

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

**“Complexos fosfínicos de rutênio contendo o ligante 2,2’-
dipiridilamina: síntese, caracterização e avaliação de suas
atividades citotóxicas e de interação com DNA”**

Gabriel Henrique Ribeiro *

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

Orientador: Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista

*** bolsista Capes**

São Carlos - SP
2016



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 Dissertação de Mestrado do candidato Gabriel Henrique Ribeiro, realizada em 29/02/2016:

Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista
UFSCar

Profa. Dra. Giovanna Barbarini Longato
USF

Profa. Dra. Caterina Gruenwaldt Cunha Marques Netto
UFSCar

**“Não sou o que deveria ser, mas não sou o que era antes.
Não fiz o melhor, mas fiz tudo para que o melhor fosse feito.”**

Martin Luther King

“A dúvida é o princípio da sabedoria.”

Aristóteles

“A verdadeira medida de um homem não se vê na forma com se comporta em momentos de conforto e conveniência, mas em como se mantém em tempos de controvérsia e desafio.”

Martin Luther King

DEDICATÓRIA

A DEUS, pois sem Ele nada é possível.

À minha querida mãe Rosely Aparecida Ribeiro, pelo amor incondicional, incentivo em todos os momentos. Por todos os valores e ensinamentos transmitidos que levo para minha vida inteira.

AGRADECIMENTOS

Em especial ao Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista, pela oportunidade oferecida, pela orientação, pelas inúmeras discussões científicas e ensinamentos. Por apesar de seus inúmeros compromissos, mostrar-se presente e agir de forma contundente em todos os momentos. Enfim, por todas suas contribuições em minha formação acadêmica e pessoal.

Aos amigos e colegas do Laboratório LERCI: Angélica, Ana Plutin, Anislay, Adriana, Beatriz, Claudia (*in memoriam*), Gregory, Legna, Wilmer, João Paulo, Katia, Monize, Taíse, Tamires, Jocely, João Honorato, Luciano, Celis, Rodrigo, Rafael, Raul, Majo e Fábio. Obrigado a todos por proporcionarem um convívio muito agradável. Agradeço muitos a vocês, principalmente por se tornarem “minha família” durante esses anos e pelos momentos de descontração. Galera! Eu aprendi muito com vocês. Valeu pessoal...

Ao Prof. Dr. Javier Ellena por disponibilizar o equipamento de difração de Raios X.

Ao doutorando Juan Carlos Tenorio pela resolução das estruturas cristalográficas.

À doutoranda Legna Colina pelos ensaios de viabilidade celular, e principalmente pelas discussões científicas;

Aos técnicos do Departamento de Química da UFSCar Luciana Vizotto e Ademir Sartori por serem prestativos e eficientes em todos os momentos. Às secretárias da pós-graduação: Ariane, Cristina e Luciana, por serem sempre atenciosas e prestativas.

À Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), ao Departamento de Química e Programa de Pós Graduação pela oportunidade.

À Capes pela bolsa concedida.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

OMS	Organização mundial de Saúde
INCA	Instituto Nacional do Câncer
IRM	Imagem por ressonância magnética
FDA	Food and Drug Administration
DNA	Ácido desoxirribonucleico
CT-DNA	Calf thymus ácido desoxirribonucleico
Dppz	dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina
N-N	Ligantes N-heterocíclicos
IC ₅₀	Concentração inibitória do crescimento celular em 50 %
LERCI	Laboratório de Estruturas e Reatividade de Compostos Inorgânicos
MDA-MB-231	Adenocarcinoma de mama
V79-4	Célula de fibroblasto de pulmão de hamster chinês
D ₂ O	Água deuterada
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
RMN ³¹ P{ ¹ H}	Ressonância magnética nuclear de fósforo desacoplado do hidrogênio
RMN ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN ¹³ C{ ¹ H}	Ressonância magnética nuclear de carbono desacoplado do hidrogênio
HSQC	Correlação heteronuclear de ligação simples
COSY	Correlação espectroscópica
IV	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho
UV-Vis	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível
CD	Dicroísmo circular
<i>Trans</i>	Isômero de posição <i>trans</i> de um composto inorgânico ou orgânico
<i>Cis</i>	Isômero de posição <i>cis</i> de um composto inorgânico

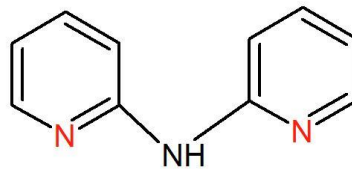
PTBA	Perclorato de tetrabutílamônio
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio
K_b	Constante intrínseca de ligação complexo-DNA
s	Simpleto
d	Dupleto
T	Tripleto
m	Multipleto
ppm	Partes por milhão
Hz	Hertz, ciclos por segundo
J	Constante de acoplamento, em Hz (RMN)
δ	Deslocamento químico nos espectros de RMN
ϵ	Coefficiente de extinção molar
λ	Comprimento de onda (nm)
E_{pa}	Potencial de pico anódico
E_{pc}	Potencial de pico catódico
I_{pa}	Corrente de pico anódico
I_{pc}	Corrente de pico catódico
ΔE	Varição de potencial ($E_{pa} - E_{pc}$)
MLCT	Transferência de carga do metal para o ligante
IL	Transição eletrônica intraligante
ν	Vibração de estiramento (IV)
γ	Vibração de deformação fora do plano (IV)
β	Vibração de deformação no plano (IV)
FCA	Forma circular aberta do plasmídeo
FL	Forma linear do plasmídeo
FSE	Forma superenovelo do plasmídeo

ABREVIATURAS E ESTRUTURA DOS LIGANTES

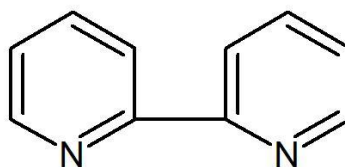
Nomenclatura (Abreviatura)

Estrutura química

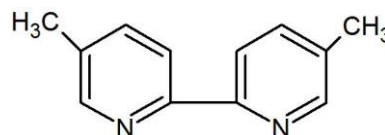
2,2'-dipiridilamina (Hdpa)



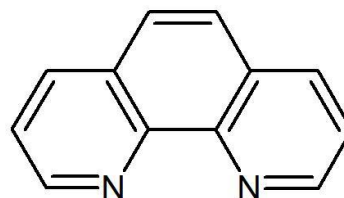
2,2'-bipiridina (Bipy)



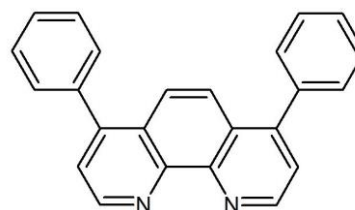
5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina (dmbipy)



1,10-fenantrolina (fen)



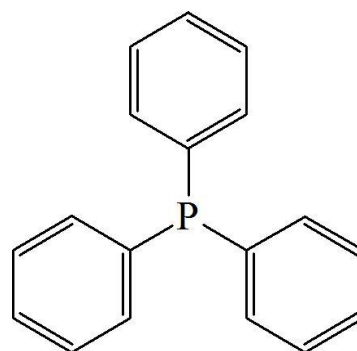
4,7-difenil-1,10-fenantrolina (dphfen)



1,2-diaminoetano (en)



Trifenilfosfina (PPh_3)



RESUMO

“COMPLEXOS FOSFÍNICOS DE RUTÊNIO CONTENDO O LIGANTE 2,2’-DIPYRIDILAMINA: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE SUAS ATIVIDADES CITOTÓXICAS E DE INTERAÇÃO COM DNA”

O presente trabalho teve como objetivos principais a síntese, caracterização e avaliação da atividade antitumoral de uma série de complexos fosfínicos de rutênio contendo o ligante 2,2’-dipiridilamina e variando os ligantes auxiliares N-heterocíclicos. Também foram abordados os estudos de interação dos complexos com a biomolécula DNA, com a finalidade de avaliar se o DNA é um possível alvo biológico dos complexos. Os complexos sintetizados foram $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ (**1**), $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{bipy})]\text{Cl}$ (**2**), $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dmbipy})]\text{Cl}$ (**3**), $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{fen})]\text{Cl}$ (**4**), $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ (**5**) e $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{Cl}$ (**6**), onde PPh_3 = trifenilfosfina; Hdpa = 2,2’-dipiridilamina; bipy = 2,2’-bipiridina; dmbipy = 5,5’-dimetil-2,2’-bipiridina; fen = 1,10-fenantrolina; dphfen = 4,7-difenil-1, 10-fenantrolina; en = 1,2- diaminoetano. Os complexos foram caracterizados por várias técnicas, tais como técnicas de espectroscopia de absorção na região do infravermelho e do UV/visível, análise elementar, condutividade molar, voltametria cíclica, espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ e ^{31}P $\{^1\text{H}\}$, e os complexos (**1**), (**3**) e (**6**) foram caracterizados por difração de Raios X de monocristais. Os estudos de interação dos complexos (**1**) - (**4**) e (**6**) com CT-DNA, sugerem interações reversíveis por meio de atrações eletrostáticas fracas entre os complexos catiônicos e os grupos fosfatos aniônicos do DNA. Contudo, os estudos realizados por espectroscopia de dicroísmo circular, eletroforese em gel de agarose e medidas de viscosidade revelaram que o complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ (**5**) provoca alterações significativas na estrutura

do DNA. O composto (**5**) apresenta um comportamento típico de interação entre os sulcos do DNA devido à presença do ligante dphfen, e possivelmente há contribuições das ligações de hidrogênio do ligante Hdpa com a biomolécula. Além disso, os complexos foram avaliados quanto à atividade citotóxica frente às linhagens celulares de tumor de mama (MDA-MB-231) e não tumoral de fibroblasto de pulmão de hamster chinês (V79-4). Os complexos apresentaram excelentes resultados de citotoxicidade frente à linhagem MDA-MB-231, com valores de IC_{50} na faixa de 25,5 – 1,65 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O complexo (**5**) apresentou maior citotoxicidade ($IC_{50} = 1,65 \pm 0,05 \mu\text{mol L}^{-1}$) quando comparado com os demais complexos e ao fármaco de referência, o quimioterápico cisplatina ($IC_{50} = 2,44 \pm 0,2 \mu\text{mol L}^{-1}$). Os complexos sintetizados são mais citotóxicos para células tumorais do que para células não tumorais, destacando-se os complexos (**1**) e (**4**), que apresentaram índices de seletividade (IS) de 18 e 15, respectivamente. Esses resultados indicaram que a variação dos ligantes auxiliares N-heterocíclicos (polipirídínicos e diamina alifantica) interfere tanto na afinidade de interação pelo DNA quanto na citotoxicidade dos complexos.

ABSTRACT**“PHOSPHINE RUTHENIUM (II) COMPLEXES CONTAINING THE 2,2’-DIPYRIDYLAMINE LIGAND: SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND EVALUATION OF THEIR CYTOTOXIC ACTIVITIES AND INTERACTION WITH DNA”**

This work aims the synthesis, characterization and evaluation of the biological activities of a series of mixed ligand ruthenium (II) phosphine complexes the containing 2,2’-dipyridylamine ligand. Furthermore, the studies of interaction of the complexes with calf thymus (CT) DNA were performed order to assess a possible mechanism of action of the complexes. The complexes synthesized were $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ (1), $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{bipy})]\text{Cl}$ (2), $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dmbipy})]\text{Cl}$ (3), $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{fen})]\text{Cl}$ (4), $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ (5) and $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{Cl}$ (6), where PPh_3 = triphenylphosphine, Hdpa = 2,2’-dipyridylamine, bipy = 2,2’-bipyridine, dmbipy = 5,5’-dimethyl-2,2’-bipyridine, fen = 1,10-phenanthroline, dphfen = 4,7- diphenyl-1,10-phenanthroline and en = diaminoethane. All complexes were characterized by molar conductivity, voltammetric techniques, elemental analysis, spectroscopic techniques (IR, UV-Vis, and 1D and 2D NMR) and the complexes (1), (3) and (6) have been structurally characterized by X-ray diffraction. The interaction studies of the complexes (1) – (4) and (6) with CT-DNA suggest reversible interactions through weak electrostatic attractions between the anionic phosphate backbone of the DNA and the monocationic complexes. However, the interaction studies by circular dichroism spectroscopy, agarose gel electrophoresis and viscosity measurements reveals that the complex $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ causes significant changes in the DNA structure, which is consistent with a high-affinity DNA binding. The compound (5) might interact with the DNA via grooves binding and with contributions of hydrogen bonding of the amine group in the Hdpa ligand in the

stabilization of the interaction. Further, the cytotoxicities of complexes against breast adenocarcinoma cell line (MDA-MB-231) and against chinese hamster lung fibroblast non-tumor cell line (V79-4) were evaluated. All the complexes demonstrated excellent cytotoxic activity against MDA-MB-231, with IC50 values in the range of 25.5 – 1.65 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Interestingly, complex (5) exhibits a cytotoxicity (IC50 = $1.65 \pm 0.05 \mu\text{mol L}^{-1}$) higher than others complexes and with approximately 2 times more than cisplatin (IC50 = $2.44 \pm 0.20 \mu\text{mol L}^{-1}$).

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 - Tipos de câncer mais incidentes estimados para 2014 por sexo, exceto pele não melanoma. Fonte: INCA.	2
FIGURA 1.2 - Representação do mecanismo de ação do cisplatina. Fonte: Adaptado de KELLAND, 2007.....	8
FIGURA 1.3 - Complexos antitumorais de platina: cisplatina, complexos da segunda e terceira geração aprovados para comercialização. Nota: Lobaplatina (utilização restrita à China) e nedaplatina (utilização restrita ao Japão).	9
FIGURA 1.4 - Estruturas dos complexos de rutênio com atividade antitumoral.	11
FIGURA 1.5 - Estrutura química do ligante 2,2'-dipiridilamina (Hdpa).	13
FIGURA 1.6 - Representação de uma sequência de quatro nucleotídeos (A) e a estrutura básica de um nucleotídeo (B).....	17
FIGURA 1.7 - Representação de uma estrutura do B-DNA e os pares de bases nitrogenadas unidas por ligações de hidrogênio.	19
FIGURA 1.8 - Representação dos modos de interação entre complexo e DNA. Fonte: Adaptado de BOER et al., 2014.....	19
FIGURA 4.1 - Espectros de RMN de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ dos complexos (1) – (6) em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$	47
FIGURA 4.2 - (A): Espectro de RMN de ^1H para o complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 . (B): Espectro de RMN de ^1H para o complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 na região de campo baixo.....	50
FIGURA 4.3 - Espectro de RMN de COSY $^1\text{H}-^1\text{H}$ para o complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ em DMSO-d_6	51
FIGURA 4.4 - Estrutura cristalina do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ com as principais interações intermoleculares.	53

FIGURA 4.5 - Voltamograma cíclico registrado em presença de [RuCl(PPh ₃)(Hdpa) ₂]Cl em solução 0,1 mol L ⁻¹ de PTBA em diclorometano à 100 mV s ⁻¹	54
FIGURA 4.6 - Voltamogramas (A) cíclico e (B) de pulso diferencial registrado em presença do ligante Hdpa livre em solução 0,1 mol L ⁻¹ de PTBA, em diclorometano, a 100 mV s ⁻¹	57
FIGURA 4.7 - Espectro de absorção na região do UV-Vis para o complexo [RuCl(PPh ₃)(Hdpa) ₂]Cl em diclorometano.	58
FIGURA 4.8 - Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo [RuCl(PPh ₃)(Hdpa) ₂]Cl, em KBr.	61
FIGURA 4.9 - Estrutura cristalina do complexo <i>trans</i> -[RuCl ₂ (PPh ₃) ₂ (en)], com elipsoides a 50% de probabilidade.	64
FIGURA 4.10 - Estrutura cristalina dos complexos (A) [RuCl(PPh ₃)(Hdpa) ₂]Cl; (B) [RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(dmbipy)]PF ₆ e (C) [RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(en)]PF ₆ , com elipsoides a 50% de probabilidade.	67
FIGURA 4.11 - Espectro de RMN de ³¹ P { ¹ H} do complexo (6) em D ₂ O em diferentes tempos.	71
FIGURA 4.12 - Efeito da adição de complexo na viscosidade relativa do CT-DNA à 25 °C. [DNA] = 98 μmol L ⁻¹	73
FIGURA 4.13 - Espectros de CD de 50 μmol L ⁻¹ CT-DNA em solução Tris-HCl a 5% DMSO na ausência e presença de complexo (em r _i). (A) Complexo (1); (B) Complexo (2); (C) Complexo (3); (D) Complexo (4); (E) Complexo (5); (F) Complexo (6).	76
FIGURA 4.14 - Conformações do DNA plasmidial.	78
FIGURA 4.15 - Eletroforese em gel de agarose do plasmídeo ptz57RT na presença dos complexos (1) - (3). L1-Marcador de peso molecular; L2-plasmídeo em água; L3- plasmídeo em tampão Tris-HCl à 10% DMSO; L4 – plasmídeo tratado com complexo (1), na razão 0,5; L5 – plasmídeo tratado com complexo (1), na razão 1; L6 – plasmídeo tratado com complexo (1), na razão 2;	

L7 – plasmídeo tratado com complexo (2), na razão 0,5; L8 – plasmídeo tratado com complexo (2), na razão 1; L9 – plasmídeo tratado com complexo (2), na razão 2; L10 – plasmídeo tratado com complexo (3), na razão 0,5; L11 – plasmídeo tratado com complexo (3), na razão 1; L12 – plasmídeo tratado com complexo (3), na razão 2..... 79

FIGURA 4.16 - Eletroforese em gel de agarose do plasmídeo ptz57RT na presença dos complexos (4) - (6). L13-Marcador de peso molecular; L14-plasmídeo em tampão Tris-HCl à 10% DMSO; L15 – plasmídeo tratado com complexo (4), na razão 0,5; L16 – plasmídeo tratado com complexo (4), na razão 1; L17 – plasmídeo tratado com complexo (4), na razão 2; L18 – plasmídeo tratado com complexo (5), na razão 0,5; L19 – plasmídeo tratado com complexo (5), na razão 1; L20 – plasmídeo tratado com complexo (5), na razão 2; L21 – plasmídeo tratado com complexo (5), na razão 0,75; L22 – plasmídeo tratado com complexo (6), na razão 0,5; L23 – plasmídeo tratado com complexo (6), na razão 1; L24 – plasmídeo tratado com complexo (6), na razão 2..... 80

FIGURA 4.17 - Espectros da titulação espectroscópica do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ à $1,34 \text{ mmol L}^{-1}$ com o CT-DNA. Foram realizadas 20 adições sucessivas de $15 \mu\text{L}$ de solução CT-DNA a $3,48 \text{ mmol L}^{-1}$ 83

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.1 - Exemplos de compostos inorgânicos empregados na medicina..	5
TABELA 1.2 - Atividade citotóxica <i>in vitro</i> de alguns complexos sintetizados no LERCI na linhagem tumoral MDA-MB-231.....	15
TABELA 3.1 - Volumes dos reagentes utilizados na preparação das soluções com diferentes relações molares complexo e CT-DNA.....	32
TABELA 4.1 - Valores de condutividade molar ($\text{ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$) para os complexos (1) – (6) em DMSO.....	45
TABELA 4.2 - Dados percentuais dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio, teóricos e experimentais, dos complexos sintetizados.	46
TABELA 4.3 - Dados de RMN de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ dos complexos (1) – (6) em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$	48
TABELA 4.4 - Valores dos principais parâmetros eletroquímicos dos complexos (1) – (6).....	55
TABELA 4.5 - Dados dos espectros absorção na região do UV-Vis dos complexos em diclorometano.....	59
TABELA 4.6 - Atribuições das frequências vibracionais dos complexos (1) - (6).	62
TABELA 4.7 - Principais ângulos ($^\circ$) e comprimentos de ligação (Å) e para alguns fragmentos em torno do centro metálico dos complexos.	65
TABELA 4.8 - Comprimentos (Å) de ligação para alguns fragmentos em torno do centro metálico dos complexos.	68
TABELA 4.9 - Constantes de ligação (K_b) dos complexos (1) - (6).	83
TABELA 4.10 - Valores de IC_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) e índice de seletividade (IS) dos complexos e ligantes nas linhagens celulares MDA-MB-231 e V79-4.....	87

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 4.1 - Rota sintética dos complexos 1 – 6. Reagentes e condições: (a) trifenilfosfina (PPh₃), metanol, refluxo (3 h); (b) diclorometano, agitação (6 h); (c) ligante diiminas (NN), diclorometano, agitação (0.5 h); (d) ligante 2,2'-dipiridilamina (Hdpa), diclorometano/metanol (2/1), refluxo (72 h); (e) ligante etilenodiamina (en), diclorometano, agitação (12 h); (f) ligante 2,2'-dipiridilamina (Hdpa), diclorometano/metanol (2/1), agitação (72 h)..... 43

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Câncer	1
1.2	Química inorgânica medicinal	5
1.3	Química inorgânica medicinal no tratamento do câncer	6
1.4	Complexos de rutênio como quimioterápicos	10
1.5	Complexos polipiridínicos de rutênio como quimioterápicos	12
1.6	Ligante 2,2'-dipiridilamina	12
1.7	Complexos de rutênio fosfínicos desenvolvidos no laboratório LERCI	14
1.8	Alvos biológicos para os metalofármacos na terapia do câncer	16
1.9	DNA como alvo de metalofármacos	16
1.9.1	Interação entre complexo e DNA	19
1.9.2	Interação covalente	20
1.9.3	Interação por intercalação	20
1.9.4	Interação eletrostática pelos sulcos do DNA	21
1.9.5	Interação eletrostática pelos grupos fosfatos do DNA	22
1.10	Planejamento dos complexos sintetizados neste trabalho	22
2	OBJETIVOS	24
2.1	Objetivo geral	24
2.2	Objetivos específicos	24
3	PARTE EXPERIMENTAL	26
3.1	Obtenção da atmosfera inerte: argônio	26
3.2	Solventes	26
3.3	Reagentes químicos em geral	26
3.4	Instrumentação	27
3.4.1	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível	27
3.4.2	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)	27
3.4.3	Experimentos eletroquímicos	27
3.4.4	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)	28
3.4.5	Difração de Raios X	28
3.4.6	Análise elementar	29
3.4.7	Condutividade molar	29
3.5	Estudos de interação dos complexos com o DNA	29
3.5.1	Titulação por espectroscopia UV-Vis	29
3.5.2	Eletroforese em gel de agarose	30
3.5.3	Dicroísmo circular	31
3.5.4	Medidas de viscosidade	31
3.6	Testes biológicos - avaliação in vitro da citotoxicidade e toxicidade	33
3.7	Sínteses dos precursores de rutênio	35

3.7.1 Síntese do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$	35
3.7.2 Síntese dos complexos do tipo <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{N-N})]$, onde n-n é 2,2'-bipiridina (bipy), 4-4-dimetil-2,2'-bipiridina (dmbipy), 1,10-fenantrolina (fen) e 2,7-difenil-1,10-fenantrolina (dphfen).....	35
3.7.3 Síntese do complexo <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{en})]$	36
3.8 Síntese dos complexos do tipo <i>cis</i> - $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{N-N})]\text{Cl}$, onde N-N = Hdpa, bipy, dmbipy, fen, dphfen, en	36
3.8.1 Síntese do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$	36
3.8.2 Síntese do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{bipy})]\text{Cl}$	37
3.8.3 Síntese do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dmbipy})]\text{Cl}$	38
3.8.4 Síntese do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{fen})]\text{Cl}$	39
3.8.5 Síntese do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$	39
3.8.6 Síntese do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{Cl}$	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1 Síntese dos complexos de fórmula geral $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{N-N})]\text{Cl}$ (onde N-N = Hdpa, bipy, dmbipy, fen, dphfen e en).....	42
4.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)	46
4.2.1 Espectroscopia de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$	46
4.2.2 Espectroscopia de RMN de ^1H	49
4.3 Estudos eletroquímicos	54
4.4 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível UV-Vis.....	57
4.5 Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho	60
4.6 Estrutura de RAIOS X	63
4.6.1 Estrutura cristalográfica do precursor $[\text{RuCl}_2(\text{en})(\text{PPh}_3)_2]$	63
4.6.2 Estrutura cristalográfica dos complexos (1), (3) PF_6^- , (6) PF_6^- ..	66
4.7 Estudo de estabilidade dos complexos em DMSO, tampão Tris e H_2O	70
4.8 Estudo de interação entre os complexos e DNA.....	71
4.8.1 Estudo de medidas de viscosidade	72
4.8.2 Estudo de interação por dicroísmo circular.....	75
4.8.3 Eletroforese em gel de agarose.....	77
4.8.4 Titulação espectrofotométrica UV-Vis	82
4.8.5 Considerações finais dos estudos de interação com DNA	85
4.8.6 Estudo do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ com guanosina e piridina.....	86
4.9 Ensaio de viabilidade celular dos complexos	87
5 CONCLUSÕES	90
6 REFERÊNCIAS	92
7 APÊNDICE	104

1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer

Nas últimas décadas o mundo vem sofrendo mudanças em seu perfil demográfico, consequência do processo de globalização e dos avanços da ciência e da tecnologia. Esse processo de mudança demográfica, associado aos novos estilos de vida das pessoas, originou alterações importantes no perfil de morbimortalidade, diminuindo a ocorrência das doenças infectocontagiosas e colocando as degenerativas no foco dos problemas relacionados à saúde da população mundial, principalmente em países desenvolvidos e em desenvolvimento (WHO 2015; ACS 2015). Nesse cenário, o câncer tornou-se um estigma de mortalidade e dor, sendo uma das enfermidades degenerativas que mais acarreta temor na sociedade mundial.

Câncer é o termo empregado para designar um conjunto de mais de uma centena de doenças, relacionadas com o crescimento desordenado de células. Estas células dividem-se rapidamente e tendem a ser agressivas e incontroláveis, podendo espalhar-se para outros órgãos e tecidos. (INCA, 2014; HANAHAN e WEINBERG, 2000; SARKAR et al., 2009; CAIRNS et al., 2011; ROBERTS e GORDENIN, 2014; KROEMER e POUYSSEGUR, 2008).

De acordo com a pesquisa publicada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), houve 14,1 milhões de novos casos de câncer e um total de 8,2 milhões de mortes por câncer, em todo o mundo em 2012. O câncer é a segunda causa de óbitos no mundo com 12%, sendo superada apenas pelas doenças cardiológicas, que representam 20% do total das mortes provocadas por doenças crônicas não transmissíveis. A *International Agency for Research on Cancer*, da OMS, projeta que o número de casos continuará aumentando no mundo, prevendo que para o ano de 2030 sejam diagnosticados aproximadamente

21,4 milhões de novos casos de câncer e 13,1 milhões de mortes no mundo (WHO, 2015).

No cenário mundial, com exceção do câncer de pele não melanoma, os tipos de câncer mais frequentes na população masculina são de próstata, pulmão, cólon e reto. Entre as mulheres os mais frequentes são de mama, cólon, reto e pulmão. O câncer de próstata foi apontado como o segundo tipo mais frequente em homens, aproximadamente 1,1 milhão de novos casos estimados no ano de 2012. Nas mulheres o câncer de mama é o tipo mais comum em todo o mundo, com aproximadamente 1,67 milhões de casos estimados. Esse número representa 25% de todos os tipos de câncer diagnosticados nas mulheres. Estima-se que o câncer de mama ocasionou 520 mil mortes no ano de 2012 (WHO, 2015).

No Brasil, o câncer representa a segunda causa de óbito. De acordo com as previsões do Instituto Nacional do Câncer (INCA), a incidência da doença no ano de 2015 atingirá 576 mil novos casos, incluindo o câncer de pele não melanoma. A Figura 1.1 apresenta os tipos de câncer mais incidentes estimados para 2014, por sexo (INCA, 2014).

Homens			Mulheres		
Localização primária	casos	%	Localização primária	casos	%
Próstata	68.800	22,8%	Mama Feminina	57.120	20,8%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	16.400	5,4%	Cólon e Reto	17.530	6,4%
Cólon e Reto	15.070	5,0%	Colo do Útero	15.590	5,7%
Estômago	12.870	4,3%	Traqueia, Brônquio e Pulmão	10.930	4,0%
Cavidade Oral	11.280	3,7%	Glândula Tireoide	8.050	2,9%
Esôfago	8.010	2,6%	Estômago	7.520	2,7%
Laringe	6.870	2,3%	Corpo do Útero	5.900	2,2%
Bexiga	6.750	2,2%	Ovário	5.680	2,1%
Leucemias	5.050	1,7%	Linfoma não Hodgkin	4.850	1,8%
Sistema Nervoso Central	4.960	1,6%	Leucemias	4.320	1,6%

*Números arredondados para 10 ou múltiplos de 10.

FIGURA 1.1 - Tipos de câncer mais incidentes estimados para 2014 por sexo, exceto pele não melanoma. Fonte: INCA.

Em suma, o processo de carcinogênese ocorre em vários estágios antes de chegar à formação do tumor, sendo que ocorre de forma lenta, levando

vários anos para que células cancerosas originem um tumor detectável. (HANAHAN e WEINBERG, 2000; SARKAR et al., 2009; KROEMER e POUYSSEGUR, 2008).

O primeiro estágio da carcinogênese é ação de um agente carcinogênico que provoca alterações em alguns genes. Nessa fase, as células encontram-se geneticamente alteradas devido às lesões específicas em alguns genes, entretanto não é possível detectar um tumor clinicamente. Alterações genéticas nas células também podem ocorrer durante o processo natural de reprodução, ocorrendo uma falha na replicação do ácido desoxirribonucleico (HANAHAN e WEINBERG, 2000; SARKAR et al., 2009; KROEMER e POUYSSEGUR, 2008).

As células geneticamente alteradas, expostas por um longo e contínuo período de tempo à agentes cancerígenos, são transformadas em células anormais, de forma lenta e gradual. Em vez de morrerem, essas células continuam a crescer e formar novas células anormais, sendo o estágio de multiplicação descontrolado. O acúmulo de massa dessas células alteradas origina um tumor, que pode ser de dois tipos: tumor benigno, caso as células neoplásicas não sejam invasivas; ou tumor maligno, se as células invadirem tecidos adjacentes (ALMEIDA et al., 2005; KROEMER e POUYSSEGUR, 2008).

As células neoplásicas podem adquirir a capacidade de se desprenderem da massa tumoral original e migrarem pelo corpo, invadindo inicialmente os tecidos vizinhos, podendo chegar aos vasos sanguíneos ou linfáticos e, por meio desses vasos, migrarem para tecidos ou órgãos distantes do tumor primário, se alastrando pelo corpo, formando as metástases (ALMEIDA et al., 2005).

Inúmeros fatores promovem a iniciação ou progressão do processo de carcinogênese. Tais fatores de risco podem ser hereditários e/ou relacionados ao meio ambiente. A maioria dos casos (cerca de 80%) está relacionada ao meio

ambiente e estilo de vida, como a exposição excessiva ao sol, hábitos alimentares, medicamentos, fatores ocupacionais, infecções crônicas, entre outros (WHO, 2015).

À medida que as células cancerosas vão substituindo as células normais, os tecidos invadidos vão perdendo suas funções, provocando a disfunção orgânica, que pode levar à falência de alguns órgãos, e em casos mais graves, leva à morte do paciente (ALMEIDA et al., 2005; KROEMER e POUYSSEGUR, 2008).

A quimioterapia é um dos principais tratamentos utilizados contra o câncer, juntamente com a cirurgia e radioterapia. O objetivo primário da quimioterapia é provocar a morte das células tumorais, preservando as normais. Entretanto, os agentes quimioterápicos antineoplásicos não apresentam total seletividade, lesando tanto as células malignas quanto as normais, principalmente as células normais de rápido crescimento, como as gastrointestinais, capilares e do sistema imunológico. Isto explica a maior parte dos efeitos colaterais dos quimioterápicos (SHEWACH, 2009).

Neste contexto, há uma ampla pesquisa na química associada a outras áreas da ciência, onde busca-se o desenvolvimento de novos quimioterápicos antineoplásicos, além do estudo do mecanismo de ação. Dentre as áreas da química envolvidas nesse propósito destaca-se a química inorgânica medicinal, alavancada pelo sucesso de um dos agentes antineoplásicos mais empregados na quimioterapia, o quimioterápico cisplatina (HARDER e ROSENBERG, 1970; WEIDMANN et al., 2014).

1.2 Química inorgânica medicinal

A Química inorgânica medicinal é um ramo da química em ampla expansão, tanto no desenvolvimento de novos agentes para usos terapêuticos, quanto para usos em diagnósticos (MEDICI et al., 2015).

Complexos inorgânicos têm sido usados na medicina por muitos séculos, entretanto em diversos casos de maneira empírica e com pouco conhecimento sobre seus mecanismos de ação. Há uma gama de metalofármacos bem sucedidos, que incluem as drogas anticâncer de platina, agentes de radiodiagnóstico que contêm ^{99m}Tc e outros radionuclídeos (DILWORTH e PARROTT, 1998), e complexos de Au (III) empregados como agentes de contraste para imagem por ressonância magnética (IRM), no diagnóstico não invasivo (JURISSON et al., 1993; SHAW 1999). A Tabela 1.1 apresenta alguns exemplos de compostos empregados na medicina.

TABELA 1.1 - Exemplos de compostos inorgânicos empregados na medicina.

COMPOSTOS ATIVOS	FUNÇÃO
$cis\text{-}[\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$	Anticâncer
$[\text{Gd}(\text{DTPA})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$	Agente de contraste para IRM extracelular
$[\text{Tc}(\text{CNCH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{OCH}_3)_6]^+$	Imagiologia miocárdica
Li_2CO_3	Tratamento de transtorno de humor bipolar
$[\text{Au}(\text{thiomalate})]$	Anti-artrite reumatoide
$\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})].2\text{H}_2\text{O}$	Anti-hipertensivo
$\text{CaCO}_3.\text{Mg}(\text{OH})_2$	Antiácido
$\text{La}_2(\text{CO}_3)_3$	Insuficiência crônica renal

1.3 Química inorgânica medicinal no tratamento do câncer

A química inorgânica foi revolucionada pelo sucesso do complexo cisplatina, o antineoplásico mais eficaz no tratamento de diversos tipos de tumores.

A atividade citotóxica do complexo cisplatina foi descoberta por Rosenberg e colaboradores (ROSENBERG et al., 1965), quando estudavam o crescimento de uma colônia de bactéria *Escherichia coli* na presença de campo elétrico, empregando eletrodo de platina em meio tampão amônia (ROSENBERG et al., 1965; ROSENBERG et al., 1969). Nos experimentos Rosenberg observou a interrupção da divisão celular e que as células cresciam formando filamentos alongados. A inibição do crescimento bacteriano não foi atribuída à corrente elétrica, pois durante a eletrólise foi observado que a platina do eletrodo se dissolvia no meio de cultura, formando compostos por meio de reação entre a prata e a amônia presente no meio (ROSENBERG et al., 1965; ROSENBERG et al., 1969).

Posteriormente, complexos de platina foram sintetizados e submetidos à testes com ratos inoculados com Sarcoma 180 e Leucemia L1210. Dentre os complexos estudados, o *cis*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] apresentou maior atividade, provocando a regressão total do tumor em 36 dias, enquanto o seu isômero *trans*-[Pt(NH₃)₂Cl₂] se mostrou inativo (HARDER e ROSENBERG, 1970). Após 11 anos da descoberta da atividade citotóxica, o cisplatina entrou em testes clínicos de fase I e no ano 1978 teve sua aprovação para o tratamento de câncer pela *United States Food and Drug Administration* (U.S. FDA). Vale ressaltar que o complexo *cis*-diaminodicloroplatina (II) foi sintetizado pela primeira vez em 1845 pelo químico italiano Michele Peyrone (PEYRONE 1845) e sua estrutura foi proposta por Alfred Werner.

O cisplatina, em combinação com outros fármacos, tem sido empregado como quimioterápico em vários tipos de neoplasias, como câncer de

pulmão, testículo, ovário, colo de útero, bexiga, cabeça, pescoço, melanomas e vários linfomas (KELLAND, 2007; MJOS e ORVIG, 2014). Apesar da alta eficácia, o composto apresenta alto grau de toxicidade, provocando diversos efeitos colaterais, como alterações auditivas, nefrotoxicidade, ototoxicidade, anafilaxia, hepatotoxicidade, mielossupressão, hipomagnesemia, hipocalcemia, hiperuricemia, neurotoxicidade, efeitos gastrointestinais (náuseas e vômitos) e tremores (KELLAND, 2007). Tal toxicidade é decorrente da complexação do cisplatina com proteínas e peptídeos que causam o seu acúmulo no organismo (HANNON, 2007; NIELSEN et al. 1991; VITORINO 2011). No entanto, a principal preocupação é o surgimento de resistência celular ao cisplatina, implicando na substituição do fármaco ou no aumento das doses no tratamento, podendo conduzir à toxicidade severa em vários órgãos (KARTALOU e ESSIGMANN, 2001; RABIK e DOLAN, 2007;).

Há um consenso sobre o mecanismo de ação do cisplatina, sendo o ácido desoxirribonucleico (DNA) apontado como o principal alvo biológico (PAGES et al., 2015; HARDER e ROSENBERG, 1970; REEDIJK, 1987). No plasma sanguíneo a alta concentração de íons cloretos impede a hidrólise do cisplatina. Entretanto, após penetrar na célula, por meio de difusão passiva, a baixa concentração de íons cloretos favorece a hidrólise do composto, formando espécies do tipo, $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}(\text{OH}_2)]^+$ e $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$, que podem reagir com biomoléculas (PAGES et al., 2015; KELLAND 2007; TAKAHARA et al., 1995). Os complexos hidrolisados tem a capacidade de se ligarem com o DNA, irreversivelmente, de diferentes maneiras (Figura 1.2). A ligação da platina com o DNA ocorre por meio de um dos átomos de nitrogênio (N7) das bases nitrogenadas, preferencialmente as bases guanina ou adenina, do sulco maior do DNA, por serem mais acessíveis e nucleofílicos comparados aos outros átomos de nitrogênio (REEDIJK 1999). O principal aduto cisplatina-DNA resulta da ligação cruzada 1,2-intrafitita, na qual a platina (II) encontra-se ligada a duas bases adjacentes (Guanina-Guanina ou

Guanina-Adenina) (REEDIJK 1999). Desse modo, o cisplatina provoca alterações na estrutura do DNA, causando o desenovelamento e torções, que são responsáveis por inibir os processos de replicação e transcrição do DNA, necessários para a divisão celular, induzindo a morte celular por apoptose, na fase G2 do ciclo celular (KELLAND, 2007; LIPPERT, 1999).

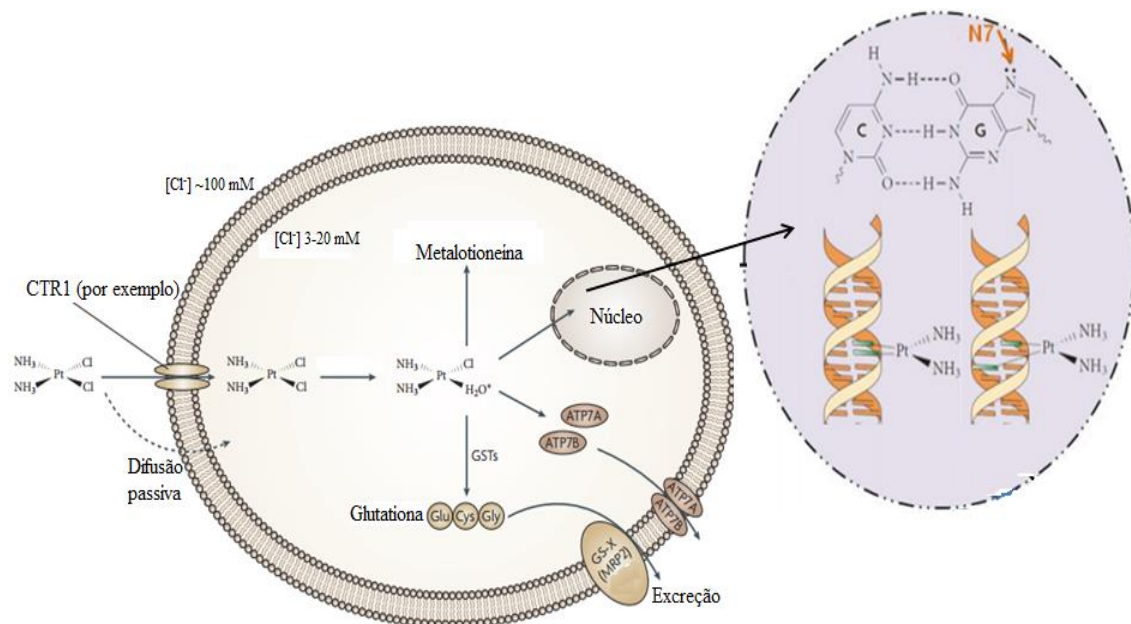


FIGURA 1.2 - Representação do mecanismo de ação do cisplatina. Fonte: Adaptado de KELLAND, 2007.

Desde a aplicação bem sucedida do complexo cisplatina como droga anticâncer, um dos focos era o desenvolvimento de análogos, com o objetivo de obter compostos mais eficazes e, principalmente, menos citotóxicos para células não tumorais. A síntese de novos complexos de platina resultou no desenvolvimento da segunda e terceira geração das drogas (Figura 1.3), levando à aprovação pela U.S. FDA dos complexos carboplatina e oxaloplatina (KELLAND 2007).

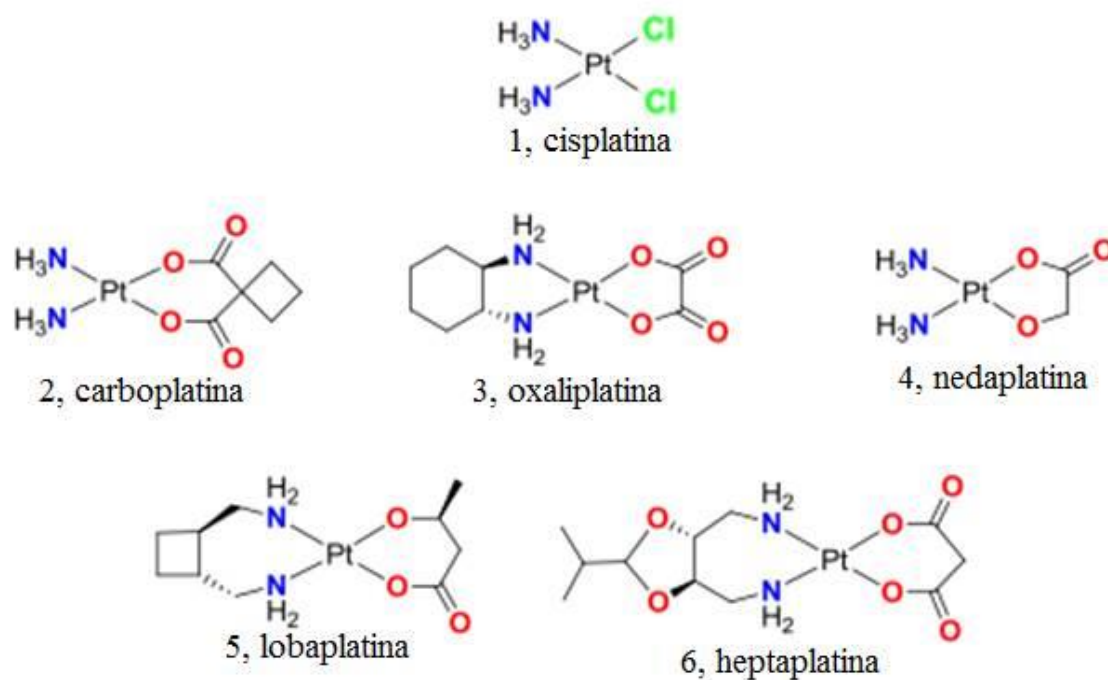


FIGURA 1.3 - Complexos antitumorais de platina: cisplatina, complexos da segunda e terceira geração aprovados para comercialização. Nota: Lobaplatina (utilização restrita à China) e nedaplatina (utilização restrita ao Japão).

Além da platina, outros metais de transição são relevantes na busca por novos complexos com potencial atividade antineoplásica. Dentre estes, destacam-se os complexos de paládio (II), cuja química é análoga à da platina (II) (MJOS e ORVIG, 2014), além dos complexos de ouro (III) (MILACIC e DOU, 2009; CASINI et al., 2008; SHAW 1999) e complexos de rutênio (MJOS e ORVIG, 2014; MEDICI et al., 2015; ALLARDYCE e DYSON, 2001; BERGAMO e SAVA, 2011).

Os complexos de rutênio apresentam promissoras atividades citotóxicas e baixa toxicidade. O interesse pelos compostos de rutênio se explica, provavelmente, pela capacidade que este metal apresenta de mimetizar o ferro durante interações com proteínas (exemplos: albumina e transferrina), auxiliando no transporte e na entrada dos compostos nos tecidos cancerígenos (BERGAMO e SAVA, 2011; VOCK et al., 2006).

A química sintética do rutênio é bem desenvolvida e fornece muitas abordagens para o desenvolvimento de novos metalofármacos. As vantagens no uso de complexos de rutênio são diversas, tais como, versatilidade na troca de ligantes, alterações na afinidade metal-ligante comparado à outros metais, controle da cinética de substituição de ligantes coordenados, além da possibilidade da variação do estado de oxidação em condições fisiológicas (GIANFERRARA et al., 2009; MJOS e ORVIG, 2014; MEDICI et al., 2015; BERGAMO e SAVA, 2011).

1.4 Complexos de rutênio como quimioterápicos

Ao longo de um período os seguintes complexos de rutênio (Figura 1.4) foram pioneiros em progredir nos estudos clínicos, o anti-metastático NAMI-A ((ImH)[trans-RuCl₄(dmsO)(Im)], Im = imidazol), KP1019 ((IndH)[trans-RuCl₄(Ind)₂], Ind = indazol), [ImH]{*trans*-[RuCl₄(Im)₂] } (KP418) e [Ru(η⁶-arene)(en)Cl]PF₆ (RAPTA-C) (WEISS et al., 2014; GIANFERRARA et al., 2009; BERGAMO e SAVA, 2007; CHATTERJEE et al., 2008; HARTINGER et al., 2008; SCOLARO et al., 2005). Os estudos clínicos de fase II revelaram efeitos colaterais graves e eficácia insatisfatória em pacientes causados pelos dois primeiros complexos citados e, portanto, não foram realizadas investigações adicionais.

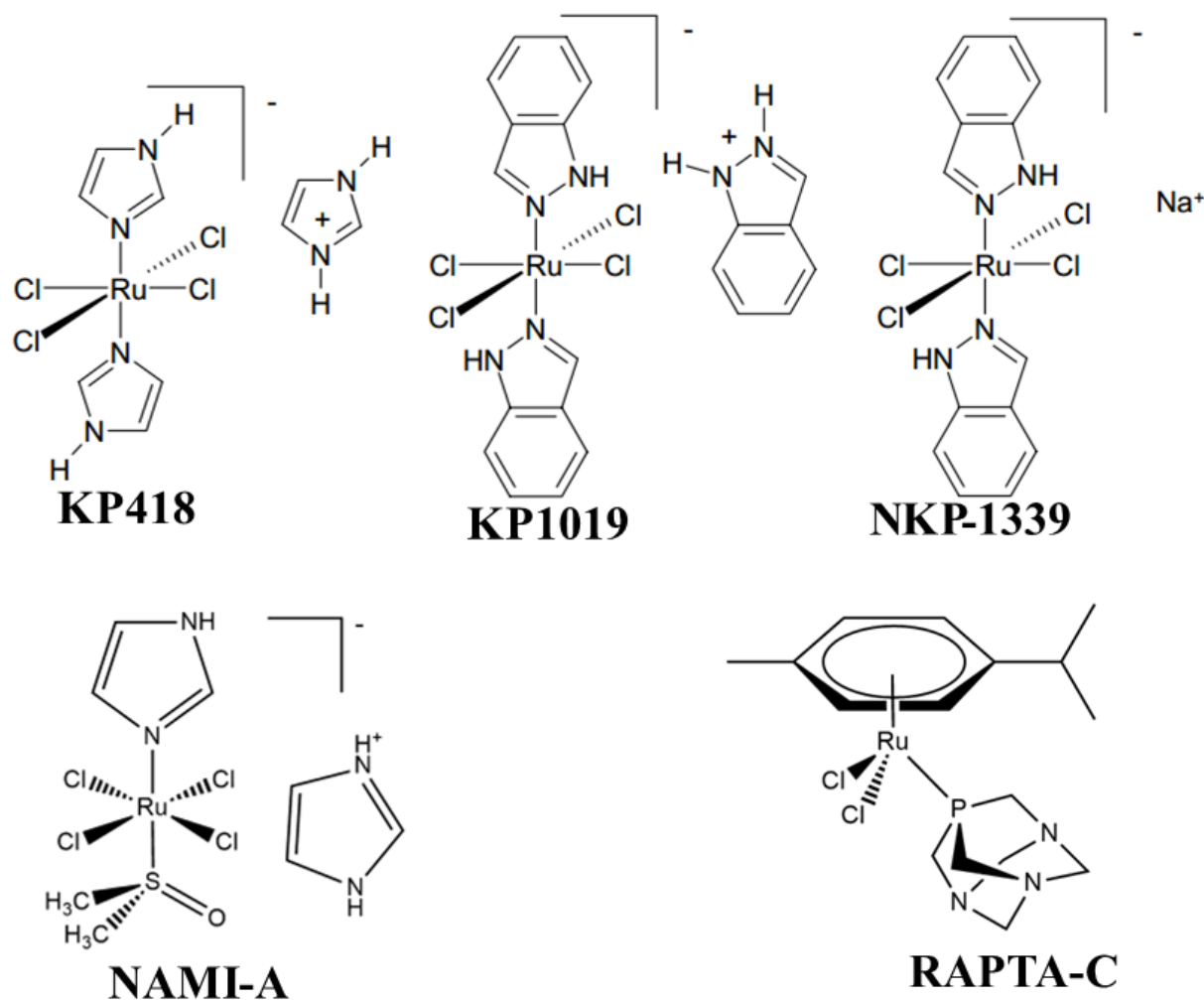


FIGURA 1.4 - Estruturas dos complexos de rutênio com atividade antitumoral.

Recentemente, novos resultados promissores do complexo NKP-1339 (Figura 1.4) foram relatados por Keppler e colaboradores (TRONDL et al., 2015). O complexo NKP-1339 é análogo ao KP1019, com a diferença do contra-íon, sendo no NKP-1339 o íon sódio e no KP1019 o íon indazolium. Esse complexo tem sido estudado, com êxito, em ensaios clínicos de fase I, sendo relatados baixos efeitos colaterais até o momento, sendo está uma das principais vantagens comparada a outros agentes anticancerígenos.

O NKP-1339 é o primeiro complexo antineoplásico de rutênio em fase clínica contra câncer sólido. O NKP-1339 apresenta atividade antitumoral baseada em sua ativação no meio redutor, e nas fortes interações com as proteínas sérum, tais como albumina e transferrina. A atividade redox do

complexo representa um modo importante do mecanismo de ação, levando a perturbação do equilíbrio redox celular. Estas perturbações no equilíbrio celular provocam à indução da paragem do ciclo celular na transição entre a fase G2 e mitose (G2/M), o bloqueio da síntese do DNA e a indução da apoptose através da via mitocondrial (TRONDL et al., 2015).

1.5 Complexos polipiridínicos de rutênio como quimioterápicos

Outra classe com interessantes propriedades antineoplásica são os complexos polipiridínicos de rutênio (MEDICI et al., 2015; GILL e THOMAS, 2012). Em diversos trabalhos tem-se associado à atividade antitumoral dos complexos rutênio-polipiridínicos às suas interações com o DNA, principalmente via intercalação dos ligantes polipiridínicos entre os pares de base do DNA, principalmente os ligantes com anéis estendidos, tais como dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina (dppz) e dipirido[3,2-f:2',3'-h]quinoxalina (dppq). Contudo, os possíveis mecanismos de ação dos complexos não se restringem apenas às interações com o DNA. A atividade antitumoral dos complexos Ru-polipiridínicos também estão associadas à ação em mitocôndrias, inibição das enzimas topoisomerasas I e IIa, entre outras biomoléculas (HE et al., 2015; MEDICI et al., 2015; BOER et al., 2014).

1.6 Ligante 2,2'-dipiridilamina

Um dos ligantes dipiridínicos que desperta atenção pelas suas propriedades singulares é a 2,2'-dipiridilamina (Figura 1.5). Há inúmeros complexos metálicos contendo o ligante dipiridilamina com resultados promissores para atividade antitumoral (DEVI et al., 2013; DEVI et al., 2014; PAUL et al., 1993; MACHURA e GRYCA., 2013; LEVINE e WILLIAMS, 2009; EFTHIMIADOU et al., 2007; EFTHIMIADOU et al., 2008; ZIANNA et

al., 2013). Entretanto, o número de trabalhos envolvendo esse ligante coordenado ao rutênio é menor comparado com outros ligantes polipiridínicos.



FIGURA 1.5 - Estrutura química do ligante 2,2'-dipiridilamina (Hdpa).

O grupo NH proporciona ao ligante dipiridilamina diferentes aspectos comparados com outros ligantes polipiridínicos (PATEL et al., 2012; TU et al., 2004), tais como: (1) Coordenação com a formação de um quelato com anel de seis membros, em vez de cinco membros como na bipyridina ou fenantrolina; (2) os anéis piridínicos são flexíveis e não planares, consequentemente podem apresentar diferentes conformações; (3) o grupo NH pode favorecer a formação de ligações de hidrogênio do complexo à moléculas de água, proporcionando solubilidade em água; (4) o grupo NH também pode favorecer a interação com biomoléculas, como o DNA e proteínas (ERNST et al., 2009; KOMOR 2014).

M. A. Akbarsha e colaboradores reportaram a síntese de uma série de complexos de rutênio (II) $[\text{Ru}(\text{Hdpa})_2(\text{diimina})](\text{ClO}_4)$ [onde diimina = 1,10-fenantrolina (fen), 5,6-dimetil-1,10-fenantrolina, dipirido[3,2-*d*:2',3'-*f*]quinoxalina (dpq), 5-metil-dipirido[3,2-*d*:2',3'-*f*]quinoxalina (mdpq) e dipirido[3,2-*a*:2',3'-*c*]fenazina (dppz)] e estudos de interação com o DNA (RAJENDIRAN et al., 2007). A interação dos complexos ocorre por intercalação dos ligantes diimínicos entre os pares de bases do DNA, e foi observado que o aumento dos anéis aromáticos dos ligantes diimínicos eleva a afinidade de ligação à biomolécula. O complexo $[\text{Ru}(\text{Hdpa})_2(\text{dppz})](\text{ClO}_4)$ exibiu a maior afinidade de interação com DNA devido à cadeia aromática

estendida do ligante dppz, e os complexos com os ligantes diimínicos dmfen e mdpq também permitiram interações hidrofóbicas entre os grupos metilas dos ligantes com o DNA. O complexo $[\text{Ru}(\text{Hdpa})_2(\text{dppz})](\text{ClO}_4)_2$ exibiu a maior atividade citotóxica frente à linhagem celular de colo do útero ME180, entre os complexos estudados, e se mostrou 4 vezes mais ativo do que o cisplatina. Os estudos também ressaltaram a importância dos ligantes Hdpa na atividade biológica, o complexo $[\text{Ru}(\text{Hdpa})_2(\text{dppz})](\text{ClO}_4)_2$ apresentou uma atividade citotóxica 15 vezes maior do que o análogo $[\text{Ru}(\text{bipy})_2(\text{dppz})](\text{ClO}_4)_2$, o que destaca a importância das interações de hidrogênio do grupo NH e a característica da não planaridade dos anéis piridínicos (RAJENDIRAN et al., 2007).

1.7 Complexos de rutênio fosfínicos desenvolvidos no laboratório LERCI

Nos últimos 10 anos, o Laboratório de Estruturas e Reatividade de Compostos Inorgânicos (LERCI), liderado pelo Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista, vêm trabalhando com a vertente da Química Medicinal no desenvolvimento de compostos inorgânicos para o tratamento do câncer e doenças negligenciadas.

Há uma ampla diversidade estrutural dos complexos sintetizados no laboratório LERCI. A maioria dos complexos emprega o íon metálico rutênio (II), entretanto outros íons metálicos são utilizados, tais como de platina (II), paládio (II), ouro (II) e cobre. Diversos ligantes são empregados na síntese dos complexos, incluindo ligantes fosfínicos, derivados de N-heterocíclos (polipiridínicos e piridínicos), fármacos, produtos naturais (mangiferina, lausona, lapachol, ácido gálico e derivados), bioligantes, entre outros (ALMEIDA et al., 2014; BARBOSA et al., 2014; PLUTÍN et al., 2014; CORREA et al., 2015; PEREIRA et al., 2015; COLINA-VEGAS et al., 2015). Na Tabela 1.2 estão apresentados os valores de IC_{50} (concentração mínima de

complexo capaz de inibir o crescimento de 50% das células) de alguns complexos sintetizados no LERCI frente à linhagem tumoral de mama triplo negativo MDA-MB-231. Alguns complexos apresentam maior atividade citotóxica quando comparados com as drogas de referência, cisplatina e doxorrubicina, como os complexos contendo o ligante lapachol (lap).

TABELA 1.2 - Atividade citotóxica *in vitro* de alguns complexos sintetizados no LERCI frente à linhagem tumoral de mama triplo negativo MDA-MB-231.

Complexo	IC ₅₀ (μmol L ⁻¹) MDA-MB-231	Complexo	IC ₅₀ (μmol L ⁻¹) MDA-MB-231
Ru(L-Gly)(dppb)(bipy)]PF ₆	14,5 ± 0,4	[RuCl(η ⁶ -C ₁₀ H ₁₄)(fen)]PF ₆	>100
Ru(L-Ala)(dppb)(bipy)]PF ₆	28,5 ± 5,2	[RuCl(η ⁶ -C ₁₀ H ₁₄)(dphfen)]PF ₆	0,40 ± 0,10
Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF ₆	24,1 ± 3,6	[RuCl(η ⁶ -C ₁₀ H ₁₄)(bipy)]PF ₆	>100
[Ru(L-Val)(dppb)(bipy)]PF ₆	26,2 ± 4,0	[RuCl(η ⁶ -C ₁₀ H ₁₄)(dmbipy)]PF ₆	>100
[Ru(L-Leu)(dppb)(bipy)]PF ₆	7,1 ± 0,6	[RuCQ(η ⁶ -C ₁₀ H ₁₄)(fen)]PF ₆	6,80 ± 1,46
[Ru(L-Lys)(dppb)(bipy)]PF ₆	16,2 ± 1,6	[RuCQ(η ⁶ -C ₁₀ H ₁₄)(fen)][PF ₆] ₂	>100
[Ru(L-Met)(dppb)(bipy)]PF ₆	5,0 ± 1,5	[RuCQ(η ⁶ -C ₁₀ H ₁₄)(dphfen)][PF ₆] ₂	2,30 ± 1,64
[Ru(L-Try)(dppb)(bipy)]PF ₆	21,3 ± 2,5	[RuCQ(η ⁶ -C ₁₀ H ₁₄)(bipy)][PF ₆] ₂	>100
[Ru(L-Trp)(dppb)(bipy)]PF ₆	28,2 ± 1,5	[RuCQ(η ⁶ -C ₁₀ H ₁₄)(dbipy)][PF ₆] ₂	>100
[Ru(lap)(dppb)(bipy)]PF ₆	0,14 ± 0,01	Cisplatina	2,44 ± 0,20
[Ru(lap)(dppb)(dmbipy)]PF ₆	0,12 ± 0,02	Doxorrubicina	3,67 ± 0,15
[Ru(lap)(dppb)(fen)]PF ₆	0,10 ± 0,01		

Glicina (gly), L-alanina (ala), L-tirosina (tyr), L-metionina (met), L-leucina (leu), L-valina (val), L-serina (ser), L-triptofano (trp), and L-lisina(lys); dppb = 1,4-bis(difenilfosfina)butano; η⁶-C₁₀H = η⁶-p-cimeno; CQ = cloroquina; bipy = 2,2'-bipiridina; dmbipy = 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina; fen = 1, 10-fenantrolina; dphfen = 4,7-difenil-1, 10-fenantrolina; lap = lapachol.

1.8 Alvos biológicos para os metalofármacos na terapia do câncer

A eficácia dos compostos na terapia do câncer está relacionada diretamente com os mecanismos pelos quais induzem a morte celular. Nos recentes anos, os estudos se ampliaram para a elucidação dos mecanismos de ação e dos possíveis alvos biológicos dos complexos antitumorais. Esses estudos colaboram no design e desenvolvimento de novos fármacos anticâncer seletivos a um alvo celular específico proeminente em células tumorais, proporcionando menor atividade citotóxica para células não tumorais (KOMOR et al., 2014).

Qualquer substância ou componente da célula que esteja envolvido diretamente ou indiretamente nos processos de sobrevivência da célula tumoral pode ser considerado um alvo para os fármacos (KOMOR et al., 2014). Diversas biomoléculas são descritas como alvo de quimioterápicos, tais como: proteínas (Kinases, GSK3 α , catepsinas, ER α , topoisomerases, proteassomas e tiorredoxina redutase), organelas (mitocôndrias) e o DNA (BELTRAN et al., 2012; FENG et al., 2011; KUNICK e OTT, 2010). Contudo, o DNA é descrito como um dos principais alvos e o mais estudado para os complexos antineoplásicos, uma vez que o mecanismo de ação proposto para quimioterápicos de platina, tal como o cisplatina, é via formação de adutos com o DNA (ZEGLIS et al., 2007).

1.9 DNA como alvo de metalofármacos

O ácido desoxirribonucleico é uma molécula orgânica na forma de uma dupla hélice, na qual cada fita é formada por uma sequência de nucleotídeos (Figura 1.6) (WATSON e CRICK, 1945). O nucleotídeo é composto por um açúcar (2-desoxi-D-ribose), um grupo fosfato e uma base nitrogenada. As bases nitrogenadas são derivadas de purinas [guanina (G) e adenina (A)] e pirimidinas [citosina (C) e timina (T)]. O grupo fosfato e a

pentose são componentes inalteráveis dos nucleotídeos e apresentam a função estrutural (HANNON 2001 (a); WERNER et al., 1996).

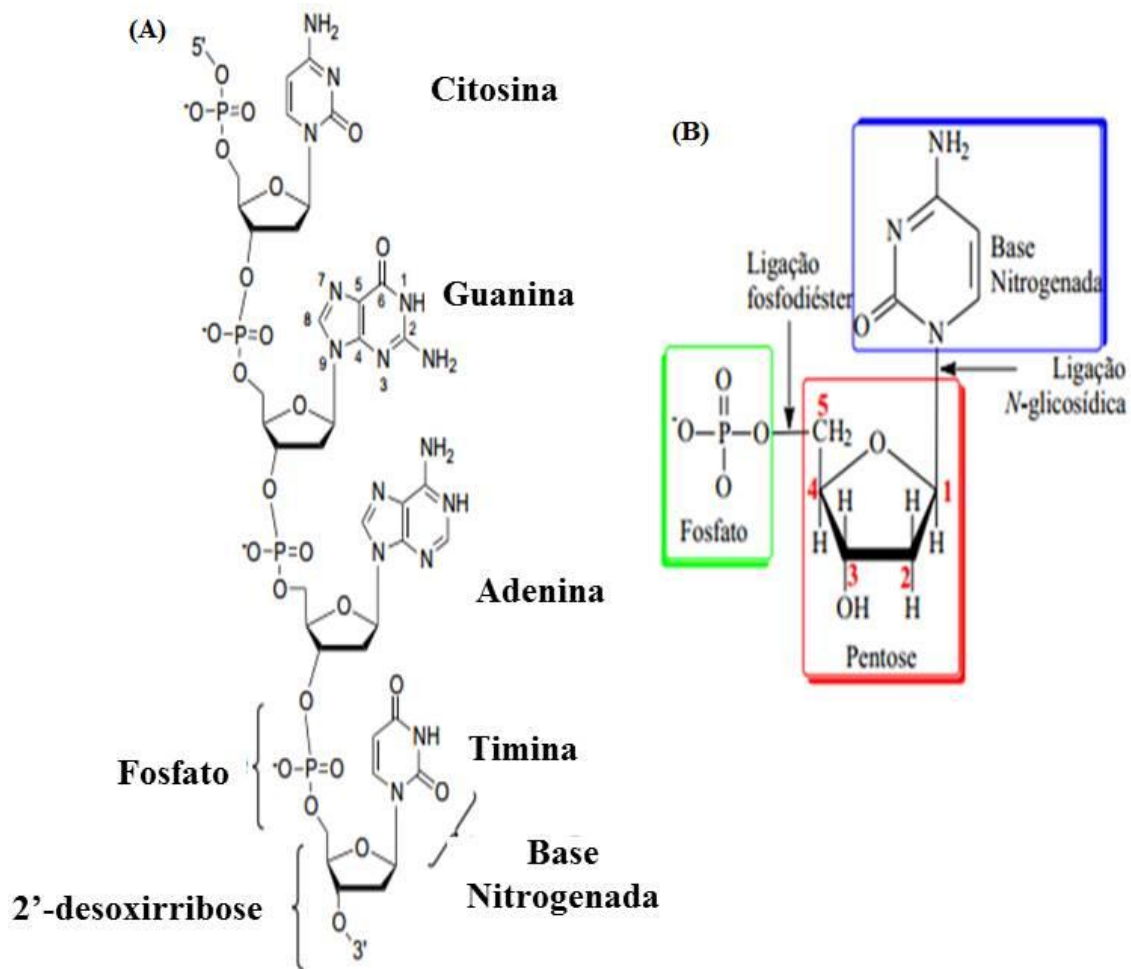


FIGURA 1.6 - Representação de uma sequência de quatro nucleotídeos (A) e a estrutura básica de um nucleotídeo (B).

O DNA contém as informações genéticas que coordenam o desenvolvimento e funcionamento dos seres vivos. De forma simplificada, o DNA contém as informações para promover a síntese de proteínas necessárias para o metabolismo e desenvolvimento das células do organismo, e também tem a função de replicação que é o conjunto de reações por meio das quais o DNA faz uma cópia de si mesmo cada vez que uma célula se divide e transmite suas informações às células filhas (HANNON 2001 (a); WERNER et al., 1996).

A estrutura do DNA é caracterizada por uma dupla fita de nucleotídeos, enrolada em torno de um eixo comum com um giro à direita, que adota a forma de uma dupla hélice (espiral dextrógira) (VIJG 2007). A cadeia de açúcar-fosfato aniônica no meio intracelular esta em contato com o meio e apresenta caráter hidrofílico, enquanto as bases nitrogenadas são planares e mais hidrofóbicas, e orientadas para o interior da dupla fita (VIJG 2007; HANNON 2001 (a); WERNER et al., 1996).

A conformação da dupla hélice proporciona a formação de sulcos entre as cadeias de fosfato, deixando expostas as faces das bases nitrogenadas, unidas por ligações de hidrogênio com a base complementar (Figura 1.7). As purinas formam ligações de hidrogênio com pirimidinas (adenina com timina e citosina e guanina). Na conformação B-DNA, a mais comum nas condições normais, há dois tipos de sulcos na superfície da dupla hélice, sulco maior e sulco menor. Outros tipos de interações também estão presentes na dupla hélice do DNA, como interações π - π entre os anéis aromáticos, atração eletrostática entre as cadeias açúcar-fosfato aniônica e os cátions em solução (VIJG 2007; HANNON 2001 (a); WERNER et al., 1996).

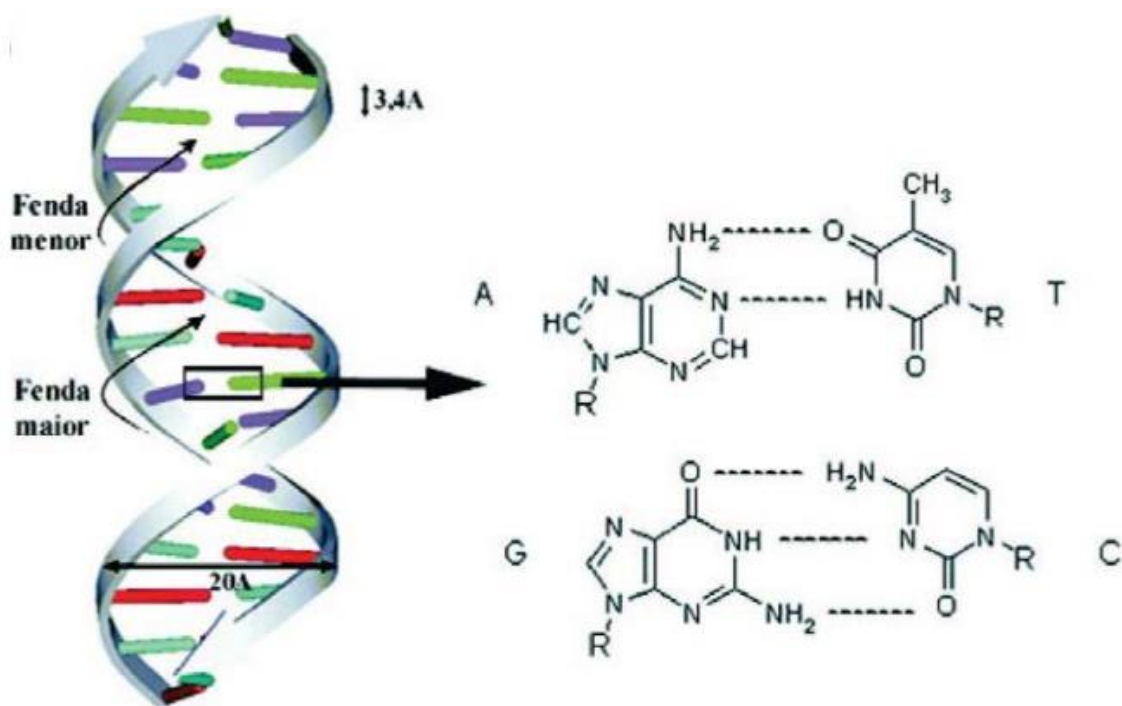


FIGURA 1.7 - Representação de uma estrutura do B-DNA e os pares de bases nitrogenadas unidas por ligações de hidrogênio.

1.9.1 Interação entre complexo e DNA

O ácido desoxirribonucleico é uma molécula flexível, sendo induzida a alterações estruturais conforme o meio em que se encontra (SIRAJUDDIN et al., 2013). A interação de moléculas ao DNA pode resultar em distorção estrutural ou danos que impedem a replicação ou transcrição da biomolécula, por exemplo, ao bloquear o movimento de helicases, topoisomerases e polimerases (WEIDMANN et al., 2014).

As interações entre os complexos e o DNA (Figura 1.8) podem ocorrer de diversas formas, tais como, ligação covalente complexo-DNA pelas bases nitrogenadas do DNA ou pelos grupos fosfatos, por meio de intercalação entre os pares de bases, interações eletrostáticas aos grupos fosfatos e interações aos sulcos do DNA (HANNON 2007 (a); PAGES et al., 2014; SIRAJUDDIN et al., 2013; WEIDMANN et al., 2014). Nos próximos itens é apresentada uma breve e sucinta revisão bibliográfica sobre os tipos de interações entre complexos e o DNA.

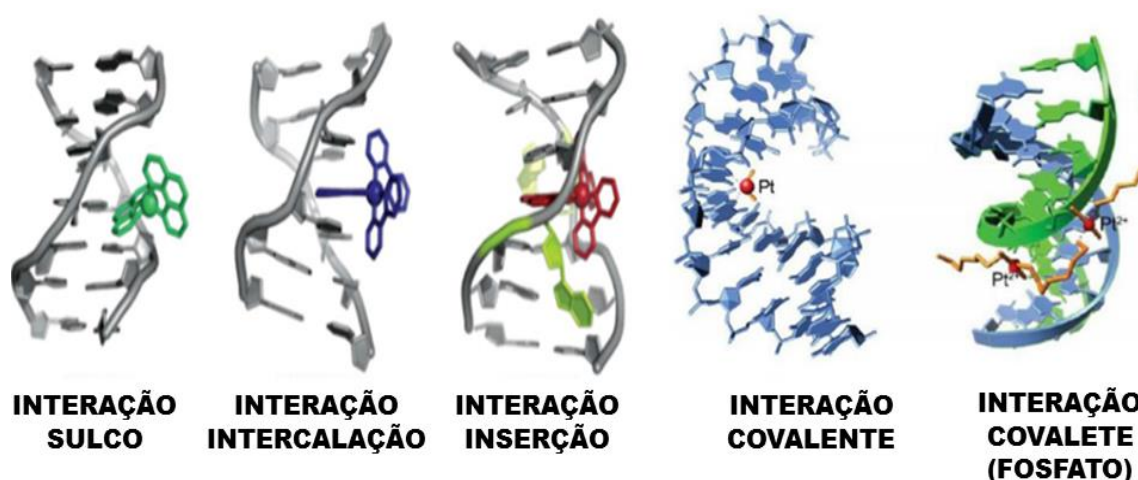


FIGURA 1.8 - Representação dos modos de interação entre complexo e DNA.

Fonte: Adaptado de BOER et al., 2014.

1.9.2 Interação covalente

As interações covalentes entre complexo e o DNA na maioria dos casos são irreversíveis e provocam a inibição completa dos processos de transcrição e replicação do DNA (PAGES et al., 2014; SIRAJUDDIN et al., 2013). O mecanismo pelo qual certas drogas ligam-se ao DNA envolve a coordenação direta ao N7 das bases nitrogenadas da guanina e timina localizadas no sulco maior do DNA (HANNON 2007 (a); REEDIJK 1999). Os complexos de platina destacam-se no modo de interação por covalência, como o cisplatina, o qual se liga covalentemente aos nitrogênios das bases nitrogenadas por duas formas: 1,2-intrafitita e 1,2-interfitita (PAGES et al., 2014; REEDIJK 1999).

1.9.3 Interação por intercalação

A interação por intercalação ocorre com a inserção de uma molécula planar heterocíclica entre dois pares de bases adjacentes do DNA, sem formar ligações covalentes e sem quebrar as ligações de hidrogênio entre as bases nitrogenadas (LIU e SADLER, 2011; SIRAJUDDIN et al., 2013; GEORGIADES e VILAR, 2010). A intercalação é um tipo de interação reversível, estabilizada principalmente por interações π - π *stacking* entre os pares de bases e o anel aromático do ligante (SUNTHARALINGAM e VILAR, 2011). A intercalação causa um aumento de volume entre os pares de bases para que ocorra a inserção do ligante. Esse processo resulta na modificação da conformação do DNA, provocando rigidez, alongamento e desenrolamento da dupla hélice (LIU e SADLER, 2011). As alterações na conformação do DNA variam com as características dos agentes intercaladores, principalmente a extensão dos anéis e aromaticidade (LIU e SADLER, 2011). Contudo, as

interações eletrostáticas, hidrofóbicas e ligações de hidrogênio auxiliam na estabilização do sistema DNA-agente intercalante (ZEGLIS et al., 2007).

Atualmente ligantes planares aromáticos, tais como fenantrolinas, fenantridinas, acridinas e antraquinonas são coordenados a íons metálicos, formando complexos metálicos específicos para interagirem com DNA, via intercalação (SUNTHARALINGAM e VILAR, 2011). Diversos complexos polipiridínicos são clássicos intercaladores, tais como $[\text{Ru}(\text{fen})_2(\text{dppz})]^{2+}$, $[\text{Ru}(\text{bipy})_2(\text{dppz})]^{2+}$, entre outros (SUNTHARALINGAM e VILAR, 2011; SUN et al., 2010; ZEGLIS et al., 2007).

1.9.4 Interação eletrostática pelos sulcos do DNA

A interação dos complexos por meio dos sulcos do DNA é uma interação reversível, caracterizada por abranger uma longa sequência de pares de bases e, conseqüentemente, pode exibir um alto nível de especificidade a um seguimento do DNA (KIM e NORDEN, 1993; GEORGIADES e VILAR, 2010; GILL e THOMAS, 2012).

As interações aos sulcos são baseadas em interações de van der Waals, além de ligação de hidrogênio, contatos hidrofóbicos e interações eletrostáticas, entretanto não envolvem o empilhamento do complexo entre os pares de bases. A interação a um seguimento específico do DNA é dependente da combinação destas interações. As ligações de hidrogênio adicionais podem desempenhar um papel fundamental, pois tem a capacidade de conduzir interações a uma sequência específica de bases nitrogenadas. Em alguns casos, a ligação de compostos aos sulcos do DNA apresentam maior afinidade e seletividade que complexos intercaladores (PAGES et al., 2014; SIRAJUDDIN et al., 2013; GEORGIADES e VILAR, 2010).

Os complexos que interagem aos sulcos são normalmente catiônicos e apresentam anéis aromáticos com liberdade de torção de modo que

são capazes de se tornar isohelical com os sulcos do DNA. A maioria das interações ocorrem no sulco menor do B-DNA e preferencialmente na sequência de bases mais eletronegativa, adenina-timina, pois as interações eletrostáticas e forças de van der Waals são maximizadas.

Os complexos de rutênio $[\text{Ru}(\text{Me}_4\text{-fen})_3]^{2+}$ e $[(\text{Ru}(\text{bipy})_2)_2(\text{tpphz})]^{4+}$ (tpphz= tetrapiridofenazina; $\text{Me}_4\text{-fen}$ = 3,4,7,8-tetrametil-fenantrolina) interagem eletrostaticamente com sulcos do DNA, apesar da presença de ligantes que usualmente são intercalantes (PAGES, et al., 2014; KELLY et al., 1985; MEI e BARTON, 1986). Contudo, são poucos relatados na literatura de compostos de coordenação que atuam nos sulcos do DNA.

1.9.5 Interação eletrostática pelos grupos fosfatos do DNA

A interação eletrostática envolve complexos de coordenação catiônicos e os grupos fosfatos do DNA carregados negativamente com o objetivo de minimizar as repulsões de carga-carga. A maioria dos complexos de coordenação são catiônicos, logo a interação eletrostática contribui para a afinidade de ligação complexo-DNA. No entanto, complexos que interagem com o DNA unicamente por meio de forças eletrostáticas normalmente possuem baixa afinidade de ligação. (PAGES et al., 2014; VITORINO 2011).

1.10 Planejamento dos complexos sintetizados neste trabalho

Frente ao exposto, durante a execução do presente trabalho realizou-se a síntese e a avaliação da atividade antitumoral de uma série de complexos fosfínicos de rutênio (II), com o ligante 2,2'-dipiridilamina e diferentes ligantes polipiridínicos. Além disso, o trabalho buscou o estudo de um possível alvo biológico dos complexos, por meio de ensaios de interação com o DNA.

De posse dos dados químicos e biológicos, verificou-se as correlações entre estrutura e atividade biológica dos complexos. Neste contexto, almejou-se observar alguns aspectos principais e pontuais da esfera de coordenação dos complexos e a influência dos ligantes:

(1) A variação de ligantes diimínicos e diamina alifática teve como objetivo observar a influência da estrutura de tais ligante, desde o aumento do número de anéis aromáticos, a inserção de grupos metilas nos anéis aromáticos e regiões alifáticas, nas propriedades físico-químicas e atividade biológica dos complexos.

(2) Utilizou-se o ligante 2,2-dipiridilamina para verificar a influência das ligações de hidrogênio do grupo NH na interação com biomoléculas e na atividade antitumoral dos complexos;

(3) O emprego do ligante fosfínico, trifenilfosfina, se justifica pelo fato de complexos com ligantes fosfínicos apresentarem excelentes atividades citotóxica (CORREA et al., 2015), além de proporcionar estabilidade ao complexo e regiões hidrofóbicas.

(4) A presença do ligante clorido é vantajosa devido à capacidade de ser um receptor de hidrogênio, formando interações intermoleculares adicionais, tais como $O-H\cdots Cl$, $N-H\cdots Cl$ e $C-H\cdots Cl$. Outra possibilidade é a labilização do ligante clorido da esfera de coordenação do rutênio, proporcionando um sítio vago no complexo para interações covalentes com biomoléculas.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este trabalho teve por finalidade a síntese e caracterização de complexos fosfínicos de rutênio contendo o ligante 2,2'-dipiridilamina com potenciais atividades antitumorais, e a investigação da interação dos complexos sintetizados com a biomolécula DNA. De uma maneira sistemática, este objetivo geral deve ser concretizado por meio dos seguintes objetivos específicos:

2.2 Objetivos específicos

- A Síntese de complexos de rutênio: $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ (1); $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{bipy})]\text{Cl}$ (2); $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dmbipy})]\text{Cl}$ (3); $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{fen})]\text{Cl}$ (4); $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ (5); $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{Cl}$ (6). Onde PPh_3 = trifenilfosfina; Hdpa = 2,2'-dipiridilamina; bipy = 2,2'-bipiridina; dmbipy = 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina; fen = 1,10-fenantrolina; dphfen = 4,7-difenil-1,10-fenantrolina; en = 1,2-diaminoetano (etilenodiamina).
- Caracterização dos complexos, por meio de técnicas de absorção na região do infravermelho e UV-Vis, análise elementar, condutividade, voltametria cíclica, espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H , ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ e ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ e difração de Raios X.
- Avaliação da atividade citotóxica dos complexos sintetizados frente à linhagem celular tumoral de mama (MDA-MB-231) e frente à linhagem celular não tumoral de fibroblasto de pulmão de hamster chinês (V79-4).
- Investigação da interação dos complexos com o ácido desoxirribonucléico (DNA), por meio de técnicas espectroscópicas (UV-Vis e dicroísmo circular),

ensaios de viscosidade e clivagem de DNA plasmidial, por eletroforese em gel de agarose.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Purificação da atmosfera inerte: argônio

Todas as sínteses foram realizadas em atmosfera inerte. Esta foi obtida pela passagem de fluxo de argônio por um sistema de colunas contendo: sílica gel, peneira molecular e catalisador do tipo BTS-R-3-11 (Fluka Chemika), aquecida a 60°C para o catalisador permanecer ativado. Os procedimentos descritos foram necessários para desoxigenar e secar o gás comercial de procedência da White Martins.

3.2 Solventes

Todos os solventes utilizados neste trabalho, Synth P. A. e Merck P. A., passaram por processos de purificação segundo os métodos descritos na literatura (PERRIN e ARMARENGO, 1990). Os principais solventes utilizados foram: acetona, diclorometano, éter etílico, hexano e metanol. Os solventes deuterados utilizados foram CDCl_3 , DMSO-d_6 e D_2O .

3.3 Reagentes químicos em geral

O tricloreto de rutênio hidratado ($\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) de procedência Aldrich foi utilizado como recebido. Os ligantes trifenilfosfina (PPh_3), 2,2'-dipiridilamina (Hdpa), 2,2'-bipiridina (bipy), 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina (dmbipy), 1,10-fenantrolina (fen), 4,4'-dimetilfenil-fenantrolina (dphfen) e 1,2-diaminoetano (en) são de procedência Aldrich, e foram utilizados após prévia verificação do grau de pureza por RMN de ^1H . Perclorato de tetrabutylamônio (PTBA; procedência Fluka) também foi utilizado como recebido.

3.4 Instrumentação

3.4.1 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível

Os espectros de absorção na região do ultravioleta-visível foram realizados em um espectrofotômetro HEWLETT PACKARD DIODE ARRAY-8452A. As medidas foram realizadas em cubetas de quartzo com caminho ótico de 1 cm na região compreendida entre 200 e 800 nm.

3.4.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos no espectrofotômetro Bomem modelo MB-Séries com resolução de 4 cm^{-1} , na região compreendida entre 4000 e 200 cm^{-1} . As amostras foram diluídas em KBr (Merck, P.A.) e analisadas em forma de pastilhas. Os dados foram tratados no software Win-Bomen Easy versão 3.02.

3.4.3 Experimentos eletroquímicos

Os experimentos ciclo voltamétricos foram realizados utilizando-se o equipamento da marca worksation BAS modelo 100B acoplado ao computador com o software Princeton Applied Research Modelo 262A. As medidas voltamétricas foram realizadas em um sistema de três eletrodos. O eletrodo de Ag/AgCl em solução $0,1\text{ mol L}^{-1}$ de perclorato de tetrabutilamônio (PTBA) em solvente orgânico (diclorometano) como eletrodo de referência; eletrodo de platina usado como contra-eletrodo e eletrodo de trabalho.

3.4.4

3.4.5 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos em um espectrofotômetro Bruker DRX 400 (9,4 T) do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos UFSCar. As amostras foram analisadas a temperatura ambiente. Na obtenção dos espectros de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ utilizou-se diclorometano como solvente na presença de um tubo capilar com água deuterada (D_2O), efetuando-se a determinação dos deslocamentos químicos em relação ao H_3PO_4 (85%). Os deslocamentos químicos nos espectros de ^1H e ^{13}C são reportados em relação ao solvente residual não-deuterado [^1H] δ 2.50 ppm em DMSO-d_6 ; [^{13}C] δ 39.52 ppm em DMSO-d_6].

3.4.6 Difração de Raios X

Os experimentos de difração de Raios X foram realizados no Laboratório de Cristalografia do Instituto de Física de São Carlos pelo doutorando Juan Carlos T. Clavijo sob supervisão do Prof. Dr. Javier Ellena. As reflexões de Bragg foram coletadas em um difratômetro Enraf-Nonius Kappa-CCD, usando radiação $\text{MoK}\alpha$ (0,71073 Å) monocromada por grafite. Os dados de difração coletados foram tratados utilizando-se o pacote de programas do WINGX (FARRUGIA 1999). As estruturas foram resolvidas usando os métodos diretos, com o programa SHELXS-97 (SHELDRICK 2008). Os modelos assim obtidos foram refinados (mínimos quadrados de matriz completa) em F2 usando o programa SHELXL-97 (SHELDRICK 2008). As representações gráficas das estruturas foram realizadas nos programas ORTEP-3 (FARRUGIA 1997) e Mercury 2.0 (MACRAE et al., 2008).

3.4.7 Análise elementar

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

3.4.8 Condutividade molar

As medidas de condutividade molar foram realizadas em um condutivímetro MICRONAL, modelo B-330, equipado com célula de Pt com constante igual $0,089 \text{ cm}^{-1}$. As soluções dos complexos foram preparadas em diclorometano, acetona ou água, em concentrações de 1 mmol L^{-1} .

3.5 Estudos de interação dos complexos com o DNA

O calf thymus DNA (CT-DNA) foi preparado em tampão Trisma ($0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ Tris-base, $4,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de tris HCl e 50 mmol L^{-1} NaCl, pH 7.4). A concentração da solução de ácido desoxirribonucleico (DNA) foi calculada mediante UV-Vis (260 nm ; $\epsilon = 6600 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$).

3.5.1 Titulação por espectroscopia UV-Vis

Os experimentos de titulação dos complexos com o CT-DNA foram realizados no espectrofotômetro HEWLETT PACKARD DIODE ARRAY-8452A em um sistema de duas cubetas.

Na cubeta 1, foram adicionados 2 mL da solução de complexo (concentração de aproximadamente $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) preparada em uma mistura DMSO/Tris-HCl, à 5% de DMSO. Na cubeta 2, adicionaram-se 2 mL de uma

mistura DMSO/Tris-HCl (pH 7,4), à 5% de DMSO, utilizada como a solução do branco das medidas da cubeta 1. Então, foram efetuadas 20 adições sucessivas de 15 μL de CT-DNA à 3,34 mmol L^{-1} em ambas as cubetas. A cada adição de alíquota do CT-DNA homogeneizaram-se as soluções por 45 segundos com auxílio de uma micropipeta e, em seguida, registrou-se o espectro.

A solução do branco (cubeta 2) foi utilizada com o objetivo de excluir os efeitos de absorção da radiação do CT-DNA e do solvente DMSO.

A constante de ligação intrínseca foi determinada seguindo a Equação (1) (WOLFE et al., 1987).

$$[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f) = [\text{DNA}]/(\epsilon_b - \epsilon_f) + 1/ [K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)] \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde, K_b é a constante de ligação; ϵ_f é o coeficiente de absorvidade molar do complexo; ϵ_a é o coeficiente de absorvidade molar aparente, que corresponde à razão entre a absorbância medida e a concentração do complexo ($A_{\text{obs}}/[\text{Complexo}]$). A constante de ligação é obtida através da razão entre o coeficiente angular da reta e o coeficiente linear do gráfico: $[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ vs. $[\text{DNA}]$.

3.5.2 Eletroforese em gel de agarose

Os experimentos de interação entre os complexos e o plasmídeo ptz57RT foram realizados em ChemiDoc MP. Inicialmente foram preparadas soluções de 10 μL de plasmídeo ptz57RT (42,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e complexo em tampão Tris-HCl (5% DMSO), em diferentes relações molares, $[\text{Complexo}]/[\text{ptz57RT}] = 0,5; 1,0; 2;0$. As soluções foram incubadas a 37 °C durante 18 h. Posteriormente 5 μL de cada amostra foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1% ,utilizando o tampão tris-acetato-EDTA

(TAE), durante 90 min. à 100 V. O gel foi revelado com brometo de etídio sob luz ultravioleta.

3.5.3 Dicroísmo circular

Os experimentos de interação dos complexos com o CT-DNA foram realizados em um espectropolarímetro JASCO J-720. As medidas foram realizadas na região entre 240 e 350 nm, empregando uma cubeta de quartzo com caminho ótico de 1 cm.

Inicialmente foram preparadas soluções de 2 mL de CT-DNA ($100 \mu\text{mol L}^{-1}$) e complexo em tampão Tris-HCl (5% DMSO), em diferentes relações molares, $[\text{Complexo}]/[\text{CT-DNA}] = 0,1; 0,2; 0,4; 0,6$. As soluções foram incubadas a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 18 h. Posteriormente, os espectros de dicroísmo circular das soluções foram registrados no espectropolarímetro.

3.5.4 Medidas de viscosidade

Os experimentos de interação complexo-DNA por medidas de viscosidade foram realizados em um viscosímetro de Ostwald, procedente da Aldrich. O viscosímetro foi acoplado a um banho termostático, permitindo assim o controle da temperatura em $(25,0 \pm 0,1) \text{ }^\circ\text{C}$. Preparou-se 10 soluções, conforme descrito na Tabela 3.1, com diferentes relações molares complexo e CT-DNA. A porcentagem de DMSO nestas soluções foi de 6%. O tempo de escoamento de cada solução no viscosímetro de Ostwald foi aferido com o auxílio de um cronômetro digital.

TABELA 3.1 - Volumes dos reagentes utilizados na preparação das soluções com diferentes relações molares complexo e CT-DNA.

r_i .*	Volume (μL)			
	Solução de complexo **	Solução de DNA ***	DMSO	Tampão Tris-HCl
0	0	400	270	3330
0,08	30	400	240	3330
0,17	60	400	210	3330
0,25	90	400	180	3330
0,33	120	400	150	3330
0,43	150	400	120	3330
0,50	180	400	90	3330
0,58	210	400	60	3330
0,67	240	400	30	3330
0,75	270	400	0	3330

* r_i = Relações molares complexo e CT-DNA./ ** Solução padrão de complexo à 1 mmol L^{-1} em DMSO./ *** Solução padrão de CT-DNA à $0,98 \text{ mmol L}^{-1}$.

A viscosidade relativa das soluções de DNA na presença e ausência dos complexos foi calculada a partir da Equação (2):

$$\eta/\eta_0 = (t - t_0)/(t_{DNA} - t_0) \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde t_0 é o tempo de escoamento da solução na ausência de complexo e DNA; t_{DNA} é o tempo de escoamento da solução de CT-DNA; t é o tempo de escoamento da mistura complexo e CT-DNA. Os dados foram apresentados como $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ vs. [complexo]/[CT-DNA], onde η é a viscosidade

da solução de DNA na presença dos complexos e η_0 é a viscosidade da solução de DNA na ausência de complexo.

3.6 Testes biológicos - avaliação *in vitro* da citotoxicidade e toxicidade

Os experimentos de citotoxicidade foram realizados pela doutoranda Legna Colina Vegas, no laboratório de Biologia do Envelhecimento do Departamento de Gerontologia da UFSCar. Os compostos analisados foram avaliados, *in vitro*, pela capacidade de inibir o crescimento, *in vitro*, de células tumorais usando linhagem de célula tumoral humana, a MDA-MB-231 (câncer de mama) e contra linhagem não tumoral V79-4 (células de fibroblasto de pulmão de hamster chinês).

Antes das células poderem ser usadas existe uma série de procedimentos e materiais necessários que serão descritos a seguir.

As células, MDA-MB-231 e V79-4, foram mantidas em vials congelados em nitrogênio líquido; a partir deles, as células foram obtidas (descongeladas a 37 °C por cerca de 90 s) e subculturadas serialmente para posterior uso nos experimentos.

As células MDA-MB-231 e V79-4 foram cultivadas como cultura de monocamada aderente em meio DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), suplementado com soro fetal bovino (SFB) 10%. As culturas foram mantidas a 37 °C em uma atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂. Durante o crescimento das células o meio de cultura foi trocado a cada 2-3 dias para o melhor desenvolvimento destas.

O crescimento das células foi acompanhado dia a dia com o auxílio de um microscópio. Quando as células atingiram uma confluência de 80 – 90 %, realizava-se a contagem e devido à aderência fez-se um procedimento conhecido por tripsinização.

A contagem das células foi feita ajustando o volume para que cada 200 μL contivesse a quantidade desejada de células ($1,5 \times 10^4$ células). Após a aplicação das células em placa para microcultura de 96 poços (estéril) com densidade de $1,5 \times 10^4$ células por poço (em 200 μL) armazenou-se a placa em estufa ($37\text{ }^\circ\text{C}$ / 5% CO_2) por 24 horas para que ocorresse a adesão celular. Finalmente os compostos, em diferentes concentrações, foram adicionados em triplicata, sendo o tempo de incubação de 48 h.

Os compostos foram avaliados usando o ensaio com MTT (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)2,5-Difenil Brometo de Tetrazolium - MOSMAN, 1983), que consiste em uma determinação colorimétrica de viabilidade celular durante tratamento *in vitro* com a droga. Este ensaio colorimétrico de microcultura, desenvolvido como um estágio inicial para o “sreening” de drogas, mensura a quantidade de MTT reduzido pela desidrogenase mitocondrial e assume que a viabilidade celular (correspondente à atividade redutiva) é proporcional à produção de cristais de formazan (violeta) que, após solubilizado, é medido espectrofotometricamente. A densidade óptica (absorbância dos poços) foi medida em um leitor de microplacas a 540 nm. Para verificar o efeito do solvente DMSO, controles adicionais receberam 1% deste solvente.

Foram preparadas 8 concentrações de cada complexo (20 mmol L^{-1} à $0,48\text{ mmol L}^{-1}$) utilizando-se DMSO para solubilizar os mesmos. Considerando que a concentração final de DMSO junto às células não deve ultrapassar 1 % e que o volume de meio de cultura em cada poço é 200 μL , tomou-se uma alíquota de 1 μL (0,5 %) de cada concentração de complexo e adicionou-se ao poço. Desta maneira as concentrações finais dos complexos foram $100\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ a $0,048\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. As soluções dos compostos foram preparadas no fluxo laminar utilizando-se materiais estéreis (DMSO e frascos de armazenagem).

3.7 Sínteses dos precursores de rutênio

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

O complexo $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$ foi sintetizado conforme descrito por Wilkinson e Stephenson (1966). O sal $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (0,50 g; 1,75 mmol) foi solubilizado em metanol (100 mL), e a solução refluxada por 15 minutos. Em seguida, adicionou-se o ligante trifenilfosfina (PPh_3) (2,875 g, 10,85 mmol), e a mistura reacional foi refluxada por 3 horas. O precipitado marrom escuro formado foi filtrado em um funil de placa porosa, lavado com metanol e seco sob vácuo. Rendimento 95%.

3.7.2 Síntese dos complexos do tipo *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{N-N})]$, onde n-n é 2,2'-bipiridina (bipy), 4,4-dimetil-2,2'-bipiridina (dmbipy), 1,10-fenantrolina (fen) e 2,7-difenil-1,10-fenantrolina (dphfen)

O complexo *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})]$ foi sintetizado seguindo o procedimento descrito por Batista et al. (2001). O complexo $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$ (150 mg; 0,156 mmol) foi dissolvido em 10 mL de diclorometano desaerado e, em seguida, adicionou-se o ligante 2,2'-bipiridina (30 mg; 0,188 mmol). A mistura reacional permaneceu em agitação constante por 30 minutos, sob atmosfera de argônio. Posteriormente, o volume da solução foi reduzido para 2 mL e adicionados 10 mL de éter etílico formando um precipitado marrom claro. O precipitado foi filtrado, lavado com éter etílico (5 x 5 mL) e seco sob vácuo. Rendimento 96%.

Os complexos *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{dmbipy})]$ (rendimento 92%), *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{fen})]$ (rendimento 89%) e *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{dphfen})]$ (rendimento 89%) foram sintetizados utilizando o mesmo procedimento descrito

anteriormente para o complexo *cis*-[RuCl₂(PPh₃)₂(bipy)] (BATISTA et al., 2001; DE ARAUJO et al., 2005).

3.7.3 Síntese do complexo *cis*-[RuCl₂(PPh₃)₂(en)]

O complexo *cis*-[RuCl₂(PPh₃)₂(en)] foi sintetizado seguindo o procedimento descrito por KONING et. al. (2006). O complexo [RuCl₂(PPh₃)₃] (150 mg; 0,156 mmol) foi dissolvido em 10 mL de diclorometano e, em seguida, adicionou-se o ligante etilenodiamina (19 µL; 0,343 mmol). A solução resultante permaneceu em agitação por 12 h sob atmosfera de argônio. Posteriormente, o volume foi reduzido para 2 mL e adicionados 10 mL de uma mistura éter etílico/hexano (1:5) formando um precipitado amarelo claro que foi filtrado, lavado com éter etílico/hexano (5 x 5 mL) e seco sob vácuo. Rendimento 82%.

3.8 Síntese dos complexos do tipo *cis*-[RuCl(PPh₃)(Hdpa)(N-N)]Cl, onde N-N = Hdpa, bipy, dmbipy, fen, dphfen, en

3.8.1 Síntese do complexo [RuCl(PPh₃)(Hdpa)₂]Cl (1)

O complexo [RuCl(PPh₃)(Hdpa)₂]Cl foi sintetizado pelo seguinte procedimento: O precursor [RuCl₂(PPh₃)₃] (100 mg; 0,104 mmol) foi dissolvido em 10 mL de diclorometano desaerado e, em seguida, adicionou-se o ligante 2,2'-dipiridilamina (40 mg; 0,229 mmol). A solução permaneceu em agitação por 6 h sob atmosfera de argônio. Reduziu-se o volume para aproximadamente 3 mL e foram adicionados 15 mL de éter etílico. O precipitado alaranjado formado foi recolhido por filtração em um funil de placa porosa, lavado com éter etílico (5 x 5 mL) para a retirada de excesso de fosfina livre e seco sob vácuo.

Dados: Cor: alaranjado. Rendimento 77%. ^1H RMN (DMSO- d_6): δ ppm (multiplicidade, integração, atribuição, J/Hz, variação do deslocamento químico após a coordenação ($\Delta\delta$), $\delta_{\text{complexo}} - \delta_{\text{ligante livre}}$): 11,09 (s; 1H; NH; 1,46), 10,51 (s; 1H; NH; -; 0,85), 8,70 (d; 1H; H6'; $J = 5,52$; 0,49), 7,82 (d; 1H; H10'; $J = 4,76$; -0,39), 7,68 (p; 2H; H8'' e H12'), 7,61 - 7,54 (m; 2H; H10'' e H12''), 7,38 (t; 1H; H8'; $J = 7,29$; -0,25), 7,32 - 7,19 (m; 5H; H9'', H13' e H3), 7,18 - 7,11 (m; 2H; H6'' e H13'), 7,09 - 6,94 (m; 12H; H2 e H1), 6,73 (d; 1H; H9'; $J = 8,08$; -1,01), 6,64 (t; 1H; H7''; $J = 6,30$; -0,21), 6,56 (t; 1H; H7'; $J = 6,40$; -0,26), 6,49 (t; 1H; H11''; $J = 6,29$; -0,36), 6,38 (t; 1H; H11'; $J = 6,25$; -0,47).

^{13}C { ^1H } RMN (DMSO- d_6): δ ppm (multiplicidade, atribuição): 157,95 (s; C6'), 148,60 (s; C6''), 117,75 (s; C7'), 118,57 (s; C7''), 138,46 (s; C8'), 138,87 (s; C8''), 126,47 (s; C9'), 7,169 (s; C9''), 154,50 (dd; C10' e C10''); 115,51 (s; C11'), 113,50 (s; C11''), 136,42 (d; C12' e C12''), 123,86 (d; C13' e C13''), 133,58 (d; C1), 128,70 (d; C2), 130,34 (s; C3).

3.8.2 Síntese do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{bipy})]\text{Cl}$ (2)

O complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{bipy})]\text{Cl}$ foi sintetizado pelo seguinte procedimento: O precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})]$ (100 mg; 0,117 mmol) foi dissolvido em 20 mL de uma mistura de solventes diclorometano/metanol (2:1) e, posteriormente, adicionou-se o ligante 2,2'-dipiridilamina (20 mg; 0,117 mmol). A solução resultante permaneceu em refluxo por 72 h sob atmosfera de argônio. O volume da solução foi reduzido à secura e, em seguida, adicionou-se aproximadamente 1 mL de diclorometano. Adicionaram-se 15 mL de uma mistura de solventes éter etílico/hexano (1:5) para a precipitação do complexo. O precipitado vermelho foi filtrado, lavado com éter etílico/hexano (1:5) e seco sob vácuo.

Dados: Cor: vermelho. Rendimento 79%. ^1H RMN (DMSO- d_6): δ (multiplicidade, integração, atribuição, J/Hz, variação do deslocamento químico após a coordenação ($\Delta\delta$), $\delta_{\text{complexo}} - \delta_{\text{ligante livre}}$): 11,05 (s; 1H; NH; 1,42), 9,45 (d; 1H; H10'; $J = 5,52$; 0,86), 8,55 (d; 1H; H10''; $J = 5,52$; -0,03), 8,28 (d; 1H; H13'; $J = 8,04$; -0,22), 8,19 (m; 2H; H13'' e 6''), 7,91 (t; 1H; H12'; $J = 7,68$; 0,26), 7,80 (m; 2H; H8'' e H12''), 7,59 – 7,51 (m; 2H; H8' e 9''), 7,43 (t; 1H; H11'; $J = 6,51$; 0,30), 7,32 – 7,27 (m; 6H; H1 e H11''), 7,16 (m, 7H, H2, H6'', H9''), 6,97 (m, 5H, H3, $J = 8,56$), 6,65 (t; 1H; H7''; $J = 6,52$; -0,20), 6,57 (t; 1H; H7'; $J = 6,48$; -0,27).

^{13}C { ^1H } RMN (DMSO- d_6): δ ppm (multiplicidade, atribuição): 157,95 (s; C6'), 148,60 (s; C6''), 117,75 (s; C7'), 118,57 (s; C7''), 138,46 (s; C8'), 138,87 (s; C8''), 115,51 (s; C9'), 113,50 (s; C9''), 154,50 (dd; C10' e C10''); 126,47 (s; C11'), 125,46 (s; C11''), 136,42 (d; C12' e C12''), 123,86 (d; C13' e C13''), 133,58 (d; C1), 128,70 (d; C2), 130,34 (s; C3).

3.8.3 Síntese do complexo [RuCl(PPh₃)(Hdpa)(dmbipy)]Cl (3)

O complexo [RuCl(Hdpa)(PPh₃)(dmbipy)]Cl foi sintetizado utilizando o procedimento descrito anteriormente para o complexo [RuCl(Hdpa)(PPh₃)(bipy)]Cl.

Dados para o complexo [RuCl(Hdpa)(PPh₃)(dmbipy)]Cl: Cor: alaranjado. Rendimento 92%. ^1H RMN (DMSO- d_6): δ (multiplicidade, integração, atribuição, J/Hz, variação do deslocamento químico após a coordenação ($\Delta\delta$), $\delta_{\text{complexo}} - \delta_{\text{ligante livre}}$): 11,14 (s; 1H; NH; 1,51), 8,91 (s; 1H; H10'), 8,32 (d; 1H, H6'; $J = 5,64$; 0,10), 8,20 (t; 2H; H13' e H13''; $J = 9,27$), 8,00 (s; 1H; H10''), 7,86 (t; 1H, H8''; $J = 7,58$; 0,22), 7,68 (t; 2H; H12' e H12''), 7,61 – 7,49 (m; 2H, H8' e H9''), 7,33 (t; 3H; H3; $J = 7,18$), 7,23 – 7,10 (m; 7H, H2 e H9'), 7,04 – 6,90 (m; 7H, H1 e H6'), 6,64 (p; 2H, H7' e H7''; -0,22), 2,12 (s; 3H; CH3''), 2,08 (s; 3H; CH3').

^{13}C { ^1H } RMN (DMSO- d_6): δ ppm (multiplicidade, atribuição): 157,23 (s; C6'), 148,59 (s; C6''), 117,86 (s; C7'), 118,40 (s; C7''), 138,61 (s; C8'), 139,00 (s; C8''), 115,59 (s; C9'), 113,73 (s; C9''), 154,18 (d; C10' e C10''); 18,09 (s; CH3'), 18,51 (s; CH3''), 136,87 (d; C12' e C12''), 122,64 (d; C13' e C13''), 133,41 (d; C1), 128,35 (d; C2), 129,96 (s; C3).

3.8.4 Síntese do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{fen})]\text{Cl}$ (4)

O complexo $[\text{RuCl}(\text{Hdpa})(\text{PPh}_3)(\text{fen})]\text{Cl}$ foi sintetizado empregando o procedimento descrito anteriormente para o complexo $[\text{RuCl}(\text{Hdpa})(\text{PPh}_3)(\text{bipy})]\text{Cl}$.

Dados para o complexo $[\text{RuCl}(\text{Hdpa})(\text{PPh}_3)(\text{fen})]\text{Cl}$: Cor: vermelho. Rendimento 84%. ^1H RMN (DMSO- d_6): δ (multiplicidade, integração, atribuição, J/Hz, variação do deslocamento químico após a coordenação ($\Delta\delta$), $\delta_{\text{complexo}} - \delta_{\text{ligante livre}}$): 10,89 (s; 1H; NH; 1,26), 9,84 (d; 1H; H10'; $J = 5,28; 0,59$), 9,11 (d; 1H; H10''; $J = 5,28; -0,14$), 8,51 (d; 1H; H12'; $J = 8,19; -0,05$), 8,40 (d; 1H; H12''; $J = 8,19, -0,17$), 8,22 (d; 1H; H6'; $J = 5,85; 0,01$), 8,01 (dd; 2H; H13' e H13''; $J = 8,86/14,76; -0,04$), 7,89 – 7,80 (m; 2H; H8' e H11'; $J = 5,85; 0,01$), 7,70 (t; 1H; H11''; $J = 5,68; -0,16$), 7,53 (d; 1H; H9'; $J = 8,14; -0,20$), 7,43 (t; 1H; H8''; $J = 7,65; -0,21$), 7,23 – 7,15 (m; 4H; H3 e H6''; -1,01), 7,02 (m; 7H; H2 e H9''), 6,83 (t; 6H; H1), 6,61 (t; 1H; H7'; $J = 6,50; -0,24$), 6,47 (t; 1H; H7''; $J = 6,50; -0,37$).

^{13}C {H} RMN (DMSO- d_6): δ ppm (multiplicidade, atribuição,): 157,96 (s; C6'), 148,72 (s; C6''), 117,89 (s; C7'), 118,42 (s; C7''), 138,59 (s; C8'), 138,98 (s; C8''), 115,38 (s; C9'), 113,42 (s; C9''), 155,06 (d; C10'), 156,51 (d; C10''), 125,65 (d; C11'), 124,61 (d; C11''), 135,42 (d; C12'), 125,69 (d; C12''), 127,60 (d; C13' e C13''), 133,18 (d; C1), 128,04 (d; C2), 129,95 (s; C3).

3.8.5 Síntese do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ (5)

O complexo $[\text{RuCl}(\text{Hdpa})(\text{PPh}_3)(\text{dphfen})]\text{Cl}$ foi sintetizado utilizando o procedimento descrito anteriormente para o complexo $[\text{RuCl}(\text{Hdpa})(\text{PPh}_3)(\text{bipy})]\text{Cl}$.

Dados para o complexo $[\text{RuCl}(\text{Hdpa})(\text{PPh}_3)(\text{dphfen})]$: Cor: vermelho intenso. Rendimento 89%. ^1H RMN (DMSO-d_6): δ (multiplicidade, integração, atribuição, J/Hz, variação do deslocamento químico após a coordenação ($\Delta\delta$), $\delta_{\text{complexo}} - \delta_{\text{ligante livre}}$): 11,03 (s; 1H; NH; 1,40), 9,93 (d; 1H; H10'; $J = 5,54$), 9,15 (d; 1H; H10''; $J = 5,54$), 8,22 (d; 1H; H6'; $J = 5,54$; 0,01), 7,93 – 7,82 (m; 4H; H8', H13', H13'', H11'), 7,72 – 7,48 (m; 13H; H11'', H14', H14'', H9', H8''), 7,30 – 7,21 (m; 4H; H3 e H6''), 7,19 (d; 1H; H9''; $J = 8,20$; -0,55), 7,06 (t; 6H; H2; $J = 7,07$), 6,89 (t; 6H; H1; $J = 8,53$), 6,62 (p; 2H; H7' e H7''; -0,23).

^{13}C $\{^1\text{H}\}$ RMN (DMSO-d_6): δ ppm (multiplicidade, atribuição): 157,98 (s; C6'), 148,89 (s; C6''), 118,06 (s; C7'), 118,71 (s; C7''), 138,47 (s; C8'), 139,00 (s; C8''), 115,42 (s; C9'), 113,97 (s; C9''), 154,96 (d; C10'), 155,61 (d; C10''), 125,70 (d; C11'), 125,17 (d; C11''), 129,86 (d; C12' e C12''), 125,80 (d; C13' e C13''), 133,45 (d; C1), 128,03 (d; C2), 129,90 (s; C3).

3.8.6 Síntese do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{Cl}$ (6)

O complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{Cl}$ foi sintetizado adicionando-se o ligante Hdpa (25 mg; 0,289 mmol) à uma solução do precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{en})]$ (100 mg; 0,134 mmol) em diclorometano (20 mL). A solução foi mantida por 72 horas sob agitação constante em atmosfera de argônio. Posteriormente reduziu-se o volume da solução para aproximadamente 2 mL e adicionaram-se 15 mL de acetona. O precipitado amarelo formado foi filtrado, lavado com acetona e seco sob vácuo. Rendimento 75%.

Dados: Cor: amarelo. Rendimento 71%. ^1H RMN (DMSO-d_6): δ (multiplicidade, integração, atribuição, J/Hz, variação do deslocamento

químico após a coordenação ($\Delta\delta$), $\delta_{\text{complexo}} - \delta_{\text{ligante livre}}$): Hdpa (1): 10,15 (s; 1H; NH; 0,51), 8,86 (d; 1H; H6'; $J = 6,18$; 0,65), 7,68 (d; 1H; H6''; $J = 5,75$; -0,53), 7,51 (t; 1H; H8'; $J = 7,76$; -0,12), 7,33 – 7,15 (m; 16H; H1, H2, H3, H8''; $J = 6,55$; -0,39), 6,98 (d; 1H; H9'; $J = 8,27$; -0,76), 6,68 (d; 1H; H9''; $J = 8,23$; -1,06), 6,46 (t; 1H; H7'; $J = 6,55$; -0,39), 6,30 (t; 1H; H7''; $J = 6,41$; -0,54), 4,85 [m; 1H; H10' (NH₂)], 4,66 [m; 1H; H10'' (NH₂)], 4,40 [(m; 1H; H13' (NH₂)], 3,17 [m; 1H; H13'' (NH₂)], 3,03 [m; 1H; H11' (CH₂)], 2,85 [m; 1H; H12' (CH₂)], 2,70 [m; 1H; H11'' (CH₂)], 2,25 [m; 1H; H12'' (CH₂)].

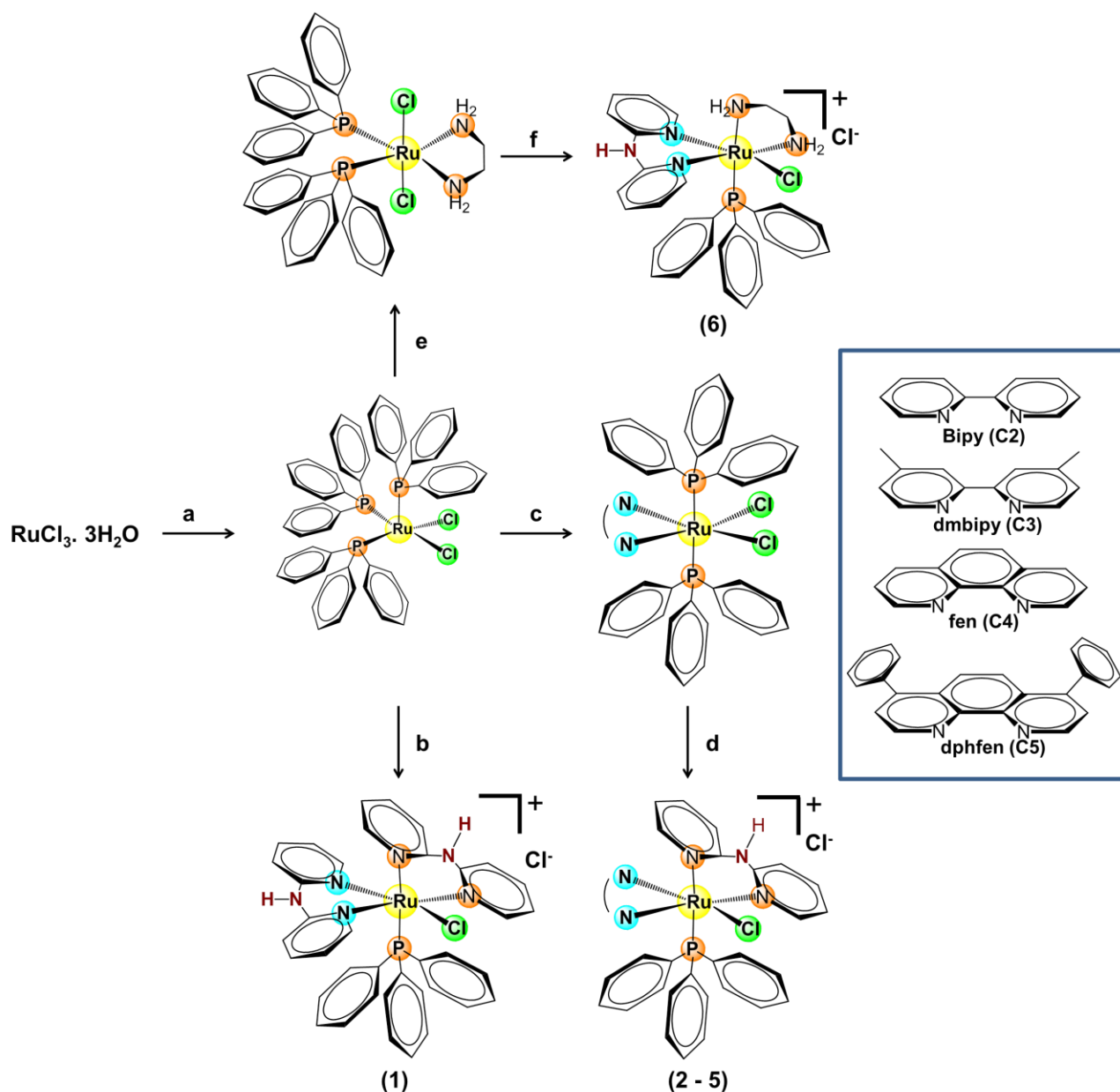
¹³C RMN (DMSO-d₆): δ ppm (multiplicidade, atribuição): 155,65 (s; C6'), 154,46 (s; C6''), 116,18 (s; C7'), 116,92 (s; C7''), 136,88 (s; C8'), 135,69 (s; C8''), 112,20 (s; C9'), 113,82 (s; C9''), 42,43 (s; C11' e C11''); 45,75 (s; C12' e C12''), 133,49 (d; C1), 128,00 (d; C2), 129,00 (s; C3).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese dos complexos de fórmula geral $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{N-N})]\text{Cl}$ (onde N-N = Hdpa, bipy, dmbipy, fen, dphfen e en)

Os complexos de fórmula geral $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{N-N})]\text{Cl}$ (onde N-N = Hdpa, bipy, dmbipy, fen, dphfen e en) foram sintetizados partindo-se dos precursores de fórmula geral *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{N-N})]$ e $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$. Os compostos foram caracterizados por diversas técnicas, tais como: RMN de 1D (^1H , ^{13}C { ^1H }, ^{31}P { ^1H }) e 2D (^1H — ^1H COSY, ^1H — ^{13}C HSQC), espectroscopia de absorção na região IV e do UV-Vis, técnicas voltamétricas, análise elementar (CHN), condutividade molar e Raios X.

O complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ (**1**) foi obtido a partir da reação entre o precursor $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$ e o ligante 2,2'-dipiridilamina (Hdpa) como ilustrado no Esquema 4.1. Os complexos monocatiônicos $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{bipy})]\text{Cl}$ (**2**), $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dmbipy})]\text{Cl}$ (**3**), $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{fen})]\text{Cl}$ (**4**), $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ (**5**) e $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{Cl}$ (**6**) foram obtidos a partir da reação entre os respectivos precursores *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{N-N})]$ com o ligante Hdpa, como mostrado no Esquema 4.1.



ESQUEMA 4.1 - Rota sintética dos complexos 1 – 6. Reagentes e condições: (a) trifenilfosfina (PPh_3), metanol, refluxo (3 h); (b) diclorometano, agitação (6 h); (c) ligante diiminas (NN), diclorometano, agitação (0.5 h); (d) ligante 2,2'-dipiridilamina (Hdpa), diclorometano/metanol (2/1), refluxo (72 h); (e) ligante etilenodiamina (en), diclorometano, agitação (12 h); (f) ligante 2,2'-dipiridilamina (Hdpa), diclorometano/metanol (2/1), agitação (72 h).

Trabalhos publicados anteriormente pelo grupo de pesquisa LERCI (BATISTA et al., 2001; SANTIAGO et al., 2005; DOS SANTOS et al., 2011; DE ARAUJO et al., 2005) mostraram que reações entre o precursor

[RuCl₂(PPh₃)₃] e diiminas, tais como bipyridina e fenantrolina, se processam com a labilização de apenas uma trifenilfosfina e a coordenação de um ligante diimina, proporcionando complexos neutros de fórmula geral *cis*-[RuCl₂(PPh₃)₂(N-N)]. Entretanto, observou-se um comportamento diferente da reação entre o precursor [RuCl₂(PPh₃)₃] e o ligante 2,2'-dipiridilamina, devido à formação de um complexo monocatiônico com dois ligantes Hdpa coordenado ao centro metálico. Este comportamento atípico pode ser justificado pela não planaridade dos anéis piridínicos do ligante Hdpa e pela formação de um quelato com anel de seis membros (PAUL et al., 1993; TU et al., 2004).

A variação dos ligantes diiminas e diamina alifática tem a expectativa de buscar variações nas propriedades físico-químicas dos complexos, as quais podem interferir nas atividades citotóxicas e nas interações dos complexos com a biomolécula DNA.

Contrariamente ao observado para a maioria dos complexos fosfínicos de rutênio, o complexo (6) é bem solúvel em água, enquanto os compostos (1) e (2) são pouco solúveis (aproximadamente 1 mg mL⁻¹). Essa característica incomum para os complexos fosfínicos de rutênio pode ser atribuída às ligações de hidrogênio entre os hidrogênios do grupo NH do ligante Hdpa e moléculas de água (RILAK et al., 2014).

As medidas de condutividade molar dos compostos (Tabela 4.1) foram realizadas em DMSO. Os resultados indicam a presença de eletrólito 1:1 (VELHO 2006), sugerindo a formação de complexos iônicos, no caso monocatiônicos. As precipitações foram realizadas sem a adição de um sal de PF₆⁻, com o intuito de empregar o íon cloreto, dissociado da esfera de coordenação do composto precursor, como o contraíon. Vale ressaltar que os complexos com o íon cloreto como contraíon são mais solúveis em água, comparados com os análogos empregando o íon hexafluorofosfato (RILAK et al., 2014).

TABELA 4.1 - Valores de condutividade molar ($\text{ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$) para os complexos (1) – (6) em DMSO.

Composto	Condutividade ($\text{ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$)*	
	Composto	Branco
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa) ₂]Cl (1)	29,2	(0,56)
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(bipy)]Cl (2)	35,4	(0,58)
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(dmbipy)]Cl (3)	28,1	(0,60)
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(fen)]Cl (4)	32,8	(0,59)
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(dphfen)]Cl (5)	34,3	(0,53)
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(en)]Cl (6)	33,7	(0,54)

*Concentração dos complexos 1 mmol L^{-1} ; Faixa para eletrólito 1:1 em DMSO $20 - 62 \text{ ohm}^{-1} \text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$.

A fim de avaliar a composição dos complexos sintetizados foi realizada a análise elementar dos teores de carbono, nitrogênio e hidrogênio. Os resultados experimentais (Tabela 4.2) estão de acordo com os teóricos, conseqüentemente as composições químicas são consistentes com as estruturas propostas. A maioria dos complexos apresentam moléculas de solventes em suas fórmulas, as quais foram confirmadas nas estruturas cristalográficas e por ressonância magnética nuclear de hidrogênio.

TABELA 4.2 - Dados percentuais dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio, teóricos e experimentais, dos complexos sintetizados.

Composto	%N	%C	%H
	Exp.	Exp.	Exp.
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa) ₂]Cl.0,3.CH ₂ Cl ₂	10,21 (10,44)	57,19 (57,20)	3,81 (4,19)
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(bipy)]Cl.0,2.CH ₂ Cl ₂	8,81 (8,95)	58,77 (58,68)	4,16 (4,16)
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(dmbipy)]Cl	8,86 (8,87)	61,05 (60,84)	4,34 (4,59)
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(fen)]Cl. 0,4.CH ₂ Cl ₂	8,24 (8,54)	59,09 (59,20)	4,04 (4,03)
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(dphfen)]Cl	7,49 (7,30)	65,33 (65,43)	3,93 (4,26)
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(en)]Cl.0,1.CH ₂ Cl ₂	10,21(10,37)	53,69 (53,72)	5,19 (4,81)

*Valores teóricos estão entre parênteses.

4.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

4.2.1 Espectroscopia de RMN de ³¹P{¹H}

A ressonância magnética nuclear de fósforo é uma importante ferramenta para acompanhar reações e na elucidação da estereoquímica de complexos. O acompanhamento reacional por RMN ³¹P {¹H} é realizado com base nas mudanças dos deslocamentos químicos dos complexos precursores, em comparação aos dos produtos formados após a coordenação do ligante.

Os precursores *cis*-[RuCl₂(PPh₃)₂(N-N)] (N-N = bipy, dmbipy, fen, dphfen) apresentam um simpleto no espectro de RMN de ³¹P {¹H} na faixa de 20 – 25 ppm (BATISTA et al., 2001; SANTIAGO et al., 2005; DOS SANTOS et al., 2011; DE ARAUJO et al., 2005), tal fato deve-se aos átomos de fósforos dos ligantes PPh₃ serem iguais magneticamente, pois estão em posição *trans* um em relação ao outro, em um sistema de acoplamento de spin A₂. Em termos reacionais esses precursores apresentam dois ligantes cloridos em suas esferas de coordenação que podem ser substituídos por ligantes monodentados ou bidentado, principalmente ligantes aniônicos, como realizado frequentemente no

laboratório LERCI (CORREA et al., 2015;). Outra possibilidade é a substituição das monofosfinas por diferentes fosfinas, tais como trietilfosfina e 1,2-bis(dicicloexilfosfina)etano (DE ARAUJO et al., 2005).

Os espectros de RMN de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ dos complexos (1) – (6) em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ estão ilustrados na Figura 4.1. Na Tabela 4.3 estão apresentados os valores dos deslocamentos químicos (δ) dos átomos de fósforo dos complexos.

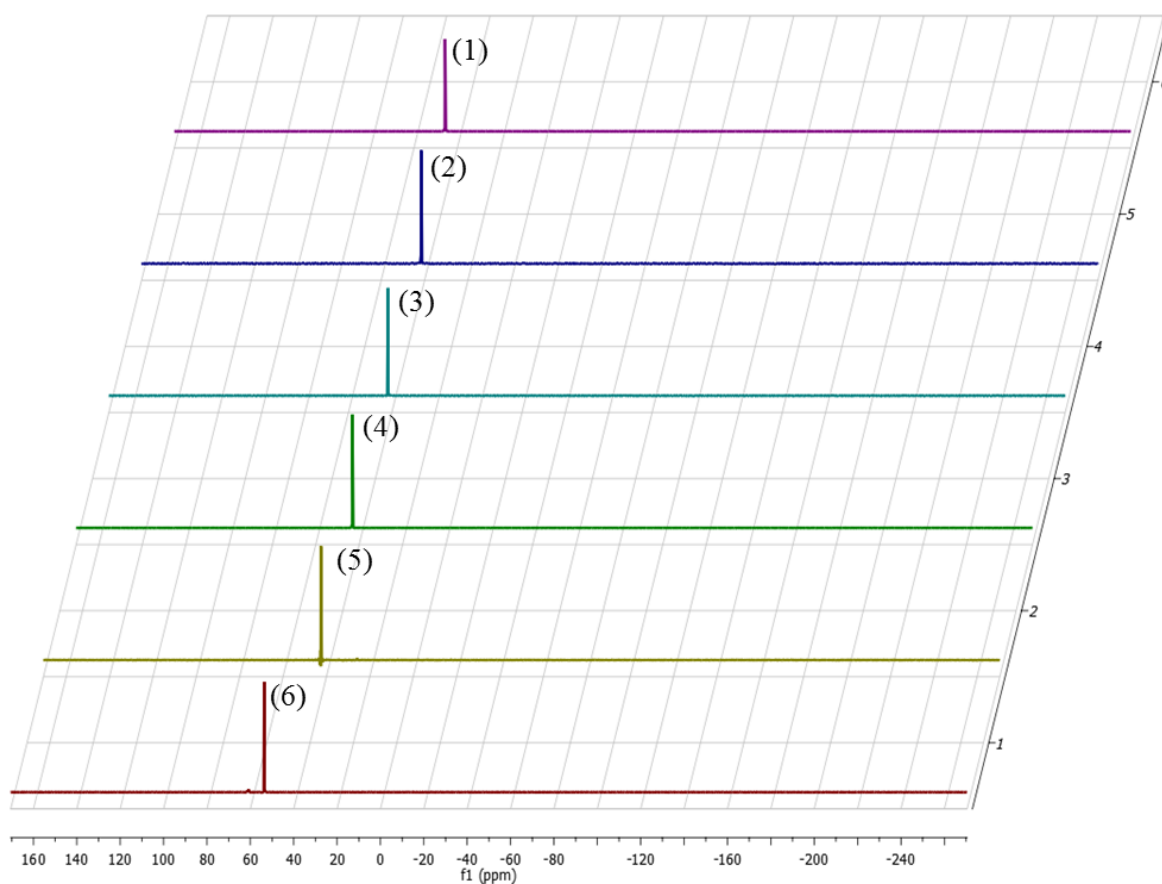


FIGURA 4.1 - Espectros de RMN de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ dos complexos (1) – (6) em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$.

TABELA 4.3 - Dados de RMN de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ dos complexos (1) – (6) em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$.

Complexo	δ (ppm)
$[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ (1)	44,1
$[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{bipy})]\text{Cl}$ (2)	41,5
$[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dmbipy})]\text{Cl}$ (3)	41,7
$[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{fen})]\text{Cl}$ (4)	43,1
$[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ (5)	42,5
$[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{Cl}$ (6)	53,9

A reação entre o precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})]$ e o ligante 2,2'-dipiridilamina foi acompanhada por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$. No decorrer da reação observou-se o surgimento de um novo sinal em campo baixo referente ao complexo formado e o aparecimento de um simpleto em -5 ppm, atribuído ao fósforo da trifenilfosfina livre em solução, sugerindo apenas um ligante trifenilfosfina na esfera de coordenação do complexo formado. Comportamentos similares foram observados para as reações dos demais precursores *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{NN})]$ e o ligante Hdpa.

Os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos (1) – (5) em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ apresentam um simpleto em região de maior frequência em relação aos respectivos precursores. Os deslocamentos químicos em torno de 42 ppm indicam que o átomo de fósforo está em posição *trans* a nitrogênio piridínico e que os compostos apresentam a mesma estereoquímica, sendo possível afirmar que o ligante trifenilfosfina está *trans* ao nitrogênio do ligante Hdpa. De acordo com QUEIROZ et. al. (2005), composto com o átomo de fósforo *trans* ao átomo de nitrogênio piridínico apresenta deslocamento químico no espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ na região de 40 ppm.

O complexo (6) também exibe um simpleto em 53,9 ppm, com deslocamento químico em campo mais baixo em relação aos complexos (1) – (5), indicando que o átomo de fósforo do ligante PPh₃ encontra-se mais desblindado em relação aos complexos (1) – (5). No complexo (6), o átomo de fósforo esta em posição *trans* ao átomo de nitrogênio da diamina alifática.

4.2.2 Espectroscopia de RMN de ¹H

A espectroscopia de RMN de hidrogênio foi uma importante ferramenta na elucidação das estruturas dos complexos. Os espectros de RMN de ¹H e COSY ¹H-¹H do complexo [RuCl(PPh₃)(Hdpa)₂]Cl estão ilustrados nas Figuras 4.2 e 4.3, respectivamente. Os espectros de RMN de ¹H e COSY ¹H-¹H dos complexos (2) - (6) estão mostrados no Apêndice A.

Os valores dos deslocamentos químicos referentes aos hidrogênios dos complexos (1) – (6) estão descritos na seção 3.1. As atribuições dos sinais foram realizadas por correlação dos espectros de COSY ¹H-¹H, proporcionando uma atribuição acurada.

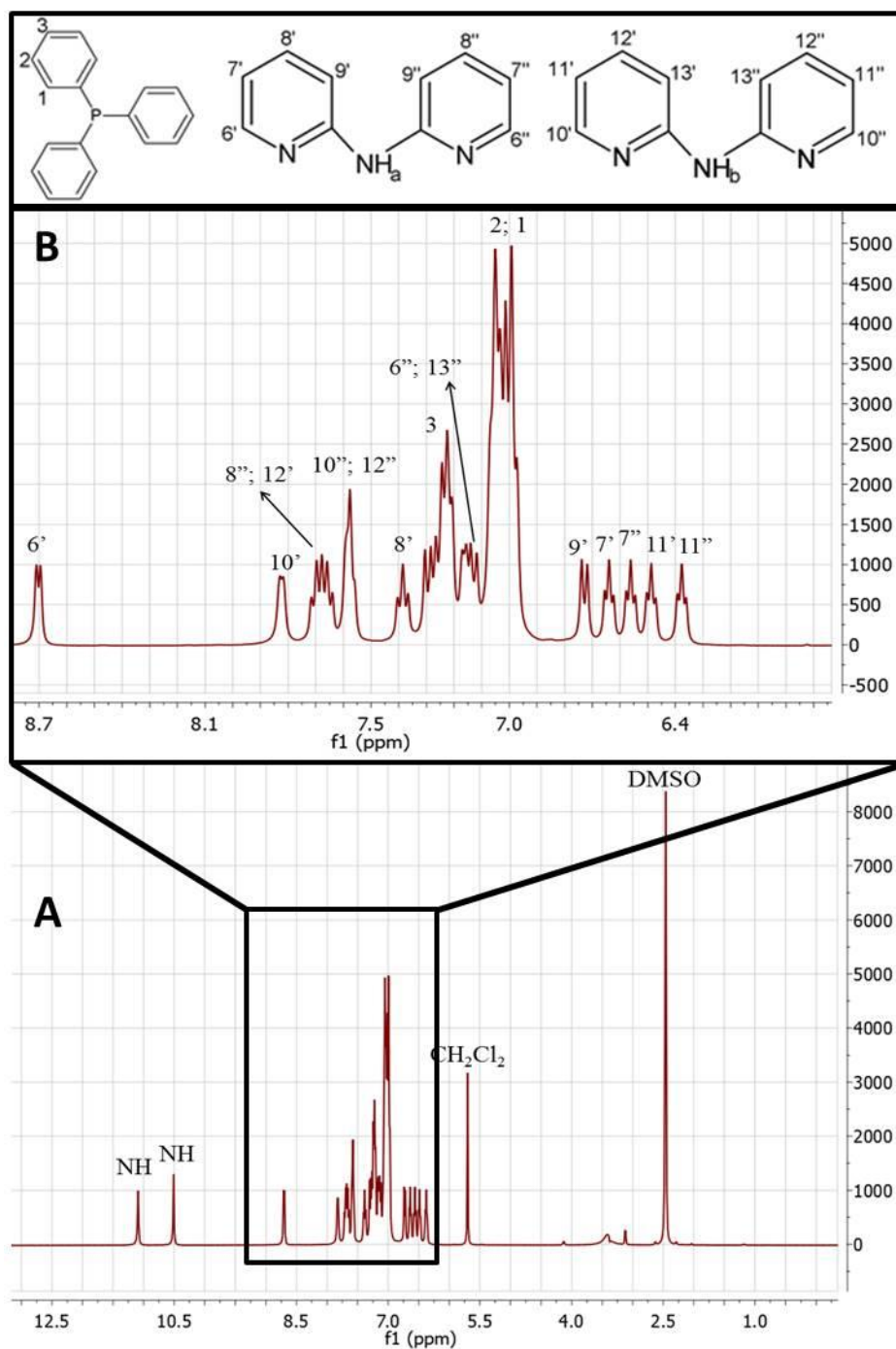


FIGURA 4.2 - (A): Espectro de RMN de ^1H para o complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 . (B): Espectro de RMN de ^1H para o complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 na região de campo baixo.

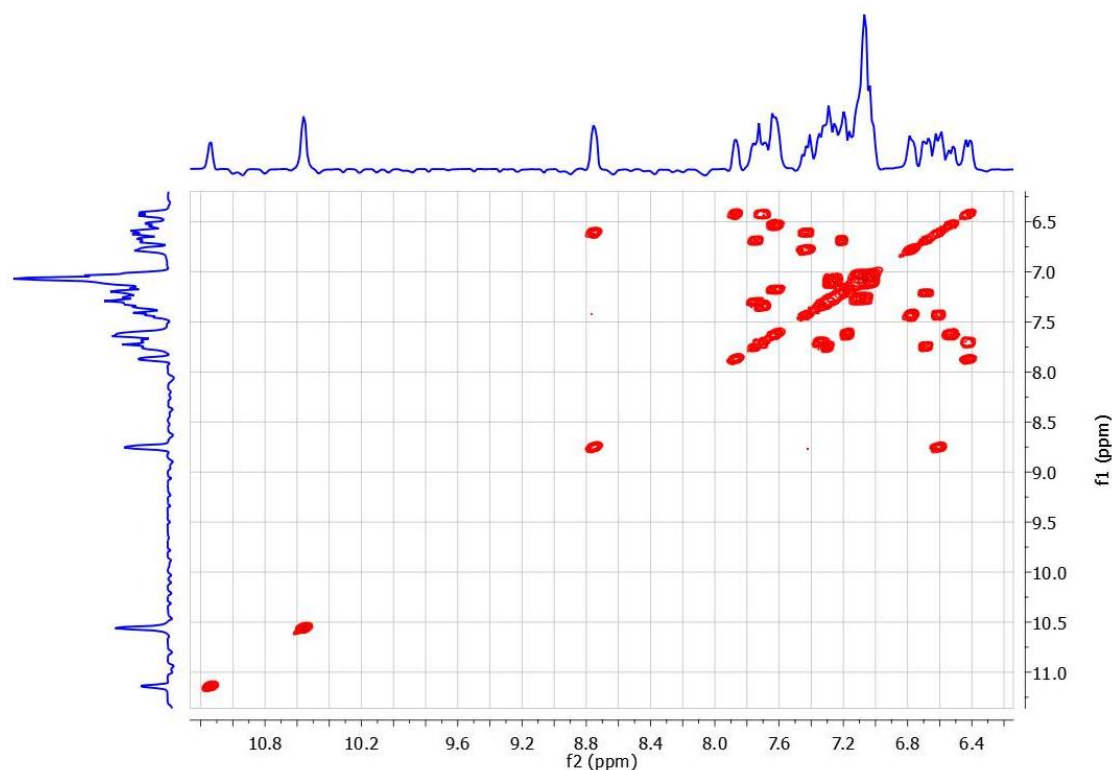


FIGURA 4.3 - Espectro de RMN de COSY ^1H — ^1H para o complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 .

Na região de campo baixo no espectro de RMN ^1H e COSY do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ pôde-se observar a presença dos sinais dos ligantes Hdpa e fosfínico, característicos de hidrogênios ligados a anéis aromáticos. O espectro de RMN de ^1H do complexo (**1**) mostra que os hidrogênios dos anéis piridínicos dos ligantes Hdpa não são magneticamente equivalentes, pois os hidrogênios na mesma posição dos anéis apresentam sinais com deslocamentos químicos diferentes.

Os deslocamentos químicos dos hidrogênios dos anéis piridínicos Hdpa, exceto H6', H8'' e H12', foram deslocados para região de campo mais alto comparados aos sinais do ligante livre. O sinal mais desblindado no espectro de ^1H ocorre em 8,70 ppm, correspondente ao átomo de hidrogênio 6'. Tal deslocamento químico é devido ao átomo de hidrogênio estar ligado a um carbono adjacente ao átomo de nitrogênio coordenado ao metal, fato que determina o menor valor de constante de acoplamento (J) desse dupletto em

comparação aos outros sinais. Nos quatro anéis aromáticos dos ligantes Hdpa, o hidrogênio ligado adjacente ao átomo de nitrogênio coordenado é o que apresenta o maior deslocamento químico entre os respectivos hidrogênios do anel. Os sinais com menores deslocamentos químicos são quatro tripletos, cada sinal com integral igual a 1, correspondentes aos hidrogênios da posição *orto* (H7'/ H7'' e H11'/ H11'') dos anéis piridínicos dos ligantes Hdpa.

No espectro de ^1H do complexo (1) observa-se dois simpletos em 11,09 e 10,59 ppm, referentes aos hidrogênios do grupo NH dos ligantes Hdpa, enquanto nos complexos (2) – (6) os simpletos encontram-se na região de 11,54 - 11,20 ppm. É interessante ressaltar que em todos os complexos o sinal do hidrogênio do grupo NH foi deslocado para região de maior frequência comparado com o sinal do ligante livre (δ 9,63), mostrando que o hidrogênio sofre um forte efeito de desblindagem após a coordenação do ligante Hdpa ao centro metálico.

De acordo com RAJENDIRAN et al. (2008) a variação no deslocamento químico também pode ocorrer devido às interações intermoleculares e intramoleculares. Na estrutura cristalina do complexo 1 (Figura 4.4) comprova a existência de interações intermoleculares no estado sólido do tipo $\text{N}-\text{H}\cdots\text{Cl}^-$, entre os grupos NH que atuam como doadores de hidrogênio e o contraíon Cl^- que atua como receptor de hidrogênio, com os átomos separados a uma distância média de 2,25 Å. (GILLI 2009). Desta forma, as interações no empacotamento cristalino do complexo fornecem indícios que o mesmo também pode realizar interações em solução.

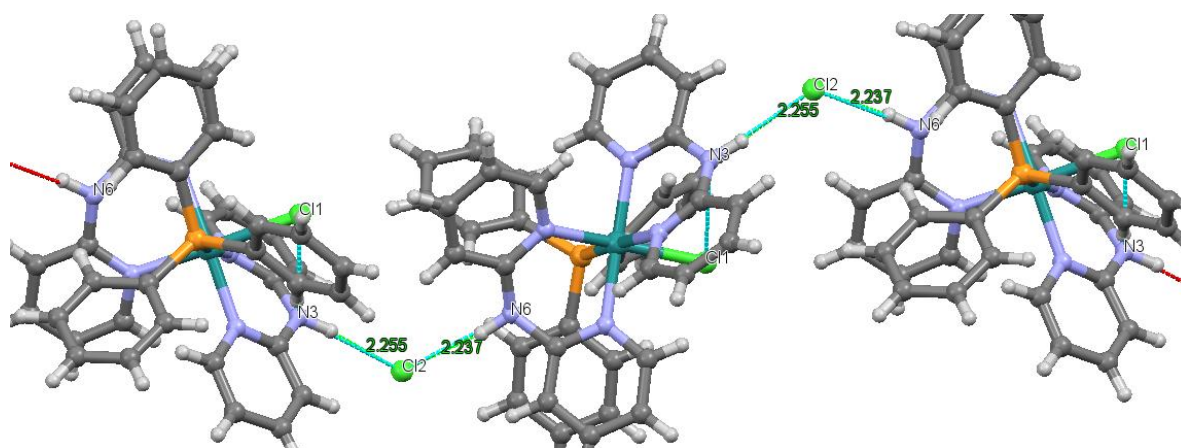


FIGURA 4.4 - Estrutura cristalina do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ com as principais interações intermoleculares.

Nos espectros dos complexos (2) – (5), os sinais dos hidrogênios H6' não sofreram variações significativas nos deslocamentos químicos após a coordenação do ligante ao centro metálico. Nos ligantes dipiridínicos dos complexos (2) - (6) as principais variações nos deslocamentos químicos foram no hidrogênio H10' adjacente ao nitrogênio da coordenação. No espectro de ^1H do complexo (3) observaram dois simpletos em 2,45 e 2,44 ppm, com integração igual a 3 para cada sinal, referentes aos hidrogênios dos grupos metilas $-\text{CH}_3$ do ligante dmbipy. No espectro de ^1H do complexo (5) observou-se um multipletto na região de 7,72 – 7,48 ppm de integração 13 referentes aos 10 hidrogênios dos substituintes fenilas do ligante dphfen e dos hidrogênios H11', H9' e H8''. No espectro de RMN de ^1H do complexo (6) observa-se na região de campo baixo os sinais referentes ao ligante Hdpa e do ligante trifenilfosfina, enquanto em campo alto são observados oito sinais, cada um com integral igual a 1, correspondentes aos oito hidrogênios do ligante etilenodiamina.

4.3 Estudos eletroquímicos

Os experimentos eletroquímicos foram realizados com o intuito de estudar a estabilidade eletroquímica e a reversibilidade dos complexos. Os estudos eletroquímicos dos complexos foram realizados pela técnica de voltametria cíclica, em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de perclorato de tetrabutilamônio (PTBA) em diclorometano.

A Figura 4.5 ilustra o voltamograma cíclico registrado em presença do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$. Os voltamogramas cíclicos dos complexos (2) – (6) estão apresentados no Apêndice A. A Tabela 4.4 apresenta os principais parâmetros eletroquímicos dos complexos (1) – (6).

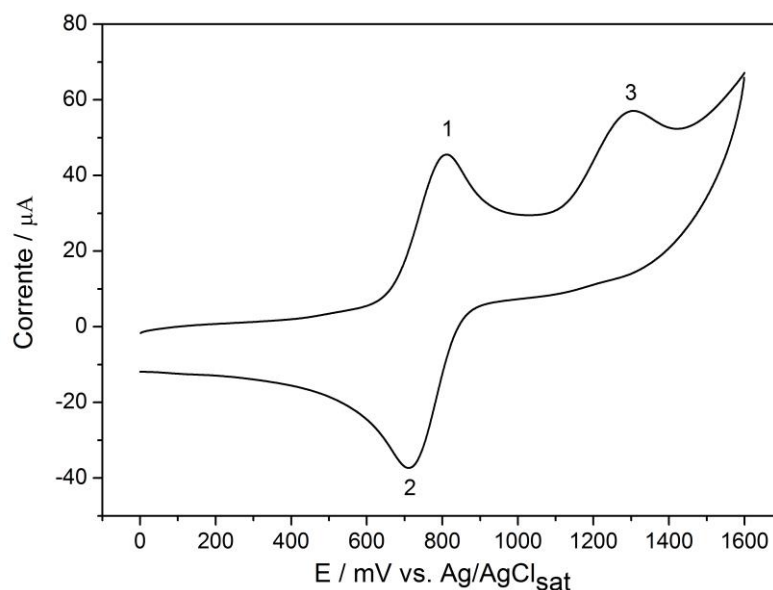


FIGURA 4.5 - Voltamograma cíclico registrado em presença de $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA em diclorometano à 100 mV s^{-1} .

TABELA 4.4 - Valores dos principais parâmetros eletroquímicos dos complexos (1) – (6).

Complexo	E_{pa1} (mV)	E_{pc2} (mV)	ΔE_p	$E_{1/2}$ (mV)	I_{pa}/I_{pc}	E_{pa3} (mV)
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa) ₂]Cl (1)	813	727	86	770	1,03	1327
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(bipy)]Cl (2)	984	821	150	896	0,99	1336
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(dmbipy)]Cl (3)	954	852	102	903	1,12	1290
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(fen)]Cl (4)	1031	906	125	969	1,03	1318
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(dphfen)]Cl (5)	1010	912	98	961	1,05	1292
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(en)]Cl (6)	767	688	80	725	1,01	1226

Os complexos (1) – (6) apresentaram comportamentos eletroquímicos similares, com valores de $E_{1/2}$ na faixa de 725-969 mV. No voltamograma cíclico de cada complexo observou-se um par de pico redox quase-reversível, referente à transferência de um elétron do processo redox Ru(II)/Ru(III). O processo eletroquímico E_{pa1} é referente à oxidação RuII/RuIII e o processo E_{pc2} é atribuído à redução RuIII/RuII. A coordenação do ligante Hdpa contribui para maior estabilização do rutênio em relação aos precursores, pois ocorre um aumento dos potenciais de oxidação do metal quando comparado com os potenciais dos respectivos precursores. Esse comportamento esta relacionado com as características dos ligantes, a substituição dos ligantes cloridos (bom doador σ e π) e trifenilfosfina (doador σ e π -receptor) pelo ligante Hdpa (doador σ e π -receptor) na somatória promove uma diminuição da densidade eletrônica do rutênio, provocando um aumento do potencial de oxidação do centro metálico. O processo de oxidação do metal com potenciais mais anódicos são para os complexos que possuem ligantes mais retiradores de elétrons, e os potenciais menos anódicos são para os complexos que possuem ligantes mais doadores e/ou menos retiradores de elétrons (DOS SANTOS 2011; BOGADO 2007).

A variação dos potenciais de meia onda ($E_{1/2}$) para o par redox (RuII/RuIII) dos complexos (1) – (6) pode ser relacionada com as diferenças de basicidade dos ligantes diimínicos e diamina alifática. O perfil dos grupos substituintes (grupos metila e fenila) dos anéis piridínicos, a extensão dos anéis aromáticos e aromaticidade dos ligantes refletem na basicidade dos mesmos, conseqüentemente nas diferenças dos valores de $E_{1/2}$ dos complexos (BOGADO 2007; RAJENDIRAN et al., 2007). Os complexos contendo diiminas apresentam valores de $E_{1/2}$ mais altos que o respectivo composto com a amina alifática, pois o ligante etilenodiamina é um doador- σ , que resulta em um centro metálico mais rico em elétrons, proporcionando o menor potencial de oxidação quando comparado com os complexos com ligantes diimínicos (QUEIROZ et al., 1998). Os grupos metilas nos anéis do ligante 5-dmbipy tornam o centro metálico mais rico em elétrons comparado ao complexo análogo com o ligante bipy. Tal substituição proporciona ao complexo (3) um potencial de oxidação do rutênio menor, quando comparado ao composto (2) (BOGADO 2007; RAJENDIRAN et al., 2007). O potencial de oxidação do complexo (4) é ligeiramente mais alto comparado ao potencial do complexo (2), devido à maior deslocalização dos elétrons- π no ligante fenantrolina, em comparação ao 2,2'-bipiridina (RAJENDIRAN et al., 2007).

Nos voltamogramas cíclicos dos complexos observou-se um pico anódico irreversível (E_{pa3}) em aproximadamente 1300 mV, atribuído à oxidação do grupo NH do ligante dipiridilamina (MORRIS et al., 1984). O voltamograma cíclico (Figura 4.6) registrado em presença do ligante Hdpa livre mostra um pico de oxidação largo e irreversível em 1411 mV. O pico anódico é atribuído ao processo de oxidação do grupo NH (MORRIS et al., 1984). De acordo com relatos descritos por HANCK et al., os complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{Hdpa})_n(\text{bipy})_{3-n}]^{(2-n)+}$ ($n = 3, 2, 1$) também apresentam um processo eletroquímico irreversível ($E_p - E_{p/2} > 500$ mV) na região de 1,6 – 2,5 V (vs. SSCE) associado à oxidação do grupo NH.

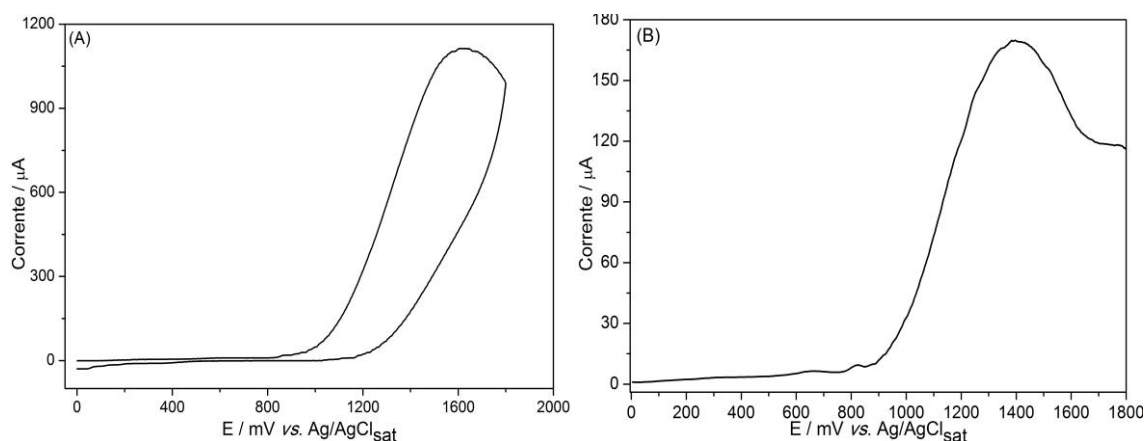


FIGURA 4.6 - Voltamogramas (A) cíclico e (B) de pulso diferencial registrado em presença do ligante Hdpa livre em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA, em diclorometano, a 100 mV s^{-1} .

4.4 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível UV-Vis

A técnica de espectroscopia de absorção na região UV-Vis foi realizada com o intuito de avaliar os tipos de transições eletrônicas existentes nos complexos. A Figura 4.7 mostra o espectro de absorção na região do UV-Vis do complexo (1) em diclorometano. Os espectros dos demais complexos estão reportados no Apêndice A. A Tabela 4.5 apresenta as bandas eletrônicas dos complexos e suas respectivas absorvidades molares.

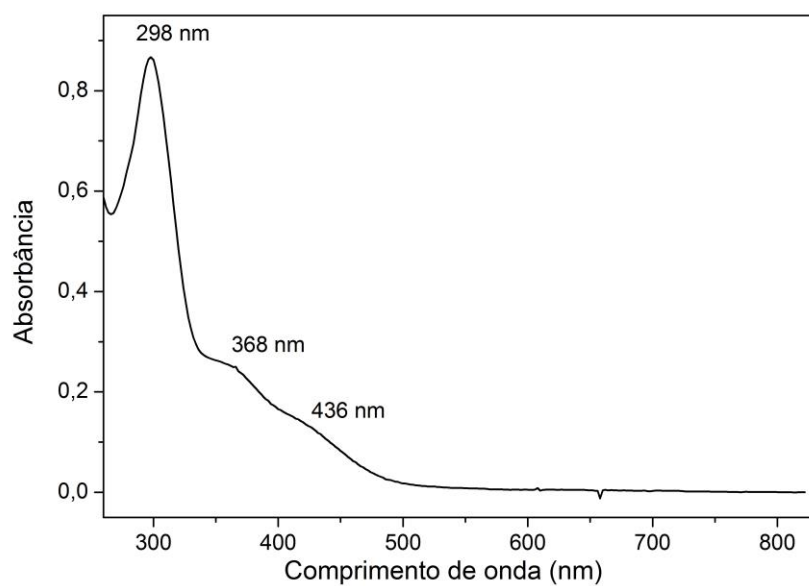


FIGURA 4.7 - Espectro de absorção na região do UV-Vis para o complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ em diclorometano.

TABELA 4.5 - Dados dos espectros de absorção na região do UV-Vis dos complexos em diclorometano.

Complexo	λ (nm)	Absortividade molar (ϵ) ($\text{cm}^{-1} \text{mol}^{-1} \text{L}$)	Transição atribuída
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa) ₂]Cl	298	55905,5	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	368	16261,5	MLCT
	430	7951,2	MLCT e $d-d$
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(bipy)]Cl	298	55828,8	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	366	23695,4	MLCT
	480	8614,9	MLCT e $d-d$
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(dmbipy)]Cl	304	55348,2	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	342	Ombro	MLCT e $d-d$
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(fen)]Cl	272	56712,7	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	293*	Ombro	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	434	10104,8	MLCT
	476	ND	MLCT e $d-d$
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(dphfen)]Cl	287	49500	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	328*	Ombro	MLCT/ IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	454	8542	MLCT
	493	ND	MLCT e $d-d$
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(en)]Cl	301	52980	IL $\pi \rightarrow \pi^*$
	353	9788	MLCT e $d-d$

ND = Não determinado

Os complexos apresentam bandas na região do ultravioleta entre 272 – 301 nm ($4,9 - 5,6 \times 10^4 \text{ cm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$), referentes às transições

sobrepostas do tipo intraligantes π - π^* dos anéis aromáticos do ligante fosfínico e polipiridínicos. Estas bandas de transições eletrônicas intraligantes π - π^* também são encontradas nos espectros dos ligantes livres.

Já é descrito na literatura que os complexos de Ru(II) com ligantes N-heterocíclicos apresentam bandas de absorção na região do UV-Vis referentes às transferências de elétrons dos orbitais $d\pi$ do metal para os orbitais de energia apropriada dos ligantes.

O complexo (1), com dois ligantes 2,2'-dipiridilamina, apresenta uma banda de transição eletrônica intraligante π - π^* na região do ultravioleta e duas bandas em 368 e 430 nm. Estas bandas de menor energia são atribuídas à transição carga MLCT, do tipo $d\pi$ (RuII) \rightarrow π^* (Hdpa). O complexo com o ligante alifático (6), além da transição intraligante, apresenta uma banda intensa atribuída à transição carga MLCT, do tipo $d\pi$ (RuII) \rightarrow π^* (Hdpa)

Os complexos (2), (3), (4) e (5) apresentam bandas de transição carga MLCT na região de 350 – 500 nm, do tipo $d\pi$ (RuII) \rightarrow π^* (Hdpa) e $d\pi$ (RuII) \rightarrow π^* (diimina). As bandas na região de 480-490 nm são referentes às transições $d\pi$ (RuII) \rightarrow π^* (diimina). As bandas provenientes de transições eletrônicas d-d possuem baixos valores de coeficientes de absorvidade molar e são facilmente encobertas por outras bandas, por isso não foram claramente detectadas para estes complexos, sendo então atribuídas juntamente com as bandas MLCT.

4.5 Espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho

A espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho foi utilizada como uma técnica complementar na caracterização dos complexos. As atribuições foram realizadas por meio de comparações dos espectros dos ligantes livres, precursores e dados da literatura. A Figura 4.8

ilustra o espectro de absorção na região do infravermelho do complexo (1), em KBr. Os espectros dos demais complexos estão reportados no Apêndice A. As principais bandas dos complexos estão na Tabela 4.6.

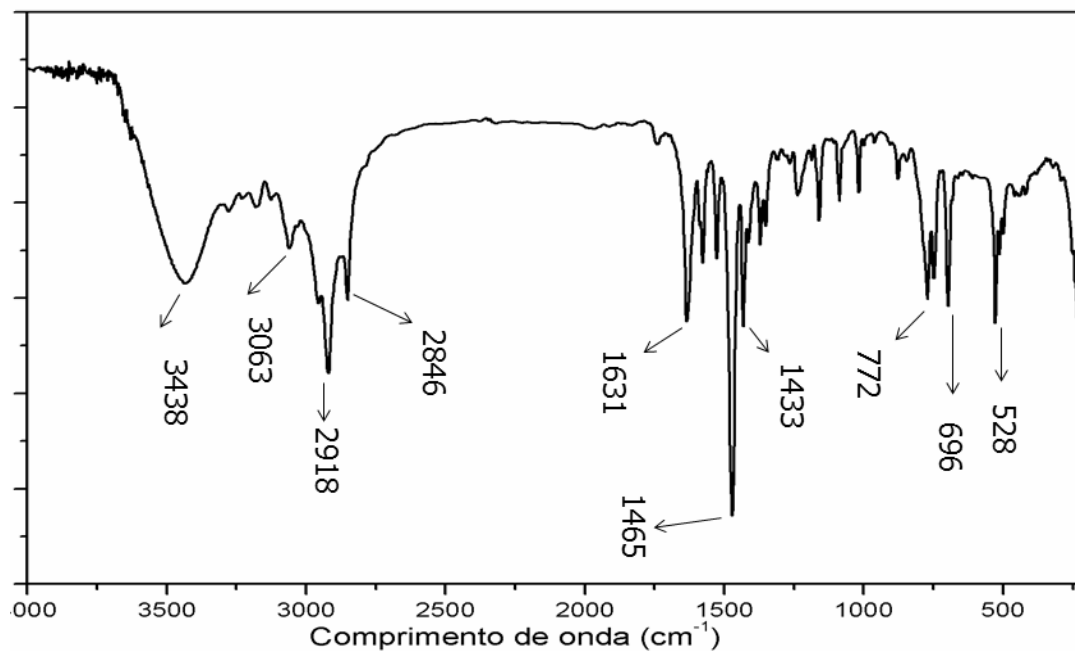


FIGURA 4.8 - Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$, em KBr.

TABELA 4.6 - Atribuições das frequências vibracionais dos complexos (1) - (6).

Atribuições	Frequência Vibracional (cm ⁻¹)					
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
ν NH	3438 (F)	3423 (F)	3433 (F)	3410 (F)	3427 (F)	3437 (F)
ν CH	3057 (f)	3057 (f)	3060 (f)	3051 (f)	3050 (f)	3065 (f)
ν CH	2953 (f)	2960 (f)	2956 (f)	2978 (f)	2965 (f)	2942 (f)
ν CH	2914 (m)	2917 (m)	2916 (f)	2931 (f)	2921 (f)	-
ν CH	2852 (m)	2852 (f)	2853 (f)	2854 (f)	2853 (f)	-
ν C=N	1632 (m)	1627 (m)	1624 (m)	1625 (m)	1623 (m)	1641 (m)
ν_{as} C=N	1575 (m)	1574 (f)	1570 (f)	1578 (m)	1575 (m)	1575 (m)
ν C=C _(anel)	1528 (m)	1522 (f)	1524 (f)	1520 (f)	1525 (f)	1533 (F)
ν C=C _(anel) /	1469 (F)	1465 (F)	1466 (F)	1468 (F)	1468 (F)	1481 (F)
ν C=C _(fosf)						
ν C=N	1432 (F)	1431 (F)	1430 (m)	1428 (m)	1428 (F)	1429 (m)
ν C=C/ ν C—N	1349 (f)	1339 (m)	1351 (f)	1346 (m)	1347 (f)	1322 (f)
β (C-H)	1160 (f)	1155 (f)	1152 (m)	1159 (f)	1155 (f)	1156 (m)
ν_{as} P-CH	1087 (f)	1085 (f)	1089 (m)	1089 (m)	1088 (m)	1088 (m)
ν Anel	1016 (f)	1022 (f)	1019 (f)	1017 (f)	1021 (f)	1016 (f)
γ CH(ϕ)	772 (m)	767 (m)	773 (m)	775 (m)	765 (m)	772 (m)
γ CH(ϕ)	748 (m)	750 (m)	747 (f)	747 (m)	748 (f)	746 (m)
γ anel	696 (m)	698 (F)	697 (m)	697 (m)	698 (F)	695 (F)
ν Ru-N	528(f)	529 (F)	526 (m)	527 (F)	530 (F)	529 (F)
ν Ru-P	511 (m)	514 (m)	516 (f)	510 (m)	509 (m)	503 (m)
Ru—Cl	230 (f)	258 (f)	252 (f)	256 (f)	232 (m)	243 (f)

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

Os espectros de absorção na região do IV dos complexos apresentam uma banda larga na região de 3450-3500 cm⁻¹, atribuída ao estiramento NH do ligante Hdpa. A região de 3100 a 2800 cm⁻¹ é caracterizada

por bandas de fraca à media intensidade correspondentes aos estiramentos dos grupos CH dos anéis fenílicos em maior energia. O complexo (**3**) também apresenta estiramentos assimétricos e simétricos dos grupos $-\text{CH}_3$ do ligante dmbipy na região $3100 - 2800 \text{ cm}^{-1}$. Na região de 1400 a 1200 cm^{-1} são observados modos vibracionais característicos dos anéis aromáticos da trifenilfosfina, as quais são um conjunto de bandas com intensidades fracas atribuídas à βCH (ϕ) (POELHSITZ 2005). Na região de maior energia encontra-se a região dominada por deformações angulares de ligação C—H no plano e deformações angulares fora do plano.

A região de $1600-1400 \text{ cm}^{-1}$ é caracterizada por bandas com intensidades variando de fraca a forte, correspondentes aos estiramentos das ligações (C=C) e (C=N). Praticamente não ocorre uma diferença significativa para o estiramento da ligação $\nu(\text{C}=\text{C})$ com a mudança dos ligantes diimínicos. Nos complexos são observados as bandas características do estiramento $\nu\text{C}-\text{P}$, que no espectro vibracional de absorção na região do infravermelho ocorrem em torno de 1090 cm^{-1} . A presença do ligante clorido também foi confirmada pela presença de uma banda muito fraca de estiramento $\nu\text{Ru}-\text{Cl}$ na região de $250 - 300 \text{ cm}^{-1}$ (QUEIROZ et al., 1998). Em torno do centro metálico destaca-se o estiramento $\nu\text{Ru}-\text{P}$ no qual apresenta uma banda na região de 520 cm^{-1} e o estiramento $\text{Ru}-\text{N}$ atribuído à região de 430 cm^{-1} (NAKAMOTO 2009).

4.6 Estrutura de Raios X

4.6.1 Estrutura cristalográfica do precursor $[\text{RuCl}_2(\text{en})(\text{PPh}_3)_2]$

O complexo $[\text{RuCl}_2(\text{en})(\text{PPh}_3)_2]$ é extensivamente empregado como precursor para sínteses de diversos complexos (KONING et al., 2006), entretanto no banco de dados de estruturas cristalinas de Cambridge Structure

database não foi reportada anteriormente esta estrutura cristalográfica, sendo reportadas apenas estruturas análogas.

Cristais do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{en})(\text{PPh}_3)_2]$ foram obtidos pela difusão lenta da solução de diclorometano em hexano e a estrutura foi determinada por difração de Raios X (Figura 4.9). A geometria em torno do metal central é a de um octaedro distorcido, como evidenciado pelos ângulos e comprimentos das ligações apresentados na Tabela 4.7.

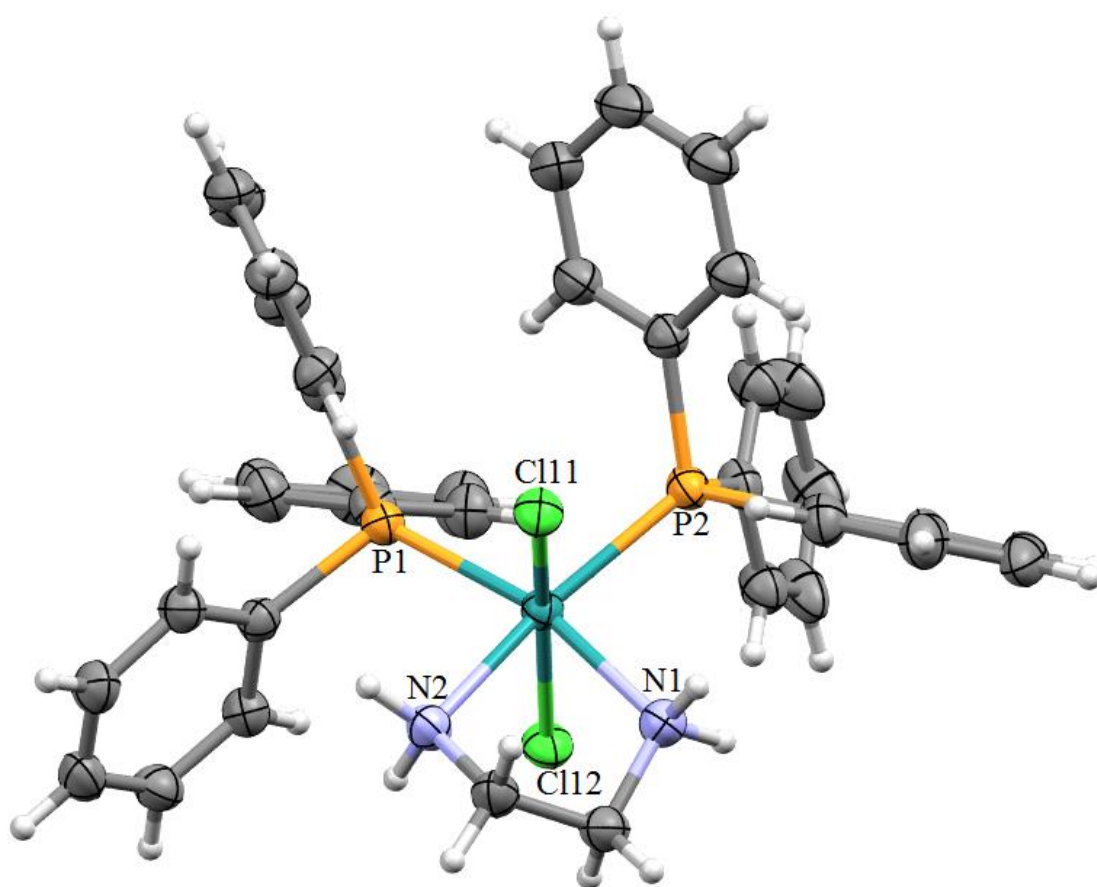


FIGURA 4.9 - Estrutura cristalina do complexo *trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{en})]$, com elipsoides a 50% de probabilidade.

TABELA 4.7 - Principais ângulos (°) e comprimentos de ligação (Å) para alguns fragmentos em torno do centro metálico dos complexos.

Comprimento de ligação (Å)		Ângulo de ligação (°)	
Ru—P1	2,335 (1)	P1—Ru—P2	102.20(3)
Ru—P2	2,317 (9)	P1—Ru—Cl12	90.20(3)
Ru—Cl1	2,421 (8)	P2—Ru—Cl12	100.62(3)
Ru—Cl2	2,401 (1)	N1—Ru—Cl11	85.95(8)
Ru—N1	2,168 (3)	N1—Ru—P1	166.25(8)
Ru—N2	2,161 (2)	N1—Ru—P2	91.14(8)
		N1—Ru—Cl12	84.02(8)
		N2—Ru—N1	78,8 (1)
		N2—Ru—Cl11	83,75 (8)
		N2—Ru—P1	88,38 (8)
		N2—Ru—P2	167,34 (8)
		N2—Ru—Cl12	86,10
		Cl11—Ru—P1	97.70(3)
		Cl11—Ru—P2	87.92(3)
		Cl11—Ru—Cl12	166.94(3)

Um aspecto estrutural importante é a configuração das trifenilfosfinas. Os ligantes fosfínicos apresentam-se no plano equatorial, e em posição *cis*, um em relação ao outro. O ligante etilenodiamina está coordenado de forma bidentada ao centro metálico, ocupando duas posições espaciais no plano equatorial em posição *trans* em relação aos ligantes trifenilfosfinas, sendo consistente com o simpleto em 40 ppm observado no espectro de RMN ^{31}P { ^1H }. Os ligantes cloridos estão em posição *trans*, um em relação ao outro, e situados no eixo axial.

Os comprimentos de ligação Ru—P para o precursor $[\text{RuCl}_2(\text{en})(\text{PPh}_3)_2]$ são menores que para o complexo análogo

trans-[RuCl₂(fen)(PPh₃)₂] [2,401 Å para Ru—P1 e 2,378 Å para Ru—P2]. As distâncias de ligação Ru—Cl são similares entre os dois compostos. Porém, destaca-se que o precursor [RuCl₂(en)(PPh₃)₂] apresenta configuração estereoquímica diferente dos complexos com diiminas, uma vez que as trifenilfosfinas estão coordenadas *trans*, uma em relação à outra nos complexos do tipo [RuCl₂(diimina)(PPh₃)₂].

4.6.2 Estrutura cristalográfica dos complexos (1), (3)PF₆⁻, (6)PF₆⁻

As estruturas cristalinas dos complexos (1), (3)PF₆⁻ e (6)PF₆⁻ foram determinadas por difração de Raios X, após a obtenção de monocristais (Figura 4.10). Os cristais foram obtidos pela técnica de evaporação lenta de solvente, na qual uma fração do complexo foi solubilizada em diclorometano e solução metanólica do sal KPF₆, resultando em uma solução final de razão 1:1 (v/v).

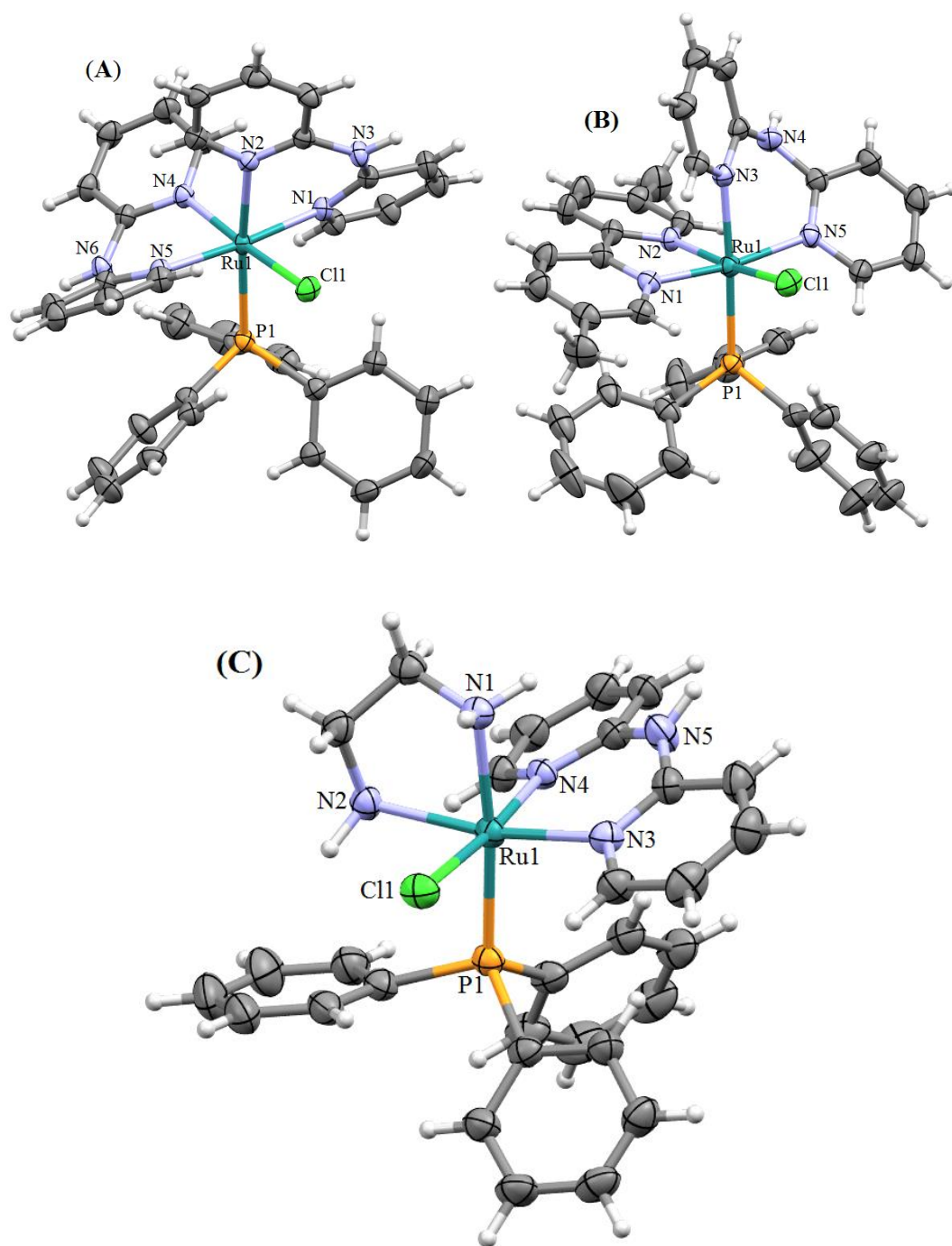


FIGURA 4.10 - Estrutura cristalina dos complexos (A) $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$; (B) $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dmbipy})]\text{PF}_6$ e (C) $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{PF}_6$, com elipsoides a 50% de probabilidade.

As estruturas cristalográficas dos complexos (1), (3) PF_6^- e (6) PF_6^- estão de acordo com as caracterizações realizadas por outras técnicas. Os complexos hexacoordenados apresentaram estruturas octaédricas distorcidas. Em cada complexo observa-se apenas um ligante trifenilfosfina coordenado, no

eixo axial em posição *cis* ao ligante clorido, no plano equatorial. Na Tabela 4.8 estão apresentados os principais comprimentos (Å) de ligação em torno do centro metálico. Os parâmetros cristalográficos de refinamento das estruturas estão representados no Apêndice A.

TABELA 4.8 - Comprimentos (Å) de ligação para alguns fragmentos em torno do centro metálico dos complexos.

Ligação	Comprimento de ligação (Å)		
	1	3	6
Ru—P1	2,362(7)	2,344 (1)	2,299(1)
Ru—Cl1	2,434(8)	2,415 (1)	2,430(1)
Ru—N	2,123 (2)	2,132 (3)	2,157(3)
(<i>trans</i> a PPh ₃)	N2(Hdpa)	N3(Hdpa)	N1(en)
Ru—N	2,077(2)	2,061 (4)	2,083(3)
(<i>trans</i> a Cl)	N4(Hdpa _{plano})	N2(dmbpy)	N4(Hdpa)
Ru—N	2,098(2)	2,110 (3)	2,156(3)
(<i>trans</i> a N)	N1(Hdpa)	N5(Hdpa)	N2(en)
Ru—N	2,097(2)	2,047 (3)	2,107(4)
(<i>trans</i> a N)	N1(Hdpa _{plano})	N1(dmbpy)	N3(Hdpa)

A estrutura cristalina do complexo (**1**) evidência dois ligantes Hdpa coordenados, de maneira bidentada ao rutênio, por meio dos nitrogênios piridínicos, formando um anel de seis membros, em ambos os casos os ligantes Hdpa não são planares. Os comprimentos de ligação Ru—N dos ligantes Hdpa são diferentes, a ligação Ru—N2 é ligeiramente mais longa comparada com as demais ligações do tipo Ru—N, o que pode ser devido à influência *trans* exercida pelo ligante trifenilfosfina.

Os comprimentos das ligações Ru—N1 (posição *trans* a PPh₃) e Ru—N2 (posição *trans* a Hdpa) no complexo (**6**), onde N1 e N2 são os grupos

NH₂ da etilenodiamina, são maiores comparados com os comprimentos Ru—N nas mesmas posições nos complexos (1) e (3) e também para ligações onde N é um nitrogênio piridínico. Esse comportamento pode ser justificado pelo ligante etilenodiamina (caráter σ -doador) não apresentar orbitais moleculares com simetria π de energia acessível para uma combinação retrodoativa com orbitais ocupados t_{2g} do metal. Entretanto, os ligantes diiminas (π -receptor) apresentam orbitais com simetria π de energia acessível para uma retrodoação, conseqüentemente as ligações Ru—N (diiminas aromáticas) são mais fortes comparadas com as ligações Ru—N das aminas alifáticas.

No complexo [RuCl(Hdpa)(PPh₃)(dmbipy)]Cl, o ligante dmbipy está coordenado no plano equatorial, no qual um dos nitrogênios piridínicos está em posição *trans* ao átomo de clorido. O ligante Hdpa ocupa duas posições espaciais de coordenação, uma posição no eixo axial *trans* à trifenilfosfina e outra posição no plano equatorial coordenada *trans* a um nitrogênio do ligante dmbipy. A estereoquímica apresentada pelo complexo (3) com o ligante diimínico no plano equatorial pode ser expandida para os complexos (2), (4) e (5). Entretanto, no complexo [RuCl(PPh₃)(Hdpa)(en)]Cl o ligante Hdpa ocupa a posição no plano equatorial em posição *cis* ao ligante PPh₃. Observa-se que o ligante etilenodiamina ocupa duas posições espaciais de coordenação, uma posição no plano equatorial *trans* ao N3 do ligante Hdpa e outra posição no eixo axial *trans* à trifenilfosfina, justificando o deslocamento químico do sinal do fósforo no espectro de RMN de ³¹P {¹H} em 54 ppm.

Os comprimentos de ligação Ru—Cl dos complexos (1), (3) e (6) não apresentam uma discrepância significativa, em torno de 2,425 Å, o que está de acordo com a distância de ligação Ru—Cl *trans* a nitrogênio piridínico em complexos similares descrita em nosso grupo de pesquisa (QUEIROZ et al., 1998). Como esperado, os comprimentos de ligação Ru—N em posição *trans* a trifenilfosfina são ligeiramente mais longos que as demais ligações Ru—N, devido à maior influência *trans* exercidas pelo átomo de fósforo.

4.7 Estudo de estabilidade dos complexos em DMSO, tampão Tris-HCl e H₂O

A estabilidade dos complexos (1) – (6) em meio aquoso, DMSO e na solução (4:6) DMSO: tampão Tris-HCl (pH 7,65) foi investigada por diversas técnicas: RMN de ³¹P {¹H} e ¹H (exceto para a mistura DMSO/tampão). Os sinais nos espectros RMN de ³¹P {¹H} e ¹H dos complexos (1) – (5) após 7 dias permaneceram inalterados nos meios testados, indicando que tais complexos não sofrem alterações estruturais e são estáveis nestes solventes e solução.

O complexo [RuCl(PPh₃)(Hdpa)(en)]Cl apresentou comportamento diferente dos demais compostos. Imediatamente a dissolução em D₂O, um novo simpleto em 53 ppm foi observado no espectro de ³¹P {¹H} (Figura 4.11), o qual cresceu em detrimento do sinal referente ao complexo (6). Este novo sinal é atribuído à nova espécie formada [Ru(OH₂)(PPh₃)(Hdpa)(en)]²⁺, a partir da labilização do ligante clorido. Contudo, as espécies [Ru(Cl)(PPh₃)(Hdpa)(en)]⁺/[Ru(OH₂)(PPh₃)(Hdpa)(en)]²⁺ atingem o equilíbrio em solução após cerca de 45 min. da dissolução, predominando a espécie [Ru(Cl)(PPh₃)(Hdpa)(en)]⁺. A labilização do ligante clorido no composto com diamina alifática é atribuída à influência do ligante etilenodiamina.

Estudos realizados por ALESSIO e colaboradores (RILAK et al., 2014) com complexos de fórmula geral [Ru(tpy)(N-N)Cl]Cl, (onde N-N = etilenodiamina, diaminociclohexano, e biperidina; tpy = 2,2':6',2''-terpiridina), mostraram a influência dos ligantes N-N na hidrólise do complexo. Os compostos com diaminas alifáticas foram mais suscetíveis a hidrólise do que o composto contendo a biperidina. A fácil labilização do ligante clorido nos compostos com diaminas alifáticas é atribuída à influência σ-doadora dos ligantes alifáticos.

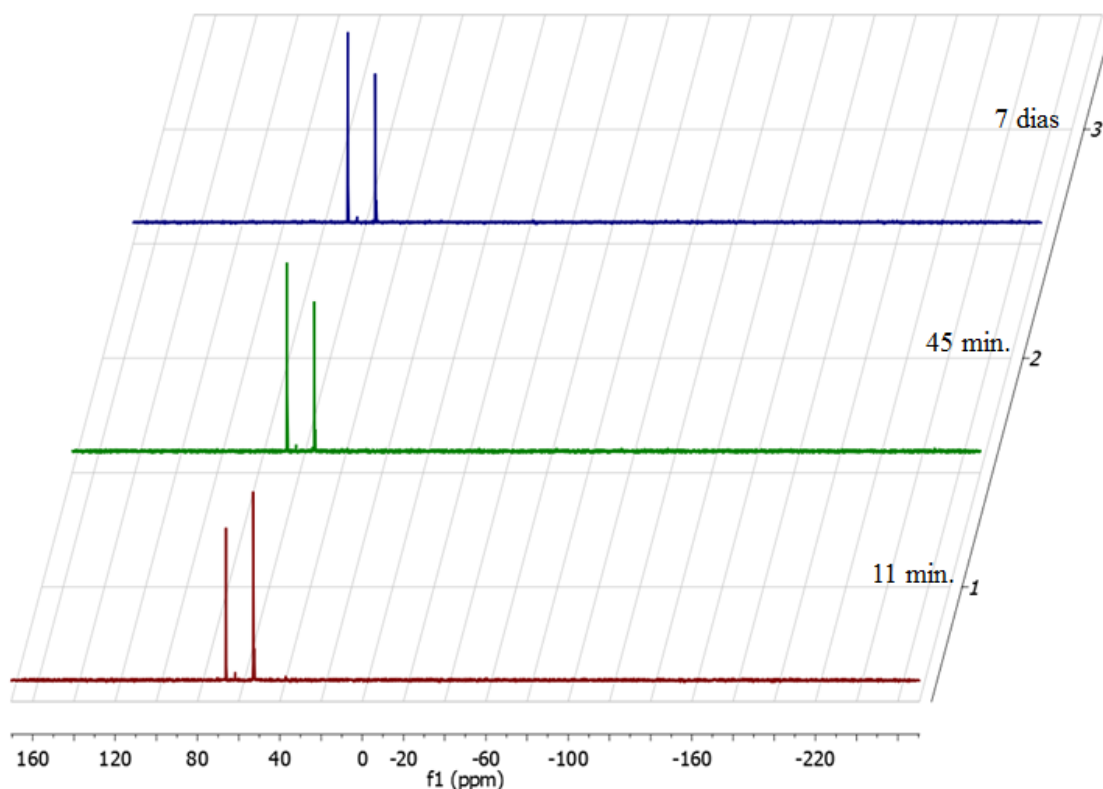


FIGURA 4.11 - Espectro de RMN de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ do complexo (6) em D_2O em diferentes tempos.

4.8 Estudo de interação entre os complexos e DNA

A busca dos possíveis alvos biológicos dos complexos metálicos é um importante estudo para desvendar os prováveis mecanismos de ação dos compostos. Esta seção tem como objetivo explorar os possíveis modos de interação entre os complexos e o ácido desoxirribonucleico e avaliar se a biomolécula é um possível alvo biológico. Nesse contexto, procura-se também avaliar a influência dos átomos não coordenados ao metal nas interações entre os complexos e o DNA, tais como: o grupo NH do ligante Hdpa, disponível para promover ligação de hidrogênio com biomoléculas e a contribuição dos grupos metilas do ligante dmbipy nas interações hidrofóbicas. Outra perspectiva foi a análise dos compostos (2) e (4) que apresentam os ligantes diimínicos planares (bipy, fen e dphfen), suscetíveis à intercalação entre os pares de base do DNA.

Outra possibilidade é a labilização do ligante clorido da esfera de coordenação do rutênio, proporcionando um sitio vago no complexo para ligações covalentes com o DNA.

Diversas técnicas foram empregadas para os estudos das interações entre os complexos e o DNA, como as técnicas espectroscópicas (titulação por UV-Vis e dicroísmo circular), medidas de viscosidade e eletroforese em gel.

4.8.1 Estudo de medidas de viscosidade

As medições hidrodinâmicas são consideradas como o teste menos ambíguo e mais crítico do modo de interação entre os complexos e CT-DNA em solução. A viscosidade da solução do DNA é sensível às mudanças da conformação do CT-DNA provocada pelos compostos. A intercalação clássica provoca um acréscimo significativo da viscosidade da solução do CT-DNA, pois a inserção dos compostos entre os pares de base resulta no aumento da distância entre as bases nitrogenadas nos locais da intercalação e conseqüentemente no aumento do volume da biomolécula (SCRUGGS e ROSS, 1964; SHAHABADI et al., 2011). Em contraste, a interação dos complexos exclusivamente aos sulcos do DNA por interação externa ou interação eletrostática causa uma ligeira torção na hélice do DNA. Neste caso, a viscosidade da solução pode apresentar uma ligeira diminuição ou permanecer inalterada. A interação dos complexos ao DNA por ligação covalente provoca uma diminuição significativa da viscosidade da solução do DNA.

As medidas de viscosidade foram realizadas com soluções $98 \mu\text{mol L}^{-1}$ CT-DNA em diferentes concentrações de complexo, ou seja, soluções com diferentes razões molares complexo/DNA. Os efeitos dos complexos (1) – (6) na viscosidade da solução do CT-DNA estão mostrados na Figura 4.12.

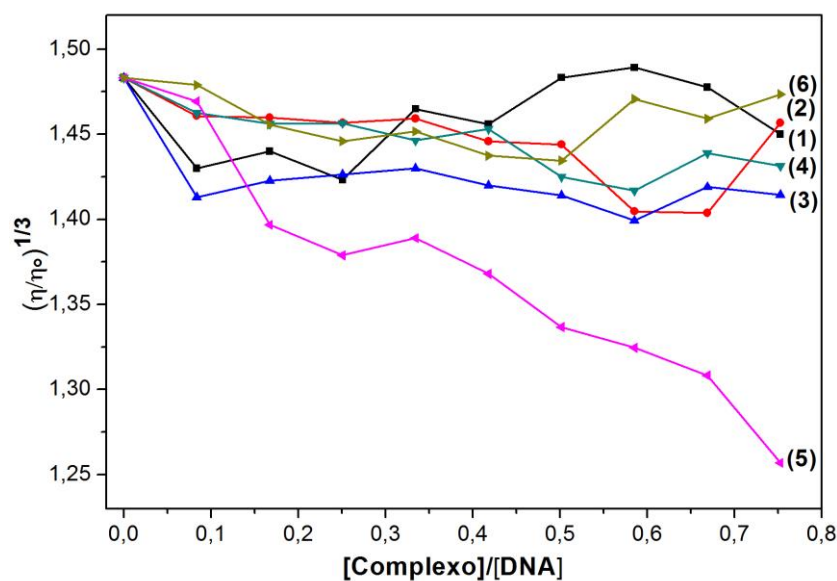


FIGURA 4.12 - Efeito da adição de complexo na viscosidade relativa do CT-DNA à 25 °C. [DNA] = 98 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

A viscosidade das soluções do CT-DNA após a adição dos complexos (1) - (4) e (6) não apresentou alterações significativas nas razões complexo/DNA analisadas. Os resultados mostraram que não há modificações drásticas na conformação do CT-DNA, indicando que as interações entre os compostos (1) - (4) e (6) e o DNA são associadas a interações fracas. Neste contexto são esperadas interações eletrostáticas entre os complexos monocatiônicos e os grupos fosfatos carregados negativamente do DNA.

A presença de um ligante intercalador, tal como cloroquina e brometo de etídio (intercaladores clássicos do DNA), leva a um acréscimo acentuado da viscosidade do CT-DNA. Os complexos descritos neste trabalho apresentam um comportamento distinto dos intercaladores clássicos, atestando ser improvável a intercalação dos mesmos aos pares de bases do DNA. (SHAHABADI et al., 2011; RAJENDIRAN et al., 2008; SIRAJUDDIN et al., 2013; COLINA-VEGAS et al., 2015).

O complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ (5) apresentou um comportamento diferente dos complexos (1) - (4) e (6). A viscosidade das soluções do CT-DNA diminuiu com o acréscimo da concentração do complexo

(5), apresentando um decréscimo de 15% na razão $[\text{complexo}]/[\text{DNA}] = 0,75$. Esse resultado indica que as interações entre o complexo (5) e o CT-DNA provocam torções na conformação terciária da biomolécula e são mais fortes do que as interações dos demais complexos.

A diminuição da viscosidade da solução de DNA tem sido descrita na literatura como um processo provocado por interações entre os sulcos e/ou por meio da ligação covalente entre complexo e as bases nitrogenadas do DNA (ANGEL et al, 2015). Contudo, a interação por ligação covalente implica em torções significativas na hélice do DNA e, conseqüentemente, em uma drástica diminuição na viscosidade quando comparada com os efeitos provocados pelas interações entre os sulcos do DNA. Neste sentido, PADILLA et al. (2015) descrevem o decréscimo na viscosidade relativa da solução do DNA tratado com o complexo $[\text{Pt}_2(\text{L})\text{Cl}_4]$ (onde $\text{L} = 1,2,4,5\text{-tetrakis}((1\text{H-pirazol-1-il)metil)benzeno))$ atribuído às interações reversíveis aos sulcos do DNA, por meio de ligação de hidrogênio e interações eletrostáticas.

O resultado de viscosidade indica que o complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ apresenta interações entre os sulcos do DNA. Uma possível explicação para este resultado é o fato do ligante dphfen possuir uma maior superfície aromática quando comparado com os demais ligantes auxiliares, além dos anéis fenílicos do ligante dphfen apresentarem liberdade de torção de modo que são capazes de favorecer uma aproximação efetiva à cadeia do DNA por meio dos sulcos. Tais interações são suficientes para provocar a contração na superfície da biomolécula, conseqüentemente causando as alterações na estrutura terciária do DNA.

Como descrito por Pages e colaboradores, as interações aos sulcos do DNA são baseadas em interações intermoleculares, como interações de van der Waals e ligação de hidrogênio, o que sugere a participação do grupo NH do ligante Hdpa na contribuição da estabilização da interação entre o complexo e sulco do DNA, por meio de ligação de hidrogênio. Contudo, comparando-se os

comportamentos da viscosidade do DNA dos complexos (4) e (5), é possível inferir o fator determinante para o modo de interação do complexo e DNA é a presença dos grupos fenílicos no ligante diimínicos.

4.8.2 Estudo de interação por dicroísmo circular

O dicroísmo circular (CD) é uma técnica espectroscópica amplamente empregada que permite obter informações sobre a conformação estrutural em sistemas quirais. No caso do DNA, ligeiras alterações no empilhamento das bases nitrogenadas que resultam em modificações na estrutura secundária do DNA são refletidas no espectro de dicroísmo circular.

O sinal de CD do DNA depende da orientação e da distância entre as bases nitrogenadas, sendo possível a detecção de diferentes conformações do DNA. O DNA pode existir em três formas dupla-helicoidais (DNA-A, DNA-B ou DNA-Z) e cada conformação tem um sinal característico no CD. O espectro de CD do CT-DNA apresenta uma banda positiva em 275 nm, atribuída ao empilhamento entre as bases nitrogenadas e uma banda negativa em 245 nm correspondente à helicidade da forma DNA-B. Em alguns casos os complexos não quirais na presença do DNA apresentam sinais induzidos de dicroísmo circular por causa de interações fortes. (VITORINO 2011; MACQUET e BUTOUR, 1978).

Os experimentos de CD foram realizados de soluções 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ CT-DNA em diferentes concentrações de complexo, ou seja, soluções com diferentes razões molares complexo/CT-DNA. As soluções foram incubadas por 24 h à 35°C, posteriormente os espectros CD das amostras foram registrados (Figura 4.13).

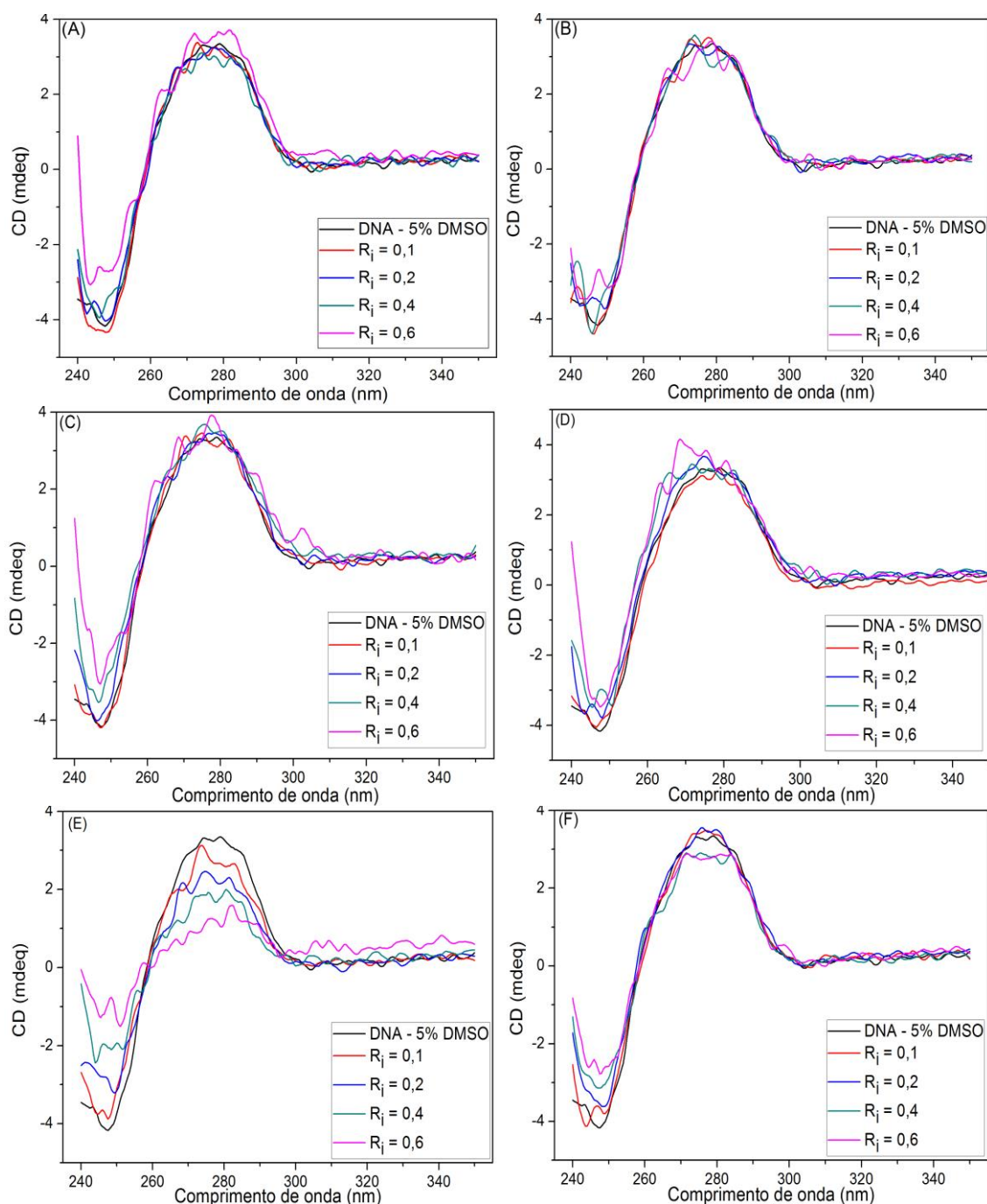


FIGURA 4.13 - Espectros de CD de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ CT-DNA em solução Tris-HCl a 5% DMSO na ausência e presença de complexo (em r_i). (A) Complexo (1); (B) Complexo (2); (C) Complexo (3); (D) Complexo (4); (E) Complexo (5); (F) Complexo (6).

Nos espectros de CD do CT-DNA na presença dos complexos (1) – (6) não foram observados sinais induzidos de dicroísmo circular. De acordo com os resultados, descarta-se o modo interação por intercalação entre estes

complexos e as bases nitrogenadas do DNA, o que está de acordo com os resultados de viscosidade. A intercalação resulta em um aumento acentuado na positividade da banda em 275 nm devido ao empilhamento do ligante intercalador as bases do DNA.

Portanto, os complexos (1) - (4) e (6) não provocaram alterações significativas no perfil e na intensidade dos espectros de CD do CT-DNA, indicando que estes complexos não alteram a estrutura secundária do DNA. Estes resultados sugerem que as interações entre os complexos e o DNA são fracas.

A partir dos espectros de CD do CT-DNA na presença do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ (Figura 4.13 - D) pode-se constatar o decréscimo nas intensidades das bandas em 240 e 275 nm do CT-DNA com o aumento da concentração do composto. Estas mudanças nos espectros de CD indicam que o complexo (5) induz modificações conformacionais na estrutura do DNA e suporta a hipótese de que o complexo interage com o DNA por meio dos sulcos.

4.8.3 Eletroforese em gel de agarose

Os plasmídeos são excelentes modelos para estudos de clivagem do DNA. As reações de clivagem do plasmídeo podem ser monitoradas por eletroforese em gel de agarose. O plasmídeo pode assumir três conformações: a conformação superenovelada (FSE), que é a forma intacta do plasmídeo; a conformação circular aberta (FCA), que é menos tensionada do que a forma superenovelada, a qual é obtida após uma ruptura em uma das fitas da conformação FSE, e finalmente, um segundo corte na fita do lado oposto gera a forma linear do plasmídeo (Forma FL). As conformações do plasmídeo apresentam mobilidades distintas quando submetidas à diferença de potencial no

gel de agarose. A distinção de mobilidade eletroforética (FSE > FL > FCA) possibilita a separação das conformações do DNA plasmidial (Figura 4.14).

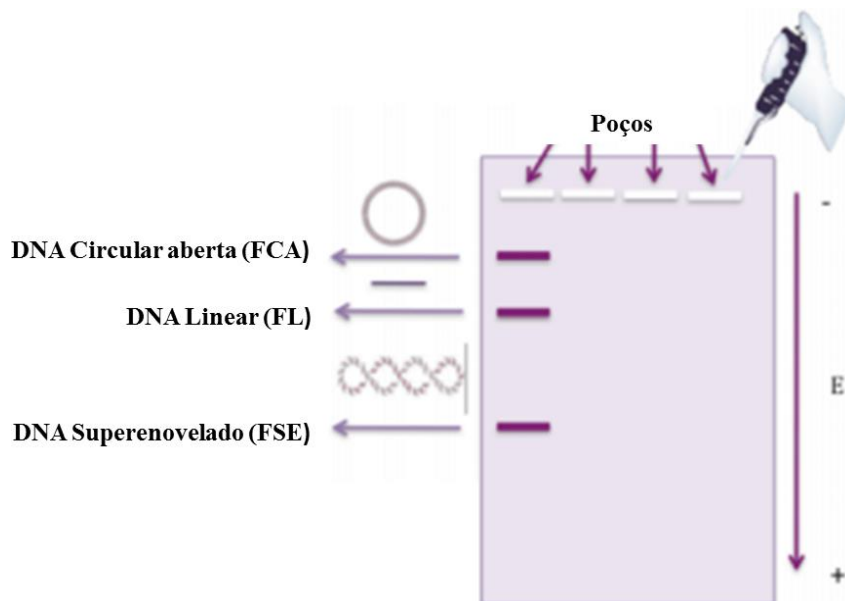


FIGURA 4.14 - Conformações do DNA plasmidial.

O efeito dos complexos (1) – (6) sobre a estrutura do plasmídeo foi avaliado pela capacidade de tais compostos em modificar a mobilidade do plasmídeo ptz57RT no ensaio de eletroforese em gel. O plasmídeo ptz57RT foi incubado com diferentes concentrações dos complexos por 18 h a 37 °C e, então, submetido à eletroforese em gel.

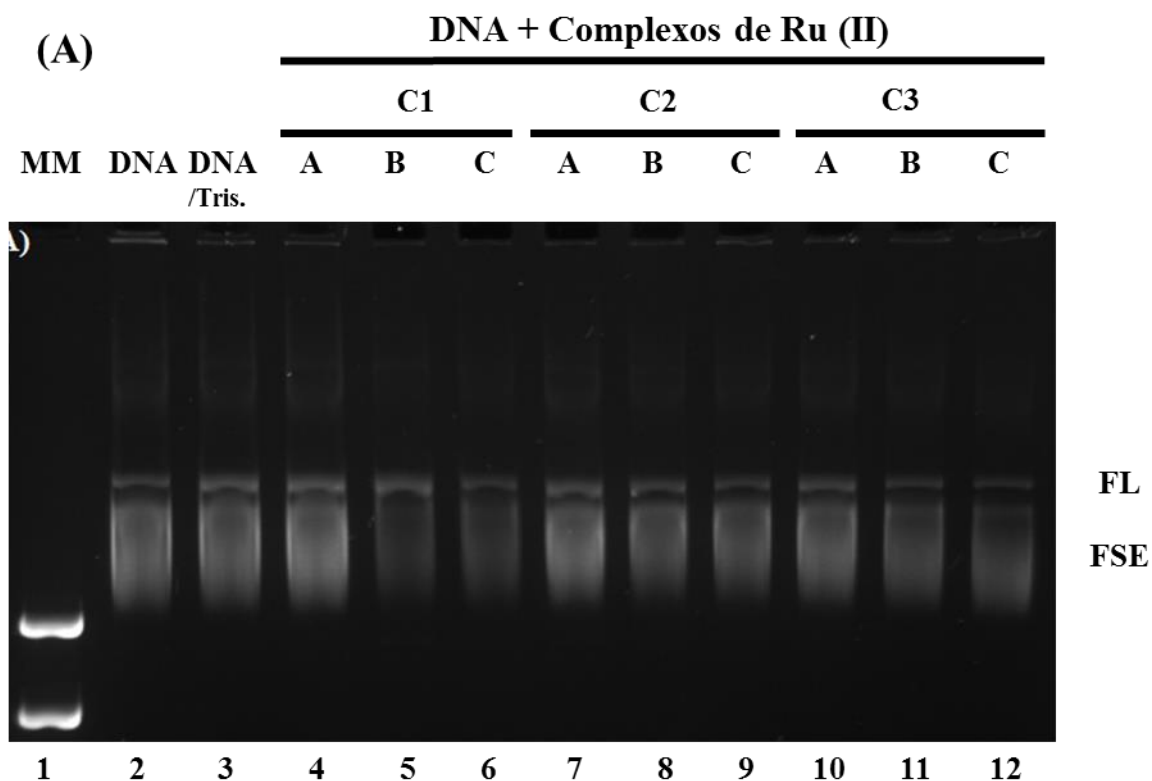


FIGURA 4.15 - Eletroforese em gel de agarose do plasmídeo ptz57RT na presença dos complexos (1) - (3). L1-Marcador de peso molecular; L2- plasmídeo em água; L3- plasmídeo em tampão Tris-HCl à 10% DMSO; L4 – plasmídeo tratado com complexo (1), na razão 0,5; L5 – plasmídeo tratado com complexo (1), na razão 1; L6 – plasmídeo tratado com complexo (1), na razão 2; L7 – plasmídeo tratado com complexo (2), na razão 0,5; L8 – plasmídeo tratado com complexo (2), na razão 1; L9 – plasmídeo tratado com complexo (2), na razão 2; L10 – plasmídeo tratado com complexo (3), na razão 0,5; L11 – plasmídeo tratado com complexo (3), na razão 1; L12 – plasmídeo tratado com complexo (3), na razão 2.

A Figura 4.15 ilustra o gel de eletroforese do plasmídeo ptz57RT em presença dos complexos (1) - (3). Na linha 2, encontra-se a amostra controle, o DNA plasmidial em água. É possível observar que as três conformações do plasmídeo estão presentes, sendo a conformação FSE majoritária. O plasmídeo em tampão Tris-HCl à 10% DMSO (linha 3), indica que a quantidade de DMSO

utilizada para realizar os experimentos não afeta as conformações do plasmídeo ptz57RT.

As amostras de plasmídeo pt57RT tratadas com os compostos (1) - (3) (nas razões molares complexo/pt57RT: 0,5; 1,0 e 2,0) estão representadas nas linhas 4 – 12. As amostras de plasmídeo tratadas com os complexos (1) - (3) apresentam praticamente a mesma mobilidade eletroforética da amostra controle (Linha 3). Pode-se inferir, portanto, que os compostos não provocam modificações na conformação terciária do DNA plasmidial, independentemente da razão molar complexo-DNA.

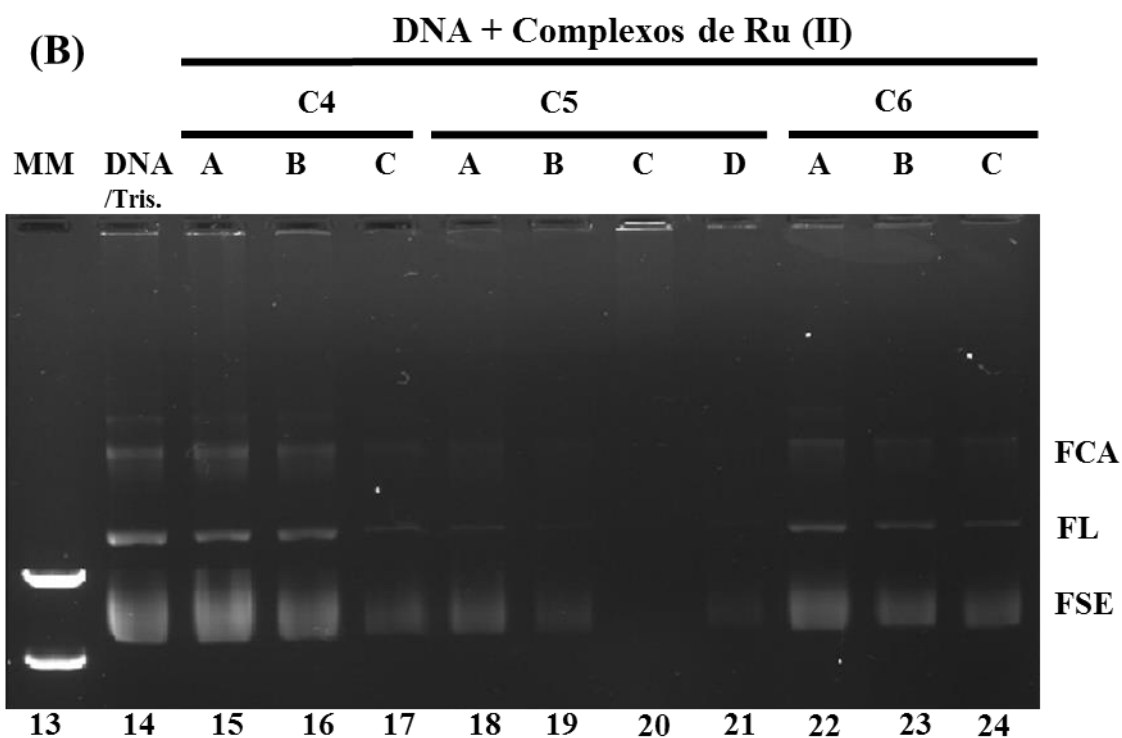


FIGURA 4.16 - Eletroforese em gel de agarose do plasmídeo ptz57RT na presença dos complexos (4) - (6). L13-Marcador de peso molecular; L14- plasmídeo em tampão Tris-HCl à 10% DMSO; L15 – plasmídeo tratado com complexo (4), na razão 0,5; L16 – plasmídeo tratado com complexo (4), na razão 1; L17 – plasmídeo tratado com complexo (4), na razão 2; L18 – plasmídeo tratado com complexo (5), na razão 0,5; L19 – plasmídeo tratado com complexo (5), na razão 1; L20 – plasmídeo tratado com complexo

(5), na razão 2; L21 – plasmídeo tratado com complexo (5), na razão 0,75; L22 – plasmídeo tratado com complexo (6), na razão 0,5; L23 – plasmídeo tratado com complexo (6), na razão 1; L24 – plasmídeo tratado com complexo (6), na razão 2.

A Figura 4.15 ilustra o gel de eletroforese do plasmídeo ptz57RT em presença dos complexos (4) - (6). Na linha 14, encontra-se a amostra controle, o DNA plasmidial em tampão Tris-HCl à 10% DMSO. As amostras de plasmídeo pt57RT tratadas com os complexos (4) - (6) (nas razões molares complexo/pt57RT: 0,5; 1,0 e 2,0) estão representadas nas linhas 15 - 24.

As amostras de plasmídeo tratadas com o complexo (4) nas razões molares 0,5 e 1,0 apresentaram mobilidade eletroforética semelhante da amostra controle (Linha 14). Entretanto, a amostra tratada com o complexo (4) na razão 2,0 (Linha 17) apresentou uma diminuição significativa nas intensidades das bandas do plasmídeo, indicando que o complexo em concentrações elevadas provoca alterações na conformação e a clivagem do DNA plasmidial. As amostras de plasmídeo tratadas com o complexo (6) apresentaram mobilidade eletroforética semelhante da amostra controle independentemente da razão molar complexo-DNA.

Contudo, o complexo (5) foi o que provou alterações mais significativas na migração eletroforética do plasmídeo. À medida que a razão complexo e ptz57RT aumenta, observa-se a diminuição das intensidades das bandas do plasmídeo e na razão 2 não é detectada nenhuma forma do plasmídeo.

O fenômeno de não detecção do DNA plasmidial em gel de agarose é comumente relacionado a dois possíveis motivos. Em alguns casos tem sido associado à intercalação do complexo às bases nitrogenadas do DNA, resultando na substituição do intercalador fluorescente (brometo de etídio) do plasmídeo e, conseqüentemente, a extinção de emissão do brometo de etídio. Entretanto, com o auxílio das outras técnicas mostrou-se improvável a intercalação do complexo

(5) ao DNA. Outra causa é a clivagem do DNA plasmidial causada pelo complexo. Esses fragmentos plasmidiais apresentam alta mobilidade eletroforética, o que provoca a migração destes fragmentos por todo o gel de agarose, levando ao desaparecimento das bandas do plasmídeo após a corrida eletroforética.

As mudanças na mobilidade eletroforética do plasmídeo ptz57RT mostrou que o complexo (5) é capaz de causar torções na dupla hélice do DNA, culminando em mudanças na estrutura terciária da biomolécula. O ensaio de eletroforese em gel de agarose está em concordância com os estudos realizados por viscosidade, os quais também evidenciam que a interação do complexo (5) é suficiente para provocar a contração na superfície do DNA.

4.8.4 Titulação espectrofotométrica UV-Vis

A titulação espectrofotométrica na região do UV-Vis é provavelmente a técnica mais simples e utilizada para estudar a magnitude de interação entre complexo e DNA. Os estudos de titulação espectrofotométrica são efetuados por monitoramento das alterações das bandas de absorção do complexo quando há algum tipo de interação com o DNA.

A interação entre complexo e o DNA provoca perturbações nas transições eletrônicas do complexo, como o deslocamento da posição de máximo da banda após a adição de alíquotas do DNA em relação ao composto livre, sendo possível correlacionar tais mudanças com os tipos de interação.

A afinidade da interação pode ser estimada pela constante intrínseca de ligação (K_b) de acordo com a equação de Benesi-Hildebrand. A constante de ligação possibilita comparar de forma quantitativa a força de ligação entre complexos e com compostos clássicos descritos na literatura. (SIRAJUDDIN et al., 2013).

Os espectros de absorção na região do UV-Vis obtidos para o complexo (1) na ausência e na presença de CT-DNA estão ilustrados na Figura

4.17. Os espectros eletrônicos de UV-Vis das titulações dos complexos (2) – (6) estão representados no Apêndice A. As constantes intrínsecas de ligação dos complexos estão apresentadas na Tabela 4.9.

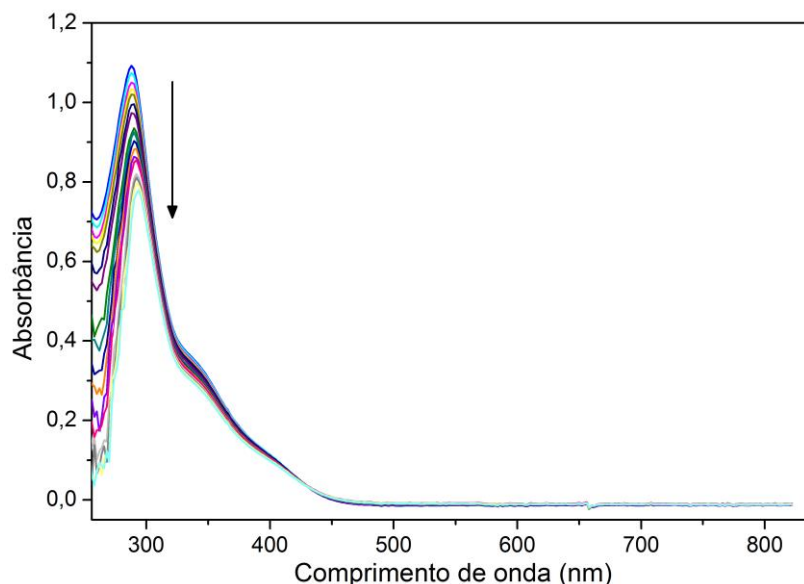


FIGURA 4.17 - Espectros da titulação espectroscópica do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ à $1,34 \text{ mmol L}^{-1}$ com o CT-DNA. Foram realizadas 20 adições sucessivas de $15 \text{ }\mu\text{L}$ de solução CT-DNA a $3,48 \text{ mmol L}^{-1}$.

TABELA 4.9 - Constantes de ligação (K_b) dos complexos (1) - (6).

Complexo	K_b (10^4 M^{-1})	Hipocromismo %	λ_{max} (nm)
(1)	$(3,8 \pm 0,3)$	11,3	288
(2)	$(1,2 \pm 0,6)$	9,1	297
(3)	$(2,6 \pm 0,9)$	13,7	305
(4)	$(1,3 \pm 0,7)$	11,9	271
(5)	$(4,1 \pm 0,5)$	14,8	287
(6)	$(0,9 \pm 0,2)$	7,4	298

Inicialmente foram obtidos os espectros eletrônicos de absorção dos complexos correspondente na ausência de DNA, e após adições sucessivas de CT-DNA à solução dos complexos foram coletados os demais espectros. As bandas de transição intraligante $\pi \rightarrow \pi^*$ na região de 280 -300 nm dos complexos foram escolhidas para acompanhar os efeitos das adições do CT-DNA.

As sucessivas adições de DNA aos complexos resultaram em hipocromismo de 7 – 12% e pequeno deslocamento para o vermelho de 2 - 4 nm (efeito batocrômico) das bandas em todos os complexos. Os resultados obtidos implicam que os modos de interação entre os complexos e o DNA são similares e as forças de interação são relativamente fracas.

O padrão de comportamento obtido dos efeitos de hipocromismo e batocrômico dos complexos permite tirar algumas conclusões, como a exclusão da intercalação dos complexos ao DNA. Quando moléculas são intercaladoras entre os pares de bases do DNA, geralmente é caracterizado por um grande deslocamento batocrômico de 10 – 15 nm e hipocromismo de 35 – 50 % do máximo de absorção das bandas, devido ao modo intercalativo envolver uma forte interação de empilhamento entre o cromóforo aromático e os pares de base do DNA. Contudo, os compostos descritos na literatura que apresentam interações eletrostáticas e entre os sulcos do DNA promovem um pequeno desvio para o vermelho e hipocromismo de aproximadamente 5 – 20%.

Os valores das constantes de ligação (K_b) (Tabela 4.9) dos complexos ao DNA são semelhantes, com a ordem de grandeza na faixa de $1 \times 10^3 - 10^4 \text{ L mol}^{-1}$. As constantes de interação são menores que dos intercaladores clássicos, como o brometo de etídio ($K_b = 1,4 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$) e complexos de rutênio metalintercaladores descritos na literatura (CHAO et al., 2002; PYLE et al., 1989). No entanto, os valores encontrados estão de acordo com os relatados na literatura para complexos que se mostraram capazes de interagir eletrostaticamente ou entre os sulcos ao DNA. De acordo com o

exposto anteriormente, o complexo (5) apresentou o maior valor de constante de ligação e maior hipocromismo entre os complexos, indicando maior afinidade pelo DNA que os demais complexos.

4.8.5 Considerações finais dos estudos de interação com DNA

Os resultados dos estudos de interação dos complexos com o plasmídeo ptz57RT por eletroforese em gel agarose corroboram com os resultados dos estudos realizados com o CT-DNA por dicroísmo circular, viscosidade e titulação espectrofotométrica.

O conjunto de dados permitiu dividir os complexos em dois grupos, quanto ao seu comportamento na presença de DNA. Os complexos (1) - (4) e (6) apresentam interações fracas e reversíveis com o DNA, as quais não causam alterações na estrutura do DNA. Essas interações provavelmente são de origem eletrostática entre os complexos catiônicos e os grupos fosfatos carregados negativamente situados ao longo da parte exterior da dupla hélice. No entanto, o complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ (5) causa alterações nas estruturas secundária e terciária do DNA, evidenciando a atuação de outros modos de interação quando comparado aos demais complexos.

Diante do exposto, pode-se afirmar que pequenas mudanças nos ligantes auxiliares influenciam diretamente na afinidade dos complexos ao DNA. Comparando-se os complexos (4) e (5), observa-se que ambos são monocatiônicos e estruturalmente são similares e, como já descrito, apresentam diferentes efeitos sobre a estrutura do DNA. O complexo (5) com o ligante diimínico difenil-fenantrolina apresenta uma maior superfície aromática comparando com o complexo (4). A hipótese sugerida é de que os anéis fenílicos do ligante dphfen apresentam liberdade de torção comparado com os demais complexos, o que possibilita uma aproximação efetiva da cadeia do DNA via sulcos do DNA. Outro fator a ser considerado são as contribuições das

interações de hidrogênio na estabilização da interação do complexo entre os sulcos do DNA.

Muitos trabalhos têm demonstrado que os complexos com o ligante dphfen sobressaem outros complexos com ligantes diimínicos, tanto na interação com biomoléculas quanto pela citotoxicidade.

4.8.6 Estudo do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ com guanosina e piridina

Uma possível labilização do ligante clorido da esfera de coordenação do complexo (5), que abre um sítio vago e possibilita a coordenação de uma base nitrogenada do DNA ao centro metálico, também foi alvo de estudo. Com o objetivo de observar uma possível coordenação do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ a ligantes semelhantes aos componentes dos nucleotídeos, foram realizados estudos por RMN com os ligantes, piridina e guanosina. A solução de uma mistura do complexo (5) e piridina foi analisada por RMN de ^{31}P { ^1H } e ^1H em diferentes tempos.

Os espectros de RMN de ^{31}P { ^1H } do complexo (5) na presença do ligante piridina não apresentaram mudanças no perfil dos espectros. Nos espectros de RMN de ^1H também não foram observadas mudanças nos deslocamentos químicos dos sinais dos hidrogênios do complexo e do ligante, indicando que nestas condições a piridina não coordena ao complexo. A coordenação da piridina ao complexo poderia ser facilmente identificada por meio do crescimento de um novo conjunto de sinais referente ao complexo coordenado ao ligante. Além disso, seria possível observar a variação do deslocamento químico dos sinais dos hidrogênios adjacentes do nitrogênio piridínico. Nos estudos realizados com a guanosina também não foram observadas alterações que indicam a coordenação do nucleosídeo ao complexo

(5). Conforme o exposto, a labilização do ligante clorido do complexo e a interação covalente não é favorecida nas condições experimentais realizadas.

4.9 Ensaios de viabilidade celular dos complexos

Os ensaios de citotoxicidade dos complexos (1) – (6) e de alguns ligantes N-N foram realizados frente às linhagens celulares de tumor de mama (MDA-MB-231) e não tumoral de fibroblasto de pulmão de hamster chinês (V79-4). Os valores de IC₅₀ estão apresentados na Tabela 4.10.

TABELA 4.10 - Valores de IC₅₀ (μmol L⁻¹) e índice de seletividade (IS) dos complexos e ligantes nas linhagens celulares MDA-MB-231 e V79-4.

Composto	IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)		IS
	MDA-MB-231	V79-4	
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa) ₂]Cl (1)	5,6 ± 0,20	>100	>18
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(bipy)]Cl (2)	4,2 ± 0,30	27,24 ± 1,63	6
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(dmbipy)]Cl (3)	2,42 ± 0,09	9,94 ± 2,26	4
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(fen)]Cl (4)	3,30 ± 0,01	> 50	> 15
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(dphfen)]Cl (5)	1,65 ± 0,05	3,08 ± 0,47	2
[RuCl(PPh ₃)(Hdpa)(en)]Cl (6)	25,50 ± 0,50	> 50	1,8
Hdpa	> 100	> 100	-
en	> 100	> 100	-
dmbipy	> 100	> 100	-
Cisplatina	2,44 ± 0,20	21,60	9

Os valores de IC₅₀ para a linhagem celular MDA-MB-231 mostraram que os complexos apresentam melhores atividades quando comparados com os ligantes livres, os quais não apresentaram atividade citotóxica nas concentrações analisadas.

Os complexos apresentam boas atividades citotóxicas, principalmente o complexo (5) que mostrou-se mais citotóxico que o fármaco de referência, cisplatina. Um dos principais fatores a ser analisado é a seletividade dos complexos. A seletividade está relacionada com a habilidade do complexo de ser mais ativo contra células tumorais, em relação às células não tumorais. Todos os complexos exibiram maior citotoxicidade nas células tumorais do que nas células não tumorais, apresentando seletividade maior que 1,8. Interessante notar que o complexo (5) também foi o mais citotóxico para as células não tumorais, conseqüentemente apresentou o menor valor de IS dentre os complexos. O complexo (1) apresentou o maior índice de seletividade, sendo 10 vezes maior do que o composto (5).

As atividades citotóxicas dos complexos podem ser relacionadas diretamente com suas estruturas. Os excelentes valores de citotoxicidade dos complexos, principalmente para o complexo (1), podem estar relacionados com as ligações de hidrogênio realizadas pelo grupo NH do ligante Hdpa. O complexo (3) com os substituintes $-\text{CH}_3$ nos anéis da bipy apresentou maior citotoxicidade comparado aos complexos (2) e (4). Tal fato sugere que regiões dos complexos com grupos hidrofóbicos também são interessantes alternativas para aumentar a atividade dos complexos.

Os complexos (1) – (5) com ligantes auxiliares aromáticos apresentaram citotoxicidade na faixa $1,65 - 5,60 \mu\text{mol L}^{-1}$, enquanto que o complexo (6) com o ligante etilenodiamina apresentou uma atividade 15 vezes menor em comparação ao complexo (5), tais resultados podem ser justificados por alguns fatores. Inicialmente mostra-se que os ligantes auxiliares são importantes na atividade citotóxica dos complexos, sendo que os ligantes diimínicos proporcionam maior citotoxicidade em comparação ao ligante etilenodiamina. Outro aspecto relevante sobre a diferença dos valores de IC_{50} pode estar relacionado ao fato do complexo (6) sofrer hidrólise em meio aquoso, provocando a desativação do complexo.

A atividade biológica do complexo (5) apresenta uma correlação com os dados de interação com o DNA. Nos estudos de interação o DNA mostrou-se como um possível alvo biológico do complexo (5). A excelente atividade citotóxica do complexo frente às linhagens celulares pode ser justificada pelos danos causados ao DNA. Os demais complexos também exibem boa atividade citotóxica, entretanto apresentaram interações fracas com o DNA, o que sugere que para esses compostos a atuação seja por diferentes mecanismos de ação e alvos.

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho foram apresentadas as sínteses e caracterizações de seis novos complexos fosfínicos de rutênio contendo o ligante 2,2'-dipiridilamina, de fórmula geral $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{N-N})]$ (onde: N-N = ligantes diimínicos e amina alifática). Os dados de caracterização mostraram que o ligante Hdpa coordenou-se de maneira bidentada ao rutênio, por meio dos nitrogênios piridínicos, formando um anel de seis membros.

Os complexos apresentaram excelentes atividades citotóxicas frente à linhagem tumoral MDA-MB-231, com resultados de IC_{50} inferiores aos dos ligantes livres. Destaca-se o complexo (**5**) que apresentou maior citotoxicidade ($\text{IC}_{50} = 1,65 \pm 0,05 \mu\text{mol L}^{-1}$) dentre os complexos avaliados e comparados ao fármaco de referência, o cisplatina ($\text{IC}_{50} = 2,44 \pm 0,20 \mu\text{mol L}^{-1}$). Por meio dos testes de citotoxicidade frente à linhagem celular não tumoral V79-4, foi possível determinar que todos os complexos sintetizados são mais citotóxicos para células tumorais do que para células não tumorais.

Os estudos de interação dos complexos com o DNA, realizados por titulação espectroscópica na região do UV-Vis, medidas de viscosidade, dicroísmo circular e eletroforese em gel de agarose, evidenciaram que os complexos (**1**) - (**4**) e (**6**) apresentam interações reversíveis por meio de atrações eletrostáticas fracas entre os grupos aniônicos da cadeia de fosfato do DNA e os complexos catiônicos, não sendo este um dos alvos biológicos principais para estes complexos. Contudo, apresentaram boas atividades citotóxicas, o que sugere a atuação por diferentes mecanismos de ação e alvos biológicos.

Os estudos de interação mostraram que o complexo (**5**), $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$, causa danos significativos na estrutura do DNA, evidenciando que pequenas mudanças nos ligantes auxiliares influenciam diretamente na afinidade dos complexos ao DNA. A maior extensão aromática do ligante dphfen, comparado com os demais complexos, possibilita uma maior

aproximação aos sulcos do DNA, sendo o suficiente para provocar a contração na superfície da biomolécula. O grupo NH do ligante Hdpa pode auxiliar na estabilização da interação do complexo entre os sulcos do DNA por meio de interações de hidrogênio. Tais resultados demonstraram que o DNA é um possível alvo biológico do complexo (**5**), o que explica a excelente atividade citotóxica do complexo.

6 REFERÊNCIAS

- AHMAD, S.; ISAB, A. A.; ALI, S.; RAHAMAN, A.; AL-ARFAJ. "Perspectives in bioinorganic chemistry of some metal based therapeutic agents". *Polyhedron*, **25**: 1633–1645, 2006.
- ALLARDYCE, C. S.; DYSON, P. J. "Ruthenium in Medicine: Current clinical uses and future prospects". *Platinum Met. Rev.*, **45**: 62-69, 2001.
- ALMEIDA, M. A. P.; DO NASCIMENTO, F. B.; GRAMINHA, A. E.; FERREIRA, A. G.; ELLENA, J.; MELLO, F. M. DOS S.; DE LIMA, A. P.; SILVEIRA-LACERDA, E. D. P.; BATISTA, A. A. "Structural features and cytotoxic activities of [Ru(AA-H)(dppb)(bipy)]PF₆ complexes". *Polyhedron*, **81**: 735-742, 2014.
- BAKA, E.; COMER, J.E.A.; TAKÁCS-NOVÁK, K. "Study of equilibrium solubility measurement by saturation shake-flash method using hydrochlorothiazide as model compound". *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **46**: 335-341, 2008.
- BARBOSA, M. I. F.; CORRÊA, R. S., DE OLIVEIRA, K. M.; RODRIGUES, C.; ELLENA, J.; NASCIMENTO, O. R.; ROCHA, V. P. C.; NONATO, F. R.; MACEDO, T. S.; BARBOSA-FILHO, J. M.; SOARES, M. B. P. "Antiparasitic activities of novel ruthenium/lapachol complexes". *J. Inorg. Biochem.*, **136**: 33-39, 2014.
- 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**: 2123-2128, 2001.
- BELTRAN, L.; CASADO, P.; RODRÍGUEZ-PRADOS, J. C.; CUTILLAS, P. R. "Global profiling of protein kinase activities in cancer cells by mass spectrometry". *J. Proteomics*, **77**: 492-503, 2012.
- BERGAMO, A.; GAIDDON, C.; SCHELLENS, J. H. M., BEIJNEN, J.H., SAVA, G. "Approaching tumour therapy beyond platinum drugs status of the art and perspectives of ruthenium drug candidates". *J. Inorg. Biochem.*, **106**: 90–9, 2012.
- BERGAMO, A.; GAVA, B.; ALESSIO, E.; MESTRONI, G.; SERLI, B.; COCCHIETTO, M.; ZORZET, S.; SAVA, G. "Ruthenium-based NAMI-A type

complexes with in vivo selective metastasis reduction and in vitro invasion inhibition unrelated to cell cytotoxicity”. *Int. J. Oncol.*, **21**: 1331-1338, 2002.

BERGAMO, A.; SAVA, G. “Ruthenium anticancer compounds: myths and realities of the emerging metal-based drugs”. *Dalton Trans.*, **40**: 7817-7823, 2011.

BERGAMO, A.; SAVA, G. “Ruthenium complexes can target determinants of tumour malignancy”. *Dalton Trans.*, 1267–1272, 2007.

BOER, D. R.; WU, L.; LINCOLN, P.; COLL, M. “Thread insertion of a bis(dipyridophenazine) diruthenium complex into the DNA double helix by the extrusion of AT base pairs and cross-linking of DNA duplexes”. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **53**: 1949–1952, 2014.

CAIRNS, R. A.; HARRIS, I. S.; WAK, T. W. “Regulation of cancer cell metabolism”. *Nat. Rev. Cancer*, **11**: 85–95, 2011.

CASINI, A.; HARTINGER, C.; GABBIANI, C.; MINI, E.; DYSON, P. J.; KEPPLER, B. K.; MESSORI, L. “Gold(III) compounds as anticancer agents: Relevance of gold–protein interactions for their mechanism of action”. *J. Inorg. Biochem.*, **102**: 564–575, 2008.

CH O, H.; MEI, W. J.; HU NG, Q. W.; JI, L. N. “DN binding studies of ruthenium(II) complexes containing asymmetric tridentate ligands”. *J. Inorg. Biochem.*, **92**: 165-178, 2002.

CHATTERJEE, S.; KUNDU, S.; BHATTACHARYYA, A.; HARTINGER, C. G.; DYSON, P. J. “The ruthenium(II)–arene compound RAPTA-C induces apoptosis in EAC cells through mitochondrial and p53–JNK pathways”. *J. Biol. Inorg. Chem.*, **13**: 1149–1155, 2008.

CORRÊA, R. S.; DE OLIVEIRA, K. M.; DE LOLO, 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”. *J. Inorg. Biochem.*, **150**: 63-71, 2015.

DE ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. D. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNIMI, C. L.; LOPES, M. T. P. “Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: Uma introdução”. *Quim. Nova*, **28**: 118-129, 2005.

DE ARAUJO, M. P.; DE FIGUEIREDO, A. T.; BOGADO, A. L.; POELHSITZ, G. V.; ELLENA, J.; CASTELLANO, E. E.; DONNICI, C. L.; COMASSETO, J. V.; BATISTA, A. A. "Ruthenium phosphine/diimine complexes: Syntheses, characterization, reactivity with carbon monoxide, and catalytic hydrogenation of ketones". *Organometallics*, **24**: 6159-6168, 2005.

DE KONING, P. D.; JACKSON, M.; LENNON, L. C. "Use of achiral (diphosphine)RuCl₂(diamine) precatalysts as a practical alternative to sodium borohydride for ketone reduction". *Org. Process Res. Dev.*, **10**: 1054–1058, 2006.

DEPENBROCK, H.; SCHMELCHER, S.; PETER, R.; KEPPLER, B. K.; WEIRICH, G.; BLOCK, T.; RASTETTER, J.; HANAUSKE, A. R. "Preclinical activity of trans-indazolium [tetrachlorobisindazolerothenate(III)] (NSC 666158; IndCR; KP 1019) against tumour colony-forming units and haematopoietic progenitor cells". *Eur. J. Cancer*, **33**: 2404–2410, 1997.

DEVI, C. S.; KUMAR, D. A.; SINGH, S. S.; GABRA, N.; DEEPIKA, N.; KUMAR, Y. P.; SATYANARAYANA, S. "Synthesis, interaction with DNA, cytotoxicity, cell cycle arrest and apoptotic inducing properties of ruthenium(II) molecular "light switch" complexes". *Eur. J. Med. Chem.*, **64**: 410-421, 2013.

DEVI, C. S.; NAGABABU, P.; NATARAJAN, S.; DEEPIKA, N.; REDDY, P. V.; VEERABABU, N.; SINGH, S. S.; SATYANARAYANA, S. "Cellular uptake, cytotoxicity, apoptosis and DNA-binding investigations of Ru (II) complexes". *Eur. J. Med. Chem.*, **72**: 160-169, 2014.

DOUGAN, S. J.; MELCHART, M.; HABTERMARIAM, A.; PARSONS, S.; SADLER, P. J. "Phenylazo-pyridine and phenylazo-pyrazole chlorido Ruthenium(II) arene complexes: arene loss, aquation, and cancer cell cytotoxicity". *Inorg. Chem.*, **45**: 10882–10894, 2006.

DRALLE, K.; ORVIG, C. "Metallo drugs in medicinal inorganic chemistry". *Chem. Rev.*, **114**: 4540–4563, 2014.

EFTHIMIADOU, E. K.; KATSAROU, M. E.; KARALIOTA, A.; PSOMAS, G. "Copper(II) complexes with sparfloxacin and nitrogen-donor heterocyclic ligands: Structure–activity relationship". *J. Inorg. Biochem.*, **102**: 910–920, 2008.

EFTHIMIADOU, E. K.; KATSAROU, N.; KARALIOTA, A.; PSOMAS, G. "Mononuclear copper(II) complexes with quinolones and nitrogen-donor heterocyclic ligands: Synthesis, characterization, biological activity and interaction with DNA". *Inorg. Chim. Acta*, **360**: 4093–4102, 2007.

- ERNST, R. J.; SONG, H.; BARTON, J. K. "DNA mismatch binding and antiproliferative activity of rhodium metalloinsertors". *J. Am. Chem. Soc.*, **131**: 2359–2366, 2009.
- FARRELL, N. P.; DE ALMEIDA, S. G.; SKOV, K. A. "Bis(platinum) complexes containing two platinum cis-diammine units. Synthesis and initial DNA-binding studies". *J. Am. Chem. Soc.*, **110**: 5018–5019, 1988.
- FARRUGIA, J. "WinGX suite for small-molecule single-crystal crystallography". *J. Appl. Crystallogr.*, **32**: 837, 1999.
- FARRUGIA, L. "ORTEP-3 for Windows - a version of ORTEP-III with a Graphical User Interface (GUI)". *J. Appl. Crystallogr.*, **30**: 568, 1997.
- FENG, L.; GEISSELBRECHT, Y.; BLANCK, S.; WILBUER, A.; ATILLA-GOKCUMEN, G. E.; FILIPPAKOPOULOS, P.; KRALING, K.; CELIK, A. M.; HARMS, K.; MAKSIMOSKA, J.; MARMORSTEIN, R.; FRENKING, G.; KNAPP, S.; ESSEN, L. O.; MEGGERS, E. "Structurally sophisticated octahedral metal complexes as highly selective protein kinase inhibitors". *J. Am. Chem. Soc.*, **133**: 5976–5986, 2011.
- GALANSKI, M.; KEPPLER, B. K. "Searching for the magic bullet: Anticancer platinum drugs which can be accumulated or activated in the tumor tissue". *Anti-Cancer Agents Med. Chem.*, **7**: 55-73, 2007.
- GARROU, P. E. "Ring contributions to the phosphorus-31 chemical shifts of transition metal-phosphorus chelate complexes". *Inorg. Chem.*, **14**: 1435-1439, 1975.
- GEORGIADES, S. N.; VILAR, R. "Interaction of metal complexes with nucleic acids". *Annu. Rep. Prog. Chem., Sect. A: Inorg. Chem.*, **106**: 481–503, 2010.
- GIANFERRARA, T.; BRATSOS, I.; ALESSIO, E. "A categorization of metal anticancer compounds based on their mode of action". *Dalton Trans.*, 7588-7598, 2009.
- GILL, M. R.; THOMAS, J. A. "Ruthenium(II) polypyridyl complexes and DNA—from structural probes to cellular imaging and therapeutics". *Chem. Soc. Rev.*, **41**: 3179–3192, 2012.
- POELHSITZ, G. V. "Nitrosilo complexos de rutênio com ligantes bifosfínicos: Espectroscopia, eletroquímica, estudo de reatividade e liberação de NO". São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar, 2005. Tese de doutorado, 284 p.

- HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. "The hallmarks of cancer". *Cell Press*, **100**: 57-70, 2000.
- HANNON, M. J. "Metal-based anticancer drugs: From a past anchored in platinum chemistry to a post-genomic future of diverse chemistry and biology". *Pure Appl. Chem.*, **79**: 2243–2261, 2007.
- HANNON, M. J. "Supramolecular DNA recognition". *Chem. Soc. Rev.*, **36**: 280–295, 2007 (A).
- HARDER, H. C.; ROSENBERG, B. "Inhibitory effects of anti-tumor platinum compounds on DNA, RNA and protein syntheses in mammalian cells in vitro". *Int. J. Cancer*, **6**: 207-216, 1970.
- HARRIS, A. L.; YANG, X.; HEGMANS, A.; POVIRK, L.; RYAN, J. J.; KELLAND, L.; FARRELL, N. P. "Synthesis, characterization, and cytotoxicity of a novel highly charged trinuclear platinum compound. Enhancement of cellular uptake with charge". *Inorg. Chem.*, **44**: 9598-9611, 2005.
- HARTINGER, C. G., JAKUPEC, M. A., ZORBAS-SEIFRIED, S.; GROESSL, M.; EGGER, A.; BERGER, W.; ZORBAS, H.; DYSON, P. J.; KEPPLER, B. K. "KP1019, A new redox-active anticancer agent – preclinical development and results of a Clinical Phase I study in tumor patients". *Chem. Biodiversity*, **5**: 2140-2155, 2008.
- HE, X.; JIN, L.; TAN, L. "DNA-binding, topoisomerases I and II inhibition and in vitro cytotoxicity of ruthenium(II) polypyridyl complexes: [Ru(dppz)₂L]₂⁺ (L = dppz-11-CO₂Me and dppz)". *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, **135**: 101–109, 2015.
- HENSING, T. A.; HANNA, N. H.; GILLENWATER, H. H.; CAMBONI, G. M.; ALLIEVI, C.; SOCINSKI, M. A. "Phase II study of BBR 3464 as treatment in patients with sensitive or refractory small cell lung cancer". *Anti-cancer Drugs*, **17**: 697-704, 2006.
- JAMIESON, E. R.; LIPPARD, S. J. "Structure, recognition, and processing of cisplatin–DNA adducts". *Chem. Rev.*, **99**: 2467–2498, 1999.
- JOHANN, T. W.; BARTON, J. K. "Recognition of DNA by octahedral coordination complexes". *Phil. Trans. R. Soc. A*, **354**: 299-324, 1996.
- JURISSON, S.; BERNING, D.; JIA, W.; MA, D. "Coordination compounds in nuclear medicine". *Chem. Rev.*, **93**: 1137-1156, 1993.

- KARTALOU, M.; ESSIGMANN, J. M. "Mechanisms of resistance to cisplatin". *Mutat. Res.*, **478**: 23–43, 2001.
- KELLAND, L. "The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy". *Nat. Rev. Cancer*, **7**: 573-684, 2007.
- KELLY, J. M.; TOSSI, A. B.; MCCONNELL, D. J.; OHUIGIN, C. "A study of the interactions of some polypyridylruthenium(II) complexes with DNA using fluorescence spectroscopy, topoisomerisation and thermal denaturation". *Nucleic Acids Res.*, **13**: 6017-6034, 1985.
- KIM, S. K.; NORDEN, B. "Methyl green: A DNA major-groove binding drug". *FEBS J.*, **315**: 61-64, 1993.
- KOMOEDA, S.; MOULAEI, T.; WOODS, K. K.; CHIKUMA, M.; FARRELL, N. P.; WILLIAMS, L. D. "A Third Mode of DNA Binding: Phosphate Clamps by a Polynuclear Platinum Complex". *J. Am. Chem. Soc.*, **128**: 16092-16103, 2006.
- KOMOR, A. C. Design, synthesis, and biological activity of rhodium metalloinsertors. PASADENA, CA, California Institute of Technology, 2014. Tese de doutorado, 291 p.
- KROEMER, G.; POUYSSEGUR, J. "Tumor cell metabolism: Cancer's achilles' heel". *Cancer Cell*, **13**: 472-482, 2008.
- KUNICK, C.; OTT, I. "Metal complexes as Protein Kinase inhibitors". *Angew. Chem. Int. Ed.*, **49**: 5226–5227, 2010.
- LEVINE, L. A.; WILLIAMS, M. E. "Inorganic biomimetic nanostructures." *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **13**: 669 –677, 2009.
- LIU, H. K.; SADLER, P. J. "Metal complexes as DNA intercalators". *Acc. Chem. Res.*, **44**: 349-359, 2011.
- MACHURA, B.; GRYCA, I. "Synthesis, spectroscopic characterization, X-ray structure and DFT calculations of p-tolylimido rhenium (V) complexes of 2,2'-dipyridylamine". *Polyhedron*, **53**: 83–90, 2013.
- 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". *J. Appl. Crystallogr.*, **41**:466-475, 2008.

- MANSURI-TORSHIZI, H.; MITAL, R.; SRIVASTAVA, T. S.; PAREKH, H. CHITNIS, M. P. "Synthesis, characterization, and cytotoxic studies of α -Diimine/1,2-Diamine Platinum(II) and Palladium(II) complexes of Selenite and Tellurite and binding of some of these complexes to DNA". *J. Inorg. Biochem.*, **44**: 239-241, 1991.
- MEDICI, S.; PEANA, M.; NURCHI, V. M.; LACHOWICZ, J. I.; CRISPONI, G.; ZORODDU, M. A. "Noble metals in medicine: Latest advances". *Coord. Chem. Rev.*, **284**: 329–350, 2015.
- MEI, H. Y.; BARTON, J. K. "Chiral probe for A-Form Helices of DNA and RNA: Tris(tetramethylphenanthroline)ruthenium(II)". *J. Am. Chem. Soc.*, **108**: 7414-7416, 1986.
- MENG, X.; LEYVA, M. L.; JENNY, M.; GROSS, I.; BENOSMAN, S.; FRICKER, B.; HARLEPP, S.; HEBRAUD, P.; BOOS, A.; WLOSIK, P.; BISCHOFF, P.; SIRLIN, C.; PFEFFER, M.; LOEFFER, J. P.; GAIDDON, C. A "Ruthenium-Containing Organometallic Compound Reduces Tumor Growth through Induction of the Endoplasmic Reticulum Stress Gene CHOP". *Cancer Res.*, **69**: 5458-5466, 2009.
- MILACIC, V.; DOU, Q. P. "The tumor proteasome as a novel target for gold (III) complexes: Implications for breast cancer therapy". *Coord. Chem. Rev.*, **253**: 1649–1660, 2009.
- MONDELLI, M. A.; GRAMINHA, A. E.; CORRÊA, R. S.; DA SILVA, M. M.; CARNIZELLO, A. P.; POELHSITZ, G. V.; 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**: 312–318, 2014.
- MOSMANN, T. "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cyto-toxicity assays". *J. Immun. Meth.*, **65**: 55, 1983.
- NIELSEN, P. E.; ENGHOLM, M.; BERG, R. H.; BUCHARDT, O. "Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide". *Science*, **254**: 1497-1500, 1991.
- NAKAMOTO, K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*. 6ª edição, Editora Wiley Inter-Science, 2009, p. 285.

- NOVÁKOVÁ, O.; KASPARKOVA, J.; VRANA, O.; VLIET, P. M. V.; REEDIJK, J.; BRABEC, V.; “Correlation between cytotoxicity and DNA binding of polypyridyl ruthenium complexes”. *Biochemistry*, **34**: 12369-12378, 1995.
- PAGES, B. J.; ANG, D. L.; WRIGHT, E. P.; ALDRICH-WRIGHT, J. R. “Metal complex interactions with DNA”. *Dalton Trans.*, **44**: 3505-3526, 2015.
- PATEL, M. N.; PARMAR, P. A.; GANDHI, D. S.; PATIDAR, A. P. “DNA interactions and cytotoxic studies of cis-platin analogues of substituted 2,2'-bipyridines”. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, **97**: 54–59, 2012.
- PAUL, A. K.; MANSURI-TORSHIZI, H.; SRIVASTAVA, T. S.; CHAVAN, S. J.; CHITNIS, M. P. “Some potential antitumor 2,2'-dipyridylamine Pt(II)/Pd(II) complexes with amino acids: Their synthesis, spectroscopy, DNA binding, and cytotoxic studies”. *J. Inorg. Biochem.*, **50**: 9-20, 1993.
- PAUL, A. K.; SRIVASTAVA, T. S.; CHAVAN, S. J.; CHITNIS, M. P.; DESAI, S.; RAO, K. K. “Synthesis, characterization, cytotoxic, and DNA binding studies of some Platinum(II) complexes of 1,2-diamine and a diimine with 2-pyridinecarboxylate anion”. *J. Inorg. Biochem.*, **61**: 179-196, 1996.
- PEREIRA, F. DE C.; LIMA, B. A. V.; LIMA, A. P.; PIRES, W. C.; MONTEIRO, T.; MAGALHÃES, L. F.; COSTA, W.; GRAMINHA, A. E.; BATISTA, A. A.; ELLENA, J.; SIVEIRA-LACERDA, E. P. “cis-[RuCl(BzCN)(N-N)(P-P)]PF₆ complexes: Synthesis and in vitro antitumor activity”. *J. Inorg. Biochem.*, **149**: 91-101, 2015.
- PERRIN, D. D.; ARMARENGO, W.L. “Purification of laboratory chemicals”, 3^a ed.- Academic Press, Inc., 1990.
- PETTINARI, R.; MARCHETTI, F.; CONDELLO, F.; PETTINARI, C.; LUPIDI, G.; SCOPELLITI, R.; MUKHOPADHYAY, S.; RIEDEL, T.; DYSON, P. J. “Ruthenium (II) – arene RAPTA type complexes containing curcumin and bisdemethoxycurcumin display potent and selective anticancer activity”. *Organometallics*, **33**: 3709-3715, 2014.
- PEYRONE, M. “Ueber die Einwirkung des Ammoniaks auf Platinchlorur”. *Liebigs Ann.*, 1-29, 1844.
- PLUTÍN, A. M.; MOCELO, R.; ALVAREZ, A.; RAMOS, R.; CASTELLANO, E. E.; COMINETTI, M. R.; GRAMINHA, A. E.; FERREIRA, A. G.; BATISTA, A. A. “On the cytotoxic activity of Pd(II) complexes of N,N-disubstituted-N'-acyl thioureas”. *J. Inorg. Biochem.*, **134**: 76-82, 2014.

- POELHSITZ, G. V.; BOGADO, A. L.; DE ARAUJO, M. P.; DE ARAÚJO, H. S. S.; ELLENA, J.; CASTELLANO, E. E.; BATISTA, A. A. "Synthesis, characterization, X-ray structure and preliminar in vitro antitumor activity of the nitrosyl complex fac-[RuCl₃(NO)(dppf)], dppf = 1,1 0-bis(diphenylphosphine)ferrocene". *Polyhedron*, **26**: 4707–4712, 2007.
- PYLE, A. M.; REHMANN, J. P.; MESHOYRER, R.; KUMAR, C. V.; TURRO, N. J.; BARTON, J. K. "Mixed-ligand complexes of ruthenium (II): Factors governing binding to DNA". *J. Am. Chem. Soc.*, **111**: 3051-3058, 1989.
- RABIK, C. A.; DOLAN, E. "Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents". *Cancer Treat. Rev.*, **33**: 9–23, 2007.
- RAJENDIRAN, V.; MURALI, M.; SURESH, E.; PALANIANDAVAR, M.; ERIASAMY, V. S.; AKBARSHA, M. A. "Non-covalent DNA binding and cytotoxicity of certain mixed-ligand ruthenium (II) complexes of 2,2'-dipyridylamine and diimines". *Dalton Trans.*, 2157–2170, 2008.
- RATANAPHAN, A.; TEMBOOT, P.; DYSON, P. J. "In vitro ruthenation of human breast cancer suppressor Gene 1 (BRCA1) by the antimetastasis compound RAPTA-C and its analogue CarboRAPTA-C". *Chem. Biodiversity*, **7**: 1290-1302, 2010.
- REEDIJK, J. "The mechanism of action of platinum anti-tumor drugs". *Pure Appl. Chem.*, **59**: 181—192, 1987.
- REEDIJK, J. "Why Does Cisplatin Reach Guanine-N7 with Competing S-Donor Ligands Available in the Cell?". *Chem. Rev.*, **99**: 2499–2510, 1999.
- REEDIJK, J.; FICHTINGER-SCHEPMAN, A. M. J.; HARTOC, J. H. D. "Formation of chelates between cis-diamminedichloroplatinum (II) and either GG or GCG units in oligonucleotides and DNA". *Inorg. Chim. Acta*, **79**: 252-253, 1983.
- RILAK, A.; BRATSOS, I.; ZANGRANDO, E.; KLJUN, J.; TUREL, I.; BUGARCIC, Z. D.; ALESSIO, E. "New water-soluble Ruthenium(II) terpyridine complexes for anticancer activity: Synthesis, characterization, activation kinetics, and interaction with guanine derivatives". *Inorg. Chem.*, **53**: 6113-6126, 2014.
- ROBERTS, S. A.; GORDENIN, D. A. "Hypermutation in human cancer genomes: footprints and mechanisms". *Nat. Rev. Cancer*, **14**: 786-880, 2014.

- ROBOLLEDO, A. P.; VIEITES, M., GAMBINO, D.; PIRO, O. E.; CASTELLANO, E. E.; ZANI, C. L.; SOUZA-FAGUNDES, E. M.; TEIXEIRA, L. R.; BATISTA, A. A.; BERALDO, H. "Palladium(II) complexes of 2-benzoylpyridine-derived thiosemicarbazones: Spectral characterization, structural studies and cytotoxic activity". *J. Inorg. Biochem.*, **99**: 698–706, 2005.
- RONCONI, L.; SADLER, P. J. "Using coordination chemistry to design new medicines". *Coord. Chem. Rev.*, **251**: 1633–1648, 2007.
- ROSENBERG, B.; VANCAMP, L.; KRIGAS, T. "Inhibition of cell division in *Escherichia Coli* by electrolysis products from a Platinum electrode". *Nature*, **205**: 698-699, 1965.
- ROSENBERG, B.; VANCAMP, L.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, V. H. "Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents". *Nature*, **222**: 385-386, 1969.
- SANTIAGO, M. O.; BATISTA, A. A.; DE ARAÚJO, M. P.; DONNICI, C. L.; MOREIRA, I. D. S.; CASTELLANO, E. E.; ELLENA, J.; DOS SANTOS-Jr., 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'-bipy]} complexes [X= -H, -Me, -SMe and (-Cl, -Me)]". *Transition Met. Chem.*, **30**: 170–175, 2005.
- SARKAR, B.; DOSCH, J.; SIMEONE, D. M. "Cancer stem cells: A new theory regarding a timeless disease". *Chem. Rev.*, **109**: 3200–3208, 2009.
- SCOLARO, C.; BERGAMO, A.; BRESCACIN, L.; DELFINO, R.; COCCHIETTO, M.; LAURENCZY, G.; GELDBACH, T. J.; SAVA, G.; DYSON, P. J. "In Vitro and in Vivo Evaluation of Ruthenium(II)-Arene PTA Complexes". *J. Med. Chem.*, **48**: 4161-4171, 2005.
- SHAW, C. F. "Gold-based therapeutic agents". *Chem. Rev.*, **99**: 2589-2600, 1999.
- SHELDRIK, G. M. "A short history of SHELX". *Acta Crystallogr. Sect. A*, **64**: 112, 2008.
- SHEPHERD, R. E.; CHEN, Y.; KORTES, R. A.; WARD, M. S. "[RuII(hedta)]-complexes of 2,2'-dipyridylamine (dpaH) and a bifunctional tethered analog, N,N,N',N'-tetrakis(2-pyridyl)adipamide (tpada)". *Inorg. Chim. Acta*, **303**: 30–39, 2000.
- SHEWACH, D. "Introduction to cancer chemotherapeutics". *Chem. Rev.*, **109**: 1-3, 2009.

- SIRAJUDDIN, M.; ALI, S.; BADSHAH, A. "Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltammetry". *J. Photochem. Photobiol., B*, **124**: 1–19, 2013.
- STEPHENSON, T. A.; WILKINSON, G. New complexes of Ruthenium (II) and (III) with triphenylphosphine, triphenylarsine, trichlorostannate, pyridine and other ligands". *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **28**: 945-956, 1966.
- SULLIVAN, B. P.; SALMON, D. J.; MEYER, T. J. "Mixed phosphine 2,2'-bipyridine complexes of Ruthenium". *Inorg. Chem.*, **17**: 3334-3341, 1978.
- SUN, Y.; COLLINS, S. N.; JOYCE, L. E.; TURRO, C. Unusual photophysical properties of a Ruthenium(II) complex related to $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ ". *Inorg. Chem.*, **49**: 4257–4262, 2010.
- SUNTHARALINGAM, K.; VILAR, R. "Interaction of metal complexes with nucleic acids". *Annu. Rep. Prog. Chem., Sect. A: Inorg. Chem.*, **107**: 339–358, 2011.
- SUSS-FINK, G. "Arene ruthenium complexes as anticancer agentes". *Dalton Trans.*, **39**: 1673-1688, 2010.
- TAKAHARA, P. M.; ROSENZWEIG, A. C.; FREDERICK, C. A.; LIPPARD, S. J. "Crystal structure of double-stranded DNA containing the major adduct of the anticancer drug cisplatin". *Nature*, **377**: 649-652, 1995.
- TRONDL, R.; HEFFETER, P.; KOWOL, C. R.; JAKUPEC, M. A.; BERGER, W.; KEPPLER, B. K. "NKP-1339, the first ruthenium-based anticancer drug on the edge to clinical application". *Chem. Sci.*, **5**: 2925-2932, 2014.
- TU, C.; WU, X.; LIU, Q.; WANG, X.; XU, Q.; GUO, Z. "Crystal structure, DNA-binding ability and cytotoxic activity of platinum(II) 2,2'-dipyridylamine complexes". *Inorg. Chim. Acta*, **357**: 95–102, 2004.
- VELHO, R. G. Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar, 2006. Dissertação de mestrado, 203 p.
- VITORINO, S. R. Rhodium(III) supramolecular complexes: Synthesis, DNA binding and biological studies. Birmingham, University of Birmingham, School of Chemistry, 2011. Tese de doutorado, 271 p.

- VOCK, C. A.; SCOLARO, C.; PHILLIPS, A. D.; SCOPELLITI, R.; SAVA, G.; DYSON, P. J. "Synthesis, characterization, and in Vitro evaluation of novel ruthenium(II) η^6 -Arene imidazole complexes". *J. Med. Chem.*, **49**: 5552-5561, 2006.
- WATSON, J. D.; CRICK, F. H. "Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid". *Nature*, **171**: 737-738, 1953.
- WEIDMANN, A. G.; KOMOR, A. C.; BARTON, J. K. "Targeted chemotherapy with metal complexes". *Comments Inorg. Chem.*, **34**: 114-123, 2014.
- WEISS, A.; BERNDSEN, R. H.; DUBOIS, M.; MULLER, C.; SCHIBLI, GRIFFOEN, A. W.; DYSON, P. J.; NOWAK-SLIWINSKA, P. "In vivo anti-tumor activity of the organometallic ruthenium(II)-arene complex [Ru(η^6 -p-cymene)Cl₂(pta)] (RAPTA-C) in human ovarian and colorectal carcinomas". *Chem. Sci.*, **5**: 4742-4748, 2014.
- WERNER, M. H.; GRONENBORN, A. M.; CLORE, G. M. "Intercalation, DNA Kinking, and the Control of Transcription". *Science*, **271**: 778-784, 1996.
- WOLFE, A.; SHIMER, G. H. J.; MEEHAN, T. "Polycyclic aromatic hydrocarbons physically intercalate into duplex regions of denatured DNA". *Biochemistry*, **26**: 6392-6396, 1987.
- WONG, E.; GIANDOMENICO, C. M. "Current status of platinum-based antitumor drugs". *Chem. Rev.*, **99**: 2451-2466, 1999.
- ZEGLIS, B. M.; PIERRE, V. C.; BARTON, J. K. "Metallo-intercalators and metallo-insertors". *Chem. Commun.*, **44**: 4565-4579, 2007.
- ZHANG, C. X.; LIPPARD, S. J. "New metal complexes as potential therapeutics". *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **7**: 481-489, 2003.
- ZIANNA, A.; PSOMAS, G.; HATZIDIMITRIOU, A.; COUTOULI-ARGYROPOULOU, E.; LALIA-KANTOURI, M. "Zinc complexes of salicylaldehydes: Synthesis, characterization and DNA-binding properties". *J. Inorg. Biochem.*, **127**: 116-126, 2013.

7 APÊNDICE

APÊNDICE A

A.1 – Espectros eletrônicos de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C dos complexos (1) – (6).

- Complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$

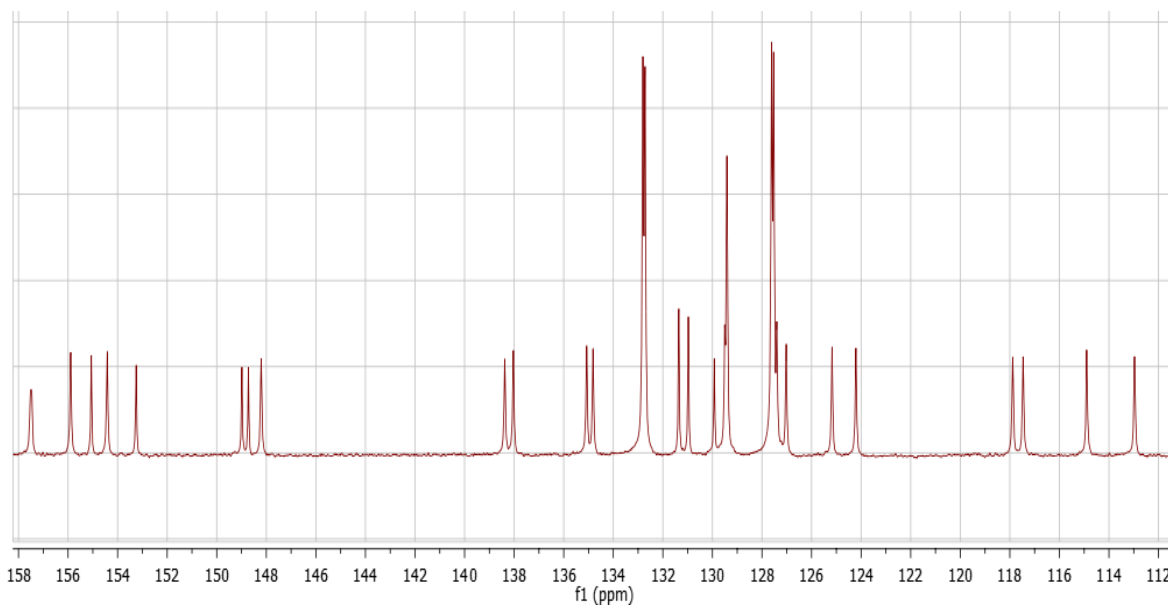
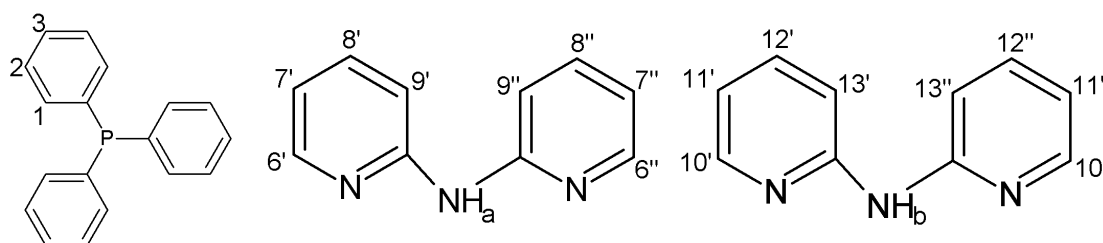


FIGURA A1.1 - Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 , na região de campo baixo.

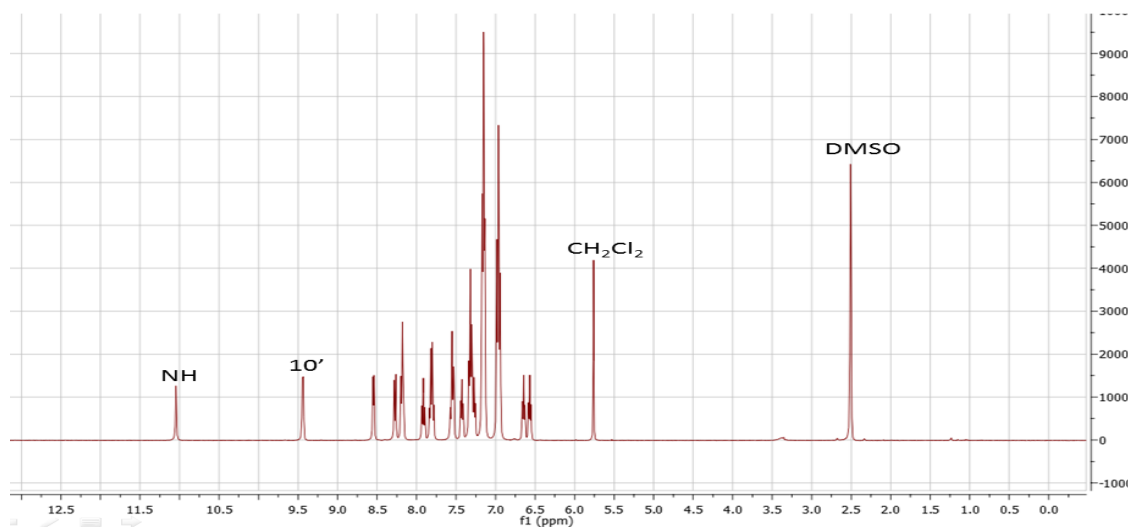
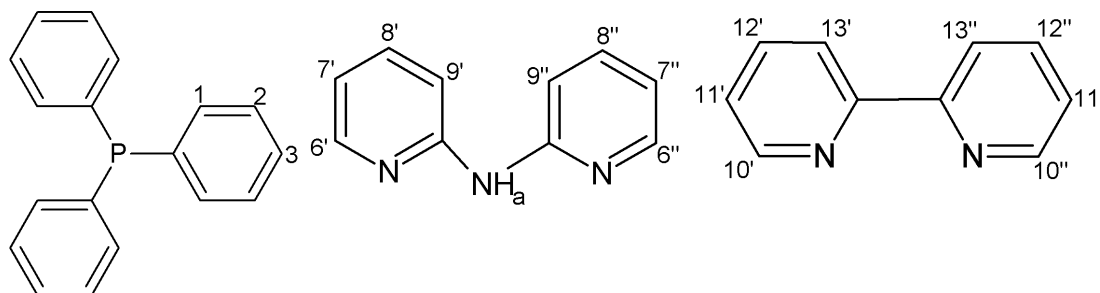
- Complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{bipy})]\text{Cl}$ 

FIGURA A1.2 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{bipy})]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 .

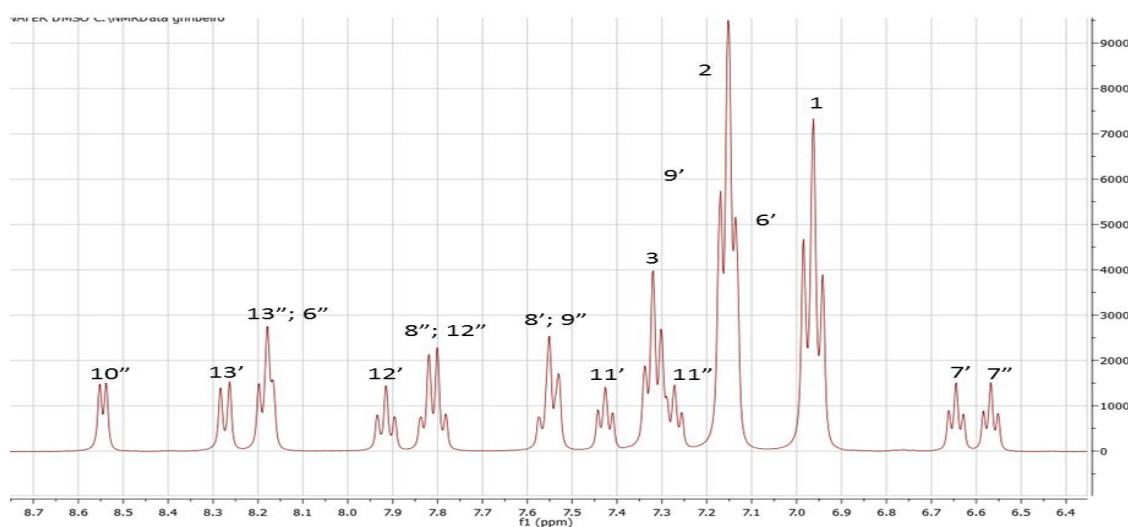


FIGURA A1.3 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{bipy})]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 , na região de campo baixo.

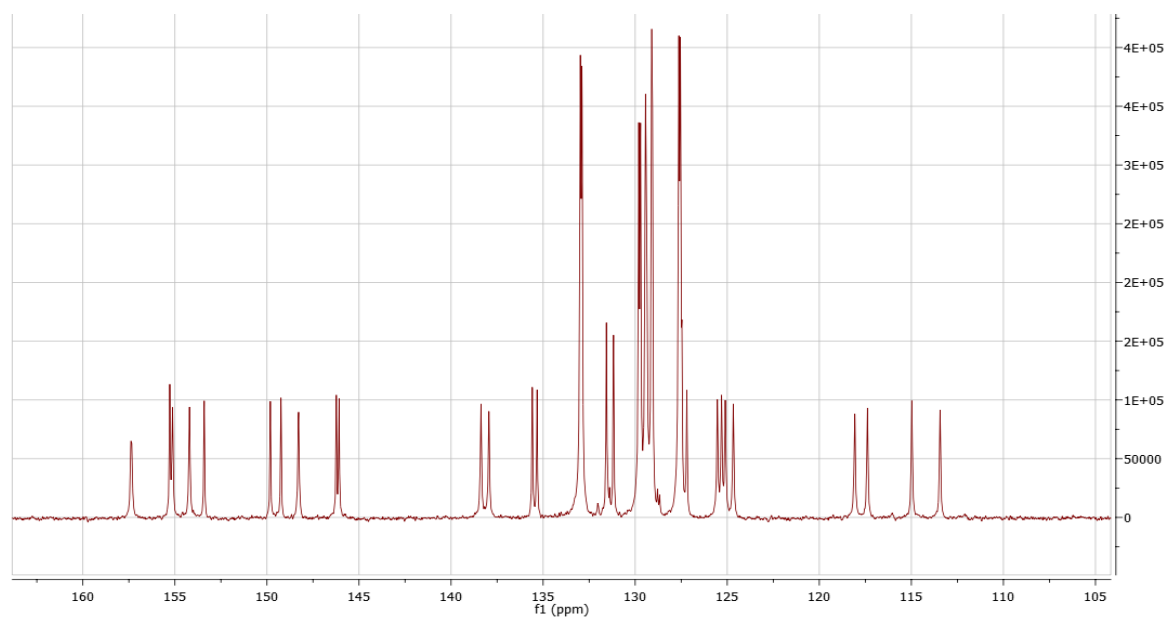


FIGURA A1.4 - Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{bipy})]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 , na região de campo baixo.

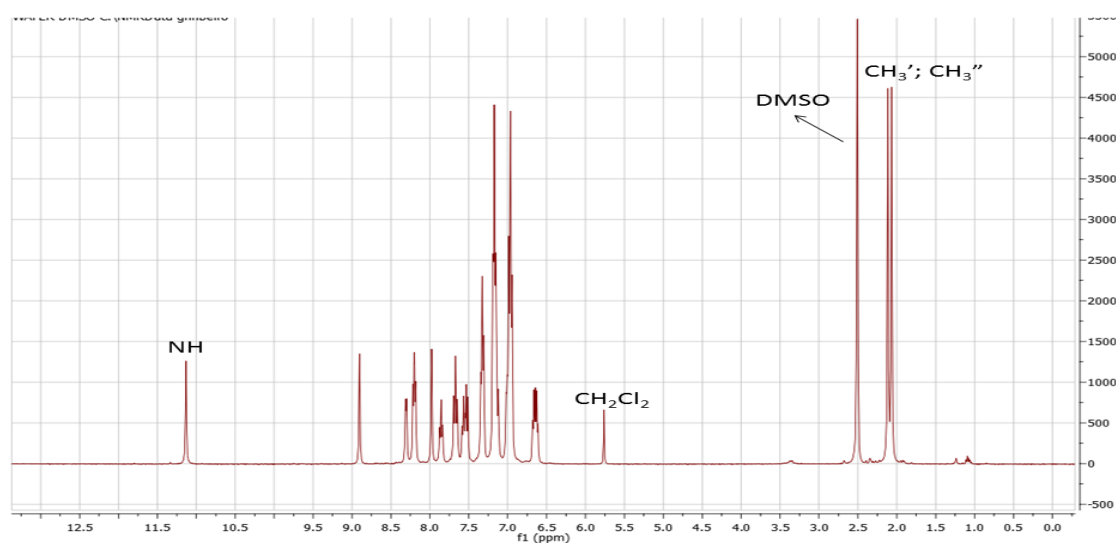
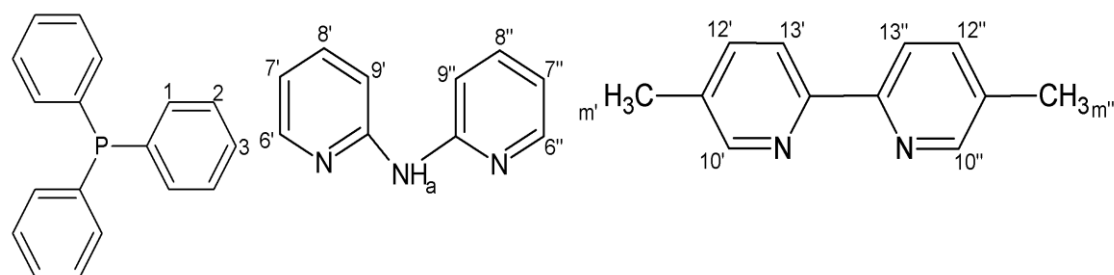
- Complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dmbipy})]\text{Cl}$ 

FIGURA A1.5 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dmbipy})]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 .

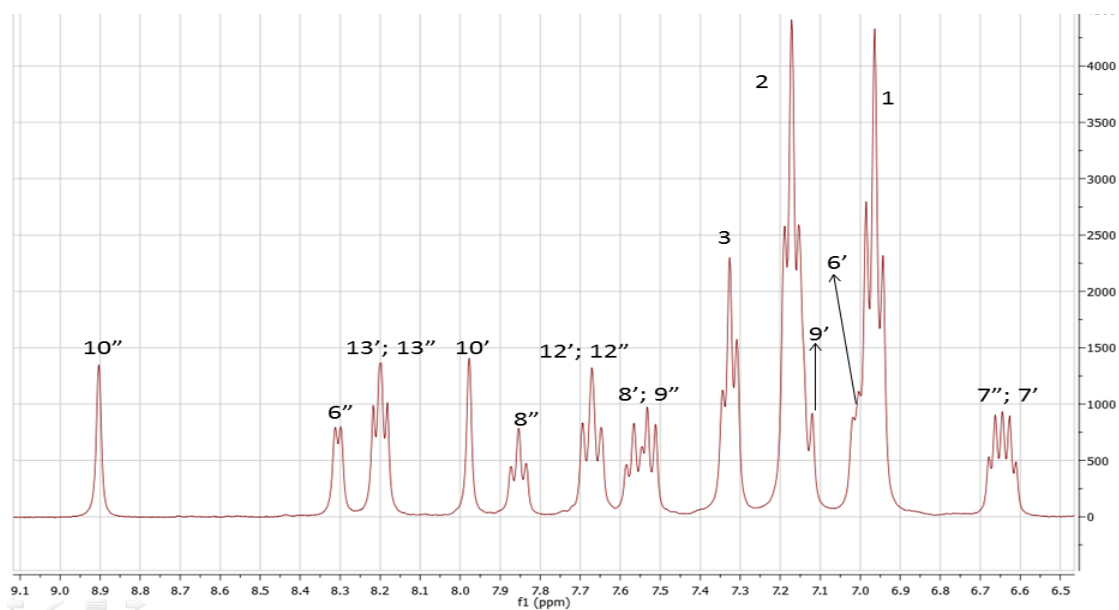


FIGURA A1.6 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dmbipy})]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 , na região de campo baixo.

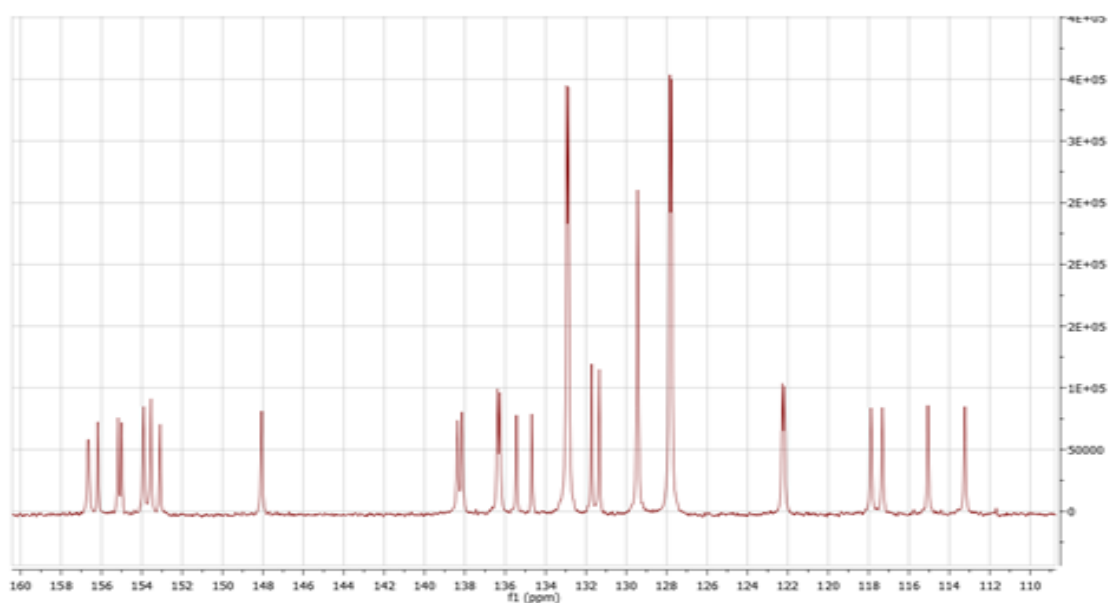


FIGURA A1.7 - Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dmbipy})]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 , na região de campo baixo.

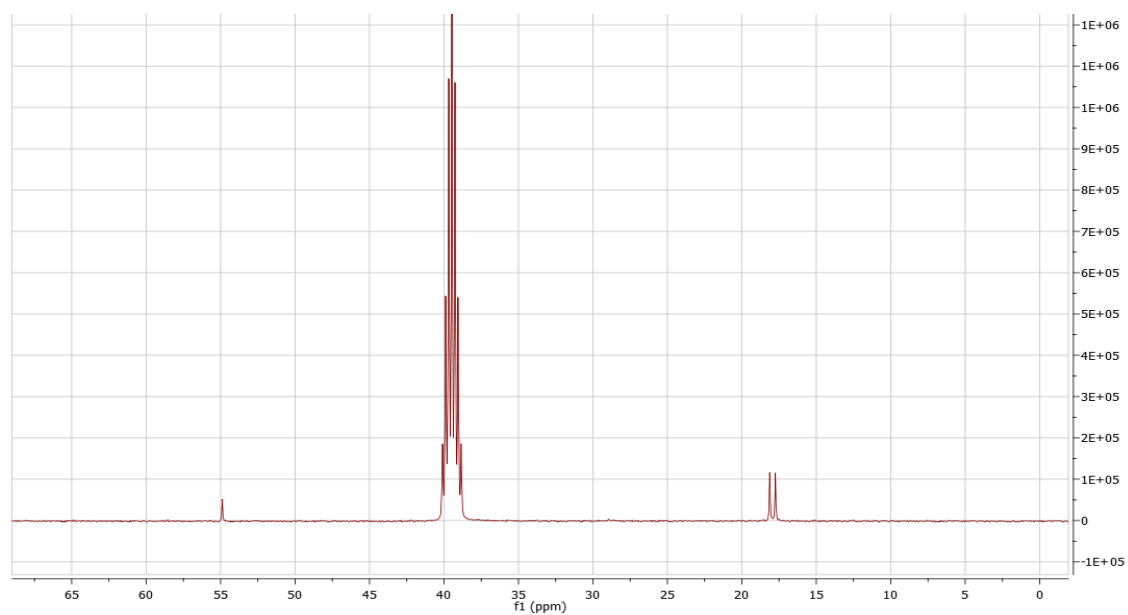


FIGURA A1.8 - Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{bipy})]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 , na região de campo alto.

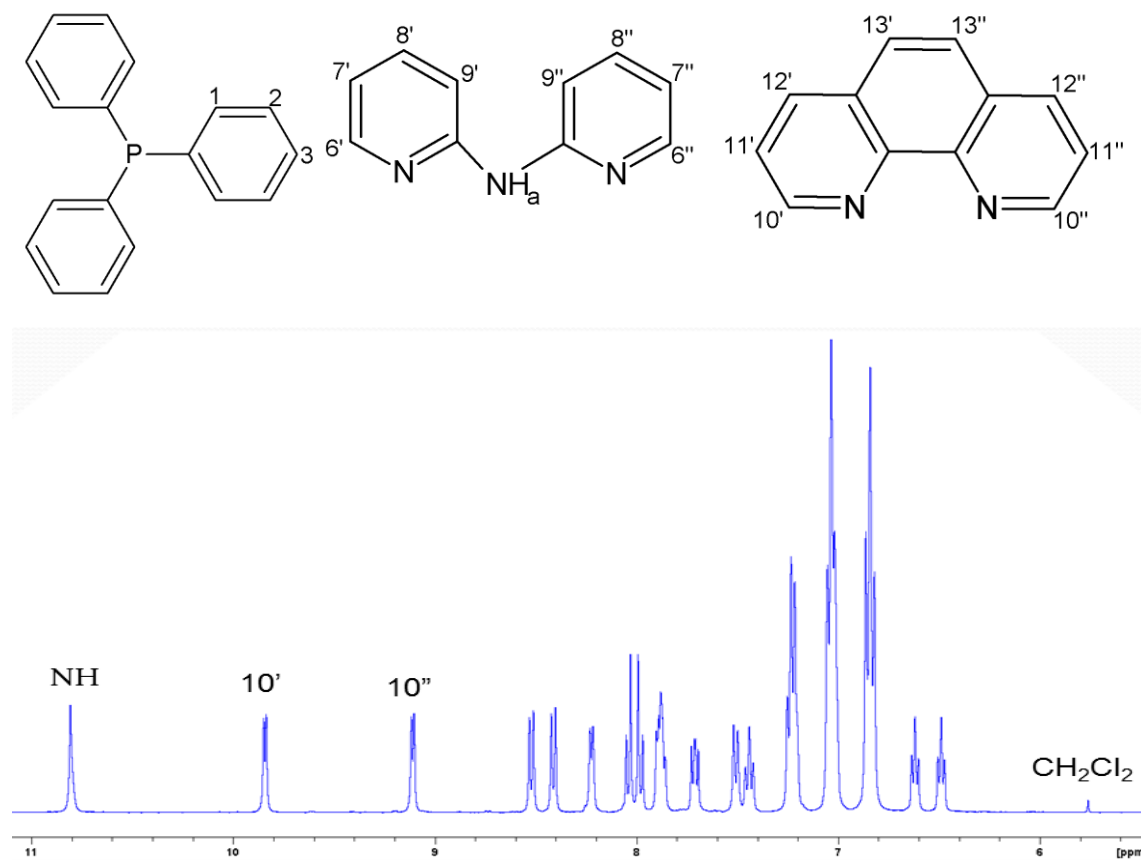
- Complexo [RuCl(PPh₃)(Hdpa)(fen)]Cl

FIGURA A1.9 - Espectro de RMN de ¹H do complexo [RuCl(PPh₃)(Hdpa)(fen)]Cl em DMSO-d₆.

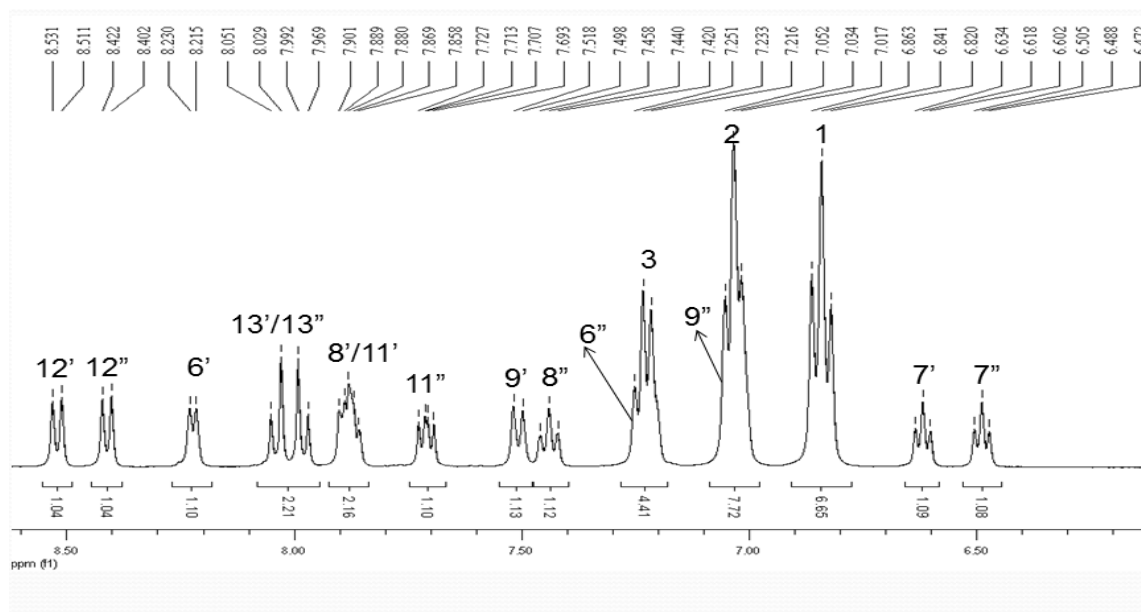


FIGURA A1.10 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{fen})]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 , na região de campo baixo.

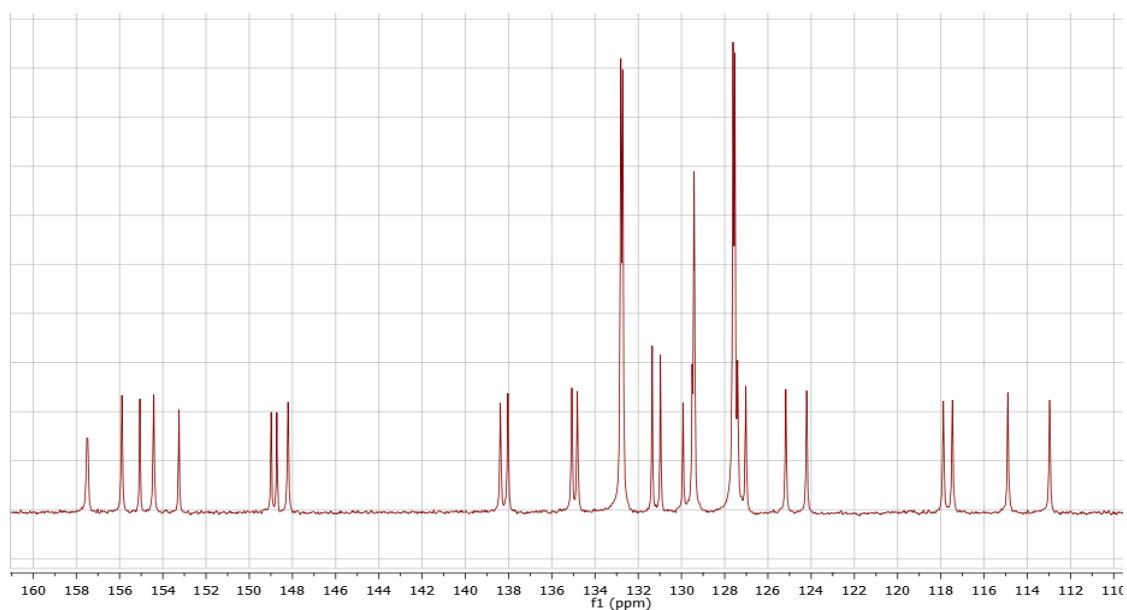


FIGURA A1.11 - Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{fen})]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 , na região de campo baixo.

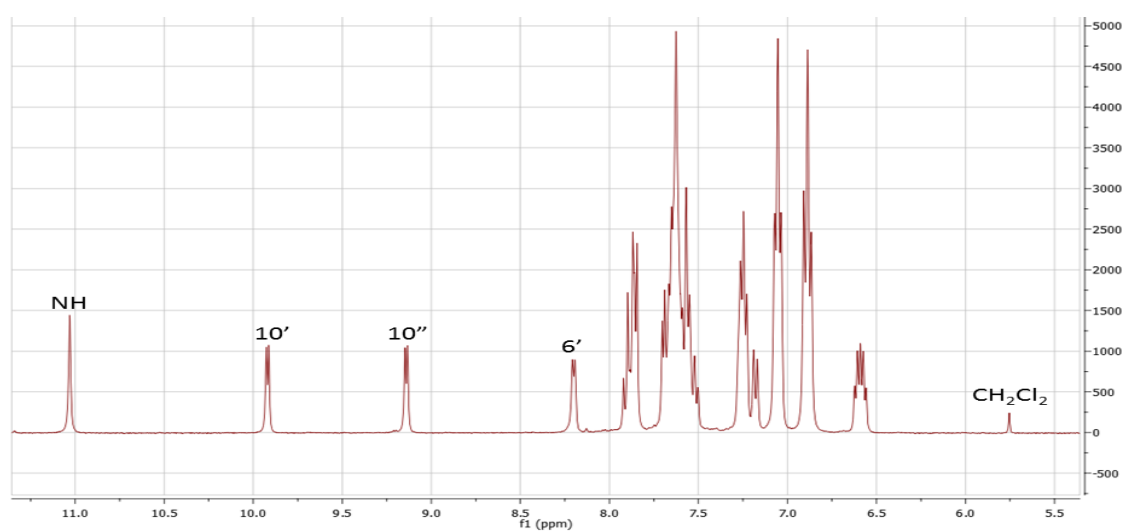
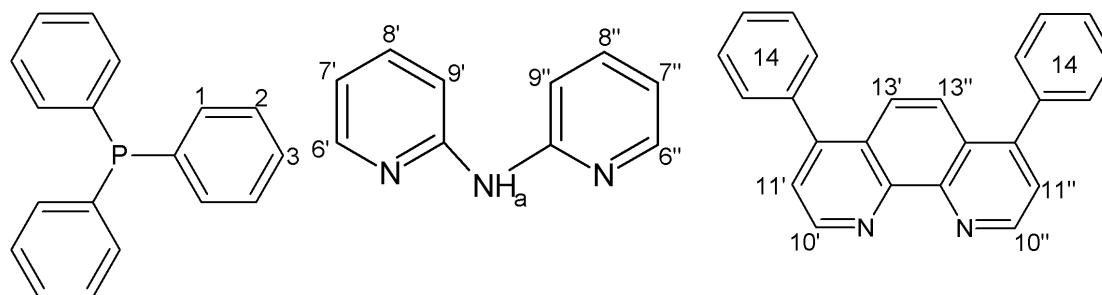
- Complexo [RuCl(PPh₃)(Hdpa)(dphfen)]Cl

FIGURA A1.12 - Espectro de RMN de ¹H do complexo [RuCl(PPh₃)(Hdpa)(dphfen)]Cl em DMSO-d₆.

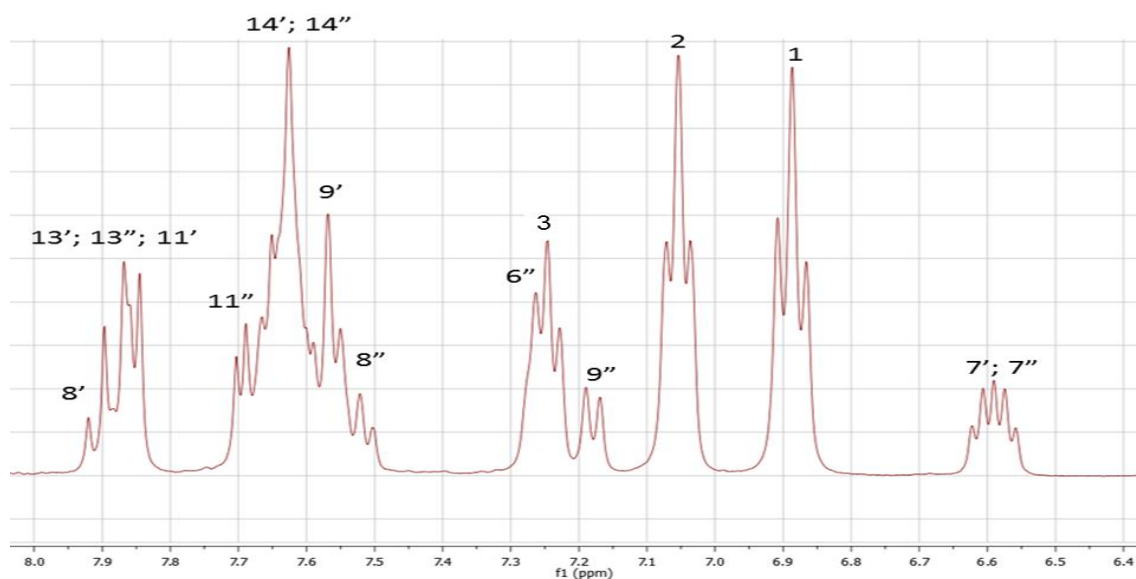


FIGURA A1.13 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 , na região de campo baixo.

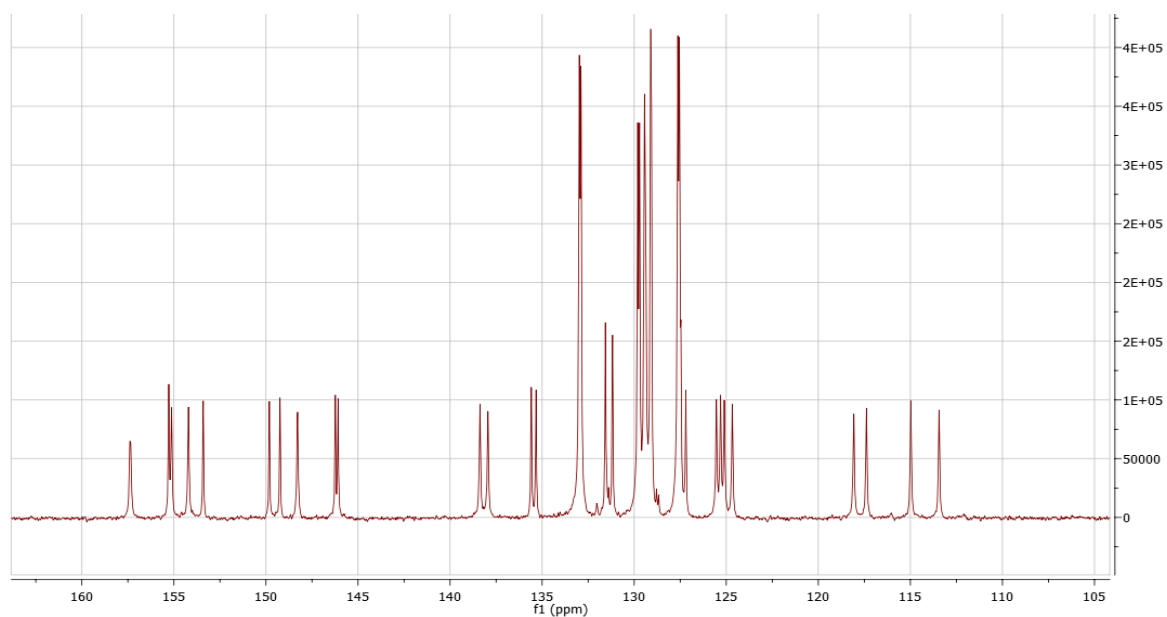


FIGURA A1.14 - Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{bipy})]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 , na região de campo baixo.

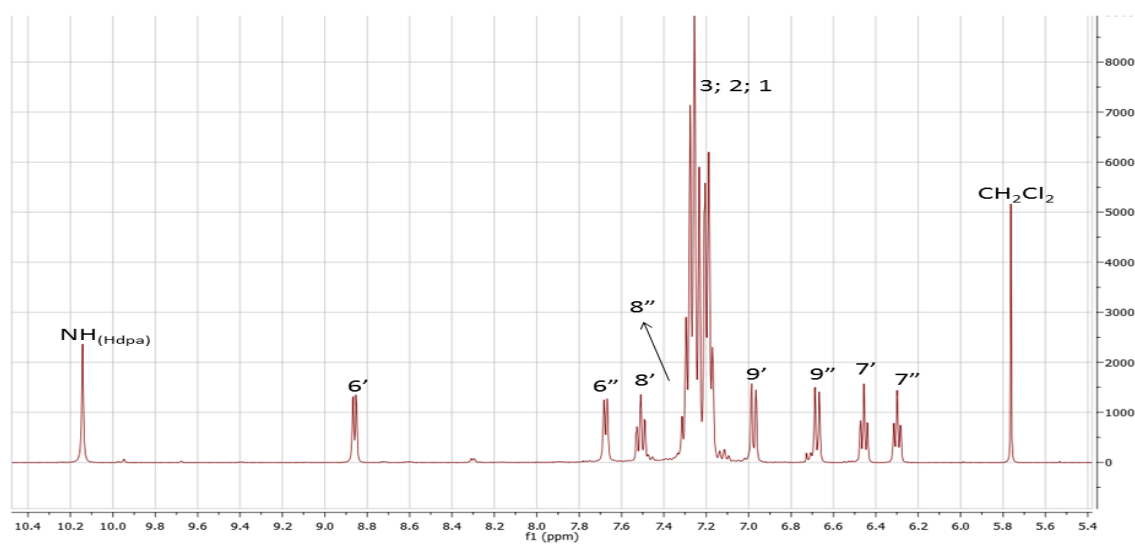
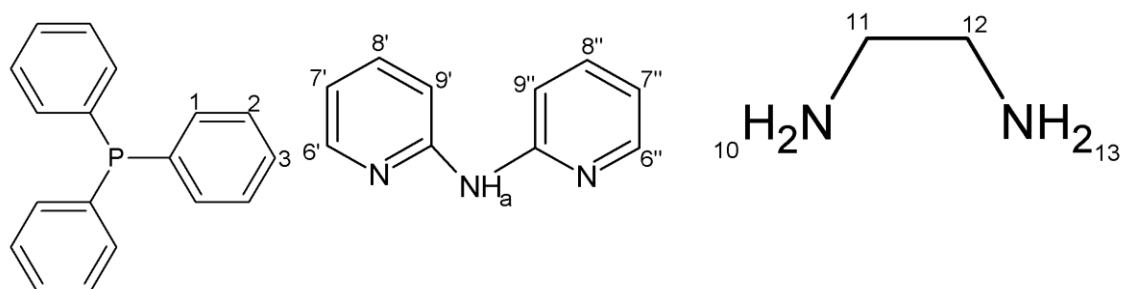
- Complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{Cl}$ 

FIGURA A1.15 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 , na região de campo baixo.

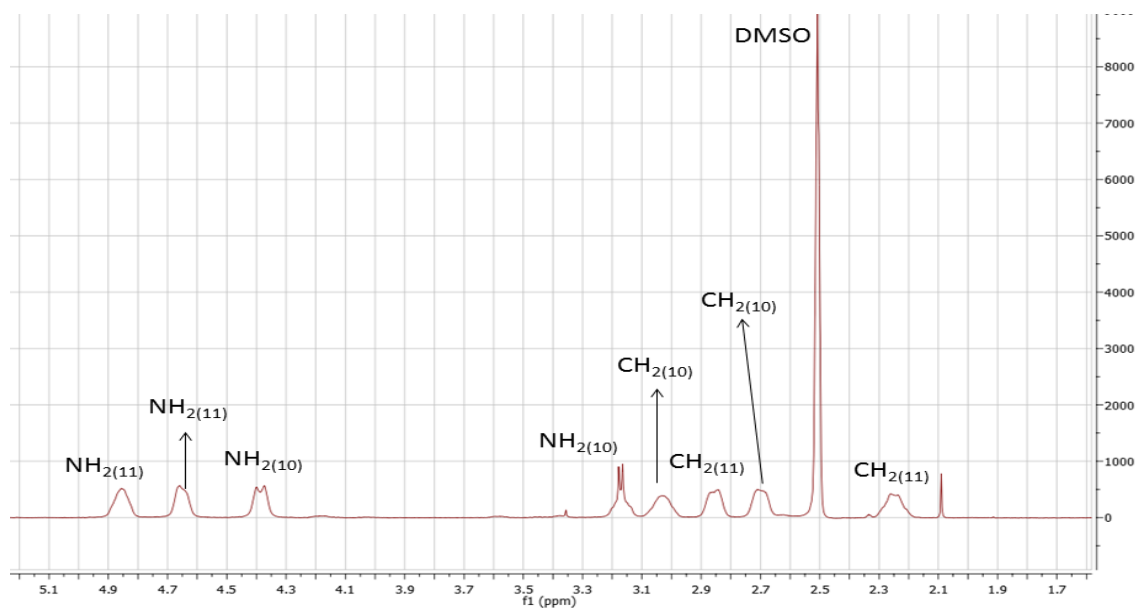


FIGURA A1.16 - Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 , na região de campo alto.

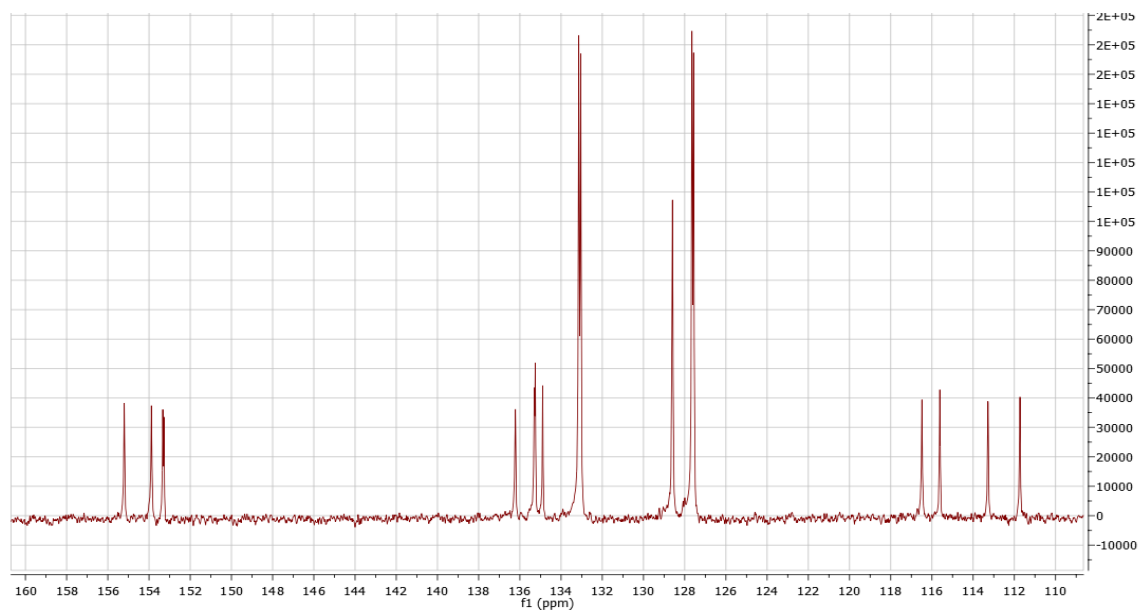


FIGURA A1.17 - Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 , na região de campo baixo.

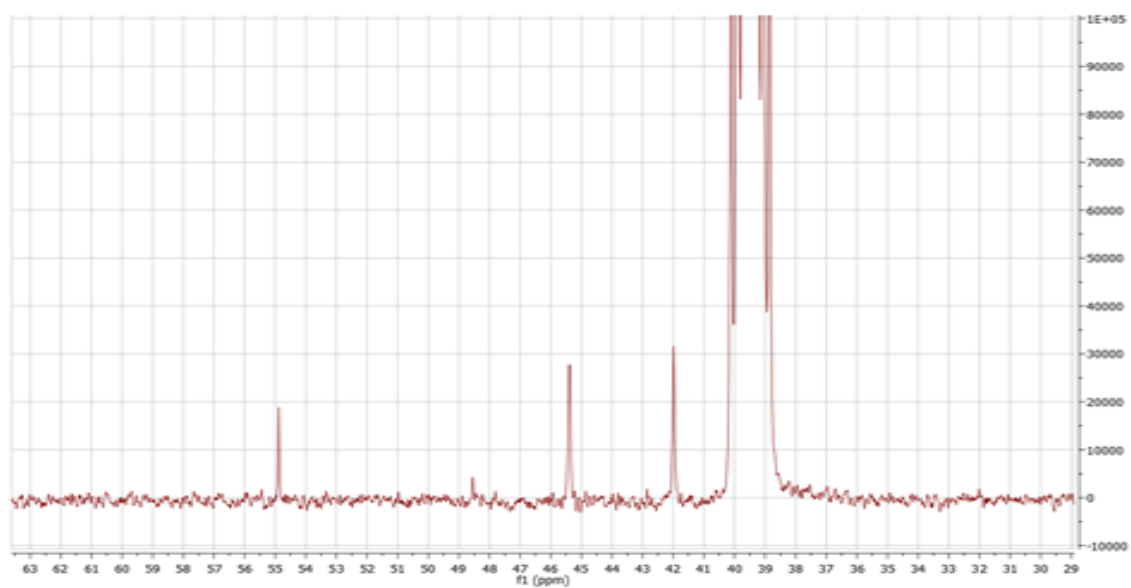


FIGURA A1.18 - Espectro de RMN de ^{13}C do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{Cl}$ em DMSO-d_6 na região de campo alto.

A.2 – Voltamogramas cíclicos dos complexos (2) – (6).

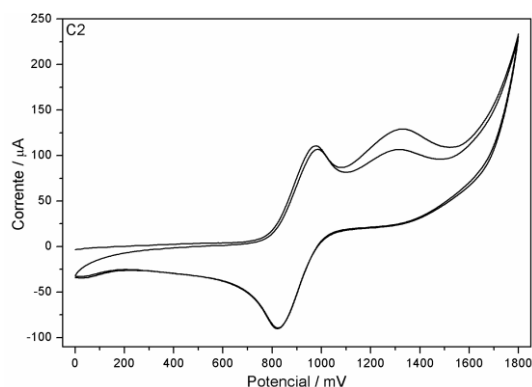


FIGURA A2.1 - Voltamograma cíclico registrado em presença do $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{bipy})]\text{Cl}$ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA em diclorometano à 100 mV s^{-1} .

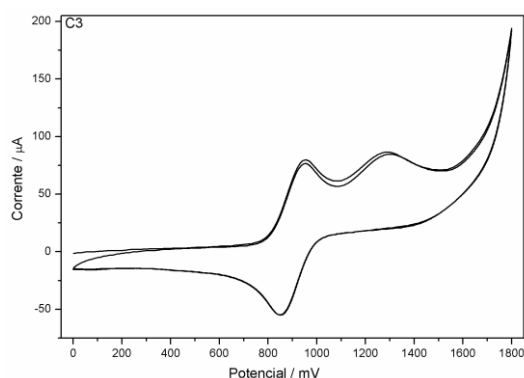


FIGURA A2.2 - Voltamograma cíclico registrado em presença do $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dmbipy})]\text{Cl}$ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA em diclorometano à 100 mV s^{-1} .

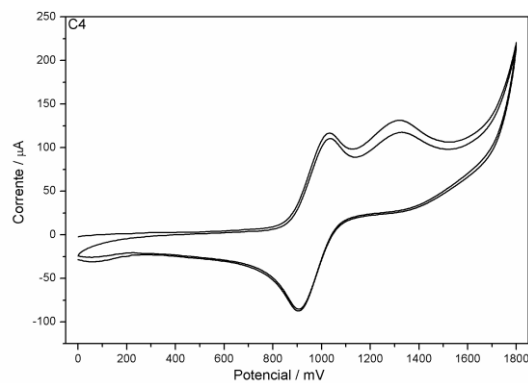


FIGURA A2.3 - Voltamograma cíclico registrado em presença do $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{fen})]\text{Cl}$ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA em diclorometano à 100 mV s^{-1} .

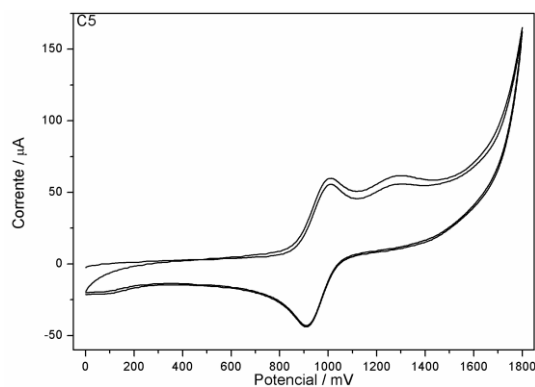


FIGURA A2.4 - Voltamograma cíclico registrado em presença do $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA em diclorometano à 100 mV s^{-1} .

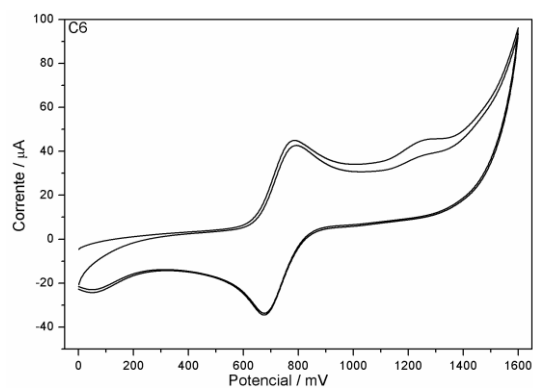


FIGURA A2.5 - Voltamograma cíclico registrado em presença do $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{Cl}$ em solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA em diclorometano à 100 mV s^{-1} .

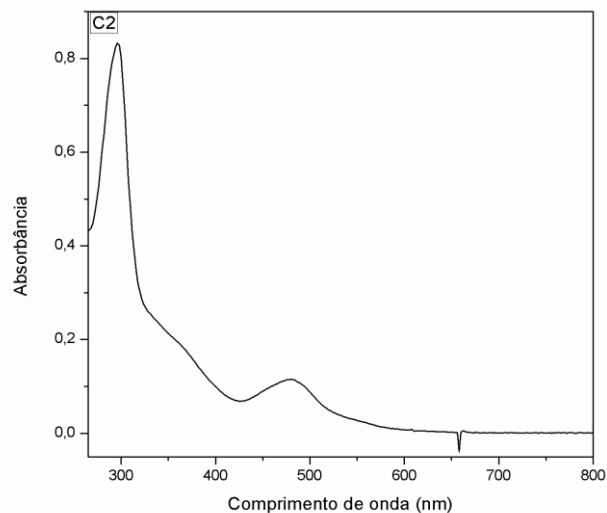
A.3 – Espectros de absorção na região do UV-vis dos complexos (2) – (6).

FIGURA A3.1 - Espectro de absorção na região do UV/Vis para o complexo [RuCl(PPh₃)(Hdpa)(bipy)]Cl em diclorometano.

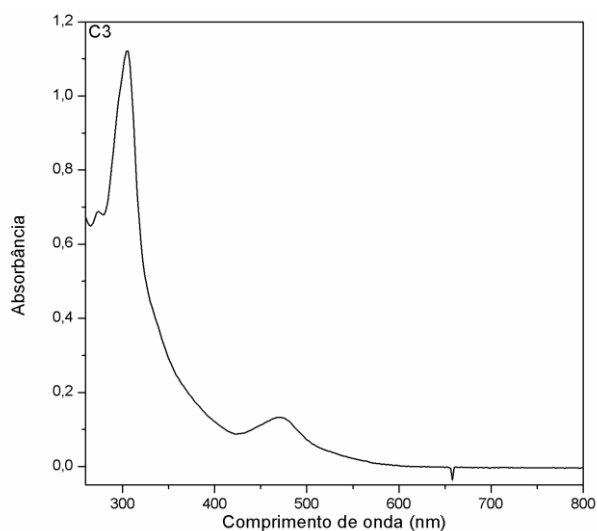


FIGURA A3.2 - Espectro de absorção na região do UV/Vis para o complexo [RuCl(PPh₃)(Hdpa)(dmbipy)]Cl em diclorometano.

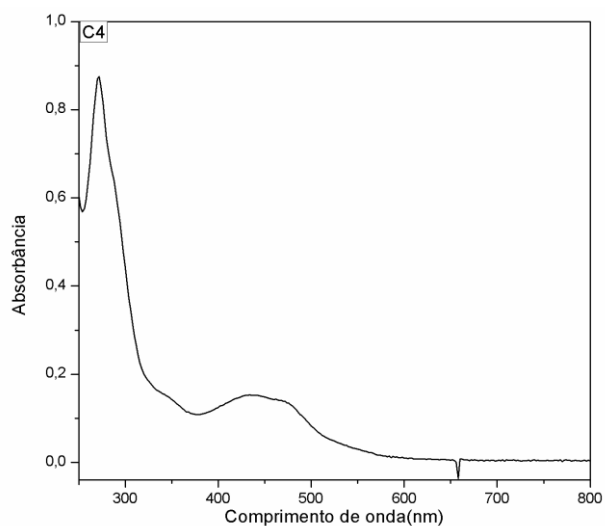


FIGURA A3.3 - Espectro de absorção na região do UV/Vis para o complexo [RuCl(PPh₃)(Hdpa)(fen)]Cl em diclorometano.

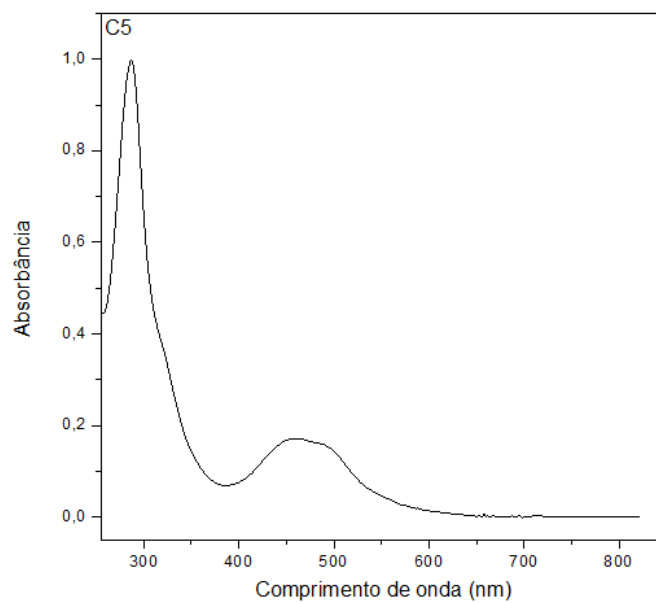


FIGURA A3.4 - Espectro de absorção na região do UV/Vis para o complexo [RuCl(PPh₃)(Hdpa)(dmbipy)]Cl em diclorometano.

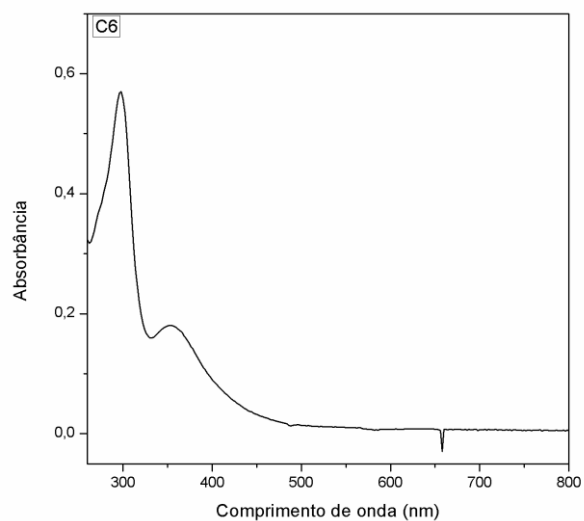
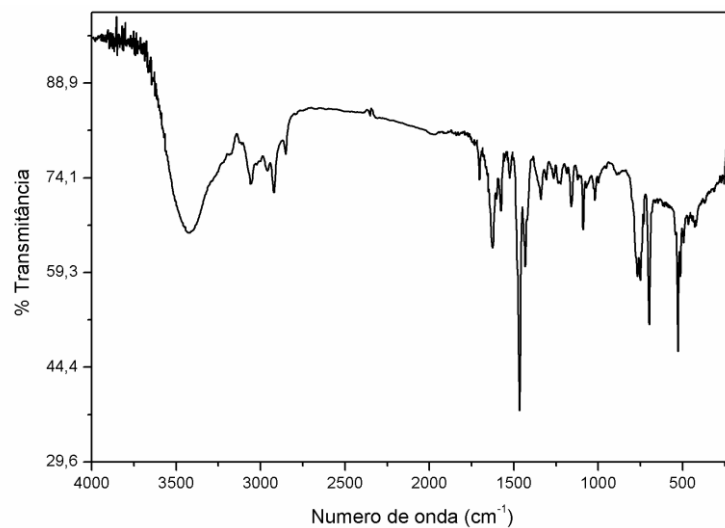
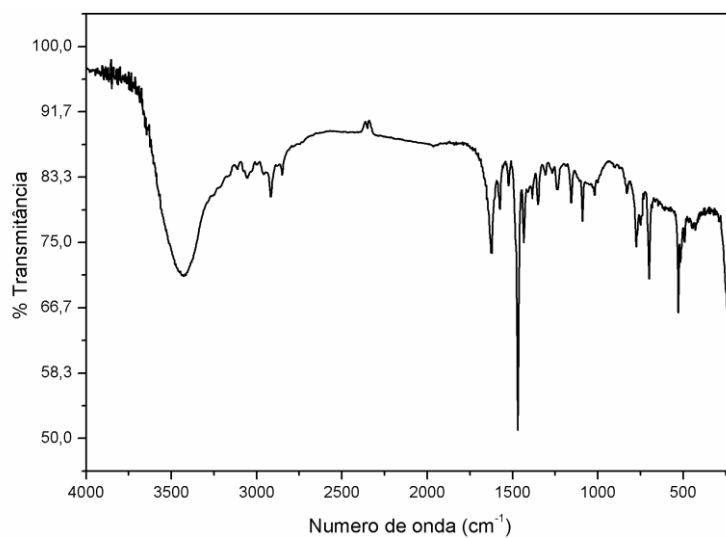


FIGURA A3.5 - Espectro de absorção na região do UV/Vis para o complexo [RuCl(PPh₃)(Hdpa)(en)]Cl em diclorometano.

A4. Espectro de absorção na região do Infravermelho dos complexos (2) – (6).

FIGURA A4.1 - Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{bipy})]\text{Cl}$.FIGURA A4.2 - Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dmbipy})]\text{Cl}$.

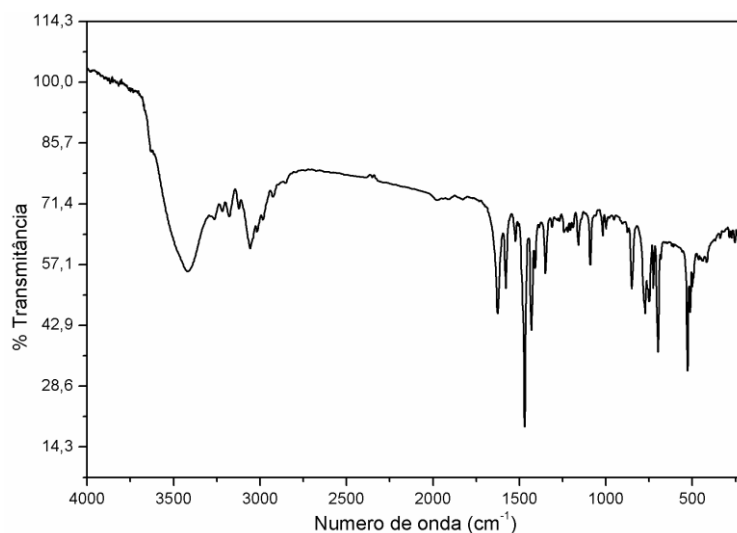


FIGURA A4.3 - Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{fen})]\text{Cl}$.

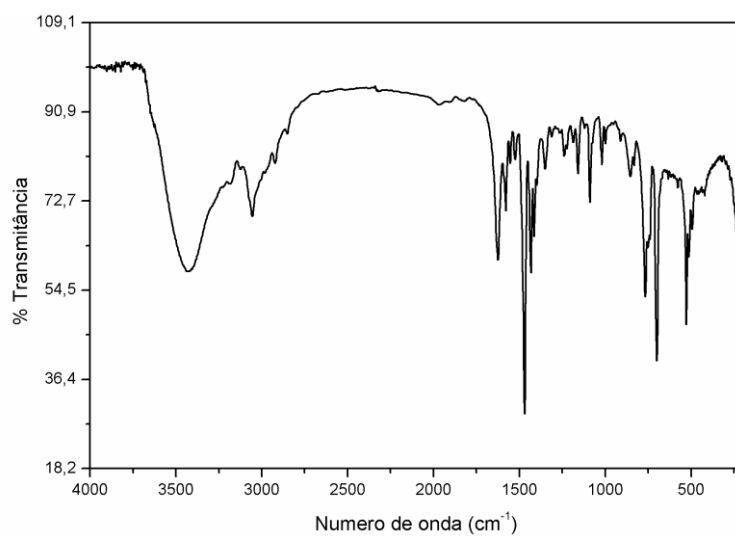


FIGURA A4.4 - Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dphfen})]\text{Cl}$.

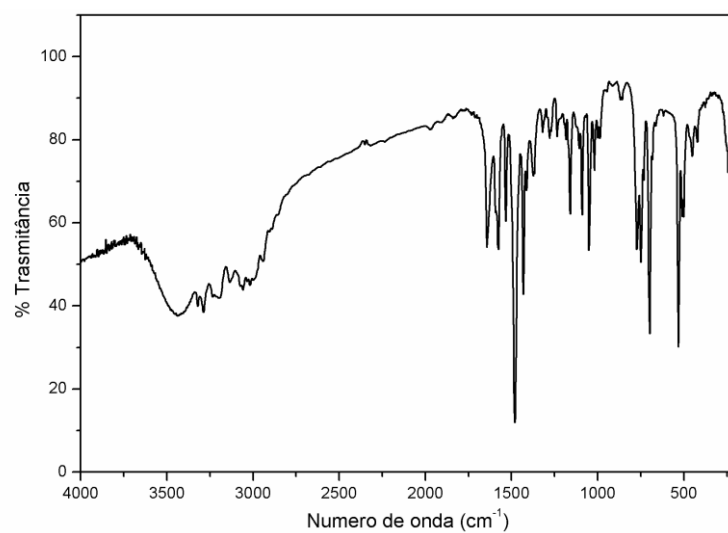


FIGURA A4.5 - Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{Cl}$.

A.5 – Principais parâmetros cristalográficos para as estruturas obtidas para os complexos $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{en})]$, $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})_2]\text{Cl}$, $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{dmbipy})]\text{Cl}$ e $[\text{RuCl}(\text{PPh}_3)(\text{Hdpa})(\text{en})]\text{Cl}$.

TABELA A5.1 - Principais parâmetros cristalográficos para as estruturas obtidas para os complexos $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{en})]$.

Complexo	$[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{en})]$
Fórmula molecular	$[\text{C}_{38}\text{H}_{38}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{P}_2\text{Ru}]$
Massa molecular (g/mol)	756,64
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P 21/c
a (Å)	10,94500 (10)
b (Å)	30,8744 (5)
c (Å)	20,3424 (3)
α	89,9910°
β	93.8410 (10)°
γ	89,9950 (10)°
Volume (Å ³)	6858,67(9)
Z	13
Densidade (Mg/m ³)	1,458
μ (mm ⁻¹)	0,736
F (000)	3072
Tamanho do cristal (mm ³)	0,15 x 0,19 x 0,03
Intervalo de θ	2,942 à 25,694°
Limites coletados	$-13 \leq h \leq 13$, $-26 \leq k \leq 23$, $-19 \leq l \leq 20$
Reflexões coletadas	25737
Reflexões independentes (Rint)	13025 (0.0365)
Completeza para θ (%)	99,8 %
Dados/restrições/parâmetros	13025 / 0 / 811
S	0,945
Índices R final [$I > 2\sigma(I)$]	R1 = 0,0444; wR2 = 0,1162
Índices R (todos os dados)	R1 = 0,0598, wR2 = 0,1229
$\Delta\rho_{\text{max}}$. e $\Delta\rho_{\text{min}}$.(e. Å ⁻³)	1,613 e -0,888

TABELA A5.1 - Principais parâmetros cristalográficos para as estruturas obtidas para os complexos $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{en})]$

Complexo	(1)	(3)	(6)
Fórmula molecular	$[\text{C}_{38}\text{H}_{33}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{P}_2\text{Ru}]\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$	$[\text{C}_{40}\text{H}_{36}\text{ClN}_5\text{PRu}]\text{PF}_6$	$[\text{C}_{30}\text{H}_{32}\text{ClN}_5\text{PRu}]\text{PF}_6\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$
Massa molecular (g/mol)	861,57	899,33	861,59
Sistema cristalino	Monoclínico	Triclinic	Triclinic
Grupo espacial	P 21/c	P -1	P -1
a (Å)	11,11400(10)	10,661	10,175
b (Å)	20,8490(2)	11,325	10,475
c (Å)	16,4720(3)	20,6240(10)	18,235
A	90°	74,4130(10)°	104,7940(10)°
B	90,5830 (10)°	85,6900(10)°	105,4150(10)°
Γ	90 (10)°	64,132(2)°	91,8940(10)°
Volume (Å ³)	3816,63(9)	2155,61(14)	1800,864(12)
Z	4	2	2
Densidade (Mg/m ³)	1,499	1,441	1,582
μ (mm ⁻¹)	0,770	0,561	0,808
F (000)	1752	962	864
Tamanho do cristal (mm ³)	0,31x 0,27 x 0,05	0,07 x 0,19 x 0,40	0,08 x 0,14 x 0,18
Intervalo de θ	2,959 a 26,365°	3,026 a 25,681°	2,984 a 25,774°
Limites coletados	-13≤h≤13, -26≤k≤23, -19≤l≤20	-13≤h≤12, -13≤k≤13, -25≤l≤25	-12≤h≤12, -12≤k≤12, -21≤l≤22
Reflexões coletadas	77594	38658	13041
Reflexões independentes (Rint)	7789 (0.0365)	8163 (0.0257)	6864 (0.0283)
Completeza para θ(%)	99,8 %	99,8 %	99,8 %
Dados/restrições/parâmetros	7789 / 0 / 460	8163 / 0 / 510	6864 / 0 / 434
S	1,060	0,891	1,051
Índices R final [$I > 2\sigma(I)$]	R1 = 0,0399, wR2 = 0,1068	R1 = 0,0464, wR2 = 0,1400	R1 = 0,0658, wR2 = 0,1910
Índices R (todos os dados)	R1 = 0,0540, wR2 = 0,1158	R1 = 0,0552, wR2 = 0,1506	R1 = 0,0735, wR2 = 0,1993
Δρ _{max.} e Δρ _{min.} (e. Å ⁻³)	1,094 e -0,811	0,939 e -0,761	1,811 e -1,248