiram tolerância similar ao fármaco de referência entre os pacientes da fase I. Dos 27 pacientes tratados, 15 apresentaram diminuição do crescimento tumoral. Dentre estes pacientes, 10 apresentaram parada total do crescimento do tumor e em um paciente houve a regressão do tumor (diminuição de 4% do volume).⁵⁷

O composto KP1019 mostrou-se ativo contra tumores colorretais no estágio I, e estudos mostram que a atividade do mesmo pode ser explicada através do transporte pelo ciclo da transferrina, e o complexo torna-se ativo no meio intracelular após a redução de rutênio III para II.⁵⁸ Os estudos clínicos na fase I mostraram que os pacientes exibiram maior tolerância ao complexo em comparação ao NAMI-A, entretanto, nos estudos de farmacocinética, observou-se que a biodisponibilidade do composto é consideravelmente baixa (1%), devido à alta afinidade do complexo pelas proteínas do plasma sanguíneo.

No estudo realizado para o composto KP1019, a principal limitação relatada foi a sua baixa solubilidade, que provavelmente é um dos fatores que dificultam a realização dos testes clínicos.⁵⁹ A busca da solução deste problema foi feita a partir da modificação estrutural do composto, substituindo o contra íon imidazol por um cátion sódio, aumentando assim sua solubilidade, e esse novo complexo foi denominado NKP1339. Nos estudos da fase I, o NKP1339, exibiu

efeitos colaterais menos intensos que seu análogo, conduzindo à maior tolerância dos pacientes ao tratamento.⁶⁰ Desta forma os resultados dos testes clínicos na fase I mostram que uma das principais vantagens destes complexos de rutênio é a presença de efeitos secundários bastante limitados, comparando com os fármacos atualmente utilizados no tratamento do câncer.^{52,60}

Nos últimos anos o Laboratório de Estrutura e Reatividade de Compostos Inorgânicos (LERCI) sob a supervisão do prof. Dr. Alzir Azevedo Batista, tem se dedicado à pesquisa, síntese, caracterização e estudo das atividades citotóxicas exibidas por um grande número de complexos de rutênio, os quais têm se mostrado bastante promissores. Sempre que possível é feita uma correlação entre estrutura e atividade dos compostos, para melhor compreensão dos sistemas estudados, sempre visando a melhora da atividade citotóxica dos compostos frente às células tumorais, e diminuição da citotoxicidade frente às células não-tumorais. Durante os vários anos de pesquisa e artigos publicados, os complexos com ligantes fosfínicos e diimínicos mostraram-se bastante versáteis, geralmente com boa estabilidade química, alto grau de pureza e rendimento e boa atividade biológica e seletividade, o que estimula a continuação de estudos para melhor compreensão deste tipo de sistema.

Na TABELA 1.1 são apresentados resultados previamente publicados de valores de IC_{50} (concentração mínima de complexo capaz de inibir o crescimento de 50% das células) para várias linhagens tumorais como MDA-MB-231 (adenocarcinoma de mama humano), Hela (tumoral de colo de útero), DU-145 (tumoral de próstata), U87 (glioblastoma humano), T98 (glioblastoma), MCF-7 (tumoral de mama), sendo que para os estudos realizados encontram-se valores relativamente baixos de IC_{50} , o que mostra a relevância da atividade citotóxica dos complexos na busca de novos compostos para uso como metalofármacos.

TABELA 1.1 - Valores de IC₅₀ (μM) em várias linhagens celulares tumorais para alguns complexos de rutênio sintetizados no LERCI

Complexos*(LC)	IC ₅₀	Complexos*(LC)	IC ₅₀
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bipy)(dppb)] ^(a)	31,3	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bipy)(dppp)] ^(a)	14,4
[Ru(pic)(bipy)(dppf)]PF ₆ ^(b)	16,1 ⁶¹	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bipy)(dppe)] ^(a)	15,8
[Ru(pic)(bipy)(dppp)]PF ₆ ^(b)	4,92 ⁶¹	[Ru(MIm)(bipy)(dppf)]PF ₆ ^(d)	0,51
<i>cc</i> -[RuCl(CO)(dppb)(bipy)]PF ₆ ^(a)	1,90 ⁶²	[RuCl(Im)(bipy)(dppf)]PF ₆ ^(d)	1,53
<i>ct</i> -[RuCl(CO)(dppe)(phen)]PF ₆ ^(a)	0,25 ⁶²	[RuCl ₂ (alo) ₂ (PPh ₃) ₂] ^(a)	<0,78 ⁶³
[Ru(Gly)(dppb)(phen)]PF ₆ ^(a)	1,56 ⁶⁴	[Ru(pip)(bipy)(dppb)]PF ₆ ^(d)	0,63 ⁶⁵
[RuCl(BzCN)(bipy)(dppe)]PF ₆ ^(c)	7,20 ⁶⁶	[Ru(PPh ₃) ₂ (aciltiourea)(bipy)]PF ₆ ^(e)	0,57 ⁶⁷
[RuCl(BzCN)(bipy)(dppb)]PF ₆ ^(c)	1,82 ⁶⁶	[Ru(pyS)(dppp)(bipy)]PF ₆ ^(b)	0,62 ⁶⁸
Cisplatina ^(a)	2,44	Doxorrubicina ^(a)	3,67

*LC (linhagens celulares): (a): MDA-MB-231; (b): U87; (c): DU-195; (d): HepG2; (e): L929;

Ligantes: dppb = 1,4-*bis*(difenilfosfina)butano; dppe = 1,2-*bis*(difenilfosfina)etano; dppp = 1,3-*bis*(difenilfosfina)propano; dppf = 1,1'-*Bis*(difenilfosfina)ferroceno; bipy = 2,2'-bipiridina; pic = ácido picolínico; Gly = Glicina; BzCN= benzonitrila; MIm = 2-mercapto-1-metilimidazol; Im = imidazol; alo = alopurinol; pip = piplartina;

Como pode ser observado na tabela acima o grupo coordenado pelo prof. Dr. Alzir Azevedo Batista tem estudado extensivamente propriedades citotóxicas de complexos de Ru(II), apresentando na sua estrutura básica principalmente ligantes diiminícos e fosfínicos, além dos mais variados tipos de ligantes como aminoácidos, produtos naturais, piridinas, mercaptopiridininas, tioureas, produtos naturais, CO, isonitrilas, mercaptos, fármacos, entre outros.^{64,69,70}

Os estudos de atividades citotóxicas em diversas linhagens celulares, mostram que para alguns complexos foram encontrados valores de IC₅₀ significativamente baixos quando comparados com os fármacos de referência como no caso do complexo [Ru(Gly)(dppb)(phen)]PF₆ (1,56 μM) sendo mais ativo que a cisplatina e doxorrubicina, na mesma linhagem celular.

Usando informações obtidas de trabalhos prévios pode-se planejar novos complexos afim de melhorar a atividade citotóxica, seja incrementando ou modificando as classes de ligantes conhecidas, como por exemplo para o

composto organometálico *ct*-[RuCl(CO)(dppe)(phen)]PF₆ com IC₅₀ de 0,25 μM na linhagem MDA-MB-231, desta forma pode-se estudar novos compostos, baseados na boa atividade apresentada para este composto e verificar se o comportamento desta classe de ligantes é promissora para atividade anticâncer.

1.4 – O estudo da interação com alvos moleculares biológicos

Em uma grande quantidade de trabalhos recentes da literatura usualmente são apresentados vários tipos de testes de interação de complexos inorgânicos com biomoléculas, com o objetivo de uma maior compreensão dos sistemas obtidos. Após constatada a atividade citotóxica de um composto, com o objetivo de conhecer melhor os sistemas estudados e buscar maiores evidências de como o composto pode apresentar citotoxicidade, vários testes de interações com biomoléculas são realizados.⁷¹⁻⁷⁵

O possível alvo bastante investigado para atividade citotóxica de complexos inorgânicos é o DNA, principalmente devido à atividade da cisplatina estar relacionada com a interação covalente com esta biomolécula responsável pelo crescimento e replicação celular, e assim diretamente ligada ao desenvolvimento do câncer. Na literatura já é bem aceito que complexos inorgânicos apresentam habilidade de interagir de diferentes formas com biomoléculas e afetar seu funcionamento. Além do DNA outras biomoléculas que apresentam funções na replicação celular como Topoisomerase I e II, moléculas que atuam no ciclo celular (ciclina A, D, E, B e outras moléculas) e moléculas que atuam nos mecanismos de morte celular (caspases e outras moléculas).^{76,77}

Também apresenta fundamental importância estudar como os candidatos à metalofármacos podem ser biodisponibilizados por biomoléculas responsáveis pelo transporte de substâncias pelo organismo como albumina e transferrina, além de outras. Esta informação também é bastante útil no desenvolvimento de um medicamento, onde pode-se verificar se os metalofármacos poderão atingir os alvos desejados via administração oral ou se

ocorre alguma interação muito forte durante o transporte que inviabiliza sua biodisponibilidade no organismo.^{78,79}

Deste modo, buscou-se estudar como os complexos de Ru(II) aqui obtidos são capazes de interagir com biomoléculas, e com essas informações buscamos compreender melhor os sistemas usados e assim propor futuros compostos com maior potencial citotóxico frente ao câncer e/ou outra doença que os compostos possam vir apresentar atividade biológica.

1.5 – Ligantes *N*-heterocíclicos (diiminas)

Esta classe de compostos orgânicos é conhecida há muito tempo e já no final do século XIX, o ligante “bipiridina” começou a ser usado na complexação de metais, sendo possível distinguir entre os isômeros simétricos e assimétricos, como mostrado na FIGURA 1.13. De todos os isômeros possíveis, somente o 2,3' e 3,3'-bipiridina são encontrados com abundância natural apreciável em certas espécies de tabaco.⁸⁰

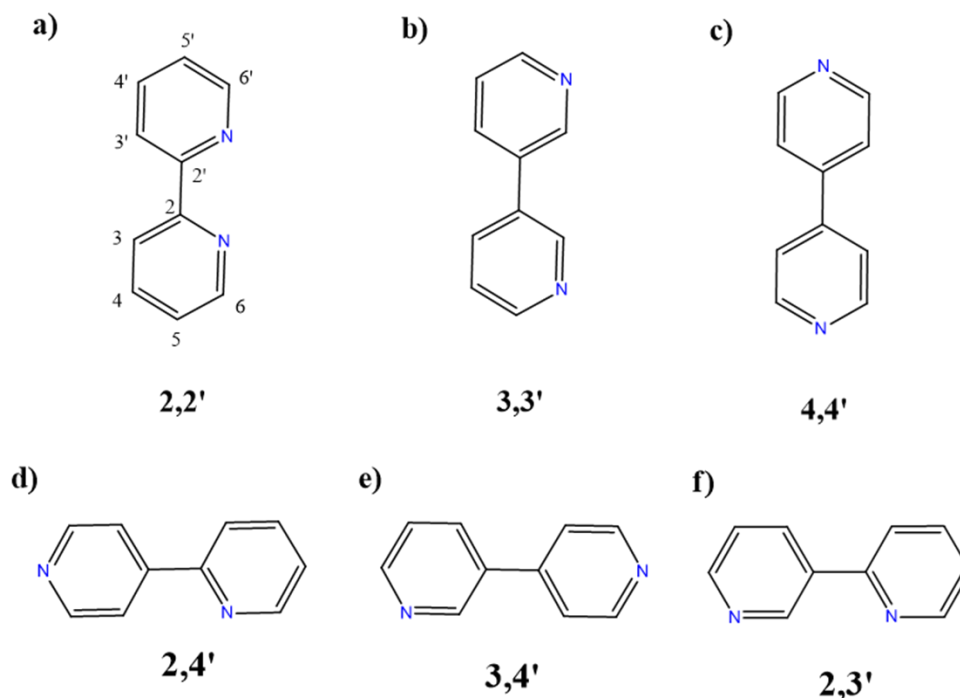


FIGURA 1.13 - Isômeros simétricos (a, b, c) e isômeros assimétricos (d, e, f) do ligante bipiridina.

O ligante 2,2'-bipiridina e seus derivados apresentaram-se como uma importante classe de ligantes na química de coordenação e têm sido usados extensivamente como agentes quelantes para vários metais de transição devido sua estabilidade redox e sua fácil modificação. A grande quantidade de compostos relatados na literatura pode ser atribuída a sua grande versatilidade, sendo usados para várias aplicações tanto na química orgânica quanto inorgânica, como em catálise, fotoquímica, DSCs (células solares), bioinorgânica, eletroquímica, sensores, entre outras.⁸¹⁻⁸⁵

Na química bioinorgânica complexos metálicos coordenados com ligantes diimínicos têm sido reportados por apresentarem atividades citotóxicas com variados metais de transição como platina, paládio, cobre, ferro, zinco, manganês e rutênio, entre outros. Algumas das principais estruturas dos ligantes diimínicos reportados são apresentadas na FIGURA 1.14.⁸⁶⁻⁹²

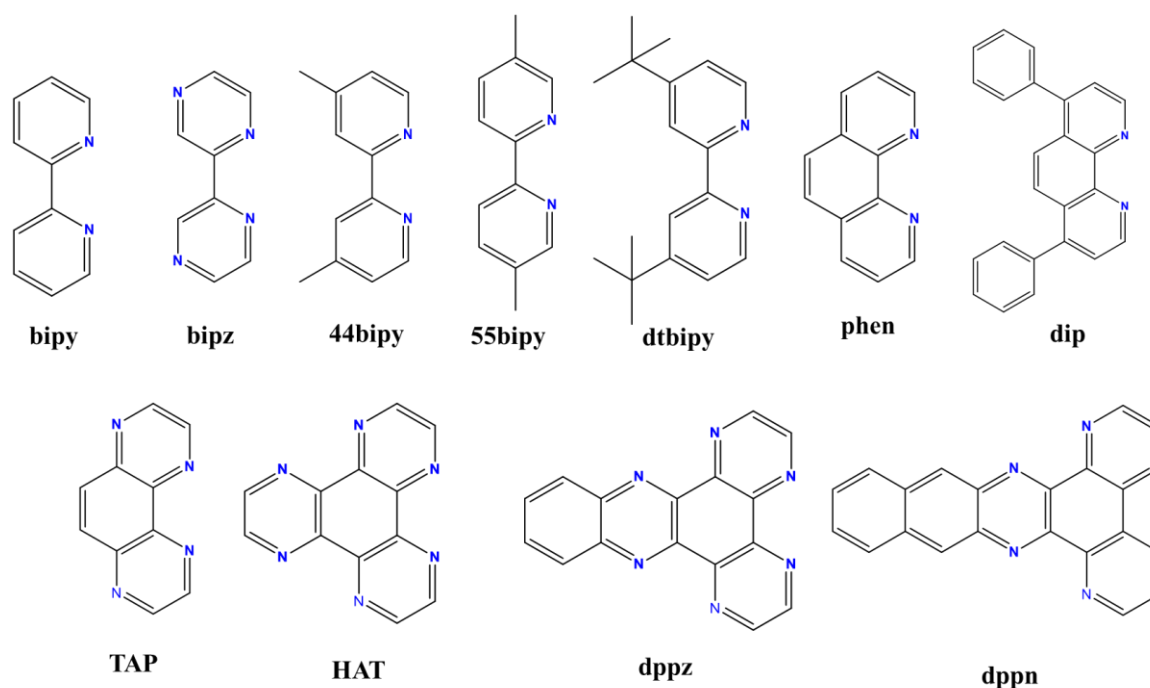


FIGURA 1.14 - Representação estrutural de alguns ligantes diimínicos.

Especificamente para compostos metálicos de Ru(II) e Ru(III) contendo esta classe de ligante são reportadas várias aplicações biológicas. Recentemente compostos de rutênio do tipo $[\text{Ru}(\text{bipy})_2(\text{dppn})]^{2+}$, onde dppn é

mostrada na FIGURA 1.14, o composto apresenta atividade citotóxica contra linhagens tumorais adenocarcinoma de colo de útero e mama, além de nesta série estudada indicar que o uso de diiminas maiores tendem a apresentar melhores resultados de citotoxicidade. Alguns complexos de Ru(II) contendo ligantes aromáticos π -deficientes como TAP (1,4,5,8-tetraazo fenantreno) or HAT (1,4,5,8,9,12-hexaazatrifenileno, FIGURA 1.14) são capazes de formar adutos com o DNA, sob ação de radiação visível. Também é bastante estudado e conhecido na literatura que compostos poliaromáticos de Ru(II) apresentam a particularidade de serem usados como fotoprobes de material genético ou como agentes fotoreativos.^{90,92}

Estudos realizados por Carvalho et al. (2018)⁹³ demonstram que complexos de Ru(II) contendo dois ligantes diimínicos apresentam boa atividade citotóxica, além de ter sido detectada alta concentração do complexo no núcleo das células, com capacidade de intercalação do DNA inibindo assim o processo de síntese de DNA, que leva à interrupção do ciclo celular ativando a via de apoptose mediada por caspase. Beckford et al. (2011)⁹⁴ reportaram as propriedades de compostos de Ru(II) com diiminas e tiosemicarbonas apresentando boa atividade citotóxica com propriedades de inibição de topoisomerase II.

Rajendiran et. al (2007)⁹⁵ sintetizaram e estudaram compostos de Ru(II) contendo um ligante diimínico dppz e 1,8-bis(piridi-2-il)-3,6-ditiooctano, os compostos apresentaram valores de IC₅₀ de aproximadamente 4 μ M, na linhagem A375, uma linhagem tumoral agressiva de melanoma que apresenta resistência a uma grande quantidade de fármacos disponíveis no mercado. Wong et al. (2014)⁹⁶ reportaram a síntese de complexos de Ru(II) solúveis em água com 1,4,7-tritioiclononano e 4,4'-dimetoxicarbonil-2,2'-bipiridina, com alta seletividade à histidina em relação aos outros aminoácidos naturais que também podem ser usados como probe luminescente da ação do complexo na célula.

A partir da experiência obtida pelo grupo de pesquisa LERCI, associado aos estudos reportados por vários grupos de pesquisa ao redor do mundo, buscou-se direcionar este trabalho com ligantes que apresentam importância no desenvolvimento da química inorgânica e bioinorgânica como ponto de partida para justificar os estudos aqui reportados, contribuindo com a literatura sobre propriedades de complexos de rutênio.

1.6 O ligante isocianida de *p*-toluenosulfonilmetila.

A classe de compostos orgânicos isonitrilas apresenta grupo funcional $\text{:C}\equiv\text{N-R}$, onde R pode ser desde um simples grupo metila, ou grupos bastante complexos, podendo conter vários outros grupos funcionais.

A primeira isocianida relatada foi sintetizada por Lieke, em 1859, e apesar de ter sido sintetizada há muito tempo, esta classe de compostos demorou a ter reconhecimento e aplicação na química, devido à dificuldade sintética, além de odor, em geral, extremamente desagradável.⁹⁷ Um teste qualitativo para aminas primárias (às vezes chamado de teste da carbilamina) é baseado na reação de Hofmann, com diclorometano, que leva à formação de uma isonitrila cuja presença é detectada pelo seu mau cheiro.⁹⁸

Em 1930, a estrutura para o grupo isonitrila foi proposta por Lindemann e Wiegrebe, em analogia com a estrutura do monóxido de carbono, como postulado por Langmuir, sendo a que melhor cumpriu com a regra de octeto contendo uma ligação tripla entre $\text{N}\equiv\text{C}$.⁹⁹ No mesmo ano desta proposta, Hammick e colaboradores encontraram o dipolo parcial do grupo isonitrilo $\text{R-N}\equiv\text{C}$, oposto ao dos grupos nitrilo $\text{R-C}\equiv\text{N}$, sendo que os dados obtidos foram suficientes para propor razoavelmente a região de densidade de carga negativa no carbono, sendo hoje bem estabelecido que ocorre ressonância entre as estruturas mostradas na FIGURA 1.15.

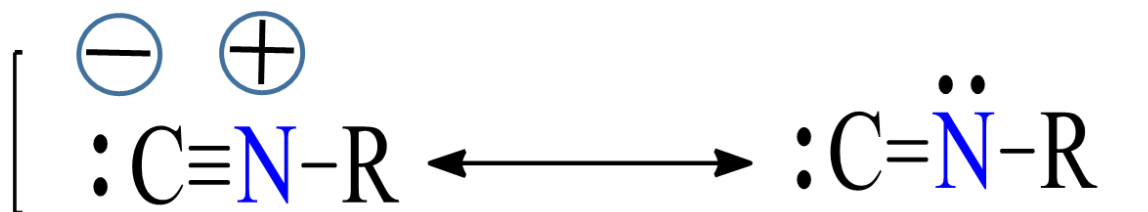


FIGURA 1.15 – Estrutura de ressonância do grupo isonitrila

Esta classe de compostos é conhecida também como isocianida, carbilamina ou simplesmente NC. As isonitrilas possuem grande versatilidade em reações orgânicas devido ao seu status de derivados de carbono divalentes estáveis mais conhecidos.¹⁰⁰⁻¹⁰³ Além disto, nas últimas décadas foram reportadas várias reações nas quais isocianidas são reagentes importantes, incluindo reações multicomponentes,¹⁰⁴ síntese de complexos organometálicos,¹⁰⁵ polimerizações,¹⁰⁶ entre outras aplicações.

A química das isocianidas apresenta um grande número de compostos estudados e reportados na literatura, sendo que na base de dados cristalográficos da CCDC existem mais de 3.900 estruturas depositadas contendo o grupo funcional isonitrila, entre moléculas orgânicas e complexos metálicos. A molécula estudada neste trabalho é a isocianida de *p*-toluenosulfonilmetina (Tol), e para esta estrutura especificamente, existem apenas 14 estruturas cristalográficas reportadas. A estrutura do ligante foi reportada em 2015 e cristaliza em um sistema ortorrômbico com grupo espacial centrossimétrico Pnma, com apenas meia molécula por unidade assimétrica¹⁰⁷, como mostrado na FIGURA 1.16.

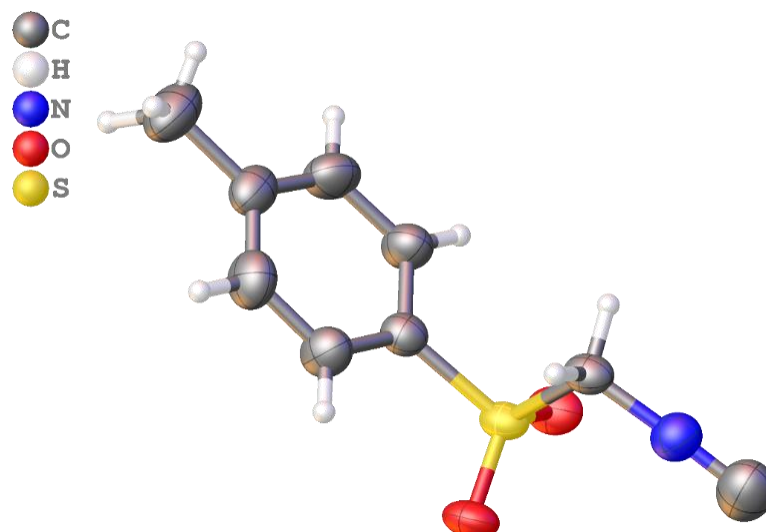


FIGURA 1.16 - Estrutura obtida por difração de raios-X do ligante isocianida de *p*-toluenosulfonilmetina.¹⁰⁷

O composto isocianida de *p*-toluenosulfonilmetina é relatado como sendo um importante intermediário em síntese orgânica para obtenção de várias outras classes de compostos que apresentam propriedades biológicas, porém são escassos os trabalhos que apresentam a estrutura do ligante Tol como produto final e/ou exploram suas propriedades estruturais, além de não ter sido encontrado estudos sobre propriedades biológicas na atividade anticâncer.

CAPÍTULO 2 – OBJETIVOS

2.1 – Objetivo geral

O objetivo principal deste projeto foi sintetizar, caracterizar e avaliar propriedades anticâncer e de interação com biomoléculas, de duas séries de complexos de rutênio(II).

Outro objetivo do trabalho foi avaliar a atividade citotóxica dos compostos frente à linhagens celulares humanas tumorais (A-549 e DU-145) e não tumoral (MRC-5), a interação com biomoléculas dos compostos de Ru(II)/fosfínicos/polipiridínicos, comparando com o composto $[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$, e dos compostos organometálicos obtidos com o ligante isocianida de *p*-toluenosulfonilmetila.

2.2 – Objetivos específicos

Para alcançar os objetivos gerais foram propostos os seguintes objetivos específicos:

- Síntese dos complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{N-N})](\text{ClO}_4)_2$, $[\text{RuCl}(\text{P-P})(\text{N-N})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$, onde: N-N = 2,2'-bipiridina, 1,10-fenantrolina, 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina, 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina, 4,4'-di-terc-butil-2,2'-bipiridina e Tol= isocianida de *p*-toluenosulfonilmetila; (P-P) = um ligante bidentado 1,4-bis(difenilfosfinobutano) ou dois ligantes monodentados trifenilfosfina.
- Caracterização dos complexos obtidos por ressonância magnética nuclear de ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, DEPT-135, COSY, HSQC, voltametria cíclica, análise elementar, condutância molar, espectroscopia de absorção na região do UV-Visível, espectroscopia

- vibracional na região do infravermelho e difração de raios X de monocristal (quando possível obtenção de monocristal);
- Realização de testes de interação dos complexos de rutênio com DNA utilizando técnicas de viscosidade, eletroforese em gel, estudo de competitividade com Hoescht;
 - Avaliação da interação dos complexos com HSA (albumina do soro humano);
 - Avaliação da citotoxicidade dos complexos de rutênio obtidos frente a linhagens de células tumorais (A-549, DU-145) e não-tumoral (MCR-5);

CAPÍTULO 3 – PARTE EXPERIMENTAL

Neste capítulo estão descritos os materiais utilizados, as sínteses e caracterizações dos compostos de rutênio com ligantes sintéticos e naturais. Além disso, são descritos também os procedimentos dos ensaios biológicos realizados com os mesmos.

3.1 – Materiais

3.1.1 – Obtenção da atmosfera de Argônio

Os compostos aqui descritos foram obtidos utilizando atmosfera de argônio, de procedência AGA, pois a presença de oxigênio e umidade no meio reacional pode provocar oxidação dos compostos. O gás foi conduzido por uma coluna com sílica gel e em seguida por uma coluna com catalisador BTS-R-3-11 (Fluka Chemika), aquecida a 60 °C para eliminação de oxigênio.

3.1.2 – Solventes

Os solventes orgânicos utilizados neste trabalho foram submetidos à purificação prévia, segundo os métodos usuais. Todos os solventes deuterados [acetona- d_6 e CD_2Cl_2 (Aldrich)] foram utilizados como fornecidos.

3.1.3 – Reagentes químicos em geral

Perclorato de tetrabutilamônio (PTBA), de procedência Fluka, foi utilizado na preparação de soluções 0,1 mol L⁻¹ em diclorometano ou acetonitrila, para obtenção do eletrólito suporte para os experimentos voltamétricos dos estudos eletroquímicos. Os ligantes trifenilfosfina (PPh_3), 1,4-bis(difenilfosfina)butano (dppb), 2,2'-bipiridina, 1,10-fenantrolina, 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina, 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina, 4,4'-ditercbutil-2,2'-bipiridina, isocianida de *p*-toluenosulfonilmetila e $RuCl_3 \cdot nH_2O$ são de procedência Aldrich.

3.2 – Técnicas experimentais

3.2.1 – Condutância Molar

As medidas de condutância foram feitas utilizando um aparelho Meter Lab., modelo CDM230. As soluções foram preparadas em acetona ou diclorometano na concentração de 10^{-3} mol L⁻¹. As faixas de valores foram previamente tabeladas por VELHO.¹⁰⁸

3.2.2 – Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Os espectros vibracionais de absorção na região do infravermelho foram obtidos utilizando-se o espectrofotômetro BOMEM MICHELSON FT MB-102, na região compreendida entre 4000 e 240 cm⁻¹. As amostras sólidas foram diluídas com KBr (Brometo de Potássio mantidos em estufa a 120 °C) e preparadas minutos antes das análises.

3.2.3 – Espectroscopia de absorção eletrônica UV-Vis

Os espectros na região do ultravioleta e visível foram obtidos em um espectrofotômetro de arranjo de diodo da Hewlett Packard, modelo 8452A ou Cary 500 de duplo feixe, Varian. Os espectros foram obtidos em soluções de n-octanol e em várias diluições, partindo de $1,0 \cdot 10^{-3}$ mol L⁻¹. Utilizou-se celas de quartzo com caminho óptico de 1 cm e 4 mL de capacidade.

Para determinar o valor de Log *P*, os valores do coeficiente de absortividade molar (ϵ) foram obtidos em dicloreto através do gráfico de Absorbância vs concentração dos complexos, seguindo a Lei de Beer, como descrita na Equação 3.1.

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \quad (3.1)$$

Onde, A = absorvância, c = concentração (mol L⁻¹) e b = caminho óptico da cubeta (1 cm).

3.2.4 – Análise elementar (C, H, N e S)

A determinação do teor de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre, para todos os compostos sintetizados foram realizados em um analisador CHN modelo EA 1108 da FISONs, no laboratório de análise elementar do departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos.

3.2.5 – Voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial

As medidas de eletroquímica (voltametria cíclica e voltametria de pulso diferencial) foram feitas utilizando-se o potenciostato / galvanostato Electrochemical Analyzer, modelo BAS 100B. Foi utilizada uma célula eletroquímica de vidro com capacidade de 10 mL para obtenção dos voltamogramas. Utilizou-se eletrodos de trabalho e auxiliar de Pt e Ag/AgCl como eletrodo de referência. Perclorato de tetrabutilamônio (PTBA) foi usado como eletrólito suporte (10^{-3} mol L⁻¹ em CH₂Cl₂ ou acetonitrila). Os voltamogramas foram registrados na região entre -1,5 e 1,8 V. Os potenciais anódicos (E_{pa}) e catódicos (E_{pc}) foram determinados diretamente dos voltamogramas sendo o potencial redox (E^{1/2}) obtido pela média aritmética dos potenciais (E_{pa} e E_{pc}).

3.2.6 – Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

As medidas de Ressonância Magnética Nuclear foram executadas em um espectrômetro BRUKER AvanceIII 400 MHz (100 MHz para ¹³C, 400 MHz para ¹H; 162 MHz para ³¹P) pertencentes ao Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos.

Para o tratamento de dados dos experimentos 1-D NOESY de forma qualitativa é necessário o conhecimento de alguns princípios da técnica e o uso de algumas equações que serão brevemente descritas a seguir. Considerando um sistema com spin igual a ½, quando se usa o efeito NOE, pode-se definir a intensidade do efeito em um núcleo (I) na perturbação de um núcleo (S), pelo

acoplamento dipolar, relaciona-se a variação constante de cross-relaxation (cross-relaxation rate constant) (σ_{IS}) e usando a Equação 3.2:^{109,110}

$$NOE = f_1\{S\} = \frac{(I-I^0)}{I^0} = \frac{\sigma_{IS}}{\rho_{IS}} \quad (3.2)$$

Onde:

$$\sigma_{IS} = \frac{1}{10} \left[\left(\frac{\mu_0}{4\pi} \right) \hbar \gamma_I \gamma_S r_{IS}^{-3} \right]^2 \tau_c \left[\frac{6}{1+(\omega_I + \omega_S)^2 \tau_c^2} - \frac{1}{1+(\omega_I - \omega_S)^2 \tau_c^2} \right] \quad (3.3)$$

Quando os experimentos de NOE são feitos para pequenas moléculas, e em solvente não-viscosos, como no nosso caso, pode-se fazer uma aproximação limite, que simplifica a Equação 3.3, sendo que nesta situação se $\omega_1 (ou S) \tau_c \ll 1$, conseqüentemente σ_1 depende simplesmente de τ_c e r_{IS} , como mostrado na Equação 3.4:¹¹¹

$$\sigma_{1S} \propto \tau_c r_{IS}^{-6} \quad (3.4)$$

Devido a relação entre σ_{1S} e a distancia internuclear r_{IS} , o efeito NOE pode ser usado de forma quantitativa para estimar as distâncias entre os núcleos I e S.

$$\left. \frac{dIz}{d\tau_m} \right|_{\tau_m \rightarrow 0} \propto \sigma_{IS} \quad (3.5)$$

Considerando-se a Equação 3.5, onde Iz é a magnetização longitudinal macroscópica devido a I, e τ_m é o tempo de relaxação (mistura), pode-se assim quantificar σ_{IS} , levando em consideração a limitação da obtenção da acumulação linear de I para tempos de relaxação muito curtos ($\tau_m \rightarrow 0$), e que para medidas de NOE pode-se acumular e ajustar os dados experimentais com as equações teóricas derivadas da integração da Equação 3.5, em que é constante a proporcionalidade entre $dIz/d\tau_m$ e σ_{IS} dependendo do tipo de experimento NOE.¹¹²

Pela comparação entre σ_{IS} com a distância internuclear conhecida entre dois núcleos (r_{AB} , que é usado como referência para calibrar as distâncias), uma estimativa de r_{IS} pode ser obtida a partir da Equação 3.6, e assumindo que a proporcionalidade se mantenha constante entre σ e r^{-6} para os mesmos dois

acoplamentos dos núcleos IS e AB. Essas condições são satisfeitas quando os tempos de correlação rotacional (τ_c) e a outra variável σ dependem, de I-S e A-B sejam os mesmos. Desta forma pode-se utilizar a Equação 3.6, que é uma relação bastante simples para estimar as distâncias internucleares quando se conhece a distância entre dois núcleos. Como padrão de referência, pode-se utilizar dados experimentais ou através de cálculos com métodos de estrutura eletrônica como DFT por exemplo.¹¹²⁻¹¹⁴

$$\frac{\sigma_{IS}}{\sigma_{AB}} = \left(\frac{r_{IS}}{r_{AB}} \right)^{-6} \quad (3.6)$$

Deve-se considerar também que o efeito NOE diminui com o aumento de r_{IS} e como consequência pode-se observar o efeito apenas para distâncias menores que 5Å, o que para alguns sistemas pode ser uma limitação considerável.

3.2.7 – Difração de raios X

Para as medidas de difração de raios-X por monocristal foram utilizados dois difratômetros diferentes, um pertencente ao grupo de cristalografia do IFSC-USP do tipo automático NONIUS KAPPA CCD sob responsabilidade dos Professores Dr. Javier Ellena e Dr. Ernesto Eduardo Castellano. Foi utilizado também o difratômetro do Instituto de Química, São Carlos (IQSC-USP) da marca Bruker APEX DUO, sob responsabilidade do Prof. Dr. Victor Marcelo Deflon. Ambos equipamentos utilizam radiação da linha $K\alpha$ do molibdênio (0,71070 Å).

Os monocristais foram obtidos por evaporação lenta de solvente em uma mistura CH_2Cl_2/CH_3-OH (1:1 v/v) ou pelo método de difusão de éter. As estruturas foram resolvidas com o programa SHELXS 97¹¹⁵ usando métodos diretos, sucessivos mapas de Fourier-Diferença permitiram a localização dos átomos não hidrogênicos. Excetuando-se os átomos de hidrogênio, todos os demais foram refinados anisotropicamente. Os refinamentos foram feitos pelo método dos mínimos quadrados através do programa SHELXL 97. Detalhes específicos

sobre coleta de dados e os parâmetros para cada complexo são fornecidos nos apêndices apropriados.

As tabelas e as representações das estruturas foram geradas pelo WingX¹¹⁶, Olex2¹¹⁷ e/ou Mercury¹¹⁸. Os dados principais das coletas de dados dos cristais e parâmetros dos refinamentos são sumarizados nas TABELA 4.14 e 4.16.

3.2.8 – Cálculos teóricos

A otimização e obtenção dos espectros de RMN ¹H teóricos dos compostos *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)] e **1a-5a** foram calculados por métodos de estrutura eletrônica com objetivo de comparar com os deslocamentos químicos experimentais dos grupos fenilas em π–π stacking. Para as otimizações realizadas buscou-se sempre a melhor relação entre precisão e esforço computacional, usando DFT/B3LYP com funções de base 6-31G* para C, H, N, O, P e para o centro metálico, Ru foi usada LANL2DZ com pseudo potencial (ECP), pois este nível de teoria apresenta boa concordância com dados experimentais para muitos complexos de rutênio disponíveis na literatura¹¹⁹⁻¹²³.

Para o precursor e as estruturas **1a**, **2a** e **5a**, foram utilizadas coordenadas cristalográficas para otimização, e para os compostos **3a** e **4a** as estruturas foram desenhadas no software chemsketch. Para a obtenção dos cálculos usou-se o pacote de programas Gaussian 09.¹²⁴ Para as otimizações não foram impostas restrições de simetria e as frequências harmônicas foram verificadas quanto a ausência de frequências imaginárias. Para a obtenção dos deslocamentos químicos de RMN de ¹H teórico, usou-se o método GIAO e comparados com os dados experimentais usando a Equação 3.7.^{125,126}

$$\delta_{iso,calc} = \sigma_{ref} - \sigma_{iso} \quad (3.7)$$

Onde $\sigma_{\text{ref}} = 32.6452$ ppm é usado para o RMN ^1H calculado (TMS). A estrutura cristalina do TMS foi otimizada a partir das coordenadas cristalográficas disponíveis na base de dados cristalográficos CCDC 678366, sendo então otimizada no mesmo nível de teoria das estruturas dos complexos.

3.2.9 – Determinação do coeficiente de partição (log P)

Os ensaios foram realizados utilizando um sistema octanol como fase orgânica e água na fase aquosa e o log P foi determinado pelo método *shake flash*.¹²⁷ Os complexos foram solubilizados em 90 μL de DMSO, que foi particionado em três tubos para centrífuga de 2 mL, contendo 30 μL cada. Em cada tubo foram adicionados 750 μL de *n*-octanol (**1a-6a**) ou dicloroetano (**1b-8b**) e 750 μL de água, agitados em 1000 rpm por 24 horas a 37 °C. As fases foram separadas e a concentração do complexo foi determinada na fase orgânica por UV-Vis em cada um dos 3 tubos para centrífuga, utilizando uma curva de calibração preparada para o composto na fase orgânica. O valor do logP foi calculado pela Equação 3.8.^{128,129}

$$\text{Log } P = \log \left(\frac{C_o}{C_a} \right) \quad (3.8)$$

Onde, C_o e C_a são as concentrações molares do complexo na fase orgânica e aquosa, respectivamente, sendo C_a encontrada através da subtração da concentração inicial pela concentração na fase orgânica (C_o).

3.2.10 - Estudo de interação dos complexos com DNA, por viscosidade

Preparou-se nove soluções, em tubos de ensaio, descritas na Tabela 3.1, com a concentração do composto analisado em 1×10^{-3} mol L^{-1} solubilizado em DMSO, e utilizou-se o tampão trizma-HCl.

TABELA 3.1 – Volumes utilizados na preparação das amostras para medidas de interação complexo/DNA, por viscosidade

Tubos	V complexo (μL)	V DNA (μL)	V DMSO (μL)	V tampão (μL)
1	0	0	0	4000
2	0	0	270	3730
3	0	400	270	3330
4	30	400	240	3330
5	90	400	180	3330
6	150	400	120	3330
7	210	400	60	3330
8	270	400	0	3330
9	0	400	0	3600

As medidas foram feitas em um viscosímetro de Ostwald de procedência Aldrich, em banho maria à temperatura de 25°C e com auxílio de um cronômetro para aferir o tempo de escoamento. Os experimentos foram feitos em duplicata.

3.2.11 – Titulação Espectrofluorimétrica com a HSA

O estudo de interação dos complexos sintetizados com a HSA foi realizado por meio da medida de supressão da fluorescência dos resíduos triptofano. Para isso foi empregada uma solução 2,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de HSA e tampão trizma-HCl 0,1 M, em pH 7,4. A extinção da intensidade de emissão dos resíduos de triptofano em 305 nm (comprimento de onda de excitação 270 nm) foi monitorada utilizando os complexos como supressores em diferentes

concentrações (1,56-200,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$), solubilizados inicialmente em DMSO.^{92,130}

Os experimentos foram realizados em triplicata empregando uma placa opaca de 96 poços. Em cada poço foram adicionados 180 μL de HSA e 20 μL de solução do complexo. As medidas foram efetuadas em um fluorímetro Synergy H1 BioTek nas temperaturas de 25 °C e 37 °C.

3.2.12 – Testes de citotoxicidade

Os testes de citotoxicidade foram feitos no Laboratório de Biologia do Envelhecimento (LABEN) da professora Márcia Regina Cominetti, no Departamento de Gerontologia da UFSCar, pela aluna Msc. Beatriz Nogueira da Cunha. Utilizou-se três linhagens celulares, sendo duas de células tumorais A549 (adenocarcinoma de pulmão humano), DU-145 (próstata humana) e uma linhagem não tumoral MCR-5 (pulmão humano).

Conforme o protocolo utilizado, as células foram cultivadas como cultura de monocamada aderente em meio DMEM ou RPMI, suplementado com soro fetal bovino (FBS) 10%. 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 $1,5 \times 10^4$). 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, solubilizados em DMSO, 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 (NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM, Na₂HPO₄.2H₂O 9,1 mM, KH₂PO₄ 1,8 mM, pH 7,4) 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 e mediu-se espectrofotometricamente. 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.

Os dados coletados foram tratados em planilha no Excel e no programa GraphPad Prism 5, e assim foi possível calcular o IC₅₀ (concentração inibitória de 50% das células).

3.2.13 - Estudo de estabilidade

O estudo de estabilidade dos complexos tem objetivo e avaliar se o composto mantém sua estrutura após um longo período nos solventes usados para os estudos biológicos. Neste estudo foram usadas duas soluções de aproximadamente 6 mM em duas condições, uma solução 100 % de DMSO, que é um solvente coordenante e na mistura DMSO-DMEN (DMSO/MEIO) com 66.66 % de DMSO e 33.33 % de meio de cultura para os compostos [Ru(dppb)(bipy)(dtbipy)](ClO₄)₂ (**3a**), [RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF₆ (**4b**) e [RuCl(PPh₃)₂(44bipy)(Tol)]PF₆ (**7b**). Os espectros de RMN ³¹P{¹H} foram obtidos em t0 (0 horas), t1 (2 horas), t2 (8 horas), t4 (48 horas) e t5 (168 horas).

3.2.14 - Eletroforese em gel

Foram preparadas soluções nas relações molares do complexo/plasmídeo pBR322 (Ri= 0.25; 0.50; 1.0 e 1.5) em tampão Tris (pH 7,4), as quais foram incubadas por 24 h a 37°C. As medidas de mobilidade eletroforética foram preparadas em uma solução 1% de agarose em tampão TAE (mistura de tampão Tris, ácido acético glacial e EDTA), utilizando uma cuba de eletroforese horizontal (BioRad) e uma fonte (BioRad), sendo o gel corrido a 100V por 45 min, revelados num transluminador ChemiDoc.

3.2.15 – Estudo de migração/cicatrização celular (Wound Healing)

Para este estudo $1,5 \times 10^5$ células/poço da linhagem A-549 foram plaqueadas em placas de 12 poços, e mantidas em estufa a 37°C e 5% de CO_2 por 24 horas. Com o auxílio de uma ponteira estéril, foi efetuada uma risca na monocamada aderente de células. O meio de cultura foi removido e um novo meio contendo os complexos em diferentes concentrações foi adicionado. Os controles receberam 0,5% de DMSO. Imagens das feridas foram registradas nos tempos de 0,8 e 24h, com o auxílio de uma câmera acoplada ao microscópio invertido. O experimento foi realizado em triplicata. A distância média da área interna foi determinada como a porcentagem de fechamento, utilizando o *software* Image J e empregando a seguinte equação:

$$\% \text{ de fechamento} = \frac{(A_{t=0h} - A_{t=24h})}{(A_{t=0h})} \times (100)$$

3.2.16 – Estudo de morfologia celular

As células da linhagem A-549 foram plaqueadas (1×10^5 células/poço) em placas de 12 poços, e mantidas na estufa a 5% CO_2 e 37°C , por 24 h. Em seguida os complexos, em diferentes concentrações, foram adicionados às células e imagens foram registradas em diferentes intervalos de tempo (0, 24 e 48 horas), com o auxílio de um microscópio invertido (Nikon Eclipse TS100) acoplado a uma câmera fotográfica (Moticam 1000 – 1.3MP Live Resolution) no aumento de 40x.

3.2.17 - Estudo de competitividade dos complexos com Hoescht 33258.

O estudo de competitividade dos complexos $[\text{RuCl}(\text{dppb})(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**4b**) e $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**7b**) com DNA/Hoescht foi realizado por meio da medida de supressão da fluorescência.

Para isso foi empregado uma solução $60 \mu\text{mol L}^{-1}$ de DNA e tampão trizma-HCl em pH 7,4 e uma solução $26 \mu\text{M}$ de Hoescht. A extinção da intensidade de emissão do complexo DNA/Hoechst em 400-700 nm com λ_{max} em 460 nm, (comprimento de onda de excitação 370 nm) foi monitorada utilizando os complexos como supressores em diferentes concentrações, onde obtivemos os $R_i = 0; 0,03; 0,06; 0,09; 0,12; 0,15; 0,18; 0,21; 0,24; 0,27$ e $0,30$.¹³¹

Os experimentos foram realizados em triplicata empregando uma placa opaca de 96 poços. Em cada poço foram adicionados $189 \mu\text{L}$ de DNA, $2,6 \mu\text{L}$ de Hoeschst e $200 \mu\text{L}$ de solução do complexo nas diferentes concentrações e $31 \mu\text{L}$ de tampão Trisma-HCl. As medidas foram efetuadas em um fluorímetro Synergy H1 BioTek nas seguintes temperaturas de 25°C e 37°C .

3.2.18 - Ensaio de Apoptose

Para este estudo $0,7 \times 10^5$ células/poço de células da linhagem A-549 foram plaqueadas em uma placa de 24 poços. A placa foi mantida na estufa a 37°C e 5% de CO_2 por 24 h. Logo após, as células foram tratadas com os complexos de rutênio em diferentes concentrações e incubados novamente por 24 horas. A placa foi centrifugada a 2000 rpm por 5 minutos e a 4°C , o meio coletado em tubos de centrífuga e os poços lavados com PBS. Todas as próximas etapas foram realizadas mantendo as amostras em gelo. Os tubos foram centrifugados a 2000 rpm por 5 minutos e a 4°C . As células ressuspensas em $200 \mu\text{L}$ de tampão de ligação. As células foram adicionadas aos poços de origem e os corantes PE e 7AAD ($2,5 \mu\text{L}$ de cada) foram adicionados e incubados no escuro por 20 minutos. A placa foi centrifugada a 2000 rpm por 5 minutos a 4°C , o sobrenadante foi descartado e $200 \mu\text{L}$ de tampão de ligação foi adicionado. Com o auxílio de um scraper as células foram removidas, adicionadas aos tubos de citometria, e a análise foi realizada no citômetro de fluxo. O ensaio foi realizado em triplicata.

3.3 – Síntese dos complexos

3.3.1 – Síntese dos precursores

3.3.1.1 – Síntese de $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$

O complexo foi sintetizado segundo descrito na literatura.¹³² Em um balão de duas bocas contendo 100 mL de metanol previamente desaerado, foram dissolvidos 1,00 g (3,50 mmol) de $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, a solução resultante foi refluxada por 15 minutos sob atmosfera de argônio. Logo após a solução foi resfriada e 5,75 g (21,70 mmol) de trifetilfosfina (PPh_3) foram adicionados. A mistura reacional foi novamente mantida em refluxo por 3 horas. Após o resfriamento um sólido marrom cristalino foi obtido, separado por filtração e lavado com metanol e seco a vácuo. Rendimento = 3,26 g (89%).

3.3.1.2 - Síntese de $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{N-N})]$; (N-N = 2,2'-bipiridina; 1,10-fenantrolina; 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina; 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina).

O complexo foi preparado segundo procedimento descrito na literatura.¹³³ Em um balão de duas bocas de 50 mL, contendo 10 mL de CH_2Cl_2 previamente desaerado, adicionou-se 0,5 mmol (0,50 g) do precursor $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$ e 0,5 mmol do respectivo ligante diimínico (N-N = 0,078 g de bipy; 0,090 g de phen; 0,092 g de 44bipy; 0,092 g de 55bipy). Deixou-se o meio reagir sob agitação em atmosfera de argônio por 30 minutos e adicionou-se éter etílico para precipitar o produto da reação. O sólido obtido foi então lavado com hexano e éter e seco à vácuo. O rendimento obtido foi $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})] = 0,386\text{g}$ (87%); $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{phen})] = 0,370\text{g}$ (81%); $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(44\text{bipy})] = 0,426\text{g}$ (93%); $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(55\text{bipy})] = 0,408$ (89%);

3.3.1.3 - Síntese de $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)(\text{dppb})]$

O complexo foi preparado segundo procedimento descrito na literatura.¹³⁴ Em um balão de duas bocas contendo 100 mL de CH_2Cl_2 desaerado foi dissolvido 1,000 g (1,16 mmol) de $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$, em seguida adicionou-se lentamente, durante 30 minutos 0,495 g (1,16 mmol) de 1,4-*bis*(difenilfosfina)butano (dppb). Após a adição a reação permaneceu sob agitação por 2 horas. Em seguida filtrou-se o precipitado binuclear formado e precipitou-se a solução obtida com a adição de etanol. O pó obtido foi lavado com etanol e éter (previamente desaerados). Rendimento = 84% (0,75 g).

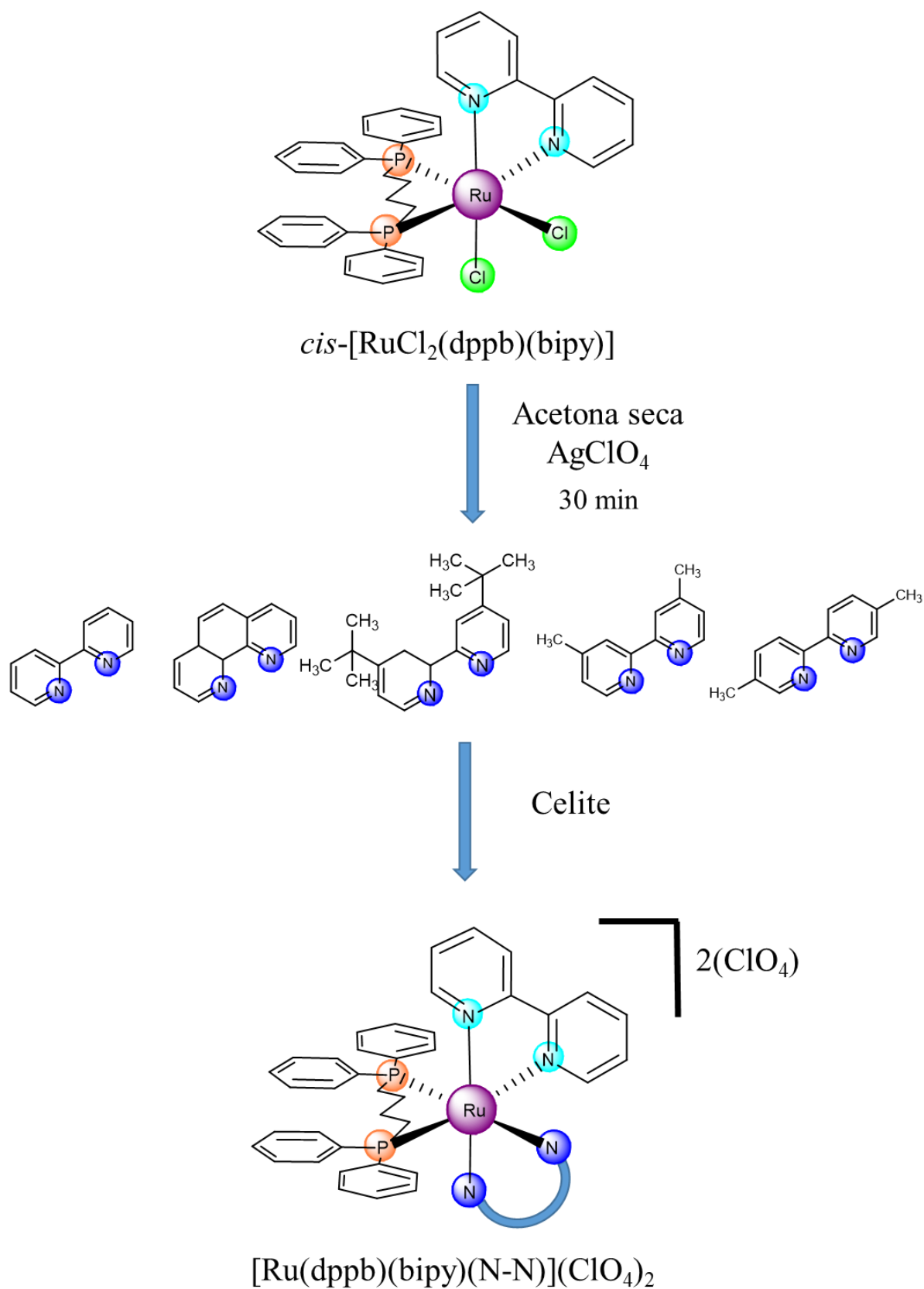
3.3.1.4 - Síntese de $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{N-N})]$; (N-N = 2,2'-bipiridina; 1,10-fenantrolina; 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina; 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina)

Os complexos foram sintetizados conforme o procedimento descrito na literatura.¹³⁵ Em um balão de duas bocas contendo 100 mL de tolueno desaerado foram dissolvidos 1,28 mmol de $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)(\text{dppb})]$ (1,100 g) e 1,66 mmol da correspondente diimina (0,260 g de 2,2'-bipiridina; 0,30 g de 1,10-fenantrolina; 0,31 g de 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina; 0,31 g de 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina). O sistema permaneceu sob refluxo em atmosfera inerte por 48 horas. Em seguida o precipitado formado foi filtrado, utilizando-se um funil de placa sinterizada, lavado com tolueno, hexano para a retirada de excesso de fosfina (PPh_3) e diimina livres, sendo então seco à vácuo. Rendimento: $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ = 0,941 g (90 %); $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{phen})]$ = 0,863 g (86 %); $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(44\text{bipy})]$ = 0,908 g (90 %); $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(55\text{bipy})]$ = 0,938 g (93 %);

3.3.2 - Síntese dos compostos

3.3.2.1 Síntese dos complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{NN})](\text{ClO}_4)_2$

Os compostos foram sintetizados conforme o procedimento descrito na literatura, com modificações.¹³⁶ Em um balão de duas bocas contendo 15 mL de acetona seca foram suspensos 0,066 mmol (50 mg) do precursor $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ e em uma sala escura adicionou-se 1.34 mmol de AgClO_4 (28 mg) e deixou-se reagir por 10 min. Em seguida adicionou-se 0,066 mmol da respectiva diimina (10,3 mg de bipy; 11,9 mg de phen; 12,2 mg de 44bipy; 12,2 mg de 55bipy e 17,7 mg de dtbipy). Após 30 min. o solvente foi evaporado e solubilizou-se em CH_2Cl_2 e filtrou-se em celite. O volume foi então reduzido até aproximadamente 1 mL e precipitado com éter etílico. A rota de síntese dos compostos **1a-5a** é apresentada no ESQUEMA 4.1.

ESQUEMA 4.1 - Rota sintética de obtenção dos compostos **1a-5a**.

Os compostos foram filtrados, lavados com água e éter etílico e secos sob vácuo. Os compostos foram obtidos com rendimento de aproximadamente 80%, como sólidos amarelos, todos estáveis ao ar, solúveis em DMSO, acetonitrila, diclorometano, acetona e metanol, sendo insolúveis em água, éter e hexano.

Rendimentos:

$[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2 = 0,0569 \text{ g (82\%);}$

$[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{phen})](\text{ClO}_4)_2 = 0,0547 \text{ g (78\%);}$

$[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{dtbipy})](\text{ClO}_4)_2 = 0,0623 \text{ g (82\%);}$

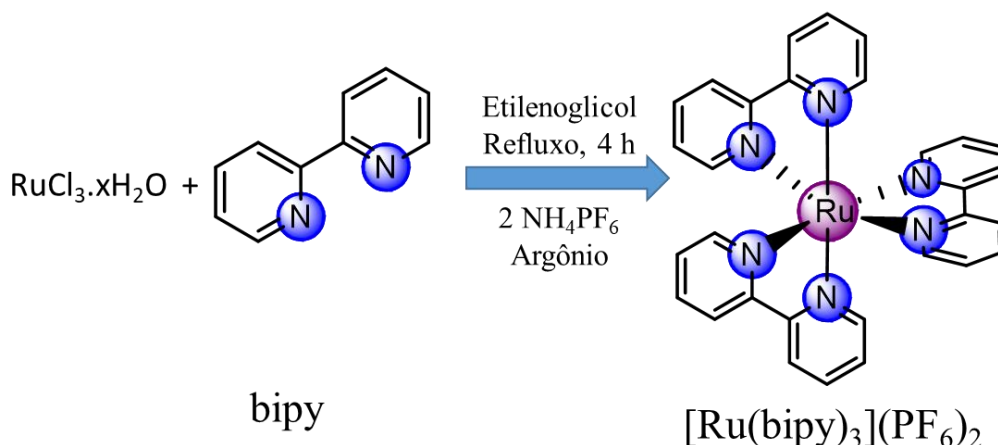
$[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(44\text{bipy})](\text{ClO}_4)_2 = 0,0570 \text{ g (81\%);}$

$[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(55\text{bipy})](\text{ClO}_4)_2 = 0,0549 \text{ g (79\%);}$

CAUTION: Complexos de rutênio contendo perclorato exibem potencial explosivo, devem ser manuseados com cuidado.

3.3.2.2 - Síntese do complexo $[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$

O composto $[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$ foi sintetizados conforme o procedimento descrito na literatura, com modificações.¹³⁷ Em um frasco do tipo Schlenk foi adicionado 0,104 g de $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (0,5 mmol) e 0,415 g de 2,2'-bipiridina (2,65 mmol) em 50 mL de etilenoglicol sob atmosfera de argônio. A mistura reacional foi refluxada por 4 horas, havendo mudança de coloração de preta para laranja depois de aproximadamente 1 hora, conforme mostrado no Esquema 4.2.

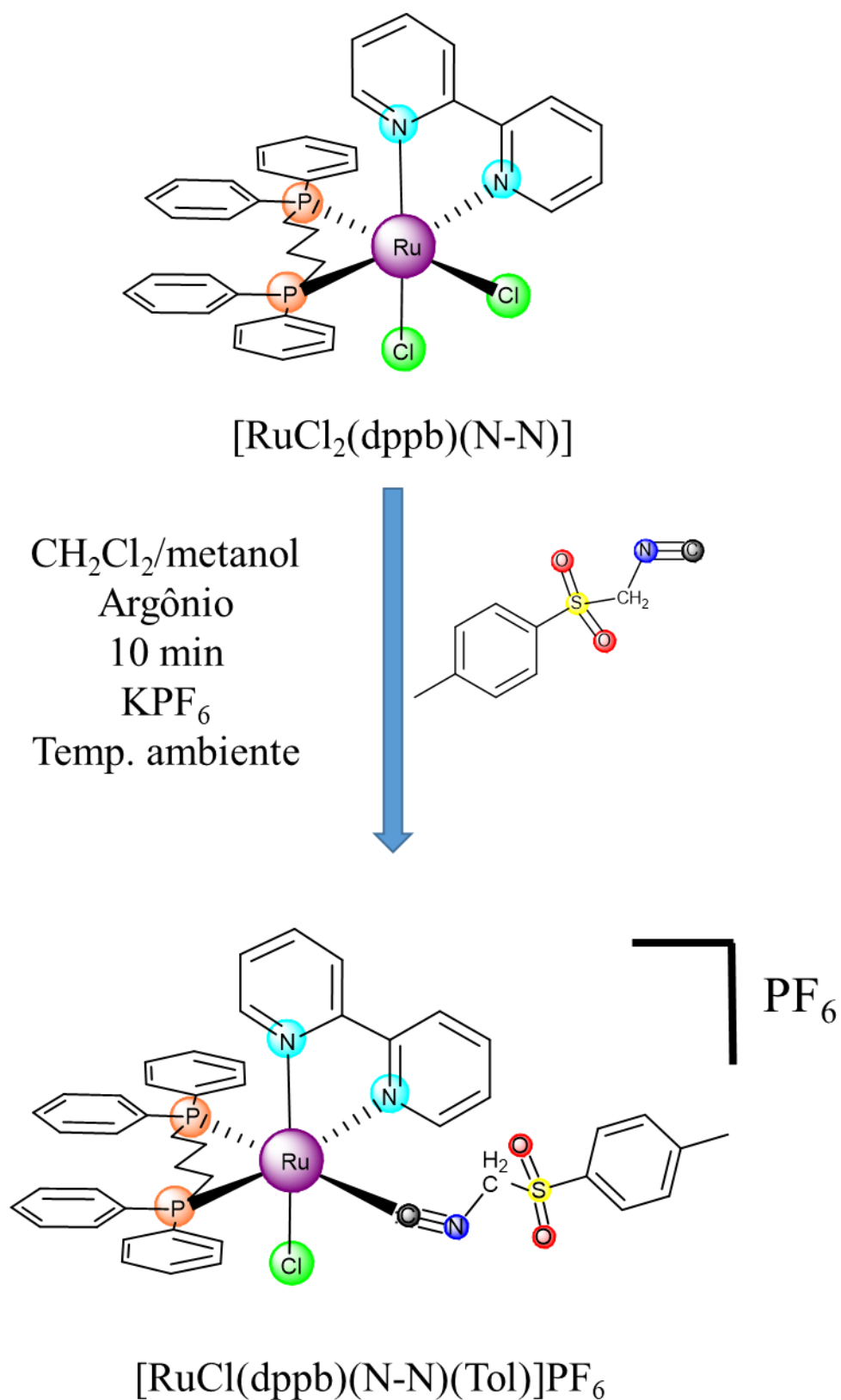


ESQUEMA 4.2 - Rota sintética de obtenção do composto $[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$ (**6a**).

A solução resultante foi então resfriada até temperatura ambiente e filtrada. O produto obtido foi precipitado numa solução saturada de hexafluorofosfato de amônio (NH_4PF_6) precipitando na forma de $[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$. O precipitado foi deixado durante toda a noite no refrigerador e filtrado a vácuo. O precipitado foi lavado com éter etílico gelado e armazenado em dessecador.

3.3.2.3 - Síntese dos complexos do tipo $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{N-N})(\text{ToI})]\text{PF}_6$; (N-N = 2,2'-bipiridina; 1,10-fenantrolina; 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina; 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina)

Os compostos foram sintetizados conforme o procedimento descrito na literatura, com modificações.⁶⁶ Em um frasco do tipo Schlenk adicionou-se 0,066 mmol do precursor do respectivo complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{N-N})]$ (0,050g de $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$; 0,051g de $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{phen})]$; 0,052g de $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(44\text{bipy})]$; 0,052g de $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(55\text{bipy})]$) em 10 mL de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ (1:1, v/v) e 0,066 mmol do ligante isocianida de *p*-toluenosulfonilmetila (0,013 g) e 0,066 mmol de KPF_6 (0,012 g). Deixou-se reagir por 30 minutos sob agitação a temperatura ambiente. A rota de síntese dos compostos **1b-4b** é apresentada no ESQUEMA 4.3.

ESQUEMA 4.3 - Rota sintética simplificada para obtenção dos compostos **1b-4b**.

Em seguida o volume foi reduzido até aproximadamente 1mL e precipitou-se com éter etílico. O sólido obtido foi filtrado em funil de placa sinterizada e lavado com água e éter etílico e posteriormente seco sob vácuo.

Rendimento:

$[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6 = 0,057\text{g}$ (82%);

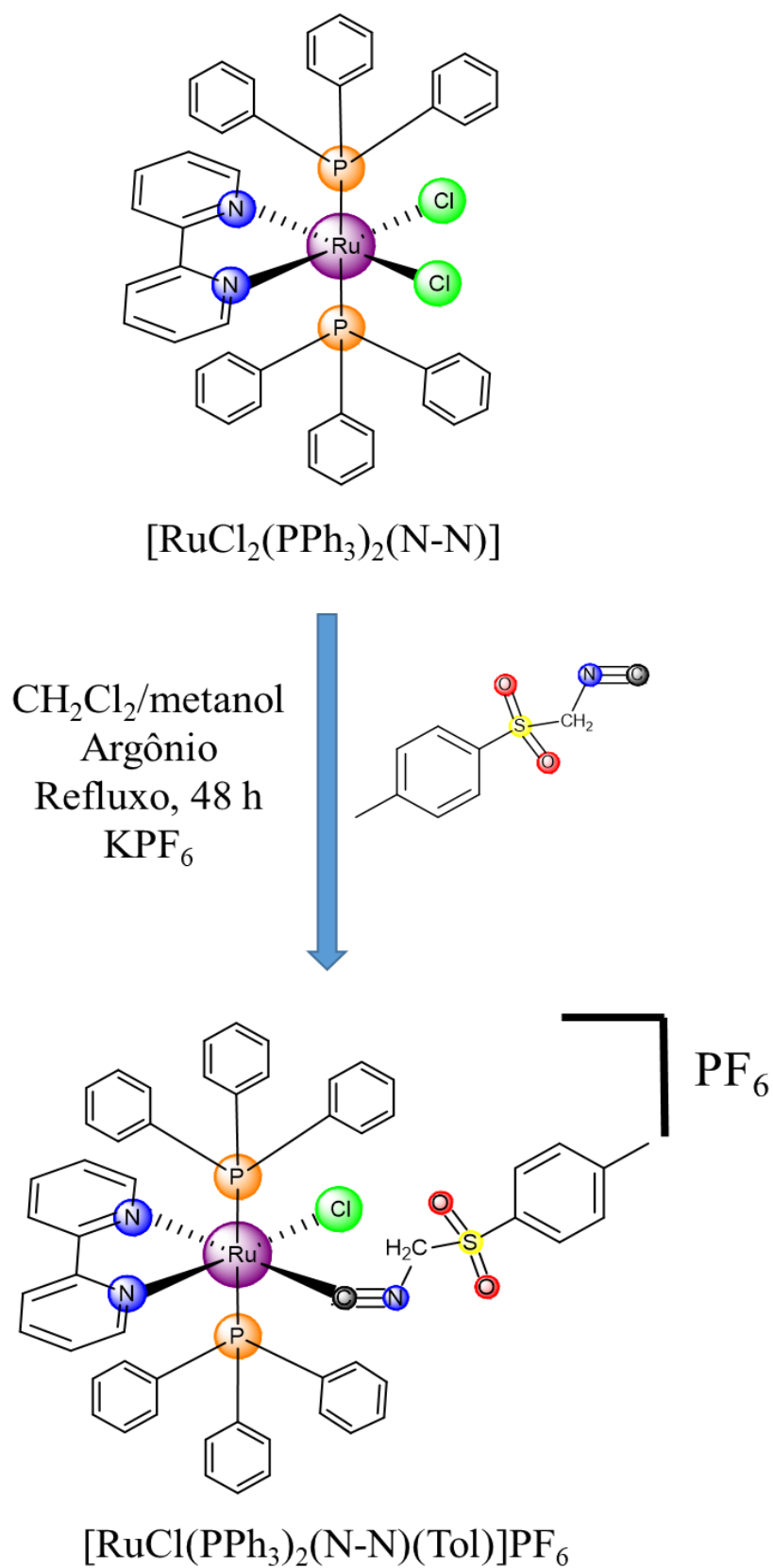
$[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{phen})(\text{Tol})]\text{PF}_6 = 0,055\text{g}$ (78%);

$[\text{RuCl}(\text{dppb})(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6 = 0,064\text{g}$ (89%);

$[\text{RuCl}(\text{dppb})(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6 = 0,060\text{g}$ (84%);

3.3.2.4 - Síntese dos complexos do tipo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(\text{N-N})(\text{Tol})]\text{PF}_6$

Os compostos foram sintetizados conforme o procedimento descrito na literatura, com modificações.⁶⁶ Em um frasco do tipo Schlenk adicionou-se 0,066 mmol do precursor do respectivo complexo $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{N-N})]$, (sendo: 0,056g $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})]$; 0,058g $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{phen})]$; 0,058g $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(44\text{bipy})]$; 0,058g $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(55\text{bipy})]$) em 10 mL de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ (1:1, v/v) e 0,066 mmol do ligante isocianida de *p*-toluenosulfonilmetila (0,013 g) e 0,066 mmol de KPF_6 (0,012 g). Deixou-se reagir por 48 horas sob agitação e refluxo. Em seguida o volume da solução foi reduzido até aproximadamente 1 mL e precipitou-se com éter etílico. A rota de síntese dos compostos **5b-8b** é apresentada no ESQUEMA 4.4.

ESQUEMA 4.4 - Rota sintética simplificada para compostos **5b-8b**.

O sólido obtido foi filtrado em funil de placa sinterizada e lavado com água e éter etílico e posteriormente seco sob vácuo.

Rendimento:

$[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6 = 0,071 \text{ g (94\%)};$

$[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(\text{phen})(\text{Tol})]\text{PF}_6 = 0,069 \text{ g (89\%)};$

$[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6 = 0,071 \text{ g (92\%)};$

$[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6 = 0,069 \text{ g (89\%)};$

CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando os complexos estudados neste trabalho optou-se por apresentar os resultados e discussão em duas séries distintas, de acordo com a semelhança estrutural dos compostos. Desta forma, as seguintes séries foram formuladas:

Série 1: [Ru(dppb)(bipy)₂](ClO₄)₂ (**1a**); [Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO₄)₂ (**2a**); [Ru(dppb)(bipy)(dtbipy)](ClO₄)₂ (**3a**); Ru(dppb)(bipy)(44bipy)](ClO₄)₂ (**4a**); [Ru(dppb)(bipy)(55bipy)](ClO₄)₂ (**5a**); [Ru(bipy)₃](PF₆)₂ (**6a**).

Série 2: [RuCl(dppb)(bipy)(Tol)]PF₆ (**1b**); [RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF₆ (**2b**); [RuCl(dppb)(44bipy)(Tol)]PF₆ (**3b**); [RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF₆ (**4b**); [RuCl(PPh₃)₂(bipy)(Tol)] PF₆ (**5b**); [RuCl(PPh₃)₂(phen)(Tol)] PF₆ (**6b**); [RuCl(PPh₃)₂(44bipy)(Tol)] PF₆ (**7b**); [RuCl(PPh₃)₂(55bipy)(Tol)] PF₆ (**8b**);

A série 1 é composta por cinco complexos de coordenação com fórmula geral [Ru(dppb)(bipy)(N-N)](ClO₄)₂ e para efeito de comparação do efeito da fosfina nas propriedades anticâncer, um composto já reportado e bastante estudado na literatura, que não apresenta fosfina em sua estrutura, o complexo [Ru(bipy)₃]PF₆. A série 2 é formada por oito compostos organometálicos com fórmula geral [RuCl(P-P)(N-N)(Tol)]PF₆.

Nas duas séries os ligantes diimínicos são avaliados (N-N = 2-2'-bipiridina (bipy), 1,10-fenantrolina (phen), 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina (44bipy), 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina (55bipy) e somente na série 1, também o ligante 4,4'-ditercbutil-2,2'-bipiridina (dtbipy). Nas duas séries, P-P equivale a uma bifosfina, 1,4-bis(difenilfosfina)butano ou duas monofosfinas, trifenilfosfina (PPh₃).

4.1 - Síntese dos complexos dicatiônicos de fórmula geral $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{N-N})](\text{ClO}_4)_2$ e $[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$.

Os novos compostos com geometrias octaédricas e dicatiônicos de Ru(II)/diimina/fosfina foram obtidos a partir da reação do precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ com ligantes diimínicos (bipy, phen, dtbipy, 44bipy e 55bipy), obtendo os novos compostos $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**), $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{phen})](\text{ClO}_4)_2$ (**2a**), $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{dtbipy})](\text{ClO}_4)_2$ (**3a**), $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(44\text{bipy})](\text{ClO}_4)_2$ (**4a**), $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(55\text{bipy})](\text{ClO}_4)_2$ (**5a**), respectivamente.

Para obtenção dos compostos **1a-5a** houve a necessidade do uso do sal de prata AgClO_4 , pois os ligantes diimínicos neutros aqui usados, não conseguem substituir espontaneamente os ligantes cloridos coordenados ao centro metálico do precursor, sendo que a reação ocorre somente com a adição do sal de prata. Após a retirada dos átomos de cloro na forma do sal pouco solúvel de cloreto de prata, obtêm-se o intermediário $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{acetona})_2]^{2+}$, mantendo a reação sob agitação constante, por 10 min. Adicionou-se então a correspondente diimína (bipy; phen; dtbipy; 44bipy e 55bipy), obtendo-se assim os complexos dicatiônicos.

O composto **6a** já é bastante reportado na literatura e foi sintetizado para fins de comparação com os compostos **1a-5a**, devido à grande semelhança estrutural entre estes compostos, já que o composto **6a** apresenta três ligantes diimínicos e os compostos da série 1 apresentam duas diimínas e uma fosfina. Como a síntese e as propriedades espectroscópicas já são bem estabelecidas na literatura, a caracterização do composto **6a** foi feita apenas por condutância molar, RMN e voltametria cíclica, confirmando a estrutura e pureza do composto.

Nas últimas décadas nosso grupo de pesquisa tem reportado uma grande quantidade de compostos de Ru(II) contendo ligantes diimínicos e

fosfínicos em suas estruturas, porém em sua maioria apresentam-se com carga 0 ou +1. Desta forma foi proposta uma série de compostos com geometrias octaédricas e dicatiônicos para estudar o comportamento das propriedades biológicas quando comparados com dados previamente reportados.^{67,70,92,138,139}

A série 2 aqui estudada, compostos **1b-8b**, apresenta oito novos compostos organometálicos com geometria octaédrica e monocatiônicos de Ru(II)/diimina/fosfina com o ligante isocianida de *p*-toluenosulfonilmetila (Tol), onde a coordenação ocorre pela formação da ligação entre o carbono terminal do grupo isocianida com o centro metálico.

Para os compostos **1b-4b**, foram utilizados os precursores do tipo *cis*-[RuCl₂(dppb)(N-N)] em CH₂Cl₂/metanol (1:1, v/v), onde N-N corresponde aos ligantes diimínicos (bipy, phen, 44bipy e 55bipy), adicionando-se o ligante Tol e KPF₆. Em todas as sínteses, quando adicionado o ligante (Tol) na solução contendo os precursores, a reação ocorre instantaneamente, mudando sua cor do tom avermelhado para um amarelo intenso, obtendo os compostos [RuCl(dppb)(bipy)(Tol)]PF₆ (**1b**), [RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF₆ (**2b**), [RuCl(dppb)(44bipy)(Tol)]PF₆ (**3b**) e [RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF₆ (**4b**).

Para os compostos **5b-8b** foram utilizados os precursores do tipo [RuCl₂(PPh₃)₂(N-N)], onde N-N corresponde aos ligantes diimínicos (bipy, phen, 44bipy e 55bipy). A obtenção dos compostos ocorre necessariamente em refluxo por aproximadamente 48 h, sendo que essa grande diferença de reatividade quando comparado com os compostos **1a-4a** ocorre devido à baixa solubilidade dos precursores contendo dois ligantes PPh₃, o que não ocorre com os precursores onde a fosfina é a dppb. Desta forma, foram obtidos os compostos [RuCl(PPh₃)₂(bipy)(Tol)]PF₆ (**5b**), [RuCl(PPh₃)₂(phen)(Tol)]PF₆ (**6b**), [RuCl(PPh₃)₂(44bipy)(Tol)]PF₆ (**7b**) e [RuCl(PPh₃)₂(55bipy)(Tol)]PF₆ (**8b**).

Todas as reações foram acompanhadas por RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, sendo que os compostos **1b-8b** foram obtidos com bons rendimentos, de aproximadamente 90%, como sólidos amarelos, todos estáveis ao ar, solúveis em DMSO, acetonitrila, diclorometano, acetona, dicloroetano e metanol, sendo insolúveis em água, éter e hexano.

4.2 – Caracterização dos complexos

4.2.1 – Condutância molar e análise elementar

A determinação da condutância molar é utilizada para estimar a carga total do composto, podendo-se então comparar a carga do precursor e do produto obtido. A principal informação que se pode obter é se os ligantes do precursor foram efetivamente substituídos, sendo que esta informação é evidente quando a carga do produto é diferente da carga do precursor. A determinação da condutância molar dos complexos foi realizada a partir de uma solução 1.10^{-3}M do complexo em acetona. Os resultados obtidos mostram que os complexos **1a-6a** estão coerentes para eletrólitos 2:1 (faixa de condutância para acetona 2:1 = $122\text{-}335 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)¹⁰⁸, e os complexos **1b-8b** estão coerentes para eletrólitos 1:1 (faixa de condutância para acetona 1:1 = $59\text{-}188 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)¹⁰⁸ conforme apresentado na TABELA 4.2.

TABELA 4.2 – Dados de condutância molar para os complexos **1a-6a** e **1b-8b**.

COMPLEXO		Branco ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	Condutância ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)
1a	[Ru(dppb)(bipy) ₂](ClO ₄) ₂	0,49	180,6 ± 1,3
2a	[Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO ₄) ₂	0,40	172,4 ± 2,5
3a	[Ru(dppb)(dtbipy)(phen)](ClO ₄) ₂	0,39	184,7 ± 2,2
4a	[Ru(dppb)(bipy)(44bipy)](ClO ₄) ₂	0,35	172,4 ± 2,5
5a	[Ru(dppb)(bipy)(55bipy)](ClO ₄) ₂	0,27	181,7 ± 2,9
6a	[Ru(bipy) ₃](PF ₆) ₂	0,89	202,5 ± 3,7
1b	[RuCl(dppb)(bipy)(Tol)]PF ₆	0,70	152,4 ± 5,2
2b	[RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF ₆	0,98	143,0 ± 3,9
3b	[RuCl(dppb)(44bipy)(Tol)]PF ₆	0,89	150,7 ± 2,5
4b	[RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF ₆	0,75	147,5 ± 2,5
5b	[RuCl(PPh ₃) ₂ (bipy)(Tol)]PF ₆	0,70	129,5 ± 2,9
6b	[RuCl(PPh ₃) ₂ (phen)(Tol)]PF ₆	0,81	135,3 ± 2,5
7b	[RuCl(PPh ₃) ₂ (44bipy)(Tol)]PF ₆	0,74	130,9 ± 3,0
8b	[RuCl(PPh ₃) ₂ (55bipy)(Tol)]PF ₆	0,60	133,3 ± 2,5

As estruturas propostas para os complexos após a coordenação dos ligantes diimínicos, para os compostos **1a-5a**, formam-se com a substituição dos ligantes cloros presentes no precursor por um ligante diimínico neutro, de forma bidentada, o que gera os complexos dicatiônicos. O composto **6a** também apresenta carga 2+, porém com três ligantes bipy. Para os compostos **1b-8b** ocorre a substituição de apenas um ligante cloro dos precursores, pelo ligante Tol de forma monodentada, obtendo assim, complexos monocatiônicos, o que está de acordo com os valores de condutância apresentados na Tabela acima.

Os dados de análise elementar são de grande importância para avaliação da pureza dos compostos, pela comparação dos dados experimentais obtidos e os dados teóricos, conforme a estrutura esperada. A análise dos dados

obtidos mostra que os teores de carbono, hidrogênio, oxigênio e enxofre estão coerentes com as estruturas propostas, sendo a diferença entre os valores experimentais e teóricos inferiores a 0,5% confirmando a obtenção de complexos, os dados obtidos estão listados na TABELA 4.3.

TABELA 4.3 - Dados de análise elementar para os complexos **1a-6a** e **1b-8b**.

Composto	C(%)	H(%)	N(%)	S(%)
1a [Ru(dppb)(bipy) ₂](ClO ₄) ₂	55,39 (56,09)	4,45 (4,03)	5,38 (5,04)	0 0
2a [Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO ₄) ₂	56,40 (56,05)	4,35 (4,30)	5,26 (5,08)	0 0
3a [Ru(dppb)(dtbipy)(phen)](ClO ₄) ₂	58,33 (57,89)	5,42 (4,91)	4,86 (3,93)	0 0
4a [Ru(dppb)(bipy)(44bipy)](ClO ₄) ₂ .3H ₂ O	53,48 (53,15)	5,03 (5,00)	4,99 (4,86)	0 0
5a [Ru(dppb)(bipy)(55bipy)](ClO ₄) ₂ .2H ₂ O	54,35 (54,16)	4,93 (4,65)	4,93 (5,45)	0 0
1b [RuCl(dppb)(bipy)(Tol)]PF ₆	53,19 (52,93)	4,46 (4,79)	3,96 (3,77)	3,02 (2,87)
2b [RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF ₆	54,22 (53,87)	4,36 (4,16)	3,87 (3,72)	2,95 (3,37)
3b [RuCl(dppb)(44bipy)(Tol)]PF ₆	54,02 (53,79)	4,72 (4,73)	3,86 (3,80)	2,94 (2,82)
4b [RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF ₆	54,02 (54,31)	4,72 (4,22)	3,86 (4,07)	2,94 (3,31)
5b [RuCl(PPh ₃) ₂ (bipy)(Tol)]PF ₆ .CH ₂ Cl ₂	54,05 (53,52)	4,13 (3,87)	3,38 (3,93)	2,58 (3,03)
6b [RuCl(PPh ₃) ₂ (phen)(Tol)]PF ₆ .CH ₂ Cl ₂	54,92 (54,51)	3,74 (3,67)	4,05 (3,74)	2,53 (2,73)
7b [RuCl(PPh ₃) ₂ (44bipy)(Tol)]PF ₆	57,65 (57,25)	4,50 (4,13)	3,54 (3,22)	2,70 (2,85)
8b [RuCl(PPh ₃) ₂ (55bipy)(Tol)]PF ₆ . $\frac{1}{2}$ CH ₂ Cl ₂ .H ₂ O	55,54 (55,34)	4,50 (4,52)	3,54 (3,37)	2,70 (2,57)

*Dados teóricos entre ().

4.2.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho é uma técnica simples e rápida, para obtenção de informações estruturais dos compostos. Os espectros fornecem dados complementares às demais técnicas, sendo responsáveis por ajudar na elucidação estrutural dos complexos, principalmente quando há a presença de algum grupo funcional característico na estrutura tais como -NH, -NH₂, -OH, -COOH, -N≡C, -C≡N, e outros.

Os espectros FT-IR dos complexos **1a-5a** apresentam-se similares entre si, já que os compostos não apresentam grupos funcionais característicos que sofrem significativas alterações após a coordenação dos ligantes ao rutênio. As principais bandas encontradas em todos os complexos estão nas faixas de 3055-3063 cm⁻¹ $\nu(\text{C-H}_{\text{ar}})$, 2921-2925 e 2850-2861 cm⁻¹ referente a ν_{as} e $\nu_{\text{s}}(\text{C-H}_{\text{sp}^3})$ dos grupos -CH₂- da fosfina e dos grupos metilas dos ligantes diimínicos dtbipy, 44bipy e 55bipy, a faixa de 1384-1413 cm⁻¹ referente ao estiramento $\nu(\text{C=N})$, na região 1506-1578 cm⁻¹ $\nu(\text{C=C})$ e as bandas 1090 ($\nu_{\text{P-C}} + \nu_{\text{asCl-O}}$) e e outra menos intensa referente ao $\nu_{\text{s}}(\text{Cl-O})$ em 624 cm⁻¹, indicando a formação dos complexos.

A coordenação nos compostos **1a-5a** ocorre pela substituição dos dois ligantes clorido do precursor, pelos dois átomos de nitrogênio dos ligantes diimínicos. Como no precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)] já existe um ligante diimínico a maior evidência da reação se dá pelo desaparecimento das bandas 226 e 270 cm⁻¹ referentes ao ν_{s} e ν_{as} Ru-Cl, porém estas bandas são muito fracas e em uma região de baixa energia, o que dificulta sua observação. As principais bandas presentes nos espectros obtidos são apresentadas na TABELA 4.4.

TABELA 4.4 - Atribuições das frequências vibracionais (cm^{-1}) dos complexos **1a-5a**

Composto	$\nu\text{CH}_{\text{sp}2}$	ν_s e $\nu_{\text{as}} \text{CH}_{\text{sp}3}$	$\nu\text{P-C} + \nu_{\text{as}}\text{Cl-O}$
1a [Ru(dppb)(bipy) ₂](ClO ₄) ₂	3065 f	2925 f e 2852 f	1089 m
2a [Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO ₄) ₂	3071 f	2923 f e 2859 f	1095 m
3a [Ru(dppb)(bipy)(dtbipy)](ClO ₄) ₂	3071 f	2959 f e 2871 f	1086 m
4a [Ru(dppb)(bipy)(44bipy)](ClO ₄) ₂	3062 f	2920 f e 2859 f	1086 m
5a [Ru(dppb)(bipy)(55bipy)](ClO ₄) ₂	3056 f	2921 f e 2857 f	1088 m

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

O espectro FT-IR do ligante Tol é apresentado na FIGURA 4.1. Observa-se que para este ligante existem informações estruturais relevantes do ponto de vista em que se pode acompanhar a coordenação do ligante, sendo possível observar as bandas de estiramento características do grupo funcional isonitrila, além da coordenação ocorrer pelo carbono da isocianida.

No espectro de absorção na região do IV do ligante Tol, a banda de estiramento de C-H aromático ocorre em 3055 cm^{-1} , as bandas em 2920 e 2858 cm^{-1} , são atribuídas aos estiramentos assimétricos e simétricos (ν_{as} e ν_s) do grupo metila ligado na posição para do anel aromático, as bandas em 2140 e 2019 cm^{-1} , que é a região típica de estiramentos simétricos e assimétricos de grupos $\text{C}\equiv\text{N-R}$, os estiramentos em 1330 e 1156 cm^{-1} atribuídos aos estiramentos assimétricos e simétricos do grupo sulfona ($\text{O}=\text{S}=\text{O}$).

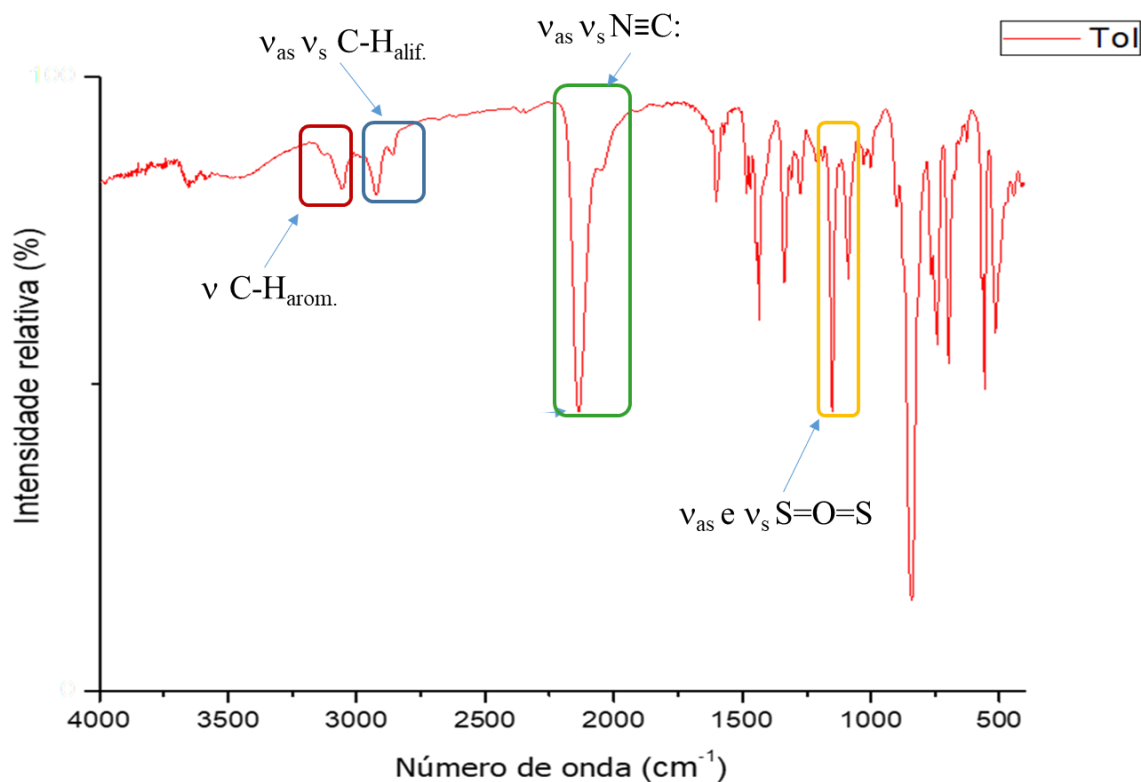


FIGURA 4.1 Espectro vibracional na região do infravermelho para o ligante Tol, livre.

Para os compostos **1b-8b** pode-se comparar os espectros de FT-IR com o espectro do ligante livre, o que permite sugerir por onde ocorre a coordenação do ligante ao centro metálico. Observa-se o deslocamento da banda em 2140 cm^{-1} , que é atribuída ao estiramento do grupo $-\text{N}\equiv\text{C}:$ para menores números de onda após a substituição do ligante cloro pelo ligante Tol na estrutura do precursor, e assim deduz-se que a coordenação ocorre pela ligação Ru-C formando compostos organometálicos. O espectro de absorção na região do infravermelho para o composto **4b** é apresentado na FIGURA 4.2, sendo que os demais espectros são apresentados no apêndice e os dados para **1b-8b** encontram-se sumarizados na TABELA 4.5.

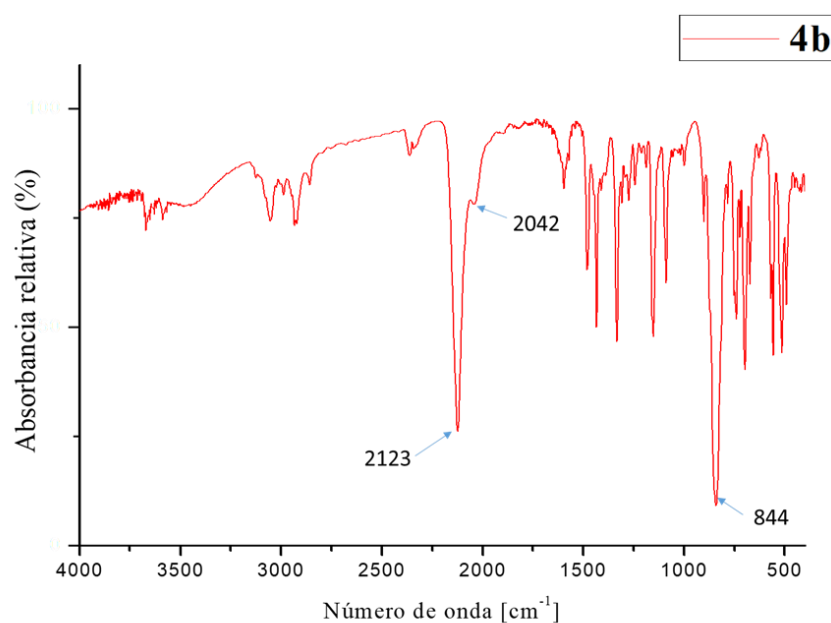


FIGURA 4.2 - Espectro vibracional na região do infravermelho para $[\text{RuCl}(\text{dppb})(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$.

TABELA 4.5 - Atribuições das frequências vibracionais (cm^{-1}) dos complexos **1b-8b**.

Composto	C-H _{ar}	ν_{as} e ν_{s} CH _{sp3}	ν_{as} e ν_{s} :C≡N-	ν_{as} e ν_{s} S=O	P-F	Ru-P
Tol	3055 f	2920 f e 2858 f	2140 F e 2019f	1330 f, 1156 m	---	---
1b	3062 f	2921 f e 2860 f	2135 F e 2041 f	1334 f, 1150 m	835 F	557 f
2b	3059 f	2925 f e 2859 f	2137 F e 2048 f	1334 f, 1150 m	841 F	554 f
3b	3053 f	2932 f e 2866 f	2125 F e 2050 f	1336 f, 1148 m	842 F	556 f
4b	3051 f	2926 f e 2855 f	2123 F e 2042 f	1334 f, 1158 m	844 F	554 f
5b	3053 f	2919 f e 2853 f	2098 F e 2038 f	1338 f, 1157 m	843 F	528 f
6b	3055 f	2921 f e 2853 f	2105 F e 2037 f	1330 f, 1148 m	840 F	519 f
7b	3053 f	2921 f e 2850 f	2100 F e 2025 f	1334 f, 1148 m	842 F	516 f
8b	3053 f	2921 f e 2842 f	2097 F e 2042 f	1317 f, 1148 m	835 F	520 f

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

Pela análise dos espectros é possível observar que além do deslocamento da banda $\text{:C}\equiv\text{N-R}$ em relação ao ligante livre, ocorre o surgimento da banda de estiramento P-F na região de 840 cm^{-1} , indicando a presença do contra-íon PF_6^- na estrutura dos compostos. Para os compostos **1b-8b** a espectroscopia de absorção na região do infravermelho apresenta informações mais relevantes na elucidação estrutural, quando comparados com os compostos **1a-5a**.

4.2.3 Espectroscopia de Absorção na Região do UV-Visível

A espectroscopia de absorção na região do UV-visível é um dos métodos espectroscópicos mais usados em determinações analíticas nas mais diversas áreas. A técnica apresenta boa sensibilidade em experimentos quantitativos, além de ser usada também de forma qualitativa na obtenção de informações estruturais, com a possibilidade de se identificar grupos funcionais presentes na molécula, uma vez que estes são capazes de absorver energia na faixa de comprimento de onda que compreende as regiões do ultravioleta e visível (200 a 800 nm).

Quando moléculas são estimuladas com esse tipo radiação, transições eletrônicas podem ocorrer em decorrência da absorção de energia quantizada, gerando um espectro eletrônico de absorção que é o registro gráfico da resposta do sistema em estímulo.

Os espectros de absorção eletrônica na região do ultravioleta e visível dos complexos foram obtidos com o objetivo de avaliar os tipos de transições existentes entre os ligantes e o centro metálico dos compostos. Os espectros obtidos para os compostos **1a-6a** são apresentados na FIGURA 4.3 e os dados na TABELA 4.6, registrados em DMSO como solvente, e para os compostos **1b-8b** os dados apresentados na TABELA 4.7 e os espectros são apresentados no apêndice.

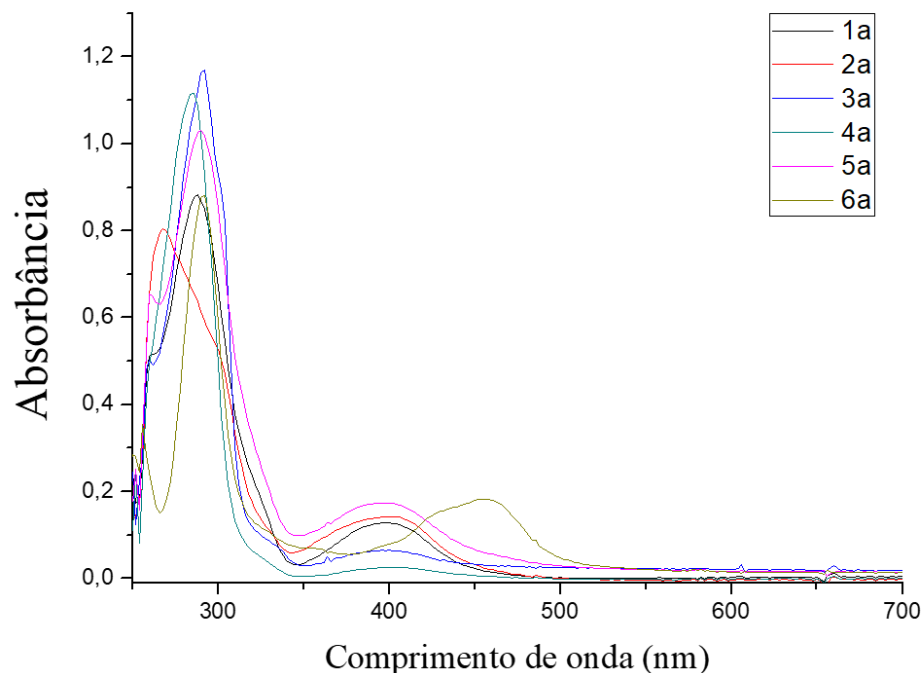


FIGURA 4.3 - Espectros de absorção na região do UV-vis para os complexos **1a-6a** em DMSO.

Os espectros de UV-vis dos complexos foram obtidos a partir de uma solução de aproximadamente $2 \cdot 10^{-5}$ M em DMSO para os compostos **1a-6a** e **1b-8b** à temperatura ambiente, sendo os dados sumarizados na TABELA 4.6. Os espectros de **1a-6a** são caracterizados por uma banda intensa, de alta energia com máximo de absorção por volta de 285 nm, com exceção do composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{phen})](\text{ClO}_4)_2$ (**2a**) que tem o λ_{max} em 268 nm, sendo que estas são atribuídas à transições $\pi\text{-}\pi^*$ localizada, intraligantes. Os compostos apresentam uma banda de menor energia na região de 343-487 nm, sendo atribuída como transferência de carga metal-ligante (TCML) dos orbitais $d\pi\text{Ru} \rightarrow 3p\sigma^*d\pi(\text{bifosfina})$ e $d\pi\text{Ru} \rightarrow \pi^*(\text{ligantes bipiridínicos})$.

TABELA 4.6 - Dados dos espectros eletrônicos dos complexos **1a-6a** em DMSO. ($\epsilon/\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}\text{L}$) λ/nm .

Complexos	IL	TCML
	($\pi \rightarrow \pi^*$)	$d\pi_{\text{Ru}} \rightarrow 3p\sigma^* d\pi_{(\text{bifosfina})}$ $d\pi_{\text{Ru}} \rightarrow \pi^*_{(\text{ligantes/ bipy})}$
1a [Ru(dppb)(bipy) ₂](ClO ₄) ₂	285 (34.673)	347-479 (1.050)
2a [Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO ₄) ₂	268 (38.018)	343-487 (5.495)
3a [Ru(dppb)(bipy)(dtbipy)](ClO ₄) ₂	289 (39.810)	346-460 (7.244)
4a [Ru(dppb)(bipy)(44bipy)](ClO ₄) ₂	287 (31.622)	346-482 (4.677)
5a [Ru(dppb)(bipy)(55bipy)](ClO ₄) ₂	291 (39.810)	348-452 (2.344)
6a [Ru(bipy) ₃](PF ₆) ₂	291(75.857)	374-550(4.073)

TABELA 4.7 - Dados dos espectros eletrônicos dos complexos **1b-8b** em DMSO. ($\epsilon/\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}\text{L}$) λ/nm .

Complexos	IL	IL	TCML
	($\pi \rightarrow \pi^*$)	($\pi \rightarrow \pi^*$)	$d\pi_{\text{Ru}} \rightarrow 3p\sigma^* d\pi_{(\text{bifosfina})}$ $d\pi_{\text{Ru}} \rightarrow \pi^*_{(\text{ligantes/ bipy})}$
1b	275 (16.836)	297 – 15.671	371 (2.323)
2b	266 (29.571)	---	357 (3.940)
3b	273 (18.344)	294 (17.314)	363 (2.826)
4b	265 (19.066)	304 (16.334)	362 (2.237)
5b	269 (45.059)	302 (21.681)	432 (2.050)
6b	267 (47.354)	---	364 (2.589)
7b	268 (39.112)	299 (18.135)	374 (2.039)
8b	268 (39872)	307 (17781)	416 (1.710)

Nos compostos **1b-8b** as bandas apresentam o máximo de absorção na região de 266-275 sendo atribuídas à transições π - π^* localizadas, intraligantes, e as bandas na faixa de 357-416 nm de menor intensidade atribuídas à transferências de carga metal-ligante (TCML) dos orbitais $d\pi_{\text{Ru}} \rightarrow 3p\sigma^* d\pi_{(\text{bifosfina})}$ e $d\pi_{\text{Ru}} \rightarrow \pi^*_{(\text{ligantes bipyridínicos})}$.

Pode-se observar a grande diferença nos valores absorvidade molar (ϵ) quando comparamos os compostos **1a-6a** com os compostos **1b-8b**, que pode ser atribuído à diferença estrutural e natureza dos ligantes em cada série de complexos. Para os compostos **1a-5a**, apresentam dois ligantes aromáticos diimínicos na estrutura, os valores de ϵ são aproximadamente $35000 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$, enquanto que o complexo **6a** com três ligantes aromáticos é de $75000 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$. Como já descrito na literatura, o composto **6a** apresenta aplicações em fotoquímica devido suas propriedades luminescentes.¹⁴⁰ Na segunda série (**1b-8b**) os compostos apresentam apenas um ligante diimínico, apresentando valores de absorvidade molar em torno de $2000 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$, sendo portanto, muito mais baixos que os compostos da série 1.

4.3.4.1 Voltametria cíclica (CV)

O estudo eletroquímico dos complexos é feito para avaliar o efeito eletrônico que os ligantes geram sobre o centro metálico, podendo também ser usado para acompanhar o desenvolvimento da reação, verificar a estabilidade eletroquímica, além da pureza dos compostos, baseando-se no deslocamento do potencial do par redox $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$. Os estudos voltamétricos dos complexos **1a-6a** e **1b-8b** foram realizados por voltametria cíclica (CV) em solução de PTBA 0.1 mol.dm^{-3} , em acetonitrila.

O precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ apresenta em sua estrutura um ligante bipy e um ligante dppb que são π -aceptores, e dois ligantes cloro que são σ e π -doadores, apresentando um par redox em $0,74$ e $0,64 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, atribuídos ao par $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$ (FIGURA 4.4).

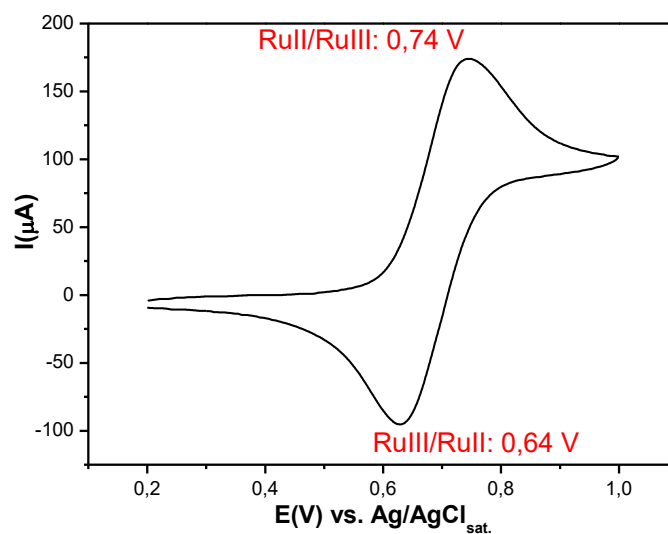


FIGURA 4.4 - Voltamograma cíclico do precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)], obtido em CH₂Cl₂ (0,1M PTBA, Ag/AgCl), com velocidade de varredura de 50 mV.s⁻¹.

Todos os compostos da série 1 (**1a-6a**) foram eletroquimicamente ativos nas condições estudadas e comportamento eletroquímico similares, pois os compostos apresentam em suas estruturas três ligantes π -aceptores. Desta forma, observou-se os processos redox quasi-reversíveis na faixa 1,43-1,66 V *vs.* Ag/AgCl, referente ao par redox Ru^{II}/Ru^{III}, como apresentado na

TABELA 4.8.

Os potenciais redox dos complexos **1a-5a** apresentam um aumento de aproximadamente 1V quando comparados com o potencial do precursor (0.74 V), sendo justificado pela substituição dos ligantes cloro (π -doadores) pelos ligantes diiminicos (π -acceptor moderado). Isso implica em uma menor densidade eletrônica ao redor do centro metálico, provocando uma maior estabilidade eletroquímica do Ru(II) dos complexos, quando comparados com o precursor, como mostra o voltamograma do composto **1a**, na FIGURA 4.5.

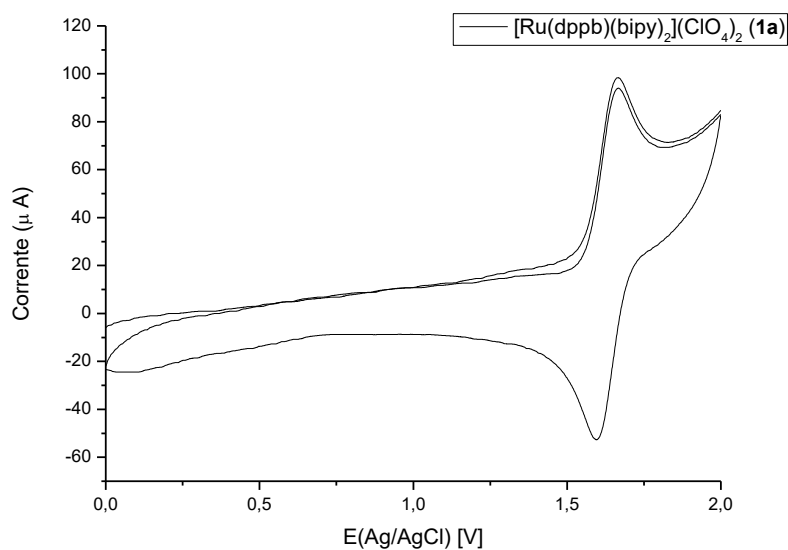


FIGURA 4.5 - Voltamograma cíclico do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**), obtido em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), com velocidade de varredura de $50 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

Sob condições experimentais idênticas o potencial de oxidação do par $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$ do complexo $[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$ (**6a**) ocorre em 1,22 V (FIGURA 4.6), sendo um potencial mais baixo, quando comparado com os complexos **1a-5a**. Desta forma pode-se observar que a substituição de um ligante bipy (π -aceptor moderado) por um ligante dppb, que apresenta propriedades π -ácido mais forte do que os ligantes diimínicos, leva os compostos **1a-5a** a uma maior estabilidade eletroquímica quando comparados com o precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ e com $[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$.

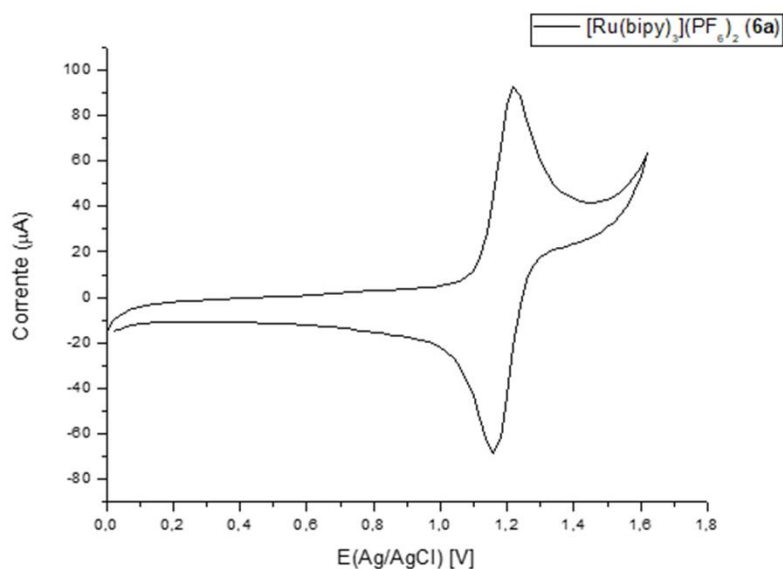


FIGURA 4.6 - Voltamograma cíclico do complexo $[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$, obtido em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

Os compostos **1b-8b** também se apresentam eletroquimicamente ativos, sendo que os potenciais de oxidação se encontram na faixa de 1,39-1,50 V vs. Ag/AgCl (

TABELA 4.8), referente ao par redox $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$, sendo o voltamograma do composto **4b** como apresentado na FIGURA 4.7 e os demais compostos da série são apresentados no apêndice.

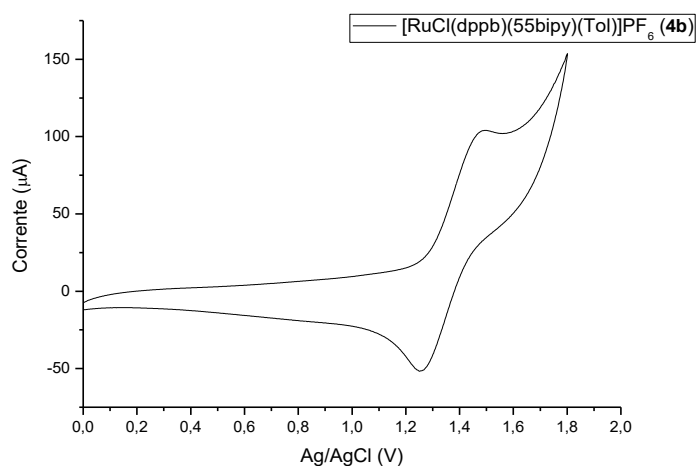


FIGURA 4.7 - Voltamograma cíclico do complexo [RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF₆ (**4b**), obtido em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), com velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹.

TABELA 4.8- Dados de voltametria cíclica para os compostos **1a-8b** (50 mV s⁻¹, Ag/AgCl).

COMPLEXOS		E _{pa} (V)	E _{pc} (V)	E _{1/2}	ΔE _p
Precursor	[RuCl ₂ (dppb)(bipy)]	0,74	0,64	0,69	0,1
1a	[Ru(dppb)(bipy) ₂](ClO ₄) ₂	1,66	1,59	1,62	0,10
2a	[Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO ₄) ₂	1,80	1,61	1,70	0,19
3a	[Ru(dppb)(bipy)(dtbipy)](ClO ₄) ₂	1,65	1,53	1,59	0,12
4a	[Ru(dppb)(bipy)(44bipy)](ClO ₄) ₂	1,50	1,43	1,46	0,07
5a	[Ru(dppb)(bipy)(55ipy)](ClO ₄) ₂	1,60	1,52	1,56	0,08
6a	[Ru(bipy) ₃](PF ₆) ₂	1,22	1,16	1,19	0,06
1b	[RuCl(dppb)(bipy)(Tol)]PF ₆	1,48	1,28	1,38	0,20
2b	[RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF ₆	1,44	1,30	1,37	0,14
3b	[RuCl(dppb)(44bipy)(Tol)]PF ₆	1,43	1,25	1,34	0,18
4b	[RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF ₆	1,48	1,25	1,36	0,23
5b	[RuCl(PPh ₃) ₂ (bipy)(Tol)] PF ₆	1,50	1,40	1,45	0,10
6b	[RuCl(PPh ₃) ₂ (phen)(Tol)] PF ₆	1,44	1,34	1,39	0,10
7b	[RuCl(PPh ₃) ₂ (44bipy)(Tol)] PF ₆	1,43	1,32	1,37	0,11
8b	[RuCl(PPh ₃) ₂ (55bipy)(Tol)] PF ₆	1,39	1,33	1,36	0,06

O comportamento eletroquímico apresentando processos redox em potenciais mais altos dos compostos com o ligante isocianida de *p*-toluenosulfonilmetila, é justificado pela substituição de um ligante cloro (σ -doador) por um ligante π -acceptor R-N \equiv C:. É descrito na literatura que ligantes do tipo isocianida tem comportamento eletrônico, semelhantes ao ligante C \equiv O,

sendo que ligantes $R-N\equiv C$: são σ -doador mais forte que o $C\equiv O$ e π -aceptor um pouco mais fraco que o $C\equiv O$.¹⁴¹

Desta forma, a faixa de potenciais obtidos para os compostos **1b-4b** está coerente com dados já reportados pelo nosso grupo para o complexo obtido $[RuCl(dppb)(bipy)(CO)]PF_6$ (FIGURA 4.8), que apresenta potencial de oxidação em 1,69 V, apresentando a estrutura semelhante aos composto **1b-4b**.

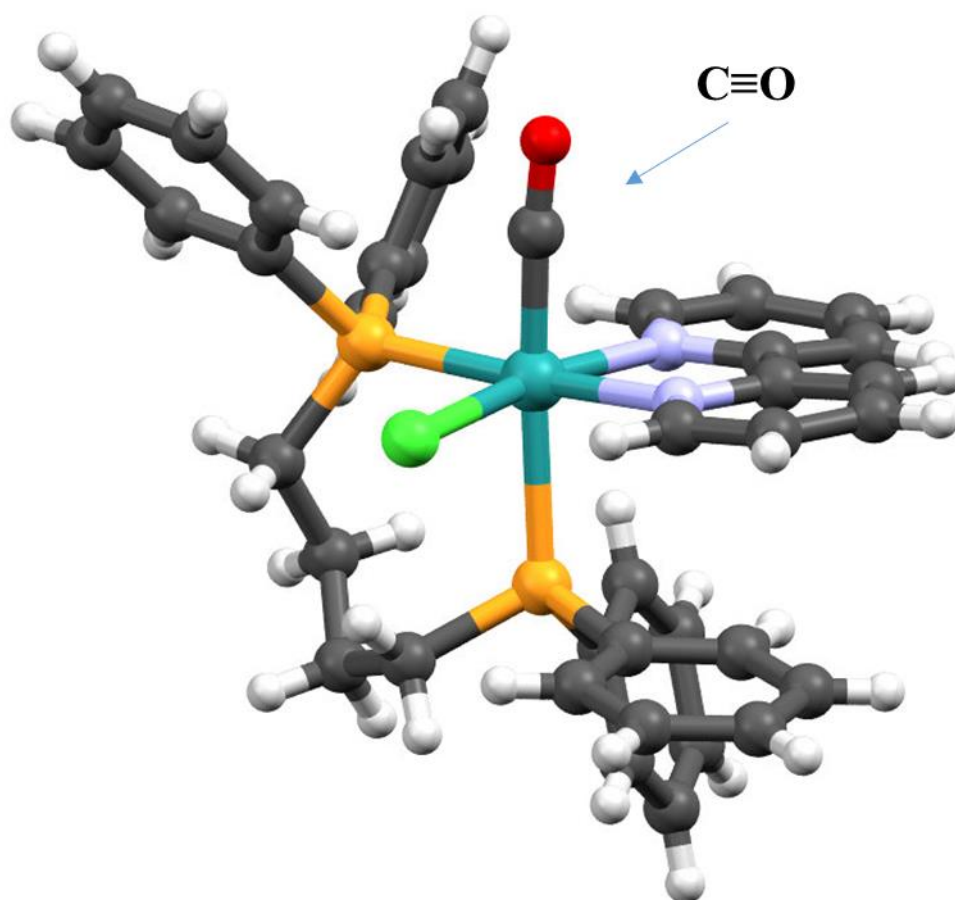


FIGURA 4.8 – Estrutura obtida por difração de raios-X para o composto $[RuCl(dppb)(bipy)(CO)]PF_6$.¹⁴²

Para os compostos **5b-8b** a faixa de potenciais redox é semelhante aos compostos **1b-4b**, sendo que também ocorre a substituição de um ligante cloro por um ligante Tol, porém agora este ligante está na posição *trans* a um átomo de nitrogênio do ligante diimínico e os ligantes fosfínicos (PPh_3) estão em posição *trans* um em relação ao outro. Apesar da diferença estrutural na posição que os

ligantes ocupam, o centro metálico encontra-se em uma esfera de coordenação semelhante, o que justifica a proximidade dos potenciais redox.

4.3.4 – Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

4.3.4.1 – Ressonância Magnética Nuclear de fósforo - $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$

A obtenção dos espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ é relativamente rápida devido à abundância do isótopo ^{31}P ser de 100%. Nosso grupo de pesquisa, Laboratório de estruturas e reatividade de compostos inorgânicos (LERCI) do DQ da UFSCar com a supervisão do prof. Dr. Alzir Azevedo Batista, tem trabalhado com um grande número de compostos de rutênio e fosfinas e desta forma o uso de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ é fundamental ao nosso grupo de pesquisa.

O uso da ressonância magnética nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ no acompanhamento de sínteses que envolvem compostos contendo átomos de fósforo em suas estruturas pode ser feito com uma amostra diretamente do meio reacional (*in situ*), utilizando-se por exemplo, um capilar de D_2O no tubo, para aquisição do espectro, sendo que nos grupos fosfínicos o átomo de fósforo atua como um *probe* onde pode-se verificar se uma reação ocorreu completamente, formando apenas um produto com a diminuição dos sinais dos precursores, ou se é necessário mudar as condições reacionais.

Para o precursor mais utilizado no laboratório pode-se obter os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para os dois isômeros possíveis do composto $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$, o *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ e *trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$, sendo que suas estruturas e os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ são apresentados na FIGURA 4.9.

O espectro do isômero utilizado na síntese da primeira série, *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$, apresenta-se na forma de dois dubletos, em δ 42,2 (*P*₂) e δ 30,5 (*P*₁) ($^2J_{\text{P-P}} = 32,5\text{Hz}$), condizente com um sistema AX, correspondendo a um sistema de dois spins que é caracterizado pela diferença da frequência

ressonante de ambos, que são muito maiores que o acoplamento ($|v_1 - v_2| \gg {}^2J_{P-P}$) permitindo neste caso a visualização de dois sinais distintos.¹⁴³ Pode-se evidenciar a conformação espacial *cis* do composto, pois os dois átomos de fósforo estão em ambientes químicos diferentes, sendo o átomo de fósforo (P2) em posição *trans* ao átomo de nitrogênio do ligante bipy e o fósforo (P1) *trans* ao ligante cloro. Para o complexo *trans*-[RuCl₂(dppb)(bipy)] os átomos de fósforo (P1 e P2) estão em posições *trans* aos dois átomos de nitrogênio do ligante bipy, estando assim em ambientes químicos idênticos, gerando o espectro na forma de um singlete em δ 32,58.

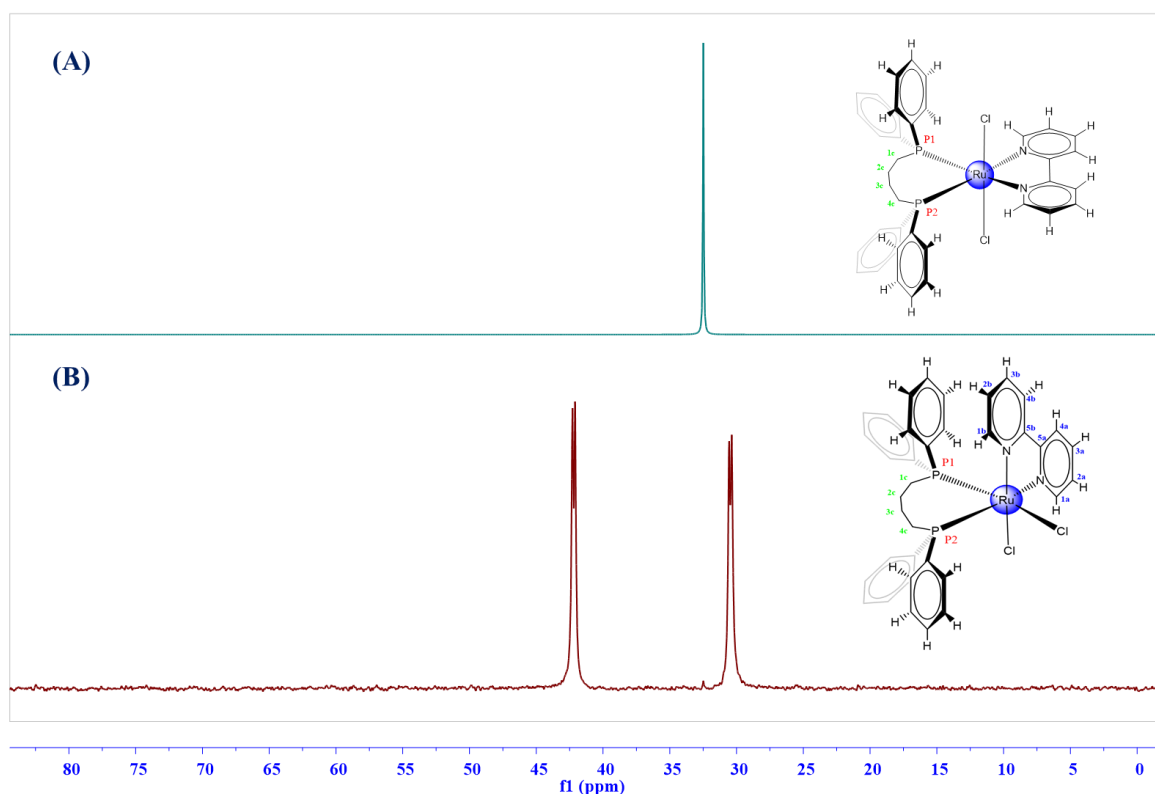


FIGURA 4.9 - Estruturas e espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos isômeros *trans*-[RuCl₂(dppb)(bipy)] (A) e *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)] (B), em CH₂Cl₂ / D₂O.

Todas as reações aqui apresentadas, para **1a-5a** e **1b-8b**, foram acompanhadas por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, e os espectros dos complexos **1a-5a** estão apresentados na FIGURA 4.10.

Para os compostos de **2a-5a**, os espectros de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ apresentam-se na forma de dois dubletos entre 24 e 28 ppm, com constantes de acoplamento de aproximadamente 25 Hz, enquanto que o espectro do composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**) apresenta-se na forma de um singlete, em δ 26,18. Essa diferença é explicada devido aos ambientes químicos levemente diferentes para os fósforos dos compostos **2a-5a**, onde um átomo de P está *trans* ao nitrogênio do ligante bipy, já existente no precursor, e o segundo fósforo está *trans* ao nitrogênio do ligante diimínico que substituiu os dois ligantes cloros. Entretanto no complexo **1a** os dois átomos de fósforos estão em ambientes químicos idênticos, com dois ligantes bipy, e por isso apresentando o mesmo deslocamento químico.

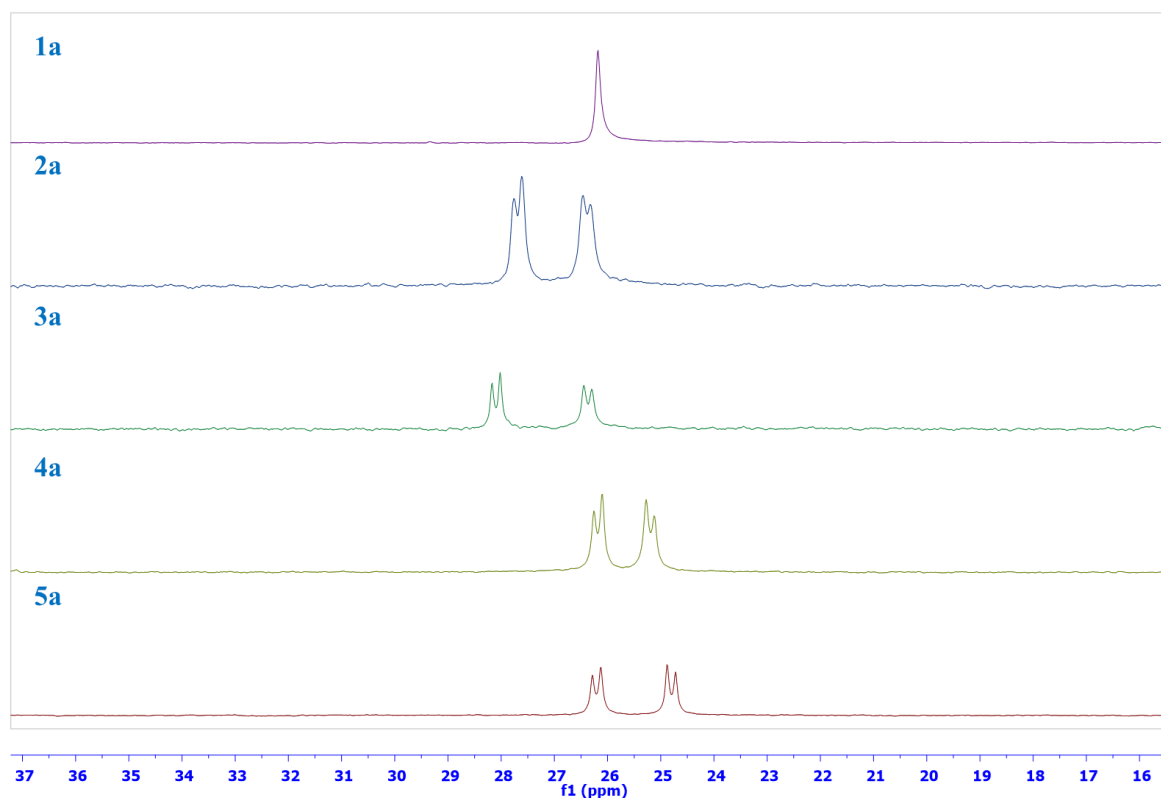


FIGURA 4.10 - Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos **1a-5a**, em acetona/ D_2O .

Para a segunda série de compostos pode-se observar que para os compostos **1b-4b** os espectros apresentam-se como dois dubletos na região de δ 12 e 39 (FIGURA 4.11), evidenciando a substituição de um ligante cloro *trans* ao fósforo pelo ligante Tol. O sinal referente ao átomo de fósforo *trans* a carbono fica na região próxima de 10 ppm, como descrito na literatura para compostos com estruturas semelhantes.¹⁴⁴

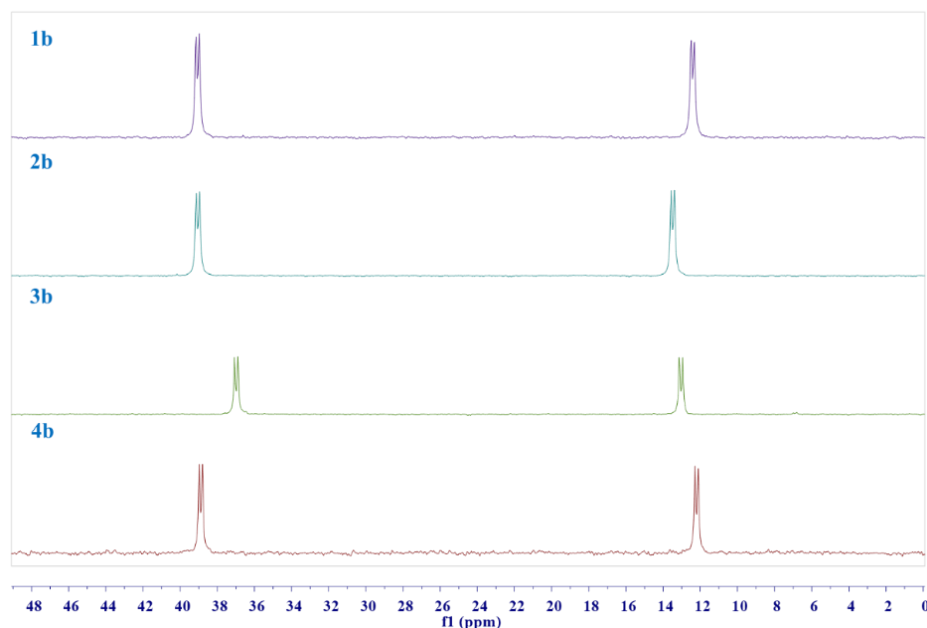


FIGURA 4.11 - Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos **1b-4b**, em acetona / D_2O .

Os espectros dos compostos **5b-8b** são apresentados na FIGURA 4.12, apresentam-se na forma de singletos, indicando que os dois átomos de fósforo dos grupos PPh_3 estão em ambiente químico idêntico, o que sugere a posição *trans* um em relação ao outro, e para o ligante cloro e Tol ocupam as posições *trans* aos átomos de nitrogênio do respectivo ligante diimínico. Todos os deslocamentos químicos dos RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ são sumarizados na TABELA 4.9.

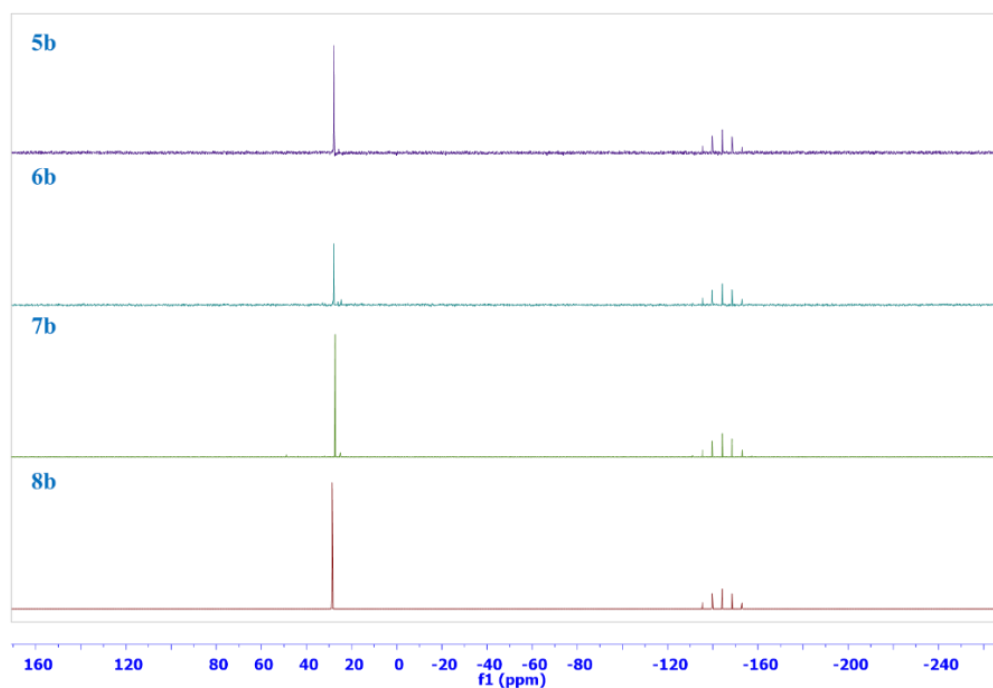


FIGURA 4.12 - Espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos **5b-8b**, em acetona/ D_2O .

TABELA 4.9 - Valores de deslocamentos químicos (δ) e constante de acoplamento para os complexos **1a-5a** e **1b-8b**, em acetona/ D_2O .

Composto	$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (δ)	multiplicidade	$^2J_{P-P}$ (Hz)	$\Delta\delta$ (ppm)
$[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ 1a	26,7	s	---	---
$[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{phen})](\text{ClO}_4)_2$ 2a	27,68 e 26,39	d	24,3	1,29
$[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{dtbipy})](\text{ClO}_4)_2$ 3a	28,09 e 26,37	d	24,3	1,72
$[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(44\text{bipy})](\text{ClO}_4)_2$ 4a	26,59 e 25,99	d	24,3	0,6
$[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(55\text{bipy})](\text{ClO}_4)_2$ 5a	26,68 e 25,52	d	24,3	1,16
$[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ 1b	38,85 e 12,19	d	28,8	26,66
$[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{phen})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ 2b	39,06 e 13,49	d	29,2	25,57
$[\text{RuCl}(\text{dppb})(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ 3b	37,36 e 13,41	d	29,8	23,95
$[\text{RuCl}(\text{dppb})(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ 4b	39,29 e 12,61	d	29,0	26,68
$[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ 5b	27,84	s	---	---

[RuCl(PPh ₃) ₂ (phen)(Tol)]PF ₆ 6b	28,01	s	---	---
[RuCl(PPh ₃) ₂ (44bipy)(Tol)]PF ₆ 7b	27,34	s	---	---
[RuCl(PPh ₃) ₂ (55bipy)(Tol)]PF ₆ 8b	28,62	s	---	---

Analisando os espectros de RMN ³¹P{¹H} na TABELA 4.9, pode-se verificar que para os compostos **1a-5a** os átomos de fósforo apresentam-se em ambientes químicos semelhantes, sendo os valores de $\Delta\delta$ pequenos. Para a segunda série dos compostos **1b-4b** mostram os átomos de fósforo em ambientes químicos bastante diferente o que gera um grande valor de $\Delta\delta$, enquanto que para os compostos **5b-8b** os ligantes PPh₃ ocupam posição *trans* um em relação ao outro e os espectros apresentam-se na forma de singletos.

Verifica-se também que os deslocamentos químicos para o RMN ³¹P{¹H} para todos os compostos tanto da série 1 como da série 2, fornecem informações suficientes para sugerir como os ligantes estão dispostos na esfera de coordenação.

4.3.4.2 - Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio 1D e 2D RMN ¹H e ¹H-¹H COSY.

A espectroscopia de RMN ¹H e ¹H-¹H COSY fornecem informações estruturais e eletrônicas dos compostos em solução, sendo de grande importância no estudo dos compostos aqui apresentados. Os deslocamentos químicos dos hidrogênios fornecem informações tanto qualitativa, quanto quantitativa, pois pode-se integrar a área dos picos obtidos nos experimentos e assim quantificar o número de átomos de hidrogênio no composto, sendo assim uma ferramenta muito poderosa na elucidação estrutural dos complexos.

A discussão dos dados de RMN de ^1H será realizada por série, pois o foco da discussão de cada série é distinto devido o comportamento diferenciado dos compostos da série **1** nos experimentos de ^1H - ^1H COSY.

Para a primeira série de compostos (**1a-5a**) é utilizado como precursor dos compostos o *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$, sendo este precursor bastante estudado no nosso grupo de pesquisa e sua síntese e caracterização estrutural é bem estabelecida.

O espectro de ^1H do precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ foi obtido em CD_2Cl_2 , apresentando duas regiões distintas, sendo uma região de baixa frequência, onde estão localizados os prótons alifáticos da dppb, que vai de δ 1,18-3,76, com integral correspondente a 8 H. A segunda região, em mais alta frequência, onde encontra-se a região aromática, de δ 6,54-9,56, com integral de 28 H, totalizando 36 H, como esperado para o precursor.

A atribuição inequívoca dos prótons da região aromática é de difícil assinalação, pois ocorre sobreposição dos prótons aromáticos dos grupos fenilas da fosfina e da bipy, como pode ser visto na FIGURA 4.13. Por isso é comum em trabalhos onde os compostos que apresentem ligantes diimínicos e fenilas, as discussões ficarem restritas aos espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e atribuição dos sinais dos H tratarem apenas da separação por regiões do espectro.¹⁴⁵

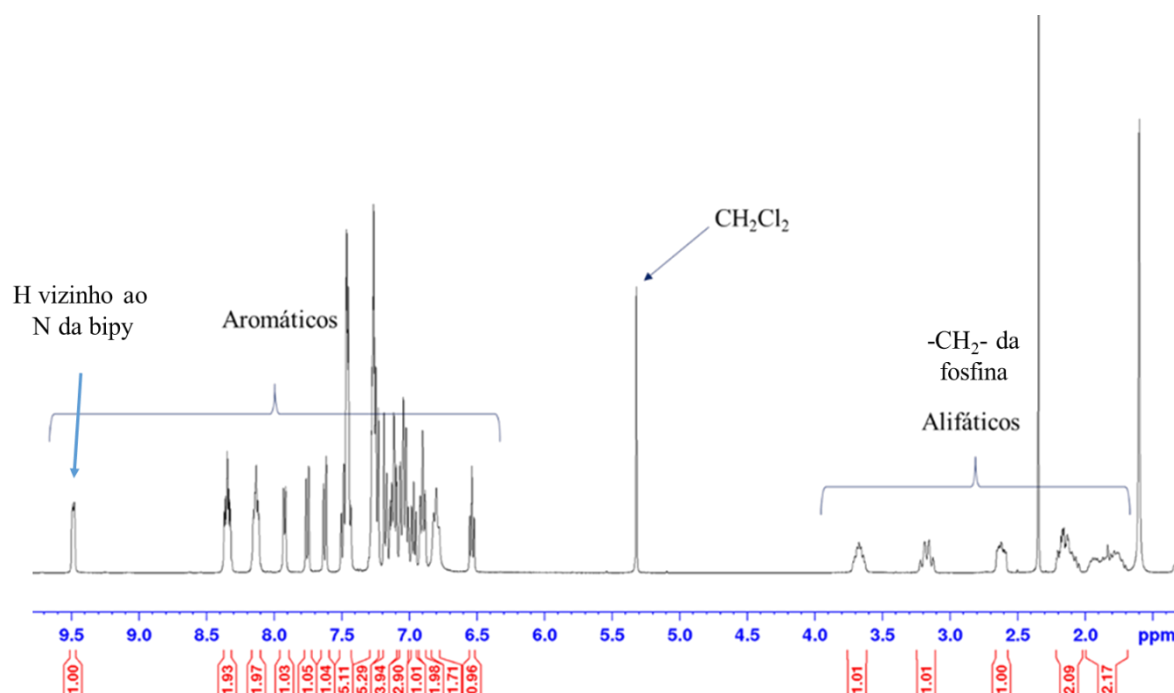


FIGURA 4.13 - Espectro de RMN de ^1H do precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)] em CD₂Cl₂.

A estrutura com a numeração utilizada para atribuição dos H do complexo **1a** e o espectros de RMN ^1H são mostrados nas FIGURA 4.14 e FIGURA 4.15, respectivamente. Para os complexos **2a-5a** os espectros são apresentados no apêndice, sendo que as regiões dos sinais característicos dos compostos são mostradas na Tabela 4.10. Pode-se perceber a grande semelhança entre os espectros, onde a maior diferença ocorre apenas pelo acréscimo dos sinais dos substituintes dos ligantes diimínicos e assim como no espectro do precursor, para os compostos **1a-5a**, observa-se duas regiões distintas.

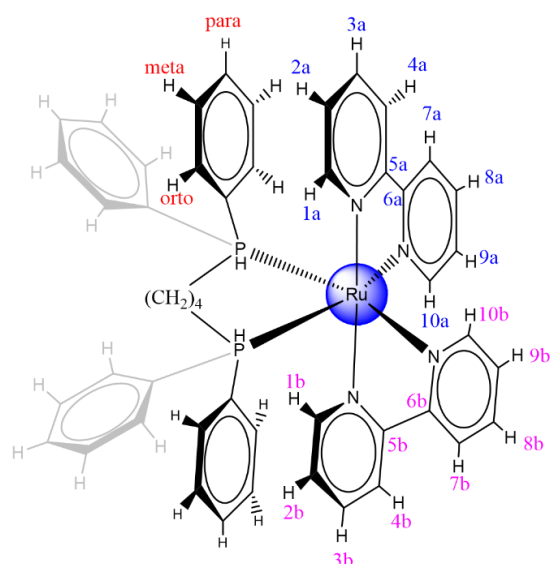


FIGURA 4.14 – Estrutura do composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**), com numeração dos ligantes bipy e posições dos hidrogênios das fenilas.

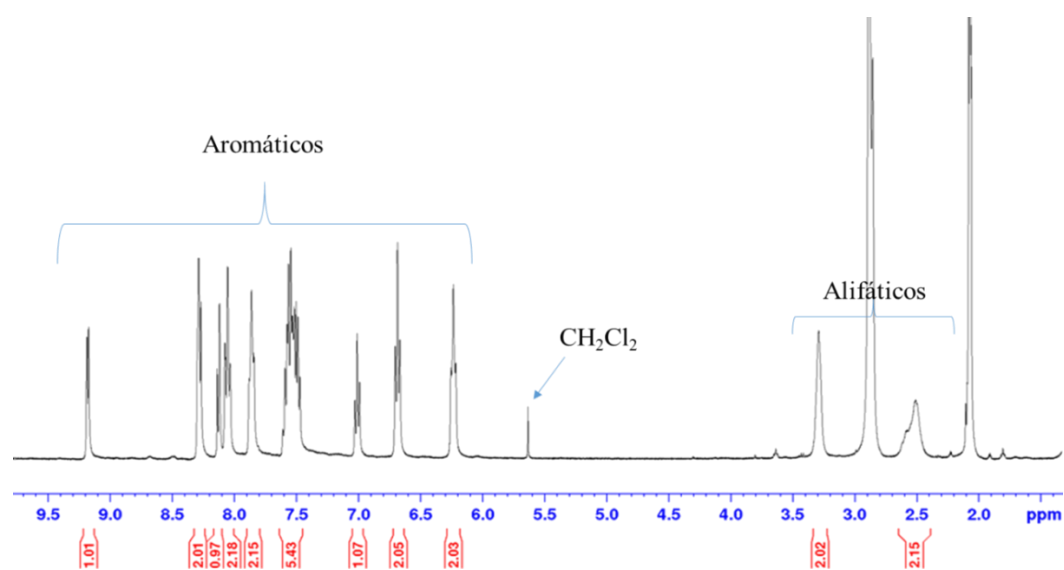


FIGURA 4.15 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**), em acetona- d_6 .

Tabela 4.10 – Faixa dos prótons alifáticos e integral, faixa dos H aromáticos mais blindados e faixa dos H aromáticos menos blindados nos espectros de RMN ^1H dos compostos **1a-5a**.

Composto	Região protons alifáticos, δ, (integral)	Região aromática δ de 6,20-7,09 δ, (integral)	Faixa de δ de H1a e H1b (integral)
[Ru(dppb)(bipy) ₂](ClO ₄) ₂ 1a	2,35-3,32 (8H)	6,20 (4H)	9,15 (2H)
		6,64 (4H)	
		6,97 (2H)	
[Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO ₄) ₂ 2a	2,41-3,27 (8H)	6,22 (4H)	9,15 (2H)
		6,66 (4H)	
		6,97 (2H)	
[Ru(dppb)(bipy)(dtbipy)](ClO ₄) ₂ 3a	1,28-3,27 (26H)	6,16-6,32 (4H)	9,15 (1H)
		6,61-6,78 (4H)	9,07 (1H)
		6,95-7,09 (2H)	
[Ru(dppb)(bipy)(44bipy)](ClO ₄) ₂ 4a	2,39-3,36 (14H)	6,16-6,29 (4H)	9,16 (1H) 8,97 (1H)
		6,67 (2H)	
		6,74 (2H)	
		6,97-7,03 (1H)	
[Ru(dppb)(bipy)(55bipy)](ClO ₄) ₂ 5a	2,13-3,37 (14H)	7,03-7,09 (1H)	9,25 (1H) 8,73 (1H)
		6,23-6,36 (4H)	
		6,69 (2H)	
		6,74 (2H)	
		6,97 (2H)	

A atribuição dos sinais na região de prótons alifáticos para os compostos **1a** e **2a** referem-se aos prótons dos grupos $-\text{CH}_2-$ da dppb, com integral igual a 8 H. Para os compostos **4a** e **5a** além dos prótons alifáticos da fosfina

observa-se também dois singletos com integral de 3 prótons cada, correspondente aos grupos metilas, totalizando 14 H. Para o composto **3a** os prótons dos grupos di-terc-butil, juntamente com os prótons alifáticos presentes na dppb totalizam 26 H. A região aromática compreende os sinais das fenilas da dppb e os hidrogênios aromáticos dos dois ligantes diimínicos, encontrando-se sobrepostos, o que inviabiliza a atribuição apenas pelos espectros de ^1H .

O composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**) apresenta um plano de simetria que divide a fosfina ao meio com um ligante 2,2'-bipiridina de cada lado. Por isso o espectro apresenta a metade dos hidrogênios esperados para a estrutura. Pode-se atribuir assim alguns sinais característicos no espectro de ^1H . A região aromática, além dos prótons mais desblindados em 9,15 ppm (2 H) que são atribuídos aos H1a e H1b que apresentam o mesmo deslocamento químico. Apenas com os espectros 1D não é possível atribuir outros sinais aromáticos com razoável grau de confiabilidade.

Buscando-se explorar melhor os dados obtidos e complementar as informações extraídas dos espectros 1D e possibilitar o uso máximo de informações estruturais, foram realizados os experimentos de correlação 2D simples, conhecido como COSY (**C**ORRELATION **S**PECTROSCOPY – espectroscopia de correlação) utilizados para verificar como os núcleos se correlacionam com seus vizinhos.

No experimento de COSY ^1H - ^1H para o precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ (FIGURA 4.16-A) pode-se verificar a existência de apenas duas regiões de acoplamentos distintas, onde uma região é atribuída aos prótons alifáticos da dppb e a outra atribuída aos prótons aromáticos (dppb e bipy).

Os espectros obtidos para **1a-5a** apresentam-se similares entre si, porém apresentam um comportamento não esperado, diferente do obtido para o

precursor, pois agora observa-se três regiões de acoplamento distintas, chamadas de I, II e III, como apresentado para o composto **1a** na FIGURA 4.16-B e os demais espectros no apêndice.

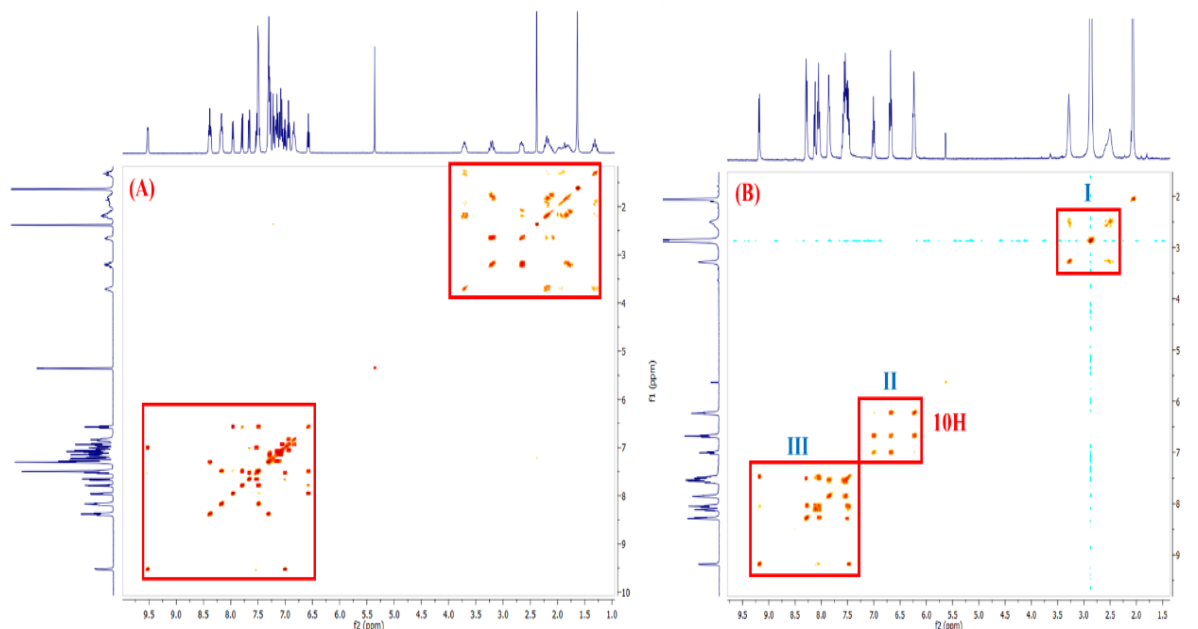


FIGURA 4.16 - Experimento ^1H - ^1H COSY do precursor $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ (A) e do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (B).

De forma semelhante ao precursor, a região de acoplamento **I** corresponde aos sinais dos prótons alifáticos da fosfina, além dos substituintes dos ligantes diimínicos. Porém, a região aromática para **1a-5a**, subdivide-se em duas regiões isoladas de acoplamento (II e III). A região de acoplamento II, aparece de forma idêntica em todos compostos **1a-5a**, com exatamente 10 H, que corresponde à região aromática mais blindada, mostrada na Tabela 4.10.

Os prótons da região de acoplamento II, para o composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**) com δ entre 6,20 e 6,99, sendo 4 H com δ em 6,20, 4 H com δ em 6,64 e 2 H com δ em 6,99. Os prótons presentes na região II não podem ser atribuídos aos ligantes diimínicos, pois nenhum destes ligantes apresentam 10 H em sua estrutura. Além disso, não existe nenhum acoplamento

com os prótons da região III. Para integral igual a 10 H, a única opção é que essa região de acoplamento seja formada por duas fenilas, presentes na fosfina.

Como a região de acoplamento II só pode ser formada por duas fenilas (10 H), que ocorre uma diferenciação de dois grupos fenila, já que a fosfina aqui usada apresenta em sua estrutura quatro grupamentos fenila (20 H). Portanto, sugere-se que deve existir algum efeito que provoca uma maior blindagem dos prótons presentes em apenas duas fenilas que gera a ilha II (FIGURA 4.16).

Já é reportado na literatura que complexos contendo o ligante dppb e diimínicos com geometria octaédrica podem apresentar interações do tipo π -stacking, inclusive este tipo de interação é observada na estrutura do precursor (*cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)]) usado nesta série, porém não ocorre nenhuma diferenciação dos sinais no experimento de ¹H-¹H COSY do precursor.^{145,146}

Para buscar uma melhor explicação para esse fenômeno observado, sugere-se que exista um forte efeito de corrente de anel nos dois ligantes diimínicos que são capazes de realizar “ π -stacking” mais forte do que a interação presente no precursor. Essa interação ocorre apenas nos dois grupos fenila mais próximos aos ligantes diimínicos de cada complexo. Os ligantes diimínicos geram um campo anisotrópico secundário que devido a proximidade com as fenilas provoca a blindagem destes H, o que não ocorre nas duas fenilas sem “ π -stacking”.

Para reforçar esta hipótese, realizou-se o experimento de RMN de ¹H e ¹H-¹H COSY para um composto que não apresentasse dois grupos diimínicos na estrutura. Desta forma o composto [Ru(dppb)(bipy)(NO₃)]ClO₄ foi utilizado pois neste caso substituiu-se os ligantes cloro por um ligante mais volumoso e bidentado, a estrutura apresenta apenas um ligante diimínico que justificaria a formação de π -stacking em apenas uma fenila, e assim não podendo gerar a região

de acoplamento II com 10 H. Os espectros obtidos são apresentados nas FIGURA 4.17 e FIGURA 4.18.

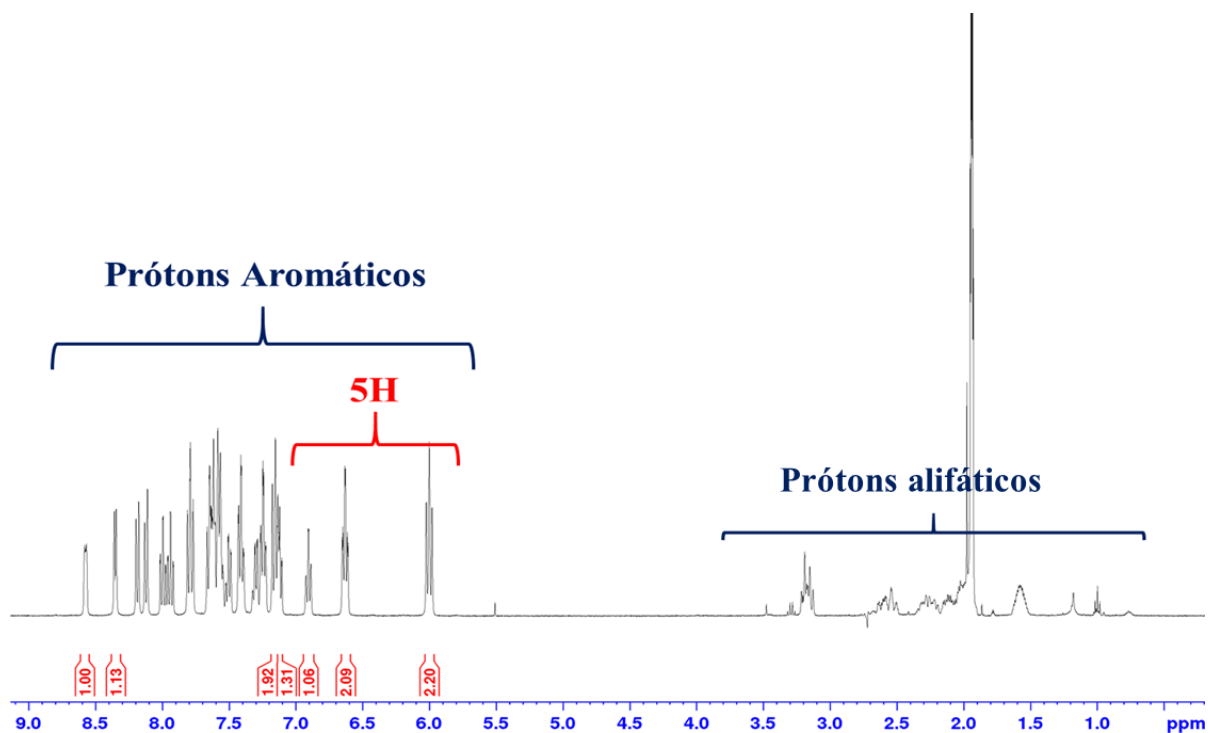


FIGURA 4.17 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{NO}_3)]\text{ClO}_4$, em $\text{acetone-}d_6$.

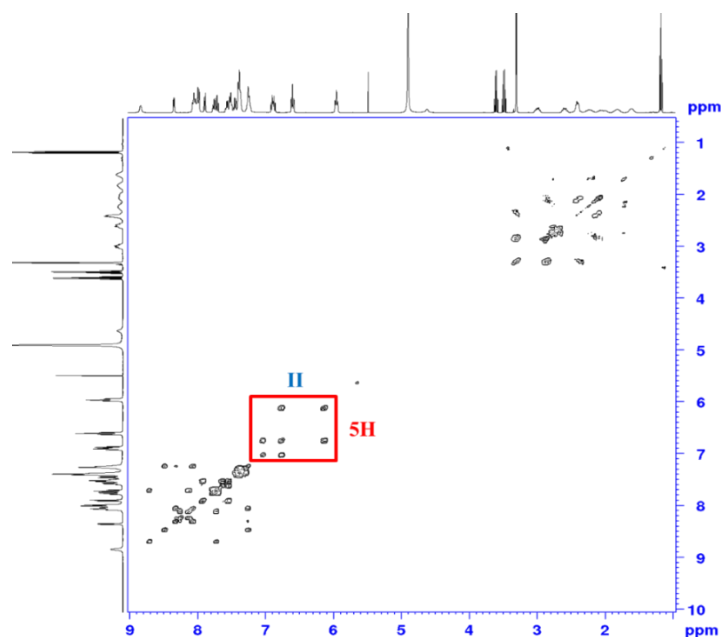


FIGURA 4.18 - ^1H - ^1H COSY espectro do precursor $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{NO}_3)]\text{ClO}_4$ em acetona- d_6 .

No espectro de RMN de ^1H de $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{NO}_3)]\text{ClO}_4$ encontra-se a separação em duas regiões e integral igual a 36 H, assim como no precursor, já que os ligantes cloro são substituídos por um ligante NO_3^- . Os sinais mais blindados da região aromática, δ em 6,13, com 2 H, e δ 6,75 com 2 H e δ 7,03 com apenas 1 H, totalizando 5H, o que corresponde a apenas uma fenila. Já o experimento de ^1H - ^1H COSY tem o mesmo comportamento que se observa para **1a-5a**, sendo que a região de acoplamento **II** não acopla com nenhuma outra região de acoplamento, apresentando apenas 5 H, o que fortalece a explicação da ação do π -stacking.

Para as regiões de acoplamento **III**, para os compostos **1a-5a**, são coerentes com a hipótese anterior, pois apresenta integral correspondente ao total de prótons aromáticos, menos os 10 H das fenilas presentes na região **II**. Para comprovar a proximidade espacial entre os grupos diimínicos e fenílicos sugeridos, o que evidenciaria o efeito da interação por π -stacking, realizou-se para os compostos *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ e **1a-5a**, os experimentos de NOESY 1D e

2D que nos permite avaliar o acoplamento espacial em uma distância de até aproximadamente 5 Å, de forma qualitativa e quantitativa. As diferenças estruturais apresentadas entre o precursor e o complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**) e seus acopamentos dipolares são mostradas na FIGURA 4.19.

Para o experimento de ^1H - ^1H NOESY do precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$, apresentado na FIGURA 4.20, observa-se que o próton mais desblindado com δ em 9,52, atribuído ao H1a, não apresenta acoplamento espacial com os grupos alifáticos ($-\text{CH}_2-$) da fosfina, e que o próton vizinho ao N *trans* ao ligante cloro, com δ em 8,17 que apresenta acoplamento espacial com os grupos $-\text{CH}_2-$ presentes na dppb.

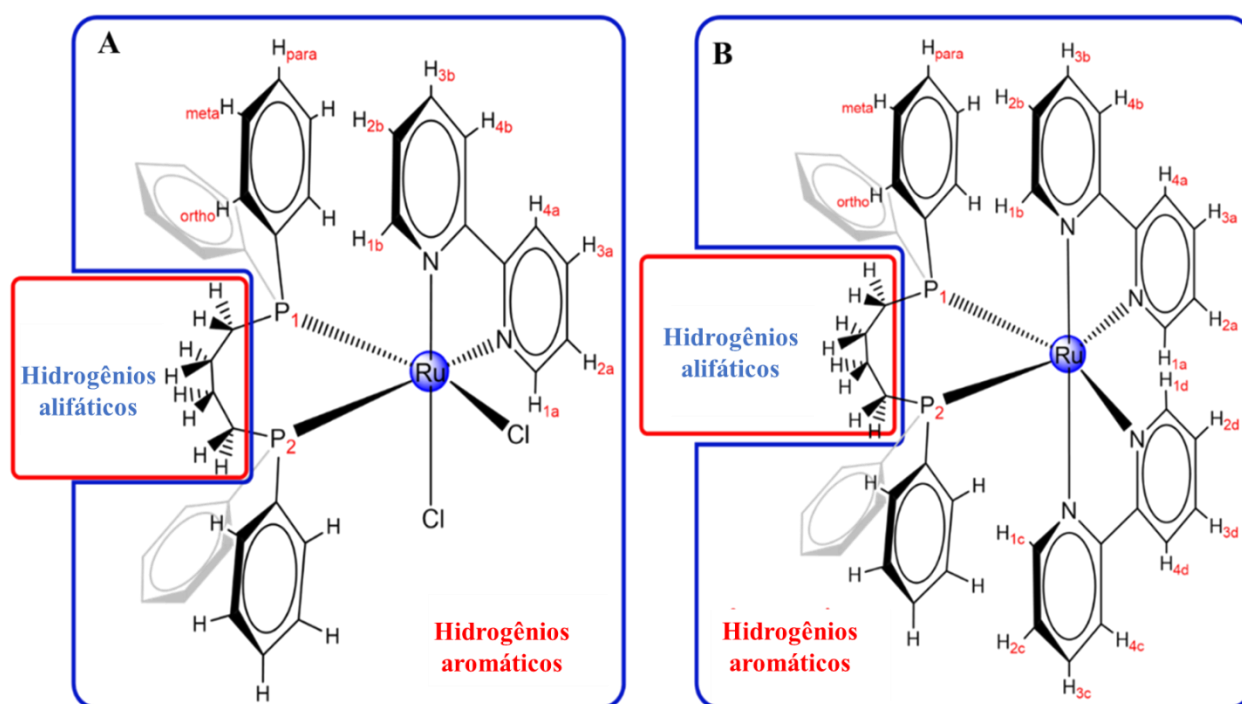


FIGURA 4.19 - Estruturas mostrando a proximidade espacial do precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ (A), e para o complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (B), evidenciando a inversão de deslocamento químico e interação π - π stacking.

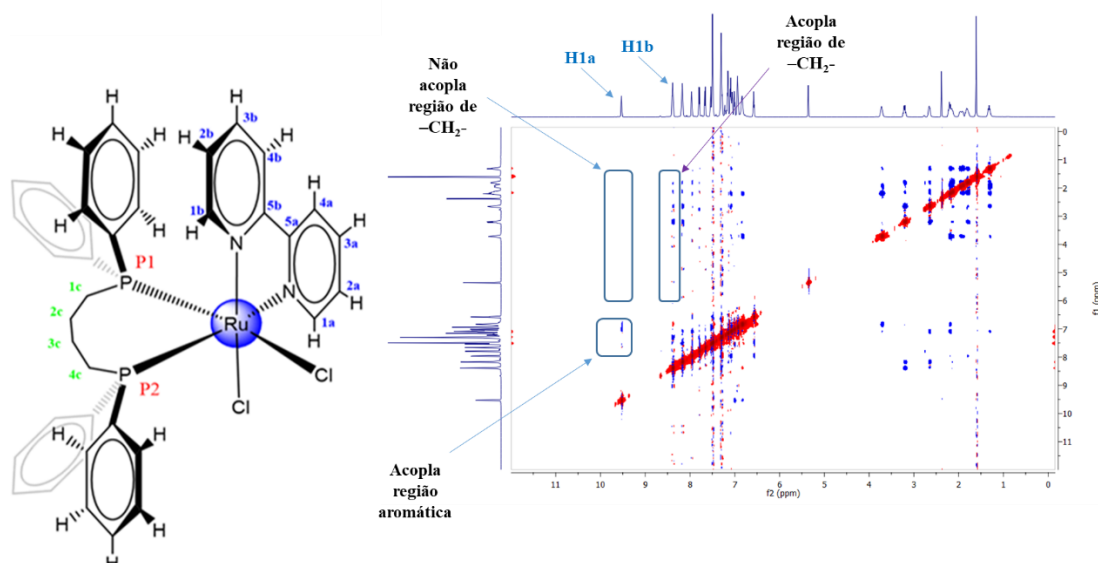


FIGURA 4.20 - Experimento $^1\text{H}\text{-}^1\text{H}$ NOESY 2D do precursor $cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$, em CD_2Cl_2 .

O experimento de NOESY do composto **1a** é mostrado na FIGURA 4.21, e para **2a-5a**, no apêndice, apresentando comportamento similar. Esta análise permitiu verificar o comportamento dos prótons do ligante após a coordenação, onde observa-se que a substituição dos ligantes cloro pelos ligantes diimínicos, ocorre com inversão nos deslocamentos químico entre os dois prótons vizinhos aos N dos ligantes diimínicos quando comparado os experimentos para o precursor e o complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**).

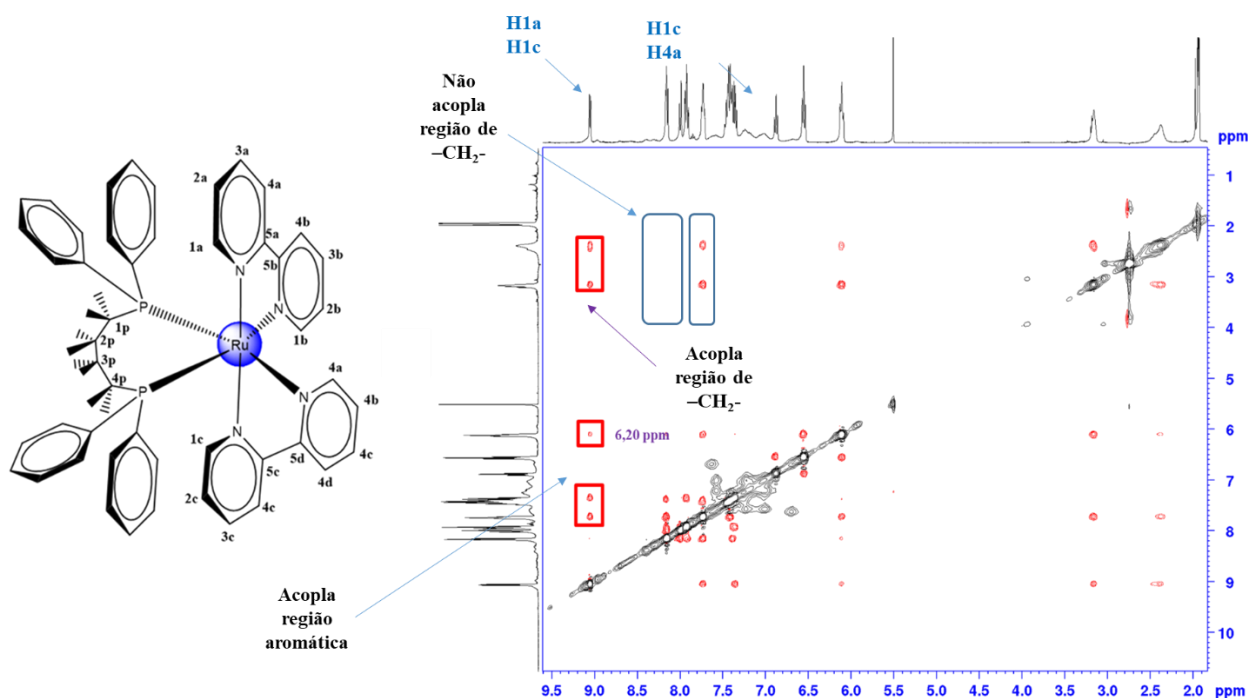


FIGURA 4.21 - Experimento ^1H - ^1H NOESY 2D para o composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**), em acetona- d_6 .

Para os H1a e H1c, com δ em 9.15, sendo que diferentemente do precursor, observa-se agora que o próton mais desblindado acopla espacialmente com os prótons com δ entre 2,35 e 2,62 e entre 3,15 e 3,32 ($-\text{CH}_2-$ da dppb) e com os prótons da região de acoplamento II, δ em 6,24, o que mostra a proximidade espacial dos grupos bipy e fenila, como proposto anteriormente. O próton em 8,29 ppm também apresenta acoplamento espacial com os prótons com δ em 6,24, e não apresenta acoplamento espacial com os grupos $-\text{CH}_2-$ da dppb.

Os experimentos de COSY para **2a-4a** apresentam-se muito semelhantes com a presença dos acoplamentos espaciais entre os prótons mais desblindados com os sinais presentes na ilha de acoplamentos II, sendo os espectros apresentados no apêndice. O comportamento da inversão de deslocamentos dos prótons mais desblindados pode ser justificado pela mudança de ambiente químico que ocorre após a substituição dos ligantes cloro (σ e π -

básico) por um ligante diimínico (π -ácido), o que está de acordo com os dados de voltametria cíclica.

Para confirmar que os compostos apresentam distâncias coerentes com a presença de π -stacking em solução, como proposto anteriormente. Os experimentos 1D ^1H - ^1H NOESY foram realizados, já o experimento 1D permite irradiar um próton específico e verificar o acoplamento espacial do próton irradiado e usar a intensidade do efeito NOE dos prótons de interesse e estimar a distância espacial entre os prótons usando a Equação 1.5 de forma quantitativa.

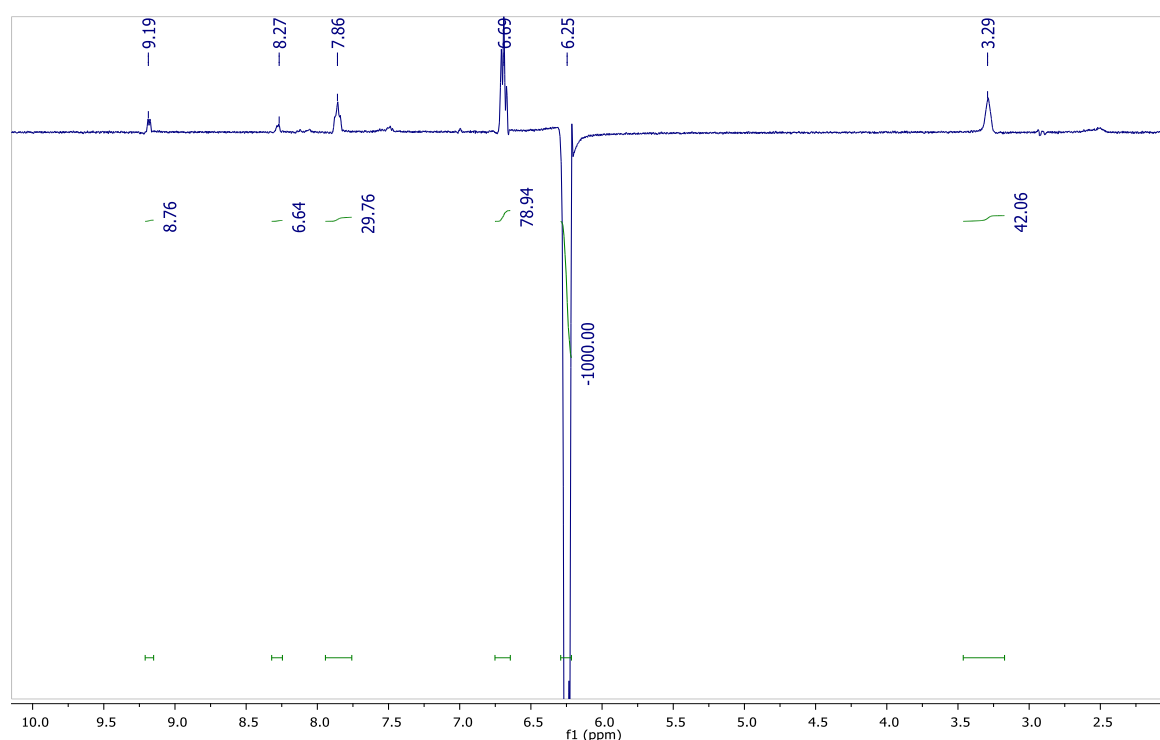


FIGURA 4.22 - Espectro 1-D NOESY para o composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**), irradiando os prótons em δ 6,24, em acetona- d_6 .

Quando se irradia seletivamente os prótons mais blindados da região aromática do composto **1a** (FIGURA 4.22), δ em 6,24, pode-se usar a integral da área obtida no espectro como referência da intensidade NOE dos prótons mais próximos no espaço, sendo que a referência aqui usada é a distância calculada por DFT entre os prótons orto e meta na fenila em π -stacking (δ 6,24 e 6,88), com a distância de 2,45 Å para os compostos **1a-5a**.

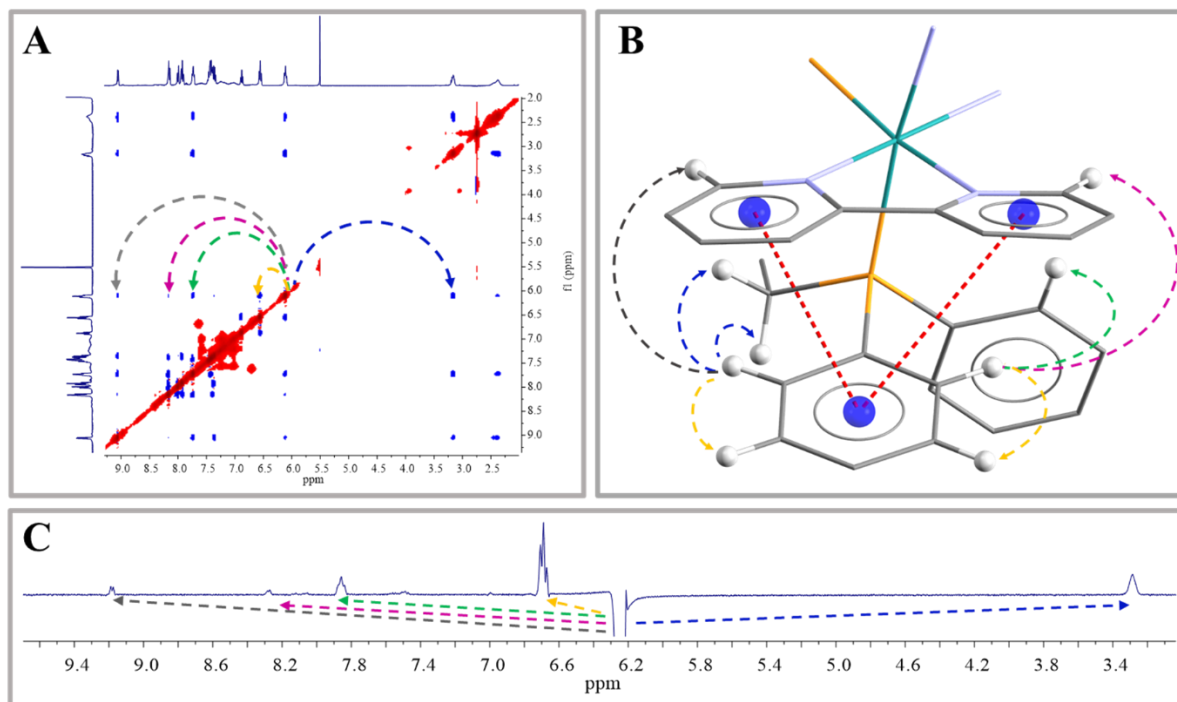


FIGURA 4.23 - Experimentos NOESY 2D (A), principais acoplamentos espaciais observados no complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (B) e o experimento NOESY 1D usado para calcular as distâncias interpróton, irradiando o próton em 6,20 ppm (C), em acetona- d_6 .

Usando a equação **1.5**, e com a distância calculada por DFT como referência e as áreas integradas nos espectros 1-D NOESY, pode-se calcular as distâncias entre os prótons da bipy (vizinhos aos nitrogênios diimínicos) e os prótons da fenila em π -stacking, sendo os dados apresentados na TABELA 4.11, onde os dados calculados para este conjunto de prótons apresentaram boa concordância NOE e DFT.

Os espectros 1D NOESY obtidos para os compostos **1a-5a** (apêndice), apresentam grande similaridade entre si. Porém para o composto **4a**, ocorre uma pequena separação dos sinais das fenilas em π -stacking. Verificou-se que quando se irradia o próton com δ em 6,20 ocorre acoplamento espacial com o o próton com δ 9,15, o que indica que estes prótons fenílicos estão em π -stacking com o ligante bipy. Porém quando se irradia o próton com δ 6,25 ocorre

acoplamento com o próton com δ 8,95, indicando que estes prótons são da fenila em π -stacking com o ligante 44bipy.

Para o composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**), as distâncias calculadas por RMN e por DFT, entre os H_{orto} da fenila em π -stacking e H_{1a} com δ 6,20 e 9,15, respectivamente são 3,53 e 3,26 Å. Para os H_{orto} e H_{1b} com δ 6,20 e 8,30 são 3,70 e 3,60 Å, e entre H_{orto} próximo dos grupos alifáticos e os grupos $-\text{CH}_2-$ em δ 6,24 e 3,23 foram encontrados distâncias de 2,72 e 2,41 Å, respectivamente.

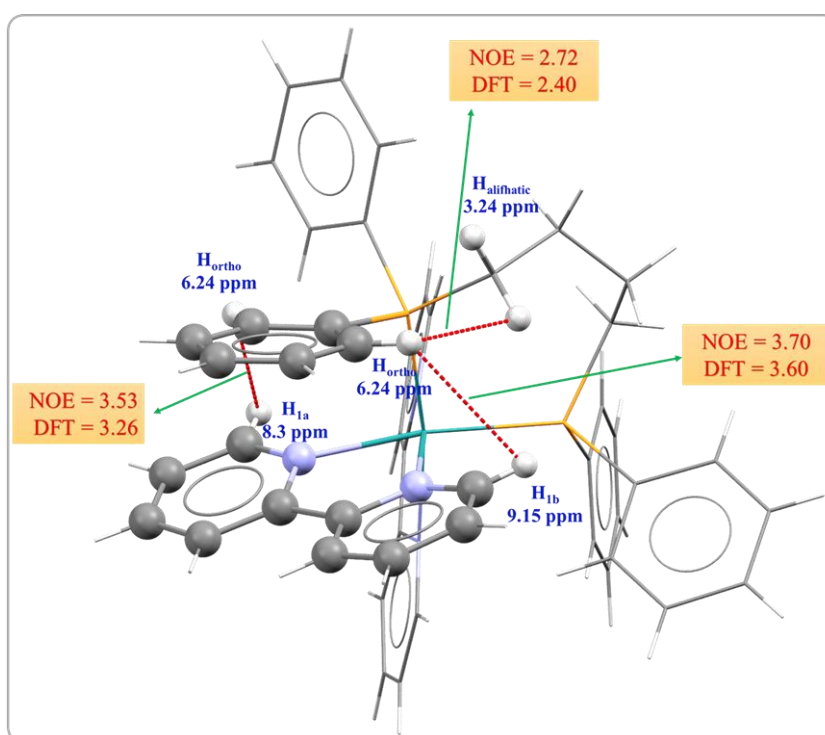


FIGURA 4.24 - Distâncias calculadas por NOE e DFT para o complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**).

TABELA 4.11 – Dados das distâncias interprotons calculadas por NOE e DFT para os complexos **1a-5a**.

Composto	Interação	r NOE Å	r DFT Å	Erro (%)
[Ru(dppb)(bipy) ₂](ClO ₄) ₂ 1a	H _{6.24} -H _{9.15}	3,53	3,27	7,7
	H _{6.24} -H _{8.30}	3,70	3,60	2,7
	H _{6.24} -H _{3.23}	2,72	2,40	11,5
	H _{6.24} -H _{6.64} ref.	2,45	2,45	---
[Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO ₄) ₂ 2a	H _{5.58} -H _{9.58}	3,74	3,55	5,1
	H _{5.58} -H _{7.96}	2,96	3,21	7,7
	H _{5.58} -H _{6.23} ref.	2,45	2,45	---
[Ru(dppb)(bipy)(dtbipy)](ClO ₄) ₂ 3a	H _{6.20} -H _{9.15}	3,91	3,59	8,1
	H _{6.24} -H _{9.07}	4,15	3,62	12,0
	H _{6.24} -H _{6.64} ref.	2,45	2,45	---
[Ru(dppb)(bipy)(44bipy)](ClO ₄) ₂ 4a	H _{6.20} -H _{9.15}	3,59	3,30	8,0
	H _{6.20} -H _{6.66} ref.	2,45	2,45	---
	H _{6.20} -H _{3.24}	2,87	2,92	1,7
[Ru(dppb)(bipy)(55bipy)](ClO ₄) ₂ 5a	H _{6.25} -H _{8.95}	3,50	3,31	5,4
	H _{6.11} -H _{9.05}	3,91	3,62	7,4
	H _{6.11} -H _{7.8}	2,95	3,27	9,5
	H _{6.11} -H _{6.56} ref.	2,45	2,45	---

Para o composto **6a**, o espectro de RMN ¹H apresenta apenas quatro sinais na região aromática, como é mostrado na FIGURA 4.25. Diferente dos compostos **1a-5a** não ocorre sobreposição de sinais e a atribuição é bastante simples, devido aos planos de simetria presente na molécula, com três ligantes idênticos existindo apenas quatro prótons em ambientes químicos diferentes.

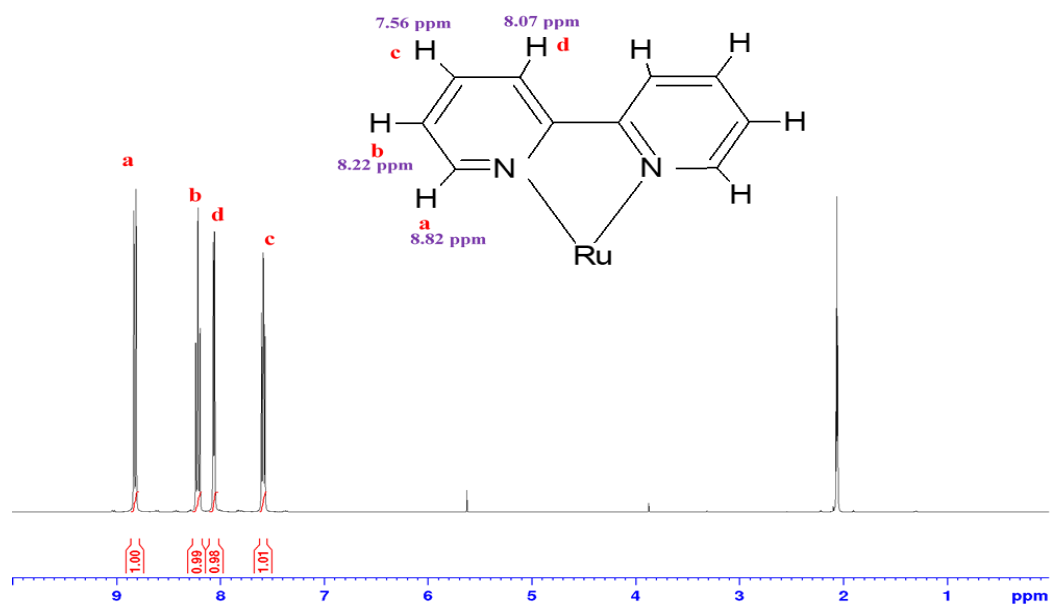


FIGURA 4.25 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$ (**6a**), em acetona- d_6 .

Para a segunda série os dados são mais simples de interpretação. Para os compostos **1b-8b** foi utilizado o ligante Tol, que apresenta em sua estrutura apenas 9 H, sendo divididos em três classes diferentes: 3 H são do grupo metila, 2 H do grupo metileno e 4H do anel aromático da estrutura. Os espectros de RMN de ^1H do ligante Tol são mostrados na FIGURA 4.26.

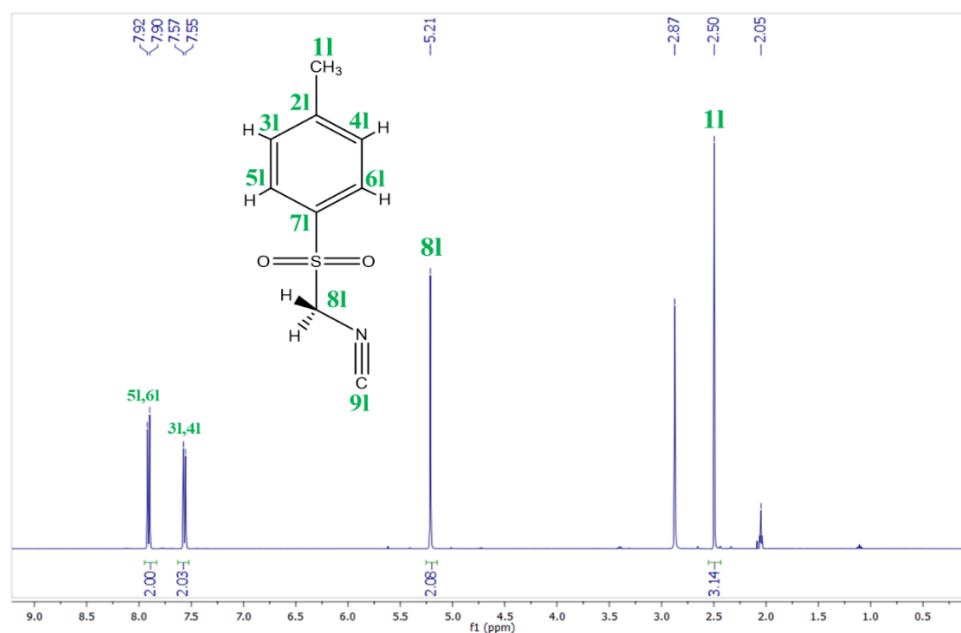


FIGURA 4.26 - Espectro de RMN de ^1H do ligante Tol, em acetona- d_6 .

Os espectros de RMN ^1H e ^1H - ^1H COSY (Apêndice) são suficientes para atribuição inequívoca dos prótons do ligante Tol. O singlete com δ em 2,50 com integral de 3H, atribuído ao grupo metila (**11**), o singlete com δ em 5,21 é atribuído ao grupo metileno (**81**) e o dubleto com δ em 7,56 é atribuído aos H na posição orto (**31**, **41**) em relação ao grupo metila e o dubleto com δ em 7,59, aos H em posição meta (**51**, **61**).

Nos compostos **1b-8b** pode-se evidenciar a formação dos complexos a partir da integral dos prótons e a observação do sinal do grupo metilênico ($-\text{CH}_2-$) do ligante Tol que aparece em uma região livre dos sinais das fosfinas e diimínas. Nesta série de compostos não foi observado a separação tão evidente dos sinais de fenilas nos espectros de COSY como para a primeira série. Os espectros de ^1H e COSY para o composto **1b** são apresentados nas FIGURAS FIGURA 4.27 e FIGURA 4.28, e para os demais compostos, são apresentados no apêndice, sendo as principais atribuições são apresentadas na TABELA 4.12.

Para os complexos **1b-4b** observa-se a região atribuída aos H alifáticos dos grupos $-\text{CH}_2-$ da dppb, com δ de 1,31 a 3,75, a região dos grupos metilênicos $-\text{CH}_2-$ do ligante Tol, na faixa com δ de 5,43 a 5,50, e a região mais blindada de sobreposição dos H aromáticos dos grupos fenílicos da fosfina, dos ligantes diimínicos e dos prótons aromáticos do ligante Tol.

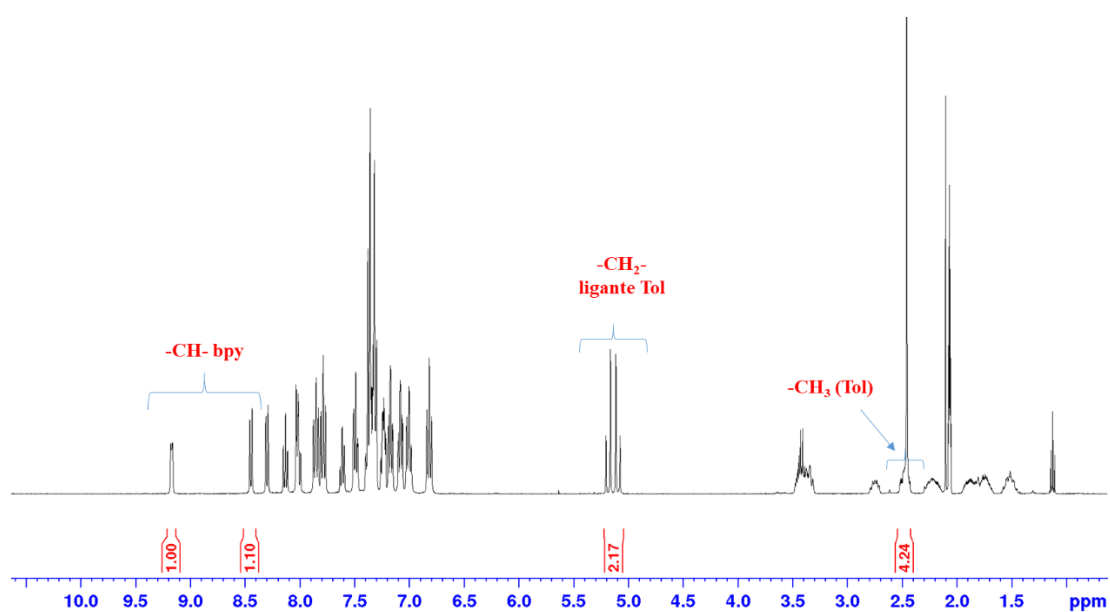


FIGURA 4.27 - Espectro de RMN de ^1H do composto $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**1b**), em acetona- d_6 .

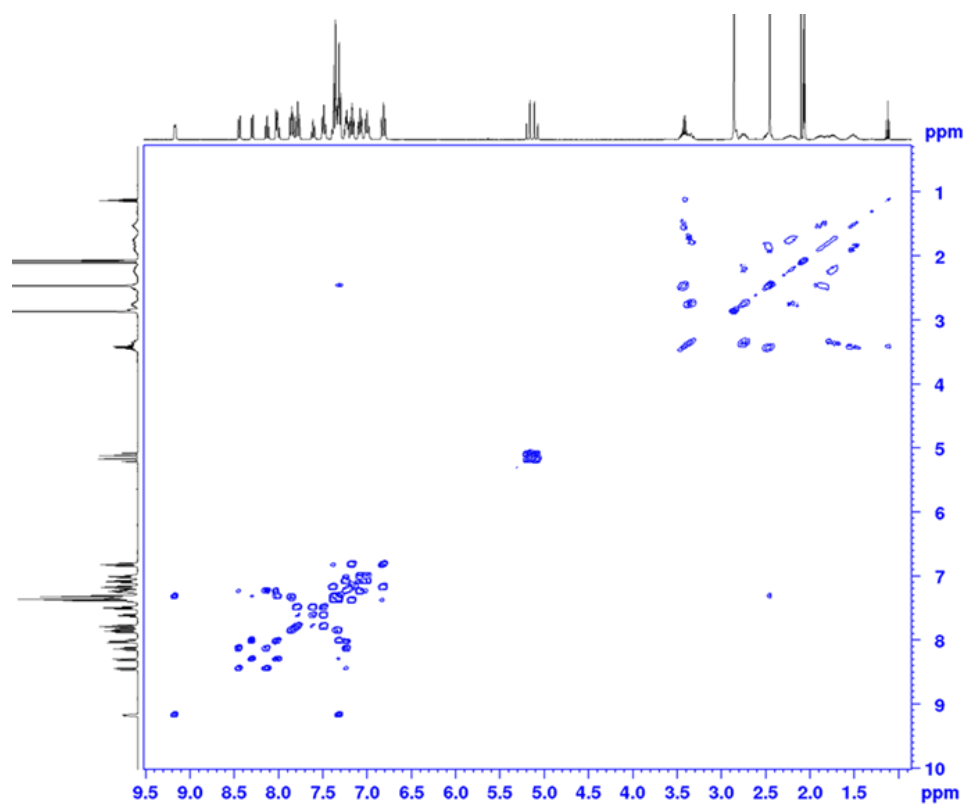


FIGURA 4.28 - Experimento ^1H - ^1H COSY do complexo $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**1b**), em acetona- d_6 .

TABELA 4.12 – Faixa selecionada do espectro de ^1H e integral dos prótons para os compostos **1b-8b**.

Composto	H alifáticos (-CH₂- e -CH₃) δ (integral)	-CH₂- do ligante Tol	H menos blindados, δ (integral)
Ligante Tol	2,50 (3H)	5,21 (2H)	7,56 e 7,59 (4H)
[RuCl(dppb)(bipy)(Tol)]PF ₆ 1b	1,43-3,50 (11H)	5,14 (2H)	9,17(1H) 8,42 (1H)
[RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF ₆ 2b	1,43-3,51 (11H)	5,13 (2H)	9,58 (1H) 8,69 (1H)
[RuCl(dppb)(44bipy)(Tol)]PF ₆ 3b	1,40-3,53 (17H)	5,14 (2H)	9,01 (1H) 8,32 (1H)
[RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF ₆ 4b	1,31-3,73 (17H)	5,22 (2H)	8,79 (1H) 8,29 (1H)
[RuCl(PPh ₃) ₂ (bipy)(Tol)]PF ₆ 5b	2,48 (3H)	5,48 (2H)	8,72 (1H) 8,39 (1H)
[RuCl(PPh ₃) ₂ (phen)(Tol)]PF ₆ 6b	2,50 (3H)	5,52(2H)	9,05(1H) 8,64(1H)
[RuCl(PPh ₃) ₂ (44bipy)(Tol)]PF ₆ 7b	2,29 (3H) 2,43 (3H) 2,48 (3H)	5,43 (2H)	8,55 (1H) 8,25 (1H)
[RuCl(PPh ₃) ₂ (55bipy)(Tol)]PF ₆ 8b	1,89 (3H) 2,02 (3H) 2,45 (3H)	5,20 (2H)	8,32(1H) 8,24 (1H)

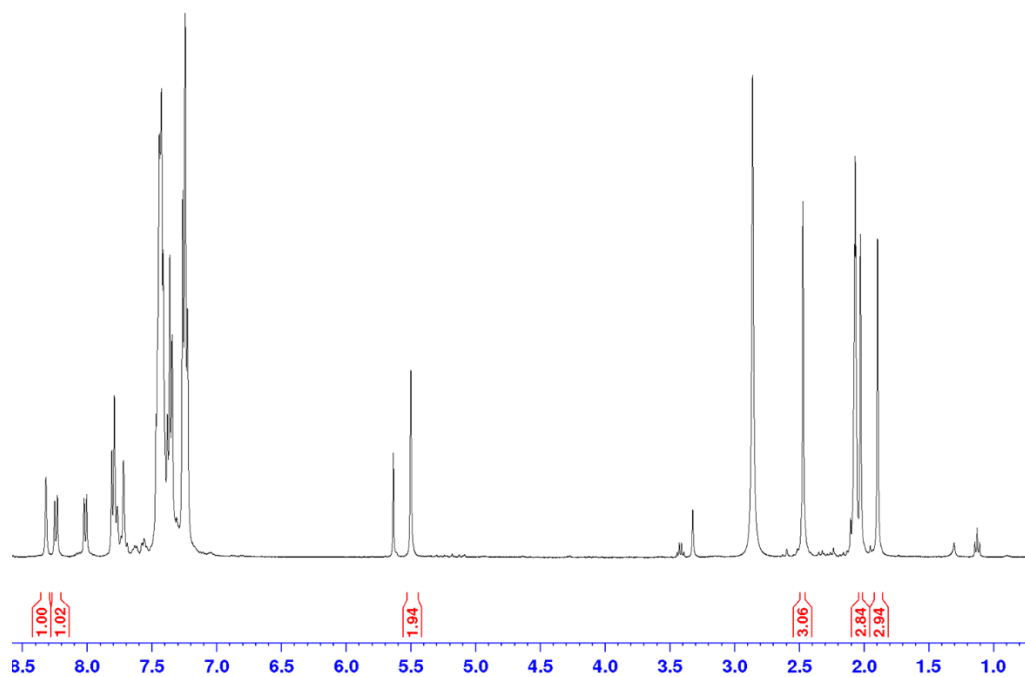


FIGURA 4.29 - Espectro de RMN de ^1H do composto $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**5b**), em acetona- d_6 .

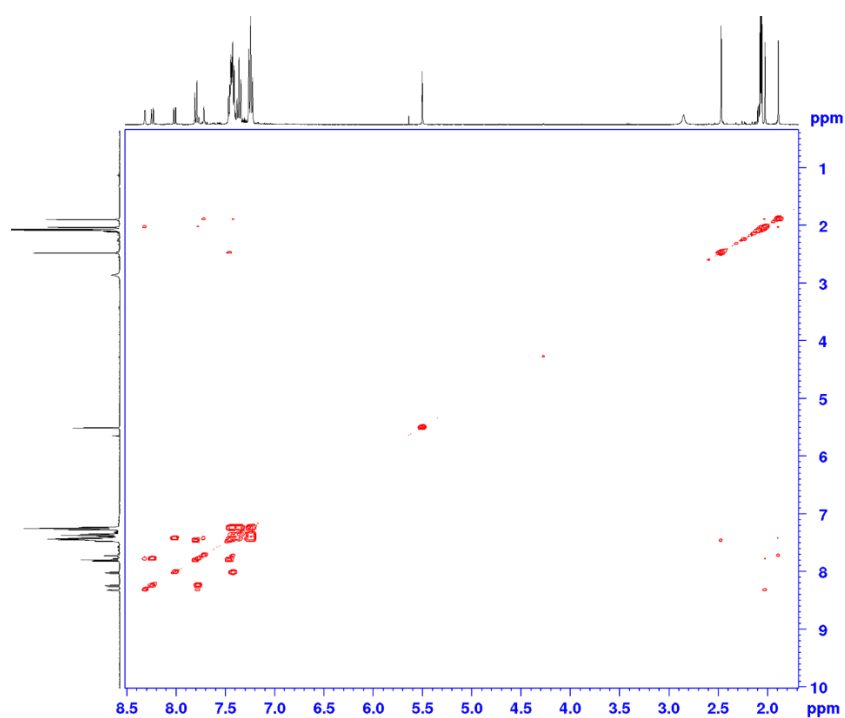


FIGURA 4.30 - Experimento ^1H - ^1H COSY do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**5b**), em acetona- d_6 .

Para os compostos **5b-8b** nota-se que na região dos prótons alifáticos ocorre apenas a presença dos sinais referente ao grupo metila do ligante Tol e dos grupos metilas dos ligantes 44bipy e 55bipy, já que a fosfina usada neste composto (PPh₃) não apresenta grupos -CH₂- como a dppb. Os espectros de ¹H e os experimentos ¹H-¹H COSY para o composto **5b** são apresentados nas FIGURA 4.29 e 4.30 e para os demais são apresentados no apêndice.

4.3.4.3 – Ressonância magnética nuclear de carbono RMN - ¹³C, HSQC, DEPT-135, HSQC e HMBC.

Os dados de RMN ¹³C, DEPT-135, HSQC e HMBC para o composto [Ru(dppb)(bipy)₂](ClO₄)₂ (**1a**), são apresentados nas FIGURAS FIGURA 4.31-4.33 e para os compostos **2a-5b**, são apresentados no apêndice.

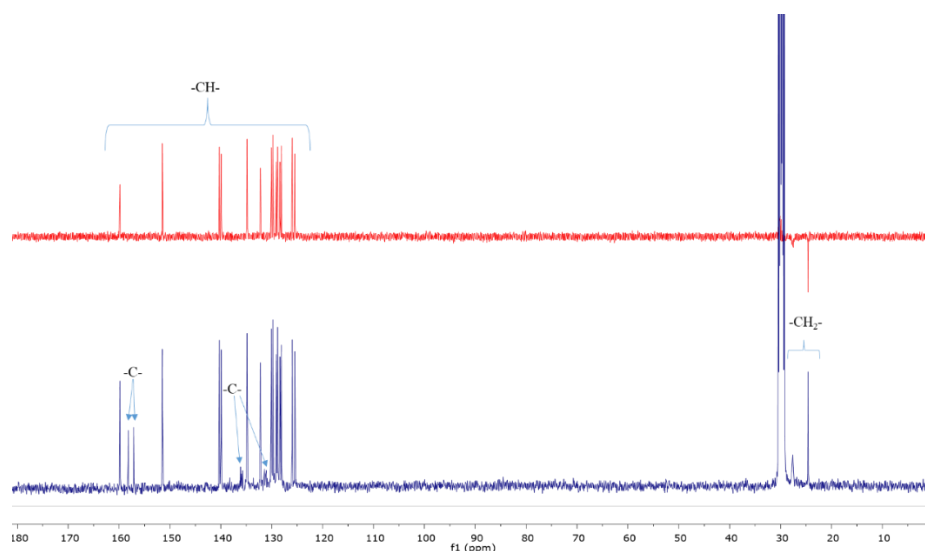


FIGURA 4.31 - Espectro de RMN de ¹³C{¹H} e DEPT-135 do composto [Ru(dppb)(bipy)₂](ClO₄)₂, em acetona-*d*₆.

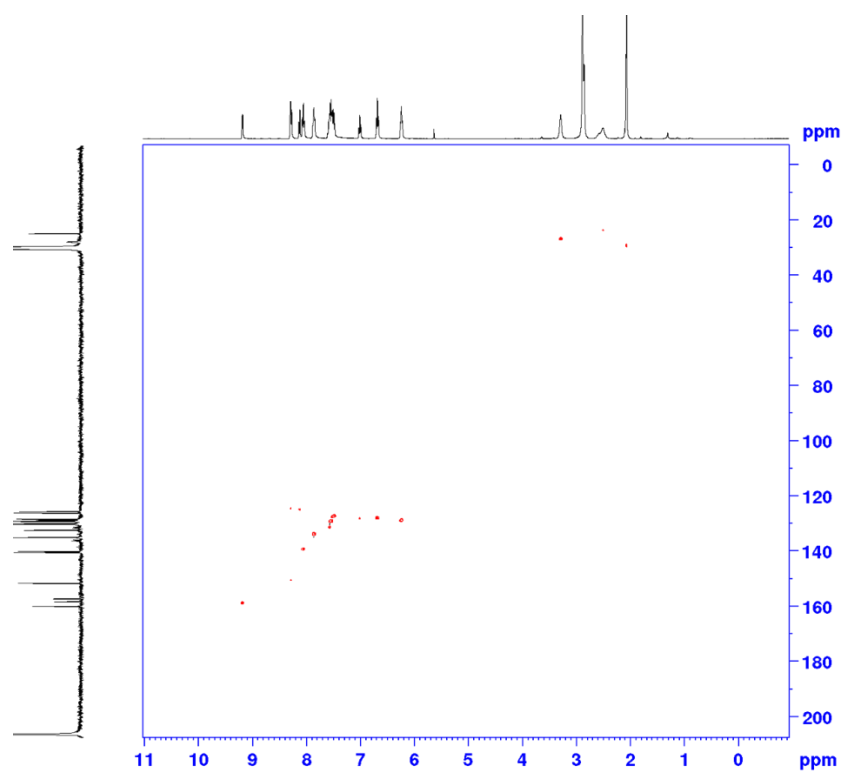


FIGURA 4.32 - Experimento ^1H - ^{13}C HSQC do composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**), em acetona- d_6 .

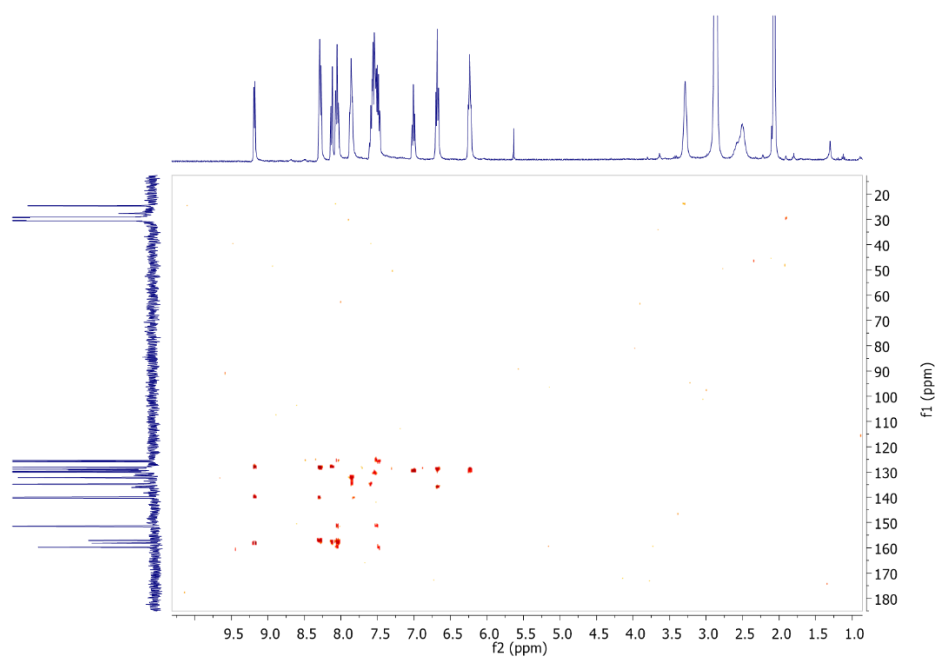


FIGURA 4.33 - Experimento ^1H - ^{13}C HMBC do composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**), em acetona- d_6 .

Para os compostos de **1a-5a** os espectros permitiram a atribuição de uma grande quantidade de sinais, sendo que os dados mais relevantes são apresentados no apêndice. Para a série 1, os dados obtidos para os RMN de ^1H nos fornecem informações mais relevantes e desta forma nosso estudo se concentrou nos experimentos 1D e 2D de próton.

Para o composto **6a**, sua caracterização já é reportada na literatura e são apresentados os espectros de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, DEPT-135, HSQC e HMBC no apêndice. A caracterização por RMN foi usada apenas para confirmação da sua estrutura e pureza.

Para o ligante Tol e seus complexos da série 2, os dados de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ são mais informativos que para a série 1, pois verifica-se a presença de dois sinais que são característicos deste ligante com δ de 61,49 e 165,61, atribuídos aos carbonos $-\text{CH}_2-$ (**81**) e $\text{R}-\text{N}\equiv\text{C}$: (**91**) (FIGURAS 4.34 e 4.35). Nestes casos, são facilmente avaliados antes e após sua coordenação, pois são regiões onde não encontramos sinais nos precursores usados neste trabalho.

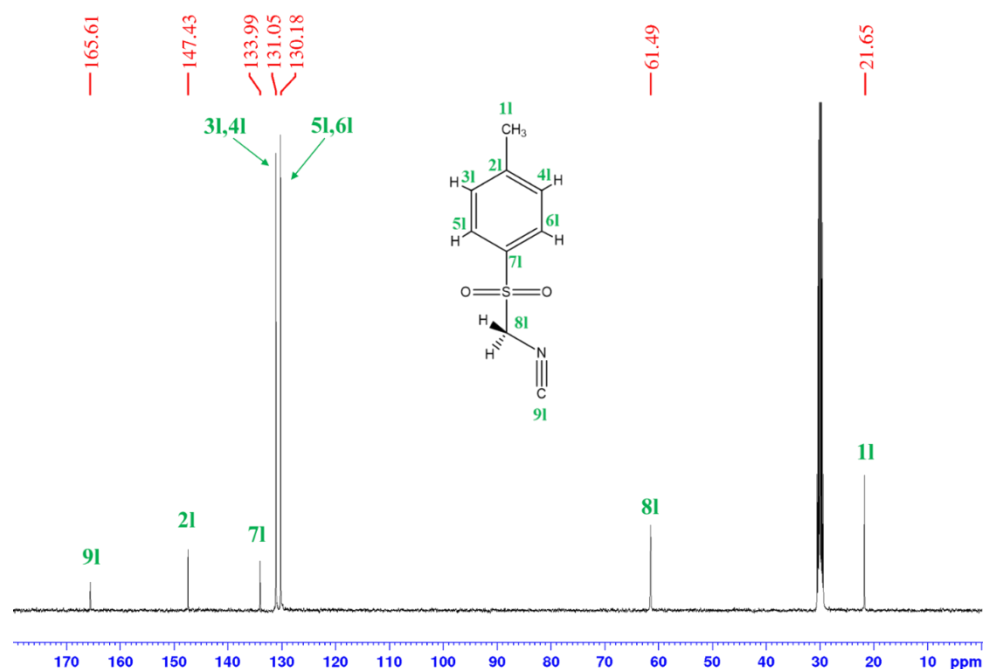


FIGURA 4.34 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do ligante Tol, em acetona- d_6 .

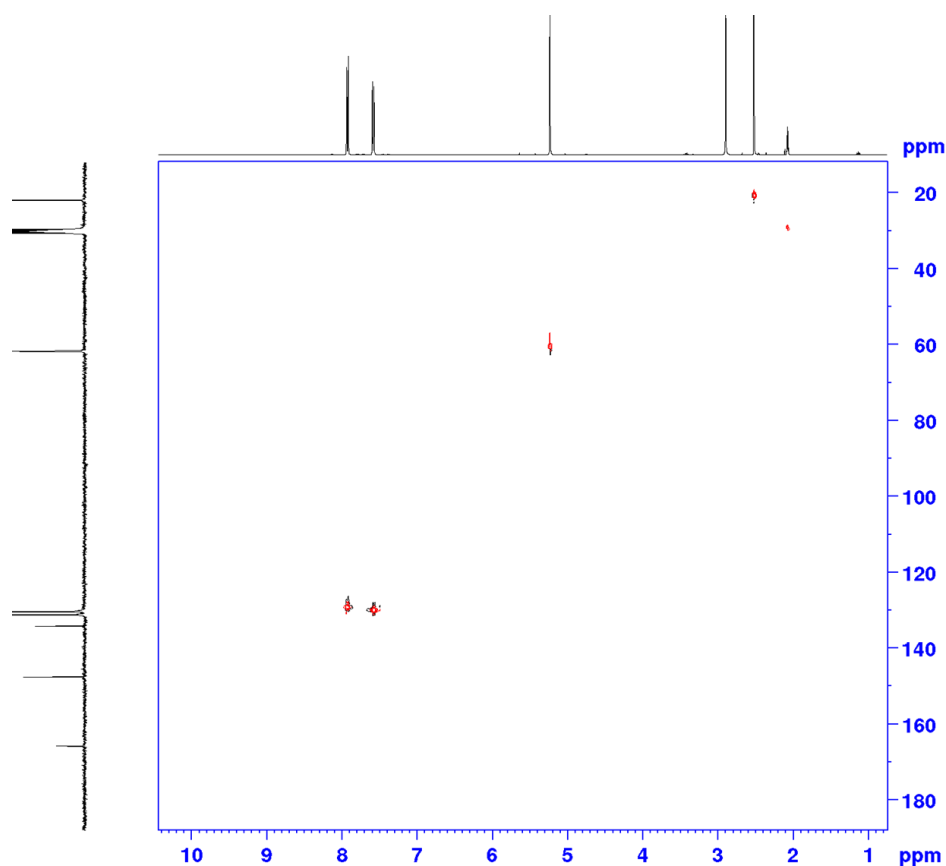


FIGURA 4.35 - Experimento de HSQC do ligante Tol, em acetona- d_6 .

Para os compostos **1b-8b** observa-se a presença dos principais grupos como isonitrila, metila e metileno do ligante Tol, e os sinais dos grupos metilas dos ligantes diimínicos 44bipy e 55bipy presentes na estrutura dos compostos, sendo desta forma mais evidente na obtenção dos compostos. Os espectros de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, HSQC e HMBC são apresentados nas FIGURAS 4.36, 4.37 e no apêndice e os principais dados mostrados na TABELA 4.13.

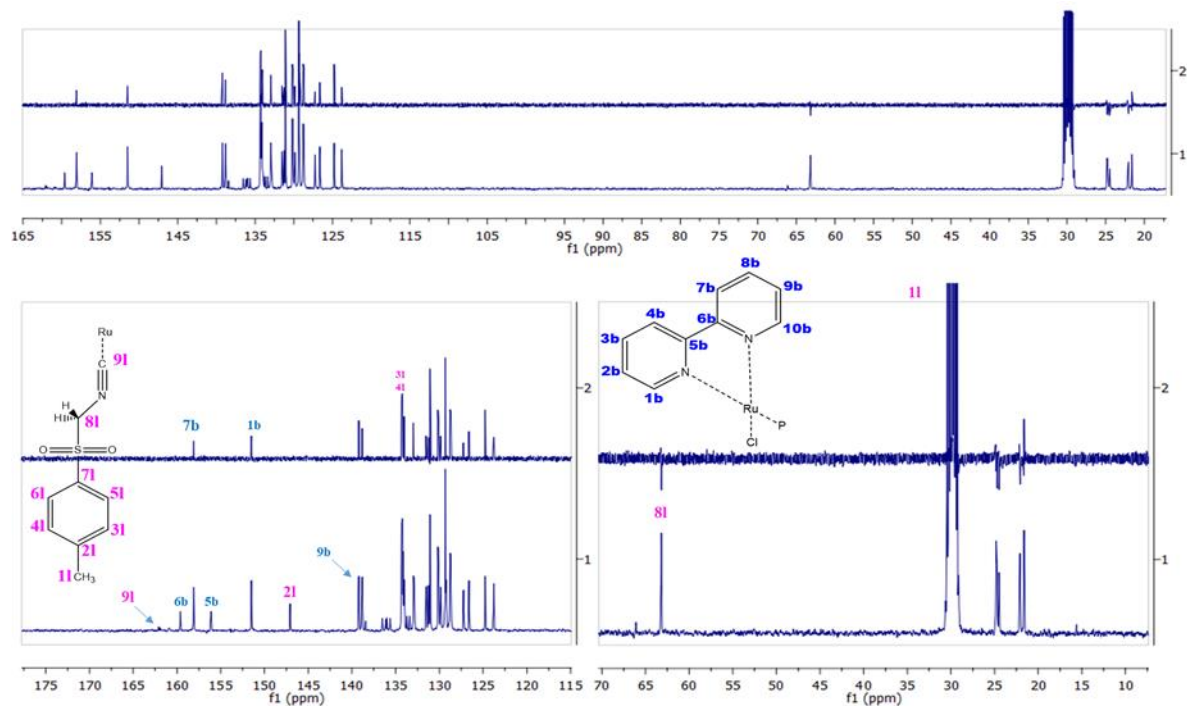


FIGURA 4.36 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e experimento DEPT-135 do complexo $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**1b**), em $\text{acetone-}d_6$.

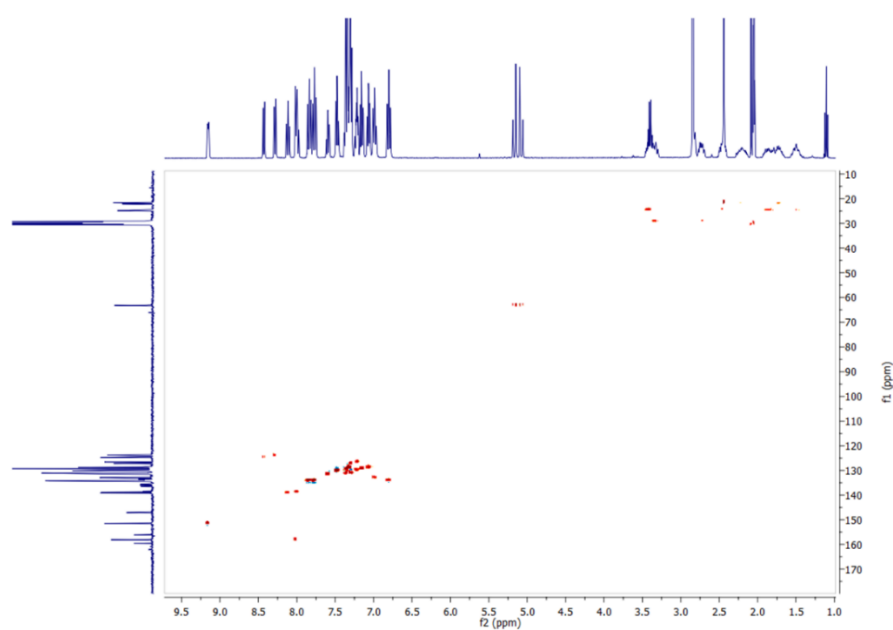


FIGURA 4.37 - Experimento de HMBC do composto $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**1b**), em $\text{acetone-}d_6$.

TABELA 4.13 – Atribuição dos deslocamentos químicos para os sinais referentes aos carbonos do grupo isonitrila ($\text{:C}\equiv\text{N-}$), metileno ($\text{-CH}_2\text{-}$), metila (-CH_3) do ligante Tol e dos ligantes diimínicos para os compostos **1b-8b**, em acetona- d_6 .

Composto	δ (ppm)			
	$\text{C}\equiv\text{N-}$	$\text{-CH}_2\text{-}$	-CH_3 (Tol)	-CH_3 diimínico
Ligante Tol	165,61	61,49	21,65	---
[RuCl(dppb)(bipy)(Tol)]PF ₆ 1b	162,03	63,19	21,61	---
[RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF ₆ 2b	161,98	63,23	21,55	---
[RuCl(dppb)(44bipy)(Tol)]PF ₆ 3b	161,68	63,29	21,64	20,79; 20,98
[RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF ₆ 4b	162,77	63,33	21,61	18,63; 19,02
[RuCl(PPh ₃) ₂ (bipy)(Tol)]PF ₆ 5b	174,97	65,15	21,73	---
[RuCl(PPh ₃) ₂ (phen)(Tol)]PF ₆ 6b	174,73	65,16	21,68	---
[RuCl(PPh ₃) ₂ (44bipy)(Tol)]PF ₆ 7b	175,89	65,09	21,67	20,59; 21,08
[RuCl(PPh ₃) ₂ (55bipy)(Tol)]PF ₆ 8b	174,59	65,19	21,66	18,78; 18,85

A principal evidência fornecida pelos experimentos de ressonância magnética nuclear de carbono para os complexos desta série sintetizados neste trabalho, é o deslocamento do carbono do grupo isonitrila, que quando coordenado nos compostos **1b-4b** e **5b-8b** são deslocados para campo mais baixo quando comparados com o ligante livre. Todos os espectros obtidos para os compostos **1b-8b** são mostrados no apêndice.

Essa diferença no comportamento no deslocamento do grupo isonitrila pode ser explicado pelo fato de que nos compostos **1b-4b** o ligante Tol é coordenado ao centro metálico (Ru^{2+}) na posição *trans* a um átomo de fósforo da dppb, já para os compostos **5b-8b** o ligante Tol é coordenado na posição *trans*

aos nitrogênios dos ligantes diimínicos, que é um ligante π -aceptor mais fraco que o ligante dppb.

4.3.5 – Difração de raios X de monocristal

A difração de raios-X de monocristal é uma poderosa ferramenta na elucidação estrutural de compostos, tanto orgânicos quanto inorgânicos. Foram obtidos os monocristais para compostos **1a**, **2a**, **5a**, **2b**, **5b** e **7b**, as representações ORTEP são apresentadas nas FIGURAS FIGURA 4.38-4.41 e 4.45-4.47. Os dados cristalográficos mais importantes são mostrados nas TABELAS TABELA 4.14 e TABELA 4.16, e os comprimentos de ligação selecionados nas TABELA 4.14 e 4.16.

A estrutura do precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)],¹⁴⁷ foi usada para comparação com os compostos **1a**, **2a** e **5a**, sendo mostrada na FIGURA 4.38.

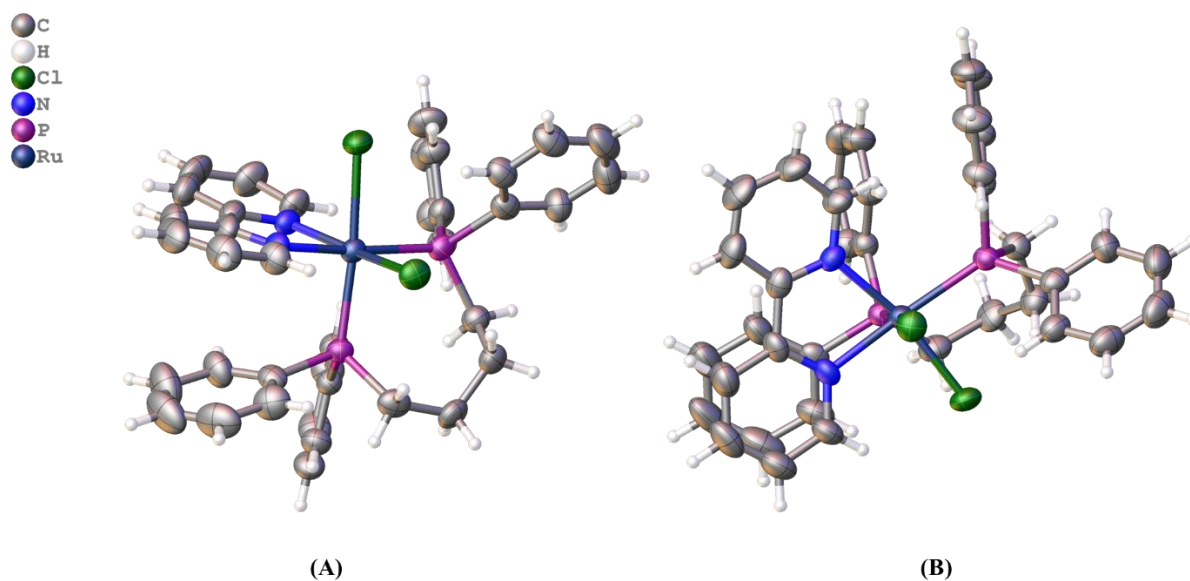


FIGURA 4.38 - Estrutura obtida por difração de raios-X do precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)], elipsoides com 30% de probabilidade.

Os cristais usados para o experimento de difração de raios-X foram obtidos de uma solução concentrada, de CH₂Cl₂/CH₃OH 1:1 (V/V) por difusão de éter ou por evaporação lenta de solvente. A estrutura do precursor apresenta uma interação π -stacking do tipo “face-off”, onde apenas uma fenila da dppb está em

uma posição acima de um dos anéis aromáticos do ligante bipy e as outras fenilas não apresentam interações π .

Para os compostos da primeira série **1a**, **2a** e **5a**, as análises de difração de raios-X confirmam as estruturas propostas para os complexos, sugeridas por RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, mostrando a substituição dos dois átomos de cloro do precursor por um ligante diimínico obtendo assim compostos com dois ligantes do tipo diimínas e um ligante dppb, apresentando dois contra-íons perclorato, em uma geometria octaédrica distorcida. Os dados da coleta dos cristais e os parâmetros dos refinamentos são mostrados na TABELA 4.13, os comprimentos de ligação e ângulos ao redor do átomo de rutênio são mostrados na TABELA 4.14.

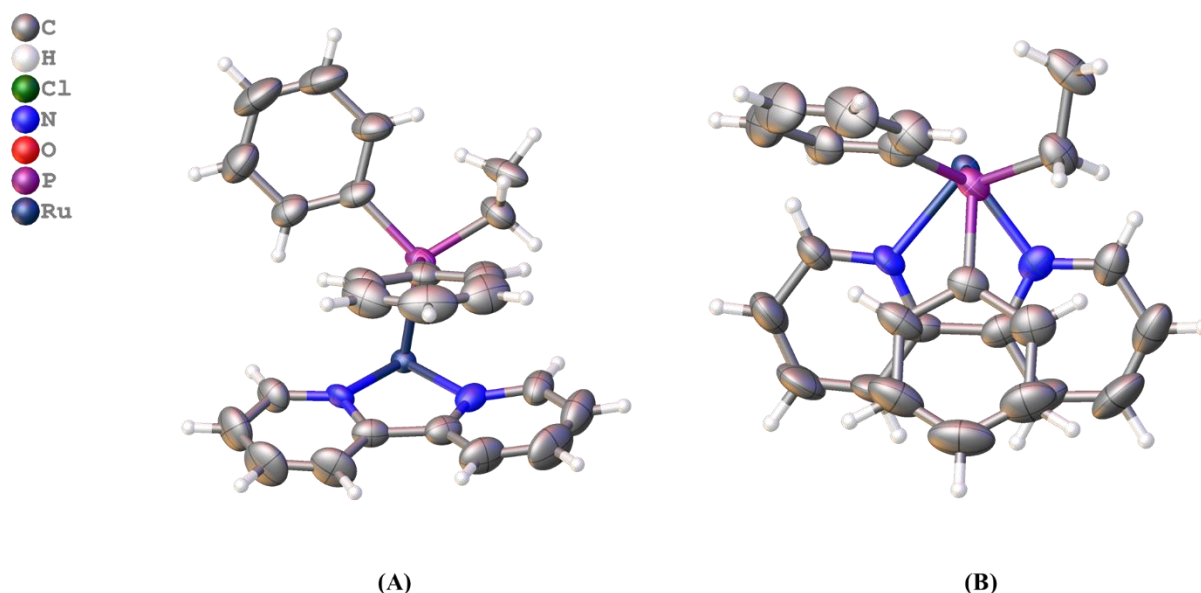


FIGURA 4.39 - Estrutura obtida por difração de raios-X do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$, (A) vista frontal e (B) vista por cima, elipsoides com 30% de probabilidade.

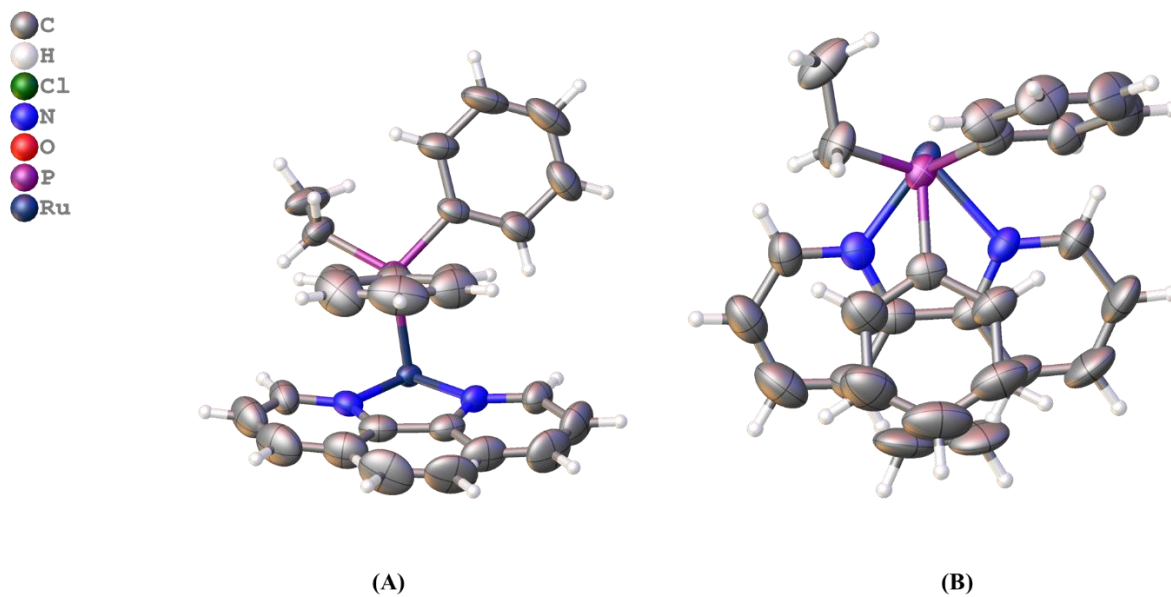


FIGURA 4.40 - Estrutura obtida por difração de raios-X do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{phen})](\text{ClO}_4)_2$, elipsoides com 30% de probabilidade.

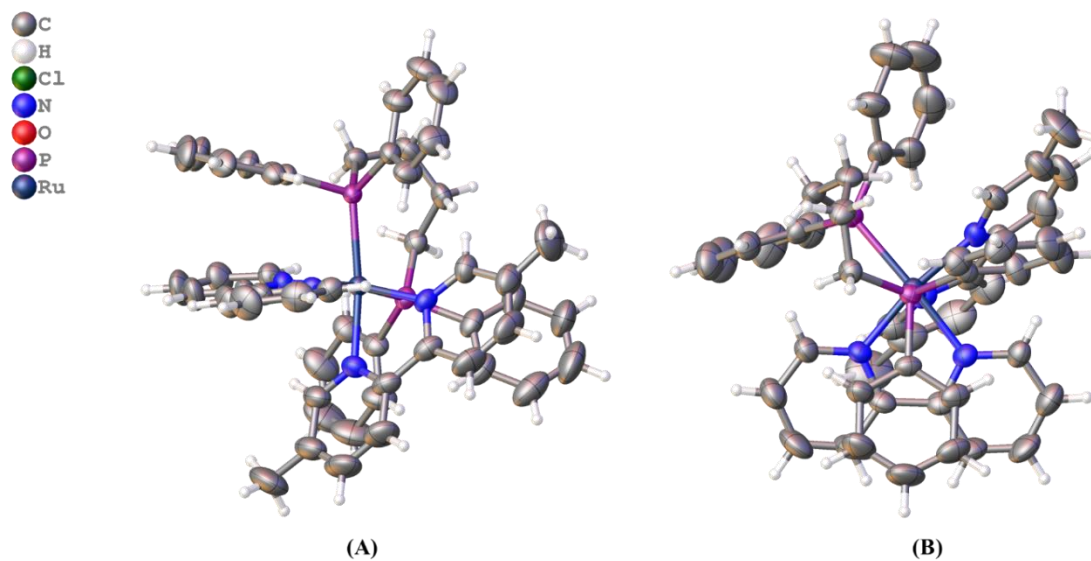


FIGURA 4.41 - Estrutura obtida por difração de raios-X do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(55\text{bipy})](\text{ClO}_4)_2$, elipsoides com 30% de probabilidade.

Os compostos $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**) e $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{phen})](\text{ClO}_4)_2$ (**2a**) cristalizaram em um grupo espacial centrossimétrico ortorrômbico $Pnna$, onde somente metade da molécula é

apresentada devido ao plano de simetria, já o composto [Ru(dppb)(bipy)(55bipy)](ClO₄)₂ (**5a**) se cristalizou em um grupo espacial centrossimétrico triclínico P/1 com uma molécula por unidade assimétrica. A análise cristalográfica mostra que os comprimentos de ligação Ru-P para os compostos **1a** e **2a** são praticamente idênticos com 2,36 Å, para as ligações Ru-N dos ligantes diimínicos para **1a** são 2,121 (P-Ru-N) e 2,095 (N-Ru-N) Å. Para o composto **2a** os valores apresentam-se um pouco maior, sendo 2,126 e 2,099 Å. Podemos verificar que os comprimentos de ligação Ru-P são muito próximos nos dois compostos.

Para o composto **5a**, o comprimento da ligação Ru-P1, que é o fósforo *trans* ao N_{55bipy} é 2,385 Å, e o comprimento de ligação Ru-P2 *trans* ao N_{bipy} é 2,368 Å, já os comprimentos de ligação Ru-N_{bipy} e Ru-N_{55bipy} é de 2,083 Å e Ru-N_{bipy} *trans* a fósforo é 2,122 Å e para Ru-N_{55bipy} *trans* a P é 2,111 Å e Ru-N_{55bipy} *trans* a N_{bipy} é 2,079 Å.

TABELA 4.14 - Dados cristalográficos e refinamento para **1a**, **2a** e **5a**.

	1a	2a	5a
Fórmula	C ₂₅ H _{24,5} Cl ₃ N ₂ O _{4,5} PRu _{0,5}	C ₂₆ H ₂₄ Cl ₃ N ₂ O ₄ PRu _{0,5}	C ₅₁ N ₅ O ₈ P ₂ Cl ₂ RuH ₄₀
Sistema cristalino	ortorrômbico	ortorrômbico	triclínico
Grupo espacial	Pnna	Pnna	P-1
a/Å	14.0507(4)	14.2563(7)	11.5493(3)
b/Å	20.6304(7)	20.7842(10)	12.1628(3)
c/Å	18.3285(5)	18.4436(10)	20.1557(5)
α/°	90	90	102.8420(10)
β/°	90	90	91.6050(10)
γ/°	90	90	112.0490(10)
Volume/Å ³	5312.9(3)	5464.9(5)	2539.06(11)
Z	8	8	2
μ/mm ⁻¹	0.716	0.695	0.534
2θ range/°	3.652 to 52.872	2.952 to 52.802	2.088 to 52.882
Reflexões coletadas	62807	39374	33834
Reflexões indep.	5468	5603	10418
R _{int}	0.0509	0.0660	0.0390
R ₁ ^a	0.0623	0.0646	0.0551
WR2	0.1669	0.1826	0.1527

TABELA 4.15 - Comprimentos de ligação (Å) e ângulos (°) selecionados das estruturas **1a**, **2a**, **5a** e precursor.

Ligação (Å)	1a	2a	5a	Precursor
Ru-N1	2,099	2,095	2,083	2,097
Ru-N2	2,126	2,121	2,122	2,088
Ru-P1	2,360	2,360	2,368 _(trans bipy)	2,279
Ru-P2	2,360	2,360	2,328 _(trans 55bipy)	2,331
Ru-N1 _{55bipy}	---	---	2,079	---
Ru-N2 _{55bipy}	---	---	2,111	---
Angle (°)				
N _{bipy} -Ru-N _{bipy}	76,93	78,65	77,81	76,89
N _{bipy} -Ru-P	90,73	90,98	89,72	91,06
N _{lig} -Ru-N _{lig}	76,93	78,65	77,85	---
P1-Ru-P2	98,25	98,69	99,07	93,82

Analisou-se os dados obtidos com o software Platon sugerindo a existência de interações do tipo π -stacking tanto no precursor, quanto nos complexos analisados, porém o grupamento fenila do precursor encontra-se em uma posição diferente da posição ocupada nos complexos. O grupo fenila no precursor é direcionado para apenas um anel aromático da bipy, sendo o tipo de π -stacking relatado para compostos com fosfinas e diiminas, já para os compostos **1a**, **2a** e **5a** o grupo fenila é localizado sobreposto ao ligante bipy, havendo interação com os dois anéis da diimina.

Observa-se que nos compostos com interação do tipo “parallel-offset” ocorre a diferenciação dos grupos fenilas observado na região de acoplamento II nos experimentos de COSY. Pode-se assim inferir que a diferenciação observada está relacionada a este tipo de interação, sendo que este efeito é gerado pela influência de efeitos estéricos que agem sobre a fosfina depois

da entrada do segundo ligante diimínico na estrutura, sendo as diimínas mais volumosas que os dois ligantes cloros na esfera de coordenação octaédrica, onde a fosfina através da mobilidade dos grupos $-CH_2-$ da dppb, força os grupos fenila para a posição próxima ao meio dos ligantes diimínicos, onde a corrente de anel é mais evidente, o que causa a blindagem dos prótons presentes na fenila.

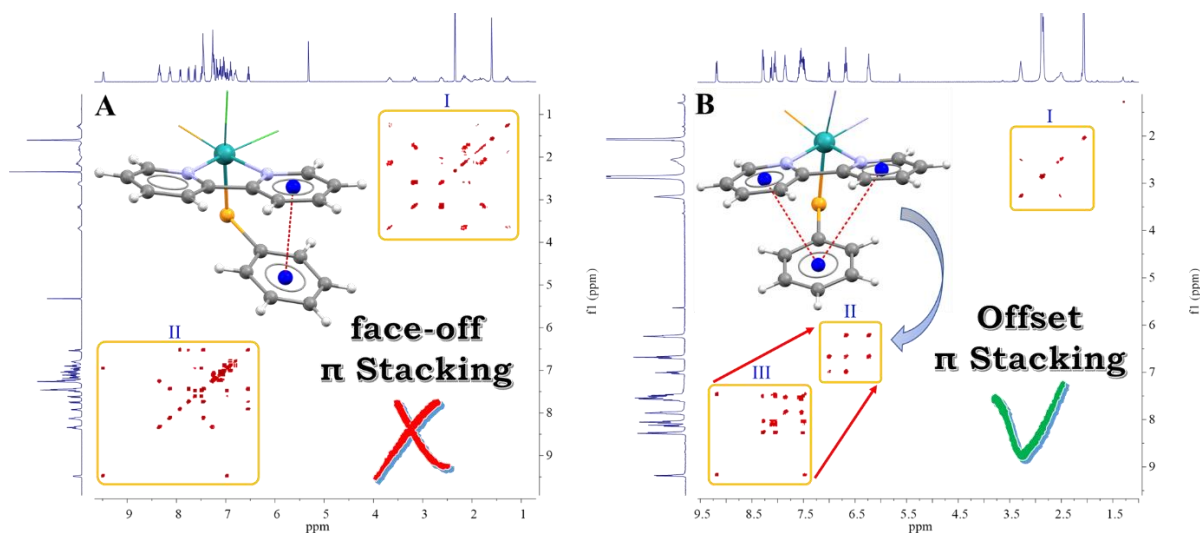


FIGURA 4.42 - Diferenciação dos tipos de interações $\pi-\pi$ entre *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)] (A) e o complexo [Ru(dppb)(bipy)₂](ClO₄)₂ (B).

A FIGURA 4.43 mostra que as distâncias calculadas para os centroides são iguais a 3,669 Å, 3,746 Å para **1a** e **2a**, respectivamente. Para o composto **5a** são 3,746 Å (fenila --- bipy) e 3,917 Å (fenila --- 55bipy), sendo que esta análise confirma que somente dois grupamentos fenila da dppb apresentam interação do tipo π -stacking. As interações $\pi-\pi$ tem centroides na faixa de 3,7 Å, maior que a soma de raios de van der Waals que é 3,5 Å para carbonos,¹⁴⁸ indicando que estas interações são forças principalmente dispersivas, mas também ocorre a contribuição eletrostática como mostrado na FIGURA 4.44.

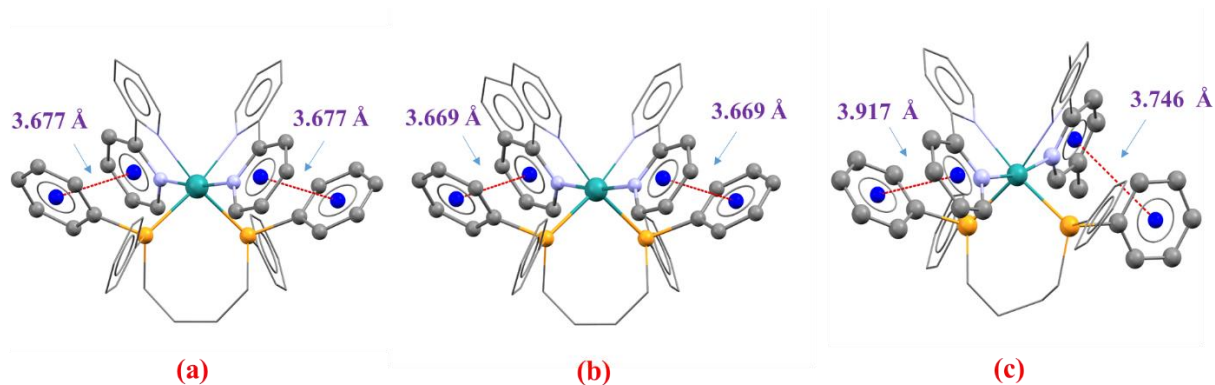


FIGURA 4.43 - Detalhes das interações π - π intramolecular nos complexos $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (a), $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{phen})](\text{ClO}_4)_2$ (b) e $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{phen})](\text{ClO}_4)_2$ (c).

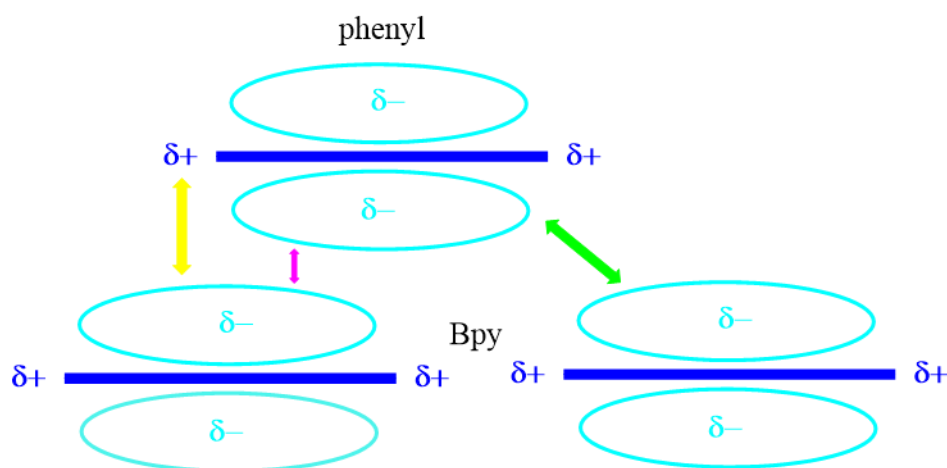


FIGURA 4.44 - Representação da interação entre os grupos fenilas da fosfina em posição paralela “offset” com os ligantes aromáticos diimínicos, a seta amarela representa atração entre região pobre em elétrons da fenila e a região rica em elétrons da diimína. A seta rosa representa a repulsão entre os ligantes e a região dos orbitais representada em azul claro.

O tipo de interação verificada nas estruturas cristalinas é consistente com a proposta por RMN do campo diamagnético anisotrópico secundário gerado por elétrons π dos ligantes diimínicos, justificando o surgimento da região de acoplamento II nos experimentos de COSY. Complexos contendo π -stacking em complexos com fosfinas e diimínas já foram reportados na literatura, porém é o primeiro trabalho que relata a observação desse tipo de interação por experimentos de RMN. Os dados cristalográficos para **1a**, **2a** e **5a** mostram que

os grupos diimínicos e os grupos fenilas tem arranjo espacial concordante com os dados de NOESY, mostrando a grande proximidade dos grupos fenilas e diimínicos, típicos de forças intramoleculares (π - π), observados tanto em solução como em estado sólido.

Para os compostos da série 2, como sugerido pelas demais técnicas de caracterização, os compostos apresentam geometria octaédrica e carga +1 devido a substituição de apenas um ligante cloro. Para o composto **2b** a substituição ocorre no cloro que ocupa a posição *trans* ao fósforo devido ao efeito *trans* que torna este cloro mais lábil que o cloro *trans* ao nitrogênio, como mostrado na FIGURA 4.45. A estrutura já havia sido proposta por RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, foi agora confirmada por cristalografia de raios-X.

O composto **2b** que apresenta dois ligantes bidentados, sendo uma fenantrolina e uma dppb, além de dois ligantes monodentados Tol e cloro, cristalizando em um grupo espacial não-centrossimétrico ortorrômbico $P2_12_12_1$, já os compostos **5b** e **7b**, apresentam os ligantes bidentados bipy e 44bipy, respectivamente, além de duas monofosfinas (PPh_3) cada, o ligante Tol e cloro na esfera de coordenação. O composto **5b** cristalizou em um grupo espacial centrossimétrico triclínico $P/1$ e o complexo **7b** cristalizou em um grupo espacial monoclínico $P2_1/c$.

Para os compostos **2b**, **5b** e **7b** como evidenciado pelas técnicas anteriores, houve a substituição de apenas um ligante cloro por um ligante Tol, porém com uma diferença estrutural significativa, onde no complexo **2b** o ligante Tol coordena na posição *trans* ao átomo de fósforo do ligante dppb, já para **5b** e **7b** a posição ocupada pelo ligante Tol é *trans* ao nitrogênio do ligante diimínicos, com os dois ligantes PPh_3 em posição *trans* um em relação ao outro, como mostra as FIGURAS 4.46 e 4.47.

Para os compostos **2b**, **5b** e **7b** os comprimentos de ligação Ru-C entre o centro metálico e o ligante Tol foram de 1,946, 1,900 e 1,897 Å, respectivamente. Esses dados para ligação Ru-C estão de acordo para os comprimentos de ligação esperados para este tipo de organometálico observados para compostos de rutênio na CCDC.

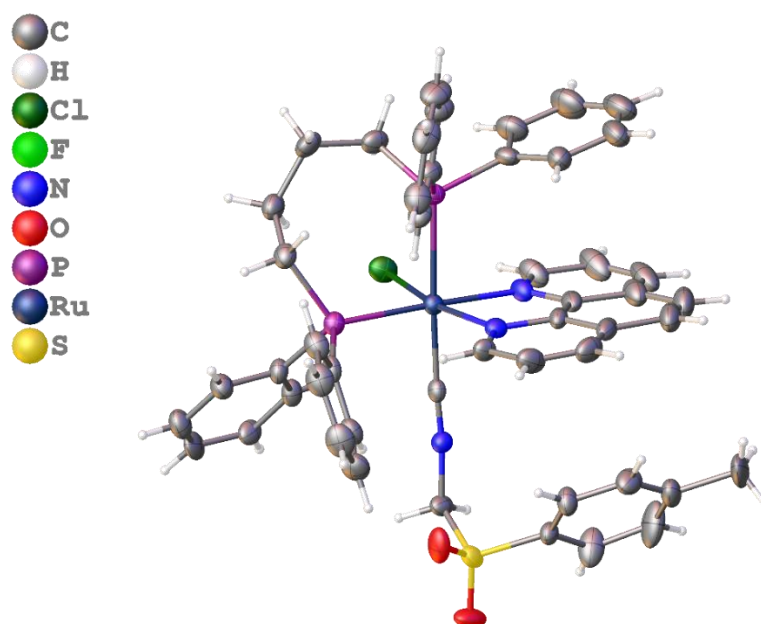


FIGURA 4.45 - Estrutura cristalina do complexo $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{phen})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**2b**), onde o PF_6^- foi omitido para melhor visualização, elipsóides com 30% de probabilidade.

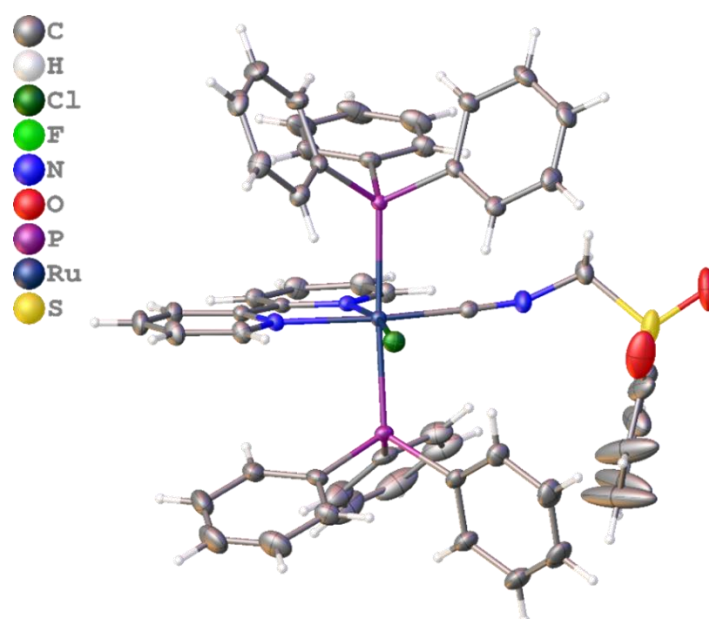


FIGURA 4.46 - Estrutura cristalina do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**5b**), onde o PF_6^- foi omitido para melhor visualização, elipsoides com 30% de probabilidade.

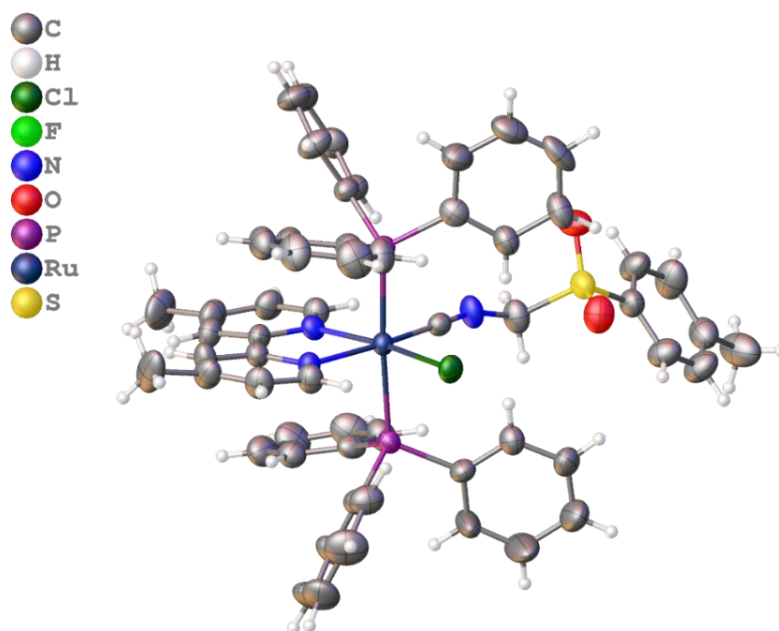


FIGURA 4.47 - Estrutura cristalina do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**7b**), onde o PF_6^- foi omitido para melhor visualização, elipsoides com 30% de probabilidade.

TABELA 4.16 - Dados cristalográficos e refinamento para complexos [RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF₆ (**2b**), [RuCl(PPh₃)₂(bipy)(Tol)]PF₆ (**5b**) e [RuCl(PPh₃)₂(44bipy)(Tol)]PF₆ (**7b**).

	2b	5b	7b
Fórmula	C ₅₂ H ₅₁ ClF ₅ N ₃ O ₃ P ₃ RuS	C ₁₁₁ H ₉₇ Cl ₂ F ₁₂ N ₆ O ₅ P ₆ Ru ₂ S ₂	C _{28.75} H _{25.5} ClF _{1.75} N _{1.5} OP _{1.5} Ru _{0.5} S _{0.5}
Sistema cristalino	Ortorrômbico	Triclínico	Monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁	P-1	P2 ₁ /c
a/Å	10.5330(2)	12.4404(8)	12.3070(5)
b/Å	19.1710(4)	20.0886(12)	22.2600(7)
c/Å	25.3910(6)	24.5036(14)	21.8930(5)
α/°	90	108.779(2)	90
β/°	90	97.326(2)	95.9400(19)
γ/°	90	107.538(2)	90
Volume/Å ³	5127.16(19)	5354.5(6)	5965.5(3)
Z	4	2	4
μ/mm ⁻¹	0.556	0.538	0.520
2θ range/°	5.966 to 52.028	3.428 to 52.908	5.166 to 52.754
Reflexões col.	9990	203284	58429
Reflexões indep.	9990	22028	12109
R _{int}	0.0509	0.0297	0.0567
R ₁ ^a	0.0952	0.0512	0.0407
WR2	0.1430	0.1264	0.1518

Tabela 4.17 - Comprimentos de ligação (Å) e ângulos (°) selecionados das estruturas [RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF₆ (**2b**), [RuCl(PPh₃)₂(bipy)(Tol)]PF₆ (**5b**) e [RuCl(PPh₃)₂(44bipy)(Tol)]PF₆ (**7b**).

Ligação (Å)	2b	5b	6b
Ru-N1	2.121(7)	2.068(2)	2.077(4)
Ru-N2	2.134(7)	2.137(2)	2.136(4)
Ru-P1	2.340(2)	2.394(7)	2.408(13)
Ru-P2	2.452(2)	2.416(7)	2.410(13)
Ru-C	1.946(9)	1.900(3)	1.897(5)
Ru-Cl	2.412(2)	2.425(7)	2.428(12)
Angle (°)			
N ₁ -Ru-N ₂	78.10(3)	78.03(9)	77.70(15)
P ₁ -Ru-P ₂	93.40(8)	177.05(3)	175.77(5)
Cl-Ru-C	92.40(2)	95.20(8)	96.34(15)

Desta forma a cristalografia de raios-X permitiu retirar informações de extrema importância na elucidação estrutural, além de evidenciar de forma clara os efeitos de interação π -stacking nos compostos da série 1 e sua influência no comportamento espectroscópico destes compostos.

4.3.6 – Cálculos teóricos

O estudo teórico foi realizado apenas para *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)] e **1a-5a**, de forma a avaliar os deslocamentos químicos teóricos no RMN dos H dos grupos fenila. Este estudo permitiu avaliar se os efeitos eletrônicos e estéricos observados experimentalmente podem ser observados por métodos de cálculos por DFT.

Desta forma, foram otimizadas as estruturas do precursor e dos compostos **1a-5a** a partir das coordenadas cristalográficas (quando disponível). As otimizações foram confirmadas através da ausência de frequências imaginárias

para todas as estruturas. A sobreposição das estruturas dos complexos otimizados e das estruturas cristalográficas para $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**), $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{phen})](\text{ClO}_4)_2$ (**2a**) e $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(55\text{bipy})](\text{ClO}_4)_2$ (**5a**) são mostradas na FIGURA 4.48 e a comparação entre comprimentos de ligações experimentais e teóricos selecionados são mostrados na TABELA 4.18.

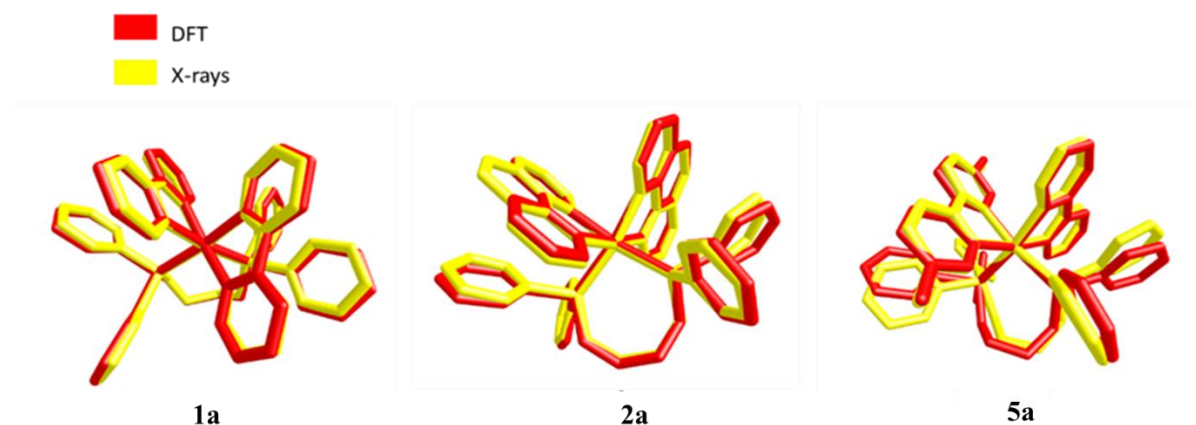


FIGURA 4.48 - Sobreposição das estruturas cristalográficas (em amarelo) e calculadas por DFT (em vermelho) para os complexos **1a**, **2a** e **5a**.

TABELA 4.18 - Comprimentos de ligações selecionados (Å) para os dados obtidos por difração de raios-X e calculados por DFT para os complexos **1a-5a**

Ligação	Comprimento de ligação (exp/teo)				
	1a	2a	3a	4a	5a
Ru-N1 _(trans-N)	2,099 / 2,144	2,095 / 2,154	--- / 2,144	--- / 2,147	2,083 / 2,141
Ru-N2 _(trans-P)	2,126 / 2,151	2,121 / 2,164	--- / 2,149	--- / 2,150	2,122 / 2,147
Ru-P1 _(bipy)	2,360 / 2,492	2,360 / 2,487	--- / 2,486	--- / 2,488	2,368 / 2,513
Ru-P2 _(lig)	2,360 / 2,492	2,360 / 2,482	--- / 2,486	--- / 2,494	2,385 / 2,512
Ru-N(lig-N)	2,099 / 2,144	2,095 / 2,157	--- / 2,145	--- / 2,147	2,079 / 2,158
Ru-N(lig-P)	2,126 / 2,151	2,121 / 2,164	--- / 2,151	--- / 2,153	2,111 / 2,156

Os comprimentos de ligação selecionados mostrados na TABELA 4.18, mostram a boa concordância entre dados experimentais e teóricos, sendo

que os erros relativos variam entre 2 e 5%, indicando que o nível de teoria usada foi adequada para o estudo destas estruturas.

Para as estruturas otimizadas **1a-5a** verifica-se que as distâncias entre os grupos diimínicos e fenilas, tem o mesmo padrão obtido para os cristais, evidenciando as interações π - π em todos os complexos. A FIGURA 4.49 mostra a sobreposição dos orbitais LUMO (localizado nos anéis diimínicos) e HOMO-3 (localizado nos anéis fenila) para o composto **1a** e ocorre de forma similar para os demais complexos. A indicação da presença da interação entre os anéis fenilas e anéis diimínicos, justifica a diferença de energia das fenilas com e sem π - π staking, afetando assim o deslocamento químico no RMN de ^1H .

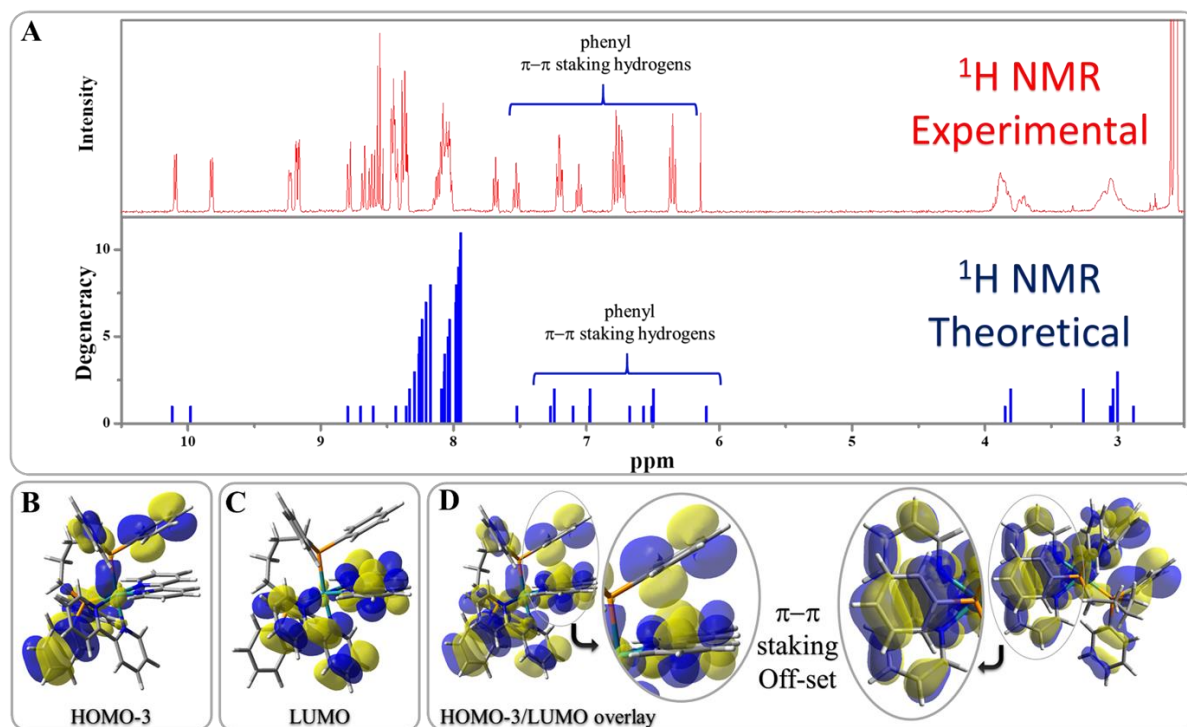


FIGURA 4.49 - Comparação entre os espectros de RMN de ^1H teórico e experimental (A), orbital HOMO-3 (B), orbital LUMO (C) e sobreposição dos orbitais HOMO-3 e LUMO evidenciando o π -stacking (D).

Os espectros de RMN ^1H teóricos calculados para o precursor e **1a-5a**, mostram-se semelhante ao obtido experimentalmente, evidenciando a separação no espectro dos sinais dos 10 H das duas fenilas em π -stacking. Na

TABELA 4.19, são apresentados os deslocamentos teóricos comparados com os dados experimentais.

Os espectros teóricos apresentam o mesmo comportamento observado experimentalmente, sendo os prótons aromáticos menos blindados, com δ calculados na faixa de 6,09 a 7,48 e no espectro experimental valores de δ na faixa de 6,15 a 7,09, encontramos os prótons referentes as fenilas em π - π stacking e todos aromáticos restantes aparecem em campo mais baixo.

TABELA 4.19 - deslocamentos químicos (δ) experimentais e teóricos para ^1H na região de 6,09 a 7,56.

1a		2a		3a		4a		5a	
Teo.	Exp.	Teo.	Exp.	Teo.	Exp.	Teo.	Exp.	Teo.	Exp.
6,49-6,64	6,15-6,25 (4H)	6,09 6,49 6,50 6,56	6,17-6,28 4H	6,49 6,51 6,61 6,74	6,16-6,32 4H	6,47 6,49 6,63 6,71	6,16-6,29 4H	6,19 6,57 6,80 6,98	6,23-6,36 4H
6,99- 7,27	6,59-6,70 (4H)	6,67 6,97 6,97 7,10	6,60-6,73 4H	6,96 6,97 7,23	6,61-6,78 4H	6,96 6,98 7,26 7,29	6,66-6,71 2H 6,71-6,78 2H	7,08 7,18 7,33 7,40	6,65-6,75 2H 6,75-6,78 2H
7,48	6,92-7,01 (2H)	7,24 7,26	6,94-7,05 2H	7,31 7,48	6,95-7,09 2H	7,36 7,45	6,97-7,08 2H	7,56 7,49	6,97-7,06 2H

Desta forma, os dados teóricos encontram-se coerentes com os dados experimentais obtidos, fornecendo uma forte evidência para a proposta do comportamento diferenciado dos H da fosfina nesse sistema, que juntamente com os dados em solução (RMN), no estado sólido (raios-X), mostram que o efeito do π - π stacking em “off-set” tem grande importância na diferenciação dos prótons da dppb em complexos com ligantes diimínicos e que provavelmente apresenta o mesmo comportamento em sistemas similares. Pretende-se assim contribuir com a compreensão do comportamento do RMN desta classe de complexos e auxiliar futuros trabalhos no conhecimento mais aprofundado dos efeitos observados por RMN.

4.4 – Avaliação do Potencial Biológico dos Complexos de Rutênio

4.4.1 – Avaliação da Interação dos Complexos com DNA

O DNA é uma biomolécula bastante estudada e de extrema importância na regulação de vários processos biológicos fundamentais. É considerada como um dos alvos de compostos inorgânicos, devido ser atribuída a esta biomolécula o mecanismo proposto para a boa atividade do fármaco cisplatina, com a qual apresenta uma interação covalente, coordenando-se as bases nitrogenadas do DNA, o que impede a replicação celular, ativando mecanismos de morte celular. Desta forma uma grande parte dos trabalhos publicados com compostos com atividade antitumoral apresentam estudos de interação dos compostos com DNA.¹⁴⁹⁻¹⁵²

Os estudos de interação com o *ct*-DNA (*calx thymus*-DNA), permitem verificar se os compostos interagem com esta biomolécula e se este pode ser um possível alvo caso os mesmos apresentem atividade.

4.4.1.1 – Viscosidade

A viscosidade é uma propriedade física que caracteriza a resistência de um fluido ao escoamento, a uma dada temperatura, de forma que quanto maior for a viscosidade, menor será a velocidade que o fluido se movimenta. O experimento aqui realizado acompanha a alteração ou não da viscosidade de uma concentração fixa de DNA, variando a concentração do complexo, sendo um experimento bastante confiável e reprodutível para evidenciar o tipo de interação com o DNA.¹⁵³

Para avaliar se ocorre interação dos complexos com o DNA foram utilizados três compostos de referência, sendo a cisplatina, que interage covalentemente com o DNA provocando diminuição na viscosidade, pois interações do tipo covalente do complexo ao grupo fosfato ou aos pares de bases leva ao rompimento das interações entre as fitas e das ligações entre os

nucleosídeos o que provoca a fragmentação do DNA, e diminuição da viscosidade da solução.^{154,155} As interações eletrostáticas, como já é relatado na literatura para o composto **6a**, não provocam alteração no perfil de viscosidade da solução de DNA pois ocorrem na superfície do DNA não levando à alteração significativa da estrutura do DNA e da viscosidade da solução.¹⁵⁶ Interações intercalativas, como ocorre com a cloroquina e brometo de etídio, ocasionam o aumento da viscosidade da solução, devido à intercalação aumentar as distâncias entre os pares de bases, o que provoca o aumento do volume do DNA e conseqüentemente a maior resistência da solução ao escoamento.¹⁵⁷

Através da comparação do comportamento da viscosidade DNA/complexo dos compostos **1a-5a** e **1b-8b** com os compostos referência [Ru(bipy)₃](PF₆)₂ (**6a**), cisplatina e cloroquina, pode-se ter indícios do modo de interação dos compostos com DNA, caso o composto seja capaz de atingir o núcleo da célula.

Construindo-se um gráfico de $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ (onde η e η_0 são as viscosidades específicas da solução de ct-DNA, na presença e ausência dos complexos, respectivamente) vs. [complexo]/[DNA] obtém-se uma curva característica do tipo de interação existente. As curvas obtidas para os compostos aqui estudados são apresentadas nas FIGURAS 4.50-4.52.

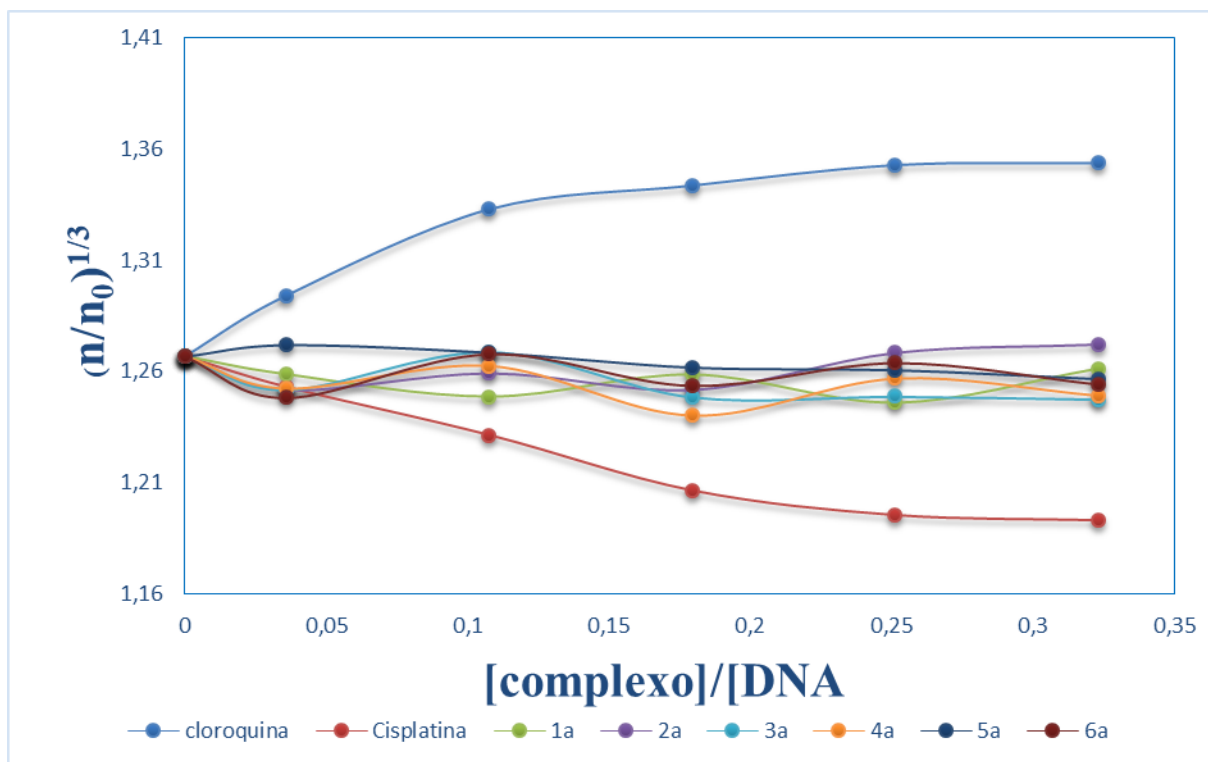


FIGURA 4.50 - Gráfico de viscosidade para complexos da série 1 (1a-6a).

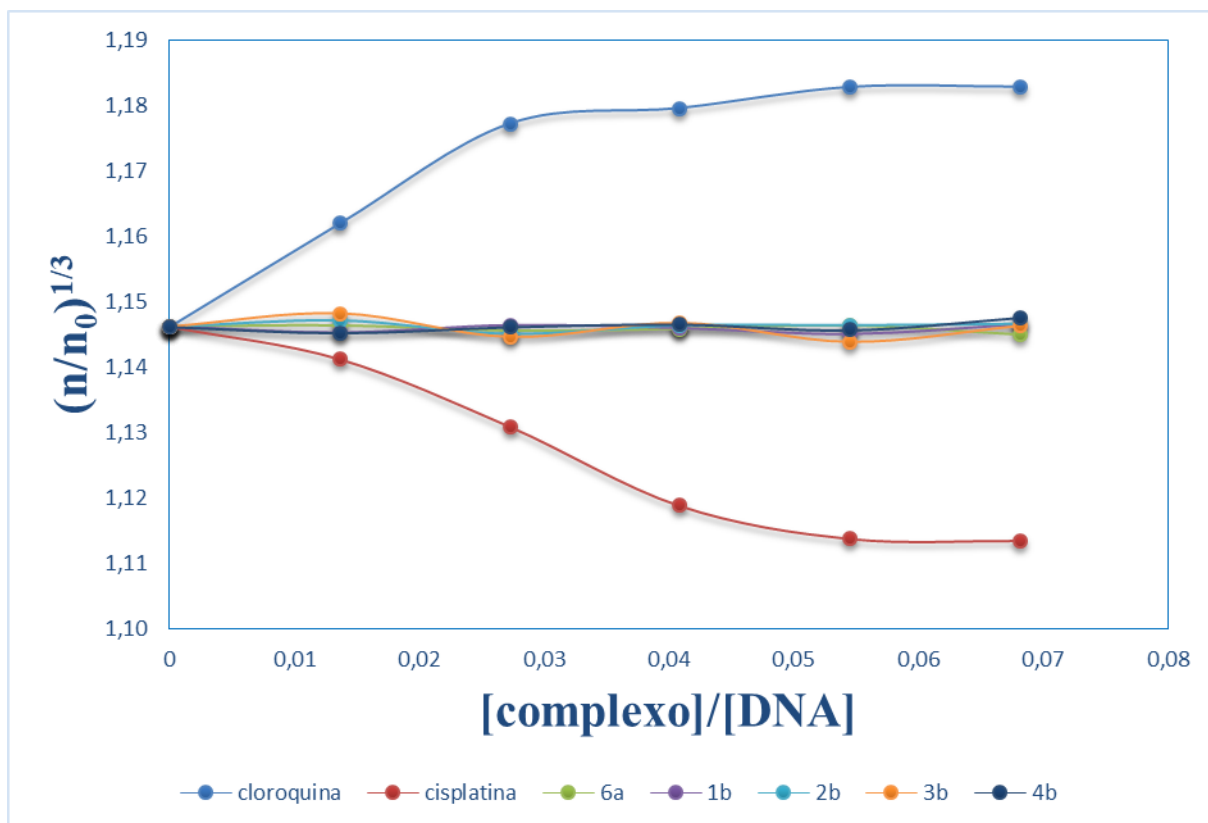


FIGURA 4.51 - Gráfico de viscosidade para complexos série 2 (1b-4b).

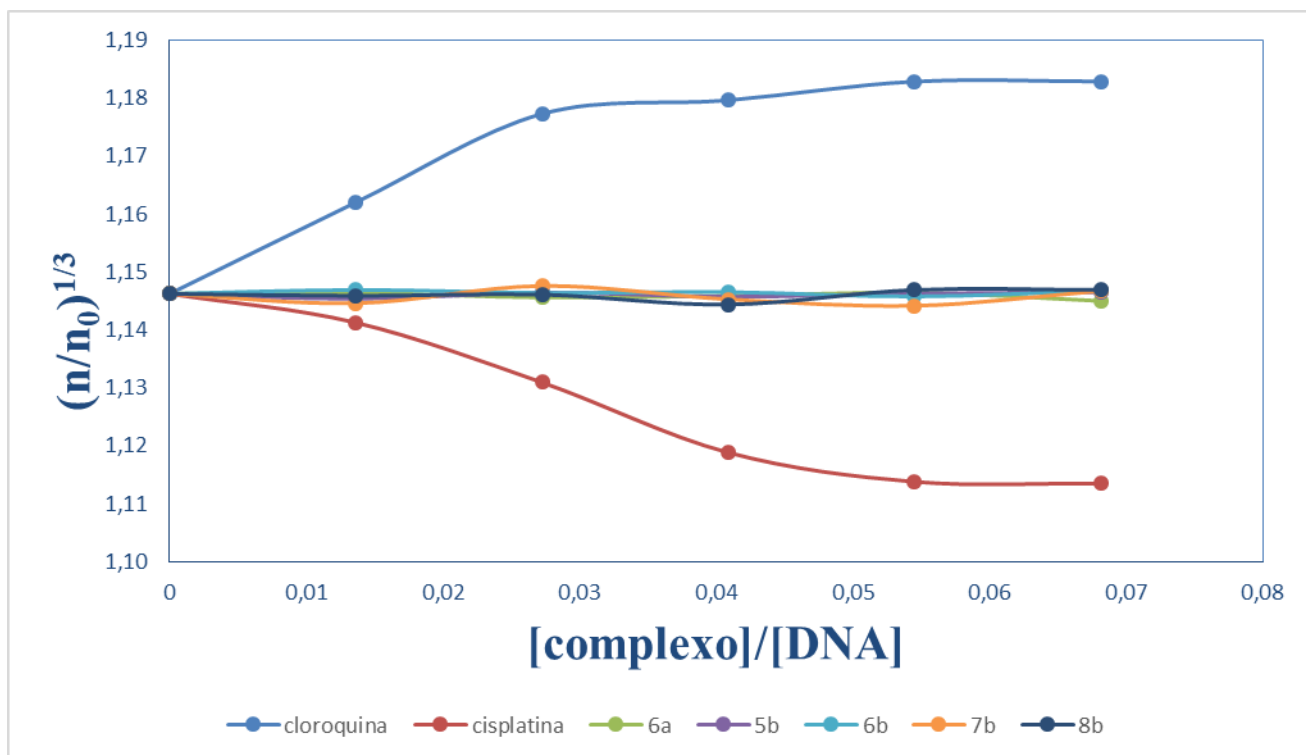


FIGURA 4.52 - Gráfico de viscosidade para complexos da série 2 (**5b-8b**).

Nos gráficos obtidos para os complexos da série 1 e série 2, observa-se uma mesma tendência nos experimentos de viscosidade, para a solução de DNA em todos os complexos seguindo o comportamento semelhante ao apresentado pelo composto de referência $[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$. Esta tendência deve-se ao modo de interação dos complexos com o DNA, onde provavelmente interações fracas como ligações de hidrogênio e eletrostáticas ou até mesmo a ausência de interação não provocam mudanças significativas na viscosidade das soluções.

4.4.2 – Avaliação da interação dos complexos com albumina soro humana (HSA).

Os estudos de interação dos compostos com albumina (HSA) têm sido bastante reportados na literatura devido a Albumina ser a proteína presente em maior quantidade no organismo, e desempenhar uma importante função

biológica, pois é responsável pelo transporte de compostos pela corrente sanguínea. Tal função justifica a importância do conhecimento sobre como os compostos se comportam na presença desta proteína (HSA – FIGURA 4.53), sendo que para que o composto consiga ser transportado pela corrente sanguínea e liberado no organismo, deve se ligar reversivelmente à albumina, possibilitando o carreamento e liberação do meio extracelular para o intracelular.^{78,158,159}

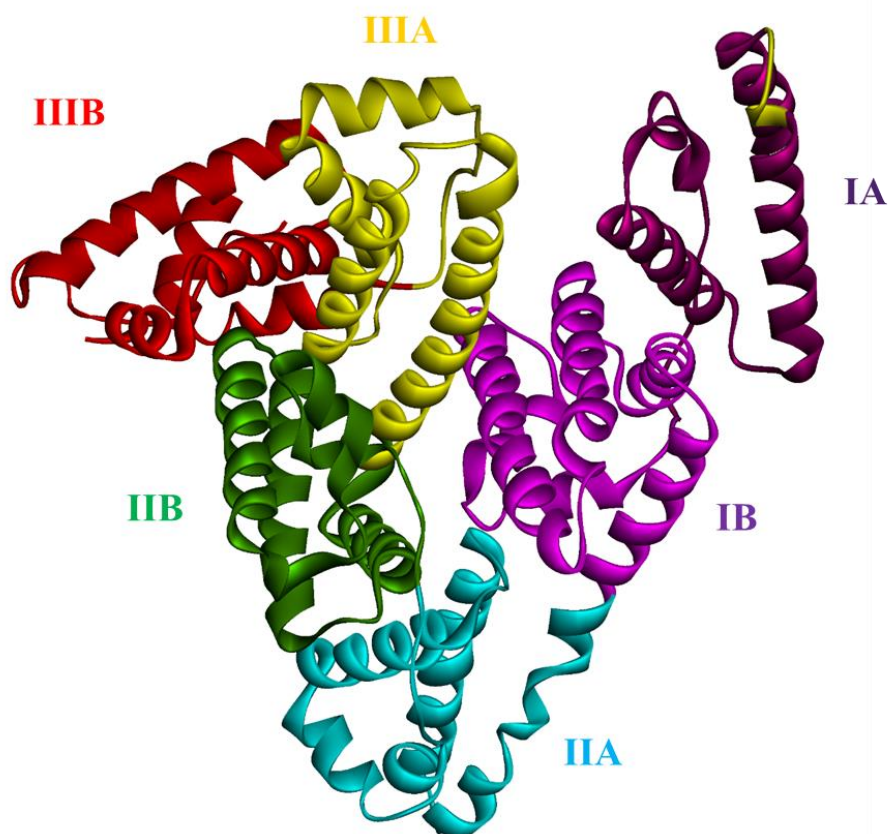


FIGURA 4.53 - Esquema da estrutura secundária de HSA com subdomínios codificados por cores da seguinte forma: IA - vermelho; IB - vermelho claro; IIA - verde; IIB - verde claro; IIIA - azul; IIIB - azul claro.¹⁶⁰

O método usado para avaliar a ocorrência e o tipos desta interação entre moléculas e HSA é pela da supressão da fluorescência da albumina ocasionada por vários processos que diminuem a intensidade da mesma sendo esta supressão classificada como dinâmica ou estática. A supressão dinâmica resulta da colisão entre o fluoróforo e o supressor no estado excitado, enquanto a

supressão estática ocorre devido à formação do complexo com estado de menor energia entre o fluoróforo e o supressor, não estando este no estado excitado ocasionando a formação de um aduto entre o complexo e a HSA. Esta é uma importante informação sobre como os processos de supressão ocorrem devido à alteração conformacional nas subunidades da proteína, ligação do substrato ou desnaturação proteica, isto em decorrência da interação dos compostos com a molécula em questão.¹⁶¹

Em geral, pode-se distinguir os supressores dinâmicos e estáticos pela dependência da temperatura e 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 decréscimo dos valores das constantes de supressão.¹⁶²

A maior parte da fluorescência da HSA quando excitada a 280 nm é proveniente do resíduo de triptofano e de outros resíduos de aminoácidos.¹⁶³ Deste modo o acompanhamento da supressão da fluorescência da HSA é um meio valioso de se avaliar as interações existentes entre a proteína e complexos metálicos.

Os experimentos foram realizados seguindo o decréscimo da intensidade da fluorescência em concentrações diferentes do composto em duas temperaturas distintas (298 e 310K), onde acompanhou-se o decréscimo da banda que ocorre na faixa de 300 a 380 nm sobre uma excitação em 280 nm. Conforme pode ser visto na FIGURA 4.54, a intensidade de fluorescência sofre um decréscimo a medida em que aumenta a concentração do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ o que é um indício que ocorre a interação do complexo com a HSA.

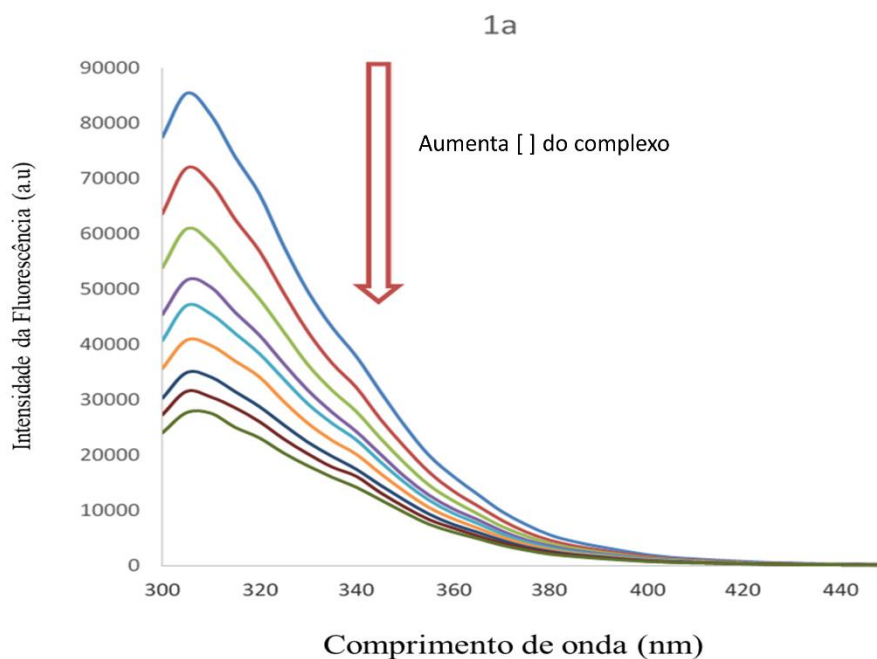


FIGURA 4.54 - Supressão da fluorescência da HSA frente a diferentes concentrações 0; 1,56; 3,12; 6,25; 12,50; 25,0; 50,0; 100,0; 200,0 mM do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**).

A análise quantitativa do processo de supressão de fluorescência pode ser feito através da equação de Stern-Volmer (Equação 4.1) ¹⁶³:

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

Onde F_0 é a taxa de fluorescência sem o agente de extinção; F é a taxa de fluorescência com o agente de extinção e $[\text{complexo}]$ é a concentração do agente de extinção, que no caso são os complexos da série 1 e série 2; K_q é a constante de velocidade de supressão biomolecular e t_0 é o tempo de meia-vida médio da HSA na ausência de supressor. Para obter a constante de Stern-Volmer (K_{sv}) foi plotado um gráfico de F_0/F versus $[\text{complexo}]$, sendo K_{sv} o coeficiente angular da equação da reta obtida no gráfico (FIGURA 4.55).

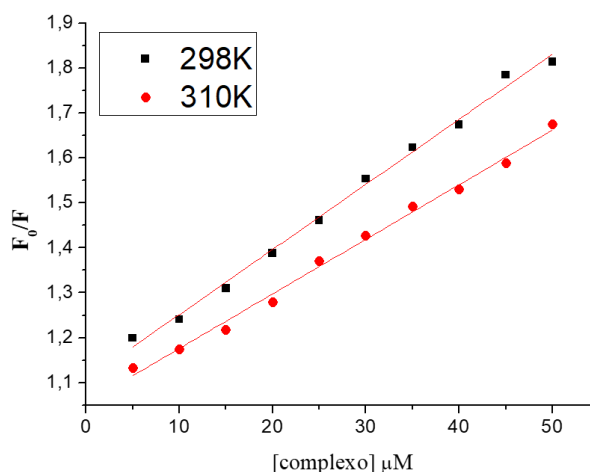


FIGURA 4.55 - Gráficos de Stern-Volmer de F_0/F versus $[\text{complexo}]$ para HSA na presença de diferentes concentrações do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$, excitação = 280 nm, $[\text{HSA}] = 5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

Nas TABELAS

TABELA 4.20 e 4.21 são apresentados os valores da constante de Stern-Volmer (K_{sv}) e da constante de velocidade de supressão biomolecular (K_q), considerando como tempo de meia vida do estado excitado da HSA ($5.0 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$)¹⁶⁴. Analisando os valores obtidos para K_{sv} e K_q para os compostos das duas séries, observa-se que de forma geral apresentaram comportamento semelhante quando se aumentou a temperatura, os valores de K_{sv} diminuíram, sendo este padrão atribuído a ocorrência de mecanismo do tipo estático.

Pode-se usar os dados calculados para K_q , utilizando sua magnitude como referência, pois é relatado na literatura que para mecanismo dinâmico de colisão para HSA e um composto estudado, a magnitude da constante apresenta-se menor que 10^{10} e para valores maiores que 10^{10} indicam mecanismo estático. Para os compostos da série 1 os dados encontrados apresentem magnitude de 10^{12} , e na série 2 apresentam uma maior variação na faixa entre 10^{11} e 10^{14} , porém com a mesma característica de ter magnitude acima de 10^{10} , indicando a formação de espécie intermediária o que é característico de mecanismo estático.

TABELA 4.20 - Dados obtidos pela equação de Stern-Volmer para a interação dos complexos **1a-6a** com HSA (DP = desvio padrão)

Composto	T (K)	K _{sv} + DP (10 ⁴)	K _q (10 ¹²)	R ²
[Ru(dppb)(bipy) ₂](ClO ₄) ₂ 1a	298	5,30 ± 0,18	9,92	0,9858
	310	4,89 ± 0,09	9,03	0,9871
[Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO ₄) ₂ 2a	298	5,09 ± 0,08	7,19	0,9886
	310	4,82 ± 0,11	6,65	0,9902
[Ru(dppb)(bipy)(dtbipy)](ClO ₄) ₂ 3a	298	3,38 ± 0,14	6,03	0,9905
	310	3,09 ± 0,11	5,60	0,9874
[Ru(dppb)(bipy)(44bipy)](ClO ₄) ₂ 4a	298	4,02 ± 0,07	7,32	0,9851
	310	3,79 ± 0,09	6,05	0,9759
[Ru(dppb)(bipy)(55bipy)](ClO ₄) ₂ 5a	298	6,44 ± 0,12	9,89	0,9929
	310	5,18 ± 0,14	8,52	0,9971
[Ru(bipy) ₃](PF ₆) ₂ 6a	298	4,86 ± 0,06	8,08	0,9940
	310	4,34 ± 0,10	7,31	0,9911

TABELA 4.21 - Dados obtidos pela equação de Stern-Volmer para a interação dos complexos **1b-8b**, com HSA (DP = desvio padrão)

Composto	T (K)	K _{sv} ± DP (10 ⁴)	K _q (10 ¹²)	R ²
[RuCl(dppb)(bipy)(Tol)]PF ₆ 1b	298	2,36 ± 0,07	0,54	0,9803
	310	2,17 ± 0,09	5,30	0,9806
[RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF ₆ 2b	298	7,67 ± 0,07	43,2	0,9813
	310	5,50 ± 0,11	104,2	0,9832
[RuCl(dppb)(44bipy)(Tol)]PF ₆ 3b	298	4,98 ± 0,06	112,8	0,9755
	310	3,32 ± 0,07	602,0	0,9854
[RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF ₆ 4b	298	2,99 ± 0,12	3,73	0,9804
	310	2,31 ± 0,08	5,80	0,9805
[RuCl(PPh ₃) ₂ (bipy)(Tol)]PF ₆ 5b	298	12,58 ± 0,09	132,2	0,9856
	310	9,96 ± 0,11	726,0	0,9830
[RuCl(PPh ₃) ₂ (phen)(Tol)]PF ₆ 6b	298	13,27 ± 0,08	89,2	0,9901
	310	9,47 ± 0,05	514,0	0,9900
[RuCl(PPh ₃) ₂ (44bipy)(Tol)]PF ₆ 7b	298	10,58 ± 0,10	120,4	0,9860
	310	8,39 ± 0,08	462,0	0,9870
[RuCl(PPh ₃) ₂ (55bipy)(Tol)]PF ₆ 8b	298	8,60 ± 0,07	25,2	0,9875
	310	6,35 ± 0,05	168,0	0,9964

Como os dados obtidos indicam que o mecanismo que ocorre majoritariamente é o estático, devido a formação de um aduto (espécie intermediária), podemos representar o equilíbrio desta reação utilizando os valores de intensidade de fluorescência encontrados nos experimentos realizados. Através da Equação 4.2, a seguir representada, pode-se calcular outros parâmetros de ligação:

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

Onde K_b é a constante de ligação entre a HSA e o supressor e n é o número de sítios de ligação por molécula de HSA. Estes parâmetros de ligação podem ser encontrados pela confecção de um gráfico de $\log(F_0 - F)/F$ versus $\log[\text{complexo}]$, onde o valor de K_b e n são encontrados pelos dados obtidos na regressão dos pontos do gráfico plotado, conforme pode-se conferir na FIGURA 4.56.

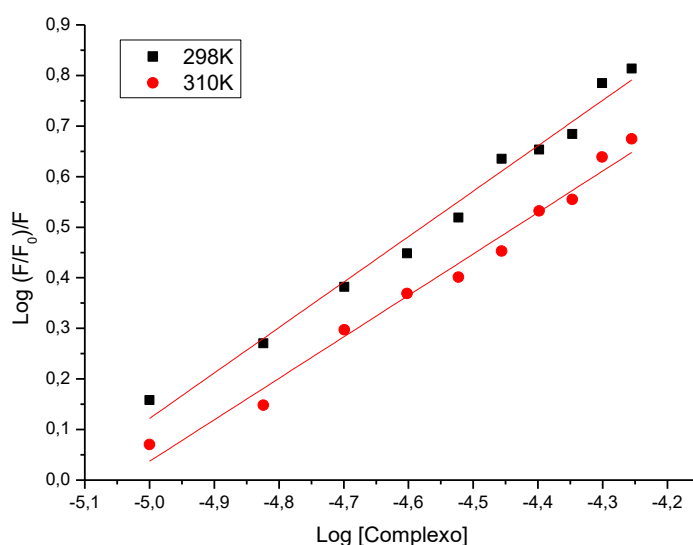


FIGURA 4.56 – Gráficos de Stern-Volmer de $\log(F_0 - F)/F$ versus $\log[Q]$ para HSA na presença de diferentes concentrações do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**), excitação = 280 nm, $[\text{HSA}] = 5,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

TABELA 4.22 - Dados obtidos pela equação de Stern-Volmer para a interação dos complexos 1a-6a com HSA (DP = desvio padrão)

Composto	T (K)	$K_b \pm DP$ (10^5)	$N^* \pm DP$	R^2
[Ru(dppb)(bipy) ₂](ClO ₄) ₂ 1a	298	3,11	1,17	0,9858
	310	1,13	1,13	0,9871
[Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO ₄) ₂ 2a	298	3,08	1,02	0,9886
	310	1,27	1,1	0,9902
[Ru(dppb)(bipy)(dtbipy)](ClO ₄) ₂ 3a	298	2,09	1,18	0,9905
	310	1,24	1,13	0,9874
[Ru(dppb)(bipy)(44bipy)](ClO ₄) ₂ 4a	298	3,16	0,98	0,9851
	310	2,1	0,97	0,9759
[Ru(dppb)(bipy)(55bipy)](ClO ₄) ₂ 5a	298	3,48	1,18	0,9929
	310	1,66	1,13	0,9971
[Ru(bipy) ₃](PF ₆) ₂ 6a	298	1,9	1,11	0,9940
	310	3,16	0,97	0,9911

TABELA 4.23 - Dados obtidos pela equação de Stern-Volmer para a interação dos complexos 1b-8b com HSA (DP = desvio padrão)

Composto	$K_b \pm DP$	$N^* \pm DP$	R^2
[RuCl(dppb)(bipy)(Tol)]PF ₆ 1b	$2,70 \cdot 10^3$	0,79	0,9803
	$2,65 \cdot 10^4$	1,02	0,9806
[RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF ₆ 2b	$2,16 \cdot 10^5$	1,13	0,9813
	$5,21 \cdot 10^5$	1,24	0,9832
[RuCl(dppb)(44bipy)(Tol)]PF ₆ 3b	$5,64 \cdot 10^6$	1,49	0,9755
	$30,1 \cdot 10^6$	1,60	0,9854
[RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF ₆ 4b	$1,86 \cdot 10^4$	1,03	0,9804
	$2,97 \cdot 10^4$	0,95	0,9805
[RuCl(PPh ₃) ₂ (bipy)(Tol)]PF ₆ 5b	$6,61 \cdot 10^5$	1,18	0,9856
	$3,63 \cdot 10^6$	1,38	0,9830
[RuCl(PPh ₃) ₂ (phen)(Tol)]PF ₆ 6b	$4,46 \cdot 10^5$	1,14	0,9901
	$2,57 \cdot 10^6$	1,33	0,9900
[RuCl(PPh ₃) ₂ (44bipy)(Tol)]PF ₆ 7b	$6,02 \cdot 10^5$	1,18	0,9860
	$2,31 \cdot 10^6$	1,35	0,9870
[RuCl(PPh ₃) ₂ (55bipy)(Tol)]PF ₆ 8b	$1,26 \cdot 10^5$	1,05	0,9875
	$8,40 \cdot 10^5$	1,19	0,9964

Para as duas séries pode-se observar os valores de K_b obtidos, e apresentados nas TABELAS 4.22 e 4.23, são da ordem de 10^5 para a série 1 e para a série 2 variam entre $10^3 - 10^6$, o que indica que os complexos têm capacidade de serem carregados pela HSA, pois interagem com a albumina. Valores de K_b na ordem de 10^6 podem ser consideradas interações relativamente fortes, e valores por volta de 10^4 são consideradas interações de força moderadas, e valores da ordem 10^2 considerados como interações fracas. Para que o composto tenha uma alta biodisponibilidade o ideal é que esse tipo de interação ocorra na ordem de 10^2-10^4 , devido à possibilidade de a biomolécula carrear o complexo para o interior da célula e uma vez no interior da célula liberar o mesmo. Complexos com constantes de interação na ordem de 10^5-10^6 interagem relativamente forte com a albumina, de forma que a liberação do complexo no interior da célula é prejudicada, o que pode acarretar na diminuição da biodisponibilidade do complexo.¹⁶²

Para os valores encontrados para K_b nos complexos, tanto da série 1 quando a série 2, espera-se que os compostos possam ser carregados para o interior das células, porém com a biodisponibilidade sendo um pouco reduzida e para se obter uma melhor compreensão de como os compostos irão ser biodisponibilizados no transporte pela corrente sanguínea faz-se necessário o aprofundamento em testes *in vivo*, que poderão ser realizados no futuro.

Outra informação relevante que se pode extrair deste experimento é o tipo de interação que ocorre entre complexo e HSA a partir da obtenção de parâmetros termodinâmicos (energia livre de Gibbs - ΔG° , variação de entropia - ΔS° e entalpia - ΔH°) para os experimentos nas condições realizadas. Podemos de forma relativamente simples obter os parâmetros termodinâmicos baseados na Equação 4.3 e desta forma inferir sobre o do tipo de interação, tais como interação

eletrostática, hidrofóbica, forças de van der Waals, ligações de hidrogênio, dentre outras.

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_b = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (4.3)$$

Onde K_b é a constante de interação com a HSA, T é a temperatura em que foi realizado o experimento (298 e 310 K) e R é a constante dos gases ideais (8,314 J.mol⁻¹.K⁻¹). Através do rearranjo desta equação pode se plotar um gráfico de $\ln K_b$ versus $1/T$, conforme descrito na Equação 4.4.¹⁶² Nas TABELAS 4.24 e 4.25 estão representados os valores obtidos para os parâmetros termodinâmicos.

$$\ln K_b = -\frac{\Delta H^\circ}{RT} + T\Delta S^\circ \quad (4.4)$$

TABELA 4.24 - Parâmetros termodinâmicos calculados para os compostos 1a-6a.

Composto	T (K)	ΔG^0 (kJ.mol ⁻¹)	ΔH^0 (kJ.mol ⁻¹)	ΔS^0 (J.mol ⁻¹)	R ²
[Ru(dppb)(bipy) ₂](ClO ₄) ₂ 1a	298	-2812,52	-64,896	-22,074	0,9877
	310	-315,14			0,9879
[Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO ₄) ₂ 2a	298	-2788,49	-56,787	-181,11	0,9890
	310	-616,32			0,9906
[Ru(dppb)(bipy)(dtbipy)](ClO ₄) ₂ 3a	298	-1827,29	-33,409	-105,92	0,9932
	310	-554,68			0,9870
[Ru(dppb)(bipy)(44bipy)](ClO ₄) ₂ 4a	298	-2852,06	-26,164	-78,19	0,9862
	310	-1913,15			0,9819
[Ru(dppb)(bipy)(55bipy)](ClO ₄) ₂ 5a	298	-3091,16	-47,375	-148,52	0,9946
	310	-1306,87			0,9961
[Ru(bipy) ₃](PF ₆) ₂ 6a	298	-1591,04	32,558	114,53	0,9963
	310	-2966,85			0,9933

TABELA 4.25 - Parâmetros termodinâmicos calculados para os compostos **1b-8b**

Composto	T (K)	ΔG^0 (kJ.mol ⁻¹)	ΔH^0 (kJ.mol ⁻¹)	ΔS^0 (J.mol ⁻¹)	R ²
[RuCl(dppb)(bipy)(Tol)]PF ₆ 1b	298	-19,58	146,33	556,46	0,9838
	310	-26,26			0,9827
[RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF ₆ 2b	298	-30,44	56,41	291,29	0,9873
	310	-33,95			0,9823
[RuCl(dppb)(44bipy)(Tol)]PF ₆ 3b	298	-38,53	107,29	489,08	0,9845
	310	-44,40			0,9811
[RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF ₆ 4b	298	-24,38	28,45	177,19	0,9844
	310	-26,49			0,9829
[RuCl(PPh ₃) ₂ (bipy)(Tol)]PF ₆ 5b	298	-33,21	109,22	477,71	0,9847
	310	-38,15			0,9872
[RuCl(PPh ₃) ₂ (phen)(Tol)]PF ₆ 6b	298	-32,24	112,20	484,45	0,9907
	310	-38,03			0,9910
[RuCl(PPh ₃) ₂ (44bipy)(Tol)]PF ₆ 7b	298	-32,99	86,29	400,06	0,9880
	310	-37,79			0,9875
[RuCl(PPh ₃) ₂ (55bipy)(Tol)]PF ₆ 8b	298	-29,11	77,33	357,00	0,9877
	310	-33,39			0,9920

Os dados apresentados nas TABELAS 4.24 e 4.25 permitem inferir sobre o tipo de interação quando estabelecemos a relação entre os tipos de interação e os valores obtidos para os parâmetros termodinâmicos calculados, conforme pode-se ver a seguir:

- Valores positivos para ΔH^0 e ΔS^0 , indicam o envolvimento de forças hidrofóbicas entre o complexo e albumina;
- Valores negativos para ΔH^0 e ΔS^0 - indicam forças de van der Waals e interações por ligações de hidrogênio;
- Valor negativo de ΔH^0 e positivo para ΔS^0 - indica interação eletrostática entre o complexo e a albumina.

Assim, pode-se concluir que as forças de interação dos complexos **1a-5a** com a HSA são forças de Van der Waals devido aos valores negativos de ΔH^0 e ΔS^0 e para o composto **6a** são forças do tipo hidrofóbicas e para os

compostos da série 2 também apresentam valores que indicam que o tipo de interação por forças hidrofóbicas. Variações de entalpia (ΔH°) e entropia (ΔS°) positivas ocorrem devido à presença de moléculas de água posicionadas de forma ordenada em torno dos aminoácidos externos a proteína, onde com a ocorrência da interação passa a adquirir uma configuração desordenada, como resultado de interações hidrofóbicas com o complexo.¹⁶⁵ Para todos os compostos estudados foram obtidos valores negativos para a variação da energia livre de Gibbs indicando que o processo de interação entre o complexo e a proteína se dá de forma espontânea.

4.4.3 – Coeficiente de Partição (Log P)

O coeficiente de partição ou lipofilicidade (logP) é um parâmetro muito utilizado na indústria farmacêutica e alimentícia que mostra a tendência de distribuição de um composto no organismo humano, tanto pela difusão de estruturas apolares, como por membranas celulares, ou soluções biológicas como o plasma sanguíneo, fluidos intracelulares e linfa. Estudos de farmacocinética mostram que a hidrofiliabilidade de um composto aumenta quando o valor de log P diminui, e de modo semelhante quanto maior o valor de log P maior será a lipofilicidade de um composto.

Deste modo, quanto maior a lipofilicidade de um composto maior será sua afinidade pela fase orgânica, e quando maior a hidrofiliabilidade maior a afinidade pela fase aquosa. A lipofilicidade dos complexos foi determinada em um sistema água/n-octanol para **1a-6a** e água/1,2-dicloroetano para **1b-8b**, de acordo com as solubilidades dos compostos e de forma que o sistema que mais se assemelha com a membrana celular.

De forma geral, quanto maior o valor de log P, maior é a afinidade do composto pela estrutura lipídica da membrana plasmática o que pode levar a maior taxa de absorção por células. Valores de log P menores que -3 e maiores

que 3 levam a uma absorção muito baixa, valores entre 0 e 0,5 levam a uma absorção em torno de 20% enquanto valores entre 1 e 1,5 estão relacionados a moléculas com aproximadamente 100% de absorção pelas células.¹⁶⁶ O sistema usado para determinar o coeficiente de partição é representado de forma genérica na FIGURA 4.57 e os valores de Log P obtidos para os compostos estudados são mostrados na TABELA 4.25.

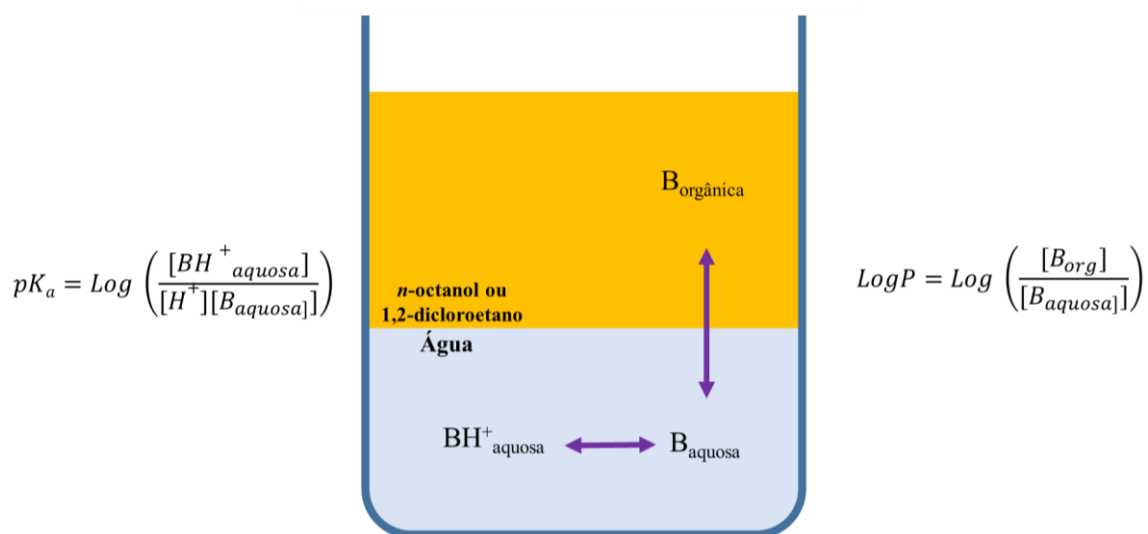


FIGURA 4.57 - Representação do equilíbrio das espécies no equilíbrio entre fases orgânica e aquosa.

TABELA 4.26 - Dados de lipofilicidade (Log P) dos complexos **1a-6a** e **1b-8b**.

Composto	Log P
1a [Ru(dppb)(bipy) ₂](ClO ₄) ₂	0,52
2a [Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO ₄) ₂	0,25
3a [Ru(dppb)(bipy)(dtbipy)](ClO ₄) ₂	0,77
4a [Ru(dppb)(bipy)(44bipy)](ClO ₄) ₂	0,24
5a [Ru(dppb)(bipy)(55bipy)](ClO ₄) ₂	0,24
6a [Ru(bipy) ₃](PF ₆) ₂	-1,40
1b [RuCl(dppb)(bipy)(Tol)]PF ₆	0,66
2b [RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF ₆	0,47
3b [RuCl(dppb)(44bipy)(Tol)]PF ₆	0,40
4b [RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF ₆	0,47
5b [RuCl(PPh ₃) ₂ (bipy)(Tol)]PF ₆	0,77
6b [RuCl(PPh ₃) ₂ (phen)(Tol)]PF ₆	0,85
7b [RuCl(PPh ₃) ₂ (44bipy)(Tol)]PF ₆	0,38
8b [RuCl(PPh ₃) ₂ (55bipy)(Tol)]PF ₆	0,57

A partir relações de concentrações obtidas para cada complexo nas fases orgânica e aquosa obtidas (TABELA 4.25) percebe-se que os compostos **1a-5a** apresentam valores de LogP na faixa de 0,24 a 0,77 e o composto usado para comparação, o composto [Ru(bipy)₃](PF₆)₂ (**6a**) teve comportamento diferente apresentado valor de Log P negativo, igual a -1,40. Pode-se verificar que os compostos **1a-5a** apresentam-se mais solúveis na fase lipofílica (*n*-octanol), enquanto o composto **6a** é o composto com mais afinidade pela fase aquosa (hidrofílico), o que indica como a mudança de um grupo diimínico por uma

fosfina influenciou na lipofilicidade do composto. Sugere-se desta forma, que esta mudança na lipofilicidade pode ter sido essencial para que os compostos da série 1 apresentem atividade citotóxica, pois para o composto **6a** o valor negativo de Log P indica a dificuldade do composto em permear a membrana celular, e que ao dificultar o acesso ao meio intracelular, não apresentando citotoxicidade.

Para os compostos **1b-8b** os valores de LogP variam de 0,40 a 0,80, indicando que estes compostos apresentam comportamento similar aos compostos da série 1, que apresentam o grupo diimínico e grupo fosfínico na estrutura, sendo que todos apresentam maior afinidade pela fase orgânica, o que permite uma melhor permeabilidade por membranas lipídicas.¹⁶⁷

4.4.4 – Ensaios de Citotoxicidade

Todos os complexos sintetizados neste trabalho foram estudados quanto às suas citotoxicidades frente à duas linhagens de células tumorais e uma linhagem não-tumoral. As duas linhagens tumorais são provenientes de câncer de pulmão e próstata (A549 e DU-145) e a linhagem não tumoral de pulmão (MRC-5). A fim de comparação em todas as células foi testado também o fármaco inorgânico cisplatina. Os dados de IC₅₀ (concentração que inibe 50% do crescimento celular) obtidos para os complexos são mostrados na TABELA 4.27.

TABELA 4.27 - Valores de IC₅₀ em μmol L⁻¹ para os complexos e ligantes avaliados nas linhagens tumorais e não tumoral.

Complexos	IC ₅₀ (μM)			
	A549	DU-145	MRC-5	*IS
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(bipy)]	N.D	26,71±0,66	N.D	---
2,2-bipiridina	>100	>100	>100	---
1,10-fenantrolina	>100	>100	>100	---
4,4'-di-terc-butil-2,2'-bipiridina	>100	>100	>100	---
4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina	>100	>100	>100	---
5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina	>100	>100	>100	---
1a [Ru(dppb)(bipy) ₂](ClO ₄) ₂	7,41 ± 0,8	7,97 ± 0,24	2,63 ± 0,09	0,35
2a [Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO ₄) ₂	10,19 ± 2,46	>100	2,62 ± 0,09	0,25
3a [Ru(dppb)(bipy)(dtbipy)](ClO ₄) ₂	11,82 ± 2,52	42,00± 0,24	12,23 ± 0,07	1,03
4a [Ru(dppb)(bipy)(44bipy)](ClO ₄) ₂	19,82 ± 0,98	20,00 ± 0,02	15,83 ± 0,50	0,79
5a [Ru(dppb)(bipy)(55bipy)](ClO ₄) ₂	13,77 ± 0,39	10,00 ± 0,65	6,49 ± 0,90	0,47
6a [Ru(bipy) ₃](PF ₆) ₂	>100	>100	>100	---
Ligante Tol	>100	13.52 ± 0.81	24.18 ± 3.16	---
1b [RuCl(dppb)(bipy)(Tol)]PF ₆	1,66 ± 0,12	3,54 ± 0,56	4,48 ± 0,35	2,70
2b [RuCl(dppb)(phen)(Tol)]PF ₆	0,68 ± 0,04	4,21 ± 0,16	1,76 ± 0,07	2,58
3b [RuCl(dppb)(44bipy)(Tol)]PF ₆	0,59 ± 0,02	2,83 ± 0,67	1,99 ± 0,15	3,35
4b [RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF ₆	0,34 ± 0,07	2,07 ± 0,11	1,15 ± 0,19	3,32
5b [RuCl(PPh ₃) ₂ (bipy)(Tol)]PF ₆	0,23 ± 0,03	2,70 ± 0,33	0,99 ± 0,29	4,17
6b [RuCl(PPh ₃) ₂ (phen)(Tol)]PF ₆	0,19 ± 0,01	2,41 ± 0,09	1,14 ± 0,03	5,97
7b [RuCl(PPh ₃) ₂ (44bipy)(Tol)]PF ₆	0,14 ± 0,02	1,47 ± 0,27	0,90 ± 0,02	6,08
8b [RuCl(PPh ₃) ₂ (55bipy)(Tol)]PF ₆	0,10 ± 0,01	1,96 ± 0,23	0,37 ± 0,05	3,48
Cisplatina	14.4 ± 1,4	2,00 ± 0,47	29.09 ± 0,78	2,02

*Índice de seletividade (IS) = IC₅₀ MRC-5 / IC₅₀ A549

O valor de IC₅₀ representa a menor concentração capaz de inibir o crescimento de 50% das células sendo encontrado através da densidade ótica após a adição de MTT, tanto nas células tratadas com os complexos analisados, quanto

no controle positivo (cisplatina) e negativo (células sem tratamento). A leitura das placas foi realizada 48 horas após a adição dos complexos e controles, o que forneceu gráficos de viabilidade celular com 95% de confiança, realizados em triplicatas independentes variando as concentrações dos complexos.¹⁶⁸

Para a primeira série de compostos, buscou-se comparar a atividade citotóxica dos compostos **1a-5a** que apresentam duas diimínas e uma fosfina na estrutura com o composto **6a** que apresenta três diimínas na esfera de coordenação. Verificou-se que o composto **6a** não apresentou atividade citotóxica em nenhuma das linhagens celulares estudadas e que os compostos **1a-5a** apresenta atividade próxima a atividade da cisplatina na linhagem A549, o que nos dá um indício de que a fosfina pode ser de fundamental importância na atividade dos compostos aqui estudados. Observa-se que para a série 1 (compostos **1a-5a**), a presença da fosfina dppb contribuiu significativamente para a citotoxicidade dos mesmos, tendo em vista que a única diferença estrutural entre esses compostos e o composto **6a**, é a ausência da dppb no composto **6a**, o qual não apresentou atividade citotóxica.

Os compostos **1a-5a** não se mostraram-se muito seletivos frente às células tumorais (A549 e DU-145), quando comparado com os valores de IC₅₀ para a linhagem não tumoral (MRC-5).

Os compostos da segunda série (**1b-8b**) mostraram-se mais citotóxicos do que os compostos da série 1, e do que a cisplatina, usada como referência. Os compostos **1b-4b** apresentaram valores de IC₅₀ na faixa de 0,34 - 1,66 µM para A549, 2,06 - 4,20 µM para DU-145 e para a linhagem não-tumoral 1,14 - 4,48 µM, obtendo-se assim índices de seletividade (IC₅₀ A549/IC₅₀ MRC-5) na faixa 2,58 - 3,35, os quais são maiores do que os valores obtidos para a cisplatina. Os compostos **5b-8b** apresentaram valores de IC₅₀ entre 0,10 e 0,23 µM, 1,47 e 2,70 µM para as linhagens A549 e DU-145, respectivamente. Os

valores de IC_{50} obtidos para a linhagem não tumoral MRC-5 variou de 0,36 - 1,13 μ M. Para os compostos **5b-8b**, foi observado melhores índices de seletividade, quando comparado aos valores obtidos para os compostos **1b-4b**, bem como para a cisplatina. Os complexos **6b** e **7b** apresentaram os seguintes índices de seletividade, 5,97 e 6,08, respectivamente, sendo ainda três vezes mais seletivos do que a cisplatina.

A partir dos dados de citotoxicidade obtidos verificou-se que os complexos da série 2 apresentam-se bastante promissores para uso como quimioterápicos, indicando que o ligante Tol apresentou grande influência na atividade biológica e que mais estudos acerca das propriedades biológicas destes compostos são de fundamental importância para conhecimento do sistema aqui apresentado. Nesse sentido, os compostos **4b** e **7b** foram selecionados para estudos de estabilidade química, morfológico, migração celular e morte celular, por ensaio de apoptose. Selecionou-se o composto **4b**, o qual contém a dppb em sua estrutura e o composto **7b**, contendo a trifenilfosfina, devido seus valores de IC_{50} e IS dos mesmos frente a linhagem celular A549.

4.4.5 – Estudo de estabilidade

Inicialmente avaliou-se a estabilidade dos compostos em DMSO e na mistura DMSO/meio de cultura usado nos experimentos de citotoxicidade. Para isso foram preparadas duas soluções com os compostos **3a**, **4b** e **7b** em DMSO 100% e DMSO/meio 66,6 % de DMSO e 33,3% de meio, sendo que os espectros de RMN $^{31}P\{^1H\}$ foram registrados nos tempos de 0, 2, 8, 24, 168 horas.

O estudo de estabilidade mostrou que em apenas DMSO o composto **3a** (FIGURA 4.58) apresentou boa estabilidade química, e após 24 horas no espectro ainda é possível observar o composto com a estrutura original e que depois de 198 horas (7 dias), surgem outros sinais que indicam que o solvente possivelmente começa a se coordenar no composto onde aparece um sinal

próximo a -20 ppm, indicando que o solvente está substituindo a fosfina na estrutura do composto, já para o experimento em DMSO/meio (FIGURA 4.59) o composto não apresenta mudanças no espectro o que indica a boa estabilidade nos testes biológicos realizados.

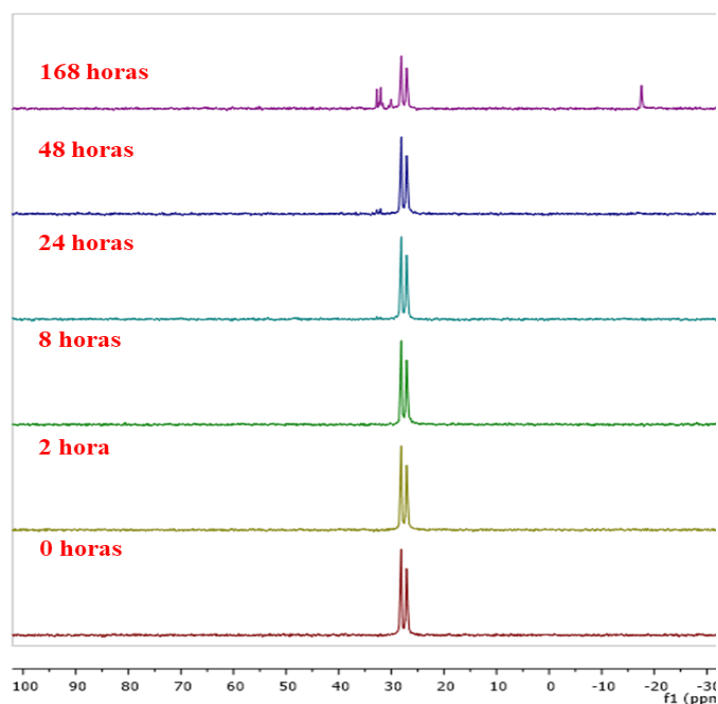


FIGURA 4.58 - Acompanhamento da estabilidade do composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{dtbipy})](\text{ClO}_4)_2$ por RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ durante 168 horas em DMSO.

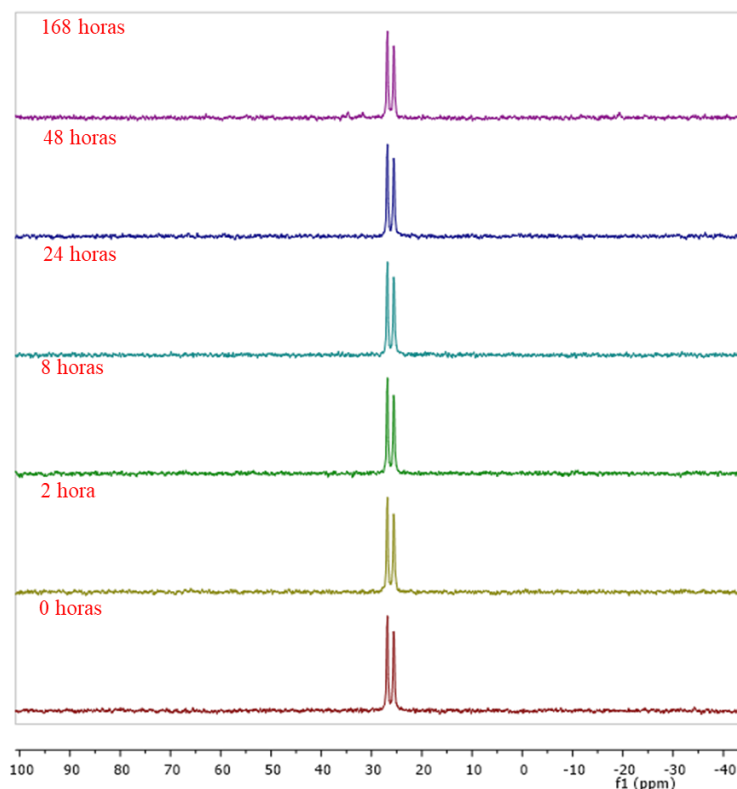


FIGURA 4.59 - Acompanhamento da estabilidade do composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{dtbipy})](\text{ClO}_4)_2$ por RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ durante 168 horas em DMSO/meio.

Para o composto **4b** apenas em DMSO (FIGURA 4.60) no tempo 0 horas, além dos sinais referentes ao composto com δ em 8.70 e 42.79, é possível observar um pequeno sinal com δ em 22.90, possivelmente referente ao início da saída do cloro presente na estrutura, com a entrada de uma molécula de solvente. Após 168 horas ainda é possível verificar os sinais referentes ao complexo o que indica uma boa estabilidade do composto. Para o experimento em DMSO/meio (FIGURA 4.61) de 0 a 24 horas o espectro apresenta principalmente o sinal referente ao complexo, e em 168 horas ainda temos os sinais referentes ao complexo e aparecem mais dois sinais de pequena intensidade, que também indica a boa estabilidade nestas condições estudadas.

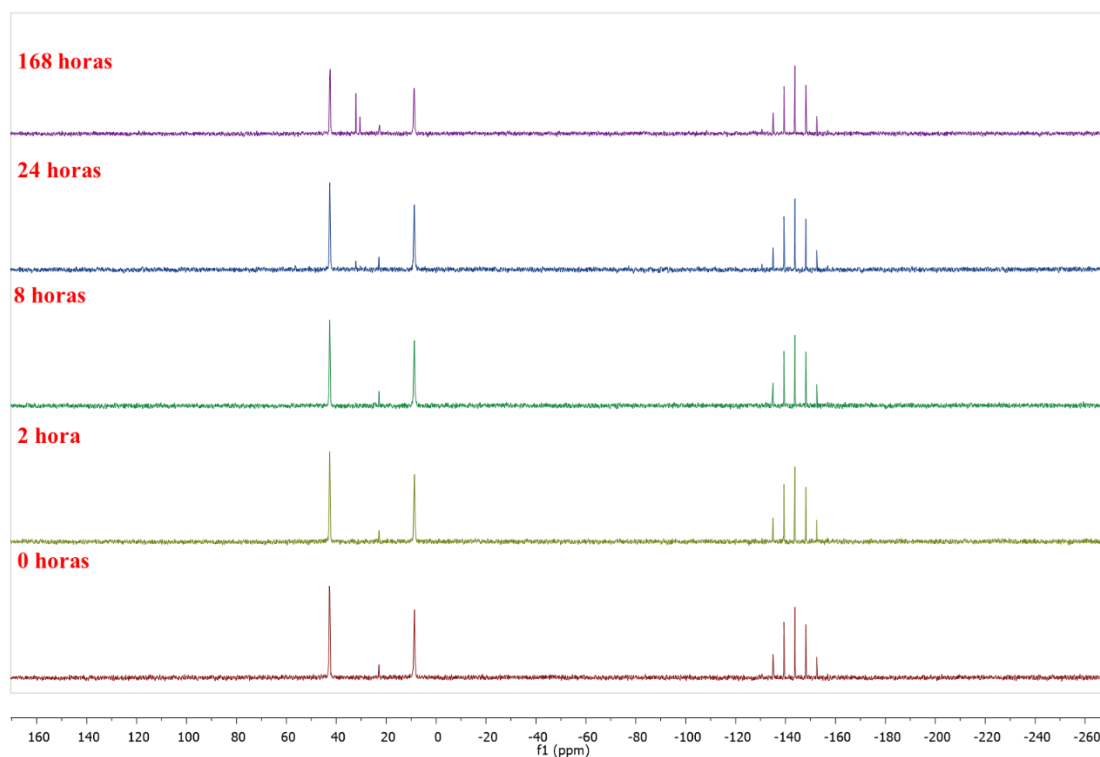


FIGURA 4.60 - Acompanhamento da estabilidade do composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ por RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ durante 168 horas em DMSO.

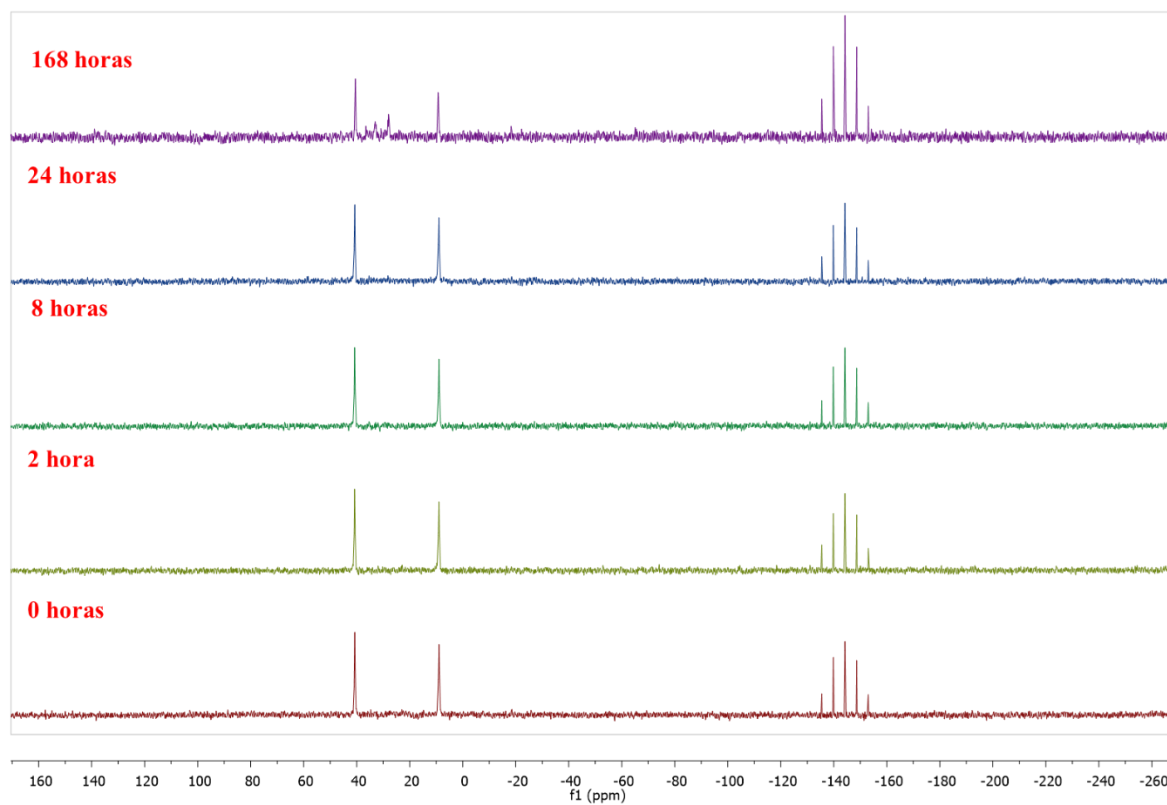


FIGURA 4.61 - Acompanhamento da estabilidade do composto $[\text{Ru}(\text{dppb})(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ por RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ durante 168 horas em DMSO/meio.

Para o composto **7b** os espectros mostraram que tanto em DMSO (FIGURA 4.62) e DMSO/meio (FIGURA 4.63), o composto mostrou-se bastante estável e que em 24 horas só observamos a presença do composto em solução, e mesmo após 7 dias observamos a presença do composto em grande quantidade. O composto **7b** apresenta-se mais estável que **4b**, podemos justificar esta maior estabilidade devido a posição ocupada pelo átomo de cloro nos compostos, sendo que em **4b** o átomo de cloro está *trans* a um átomo de fósforo que devido ao efeito competitivo facilita a saída do átomo de cloro, enquanto que em **7b** o átomo de cloro está *trans* a um átomo de nitrogênio do ligante diimínicos, o que apresenta menor efeito competitivo quando comparado ao átomo de fósforo.

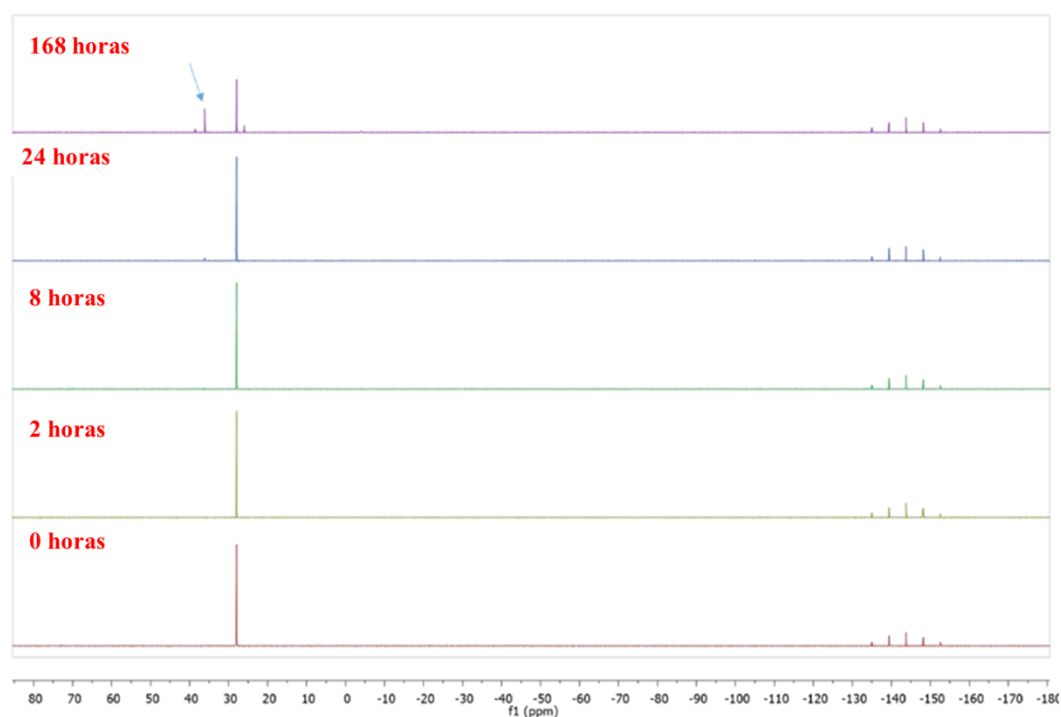


FIGURA 4.62 - Acompanhamento da estabilidade do composto $[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ por RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ durante 168 horas em DMSO.

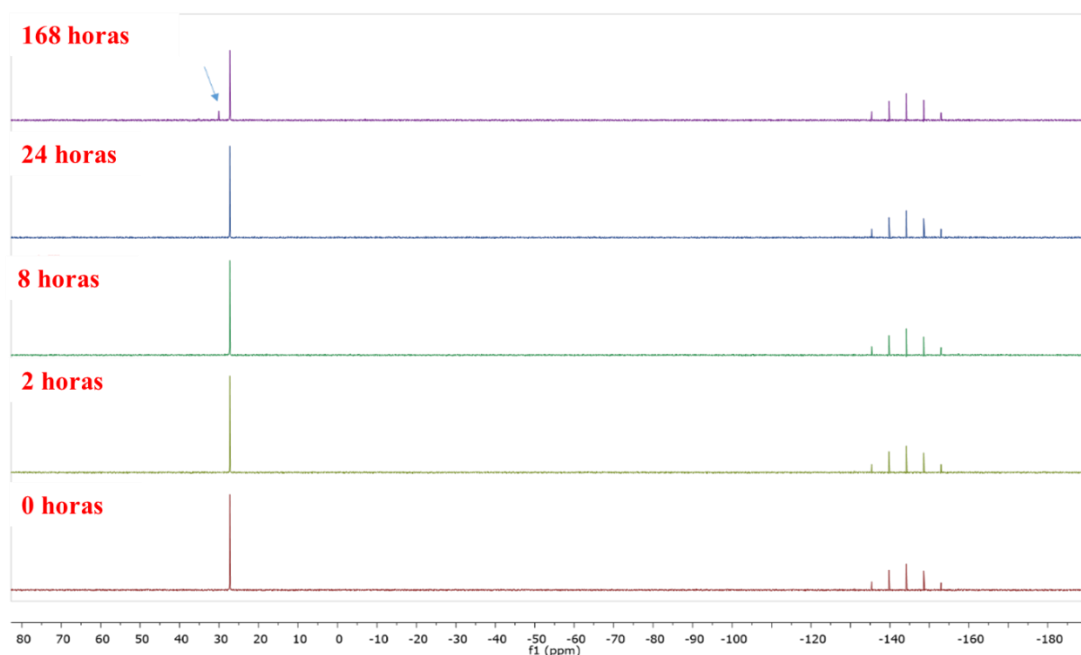


FIGURA 4.63 - Acompanhamento da estabilidade do composto $[\text{Ru}(\text{PPh}_3)_2(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ por RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ durante 168 horas em DMSO/meio.

4.4.6 – Ensaio morfológico

Para verificar o efeito dos compostos 4b e 7b na morfologia das células A549, as mesmas foram tratadas com os compostos (concentrações do IC_{50} , $2x \text{IC}_{50}$ e $5x \text{IC}_{50}$), durante o período de 48 h. Os dados obtidos são mostrados na FIGURA 4.64. Observou-se que as células A549 no controle (contendo 5 % de DMSO), apresentam morfologia fusiformes, com algumas células arredondadas. Já as células tratadas com os compostos, apresentaram alterações morfológicas quando comparado com o controle. Verificou-se uma significativa inibição da proliferação das células após serem tratadas com os compostos na concentração do IC_{50} , conforme pode ser observado pela diminuição da densidade celular, após 48 h de incubação. As células tratadas com $2x$ e $5x$ o IC_{50} demonstraram perda de aderência, morfologia arredondada, além da diminuição no número de células o que confirma a relação concentração-resposta.

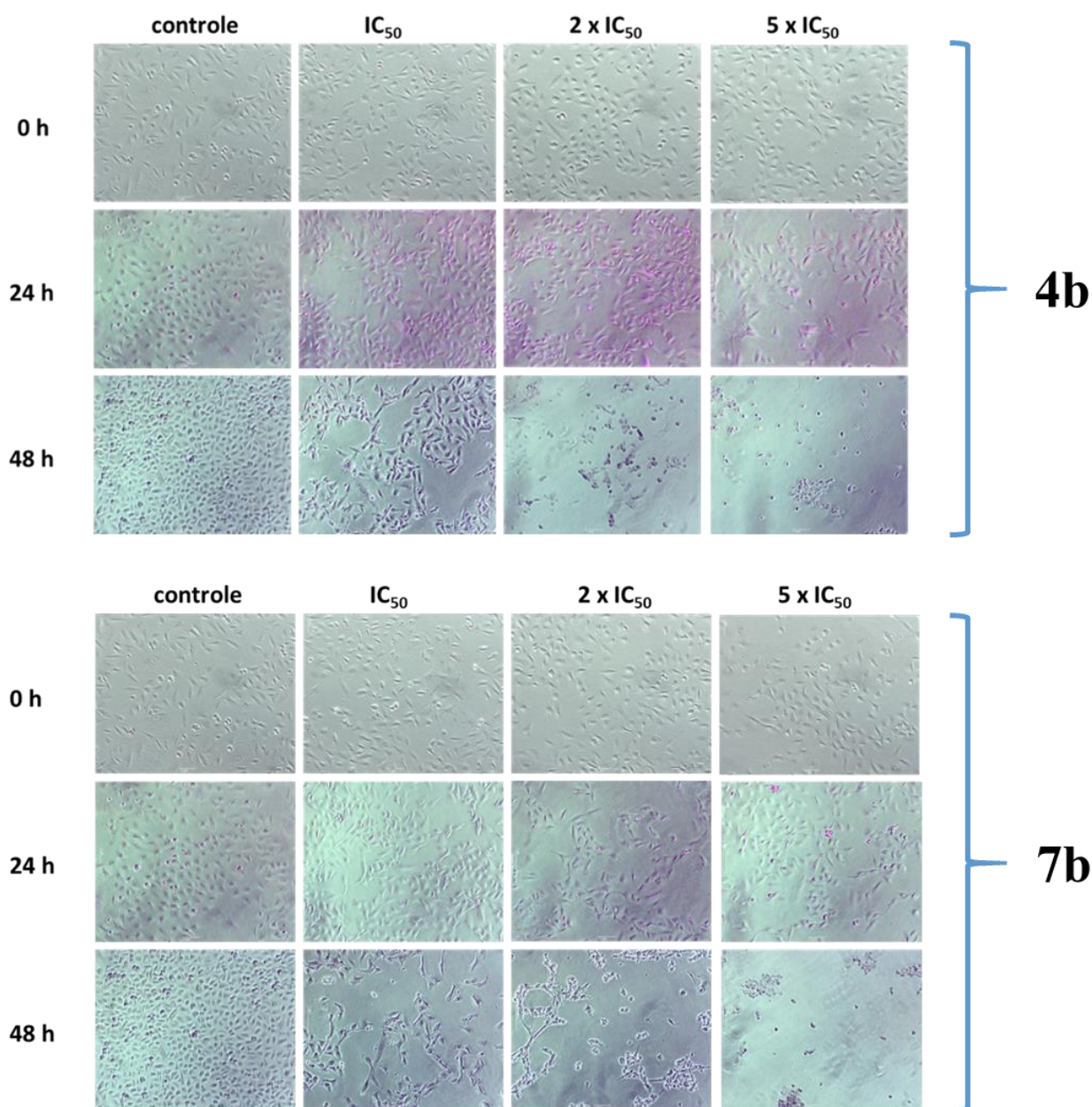


FIGURA 4.64 - Estudo morfológico sob microscópio invertido (100x) de células A549, tendo 0,5% DMSO no controle e as células tratadas nas concentrações 1, 2 e 5 vezes o IC_{50} dos complexos $[RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF_6$ (**4b**) e $[RuCl(PPh_3)_2(44bipy)(Tol)]PF_6$ (**7b**).

4.4.7 – Estudo de migração celular

Uma forma rápida e simples de verificar a capacidade de migração celular é o ensaio de fechamento de ferida. Nesse ensaio realizou-se uma “ferida” na monocamada aderente de células A549, e adicionou-se os compostos $[\text{RuCl}(\text{dppb})(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**4b**) e $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**7b**), e realizou-se o monitoramento da capacidade de migração das células para o “fechar” a ferida. Imagens do processo de migração das células foram registradas após 24h, e o fechamento da ferida foi calculado medindo-se a área de fechamento e comparando-se com o controle.¹⁶⁹

Observa-se na FIGURA 4.65 que as células do controle praticamente fecharam após 24 horas, o que mostra a capacidade de migração celular das células da linhagem A549. Comparando os resultados observados para os compostos **4b** e **7b**, com o controle, após 24 horas, houve um fechamento de 42,5 e 56,2%, respectivamente.

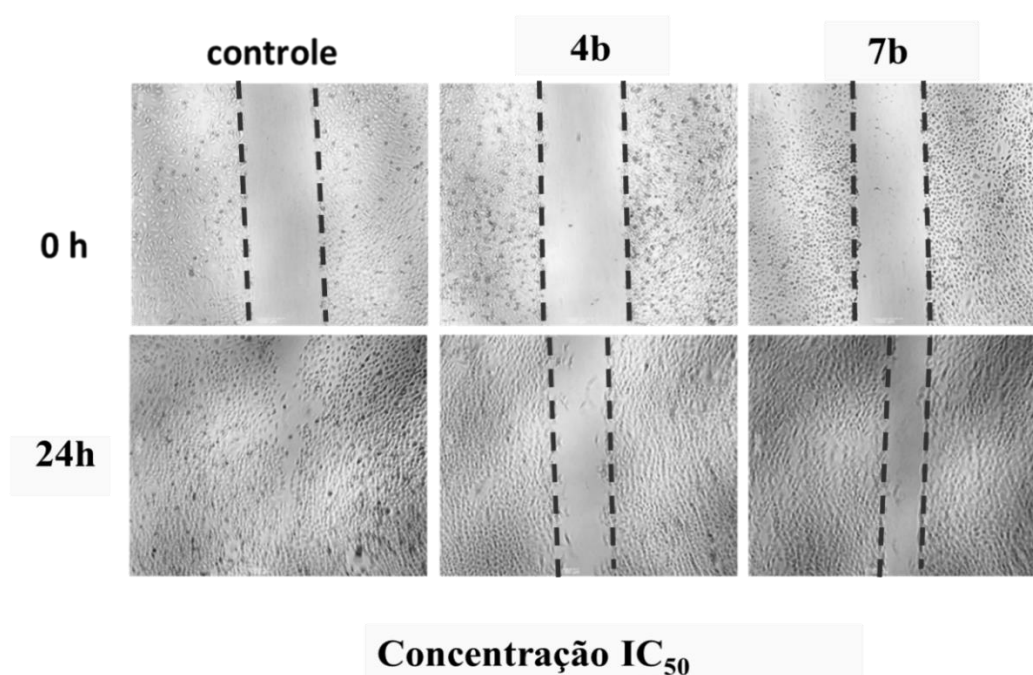


FIGURA 4.65 – Estudo de migração celular A549 em 0 e 48h para o controle e compostos $[\text{RuCl}(\text{dppb})(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**4b**) e $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**7b**) nas concentrações do IC_{50} .

Com base nestes resultados, é possível concluir que os compostos além de efeito citotóxico apresentado, também apresentam a capacidade de inibir a migração das células tumorais, o que é desejado para um fármaco pois a capacidade de migração celular foi reduzida a metade, sendo que essa diminuição de capacidade de migração das células é uma das características responsáveis por evitar a formação de metástases.

4.4.8 – Estudo de eletroforese em gel

O experimento de eletroforese em gel é utilizado na separação e identificação de moléculas carregadas, com diferentes massas em uma amostra, devido à ação de um campo elétrico. Para o estudo da interação de complexos com DNA, pode-se verificar como o complexo pode interagir com o DNA acompanhando as alterações provocadas na estrutura terciária do DNA, onde a migração ocorre do cátodo para o ânodo devido à presença dos grupos fosfatos do DNA. Compara-se as modificações entre a corrida do DNA e DNA/Complexo, verificando quais modificações foram observadas. O DNA plasmidial apresenta três principais formas como apresentado na FIGURA 4.66.¹⁷⁰

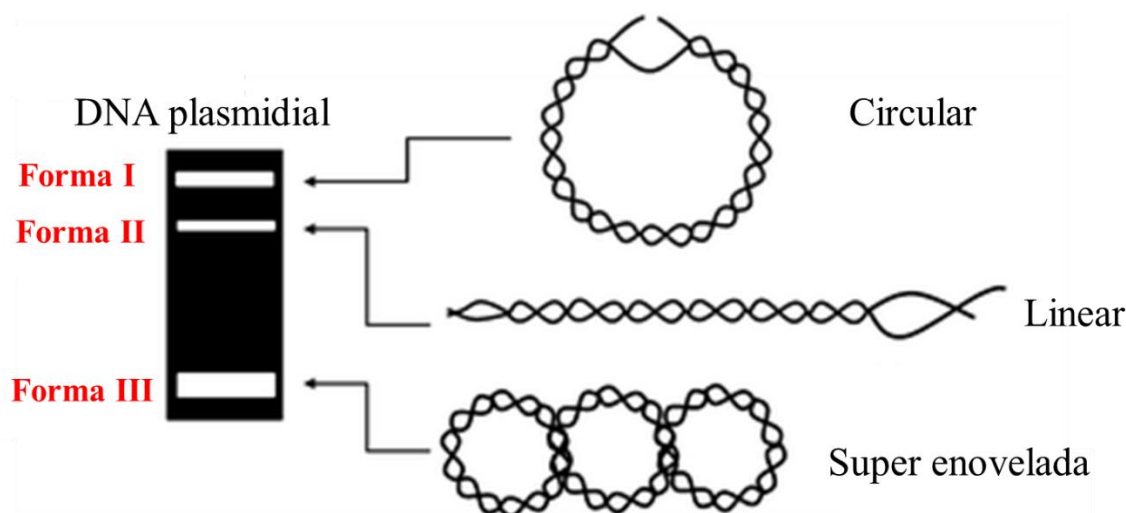


FIGURA 4.66 - Formas mais comuns do DNA plasmidial

O estado nativo do DNA plasmidial é a forma superenovelada, a forma circular aberta e a forma linear. Modificações na corrida eletroferética do plasmídeo no gel após a adição do complexo pode ser uma indicação de interação do complexo com DNA.⁷¹ Na FIGURA 4.67 pode-se observar o padrão eletroforético obtido para o marcador de peso molecular, do DNA plasmidial (pBR322) na ausência e na presença dos compostos $[\text{RuCl}(\text{dppb})(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**4b**) e $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**7b**). Observou-se que a medida que a concentração dos complexos foi aumentada, as bandas do DNA diminuíram a intensidade e no caso do composto **7b** desapareceu completamente. O desaparecimento das bandas do pBR322 pode ocorrer por dois motivos: ligações covalentes ou interações pelos sulcos dos compostos com o DNA. No caso de ligações covalentes, o composto interage tão fortemente, fragmentando o DNA em pequenas sucessões, o que aumenta a sua mobilidade eletroforética e expulsando o brometo de etídio da estrutura do DNA, diminuindo a fluorescência e assim não sendo possível sua observação. No caso de interações dos compostos pelos sulcos do DNA, os compostos deslocam o brometo de etídio da estrutura do DNA, diminuindo a fluorescência e assim, as bandas não podem ser observadas.

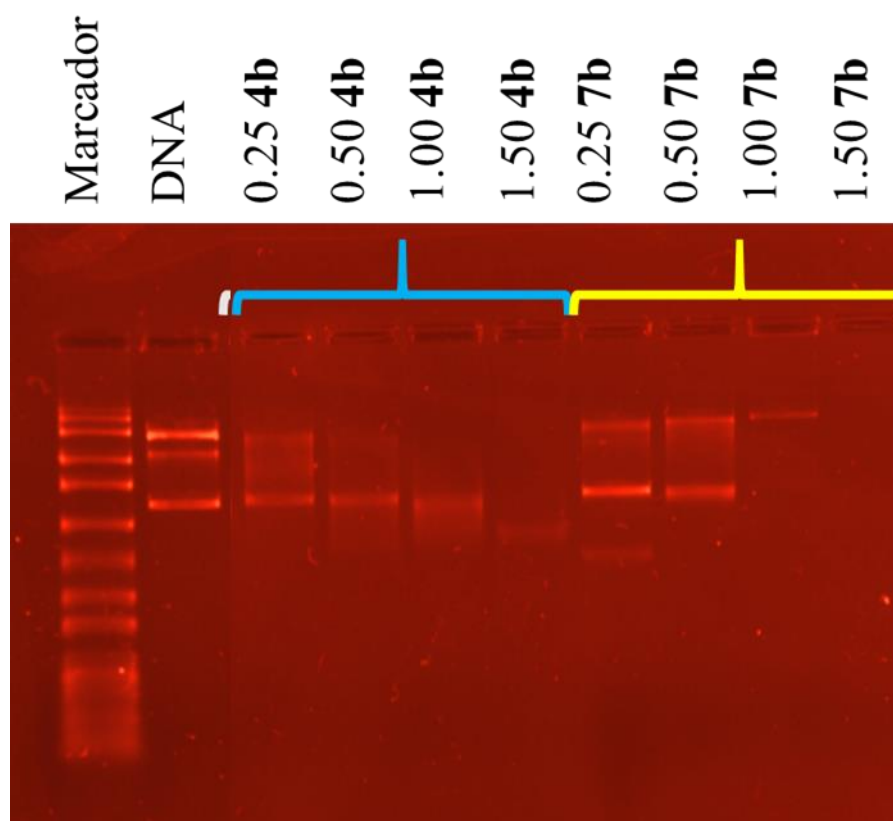


FIGURA 4.67 – Padrão da eletroforese em Gel de agarose do plasmídeo pBR322 e dos complexos $[\text{RuCl}(\text{dppb})(55\text{bipy})]\text{PF}_6$ (**4b**) e $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(44\text{bipy})]\text{PF}_6$ (**7b**) nas razões complexo/plasmídeo 0.25; 0.50; 1.0 e 1.5.

A primeira hipótese de ligação é descartada pois pelas medidas de viscosidade já se observou que os compostos não apresentam ligações covalentes com o DNA, pois não houve diminuição da viscosidade das soluções DNA/complexos. Dessa forma sugere-se que os compostos interagem pelos sulcos do DNA, de forma que desloca o brometo de etídio da estrutura do DNA e por isso ocorre a diminuição nas bandas observadas no gel.

4.4.1 – Ensaio de competitividade com Hoestch33258

Para confirmar as observações obtidas pela eletroforese em gel de que os compostos têm a capacidade de interagir eletrostaticamente pelos sulcos do DNA foi realizado o estudo de competição dos complexos $[\text{RuCl}(\text{dppb})(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**4b**) e $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**7b**) com o

composto Hoestch3258. O Hoescht3258 é um marcador fluorescente com capacidade de interagir com DNA via sulco menor como mostrado na Figura XX.¹⁷¹

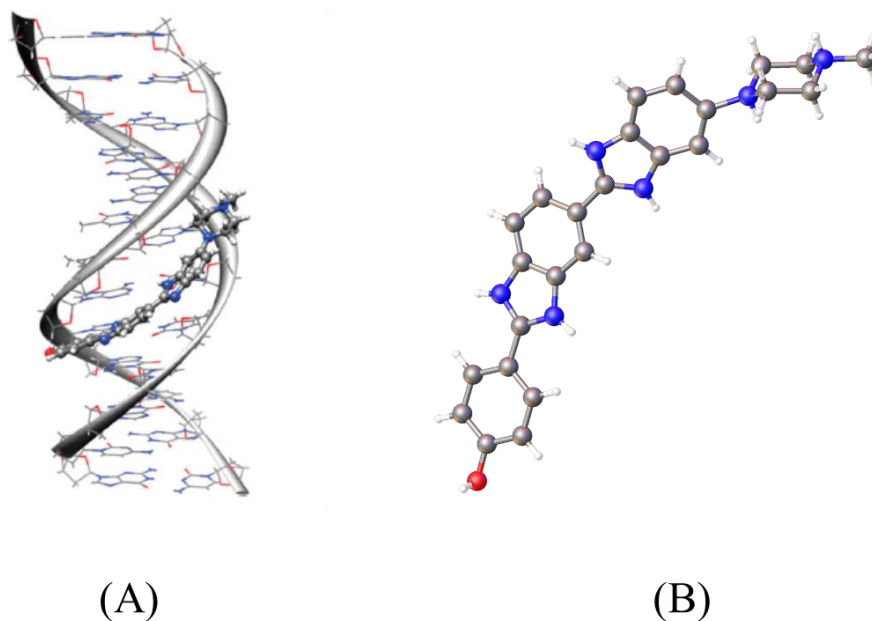


FIGURA 4. 68 –Estrutura do complexo formado entre dodecamero do DNA (CGCGAATTCGCG)₂ com o ligante Hoechst 33258 (A) e a estrutura do ligante Hoeschst (B).¹⁷²

O experimento foi realizado de forma qualitativa, sendo mostrado os espectros de fluorescência à 298K nas FIGURA 4.69 e 4.70.

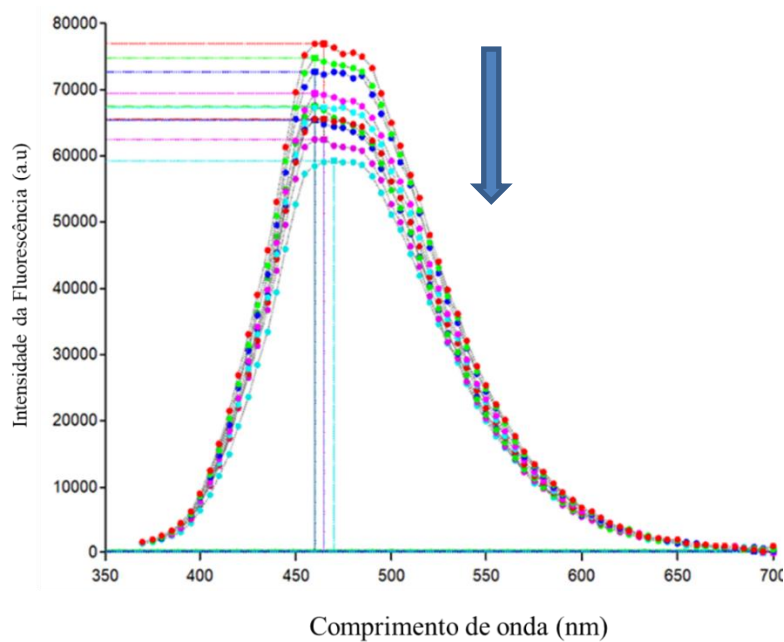


FIGURA 4.69 - Espectro de fluorescência de competitividade DNA/hoescht e complexo [RuCl(dppb)(55bipy)(Tol)]PF₆ (**4b**) em diversas concentrações (R_i= 0; 0.03; 0.06; 0.09; 0.12; 0.15; 0.18; 0.21; 0.24; 0.27; 0.30) a 298K com excitação em 370 nm.

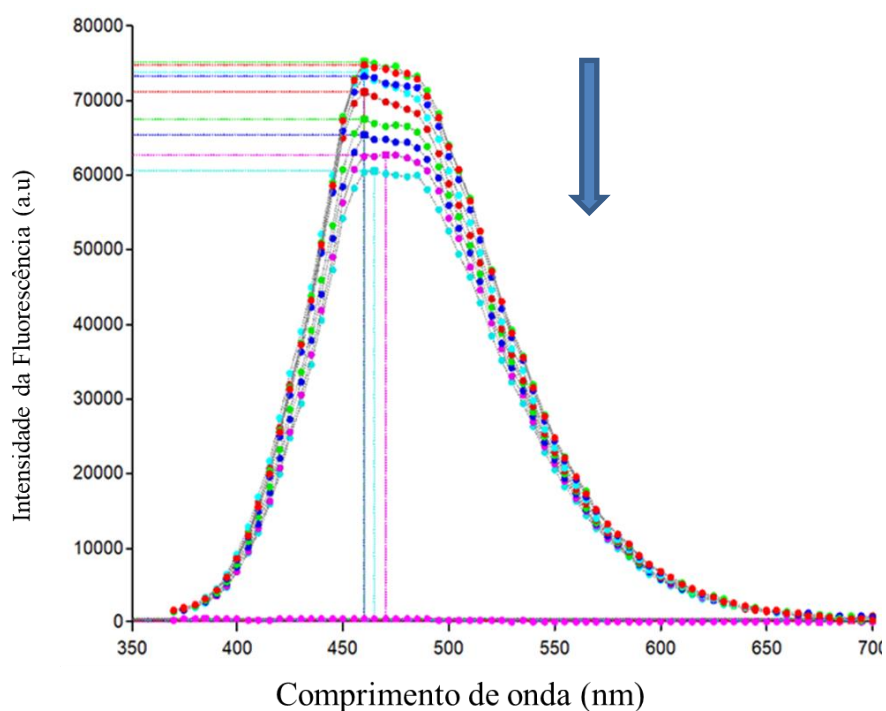


FIGURA 4.70 - Espectro de fluorescência da competitividade DNA/hoescht e complexo [RuCl(PPh₃)₂(44bipy)(Tol)]PF₆ (**7b**) em diversas concentrações (R_i=

0; 0.03; 0.06; 0.09; 0.12; 0.15; 0.18; 0.21; 0.24; 0.27; 0.30) a 298K com excitação em 370 nm.

Devido à solubilidade limitada nessas condições experimentais, os Ri utilizados ficaram na faixa de 0 a 0.3, que já nos permitiu verificar a diminuição da fluorescência observada quando temos apenas DNA/Hoescht. Esta diminuição pode ser explicada pela substituição do ligante Hoescht pelo composto, indicando que a interação também pode ocorrer pelo sulco menor do DNA, o que está de acordo com os dados obtidos pela eletroforese em gel.

4.4.2 – Estudo de morte celular

Um dos processos mais importantes na manutenção da homeostase no organismo é a apoptose, conhecida como morte celular programada, que elimina células desnecessárias, danificadas ou potencialmente nocivas.¹⁷³

Durante o processo de morte celular várias alterações estruturais podem ocorrer na célula, sendo a externalização da fosfatidilserina e a perda de simetria do fosfolipídio da membrana na superfície um mecanismo de sinalização para o processo de apoptose, sendo o facilitador do reconhecimento por proteínas dependente de íons cálcio, como a Anexina V que pode ser conjugadas com fluorocromos como Ficoeritrina conhecido com PE. Desta forma, a coloração obtida pela interação entre PE e Anexina V é utilizada juntamente com algum corante como por exemplo 7-amino-Actinomicina (7-AAD) o que nos permite detectar e quantificar células em apoptose precoce.

Para avaliar e quantificar o tipo de morte apresentado pelas células expostas aos compostos $[\text{RuCl}(\text{dppb})(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**4b**) e $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**7b**), utilizou-se o kit de PE anexina V/7ADD. Os dados coletados por citometria de fluxo relativos à marcação das culturas expostas aos diferentes compostos, utilizou-se também o controle negativo e positivo. O controle negativo é formado por células tratadas apenas com o DMSO (5%), sendo que a sua maioria se apresenta na forma de células viáveis e desta forma

impermeáveis ao 7ADD e sem marcação com PE Anexina V pois não devem apresentar externalização da fosfatidilserina. Para controle positivo foi utilizado o fármaco camptotecina na concentração de 32 μM , que tem a capacidade de induzir morte celular por apoptose, sendo possível observar o aumento na porcentagem de células em apoptose inicial e tardia quando comparado com o controle negativo.

Para os compostos **4b** e **7b** os experimentos foram realizados utilizando 3 diferentes concentrações de complexo, sendo 0,5, 2,5 e 5 mM. Observou-se que ambos compostos são capazes de induzir a apoptose já na menor concentração estudada, verificando que um elevado número de células tanto em apoptose inicial quanto apoptose tardia, como pode ser observado nas FIGURA 4.71 e 4.72.

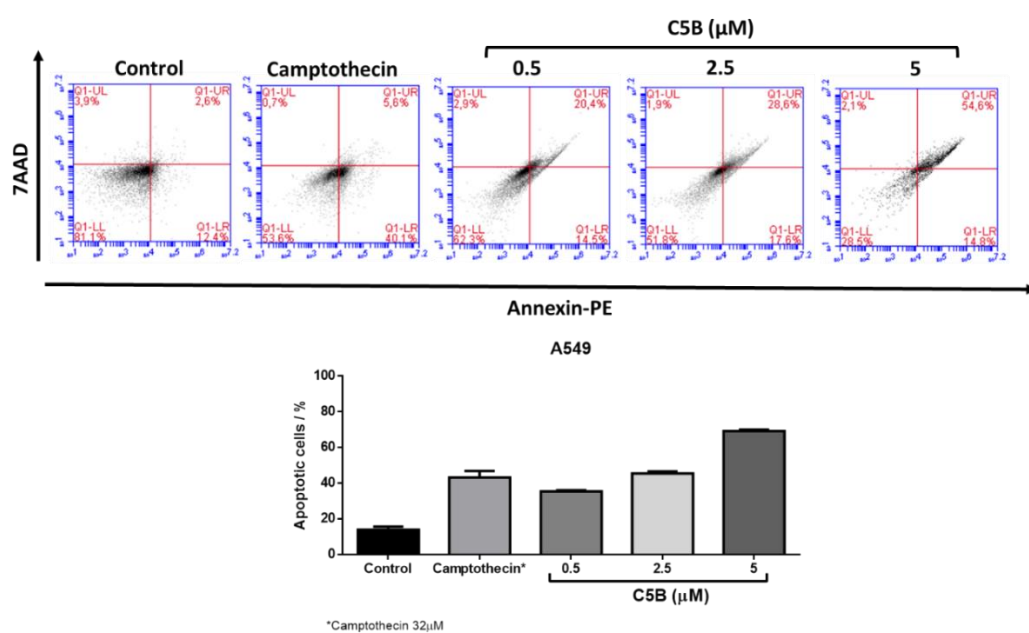


FIGURA 4.71 – Ensaio de citometria de fluxo para a marcação com PE Anexina-V e 7ADD de células da linhagem A549, incubadas durante 48 horas na presença do controle negativo, 32 μM de camptotecina e 0,5, 2,5 e 5 μM do composto $[\text{RuCl}(\text{dppb})(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**4b**).

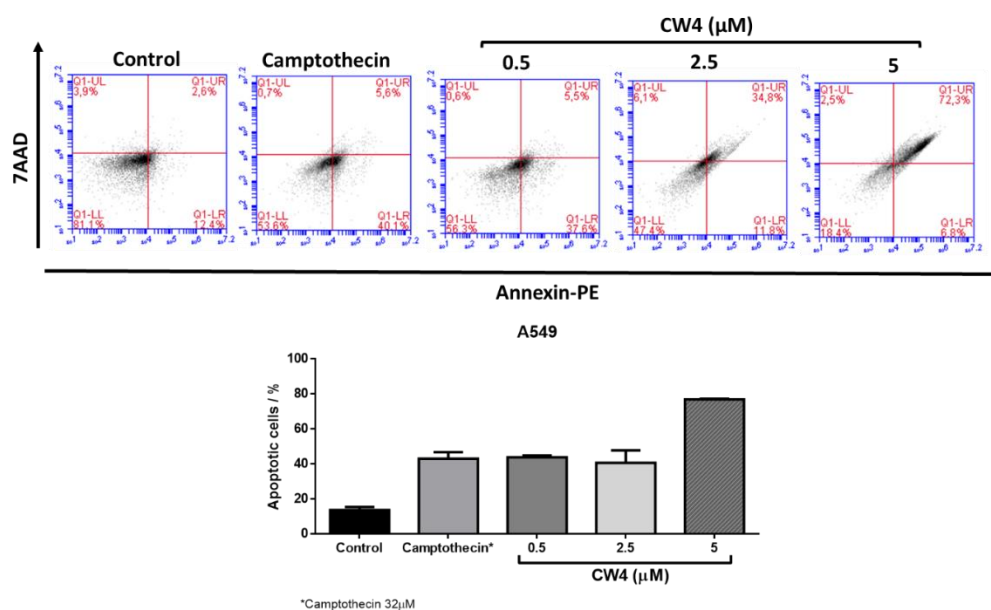


FIGURA 4.72 - Ensaio de citometria de fluxo para a marcação com PE Anexina-V e 7ADD de células da linhagem A549, incubadas durante 48 horas na presença do controle negativo, 32 μM de camptotecina e 0.5, 2.5 e 5 μM do composto $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**7b**).

Desta forma o experimento realizado permitiu compreender como os compostos agem no processo de morte celular. Verificou-se que a medida que a concentração dos compostos aumenta, ocorre um aumento no número de células em apoptose, e que os compostos estudados conseguem induzir as células a morte por apoptose e uma quantidade muito pequena de células apresenta morte por necrose o que é desejável para um fármaco.

CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES

Neste trabalho foram obtidos quinze novos de complexos de rutênio(II), divididos em duas séries, na 1ª série contendo apenas ligantes diimínicos e fosfínicos e a 2ª série contendo além destes o ligante isocianida de *p*-toluenosulfonilmetila.

As caracterizações obtidas confirmam a obtenção das novas estruturas, para os compostos da 2ª série o uso da espectroscopia vibracional na região do infravermelho mostraram-se mais informativos devido a presença do grupo funcional isocianida que apresenta uma banda de absorção característica em 2140 cm⁻¹, onde foi possível acompanhar o deslocamento desta banda indicando que a coordenação ocorre pela formação da ligação Ru-C, com a formação do composto organometálico.

Para os compostos obtidos os experimentos de ressonância magnética nuclear de ³¹P{¹H} apresentaram-se na forma de singlete para o composto **1a e 5b-8b** e dois dubletos para os compostos **2a-5a e 1b-4b**. Para os compostos da série 1, nos experimentos de ¹H-¹H COSY foram encontrados o comportamento não usual na separação de duas fenilas da dppb, esta observação ainda não reportada na literatura, permitiu explicar como ocorre a diferenciação de 10 prótons aromáticos por interações π-stacking em solução causada por combinação de efeitos eletrônicos e estéricos. O efeito encontrado para duas fenilas em π-stacking nos experimentos de RMN mostrou-se concordante com os dados de difração de raios-X de monocristal e cálculos DFT, o que confirma a nossa hipótese.

A partir das observações que os grupos fenilas influenciam os deslocamentos químicos dos H aromáticos dos ligantes diimínicos, os compostos da série 1 foram otimizados por métodos de estrutura eletrônica, mostrando que os espectros de rmn ¹H teóricos obtidos apresentaram os deslocamentos químicos

com muito similares aos obtidos experimentalmente, confirmando assim os efeitos eletrônicos envolvidos no π -stacking gerado entre a fosfina e a diimína.

Nos ensaios de interação com o DNA foi observado que os compostos interagem fracamente com o DNA, sendo que os compostos da série 2 possivelmente interagem eletrostaticamente pelo suco menor, sendo que as técnicas viscosidade, eletroforese em gel e ensaio de competitividade do composto com Hoescht apresentaram boa concordância entre si.

No estudo de interação com a HSA, conclui-se que os compostos apresentam características semelhantes nas duas séries sendo que os valores de constante de interação (K_b) se encontram na faixa de 10^4 - 10^6 que são interações de moderadas a forte, e o mecanismo e que os compostos **1a-5a** interagem com HSA por forças de van der Waals e os compostos **1b-8b** por forças hidrofóbicas, em todos os casos os compostos interagem espontaneamente com a molécula de HSA apresentando valores de ΔG negativos.

Para o estudo da lipofilicidade dos complexos foi determinado o coeficiente de partição dos complexos, sendo que o composto **6a** foi o composto mais hidrofílico, indicando como a fosfina pode influenciar nas propriedades dos compostos, aumentando assim sua lipofilicidade. Os compostos sintetizados podem apresentar a capacidade de permear a membrana celular que os compostos **1a-5a** e **1b-8b** são lipofílicos.

Os complexos das duas séries tiveram suas atividades citotóxicas testadas, *in vitro*, contra as células tumorais de câncer de pulmão (A549), células tumorais de próstata (DU-145) e comparadas com a atividade em células não-tumorais de pulmão (MCR-5). Os compostos da série 1 apresentaram atividade citotóxica nas linhagens tumorais na faixa de 7,41 a 41,83 μM , exceto o composto **2a** que não apresentou atividade na linhagem DU-145, porém os compostos não apresentaram seletividade as células tumorais. O composto **6a** ($[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$)

usado para comparação não apresentou atividade biológicas nas linhagens testadas, o que pode indicar que os ligantes fosfínicos apresentam importante papel na atividade biológica dos compostos.

Para os compostos da série 2 os dados foram mais promissores sendo que a faixa de IC_{50} ficou entre 0,34 e 1,66 μM para a linhagem A549, sendo de 2,06 a 4,20 μM para a linhagem DU-145 e para a linhagem não-tumoral MCR-5 entre 1,14 e 4,48 μM . Estes dados mostraram que para esta série foram até 140 vezes mais ativos que o fármaco de referência e até 3 vezes mais seletivos.

Verificamos que os grupos fosfínicos aqui estudados apresentam papel central nas propriedades estruturais dos complexos, na série 1 alterando o ambiente químico dos H por interação π -stacking com os ligantes diimínicos promovendo uma inesperada separação dos nos espectros de RMN ^1H , e a provavelmente influência na atividade biológica dos complexos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. THOMAS, G. Química Medicinal.ed. Brasil, 2003. p.
2. OLIVEIRA, E.A.; LABRA, M.E. & BERMUDEZ, J. "A produção pública de medicamentos no Brasil: uma visão geral". Cad. Saúde Pública, 22 (11): 2379, 2006.
3. VIEIRA, V.M.M. "Inovação em fármacos e medicamentos: estado-da-arte no Brasil e políticas de P&D". Rev. Econ. e Gest., 6 (13) 2006.
4. CALIXTO, J.B. & SIQUEIRA JR., J.M. "Desenvolvimento de Medicamentos no Brasil: Desafios". Gazeta Médica da Bahia, 78 (1): 98, 2008.
5. ORLOFF, J.; DOUGLAS, F.; PINHEIRO, J.; LEVINSON, S.; BRANSON, M.; CHATURVEDI, P.; ETTE, E.; GALLO, P.; HIRSCH, G.; MEHTA, C.; PATEL, N.; SABIR, S.; SPRINGS, S.; STANSKI, D.; EVERS, M.R.; FLEMING, E.; SINGH, N.; T., T. & H., G. "The future of drug development: advancing clinical trial design". Nat. Rev. Drug. Disc., 8: 949, 2009.
6. GUIDO, R.V.C.; ANDRICOPULO, A.D. & G., O. "Drug design, biotechnology and medicinal chemistry: applications to infectious diseases". Estudos Avançados, 24 (70): 81, 2010.
7. MJOS, K.D. & ORVIG, C. "Metallo drugs in medicinal inorganic chemistry". Chemical reviews, 114 (8): 4540, 2014.
8. KOZARICH, J.W., *Medicinal Inorganic Chemistry: Promises and Challenges*, in *Medicinal Inorganic Chemistry*, SESSLER, J.L.; DOCTROW, S.R.; MCMURRY, T.J. & LIPPARD, S.J., Editors. 2005, American Chemical Society: Whashington. p. 4.
9. FARRER, N.J. & SADLER, P.J., *Medicinal Inorganic Chemistry: State of the Art, New Trends, and a Vision of the Future*, in *Bioinorganic Medicinal Chemistry*, ALESSIO, E., Editor. 2011, WILEY-VCH: Weinheim. p. 1.
10. EHRLICH, P. & BERTHEIM, A. "Über das salzsaure 3.3'-Diamino-4.4'-dioxy-arsenobenzol und seine nächsten Verwandten". Eingegangen, 6 1912.
11. LLOYD, N.C.; MORGAN, H.W.; NICHOLSON, B.K. & RONIMUS, R.S. "The composition of Ehrlich's salvarsan: resolution of a century-old debate". Angew. Chem. Int. Ed., 44 (6): 941, 2005.
12. MEDICI, S.; PEANA, M.; NURCHI, V.M.; LACHOWICZ, J.I.; CRISPONI, G. & ZORODDU, M.A. "Noble metals in medicine: Latest advances". Coordination Chemistry Reviews, 284: 329, 2015.
13. ZHANG, H.; ZHANG, M.; WANG, Y.; WANG, Y.; SUN, S.; FEI, Z. & CAO, J. "Effects of selected two noble metal ions in medicine on the structure and activity of bovine serum albumin: A multi-spectral studies". Journal of Luminescence, 194: 519, 2018.

14. POLJAREVIC, J.M.; TAMAS GAL, G.; MAY, N.V.; SPENGLER, G.; DOMOTOR, O.; SAVIC, A.R.; GRGURIC-SIPKA, S. & ENYEDY, E.A. "Comparative solution equilibrium and structural studies of half-sandwich ruthenium(II)(eta(6)-toluene) complexes of picolinate derivatives". *Journal of inorganic biochemistry*, 181: 74, 2018.
15. MENG, J.; ZHANG, H.; DONG, X.; LIU, F. & SUN, Y. "RTHLVFFARK-NH₂: A potent and selective modulator on Cu(2+)-mediated amyloid-beta protein aggregation and cytotoxicity". *Journal of inorganic biochemistry*, 181: 56, 2018.
16. BYKOWSKA, A.; KOMARNICKA, U.K.; JEZOWSKA-BOJCZUK, M. & KYZIOL, A. "Cu(I) and Cu(II) complexes with phosphine derivatives of fluoroquinolone antibiotics - A comparative study on the cytotoxic mode of action". *Journal of inorganic biochemistry*, 181: 1, 2018.
17. GAMBINO, D. "Potential Therapeutic Applications of Metal Compounds Directed Towards Hypoxic Tissues". *Current Medicinal Chemistry*, 17 (31): 3616, 2010.
18. SERVIER, L.L., *3000 free medical images*. 2017.
19. Estimativa 2016, Incidência de câncer no Brasil, 2015, <http://www.inca.gov.br/wcm/dncc/2015/estimativa-2016.asp>, acessado em: 18/12/15.
20. SILVA, I.N.D.C.J.A.G.D., *Incidência de câncer no Brasil*, INCA, Editor. 2018: Rio de Janeiro.
21. DE OLIVEIRA, M.M.; MALTA, D.C.; GUAUCHE, H.; DE MOURA, L. & SILVA, G.A. "Estimated number of people diagnosed with cancer in Brazil: data from the National Health Survey, 2013". *Revista brasileira de epidemiologia = Brazilian journal of epidemiology*, 18 Suppl 2: 146, 2015.
22. HASSANPOUR, S.H. & DEHGHANI, M. "Review of cancer from perspective of molecular". *Journal of Cancer Research and Practice*, 4 (4): 127, 2017.
23. LIM, S.S.; VOS, T.; FLAXMAN, A.D.; DANAEI, G.; SHIBUYA, K.; ADAIR-ROHANI, H.; ALMAZROA, M.A.; AMANN, M.; ANDERSON, H.R.; ANDREWS, K.G.; ARYEE, M.; ATKINSON, C.; BACCHUS, L.J.; BAHALIM, A.N.; BALAKRISHNAN, K.; BALMES, J.; BARKER-COLLO, S.; BAXTER, A.; BELL, M.L.; BLORE, J.D.; BLYTH, F.; BONNER, C.; BORGES, G.; BOURNE, R.; BOUSSINESQ, M.; BRAUER, M.; BROOKS, P.; BRUCE, N.G.; BRUNEKREEF, B.; BRYAN-HANCOCK, C.; BUCELLO, C.; BUCHBINDER, R.; BULL, F.; BURNETT, R.T.; BYERS, T.E.; CALABRIA, B.; CARAPETIS, J.; CARNAHAN, E.; CHAFE, Z.; CHARLSON, F.; CHEN, H.; CHEN, J.S.; CHENG, A.T.-A.; CHILD, J.C.; COHEN, A.; COLSON, K.E.; COWIE, B.C.; DARBY, S.; DARLING, S.; DAVIS, A.; DEGENHARDT, L.; DENTENER, F.; DES JARLAIS, D.C.; DEVRIES, K.; DHERANI, M.; DING, E.L.; DORSEY,

- E.R.; DRISCOLL, T.; EDMOND, K.; ALI, S.E.; ENGELL, R.E.; ERWIN, P.J.; FAHIMI, S.; FALDER, G.; FARZADFAR, F.; FERRARI, A.; FINUCANE, M.M.; FLAXMAN, S.; FOWKES, F.G.R.; FREEDMAN, G.; FREEMAN, M.K.; GAKIDOU, E.; GHOSH, S.; GIOVANNUCCI, E.; GMEL, G.; GRAHAM, K.; GRAINGER, R.; GRANT, B.; GUNNELL, D.; GUTIERREZ, H.R.; HALL, W.; HOEK, H.W.; HOGAN, A.; HOSGOOD, H.D.; HOY, D.; HU, H.; HUBBELL, B.J.; HUTCHINGS, S.J.; IBEANUSI, S.E.; JACKLYN, G.L.; JASRASARIA, R.; JONAS, J.B.; KAN, H.; KANIS, J.A.; KASSEBAUM, N.; KAWAKAMI, N.; KHANG, Y.-H.; KHATIBZADEH, S.; KHOO, J.-P.; KOK, C.; LADEN, F.; LALLOO, R.; LAN, Q.; LATHLEAN, T.; LEASHER, J.L.; LEIGH, J.; LI, Y.; LIN, J.K.; LIPSHULTZ, S.E.; LONDON, S.; LOZANO, R.; LU, Y.; MAK, J.; MALEKZADEH, R.; MALLINGER, L.; MARCENES, W.; MARCH, L.; MARKS, R.; MARTIN, R.; MCGALE, P.; MCGRATH, J.; MEHTA, S.; MEMISH, Z.A.; MENSAH, G.A.; MERRIMAN, T.R.; MICHA, R.; MICHAUD, C.; MISHRA, V.; HANAFIAH, K.M.; MOKDAD, A.A.; MORAWSKA, L.; MOZAFFARIAN, D.; MURPHY, T.; NAGHAVI, M.; NEAL, B.; NELSON, P.K.; NOLLA, J.M.; NORMAN, R.; OLIVES, C.; OMER, S.B.; ORCHARD, J.; OSBORNE, R.; OSTRO, B.; PAGE, A.; PANDEY, K.D.; PARRY, C.D.H.; PASSMORE, E.; PATRA, J.; PEARCE, N.; PELIZZARI, P.M.; PETZOLD, M.; PHILLIPS, M.R.; POPE, D.; POPE, C.A.; POWLES, J.; RAO, M.; RAZAVI, H.; REHFUESS, E.A.; REHM, J.T.; RITZ, B.; RIVARA, F.P.; ROBERTS, T.; ROBINSON, C.; RODRIGUEZ-PORTALES, J.A.; ROMIEU, I.; ROOM, R.; ROSENFELD, L.C.; ROY, A.; RUSHTON, L.; SALOMON, J.A.; SAMPSON, U.; SANCHEZ-RIERA, L.; SANMAN, E.; SAPKOTA, A.; SEEDAT, S.; SHI, P.; SHIELD, K.; SHIVAKOTI, R.; SINGH, G.M.; SLEET, D.A.; SMITH, E.; SMITH, K.R.; STAPELBERG, N.J.C.; STEENLAND, K.; STÖCKL, H.; STOVNER, L.J.; STRAIF, K.; STRANEY, L.; THURSTON, G.D.; TRAN, J.H.; VAN DINGENEN, R.; VAN DONKELAAR, A.; VEERMAN, J.L.; VIJAYAKUMAR, L.; WEINTRAUB, R.; WEISSMAN, M.M.; WHITE, R.A.; WHITEFORD, H.; WIERSMA, S.T.; WILKINSON, J.D.; WILLIAMS, H.C.; WILLIAMS, W.; WILSON, N.; WOOLF, A.D.; YIP, P.; ZIELINSKI, J.M.; LOPEZ, A.D.; MURRAY, C.J.L. & EZZATI, M. "A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010". *The Lancet*, 380 (9859): 2224, 2012.
24. SOCIETY, A.C., *Cancer A–Z*. 2018.
25. ADMINISTRATION, U.S.F.A.D., *FDA approves novel gene therapy to treat patients with a rare form of inherited vision loss*. 2017.
26. CAROLINA DANTAS & OLIVEIRA, M., *Terapia genética para o câncer deve chegar ao Brasil em 2018*, GLOBO.COM, Editor. 2017.

27. KELVIN., J.F. & TYSON., L.B. 100 Questions and Answers About Cancer Symptoms and Cancer Treatment Side Effects. 2a ed. Sudbury, Jones and Bartlett Publishers, 2011. p. 2
28. EVANS, E. & STAFFURTH, J. "Principles of cancer treatment by radiotherapy". *Surgery (Oxford)*, 36 (3): 111, 2018.
29. JOHNSTON, D.H.; MILLER, N.A. & TACKETT, C.B. "cis-Diamminedichloridoplatinum(II) N,N-dimethyl-formamide monosolvate". *Acta crystallographica. Section E, Structure reports online*, 68 (Pt 7): m863, 2012.
30. KAUFFMAN, G.B.; PENTIMALLI, R.; DOLDI, S. & HALL, M.D. "Michele Peyrone (1813-1883), Discoverer of Cisplatin". *Platinum Metals Review*, 54 (4): 250, 2010.
31. ROSENBERG, B., *Platinum Complexes for the Treatment of Cancer: Why the Search Goes On*, in *Cisplatin: Chemistry and Biochemistry of a Leading Anticancer Drug*, LIPPERT, B., Editor. 1999: Zürich. p. 3.
32. M. BENEDETTI; C. DUCANI; D. MIGONI; D. ANTONUCCI; V.M. VECCHIO; A.ROMANO; T. VERRI & FANIZZI, F.P., *Possible Incorporation of Free N7-Platinated Guanines in DNA by DNA Polymerases, Relevance for the Cisplatin Mechanism of Action*, in *Cancer Drug Discovery and Development: Platinum and Other Heavy Metal Compounds in Cancer Chemother*, BONETTI, A.; MUGGIA, F.M.; LEONE, R. & HOWELL, S.B., Editors. 2009, Humana Press: New York. p. 125.
33. FONTES, A.P.S.; CÉSAR, E.T. & BERALDO, H. "A química inorgânica na terapia do câncer". *Química Nova na Escola*, 6: 13, 2005.
34. DASARI, S. & TCHOUNWOU, P.B. "Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action". *European journal of pharmacology*, 740: 364, 2014.
35. HARTINGER, C.G.; ZORBAS-SEIFRIED, S.; JAKUPEC, M.A.; KYNAST, B.; ZORBAS, H. & KEPPLER, B.K. "From bench to bedside--preclinical and early clinical development of the anticancer agent indazolium trans-[tetrachlorobis(1H-indazole)ruthenate(III)] (KP1019 or FFC14A)". *Journal of inorganic biochemistry*, 100 (5-6): 891, 2006.
36. GROUP, L.I.P.B.I.L., *New Generation of Platinated Compounds to Circumvent Resistance*. 2017.
37. TODD, R.C. & LIPPARD, S.J., *PoX-ray Crystal Structure of a Monofunctional Platinum–DNA Adduct, cis-{Pt(NH3)2-(Pyridine)}2+ Bound to Deoxyguanosine in a Dodecamer Duplex*, in *Cancer Drug Discovery and Development: Platinum and Other Heavy Metal Compounds in Cancer Chemother*, BONETTI, A.; MUGGIA, F.M.; LEONE, R. & HOWELL, S.B., Editors. 2009, Humana Press: New York. p. 67.

38. GIELEN, M. & TIEKINK, E.R.T. METALLOTHERAPEUTIC DRUGS AND METAL-BASED DIAGNOSTIC AGENTS: THE USE OF METALS IN MEDICINE.ed. 2005. p.
39. SUN, R.W.; ZHANG, M.; LI, D.; LI, M. & WONG, A.S. "Enhanced anti-cancer activities of a gold(III) pyrrolidinedithiocarbamate complex incorporated in a biodegradable metal-organic framework". *Journal of inorganic biochemistry*, 163: 1, 2016.
40. CHEN, Y.; GUAN, R.; ZHANG, C.; HUANG, J.; JI, L. & CHAO, H. "Two-photon luminescent metal complexes for bioimaging and cancer phototherapy". *Coordination Chemistry Reviews*, 310: 16, 2016.
41. HO, G.Y.; WOODWARD, N. & COWARD, J.I. "Cisplatin versus carboplatin: comparative review of therapeutic management in solid malignancies". *Critical reviews in oncology/hematology*, 102: 37, 2016.
42. ZHANG, P.; HUANG, W.; WANG, Y.; LI, H.; LIANG, C.; HE, C.; WANG, H. & ZHANG, Q. "Isomeric ruthenium(II) complexes for cancer therapy and cellular imaging". *Inorganica Chimica Acta*, 469: 593, 2018.
43. ALAGESAN, M.; BHUVANESH, N.S. & DHARMARAJ, N. "An investigation on new ruthenium(II) hydrazone complexes as anticancer agents and their interaction with biomolecules". *Dalton transactions*, 43 (16): 6087, 2014.
44. DRAGUTAN, I.; DRAGUTAN, V. & DEMONCEAU, A. "Editorial of Special Issue Ruthenium Complex: The Expanding Chemistry of the Ruthenium Complexes". *Molecules*, 20 (9): 17244, 2015.
45. MARIAPPAN, M.; ALAGARSAMY, R.; PANNEERSELVAM, A.P.; VEERAPPAN, A.; RAJENDRAN, S. & ARUNACHALAM, J. "Synthesis, solvatochromism, photochemistry, DNA binding, photocleavage, cytotoxicity and molecular docking studies of a ruthenium(II) complex bearing photoactive subunit". *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 356: 617, 2018.
46. OLGUÍN, J. & PAZ-SANDOVAL, M.Á. "Synthesis and transfer hydrogenation catalysis of chelating triazolylidene ruthenium(II) complexes: Effect of the pendant arm, p -cymene, acetonitrile and butadienesulfonyl co-ligands". *Journal of Organometallic Chemistry*, 848: 309, 2017.
47. GUO, Y.; ZHANG, W.; SUN, Y. & DAI, M. "Ruthenium nanoparticles stabilized by mercaptan and acetylene derivatives with supercapacitor application". *Electrochimica Acta*, 2018.
48. SCHMITT, F.; GOVINDASWAMY, P.; SUSS-FINK, G.; ANG, W.H.; DYSON, P.J.; JUILLERAT-JEANNERET, L. & THERRIEN, B. "Ruthenium porphyrin compounds for photodynamic therapy of cancer". *Journal of medicinal chemistry*, 51 (6): 1811, 2008.
49. ALESSIO, E.; ATTIA, W.M.; BERGER, M.R.; BRABEC, V.; BUTOUR, J.-L.; CASAZZA, A.M.; CALLIGARIS, M.; CAUCI, S.; CLARKE,

M.J.; DEFAIS, M.; DOLZANI, L.; FLECHTNER, H.; FARRELL, N.; HEIM, M.E.; HENN, M.; JOHNSON, N.P.; JUHL, U.M.; KEPPLER, B.K.; KOPF-MAIER, P.; LONG, B.H.; MARZILLI, L.G.; MAUSNER, L.F.; MEINEMA, H.A.; MESTRONI, G.; MONTI-BRAGADIN, C.; NIEBL, R.; PACOR, S.; PIERSON, V.; QUADRIFOGLIO, F.; SAVA, G.; SCHURIG, J.E.; SCOTT, E.V.; SRIVASTAVA, S.C.; TAMARO, M.; TIMMER, K.; VILLANI, G.; WAGNER, F.E.; WIMMER, F.L.; ZON, G. & ZORZET, S., *Ruthenium and Other Non-Platinum Metal Complexes in Cancer Chemotherapy*, in *Progress in clinical biochemistry and medicine*. 1989, Springer-Verlag: Berlin. p. 227.

50. NDAGI, U.; MHLONGO, N. & SOLIMAN, M.E. "Metal complexes in cancer therapy - an update from drug design perspective". *Drug design, development and therapy*, 11: 599, 2017.

51. KOSTOVA, I. "Ruthenium Complexes as Anticancer Agents". *Current Medicinal Chemistry*, 13 (9): 1085, 2006.

52. IRACE, C.; MISSO, G.; CAPUOZZO, A.; PICCOLO, M.; RICCARDI, C.; LUCHINI, A.; CARAGLIA, M.; PADUANO, L.; MONTESARCHIO, D. & SANTAMARIA, R. "Antiproliferative effects of ruthenium-based nucleolipidic nanoaggregates in human models of breast cancer in vitro: insights into their mode of action". *Scientific reports*, 7: 45236, 2017.

53. POPOLIN, C.P. & COMINETTI, M.R. "A Review of Ruthenium Complexes Activities on Breast Cancer Cells". *Mini reviews in medicinal chemistry*, 17 (15): 1435, 2017.

54. ZENG, L.; GUPTA, P.; CHEN, Y.; WANG, E.; JI, L.; CHAO, H. & CHEN, Z.S. "The development of anticancer ruthenium(ii) complexes: from single molecule compounds to nanomaterials". *Chemical Society reviews*, 46 (19): 5771, 2017.

55. ANTONARAKIS, E.S. & EMADI, A. "Ruthenium-based chemotherapeutics: are they ready for prime time?". *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 66 (1): 1, 2010.

56. ALESSIO, E. "Thirty Years of the Drug Candidate NAMI-A and the Myths in the Field of Ruthenium Anticancer Compounds: A Personal Perspective". *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2017 (12): 1549, 2017.

57. LEIJEN, S.; BURGERS, S.A.; BAAS, P.; PLUIM, D.; TIBBEN, M.; VAN WERKHOVEN, E.; ALESSIO, E.; SAVA, G.; BEIJNEN, J.H. & SCHELLENS, J.H. "Phase I/II study with ruthenium compound NAMI-A and gemcitabine in patients with non-small cell lung cancer after first line therapy". *Invest. New Drugs*, 33 (1): 201, 2014.

58. ANTONARAKIS, E.S. & EMADI, A. "Ruthenium-based chemotherapeutics: are they ready for prime time?". *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 66 (1): 1, 2010.

59. AITKEN, J.B.; ANTONY, S.; WEEKLEY, C.M.; LAI, B.; SPICCIA, L. & HARRIS, H.H. "Distinct cellular fates for KP1019 and NAMI-A determined by X-ray fluorescence imaging of single cells". *Metallomics : integrated biometal science*, 4 (10): 1051, 2012.

60. KUHN, P.S.; PICHLER, V.; ROLLER, A.; HEJL, M.; JAKUPEC, M.A.; KANDIOLLER, W. & KEPPLER, B.K. "Improved reaction conditions for the synthesis of new NKP-1339 derivatives and preliminary investigations on their anticancer potential". *Dalton Trans.*, 44 (2): 659, 2014.

61. MONTEL, A.M.; DOS SANTOS, R.G.; DA COSTA, P.R.; SILVEIRA-LACERDA, E.P.; BATISTA, A.A. & DOS SANTOS, W.G. "Neutron activation increases activity of ruthenium-based complexes and induces cell death in glioma cells independent of p53 tumor suppressor gene". *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*, 30 (2): 295, 2017.

62. BARBOSA, M.I.F., Complexos Carbonílicos de Rutênio. De um Gás Tóxico a Uma Droga com Potencial Agente Citotóxico. Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar, 2007. Dissertação de Mestrado, 127 p.

63. CORRÊA, R.D.S., Complexos de Rutênio com Ligantes de Interesse Biológico Aspectos Químicos, Estruturais e Avaliação de Suas Atividades Biológicas. . São Carlos - SP, Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar, 2013. 127 p.

64. DOS SANTOS, E.R.; CORRÊA, R.S.; POZZI, L.V.; GRAMINHA, A.E.; SELISTRE-DE-ARAÚJO, H.S.; PAVAN, F.R. & BATISTA, A.A. "Antitumor and anti- Mycobacterium tuberculosis agents based on cationic ruthenium complexes with amino acids". *Inorganica Chimica Acta*, 463: 1, 2017.

65. D'SOUSA COSTA, C.O.; ARAUJO NETO, J.H.; BALIZA, I.R.S.; DIAS, R.B.; VALVERDE, L.F.; VIDAL, M.T.A.; SALES, C.B.S.; ROCHA, C.A.G.; MOREIRA, D.R.M.; SOARES, M.B.P.; BATISTA, A.A. & BEZERRA, D.P. "Novel pipartine-containing ruthenium complexes: synthesis, cell growth inhibition, apoptosis induction and ROS production on HCT116 cells". *Oncotarget*, 8 (61): 104367, 2017.

66. PEREIRA FDE, C.; LIMA, B.A.; DE LIMA, A.P.; PIRES, W.C.; MONTEIRO, T.; MAGALHAES, L.F.; COSTA, W.; GRAMINHA, A.E.; BATISTA, A.A.; ELLENA, J. & SIVEIRA-LACERDA EDE, P. "Cis-[RuCl(BzCN)(N-N)(P-P)]PF₆ complexes: Synthesis and in vitro antitumor activity: (BzCN=benzonitrile; N-N=2,2'-bipyridine; 1,10-phenanthroline; P-P=1,4-bis(diphenylphosphino) butane, 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane, or 1,1'-(diphenylphosphino)ferrocene)". *Journal of inorganic biochemistry*, 149: 91, 2015.

67. BAROLLI, J.P.; MAIA, P.I.S.; COLINA-VEGAS, L.; MOREIRA, J.; PLUTIN, A.M.; MOCELO, R.; DEFLON, V.M.; COMINETTI, M.R.;

CAMARGO-MATHIAS, M.I. & BATISTA, A.A. "Heteroleptic tris-chelate ruthenium(II) complexes of N , N -disubstituted- N '-acylthioureas: Synthesis, structural studies, cytotoxic activity and confocal microscopy studies". *Polyhedron*, 126: 33, 2017.

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

69. BAROLLI, J.; CORRÊA, R.; MIRANDA, F.; RIBEIRO, J.; BLOCH JR, C.; ELLENA, J.; MORENO, V.; COMINETTI, M. & BATISTA, A. "Polypyridyl Ruthenium Complexes: Novel DNA-Intercalating Agents against Human Breast Tumor". *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2017.

70. CORREA, R.S.; DE OLIVEIRA, K.M.; DELOLO, F.G.; ALVAREZ, A.; MOCELO, R.; PLUTIN, A.M.; COMINETTI, M.R.; CASTELLANO, E.E. & BATISTA, A.A. "Ru(II)-based complexes with N-(acyl)-N',N'-(disubstituted)thiourea ligands: Synthesis, characterization, BSA- and DNA-binding studies of new cytotoxic agents against lung and prostate tumour cells". *Journal of inorganic biochemistry*, 150: 63, 2015.

71. PAGES, B.J.; ANG, D.L.; WRIGHT, E.P. & ALDRICH-WRIGHT, J.R. "Metal complex interactions with DNA". *Dalton transactions*, 44 (8): 3505, 2015.

72. LIU, Y.J.; ZENG, C.H.; YAO, J.H.; WU, F.H.; HE, L.X. & HUANG, H.L. "Synthesis, structure, DNA-binding properties, and cytotoxicity of ruthenium(II) polypyridyl complexes". *Chemistry & biodiversity*, 7 (7): 1770, 2010.

73. CHAO, H. & JI, L.N. "DNA interactions with ruthenium(II) polypyridine complexes containing asymmetric ligands". *Bioinorganic chemistry and applications*: 15, 2005.

74. QIAN, C.; WU, J.; JI, L. & CHAO, H. "Topoisomerase II α poisoning and DNA double-strand breaking by chiral ruthenium(ii) complexes containing 2-furanyl-imidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline derivatives". *Dalton transactions*, 45 (26): 10546, 2016.

75. SINGH, S.K.; JOSHI, S.; SINGH, A.R.; SAXENA, J.K. & PANDEY, D.S. "DNA binding and topoisomerase II inhibitory activity of water-soluble ruthenium(II) and rhodium(III) complexes". *Inorg Chem*, 46 (25): 10869, 2007.

76. SAMPATH, K. & JAYABALAKRISHNAN, C. "Biomolecular interaction and cytotoxicity of ruthenium(III) benzothiazole substituted ferrocenyl thiosemicarbazone complexes". *Arabian Journal of Chemistry*, 10: S3207, 2017.

77. POPOLIN, C.P.; REIS, J.P.B.; BECCENERI, A.B.; GRAMINHA, A.E.; ALMEIDA, M.A.P.; CORREA, R.S.; COLINA-VEGAS, L.A.; ELLENA, J.; BATISTA, A.A. & COMINETTI, M.R. "Cytotoxicity and anti-tumor effects

of new ruthenium complexes on triple negative breast cancer cells". *PloS one*, 12 (9): e0183275, 2017.

78. SUN, J.; HUANG, Y.; ZHENG, C.; ZHOU, Y.; LIU, Y. & LIU, J. "Ruthenium (II) complexes interact with human serum albumin and induce apoptosis of tumor cells". *Biological trace element research*, 163 (1-2): 266, 2015.

79. CACITA, N. & NIKOLAOU, S. "Studying the interaction between trinuclear ruthenium complexes and human serum albumin by means of fluorescence quenching". *Journal of Luminescence*, 169: 115, 2016.

80. KAES, C.; KATZ, A. & HOSSEINI, M.W. "Bipyridine: The Most Widely Used Ligand. A Review of Molecules Comprising at Least Two 2,2'-Bipyridine Units". *Chem. Rev.*, 100: 3553, 1999.

81. DOS SANTOS, P.R.; ELY, M.R.; DUMAS, F. & MOURA, S. "Synthesis, structural characterization and previous cytotoxicity assay of Zn(II) complex containing 1,10-phenanthroline and 2,2'-bipyridine with valproic acid". *Polyhedron*, 90: 239, 2015.

82. GONÇALVES, M.R. & FRIN, K.P.M. "Synthesis, characterization, photophysical and electrochemical properties of rhenium(I) tricarbonyl diimine complexes with triphenylphosphine ligand". *Polyhedron*, 132: 20, 2017.

83. CHUNG, W.-K.; NG, M.; ZHU, N.; SIU, S.K.-L. & YAM, V.W.-W. "Synthesis, characterization and computational studies of luminescent rhenium(I) tricarbonyl diimine complexes with 8-hydroxyquinoline-containing alkynyl ligands". *Journal of Organometallic Chemistry*, 847: 278, 2017.

84. MARTÍN-RAMOS, P.; MIRANDA, M.D.; SILVA, M.R.; EUSEBIO, M.E.S.; LAVÍN, V. & MARTÍN-GIL, J. "A new near-IR luminescent erbium(III) complex with potential application in OLED devices". *Polyhedron*, 65: 187, 2013.

85. COLINA-VEGAS, L.; DUTRA, J.L.; VILLARREAL, W.; DE, A.N.J.H.; COMINETTI, M.R.; PAVAN, F.; NAVARRO, M. & BATISTA, A.A. "Ru(II)/clotrimazole/diphenylphosphine/bipyridine complexes: Interaction with DNA, BSA and biological potential against tumor cell lines and *Mycobacterium tuberculosis*". *Journal of inorganic biochemistry*, 162: 135, 2016.

86. JAYAKUMAR, S.; MAHENDIRAN, D.; REHANA, D. & KALILUR RAHIMAN, A. "Heteroleptic metal(II) complexes of hydrotris(methimazolyl)borate and diimines: Synthesis, theoretical calculations, antimicrobial, antioxidant, in vitro cytotoxicity and molecular docking studies". *Microbial pathogenesis*, 109: 120, 2017.

87. BRABEC, V.; HRABINA, O. & KASPARKOVA, J. "Cytotoxic platinum coordination compounds. DNA binding agents". *Coordination Chemistry Reviews*, 351: 2, 2017.

88. ZHANG, Z.; DAI, R.; MA, J.; WANG, S.; WEI, X. & WANG, H. "Photoinduced DNA damage and cytotoxicity by a triphenylamine-modified platinum-diimine complex". *Journal of inorganic biochemistry*, 143: 64, 2015.

89. KHAN, I.; IBRAR, A.; AHMED, W. & SAEED, A. "Synthetic approaches, functionalization and therapeutic potential of quinazoline and quinazolinone skeletons: the advances continue". *European journal of medicinal chemistry*, 90: 124, 2015.

90. ALVAREZ, N.; NOBLE, C.; TORRE, M.H.; KREMER, E.; ELLENA, J.; PERES DE ARAUJO, M.; COSTA-FILHO, A.J.; MENDES, L.F.; KRAMER, M.G. & FACCHIN, G. "Synthesis, structural characterization and cytotoxic activity against tumor cells of heteroleptic copper (I) complexes with aromatic diimines and phosphines". *Inorganica Chimica Acta*, 466: 559, 2017.

91. MOUCHERON, C. "From cisplatin to photoreactive Ru complexes: targeting DNA for biomedical applications". *New J. Chem.*, 33 (2): 235, 2009.

92. OLIVEIRA, K.M.; LIANY, L.D.; CORREA, R.S.; DEFLON, V.M.; COMINETTI, M.R. & BATISTA, A.A. "Selective Ru(II)/lawsone complexes inhibiting tumor cell growth by apoptosis". *Journal of inorganic biochemistry*, 176: 66, 2017.

93. DE CARVALHO, N.C.; NEVES, S.P.; DIAS, R.B.; VALVERDE, L.F.; SALES, C.B.S.; ROCHA, C.A.G.; SOARES, M.B.P.; DOS SANTOS, E.R.; OLIVEIRA, R.M.M.; CARLOS, R.M.; NOGUEIRA, P.C.L. & BEZERRA, D.P. "A novel ruthenium complex with xanthoxylin induces S-phase arrest and causes ERK1/2-mediated apoptosis in HepG2 cells through a p53-independent pathway". *Cell death & disease*, 9 (2): 79, 2018.

94. BECKFORD, F.A.; THESSING, J.; SHALOSKI, M., JR.; MBARUSHIMANA, P.C.; BROCK, A.; DIDION, J.; WOODS, J.; GONZALEZ-SARRIAS, A. & SEERAM, N.P. "Synthesis and characterization of mixed-ligand diimine-piperonal thiosemicarbazone complexes of ruthenium(II): Biophysical investigations and biological evaluation as anticancer and antibacterial agents". *J Mol Struct*, 992 (1-3): 39, 2011.

95. RAJENDIRAN, V.; MURALI, M.; SURESH, E.; SINHA, S.; SOMASUNDARAM, K. & PALANIANDAVAR, M. "Mixed ligand ruthenium(ii) complexes of bis(pyrid-2-yl)-/bis(benzimidazol-2-yl)-dithioether and diimines: Study of non-covalent DNA binding and cytotoxicity". *Dalton Trans.*, (1): 148, 2008.

96. WONG, C.Y.; CHUNG, L.H.; LIN, S.; CHAN, D.S.; LEUNG, C.H. & MA, D.L. "A ruthenium(II) complex supported by trithiacyclononane and aromatic diimine ligand as luminescent switch-on probe for biomolecule detection and protein staining". *Scientific reports*, 4: 7136, 2014.

97. RAMOZZI, R.; CHÉRON, N.; BRAÏDA, B.; HIBERTY, P.C. & FLEURAT-LESSARD, P. "A valence bond view of isocyanides' electronic structure". *New Journal of Chemistry*, 36 (5): 1137, 2012.

98. NEF, J.U. "Ueber das zweiwerthige Kohlenstoffatom". *Justus Liebig's Annalen der Chemie*, 270 (3): 267, 1892.

99. EXNER, O. "Conception and Significance of the Parachor". *Nature*, 196 (4857): 890, 1962.
100. PIRRUNG, M.C.; GHORAI, S. & IBARRA-RIVERA, T.R. "Multicomponent reactions of convertible isonitriles". *J Org Chem*, 74 (11): 4110, 2009.
101. PIRRUNG, M.C. & GHORAI, S. "Versatile, fragrant, convertible isonitriles". *Journal of the American Chemical Society*, 128 (36): 11772, 2006.
102. J. A, G.I. & HOFFMANN, P.T. *Isonitrile Chemistry*. ed. Los Angeles, California, 1971. p.
103. BONATI, F. & MINGHETTI, G. "Recent advances in the chemistry of isocyanide complexes". *Inorganica Chimica Acta*, 9: 95, 1974.
104. ABÁS, S.; ESTARELLAS, C.; JAVIER LUQUE, F. & ESCOLANO, C. "Easy access to (2-imidazolyl)phosphonates by a microwave assisted multicomponent reaction". *Tetrahedron*, 71 (19): 2872, 2015.
105. LESAGE, D.; BLU, J.; TABET, J.C. & GIMBERT, Y. "Intermolecular versus intramolecular Pauson-Khand reaction in gas phase: Limitation and feasibility". *Journal of Organometallic Chemistry*, 809: 7, 2016.
106. MILLICH, F. "Polymerization of isocyanides". *Chemical Reviews*, 72 (2): 101, 1972.
107. BANO, H. & YOUSUF, S. "Crystal structure of p-toluene-sulfonyl-methyl isocyanide". *Acta crystallographica. Section E, Crystallographic communications*, 71 (Pt 6): o412, 2015.
108. VELHO, R.G., *Medidas de Condutividade na Caracterização de Complexos Inorgânicos: Um Levantamento Bibliográfico*. Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar, 2006. Dissertação de Mestrado, 60 p.
109. MACCHIONI, A. "Elucidation of the Solution Structures of Transition Metal Complex Ion Pairs by NOE NMR Experiments". *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2003 (2): 195, 2003.
110. SETTE, M.; DE ROPP, J.S.; HERNANDEZ, G. & LA MAR, G.N. "Determination of interproton distances from NOESY spectra in the active site of paramagnetic metalloenzymes: cyanide-inhibited horseradish peroxidase". *Journal of the American Chemical Society*, 115 (12): 5237, 1993.
111. APPAVOO, D.; RAJA, N.; DESCHENAUX, R.; THERRIEN, B. & CARNEVALE, D. "NMR spectroscopy and DFT calculations of a self-assembled arene ruthenium rectangle obtained from a combination of coordination and hydrogen bonds". *Dalton transactions*, 45 (4): 1410, 2016.
112. BUTTS, C.P.; JONES, C.R.; TOWERS, E.C.; FLYNN, J.L.; APPLEBY, L. & BARRON, N.J. "Interproton distance determinations by NOE--surprising accuracy and precision in a rigid organic molecule". *Organic & biomolecular chemistry*, 9 (1): 177, 2011.

113. DI MICCO, S.; ZAMPELLA, A.; D'AURIA, M.V.; FESTA, C.; DE MARINO, S.; RICCIO, R.; BUTTS, C.P. & BIFULCO, G. "Plakilactones G and H from a marine sponge. Stereochemical determination of highly flexible systems by quantitative NMR-derived interproton distances combined with quantum mechanical calculations of ^{13}C chemical shifts". *Beilstein journal of organic chemistry*, 9: 2940, 2013.
114. CHINI, M.G.; JONES, C.R.; ZAMPELLA, A.; D'AURIA, M.V.; RENGA, B.; FIORUCCI, S.; BUTTS, C.P. & BIFULCO, G. "Quantitative NMR-derived interproton distances combined with quantum mechanical calculations of ^{13}C chemical shifts in the stereochemical determination of conicasterol F, a nuclear receptor ligand from *Theonella swinhoei*". *J Org Chem*, 77 (3): 1489, 2012.
115. SHELDRIK, G.M. "A short history of SHELX". *Acta crystallographica. Section A, Foundations of crystallography*, 64 (Pt 1): 112, 2008.
116. FARRUGIA, L.J. "WinGXsuite for small-molecule single-crystal crystallography". *Journal of Applied Crystallography*, 32 (4): 837, 1999.
117. DOLOMANOV, O.V.; BOURHIS, L.J.; GILDEA, R.J.; HOWARD, J.A.K. & PUSCHMANN, H. "OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program". *Journal of Applied Crystallography*, 42 (2): 339, 2009.
118. MACRAE, C.F.; BRUNO, I.J.; CHISHOLM, J.A.; EDGINGTON, P.R.; MCCABE, P.; PIDCOCK, E.; RODRIGUEZ-MONGE, L.; TAYLOR, R.; VAN DE STREEK, J. & WOOD, P.A. "Mercury CSD 2.0– new features for the visualization and investigation of crystal structures". *Journal of Applied Crystallography*, 41 (2): 466, 2008.
119. BARBOSA, M.I.F.; CORREA, R.S.; BASTOS, T.M.; POZZI, L.V.; MOREIRA, D.R.M.; ELLENA, J.; DORIGUETTO, A.C.; SILVEIRA, R.G.; OLIVEIRA, C.R.; KUZNETSOV, A.E.; MALTA, V.S.; SOARES, M.B.P. & BATISTA, A.A. "Structural isomerism of Ru(ii)-carbonyl complexes: synthesis, characterization and their antitrypanosomal activities". *New J. Chem.*, 41 (11): 4468, 2017.
120. MENDES, P.J.; SILVA, T.J.L.; CARVALHO, A.J.P. & RAMALHO, J.P.P. "DFT studies on thiophene acetylide Ru(II) complexes for nonlinear optics: Structure–function relationships and solvent effects". *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 946 (1-3): 33, 2010.
121. TSIPIIS, A.C. "DFT flavor of coordination chemistry". *Coordination Chemistry Reviews*, 272: 1, 2014.
122. MONTEIRO, M.C.R.; NASCIMENTO, F.B.; VALLE, E.M.A.; ELLENA, J.; CASTELLANO, E.E.; BATISTA, A.A. & MACHADO, S.D.P. "Experimental and theoretical study of the kinetics of dissociation in cis-

[RuCl₂(P-P)(N-N)] type complexes". Journal of the Brazilian Chemical Society, 21 (10): 1992, 2010.

123. ALEXANDER, B.D.; DINES, T.J. & LONGHURST, R.W. "DFT calculations of the structures and vibrational spectra of the [Fe(bpy)₃]²⁺ and [Ru(bpy)₃]²⁺ complexes". Chemical Physics, 352 (1-3): 19, 2008.

124. *Gaussian*, M. J. FRISCH, G.W.T., H. B. SCHLEGEL, G. E. SCUSERIA, M. A. ROBB, J. R. CHEESEMAN, G. SCALMANI, V. BARONE, G. A. PETERSSON, H. NAKATSUJI, X. LI, M. CARICATO, A. MARENICH, J. BLOINO, B. G. JANESKO, R. GOMPERS, B. MENNUCCI, H. P. HRATCHIAN, J. V. ORTIZ, A. F. IZMAYLOV, J. L. SONNENBERG, D. WILLIAMS-YOUNG, F. DING, F. LIPPARINI, F. EGIDI, J. GOINGS, B. PENG, A. PETRONE, T. HENDERSON, D. RANASINGHE, V. G. ZAKRZEWSKI, J. GAO, N. REGA, G. ZHENG, W. LIANG, M. HADA, M. EHARA, K. TOYOTA, R. FUKUDA, J. HASEGAWA, M. ISHIDA, T. NAKAJIMA, Y. HONDA, O. KITAO, H. NAKAI, T. VREVEN, K. THROSELL, J. A. MONTGOMERY, JR., J. E. PERALTA, F. OGLIARO, M. BEARPARK, J. J. HEYD, E. BROTHERS, K. N. KUDIN, V. N. STAROVEROV, T. KEITH, R. KOBAYASHI, J. NORMAND, K. RAGHAVACHARI, A. RENDELL, J. C. BURANT, S. S. IYENGAR, J. TOMASI, M. COSSI, J. M. MILLAM, M. KLENE, C. ADAMO, R. CAMMI, J. W. OCHTERSKI, R. L. MARTIN, K. MOROKUMA, O. FARKAS, J. B. FORESMAN, AND D. J. FOX, Editor. 2016.

125. JONES, C.R.; BUTTS, C.P. & HARVEY, J.N. "Accuracy in determining interproton distances using Nuclear Overhauser Effect data from a flexible molecule". Beilstein journal of organic chemistry, 7: 145, 2011.

126. GOWDA, V.; LAITINEN, R.S.; TELKKI, V.V.; LARSSON, A.C.; ANTZUTKIN, O.N. & LANTTO, P. "DFT calculations in the assignment of solid-state NMR and crystal structure elucidation of a lanthanum(iii) complex with dithiocarbamate and phenanthroline". Dalton transactions, 45 (48): 19473, 2016.

127. BAKA, E.; COMER, J.E. & TAKACS-NOVAK, K. "Study of equilibrium solubility measurement by saturation shake-flask method using hydrochlorothiazide as model compound". J. Pharm. Biomed. Anal., 46 (2): 335, 2008.

128. LEO, A.; HANSCH, C. & ELKINS, D. "Partition coefficients and their uses". Chemical Reviews, 71 (6): 525, 1971.

129. LEO, A.J. "Calculating log P_{oct} from structures". Chemical Reviews, 93 (4): 1281, 1993.

130. CHATTERJEE, T.; PAL, A.; DEY, S.; CHATTERJEE, B.K. & CHAKRABARTI, P. "Interaction of virstatin with human serum albumin: spectroscopic analysis and molecular modeling". PloS one, 7 (5): e37468, 2012.

131. BECKFORD, F.; THESSING, J.; WOODS, J.; DIDION, J.; GERASIMCHUK, N.; GONZALEZ-SARRIAS, A. & SEERAM, N.P. "Synthesis and structure of [(eta(6)-p-cymene)Ru(2-anthracen-9-ylmethylene-N-ethylhydrazinecarbothioamide)Cl] Cl; biological evaluation, topoisomerase II inhibition and reaction with DNA and human serum albumin". *Metallomics : integrated biometal science*, 3 (5): 491, 2011.
132. P. S. HALLMAN; T. A. STEPHENSON & WILKINSON, G., *Tetrakis(triphenylphosphine)dichloro-ruthenium(II) and Tris(triphenylphosphine)-dichlororuthenium (II)*, in *Inorganic Syntheses*, PARRY, R.W., Editor. 1970, McGraw-Hill: Nova York. p. 237.
133. BATISTA, A.A.; SANTIAGO, M.O.; DONNICI, C.L.; MOREIRA, I.S.; HEALY, P.C.; BERNERS-PRICE, S.J. & QUEIROZ, S.L. "Electrochemical and spectroscopic studies on RuCl₂(PPh₃)₂(N)₂ and RuCl₂(PPh₃)₂(N–N) complexes (N=pyridine derivatives and N–N=phenanthroline or bipyridine derivatives). X-ray structure of RuCl₂(PPh₃)₂(phen)". *Polyhedron*, 20 (17): 2123, 2001.
134. BRESSAN, M. & RIGO, P. "Five-Coordinate Complexes of Ruthenium(II) with Di(tertiary phosphines)". *Inorg. Chem.*, 14 (9): 2286, 1975.
135. QUEIROZ, S.L., BATISTA, A.A., OLIVA, G., GAMBARDELLA, M.T.P., SANTOS, R.H.A., MACFARLANE, K. S., RETTIG, S.J., & JAMES, B.R. "The reactivity of five-coordinate Ru(II) (1,4-bis(diphenylphosphino)butane) complexes with the N-donor ligands: ammonia, pyridine, 4-substituted pyridines, 2,2'-bipyridine, bis(o-piridyl)amine, 1,10-phenanthroline, 4,7-diphenylphenanthroline and ethylenodiamine". *Inorg. Chim. Acta.*, 267 1998.
136. SULLIVAN, B.P.; SALMON, D.J. & MEYER, T.J. "Mixed phosphine 2,2'-bipyridine complexes of ruthenium". *Inorganic Chemistry*, 17 (12): 3334, 2002.
137. ZHOU, X.; ZHU, D.; LIAO, Y.; LIU, W.; LIU, H.; MA, Z. & XING, D. "Synthesis, labeling and bioanalytical applications of a tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium(II)-based electrochemiluminescence probe". *Nature protocols*, 9 (5): 1146, 2014.
138. MONDELLI, M.A.; GRAMINHA, A.E.; CORRÊA, R.S.; DA SILVA, M.M.; CARNIZELLO, A.P.; VON POELHSITZ, G.; ELLENA, J.; DEFLON, V.M.; CARAMORI, G.F.; TORRE, M.H.; TAVARES, D.C. & BATISTA, A.A. "Ruthenium(II)/4,6-dimethyl-2-mercaptopyrimidine complexes: Synthesis, characterization, X-ray structures and in vitro cytotoxicity activities on cancer cell lines". *Polyhedron*, 68: 312, 2014.
139. MAGALHAES, L.F.; MELLO-ANDRADE, F.; PIRES, W.C.; SILVA, H.D.; DA SILVA, P.F.F.; MACEDO, L.M.; HENRIQUE DE CASTRO, C.; CARNEIRO, C.C.; CARDOSO, C.G.; DE MELO REIS, P.R.; CAMARGO

DE OLIVEIRA, L.; CAETANO, R.R.; BATISTA, A.A. & SILVEIRA-LACERDA, E.P. "cis-[RuCl(BzCN)(bipy)(dppe)]PF₆ induces anti-angiogenesis and apoptosis by a mechanism of caspase-dependent involving DNA damage, PARP activation, and Tp53 induction in Ehrlich tumor cells". *Chemico-biological interactions*, 278: 101, 2017.

140. ZHOU, M.; ROBERTSON, G.P. & ROOVERS, J. "Comparative study of ruthenium(II) tris(bipyridine) derivatives for electrochemiluminescence application". *Inorg Chem*, 44 (23): 8317, 2005.

141. NENAJDENKO, V. *Isocyanide Chemistry: Applications in Synthesis and Material Science*.ed. 2012. p.

142. BARBOSA, M.I.F.; CORREA, R.S.; BASTOS, T.M.; POZZI, L.V.; MOREIRA, D.R.M.; ELLENA, J.; DORIGUETTO, A.C.; SILVEIRA, R.G.; OLIVEIRA, C.R.; KUZNETSOV, A.E.; MALTA, V.S.; SOARES, M.B.P. & BATISTA, A.A. "Structural isomerism of Ru(ii)-carbonyl complexes: synthesis, characterization and their antitrypanosomal activities". *New Journal of Chemistry*, 41 (11): 4468, 2017.

143. SANTIAGO, M.O.; BATISTA, A.A.; ARAÚJO, M.P.D.; DONNICI, C.L.; MOREIRA, I.D.S.; CASTELLANO, E.E.; ELLENA, J.; JR, S.D.S. & QUEIROZ, S.L. "³¹P{¹H}-n.m.r. as a tool for identification of ruthenium isomers containing PPh₃ or 1,4-bis(diphenylphosphino)butane ligands. X-ray structures of the cis-{RuCl₂(PPh₃)₂[4,4'-(-X)₂-2,2'-bipy]} complexes [X=H, -Me, -SMe and (-Cl, -Me)]". *Transit. Metal Chem.*, 30 (2): 170, 2005.

144. CLOT, O.; WOLF, M.O. & YAP, G.P.A. "Ruthenium(II) complexes containing 4-ferrocenylphenylisocyanide ligands. Crystal structure of trans, trans-[RuCl₂(POMe□P)2(FcC₆H₄NC)2] (POMe=PPh₂C₆H₄OCH₃; Fc=ferrocenyl)". *Journal of Organometallic Chemistry*, 637-639: 145, 2001.

145. LENIS-ROJAS, O.A.; FERNANDES, A.R.; ROMA-RODRIGUES, C.; BAPTISTA, P.V.; MARQUES, F.; PEREZ-FERNANDEZ, D.; GUERRA-VARELA, J.; SANCHEZ, L.; VAZQUEZ-GARCIA, D.; TORRES, M.L.; FERNANDEZ, A. & FERNANDEZ, J.J. "Heteroleptic mononuclear compounds of ruthenium(ii): synthesis, structural analyses, in vitro antitumor activity and in vivo toxicity on zebrafish embryos". *Dalton transactions*, 45 (47): 19127, 2016.

146. AL-RAWASHDEH, N.A.; CHATTERJEE, S.; KRAUSE, J.A. & CONNICK, W.B. "Ruthenium bis-diimine complexes with a chelating thioether ligand: delineating 1,10-phenanthroline and 2,2'-bipyridyl ligand substituent effects". *Inorg Chem*, 53 (1): 294, 2014.

147. QUEIROZ, S.L.; BATISTA, A.A.; OLIVA, G.; DO PI. 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)butane) complexes with the N-donor ligands: ammonia, pyridine, 4-substituted pyridines, 2,2'-bipyridine, bis(o-pyridyl)amine, 1,10-

phenanthroline, 4,7-diphenylphenanthroline and ethylenediamine". *Inorganica Chimica Acta*, 267 (2): 209, 1998.

148. MOLČANOV, K.; STARE, J.; KOJIĆ-PRODIĆ, B.; LECOMTE, C.; DAHAOUI, S.; JELSCH, C.; WENGER, E.; ŠANTIĆ, A. & ZARYCHTA, B. "A polar/ π model of interactions explains face-to-face stacked quinoid rings: a case study of the crystal of potassium hydrogen chloranilate dihydrate". *CrystEngComm*, 17 (45): 8645, 2015.

149. BORDBAR, M.; TAVOOSI, F.; YEGANEH-FAAL, A. & ZEBARJADIAN, M.H. "Interaction study of some macrocyclic inorganic schiff base complexes with calf thymus DNA using spectroscopic and voltammetric methods". *Journal of Molecular Structure*, 1152: 128, 2018.

150. PERONTSIS, S.; TIALIOU, A.; HATZIDIMITRIOU, A.G.; PAPADOPOULOS, A.N. & PSOMAS, G. "Nickel(II)-indomethacin mixed-ligand complexes: Synthesis, characterization, antioxidant activity and interaction with DNA and albumins". *Polyhedron*, 138: 258, 2017.

151. JAIN, S.; KHAN, T.A.; PATIL, Y.P.; PAGARIYA, D.; KISHORE, N.; TAPRYAL, S.; NAIK, A.D. & NAIK, S.G. "Bio-affinity of copper(II) complexes with nitrogen and oxygen donor ligands: Synthesis, structural studies and in vitro DNA and HSA interaction of copper(II) complexes". *Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology*, 174: 35, 2017.

152. MITAL, M. & ZIORA, Z. "Biological applications of Ru(II) polypyridyl complexes". *Coordination Chemistry Reviews*, 2018.

153. SIRAJUDDIN, M.; ALI, S. & BADSHAH, A. "Drug-DNA interactions and their study by UV-Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry". *J. Photochem. Photobiol. B*, 124: 1, 2013.

154. SHAHABADI, N.; KASHANIAN, S. & FATAHI, A. "Identification of Binding Mode of a Platinum (II) Complex, PtCl₂(DIP), and Calf Thymus DNA". *Bioinorganic chemistry and applications*, 2011: 687571, 2011.

155. OHNDORF, U.M.; ROULD, M.A.; HE, Q.; PABO, C.O. & LIPPARD, S.J. "Basis for recognition of cisplatin-modified DNA by high-mobility-group proteins". *Nature*, 399 (6737): 708, 1999.

156. SATHIYA KAMATCHI, T.; CHITRAPRIYA, N.; KIM, S.K.; FRONCZEK, F.R. & NATARAJAN, K. "Influence of carboxylic acid functionalities in ruthenium (II) polypyridyl complexes on DNA binding, cytotoxicity and antioxidant activity: synthesis, structure and in vitro anticancer activity". *European journal of medicinal chemistry*, 59: 253, 2013.

157. JONES, R.L.; DAVIDSON, M.W. & WILSON, W.D. "Comparative viscometric analysis of the interaction of chloroquine and quinacrine with superhelical and sonicated DNA". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Nucleic Acids and Protein Synthesis*, 561 (1): 77, 1979.

158. SHAIKH, S.M.T.; SEETHARAMAPPA, J.; KANDAGAL, P.B.; MANJUNATHA, D.H. & ASHOKA, S. "Spectroscopic investigations on the mechanism of interaction of bioactive dye with bovine serum albumin". *Dyes Pigments*, 74 (3): 665, 2007.
159. ZHANG, Y.; HO, A.; YUE, J.; KONG, L.; ZHOU, Z.; WU, X.; YANG, F. & LIANG, H. "Structural basis and anticancer properties of ruthenium-based drug complexed with human serum albumin". *European journal of medicinal chemistry*, 86: 449, 2014.
160. WANG, Y.; YU, H.; SHI, X.; LUO, Z.; LIN, D. & HUANG, M. "Structural mechanism of ring-opening reaction of glucose by human serum albumin". *The Journal of biological chemistry*, 288 (22): 15980, 2013.
161. GUO, Q.; YUAN, J. & ZENG, J. "Binding of dihydromyricetin and its metal ion complexes with bovine serum albumin". *Biotechnol. Biotech. Eq.*, 28 (2): 333, 2014.
162. GANESHPIANDIAN, M.; LOGANATHAN, R.; SURESH, E.; RIYASDEEN, A.; AKBARSHA, M.A. & PALANIANDAVAR, M. "New ruthenium(II) arene complexes of anthracenyl-appended diazacycloalkanes: effect of ligand intercalation and hydrophobicity on DNA and protein binding and cleavage and cytotoxicity". *Dalton Trans.*, 43 (3): 1203, 2014.
163. HU, Y.J.; LIU, Y.; ZHANG, L.X.; ZHAO, R.M. & QU, S.S. "Studies of interaction between colchicine and bovine serum albumin by fluorescence quenching method". *J. Mol. Struct.*, 750 (1-3): 174, 2005.
164. LAKOWICZ, J.R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3rd editiona ed. 2006. p.
165. ROSS, P.D. & SUBRAMANIAN, S. "Thermodynamics of protein association reactions: forces contributing to stability". *Biochem.*, 20: 3096, 1981.
166. KANSY M.; SENNER F. & K., G. "Physicochemical high throughput screening: parallel artificial membrane permeation assay in the description of passive absorption processes". *J. Med. Chem.*, 41 (7): 1007, 1998.
167. PLISKA, V.; TESTA, B. & WATERBEEMD, H.V. *Lipophilicity in drug action and toxicology*. 1a ed. Weinheim, VCH, 1996. p. 463
168. MIESSLER, G.L.; FISCHER, P.J. & TARR, D.A. *Inorganic Chemistry*. Fifth editiona ed. PEARSON, 2014. p.
169. JUSTUS, C.R.; LEFFLER, N.; RUIZ-ECHEVARRIA, M. & YANG, L.V. "In vitro cell migration and invasion assays". *Journal of visualized experiments : JoVE*, (88) 2014.
170. LI, Z. & GRANT, K.B. "DNA photo-cleaving agents in the far-red to near-infrared range – a review". *RSC Advances*, 6 (29): 24617, 2016.
171. ADHIKARY, A. "Ensemble and single-molecule fluorescence spectroscopic study of the binding modes of the bis-benzimidazole derivative Hoechst 33258 with DNA". *Nucleic Acids Research*, 31 (8): 2178, 2003.

172. WANG, H. & LAUGHTON, C.A. "Evaluation of molecular modelling methods to predict the sequence-selectivity of DNA minor groove binding ligands". *Physical chemistry chemical physics : PCCP*, 11 (45): 10722, 2009.

173. ELMORE, S. "Apoptosis: a review of programmed cell death". *Toxicologic pathology*, 35 (4): 495, 2007.

Apêndice

Espectros de absorção na região do infravermelho dos complexos da série 1 e série 2.

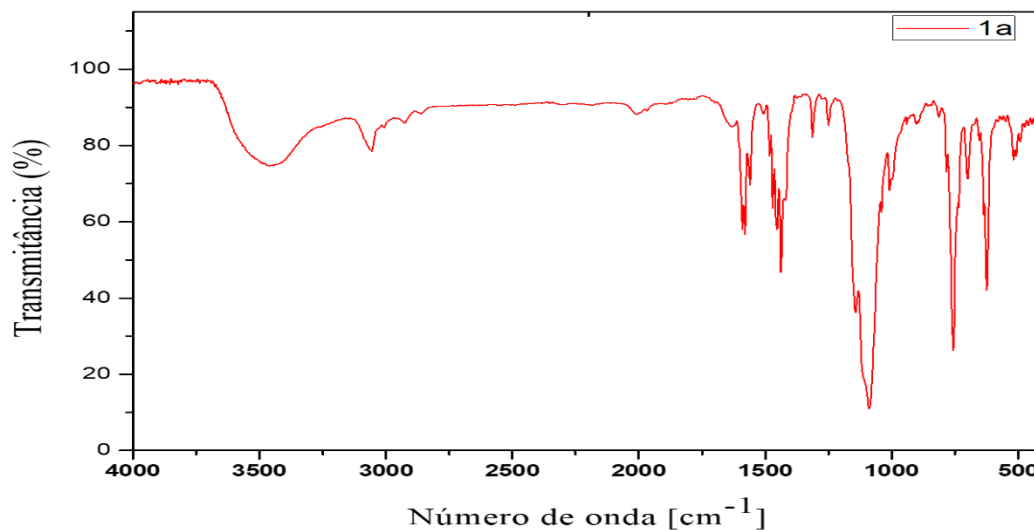


Figura A.1 - Espectro de absorção na região do IV do complexo **1a**, em KBr.

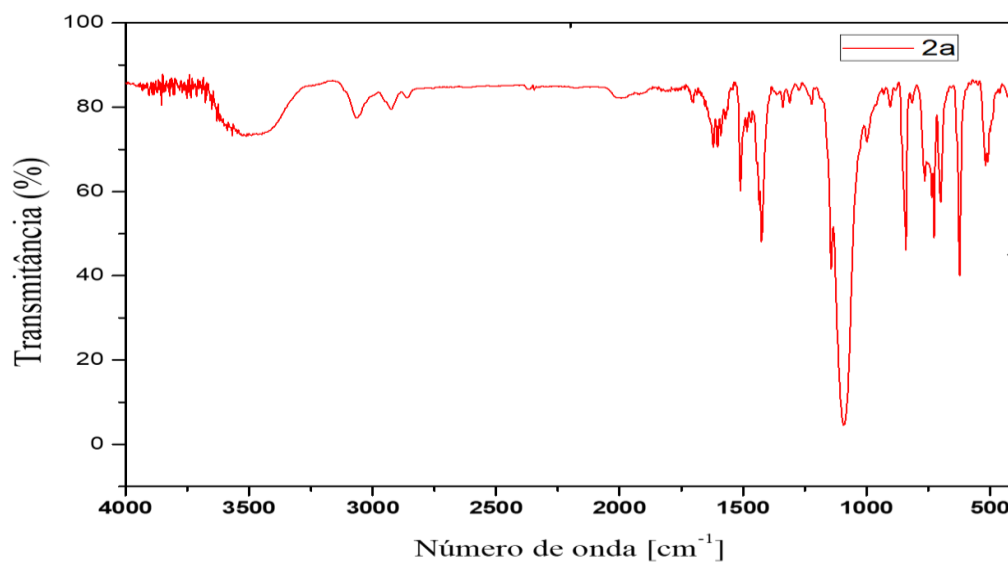


Figura A.2 - Espectro de absorção na região do IV do complexo **2a**, em KBr.

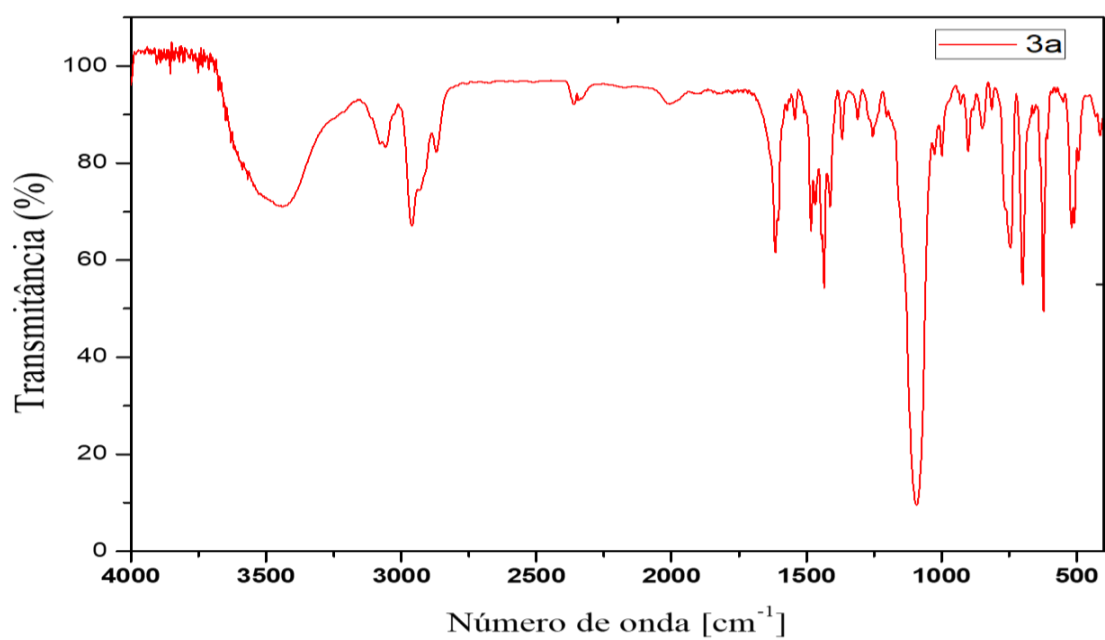


Figura A.3 - Espectro de absorção na região do IV do complexo **3a**, em KBr.

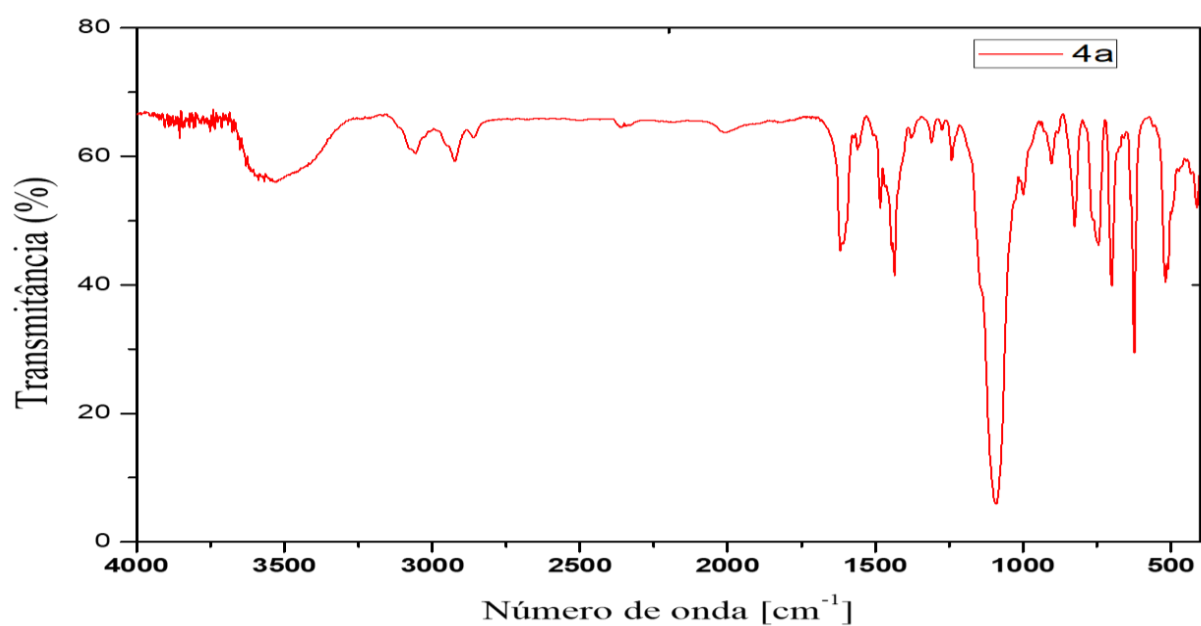


Figura A.4 - Espectro de absorção na região do IV do complexo **4a**, em KBr.

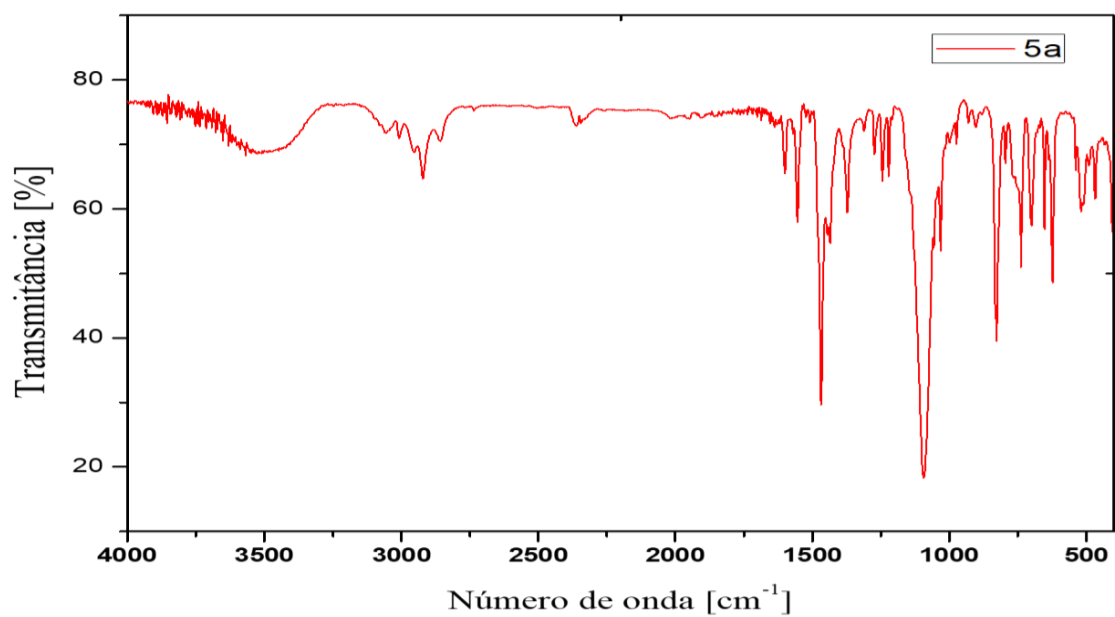


Figura A.5 - Espectro de absorção na região do IV do complexo **5a**, em KBr.

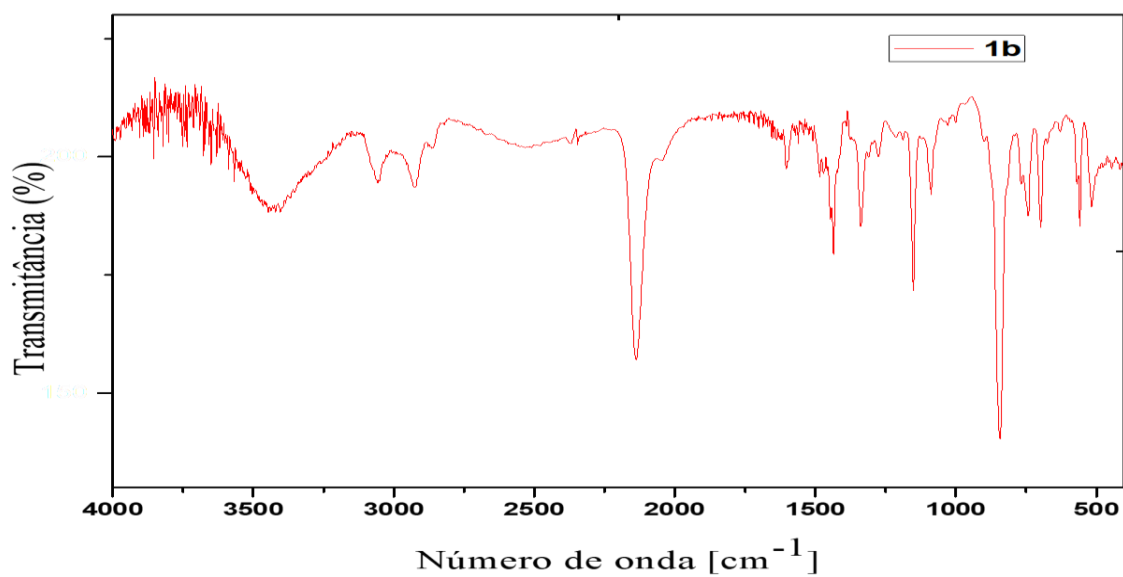


Figura A.6 - Espectro de absorção na região do IV do complexo **1b**, em KBr.

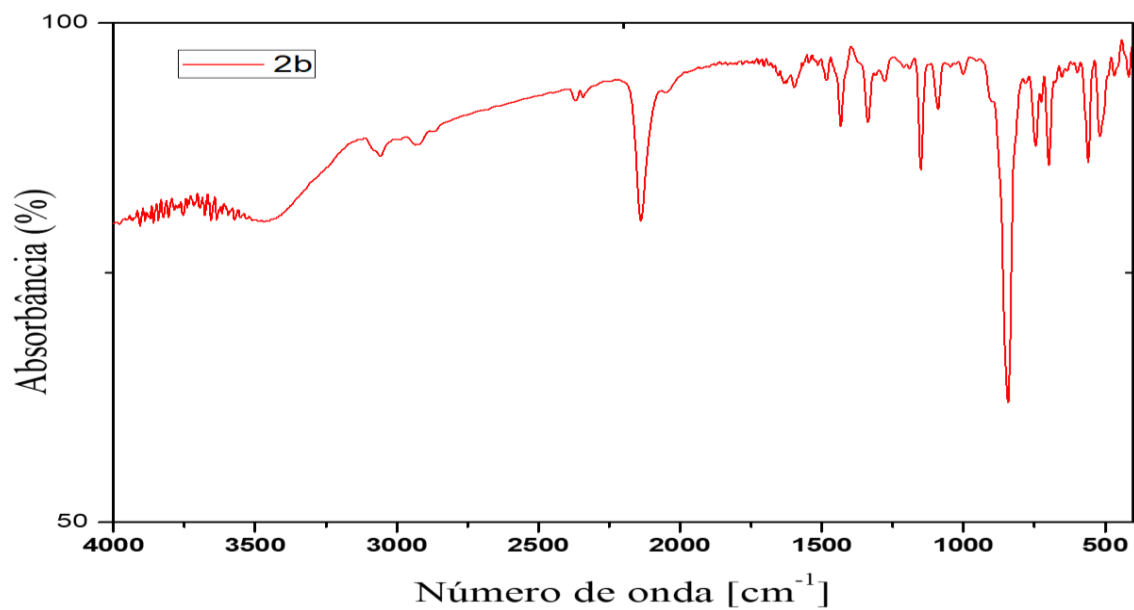


Figura A.7 - Espectro de absorção na região do IV do complexo **2b**, em KBr.

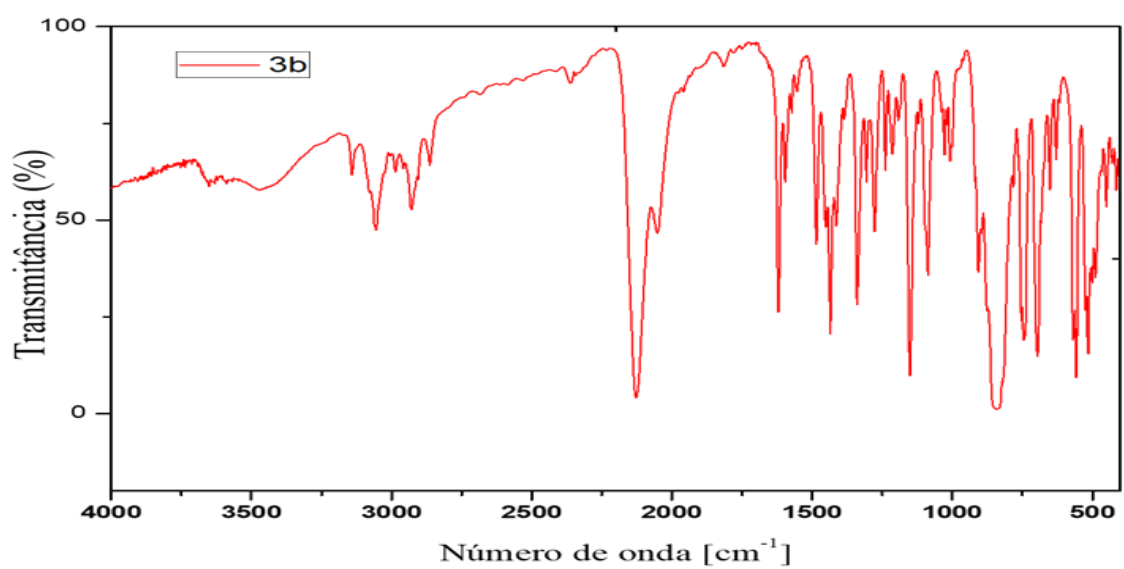


Figura A.8 - Espectro de absorção na região do IV do complexo **3b**, em KBr.

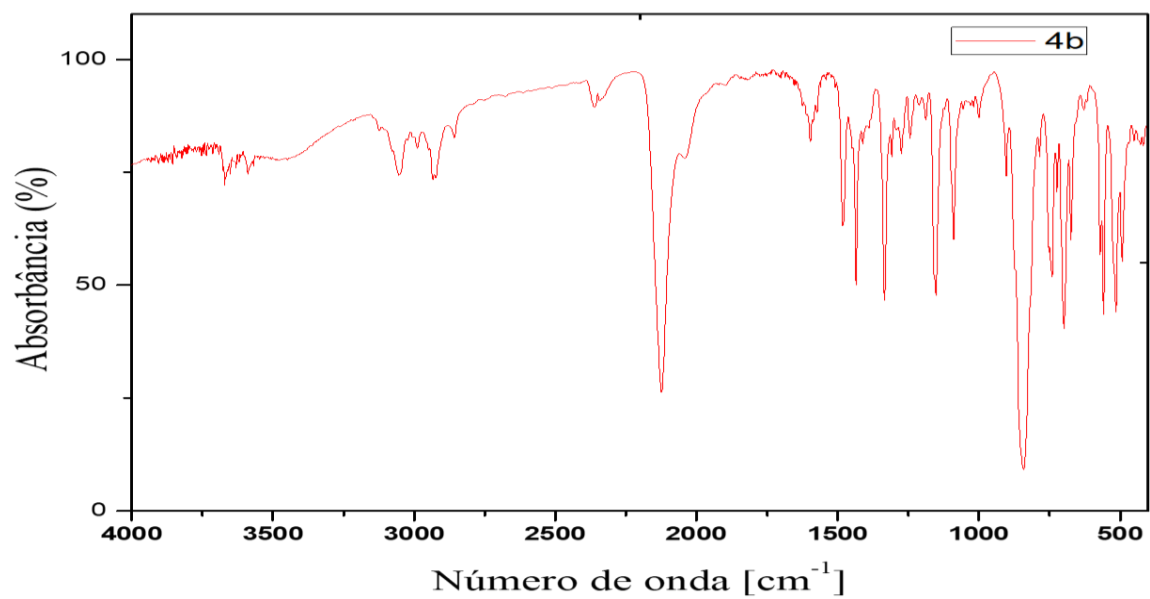


Figura A.9 - Espectro de absorção na região do IV do complexo **4b**, em KBr.

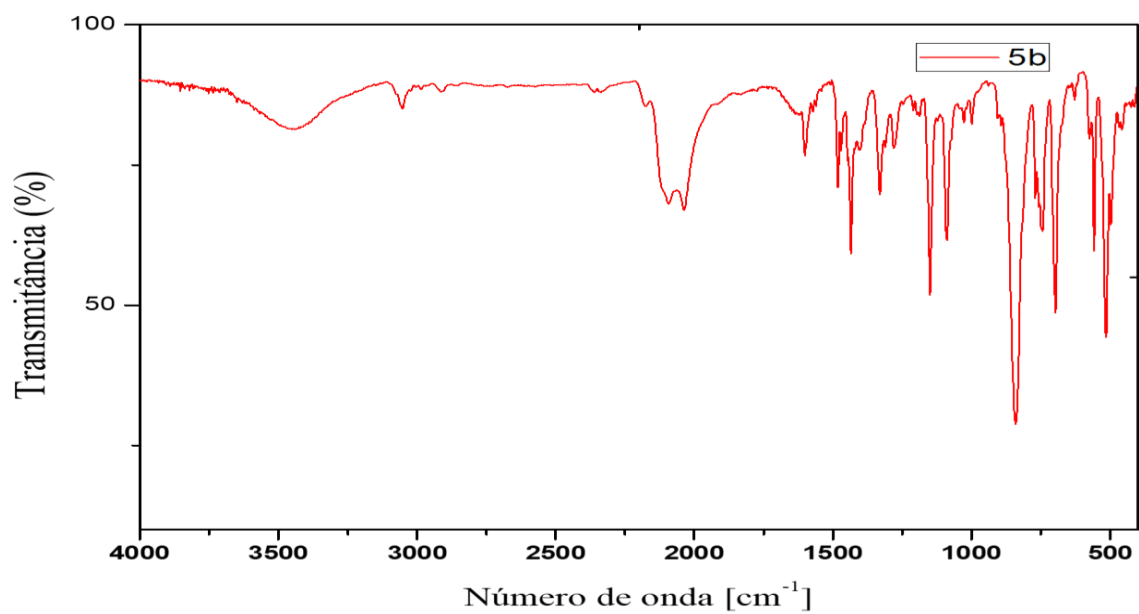


Figura A.10 - Espectro de absorção na região do IV do complexo **5b**, em KBr.

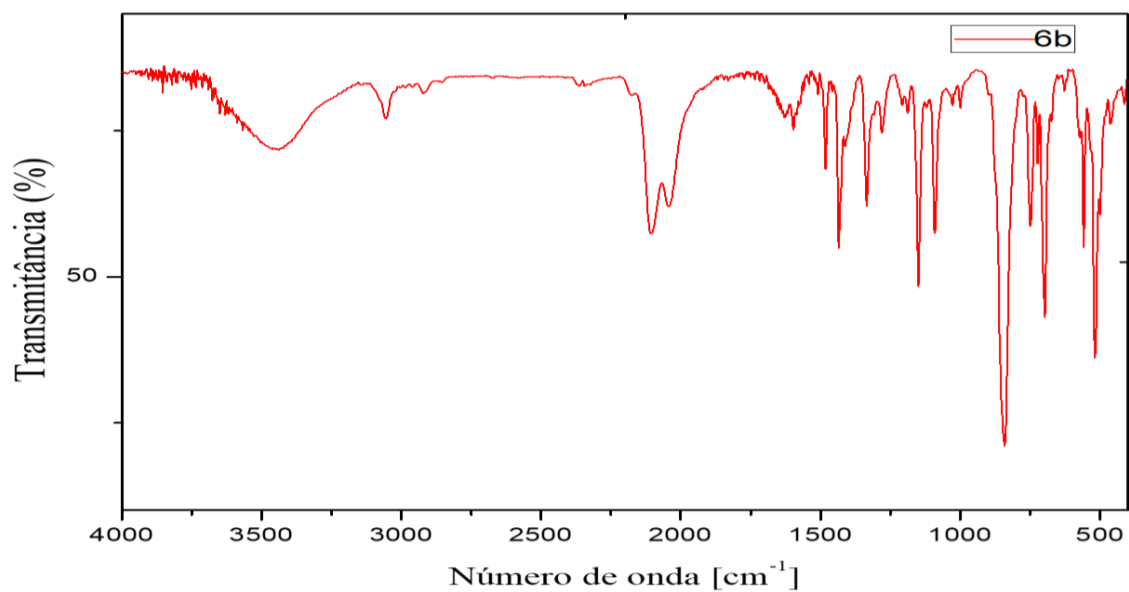


Figura A.11 - Espectro de absorção na região do IV do complexo **6b**, em KBr.

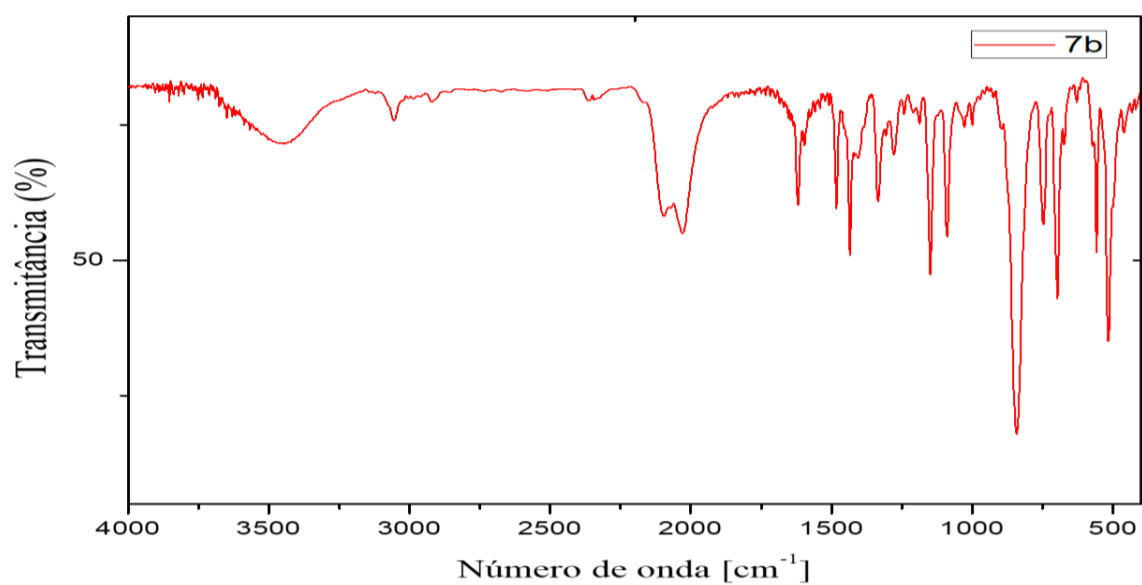


Figura A.12 - Espectro de absorção na região do IV do complexo **7b**, em KBr.

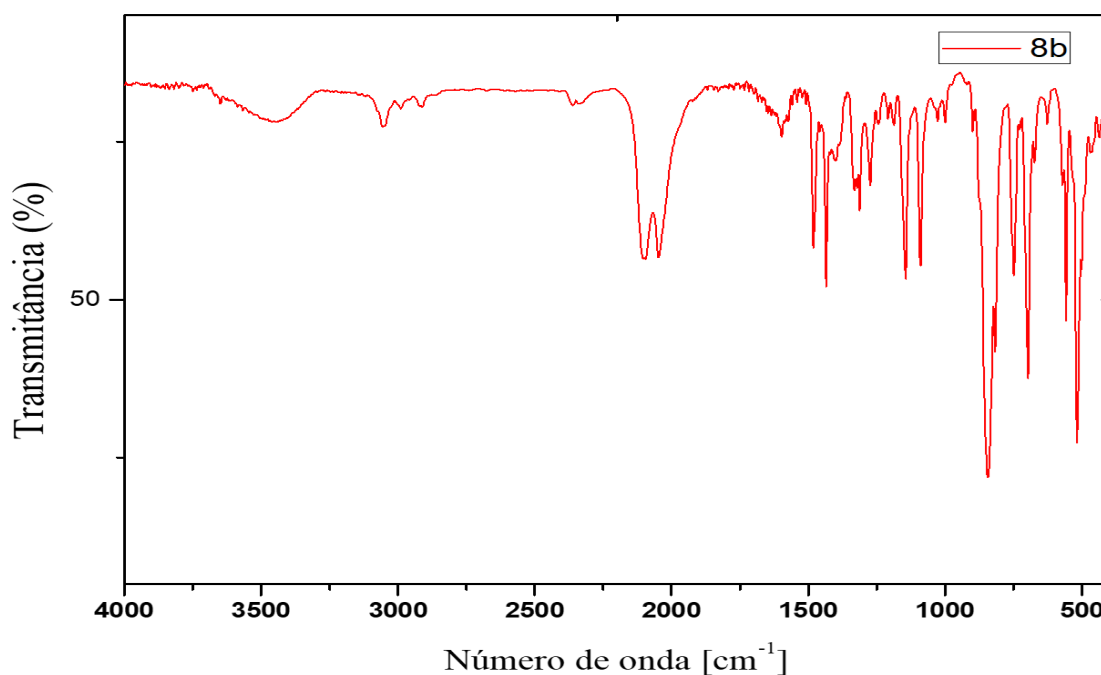


Figura A.13 - Espectro de absorção na região do IV do complexo **8b**, em KBr.

Espectros de absorção na região do UV-visível dos complexos da série 1 e série 2 em DMSO.

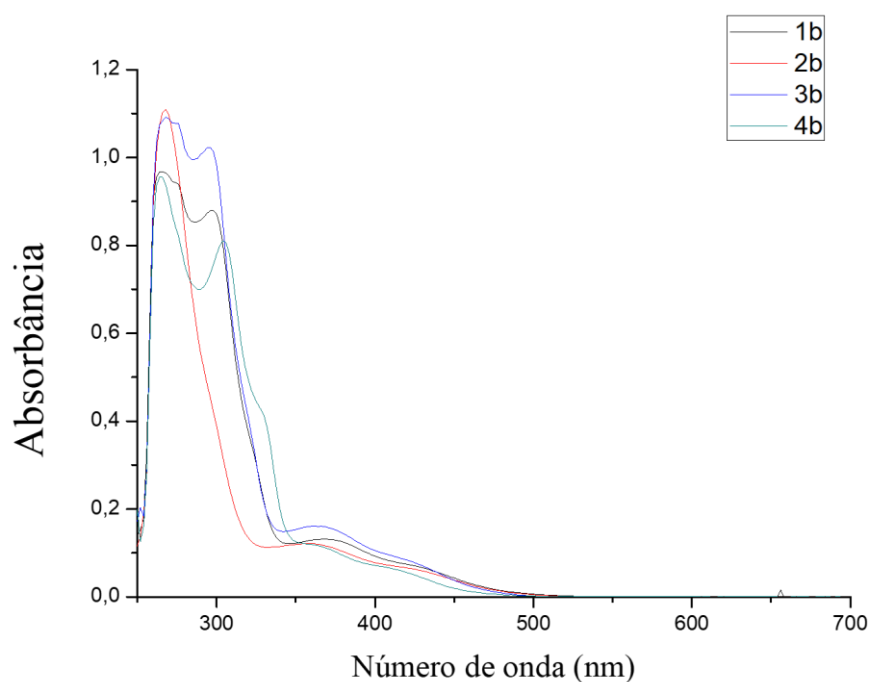


Figura A. 14 - Espectros de absorção na região do UV-Vis dos complexos **1b-4b** em DMSO.

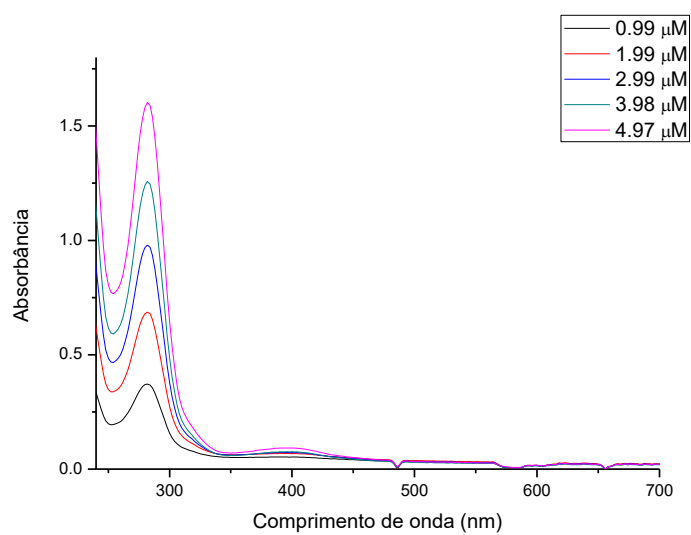
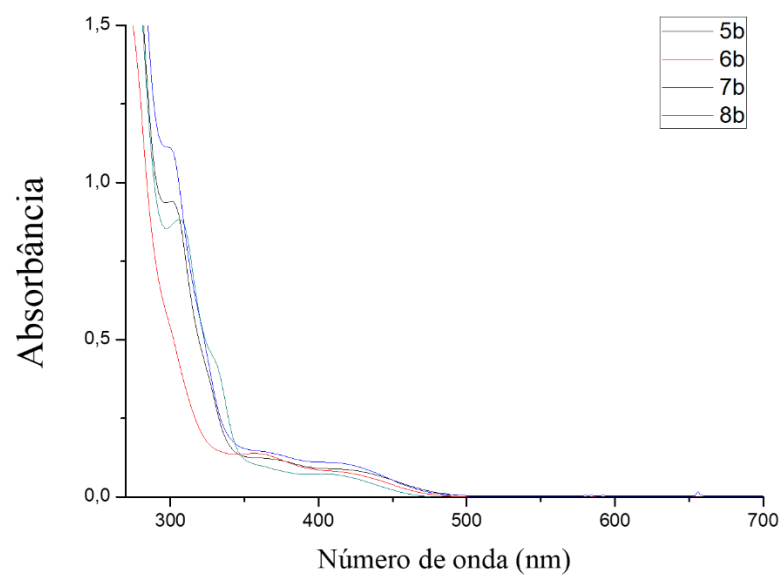


Figura A. 15 - Espectro de absorção na região do UV-visível do complexo **1a**, em *n*-octanol.

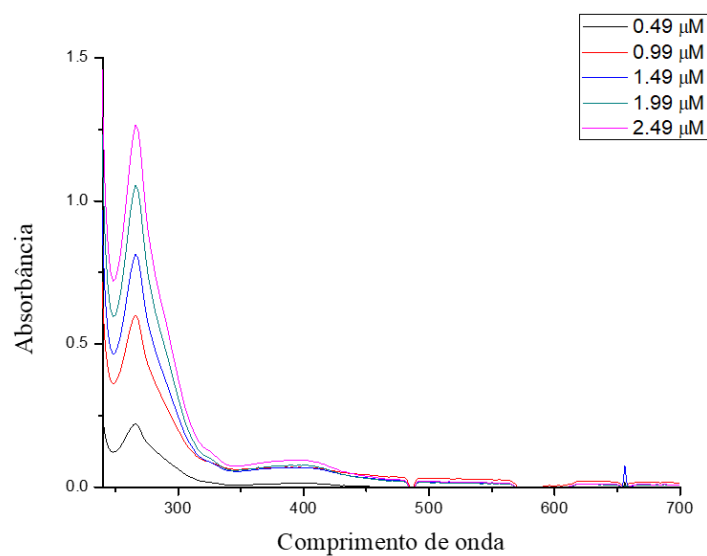


Figura A. 16 - Espectro de absorção na região do UV-visível do complexo **2a**, em *n*-octanol.

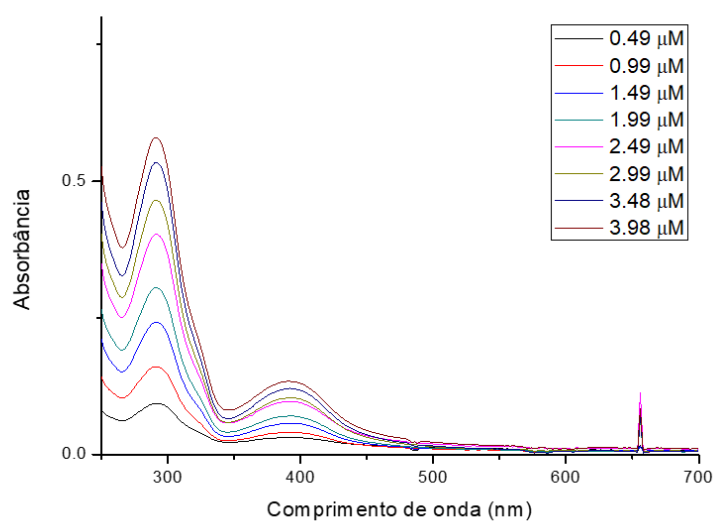


Figura A. 17 - Espectro de absorção na região do UV-visível do complexo **3a**, em *n*-octanol.

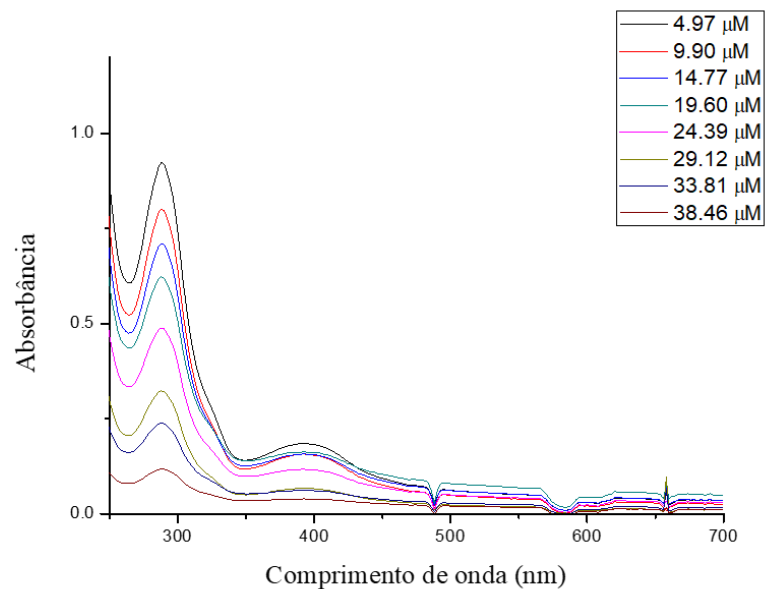


Figura A. 18 - Espectro de absorção na região do UV-visível do complexo **4a**, em *n*-octanol.

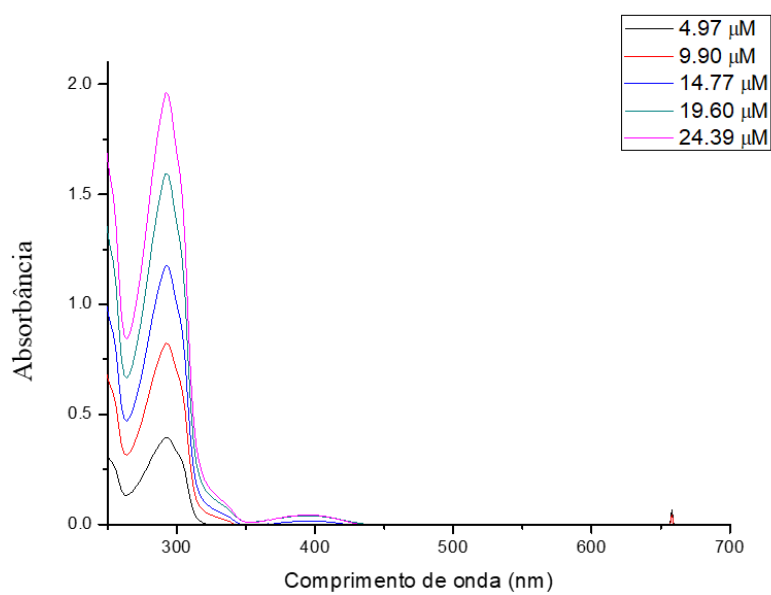


Figura A. 19 - Espectro de absorção na região do UV-visível do complexo **5a**, em *n*-octanol.

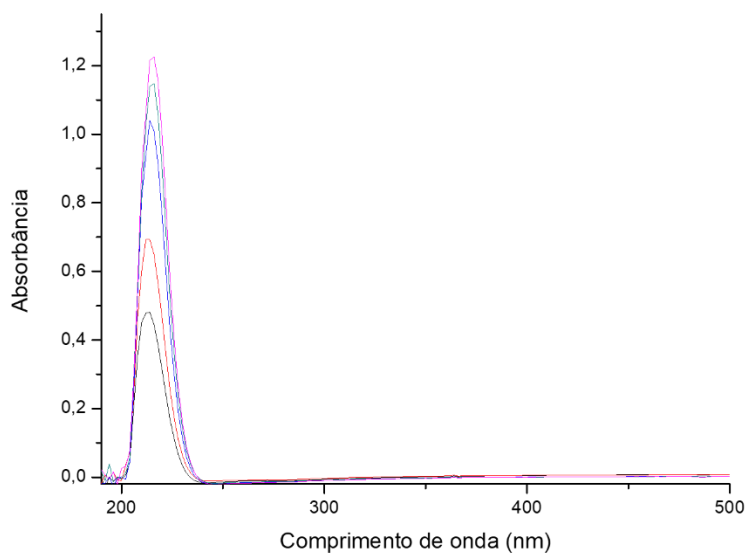


Figura A. 20 - Espectro de absorção na região do UV-visível do complexo **6a**, em *n*-octanol.

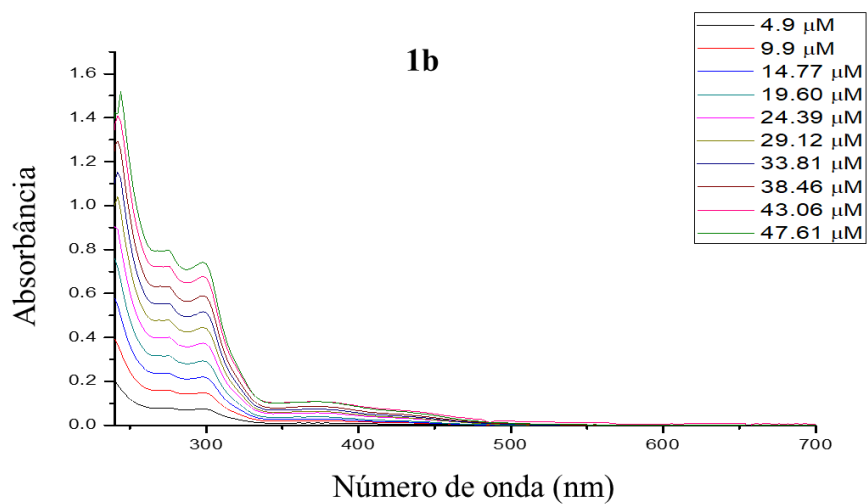


Figura A.21 - Espectro de absorção na região do UV-visível do complexo **1b** em dicloroetano.

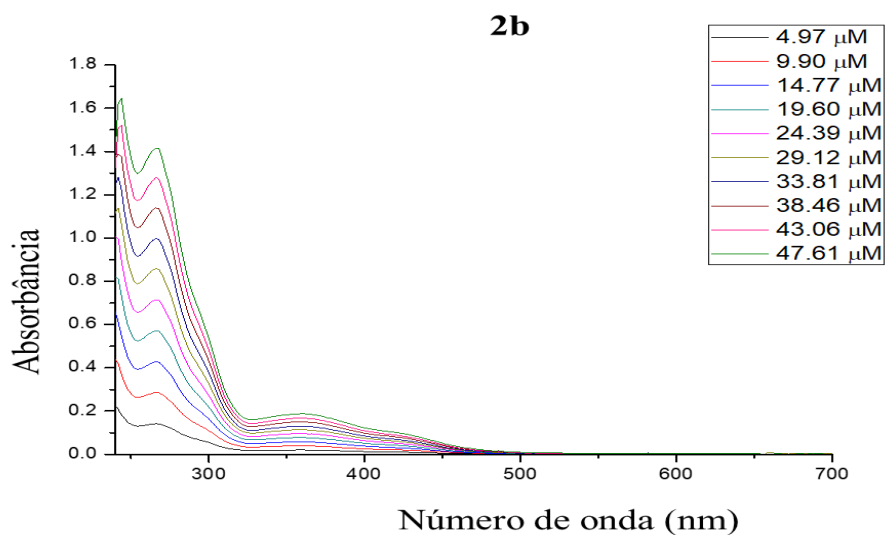


Figura A.22 - Espectro de absorção na região do UV-visível do complexo **2b** em dicloroetano.

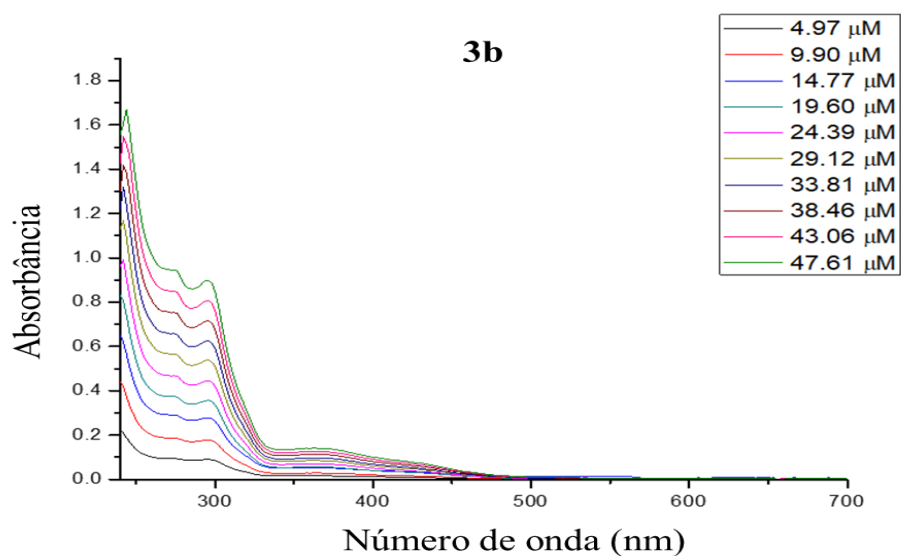


Figura A.23 - Espectro de absorção na região do UV-visível do complexo **3b** em dicloroetano.

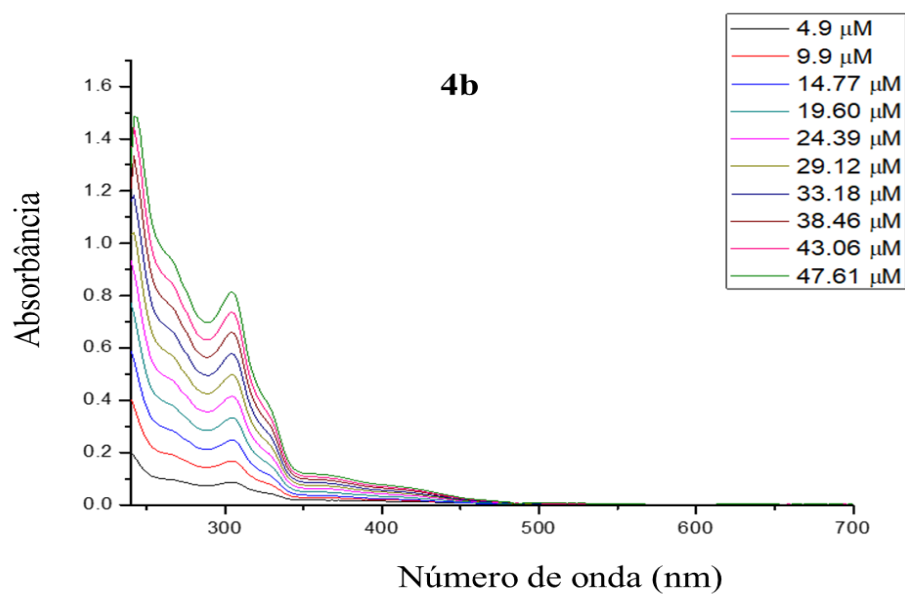


Figura A.24 - Espectro de absorção na região do UV-visível do complexo **4b** em dicloroetano.

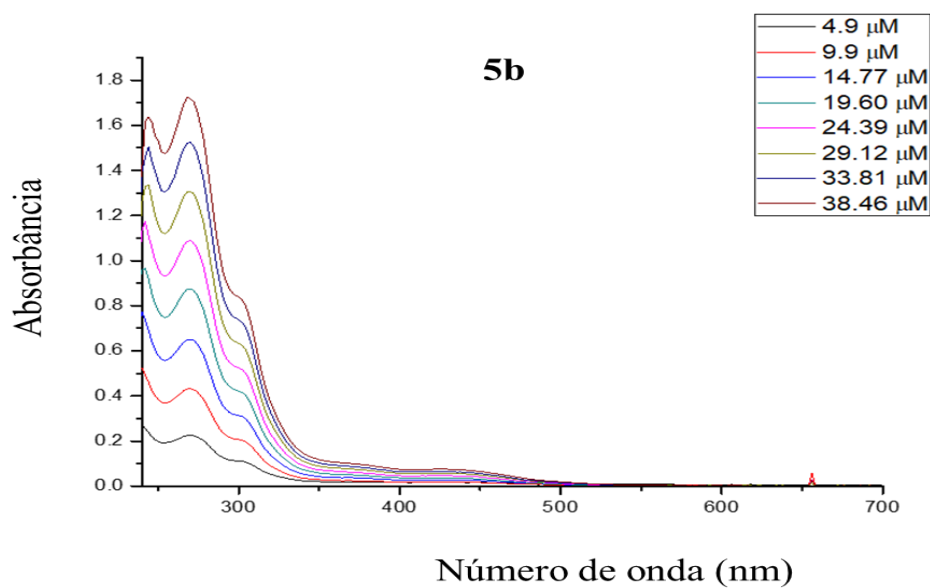


Figura A.25 - Espectro de absorção na região do UV-visível do complexo **5b** em dicloroetano.

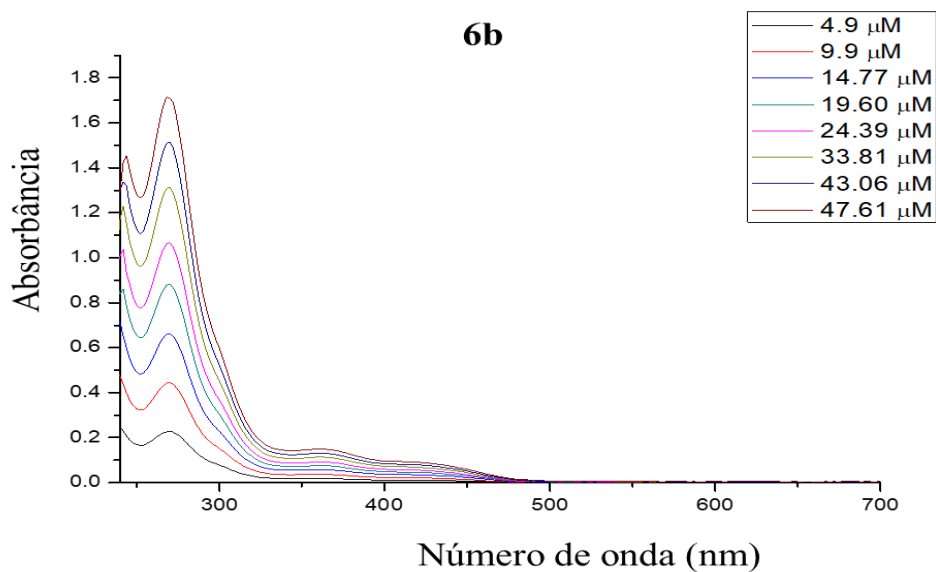


Figura A.26 - Espectro de absorção na região do UV-visível do complexo **6b** em dicloroetano.

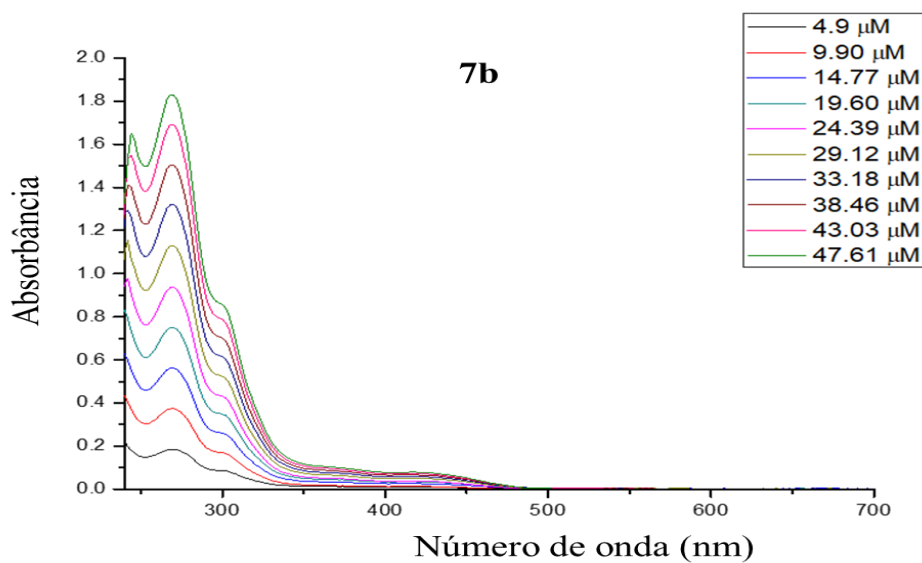


Figura A.27 - Espectro de absorção na região do UV-visível do complexo **7b** em dicloroetano.

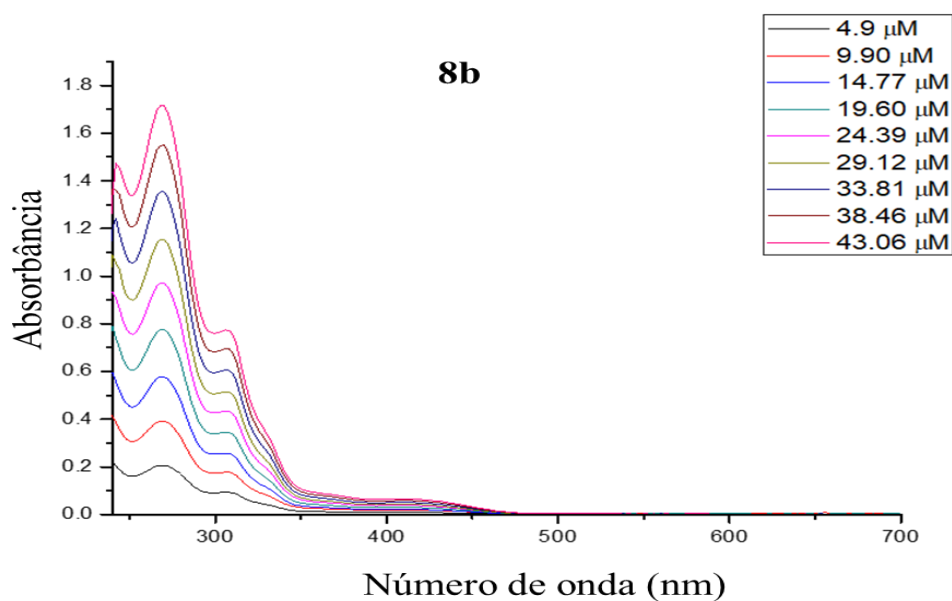


Figura A.28 - Espectro de absorção na região do UV-visível do complexo **8b** em dicloroetano.

Voltamogramas cíclico dos complexos da série 1 e série 2.

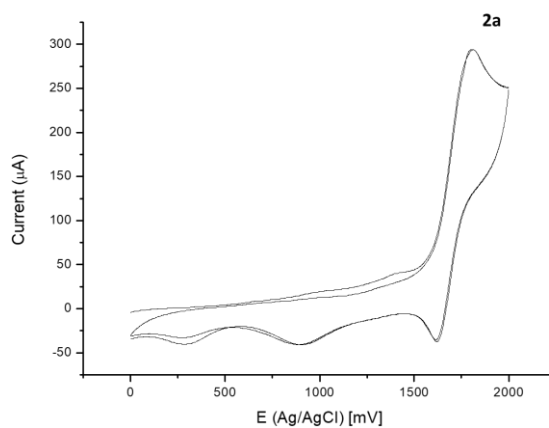


Figura A.29 - Voltamograma cíclico do complexo **2a** obtidos em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

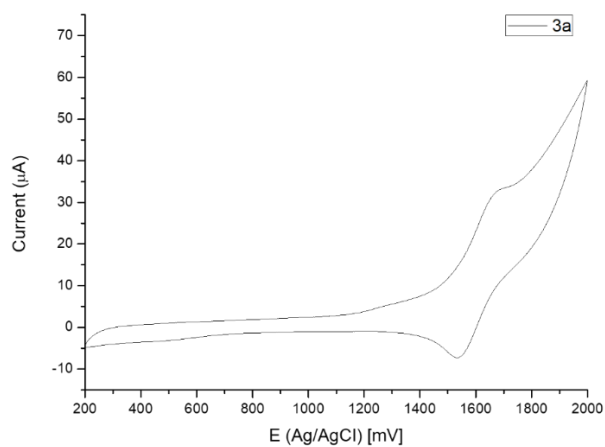


Figura A.30 - Voltamograma cíclico do complexo **3a** obtidos em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

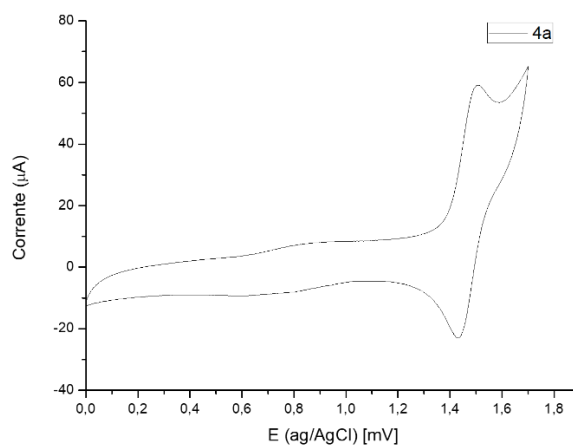


Figura A.31 - Voltamograma cíclico do complexo **4a** obtidos em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

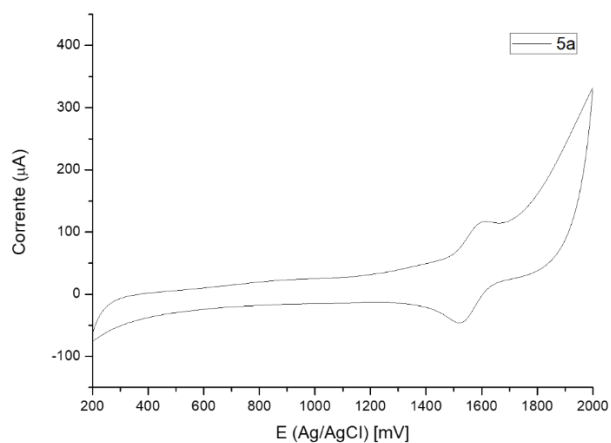


Figura A.32 - Voltamograma cíclico do complexo **5a** obtidos em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

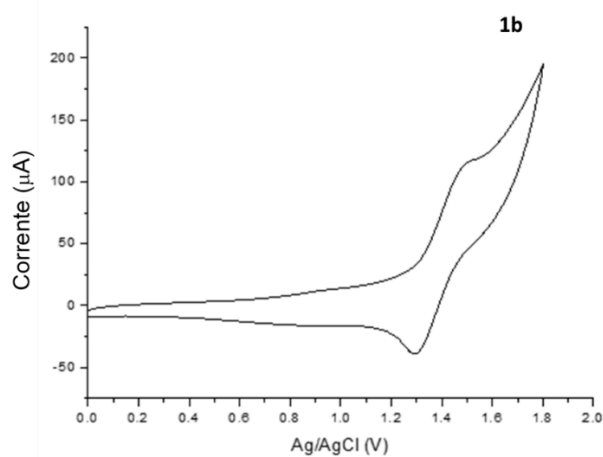


Figura A.33 - Voltamograma cíclico do complexo **1b** obtidos em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

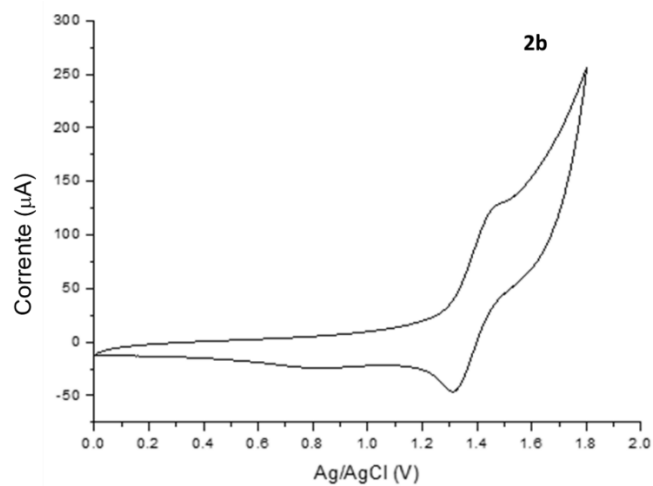


Figura A.34 - Voltamograma cíclico do complexo **2b** obtidos em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

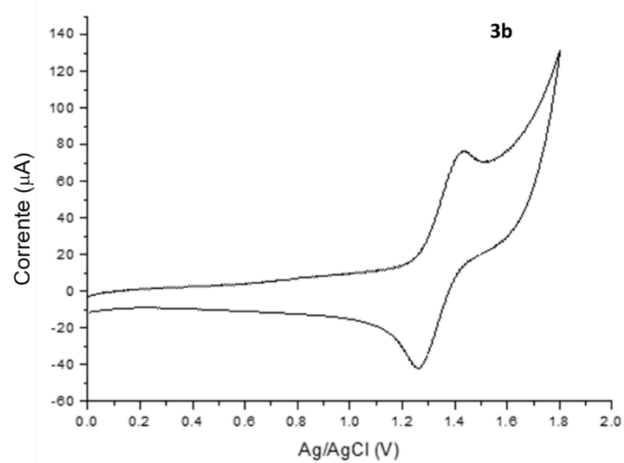


Figura A.35 - Voltamograma cíclico do complexo **3b** obtidos em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

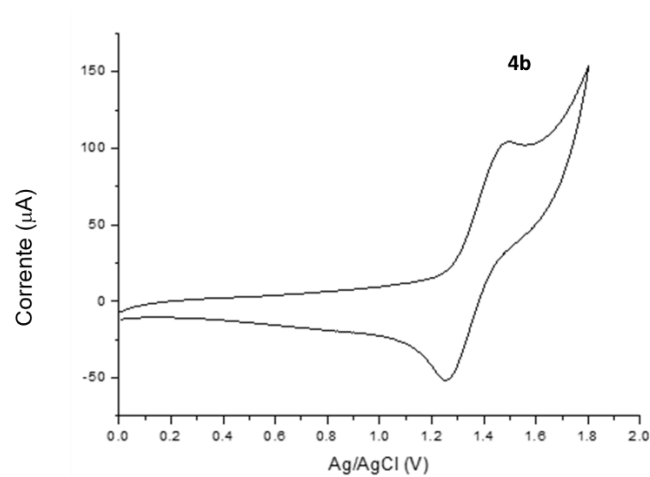


Figura A.36 - Voltamograma cíclico do complexo **4b** obtidos em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

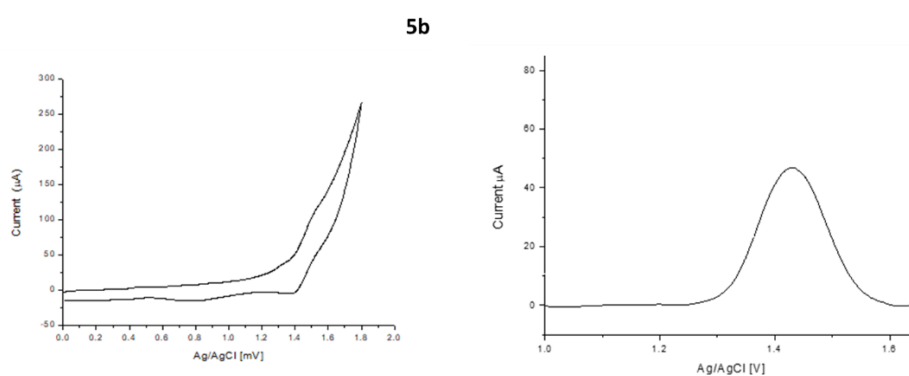


Figura A.37 - Voltamograma cíclico e pulso de oxidação do complexo **5b** obtidos em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

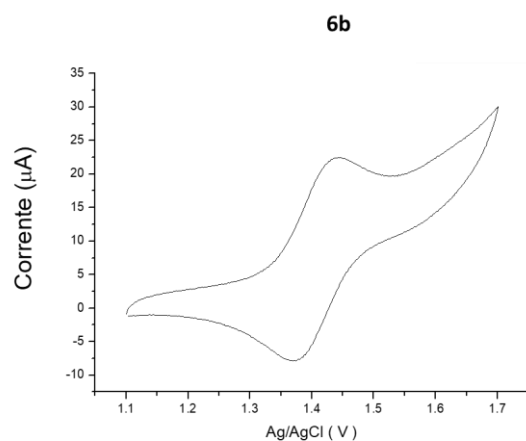


Figura A.38 - Voltamograma cíclico do complexo **6b** obtidos em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

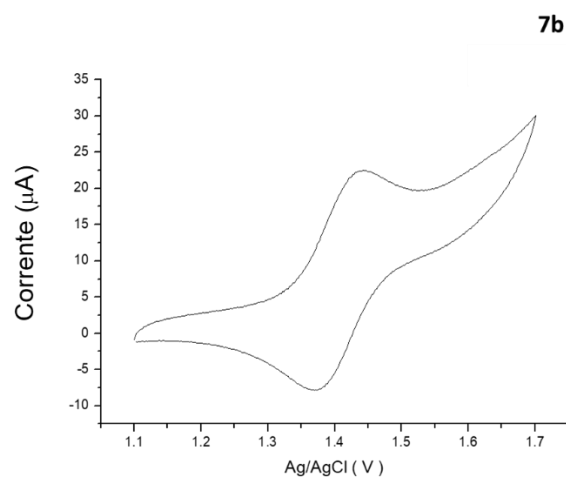


Figura A.39 - Voltamograma cíclico do complexo **7b** obtidos em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} .

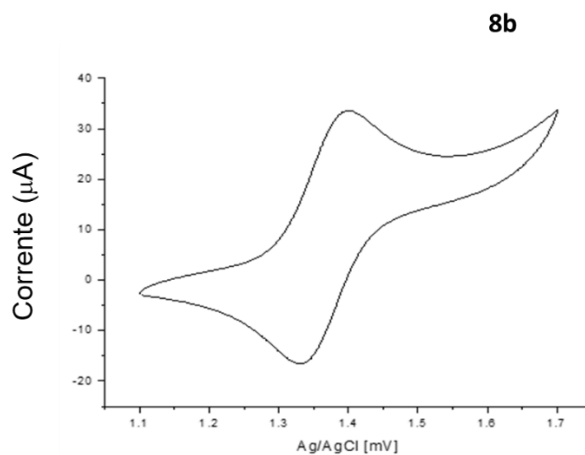


Figura A.40 - Voltamograma cíclico do complexo **8b** obtidos em acetonitrila (0,1M PTBA, Ag/AgCl), velocidade de varredura de 50 mV s⁻¹.

Espectros de RMN dos complexos da série 1 e série 2.

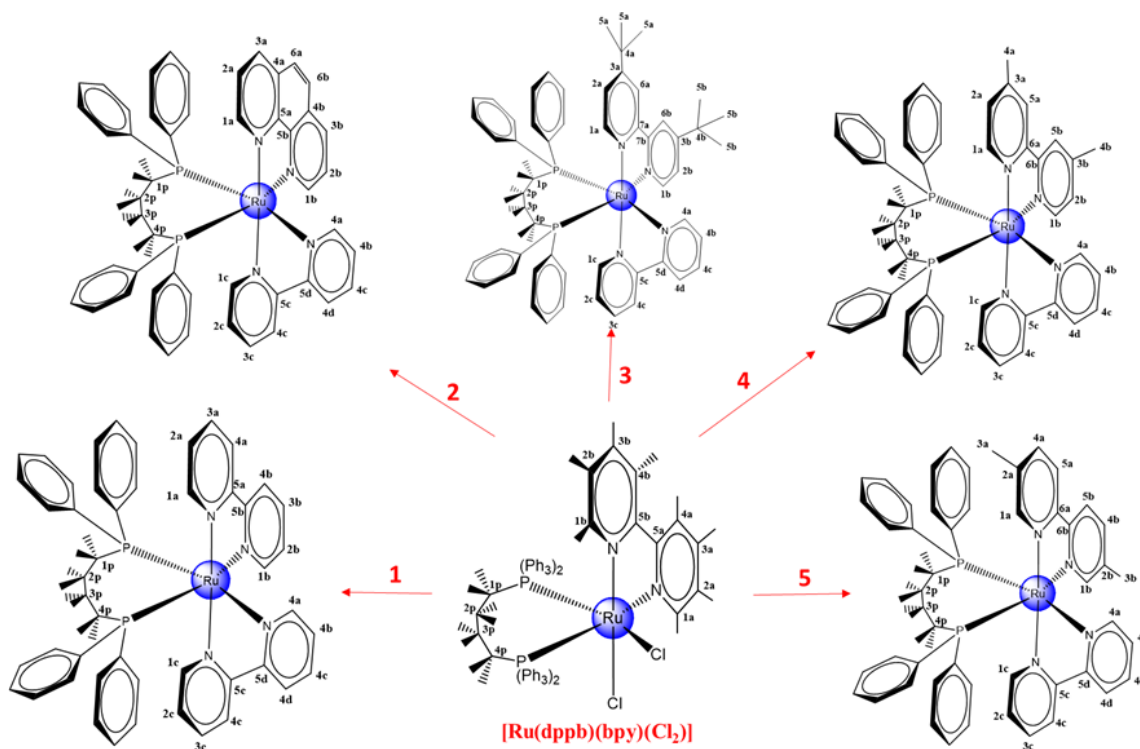


Figura A. 41 – Numeração das estruturas **1a-5a**, usada para atribuição do RMN.

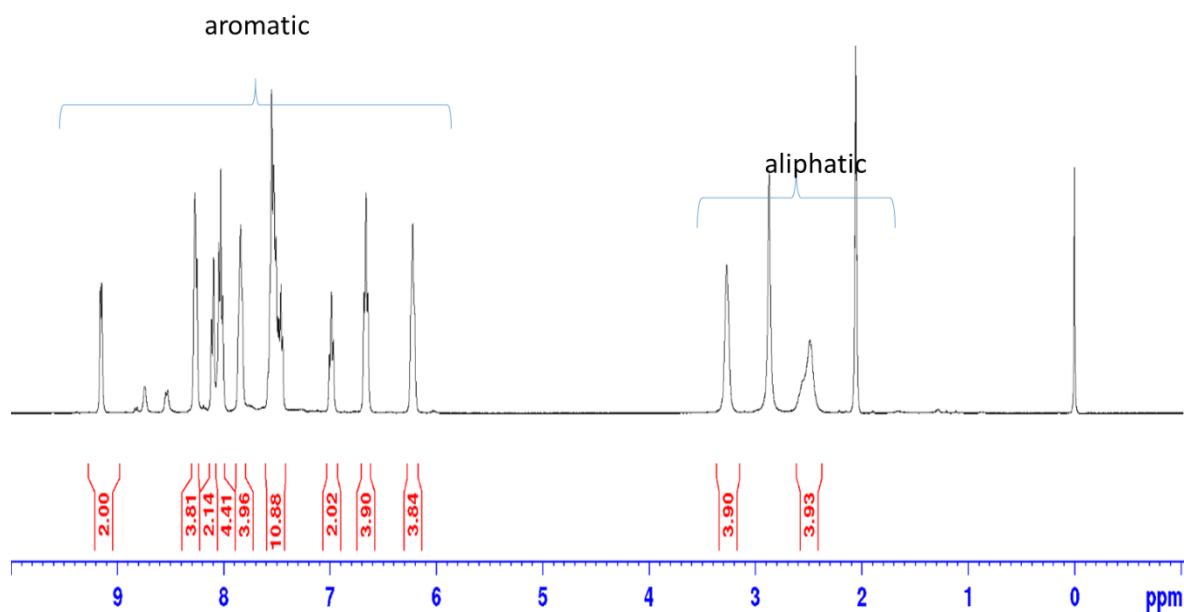


Figura A.42 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{phen})](\text{ClO}_4)_2$ (**2a**), em $\text{acetona-}d_6$.

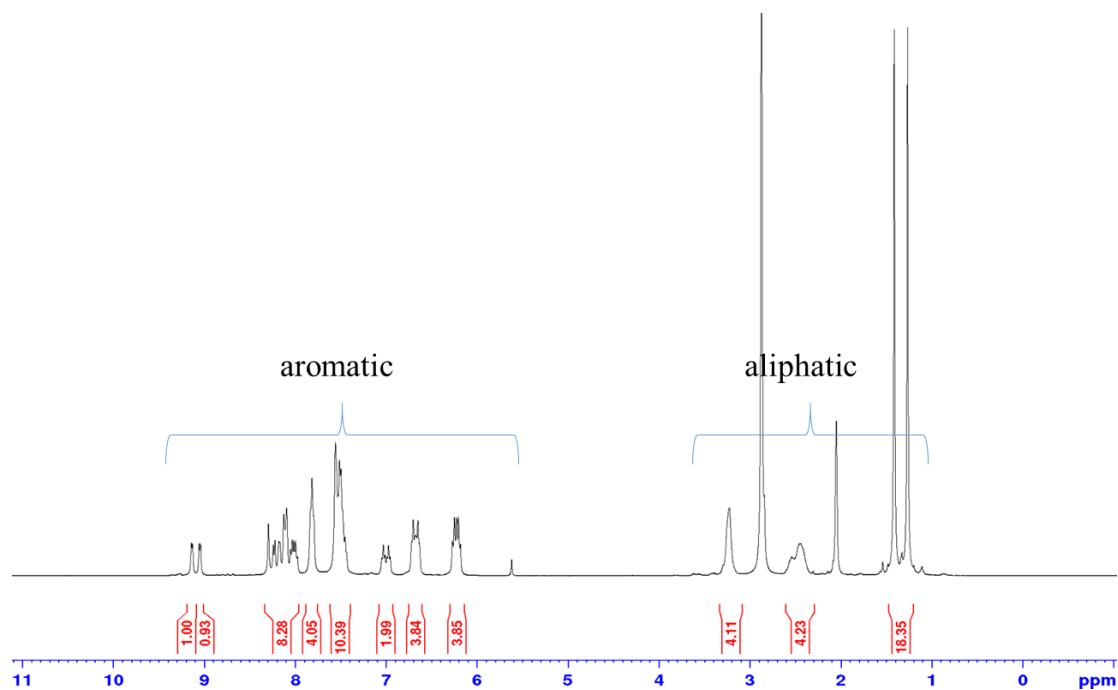


Figura A.43 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{dtbipy})](\text{ClO}_4)_2$ (**3a**), em $\text{acetona-}d_6$.

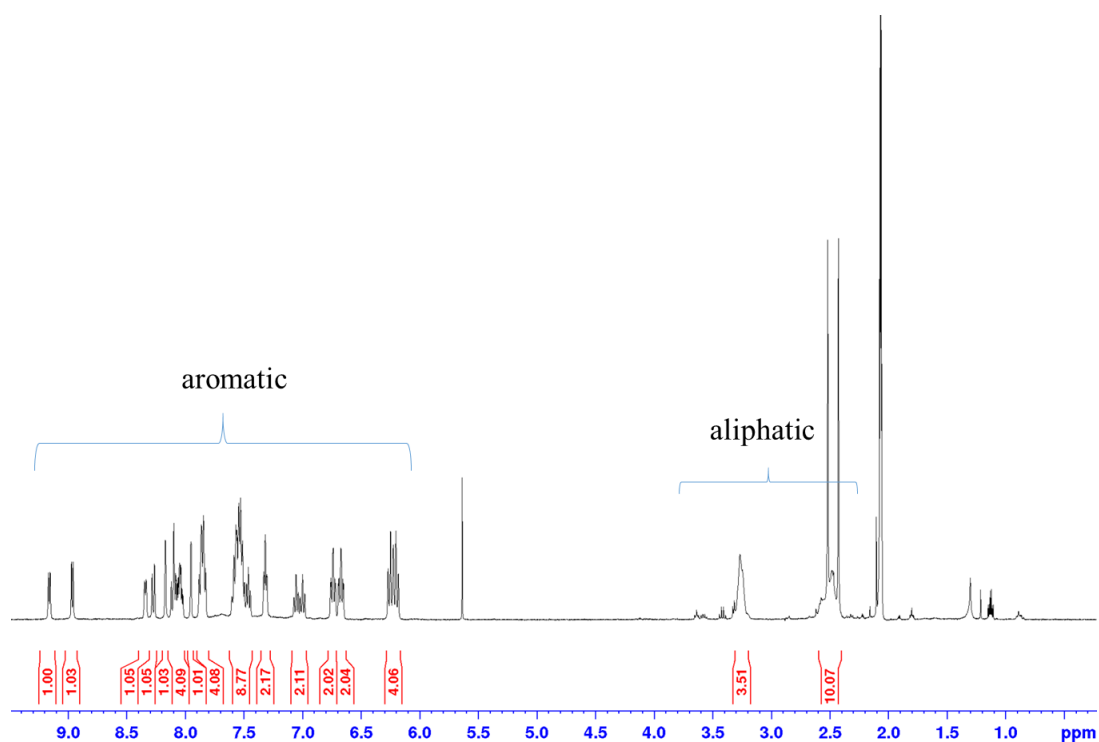


Figura A.44 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(44\text{bipy})](\text{ClO}_4)_2$ (**4a**), em acetona- d_6 .

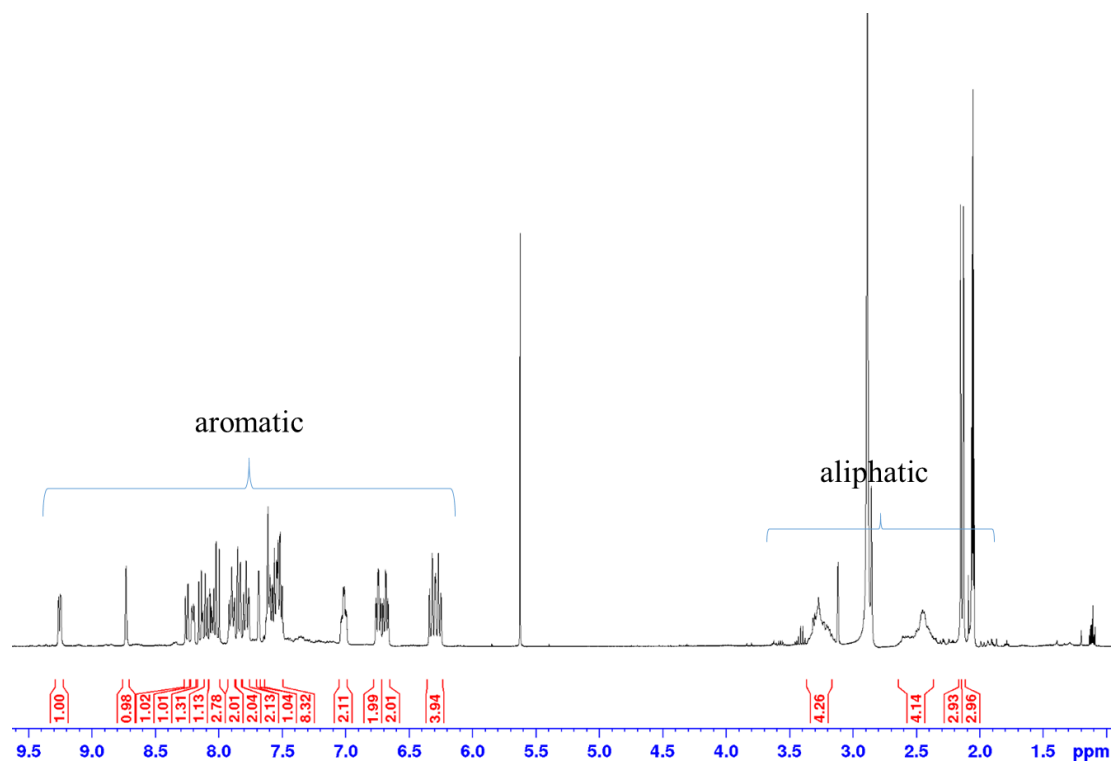


Figura A.45 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(55\text{bipy})](\text{ClO}_4)_2$ (**5a**), em acetona- d_6 .

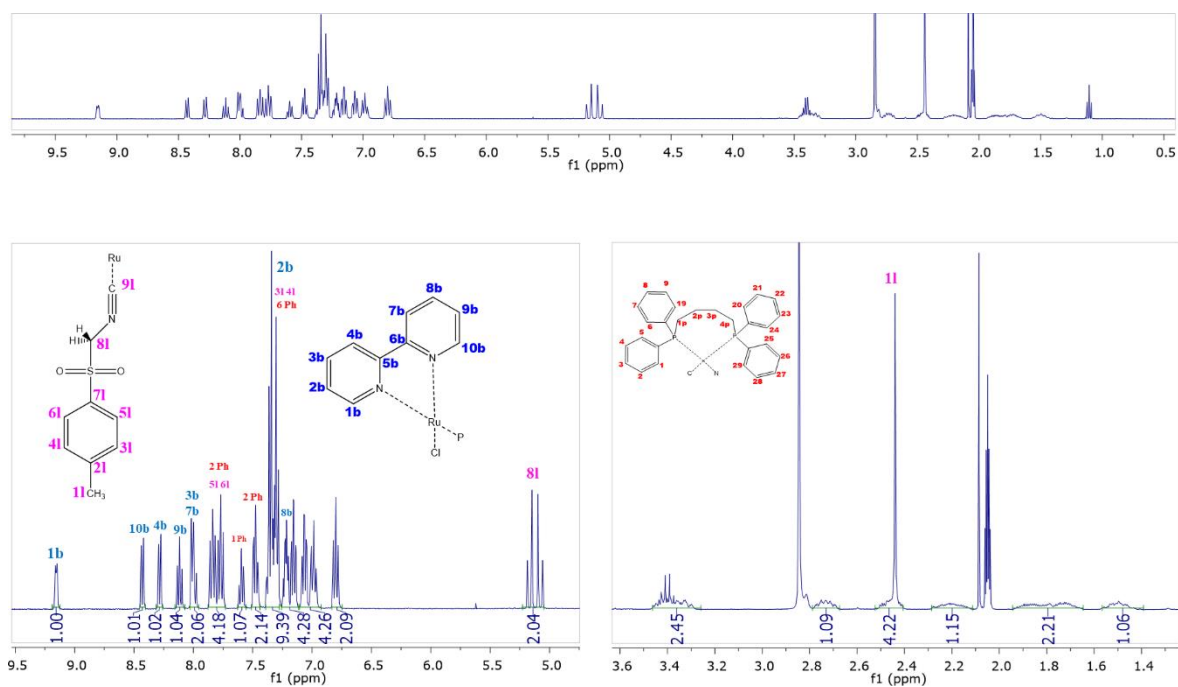


Figura A.46 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**1b**), em $\text{acetona-}d_6$.

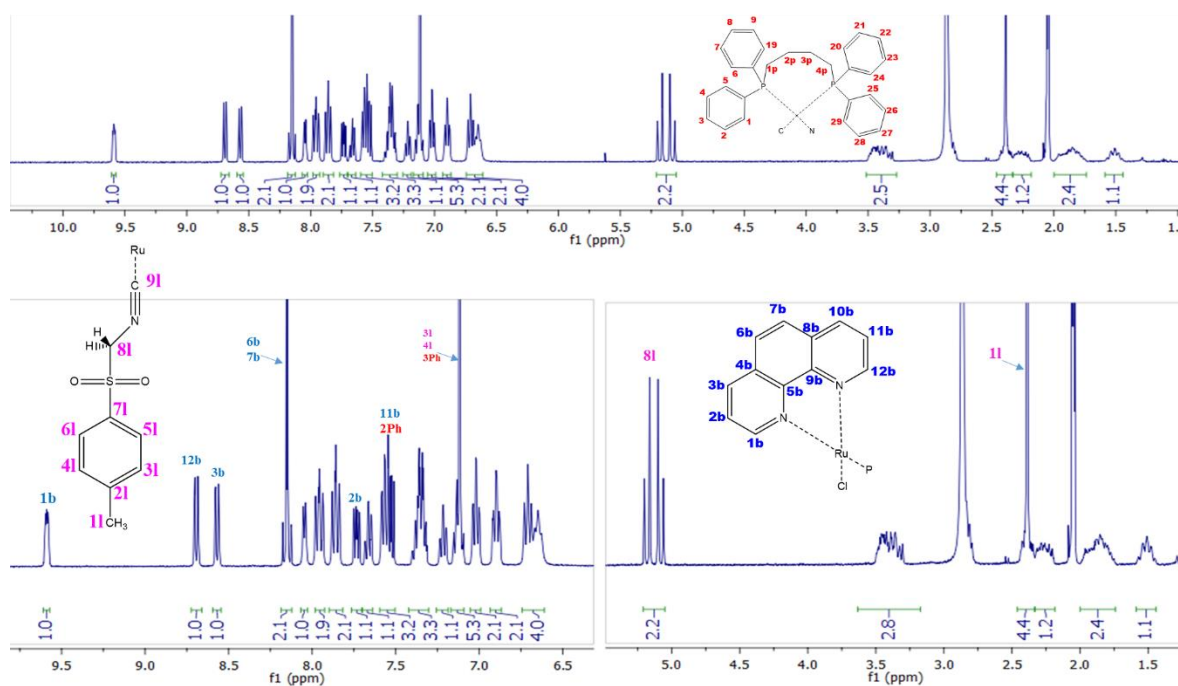


Figura A.47 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{phen})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**2b**), em $\text{acetona-}d_6$.

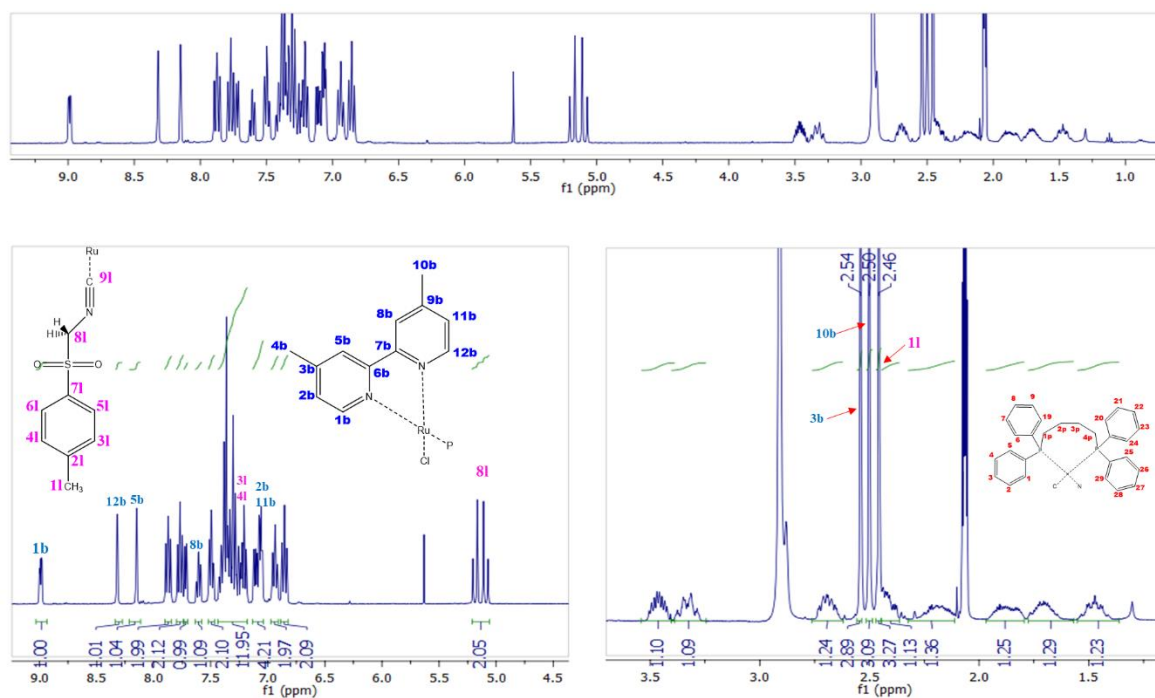


Figura A. 48 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{dppb})(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**3b**), em $\text{acetone-}d_6$.

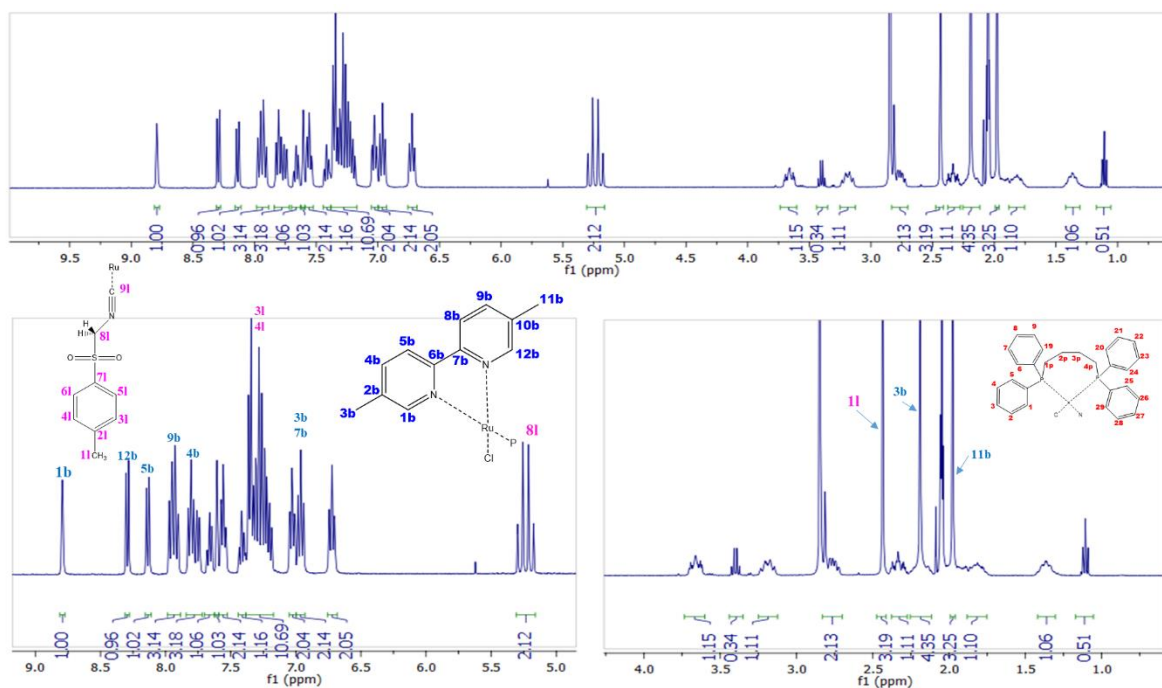


Figura A. 49 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{dppb})(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**4b**), em $\text{acetone-}d_6$.

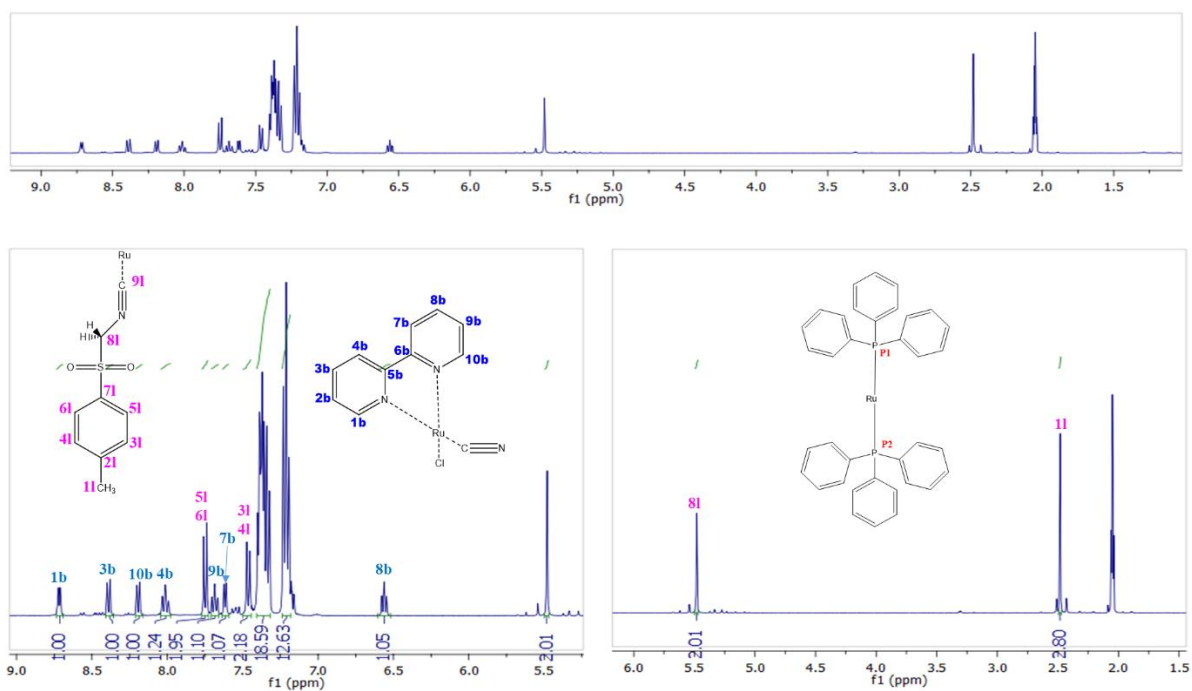


Figura A.50 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})(\text{ToI})]\text{PF}_6$ (**5b**), em acetona- d_6 .

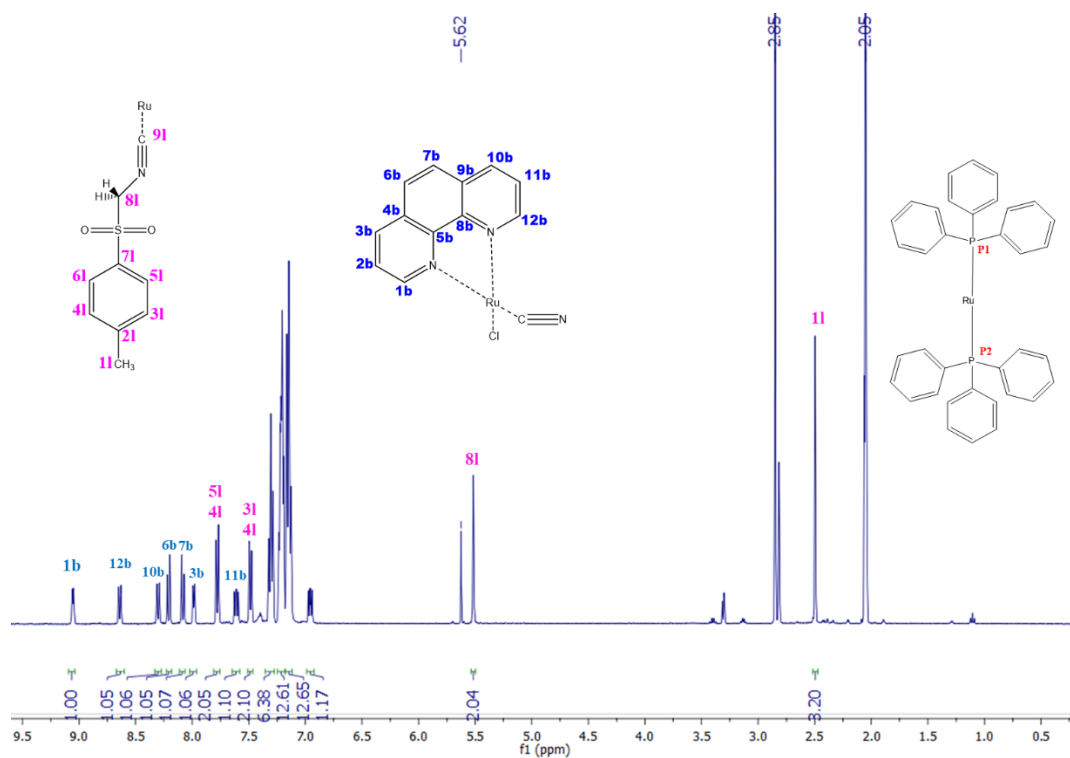


Figura A.51 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(\text{phen})(\text{ToI})]\text{PF}_6$ (**6b**), em acetona- d_6 .

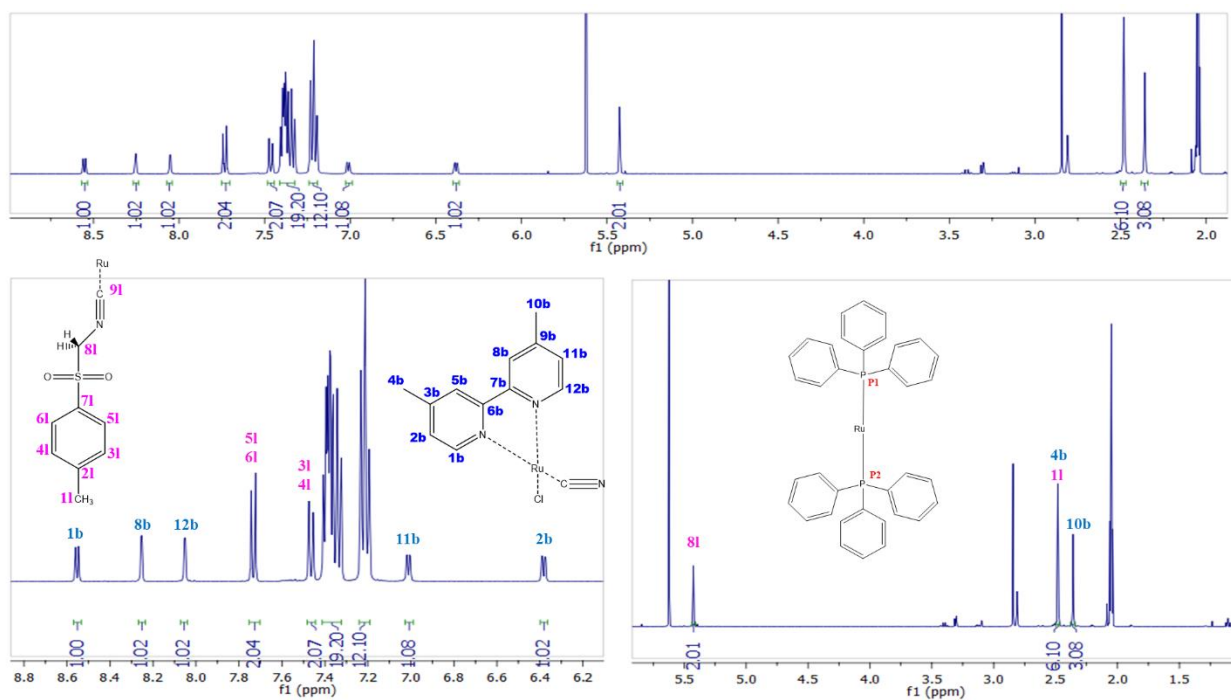


Figura A.52 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**7b**), em acetona- d_6 .

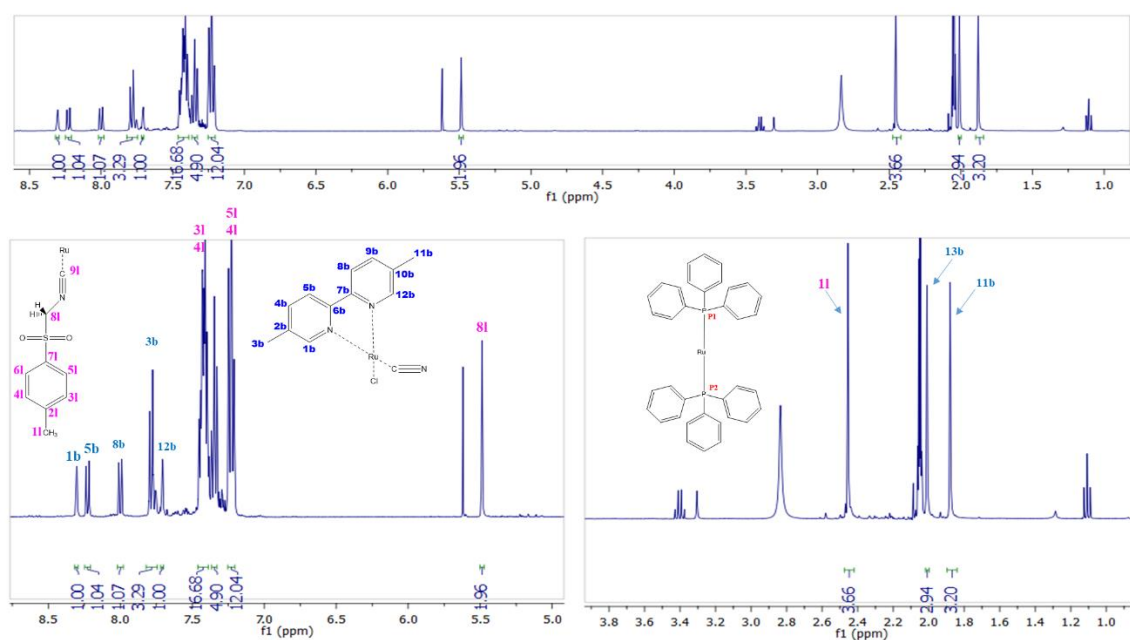


Figura A.53 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**8b**), em acetona- d_6 .

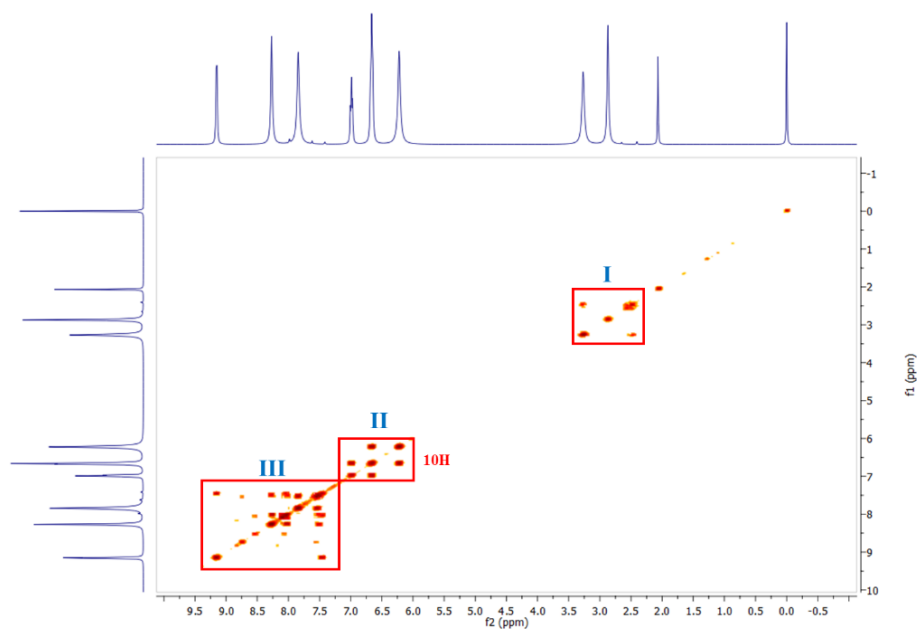


Figura A.54 - Experimento ^1H - ^1H COSY do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{phen})](\text{ClO}_4)_2$ (**2a**), em acetona- d_6 .

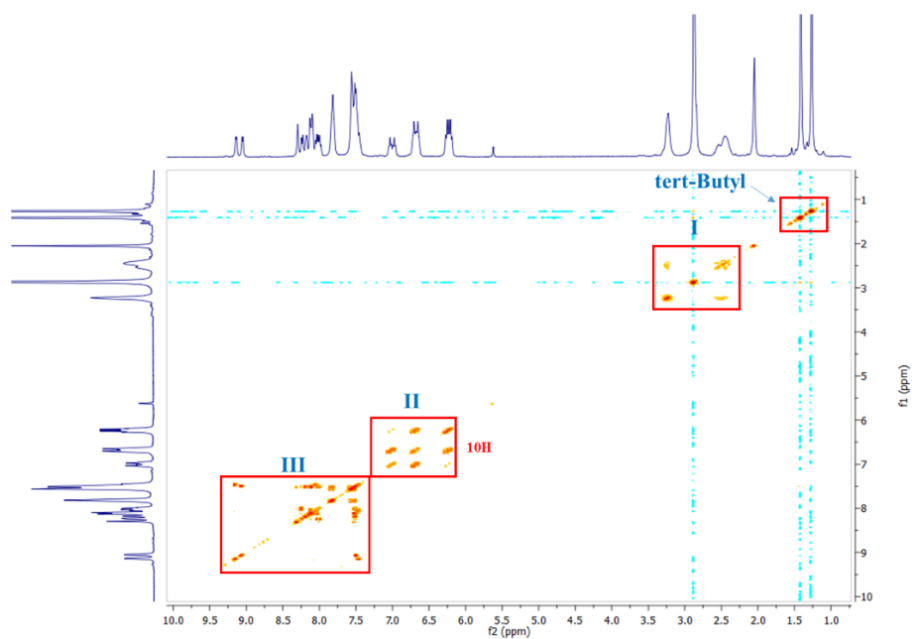


Figura A.55 - Experimento ^1H - ^1H COSY do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{dtbipy})](\text{ClO}_4)_2$ (**3a**), em acetona- d_6 .

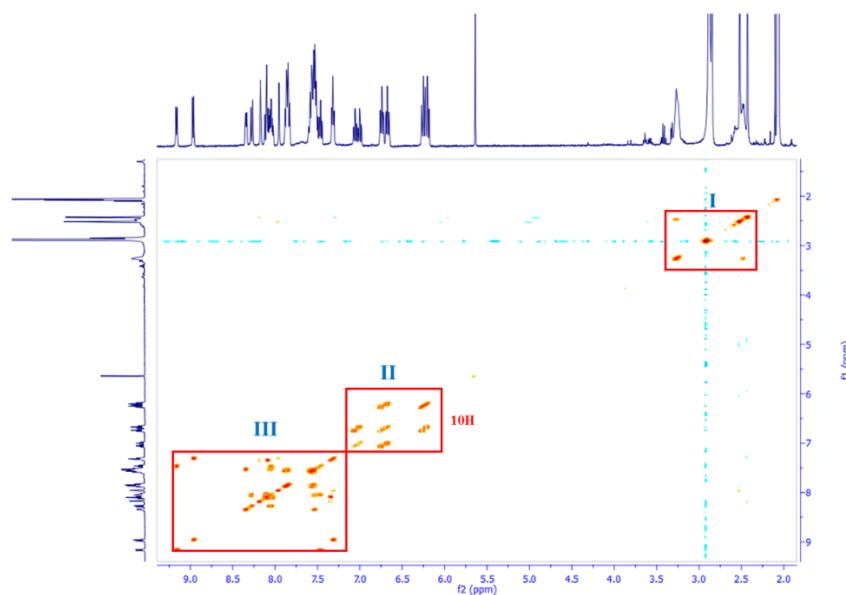


Figura A.56 - Experimento ^1H - ^1H COSY do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(44\text{bipy})](\text{ClO}_4)_2$ (**4a**), em acetona- d_6 .

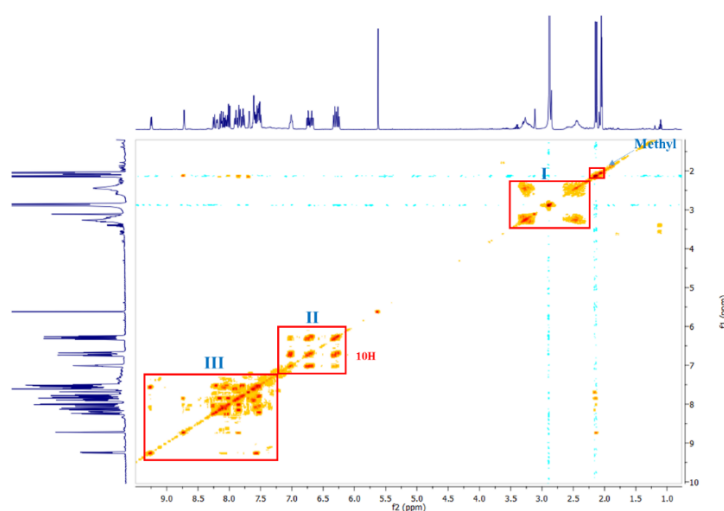


Figura A.57 - Experimento ^1H - ^1H COSY do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})(55\text{bipy})](\text{ClO}_4)_2$ (**5a**), em acetona- d_6 .

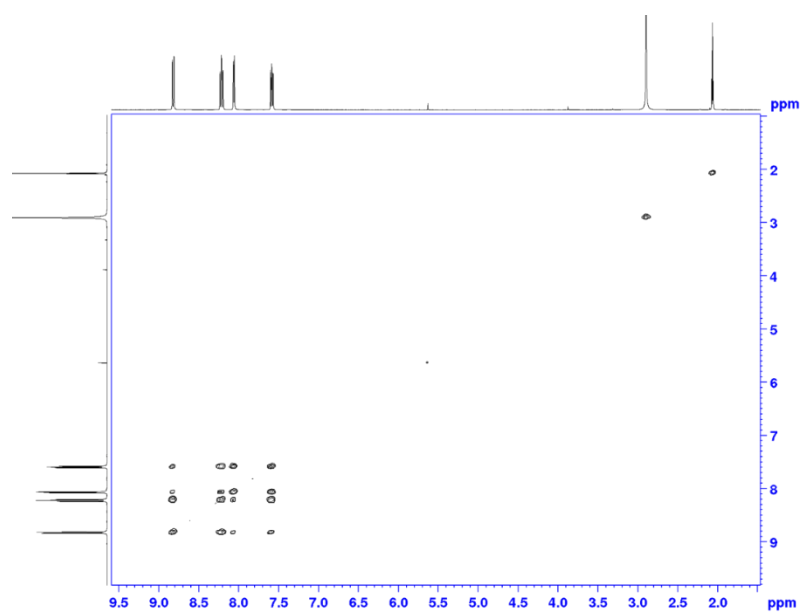


Figura A.58 - Experimento ^1H - ^1H COSY do complexo $[\text{Ru}(\text{bipy})_3](\text{PF}_6)_2$ (**6a**), em acetona- d_6 .

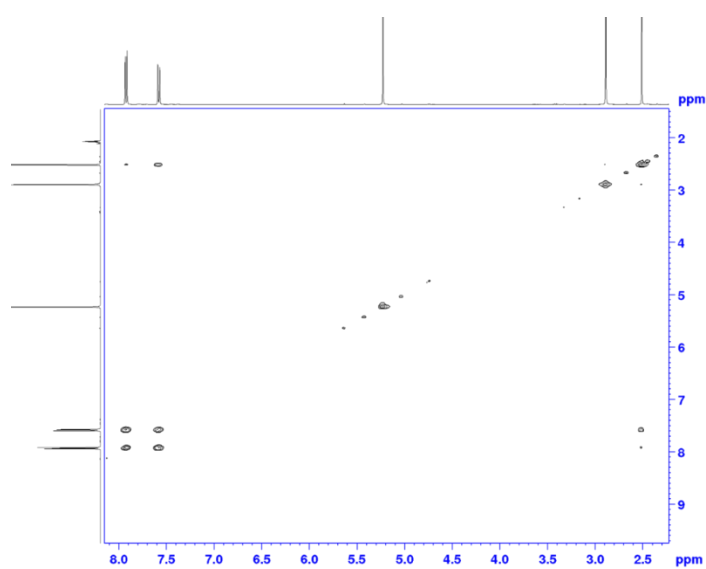


Figura A.59 - Experimento ^1H - ^1H COSY do ligante Tol, , em acetona- d_6 .

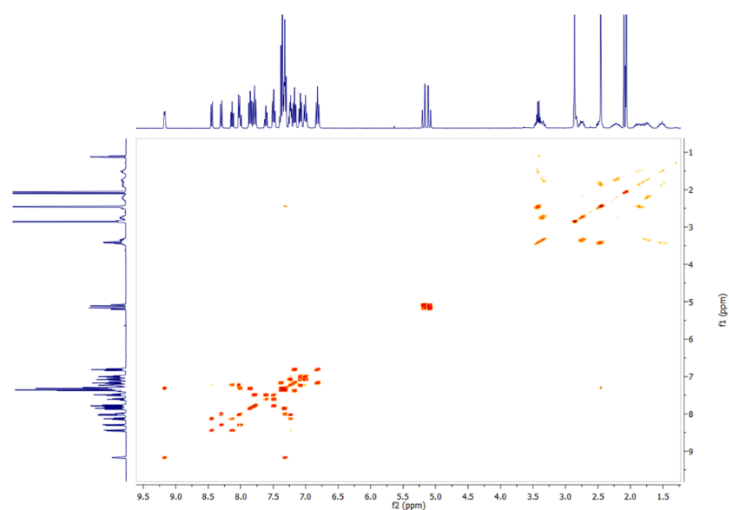


Figura A.60 - Experimento ^1H - ^1H COSY do complexo $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**1b**), em acetona- d_6 .

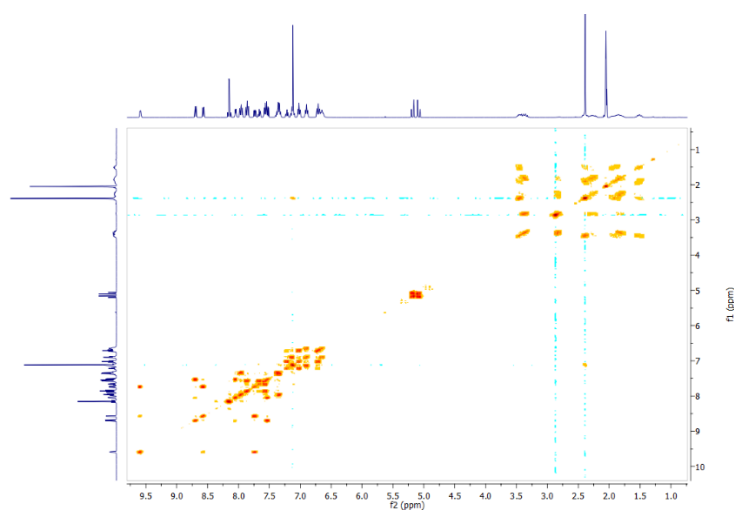


Figura A.61 - Experimento ^1H - ^1H COSY do complexo $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{phen})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**2b**), em acetona- d_6 .

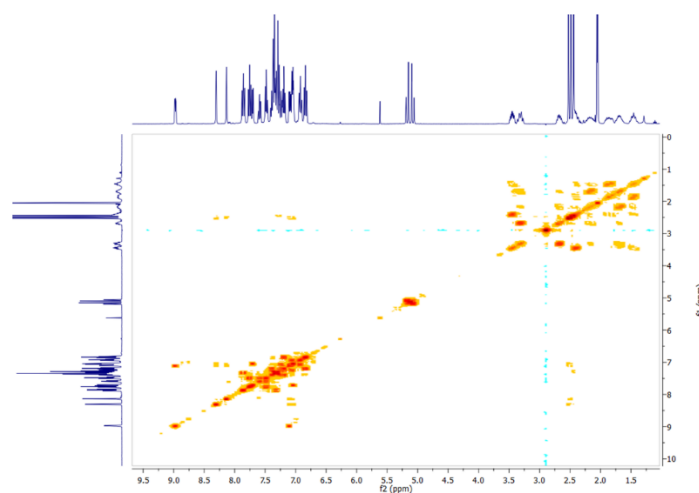


Figura A.62 - Experimento ^1H - ^1H COSY do complexo $[\text{RuCl}(\text{dppb})(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**3b**), em acetona- d_6 .

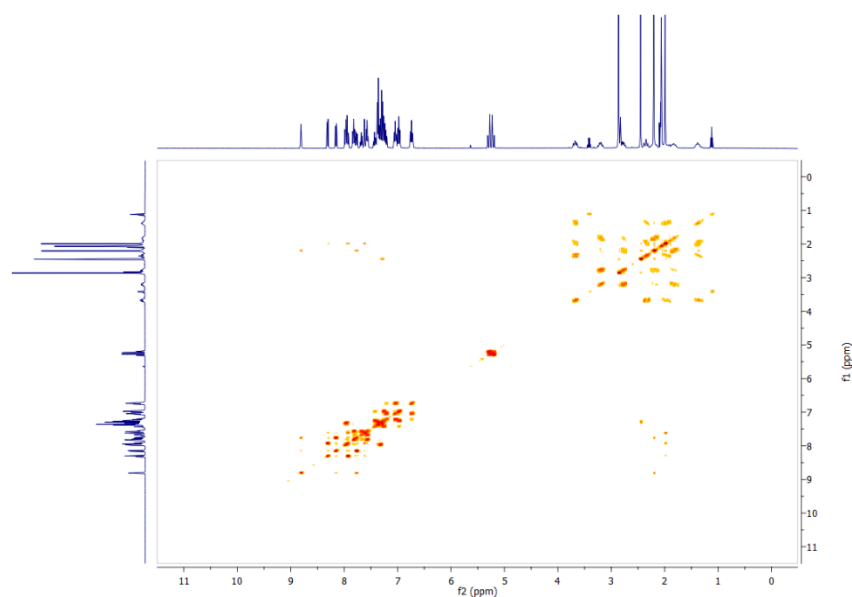


Figura A.63 - Experimento ^1H - ^1H COSY do complexo $[\text{RuCl}(\text{dppb})(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**4b**), em acetona- d_6 .

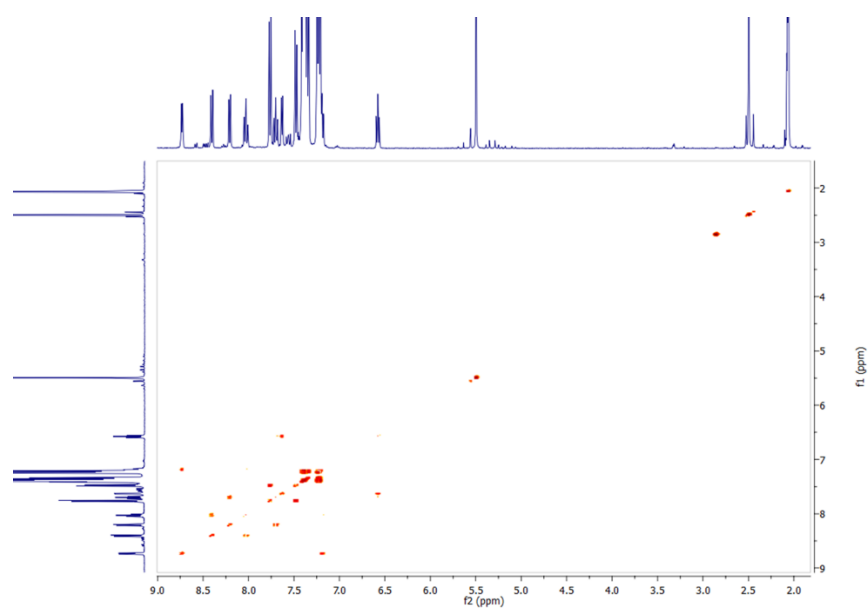


Figura A.64 - Experimento ¹H-¹H COSY do complexo [RuCl(PPh₃)₂(bipy)(Tol)]PF₆ (**5b**), em acetona-*d*₆.

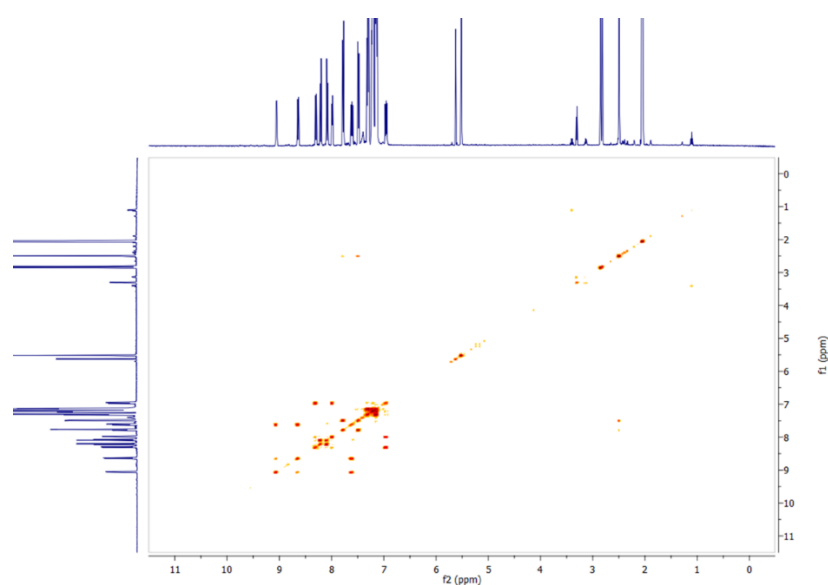


Figura A.65 - Experimento ¹H-¹H COSY do complexo [RuCl(PPh₃)₂(phen)(Tol)]PF₆ (**6b**), em acetona-*d*₆.

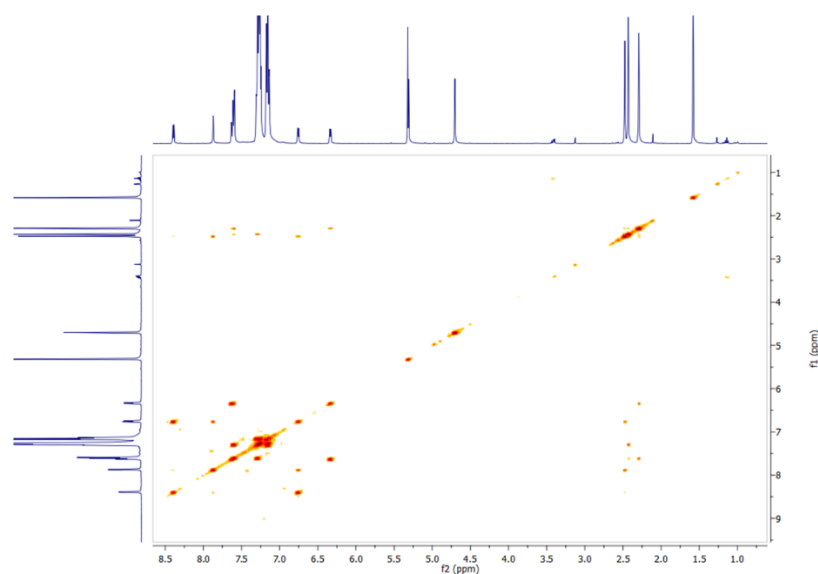


Figura A.66 - Experimento ^1H - ^1H COSY do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(44\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**7b**), em acetona- d_6 .

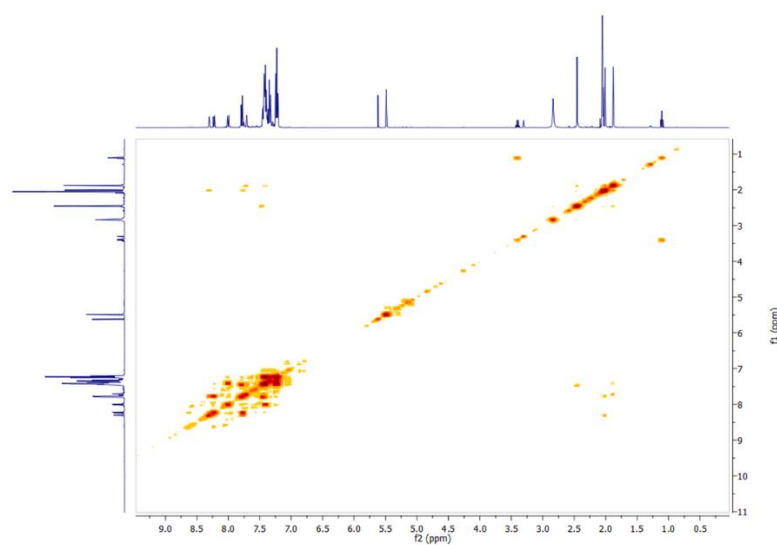


Figura A.67 - Experimento ^1H - ^1H COSY do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2(55\text{bipy})(\text{Tol})]\text{PF}_6$ (**8b**), em acetona- d_6 .

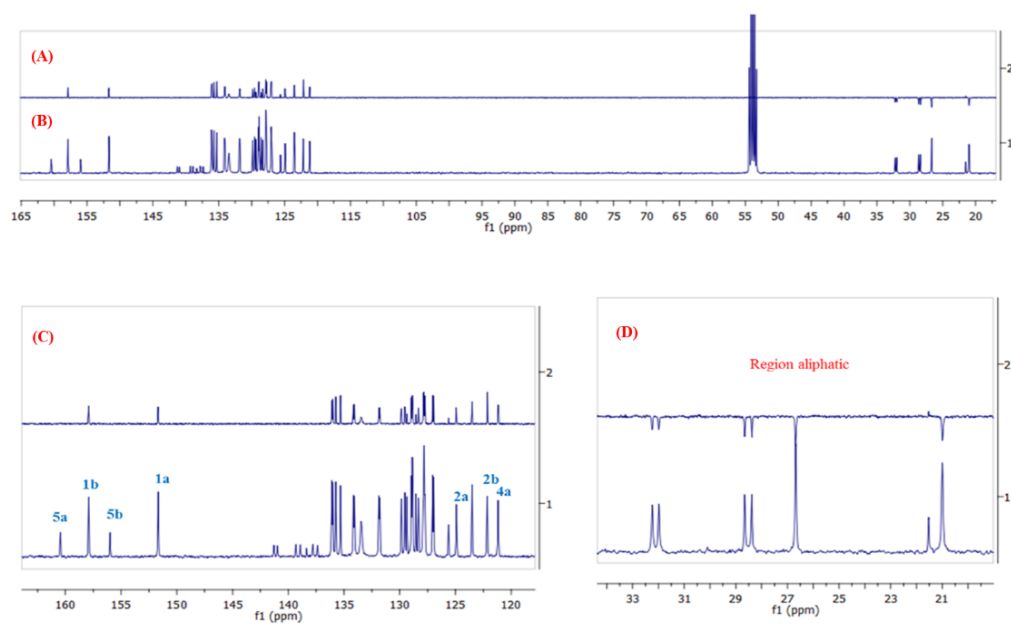


Figura A. 68 - Espectros DEPT-135 (A), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (B), ampliação da região aromática (C) e ampliação da região alifática (D) do precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$, em acetona- d_6 .

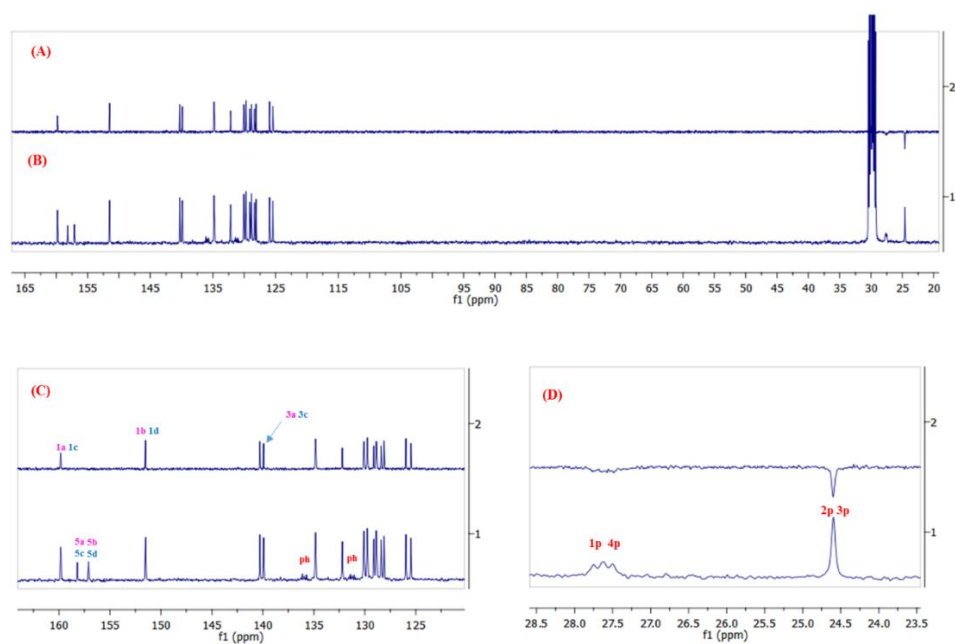


Figura A.69 - Espectros DEPT-135 (A), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (B), ampliação da região aromática (C) e ampliação da região alifática (D) do complexo **1a**, em acetona- d_6 .

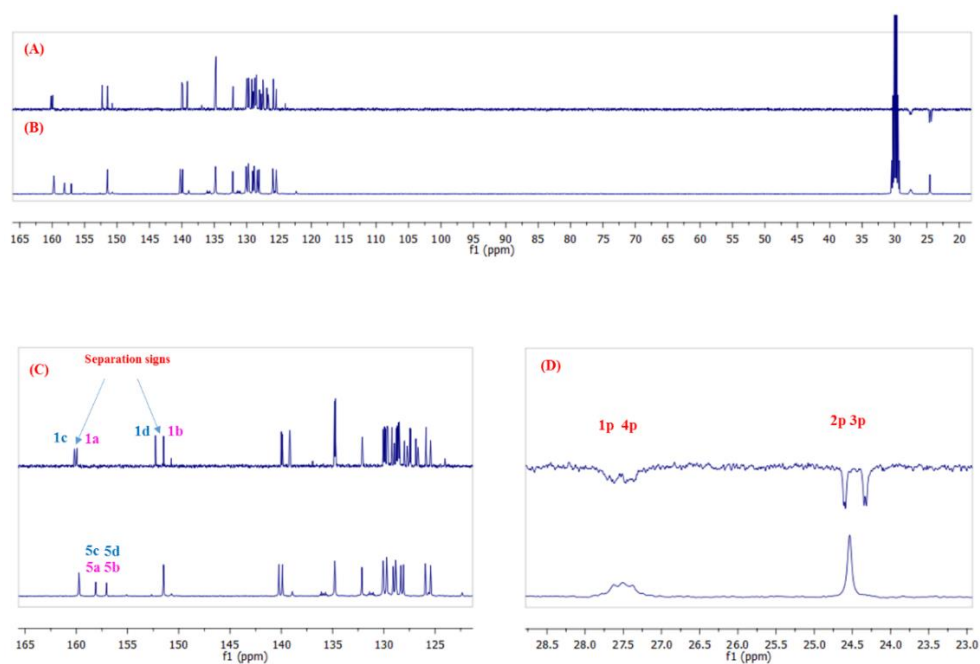


Figura A.70 - Espectros DEPT-135 (A), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (B), ampliação da região aromática (C) e ampliação da região alifática (D) do complexo **2a**, em acetona- d_6 .

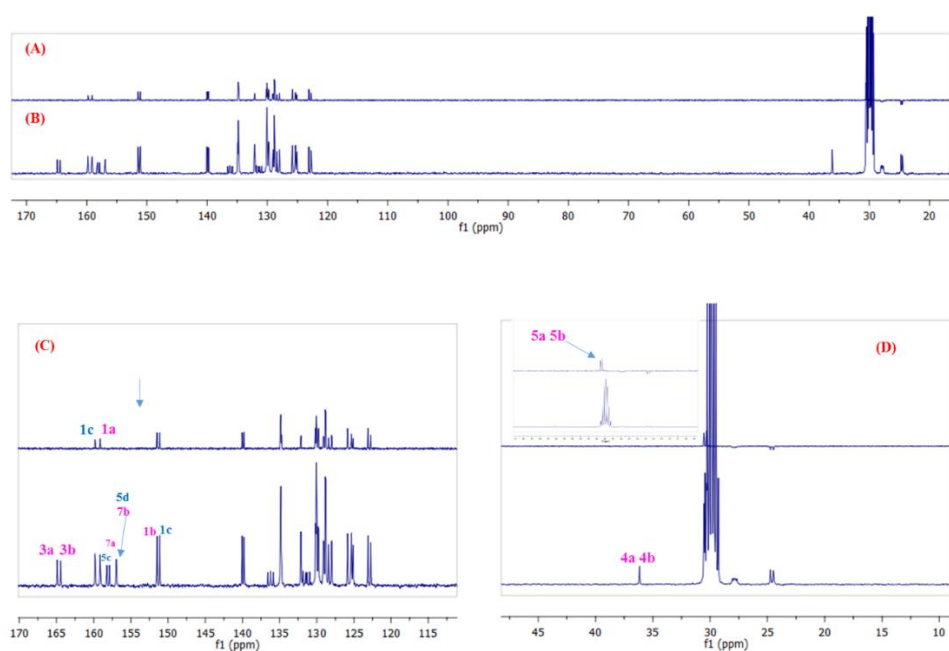


Figura A. 71 - Espectros DEPT-135 (A), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (B), ampliação da região aromática (C) e ampliação da região alifática (D) do complexo **3a**, em acetona- d_6 .

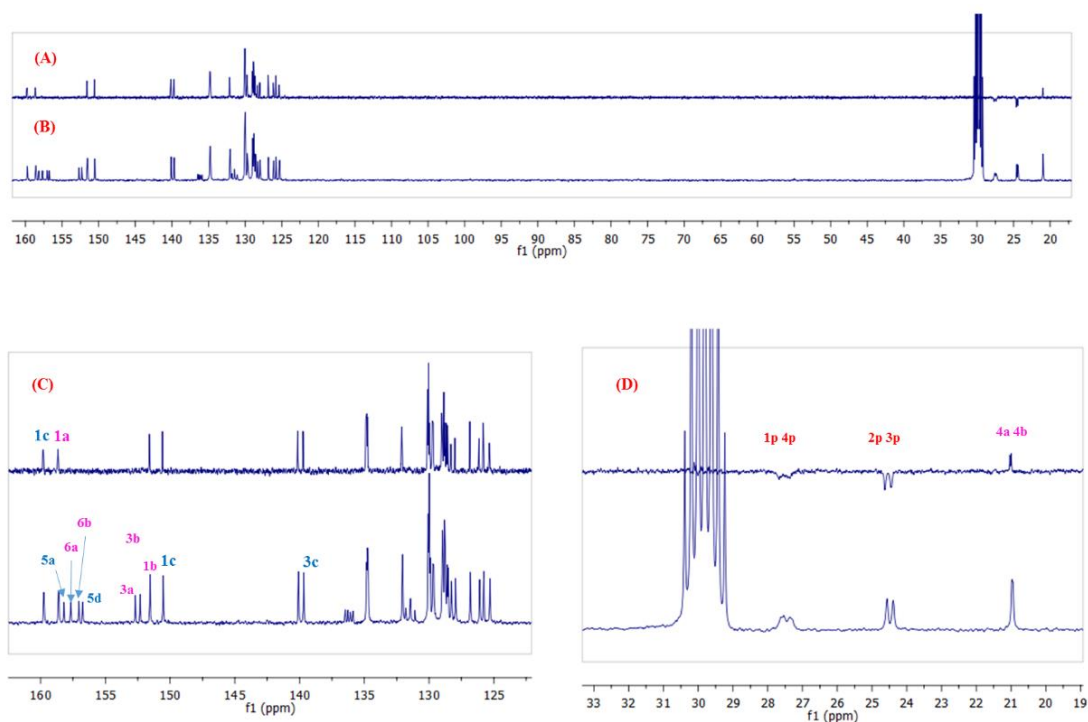


Figura A.72 - Espectros DEPT-135 (A), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (B), ampliação da região aromática (C) e ampliação da região alifática (D) do complexo **4a**, em acetona- d_6 .

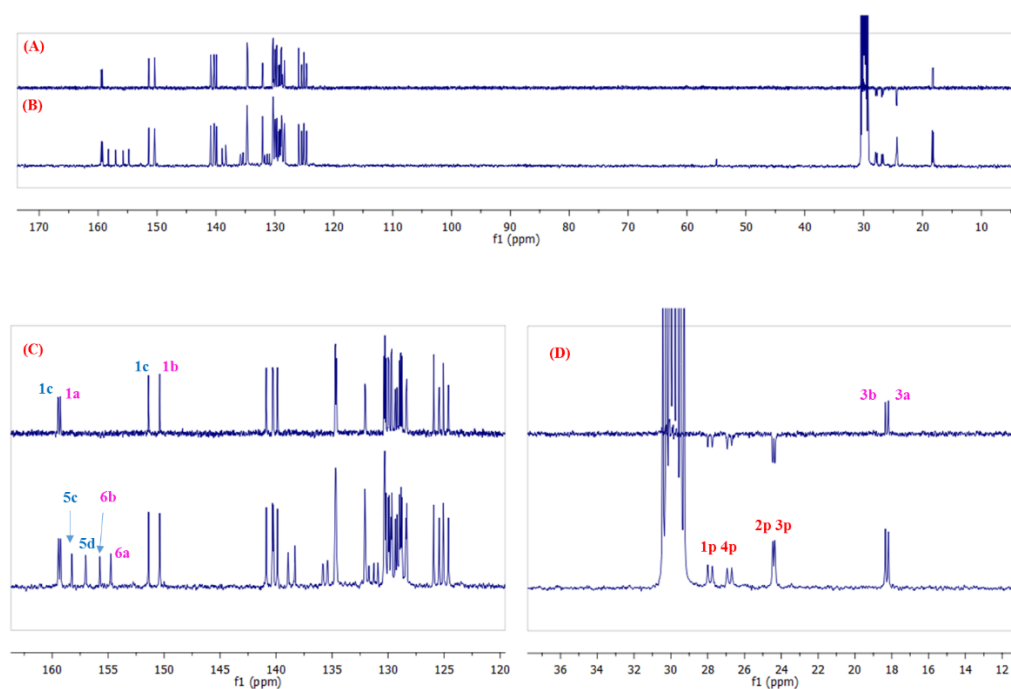


Figura A. 73 - Espectros DEPT-135 (A), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (B), ampliação da região aromática (C) e ampliação da região alifática (D) do complexo **5a**, em acetona- d_6 .

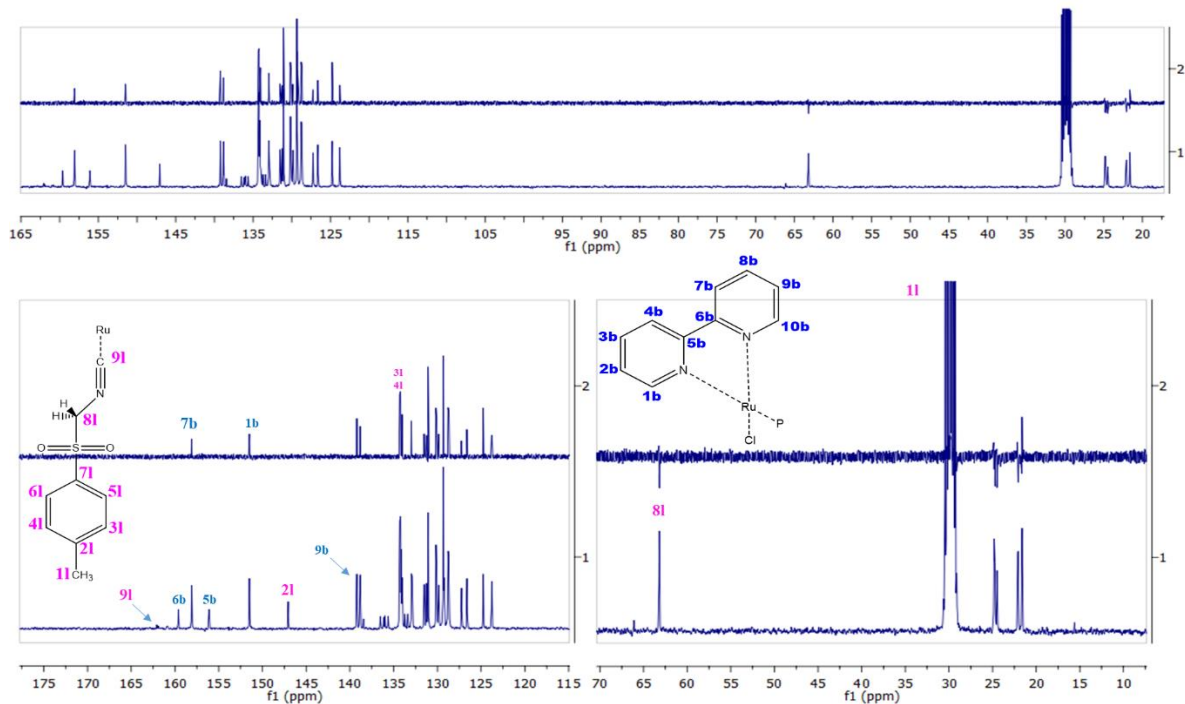


Figura A.74 - Espectros DEPT-135 (A), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (B), ampliação da região aromática (C) e ampliação da região alifática (D) do complexo **1b**, em acetona- d_6 .

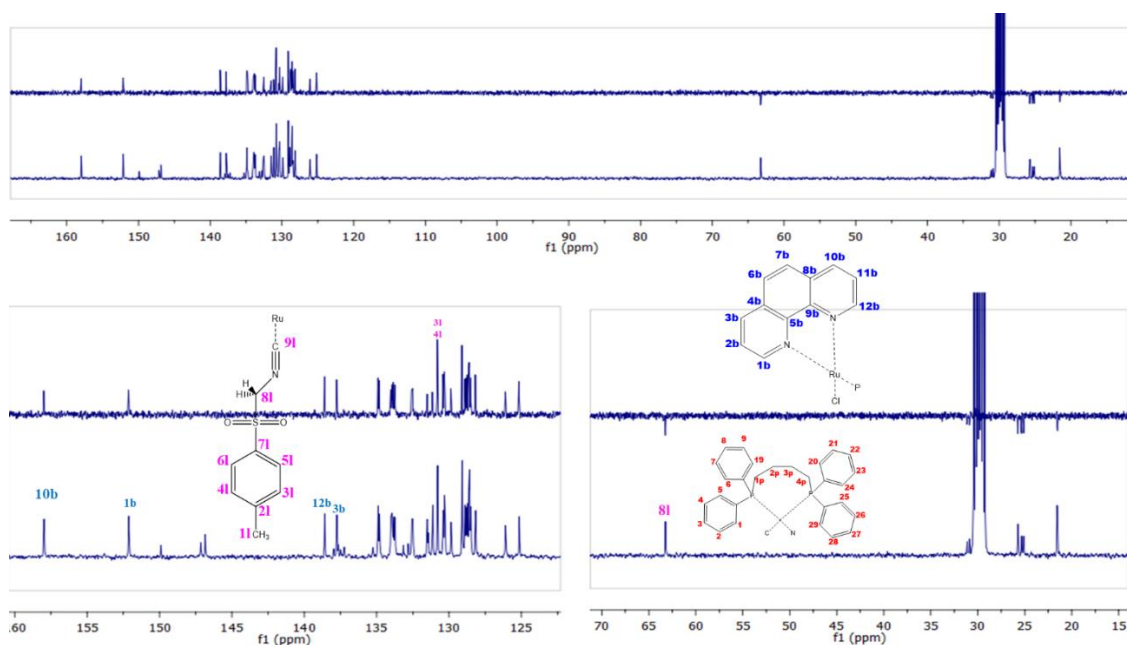


Figura A. 75 - Espectros DEPT-135 (A), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (B), ampliação da região aromática (C) e ampliação da região alifática (D) do complexo **2b**, em acetona- d_6 .

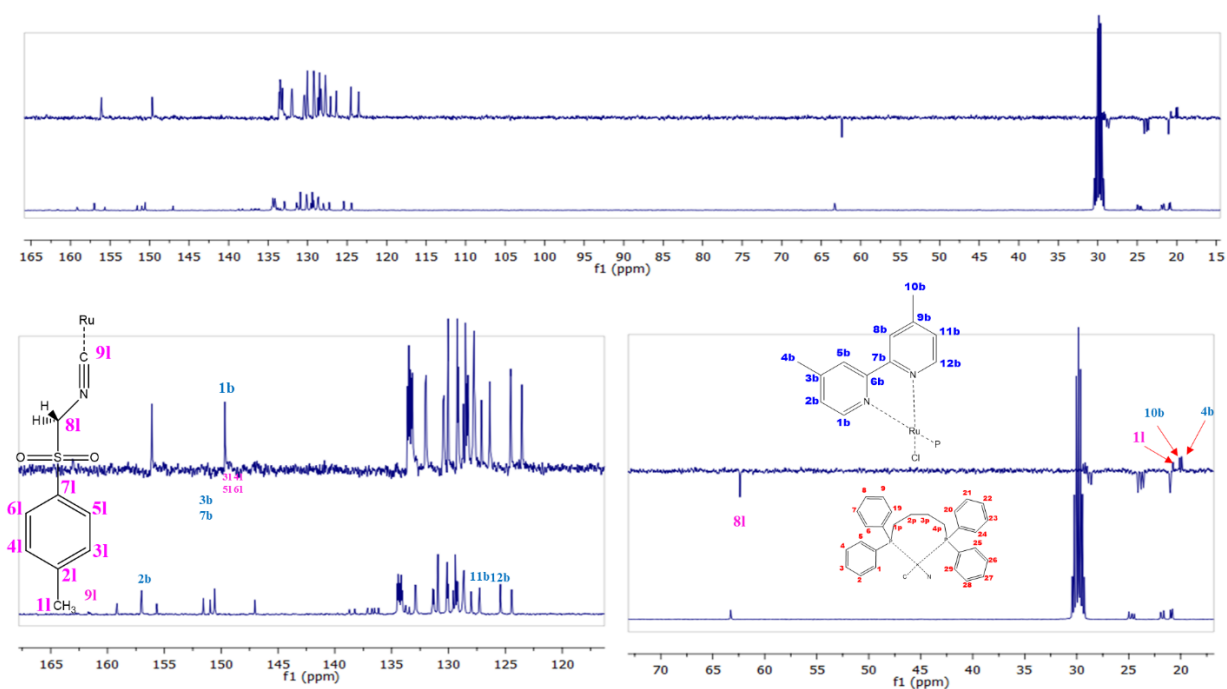


Figura A.76 - Espectros DEPT-135 (A), ¹³C{¹H} (B), ampliação da região aromática (C) e ampliação da região alifática (D) do complexo **3b**, em acetona-*d*₆.

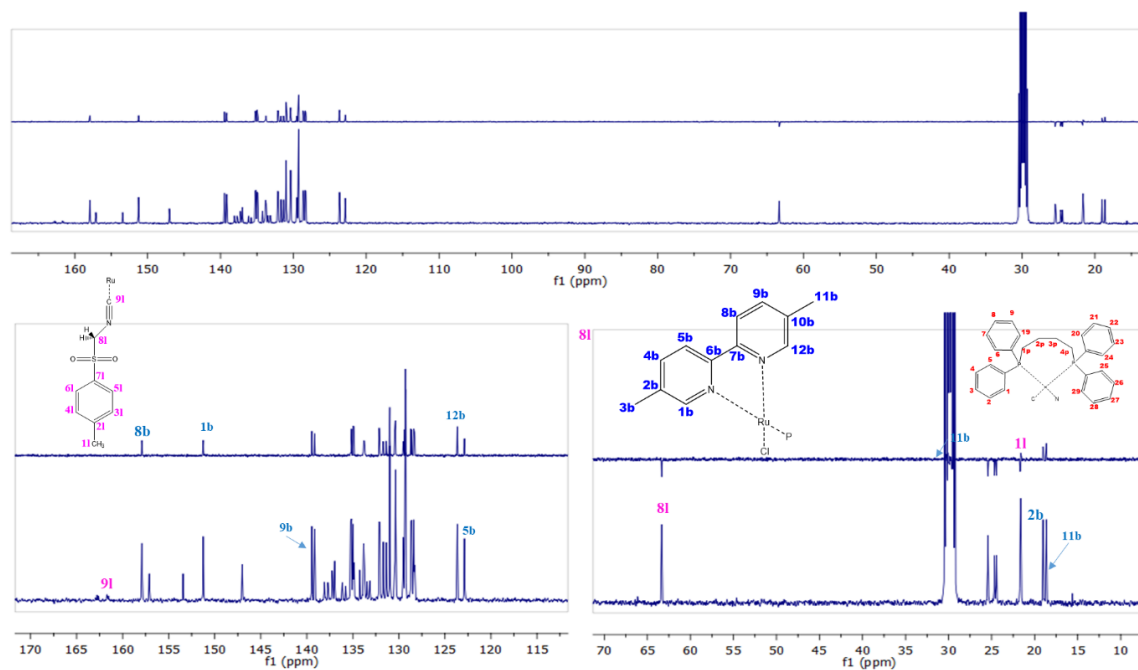


Figura A.77 - Espectros DEPT-135 (A), ¹³C{¹H} (B), ampliação da região aromática (C) e ampliação da região alifática (D) do complexo **4b**, em acetona-*d*₆.

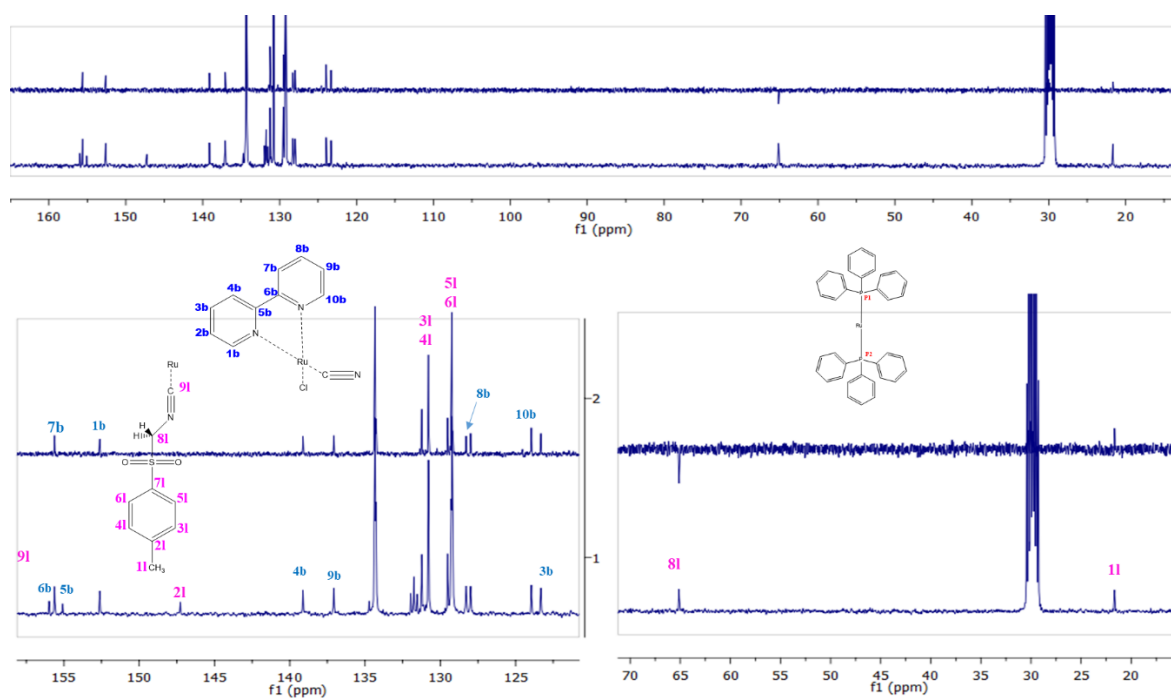


Figura A.78 - Espectros DEPT-135 (A), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (B), ampliação da região aromática (C) e ampliação da região alifática (D) do complexo **5b**, em acetona- d_6 .

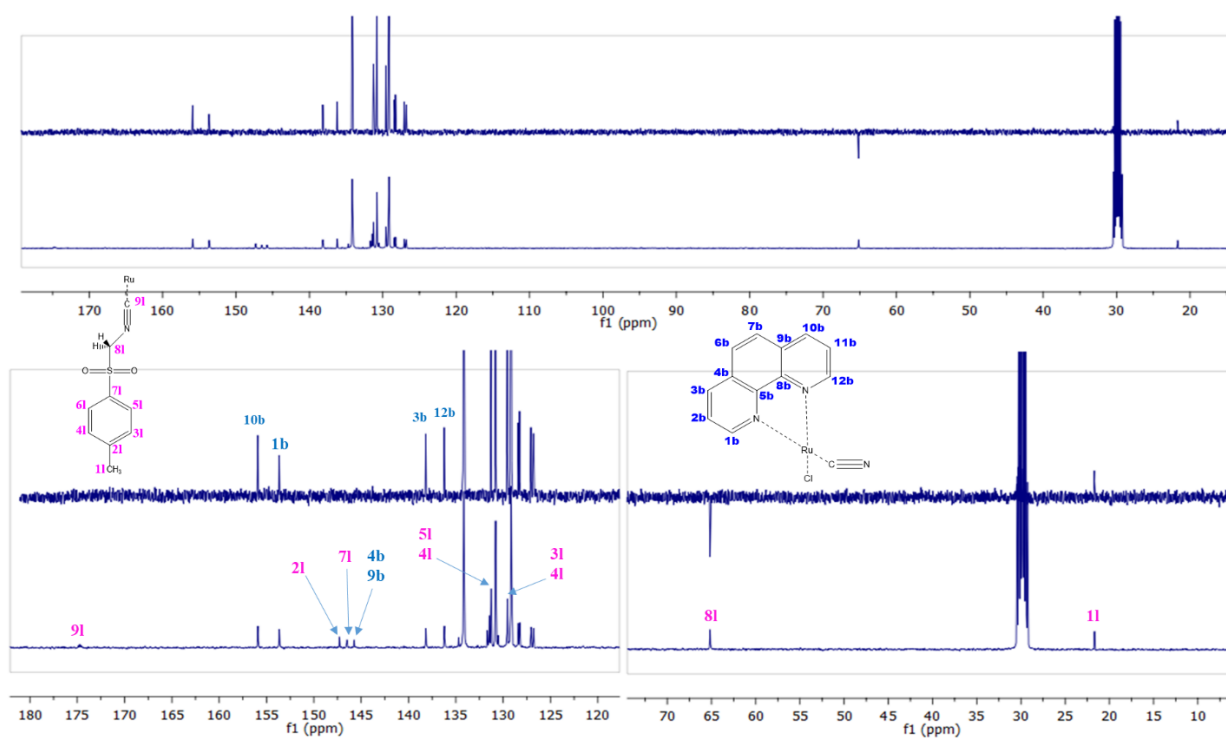


Figura A.79 - Espectros DEPT-135 (A), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (B), ampliação da região aromática (C) e ampliação da região alifática (D) do complexo **6b**, em acetona- d_6 .

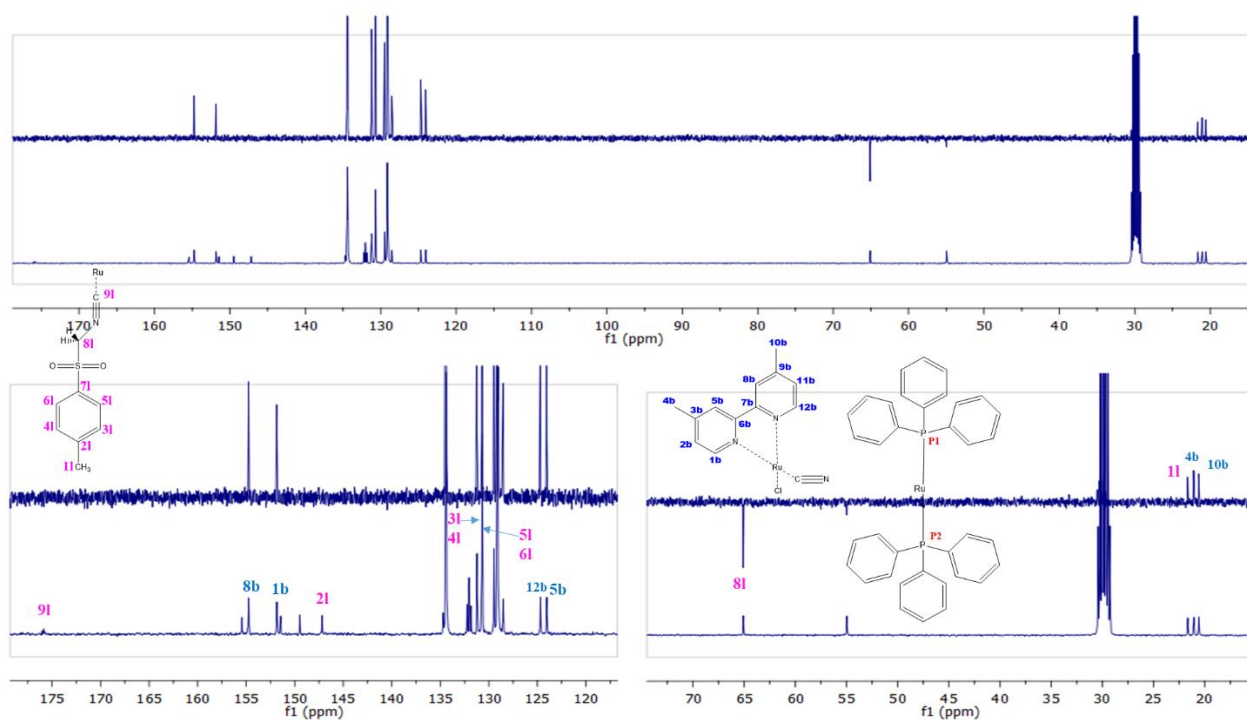


Figura A. 80 - Espectros DEPT-135 (A), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (B), ampliação da região aromática (C) e ampliação da região alifática (D) do complexo **7b**, em acetona- d_6 .

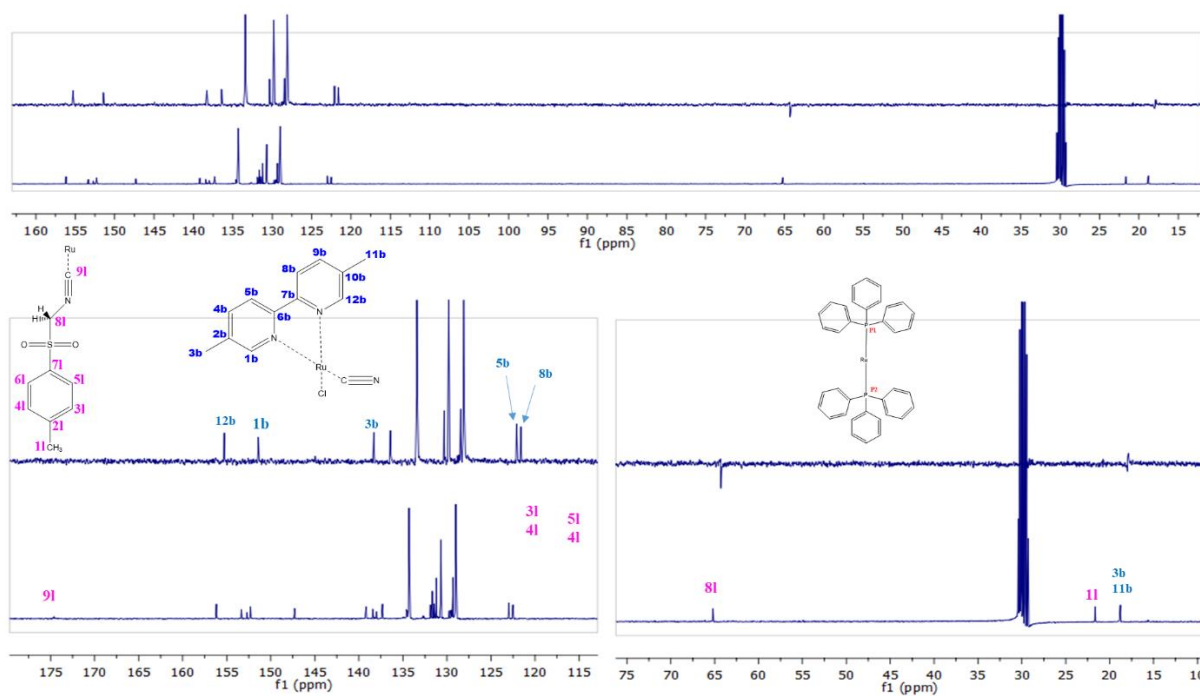


Figura A.81 - Espectros DEPT-135 (A), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (B), ampliação da região aromática (C) e ampliação da região alifática (D) do complexo **8b**, em acetona- d_6 .

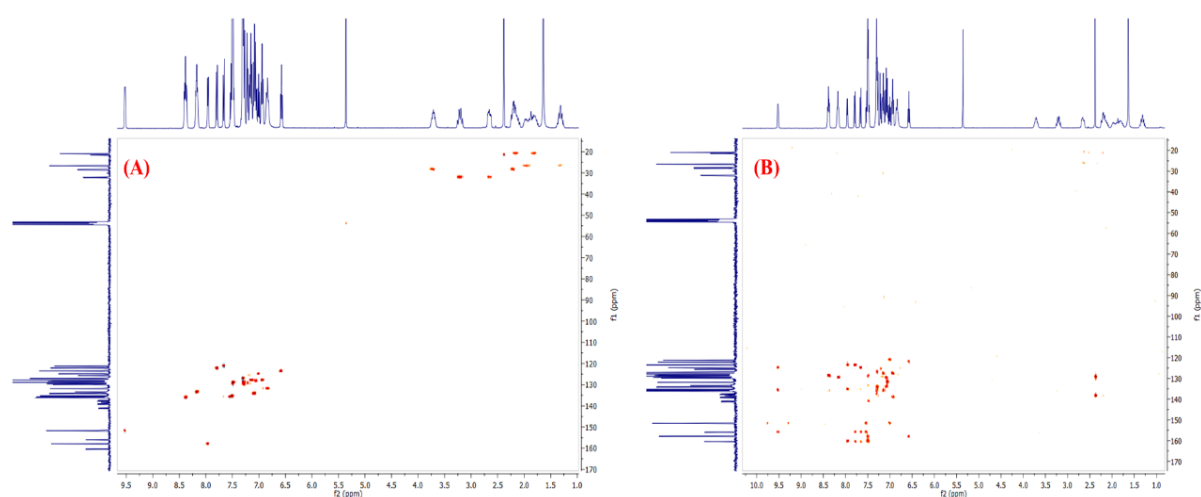


Figura A.82 - Espectros HSQC (A) e HMBC (B) ^1H - ^{13}C , do precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)], em acetona-*d*₆.

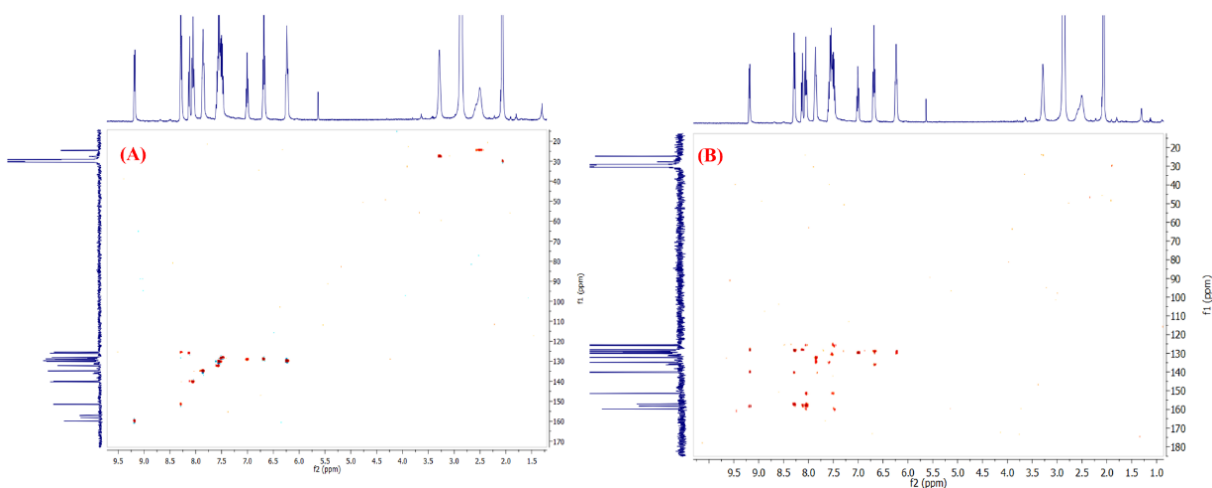


Figura A.83 - Espectros HSQC (A) e HMBC (B) ^1H - ^{13}C , do complexo **1a**, em acetona-*d*₆.

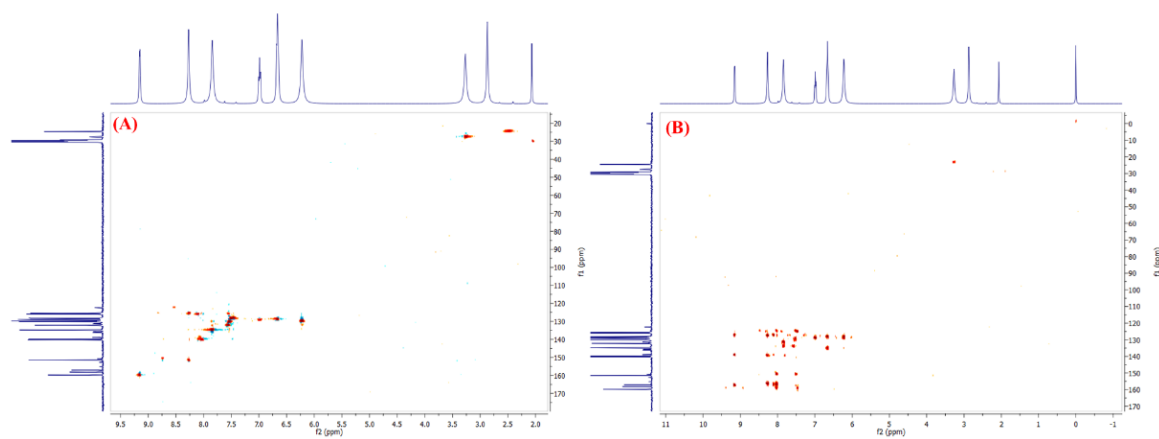


Figura A.84 - Espectros HSQC (A) e HMBC (B) ^1H - ^{13}C , do complexo **2a**, em acetona- d_6 .

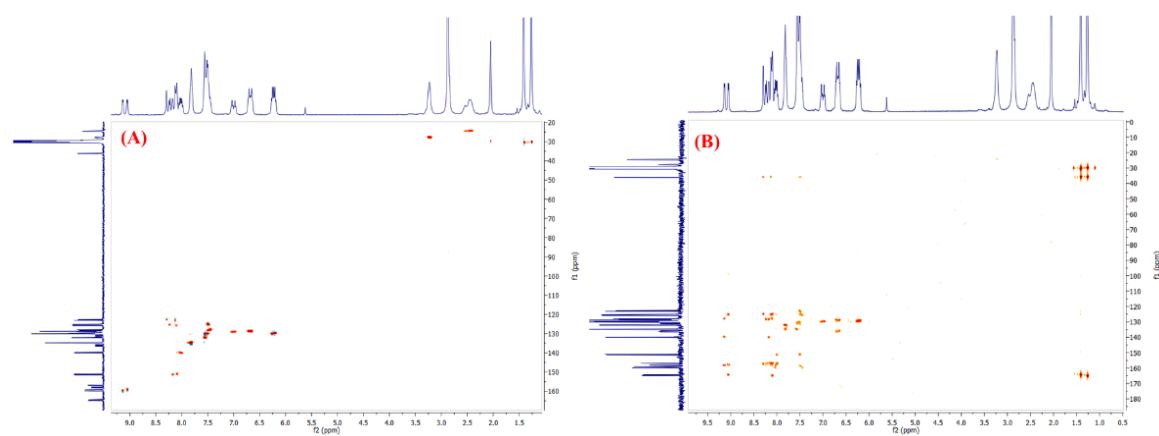


Figura A.85 - Espectros HSQC (A) e HMBC (B) ^1H - ^{13}C , do complexo **3a**, em acetona- d_6 .

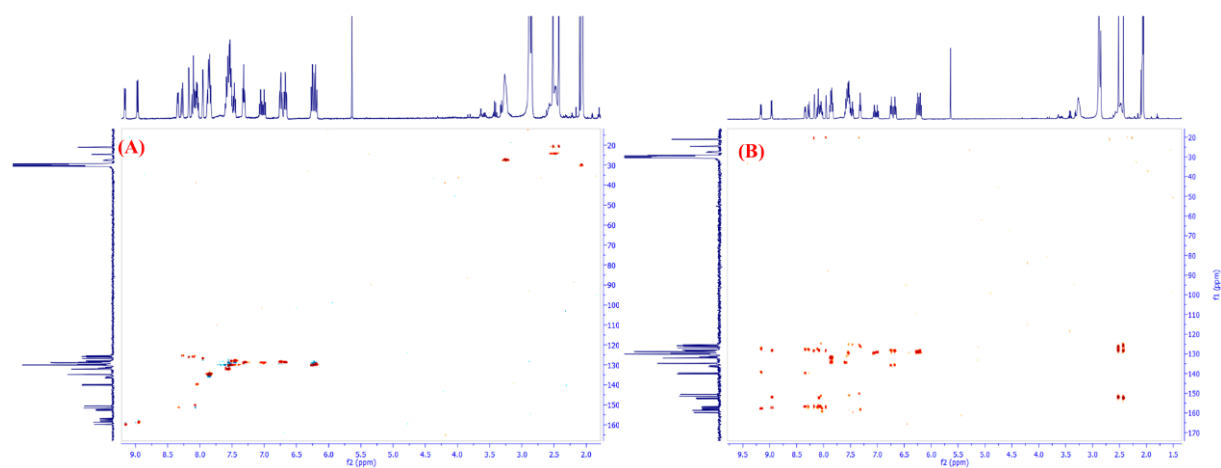


Figura A.86 - Espectros HSQC (A) e HMBC (B) ^1H - ^{13}C , do complexo **4a**, em acetona- d_6 .

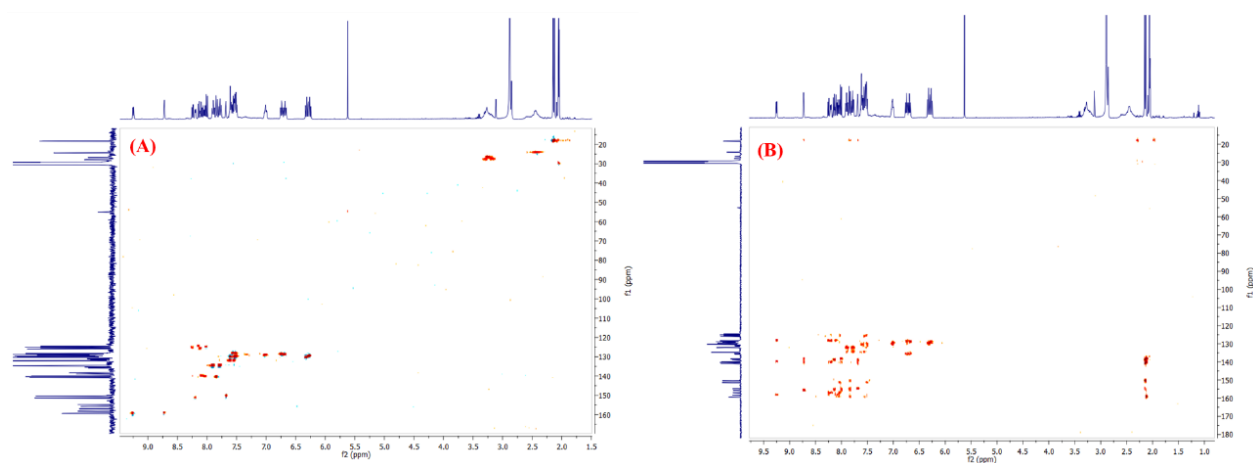


Figura A.87 - Espectros HSQC (A) e HMBC (B) ^1H - ^{13}C , do complexo **5a**, em acetona- d_6 .

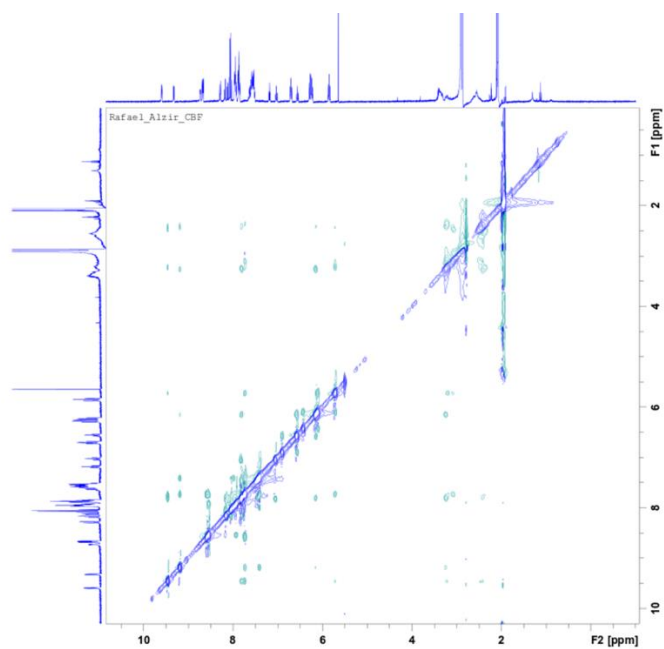


Figura A.88 - Experimento ^1H - ^1H NOESY do complexo **2a**, em acetona- d_6 .

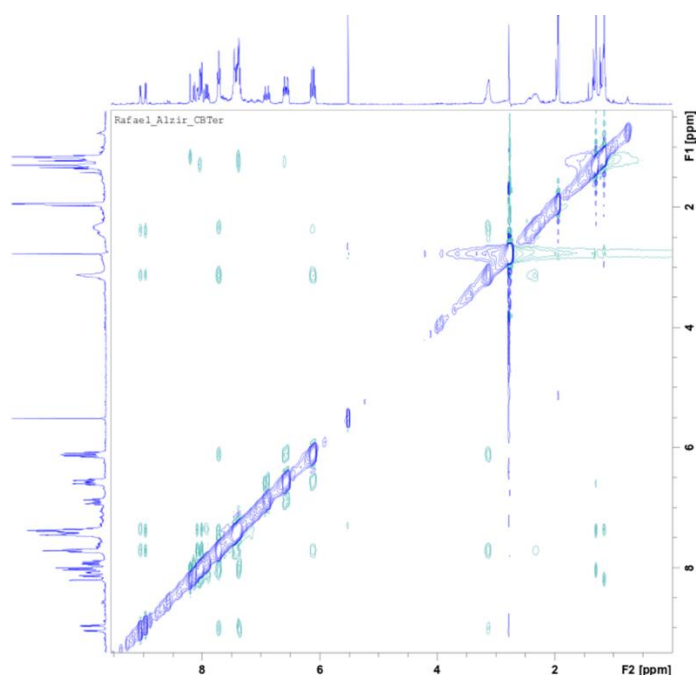


Figura A.89 - Experimento ^1H - ^1H NOESY do complexo **3a**, em acetona- d_6 .

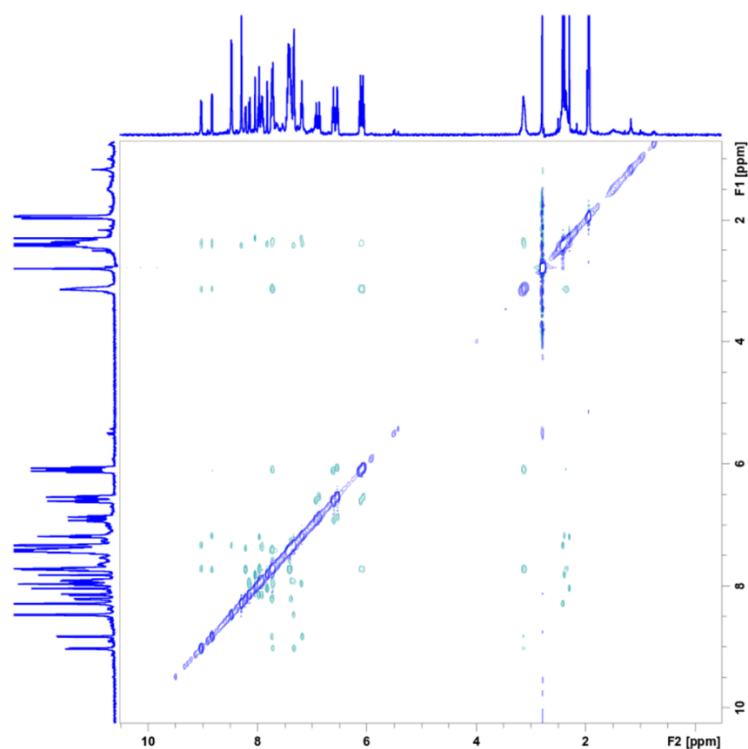


Figura A.90 - Experimento ^1H - ^1H NOESY do complexo **4a**, em acetona- d_6 .

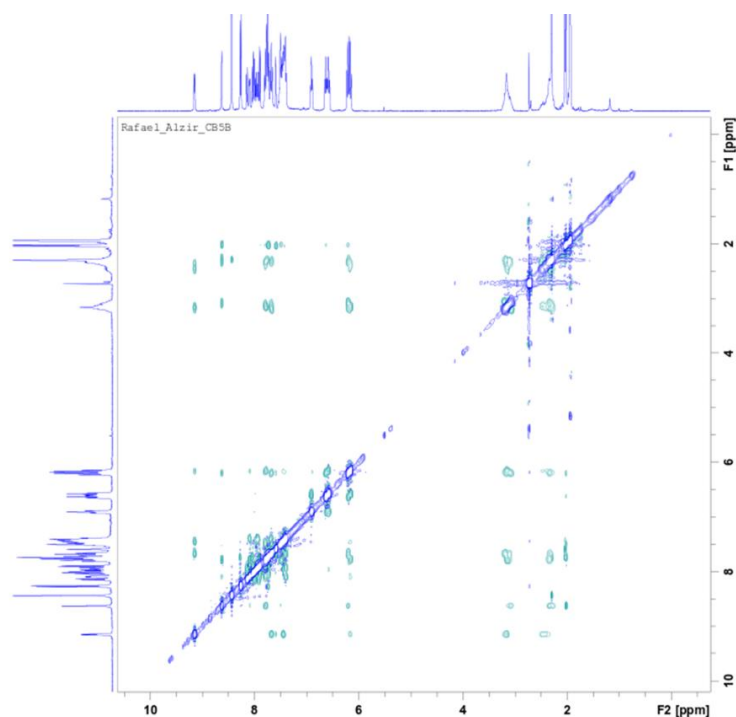
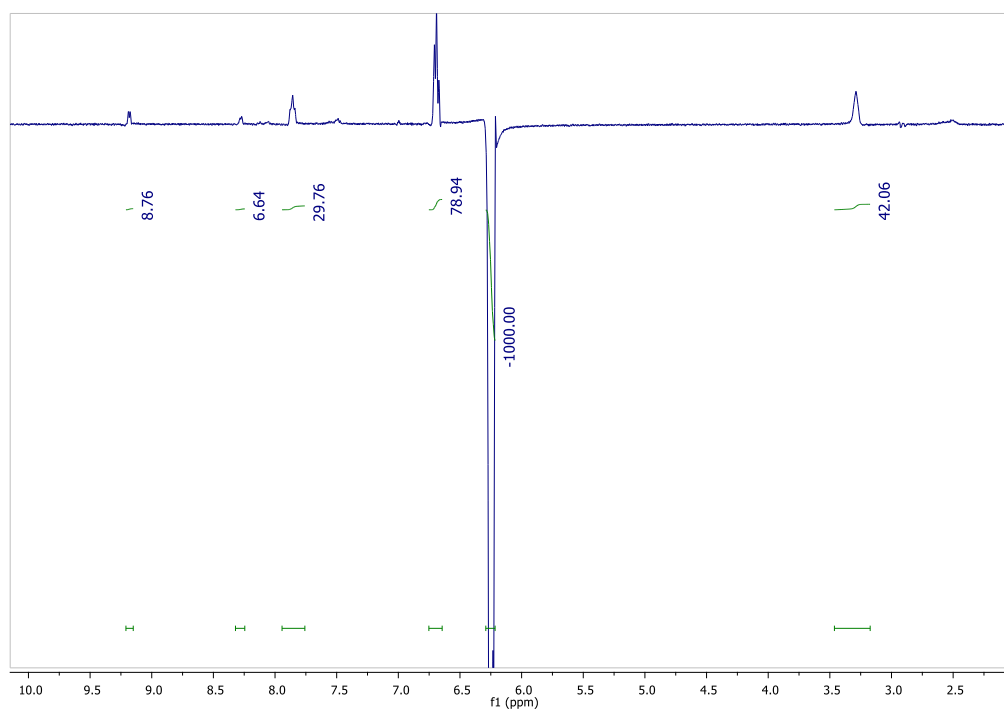
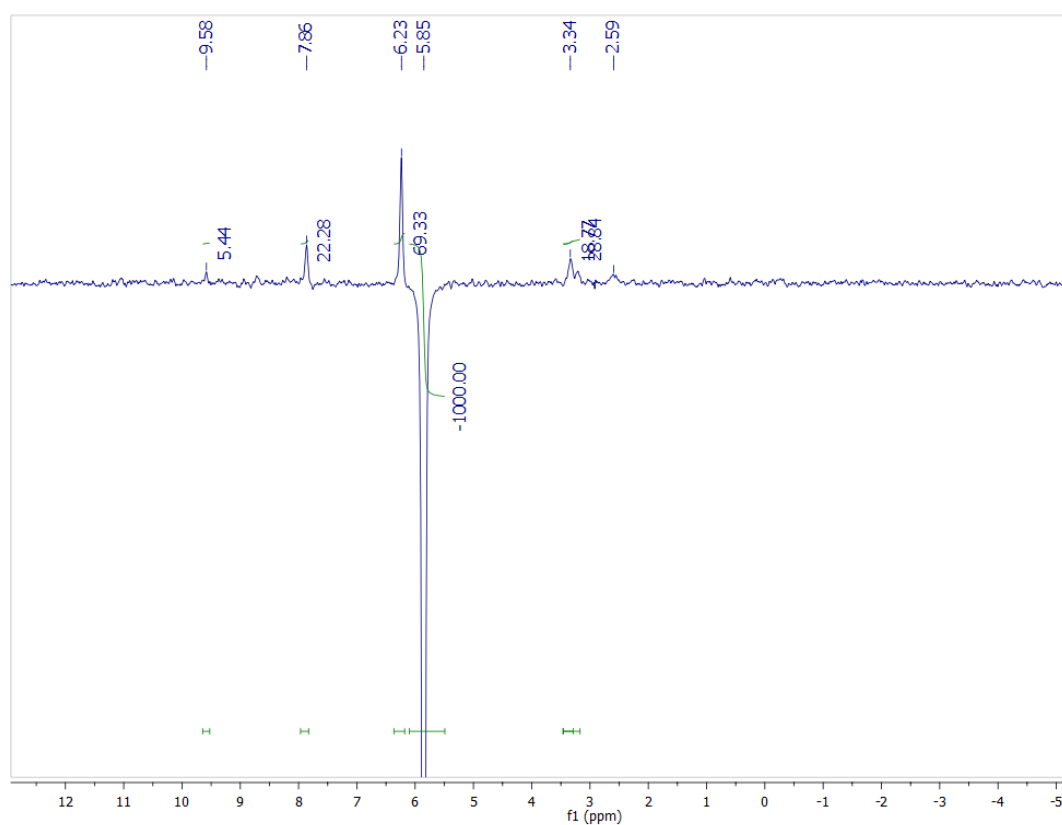


Figura A.91 - Experimento ^1H - ^1H NOESY do complexo **5a**, em acetona- d_6 .

Figura A.92 - Experimento ^1H -NOESY 1D do complexo **1a**, em acetona- d_6 .Figura A.93 - Experimento ^1H -NOESY 1D do complexo **2a**, em acetona- d_6 .

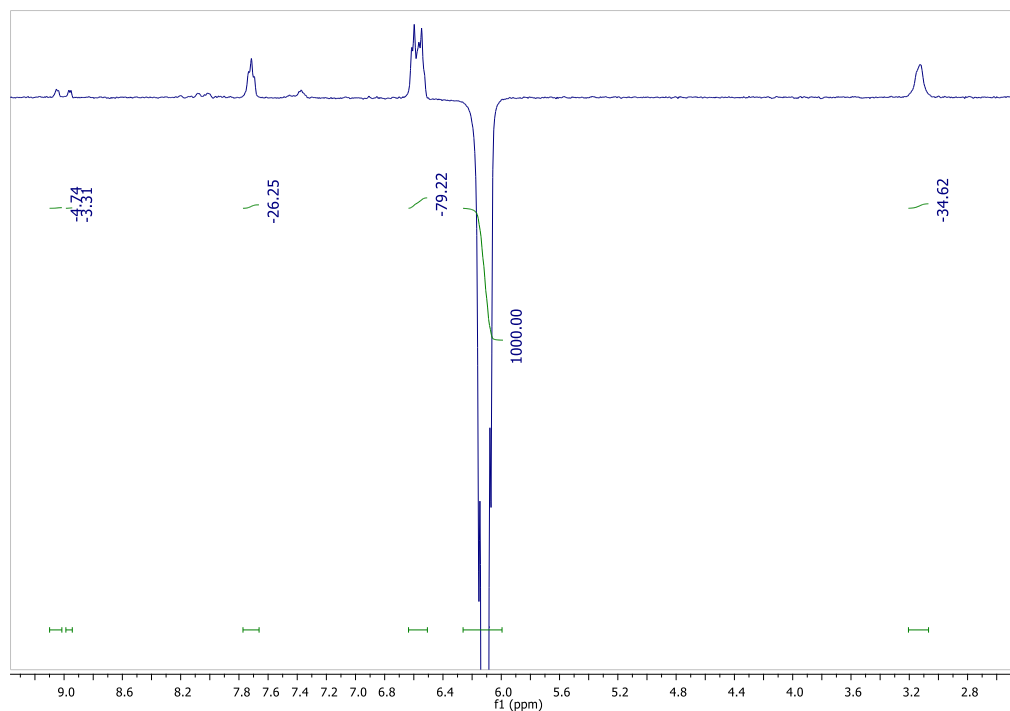


Figura A.94 - Experimento ^1H -NOESY 1D do complexo **3a**, em acetona- d_6 .

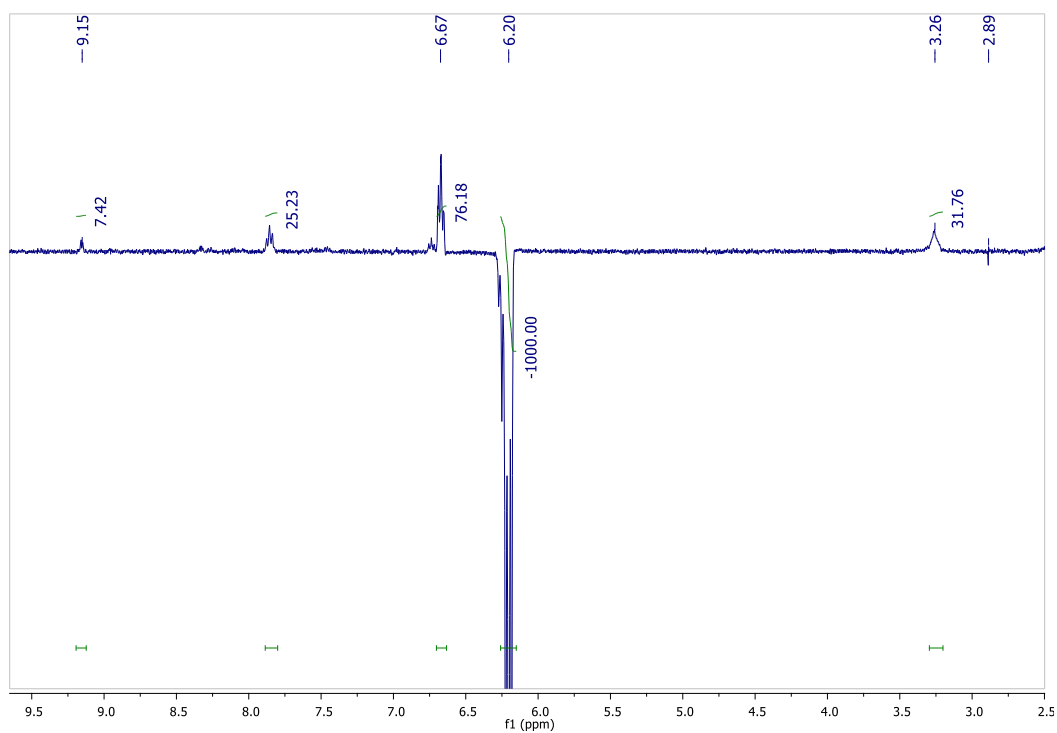


Figura A.95 - Experimento ^1H -NOESY 1D do complexo **4a**, irradiando o próton em 6.20 ppm.

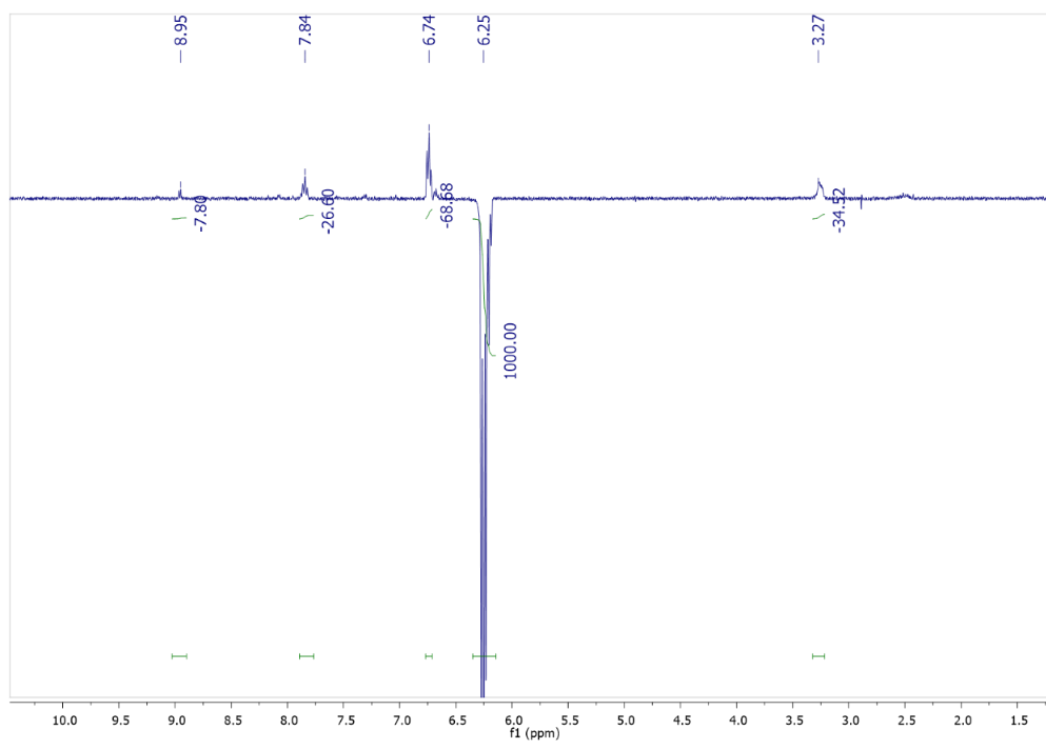


Figura A.96 - Experimento ¹H-NOESY 1D do complexo **4a**, irradiando o próton em 6.25 ppm.

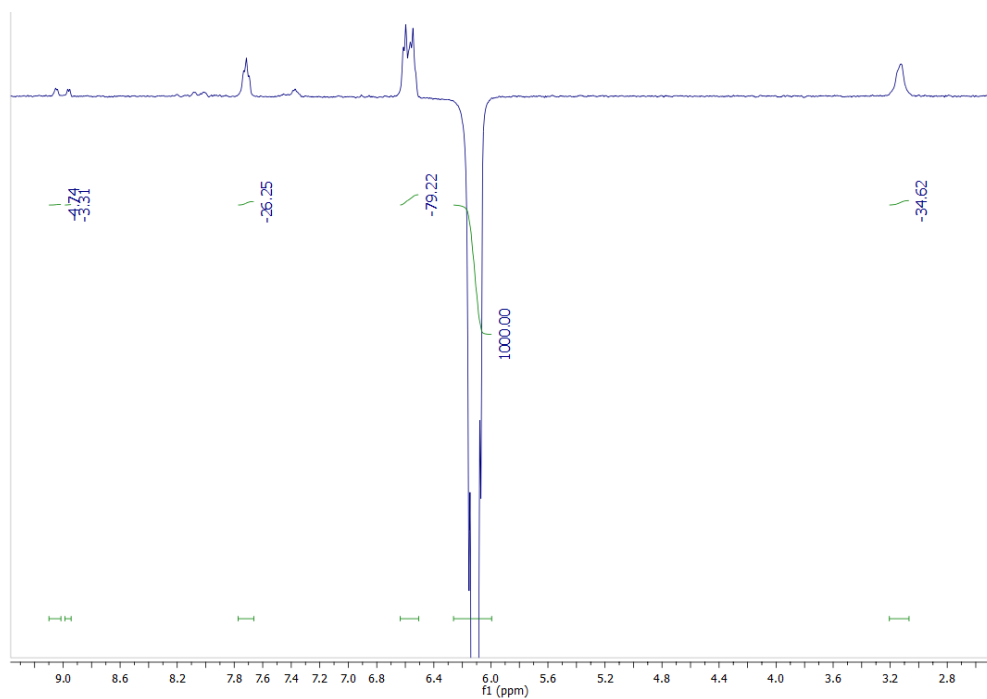
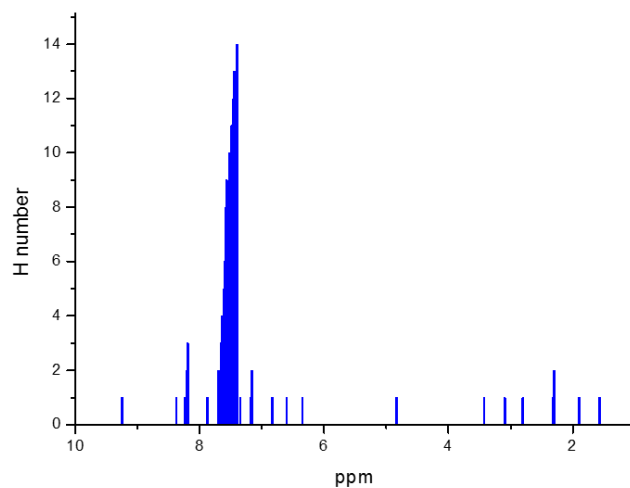
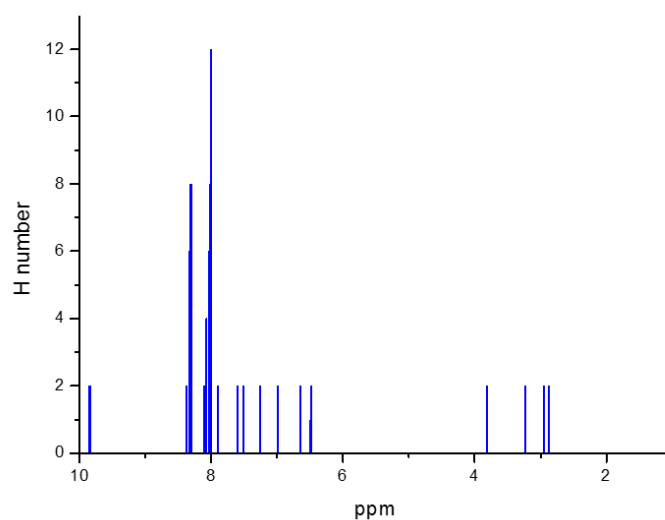


Figura A. 97 - Experimento ¹H-NOESY 1D do complexo **5a**.

Espectros teóricos de RMN ^1H do precursor e dos complexos 1a-5a.Figura A.98 - Espectro teórico de RMN de ^1H do precursor $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$.Figura A.99 - Espectro teórico de RMN de ^1H do complexo $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{bipy})_2](\text{ClO}_4)_2$ (**1a**).

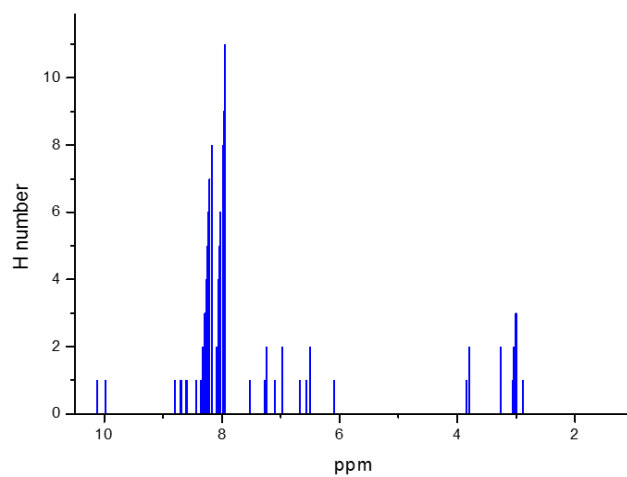


Figura A.100 - Espectro teórico de RMN de ¹H do complexo [Ru(dppb)(bipy)(phen)](ClO₄)₂ (**2a**).

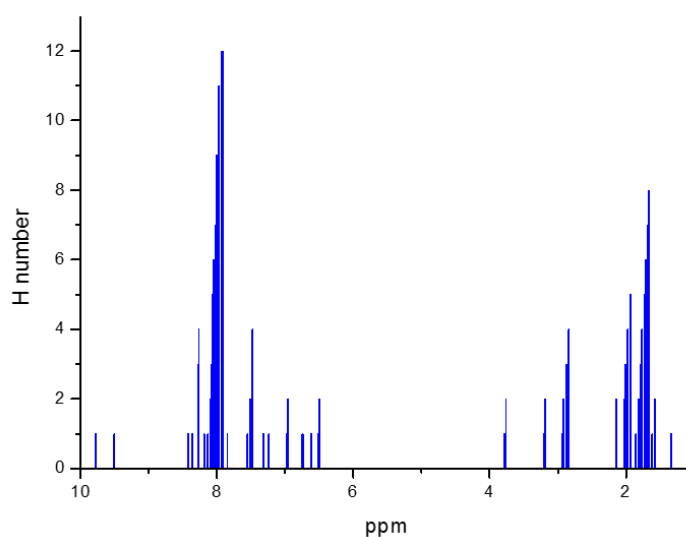


Figura A.101 - Espectro teórico de RMN de ¹H do complexo [Ru(dppb)(bipy)(dtbipy)](ClO₄)₂ (**3a**).

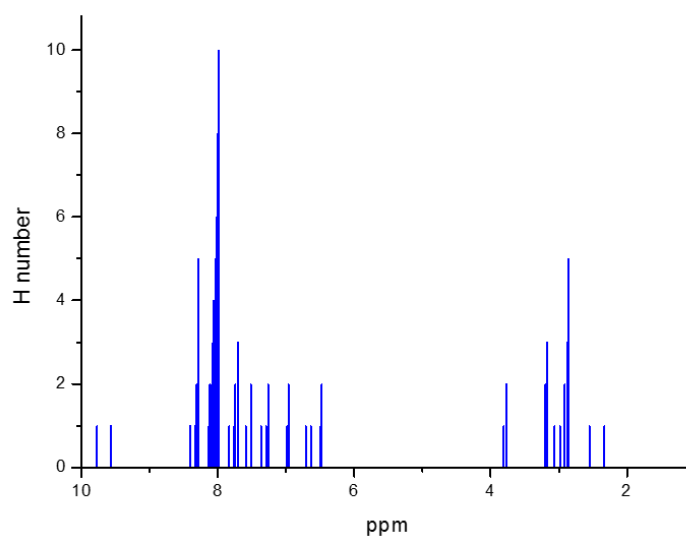


Figura A.102 - Espectro teórico de RMN de ¹H do complexo [Ru(dppb)(bipy)(44bipy)](ClO₄)₂ (**4a**).

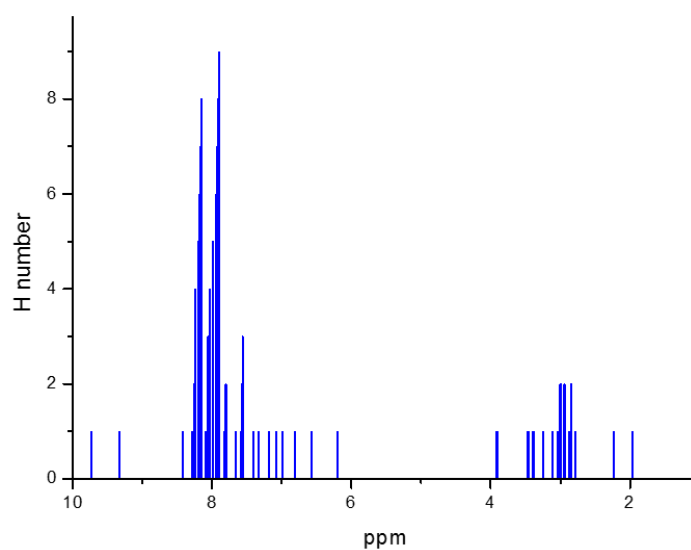


Figura A.103 - Espectro teórico de RMN de ¹H do complexo [Ru(dppb)(bipy)(55bipy)](ClO₄)₂ (**5a**).