

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

Complexos de rutênio contendo aminoácidos, com  
propriedades citotóxicas em células tumorais

**Marcio Aurélio Pinheiro Almeida\***

Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para a obtenção do título de  
MESTRE EM QUÍMICA (área de  
QUÍMICA INORGÂNICA).

Orientador: Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista

\*Bolsista FAPEMA

SÃO CARLOS-SP

2009

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

A447cr

Almeida, Marcio Aurélio Pinheiro.

Complexos de rutênio contendo aminoácidos, com propriedades citotóxicas em células tumorais / Marcio Aurélio Pinheiro Almeida. -- São Carlos : UFSCar, 2009. 151 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2009.

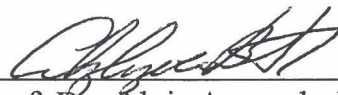
1. Química inorgânica. 2. Complexos de rutênio. 3. Aminoácidos. 4. Bifosfina. I. Título.

CDD: 546 (20<sup>a</sup>)

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

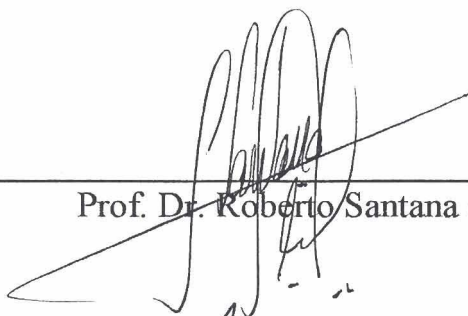
---

*Assinaturas dos membros da banca examinadora que avaliaram e aprovaram a defesa de dissertação de mestrado do candidato **Marcio Aurélio Pinheiro Almeida**, realizada em 17 de junho de 2009:*



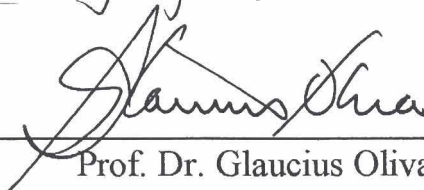
---

Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista



---

Prof. Dr. Roberto Santana da Silva



---

Prof. Dr. Glaucius Oliva

Cada pessoa que passa na nossa vida, passa sozinha, porque cada pessoa é única e nenhuma substitui a outra. Cada pessoa que passa pela nossa vida, passa sozinha, não nos deixa só, porque deixa um pouco de si e leva um pouquinho de nós. Essa é a mais bela responsabilidade da vida e a prova de que as pessoas não se encontram por acaso.

*(Charles Chaplin)*

### **Dedicatória**

*Aos meus pais e irmãos pelo todo apoio dado durante meu mestrado, pois sem eles eu nunca terminaria meu curso e hoje eu os vejo como sinônimo de garra e dedicação.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por todas as maravilhas que me foram dadas até hoje.

Ao professor Dr. Alzir Azevedo Batista pela orientação neste trabalho de Mestrado e pelas oportunidades oferecidas.

Ao meus pais Gonçalo Almeida e Rosivalda Pinheiro Almeida que sempre estiveram me ajudando e me apoiando de todas as formas.

Aos meus irmãos Wagner Miller e Leila Priscila pelo apoio.

A minha madrinha Faraildes Diniz.

Aos meus tios Joana e Crescencio que me deram muito apoio para fazer o Mestrado.

A professora Maridalva Varão que sempre se mostrou uma grande amiga, estando sempre disponível a me ajudar.

A Leydy Daiana, pessoa essa a qual me proporcionou muitas alegrias, as quais nunca serão esquecidas.

Ao prof. Dr. Cícero Bezerra, pela diversos incentivos para fazer o mestrado.

Ao professor Dr. Javier Ellena (IFSC-USP) pela resolução das estruturas cristalinas.

Aos amigos de trabalho do laboratório; Gustavo Von Polhitz, Andre Luís Bogado, Claudia Rodrigues, Angélica Graminha, Fábio do Nascimento, Camilla Golfetto, Marília Barbosa, Edjane dos Santos, Benedicto Augusto, José Wilmo da Cruz Júnior, Melina Fleitas, Leonardo Cantanhede, Jaó Paulo.

Aos técnicos do DQ-UFSCar Luciana Vizotto, Paulo Lambertucci e Ademir Sartori pelos inúmeros atendimentos quando os procurei. Aos meus amigos do condomínio Paulo Ferreira, Poliana Silva, Enrique Delfin, Fernando Barros, Diego Silveira, Epaphras Couto, Marcela Couto e Aldalberto pela amizade.

A CAPES, FAPESP, CNPq e FAPEMA pela bolsa concedida e apoio financeiro.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b>Abreviatura</b>	<b>Nome</b>
Gly	Glicina
Ala	Alanina
Try	Tirosina
Met	Metionina
Lys	Lisina
Val	Valina
Ser	Serina
Trp	Triptofano
$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$	Ressonância magnética nuclear de fósforo desacoplado de hidrogênio
bipy	2,2'-bipiridina
BrSalsem	5-bromosalicilaldeido semicarbazona
bzac	1-fenil-1,3-butanodiona
$\text{C}_6\text{H}_6$	Benzeno
$\text{CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)_2$	<i>N</i> -dimetil amino propino
chrysi	Diimina 5,6-crisenoquinona
COD	1,5-ciclooctadieno
Cp	Ferroceno
CQ	Cloroquina
cyclam	1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano
cymene	4-isopropiltolueno
dien	Dietilenotriamina
DMSO	Dimetilsulfóxido
dppb	1,4- <i>bis</i> (difenilfosfina)butano
dppe	1,2- <i>bis</i> (difenilfosfina)etano
dppz	dipiridil[3,2- <i>a</i> : 2', 3'- <i>c</i> ]fenazina
en	Etilenodiamina
en-Et	Etiletenodiamina
IV	Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho
$\text{IC}_{50}$	Concentração da droga requerida para redução de 50% do

	crescimento celular em relação ao controle.
J	Constante de acoplamento, em Hz (RMN)
Me-bipy	4, 4-dimetil-2, 2'-bipiridina
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol
Ph	Fenil
phen	1,10-fenantrolina
phi	Diimina fenantrenoquinina
<i>p</i> -isoTSCN	<i>p</i> -isopropilbenzaldeido tiosemicarbazona
PPh <sub>3</sub>	Trifenilfosfina
PTBA	Perclorato de tetrabutílamônio
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
Salsem	Salicilaldeido semicarbazona
TCLM	Transferência de carga ligante-metal
TCML	Transferência de carga metal-ligante
terpy	Terpiridinas
tpy	2,2':6',2''-terpiridina
UV/Vis	Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Vísivel
$\lambda$	Comprimento de onda



## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> - Agentes quimioterápicos comumente utilizados no tratamento do câncer.....	25
<b>TABELA 1.2</b> - Anticorpos monoclonais utilizados na terapia oncológica e seus respectivos nomes comerciais e usos clínicos.....	27
<b>TABELA 1.3</b> - Atividade citotóxica de complexos de Vanádio. Valor de IC <sub>50</sub> no <i>T. Cruzi</i> (Dm28cstrain).....	38
<b>TABELA 1.4</b> - Efeito citotóxico de derivados de 2-piridinoformamida tiosemicarbazonas e seus complexos gallium (III) em linhagem de células tipo RT2 e T98.....	42
<b>TABELA 1.5</b> - Inibição do crescimento de linhagem de célula A2780(câncer de ovário humano) por compostos de Ru(II).....	50
<b>TABELA 1.6</b> - IC <sub>50</sub> para os complexos <i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (terpy)(NO)]Cl, [RuCl <sub>3</sub> (terpy)], cisplatina e carboplatina em linhagem de célula A2780.....	54
<b>TABELA 2.1</b> - Relação de aminoácidos usados na síntese de complexos.....	65
<b>TABELA 3.1</b> - Deslocamentos químicos de RMN de <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H} de aminoácidos e compostos com aminoácidos.....	75
<b>TABELA 3.2</b> - Deslocamentos químicos de RMN de <sup>13</sup> C de compostos com aminoácidos e respectivos compostos.....	78
<b>TABELA 3.3</b> - Comprimentos de onda e absortividades molares para compostos sintetizados, com aminoácidos.....	81
<b>TABELA 3.4</b> - Freqüências de absorção (cm <sup>-1</sup> ) no IV correspondente ao grupo carboxilato nos ligantes livres.....	83
<b>TABELA 3.5</b> - Tentativa de atribuição para as principais bandas no espectro de IV para os compostos sintetizados e valores de Δcm <sup>-1</sup> .....	86
<b>TABELA 3.6</b> - Condutividade molar para a série de complexos [Ru(AA)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> .....	87
<b>TABELA 3.7</b> - Análise elementar de Carbono, nitrogênio, hidrogênio e enxofre para a série de compostos [Ru(AA)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> .....	88
<b>TABELA 3.8</b> - Potenciais anódicos e catódicos de compostos com aminoácidos.....	93

<b>TABELA 3.9</b> - Distâncias de ligação do complexo <i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (dppb)(bipy)].....	104
<b>TABELA 3.10</b> - Principais distâncias e ângulos de ligação do complexo [Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> .....	105
<b>TABELA 3.11</b> - Dados de refinamento da estrutura cristalina do complexo [Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> .....	107
<b>TABELA 3.12</b> - Dados de refinamento da estrutura cristalina do complexo [Ru(L-Leu)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> .....	109
<b>TABELA 3.13</b> - Principais distâncias e ângulos de ligação do complexo [Ru(L-Leu)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> .....	110
<b>TABELA 3.14</b> - Valores de IC <sub>50</sub> dos ensaios de MTT para os complexos com aminoácidos em linhagem de célula tumoral MDA-MB-231, tempo de incubação 48 h.....	116

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.1</b> - Estrutura do ânion nitroprussiato.....	29
<b>FIGURA 1.2</b> - Estrutura de compostos de Au(I) usados no tratamento de artrite reumatóide; a) Aurotiomalato de sódio, b) Aurotioglicose, c) Auranoquina.....	32
<b>FIGURA 1.3</b> - Estrutura de compostos de Paládio com atividades citotóxicos; a) [Pd(phen)(Asp)]Cl, b) [Pd(phen)(Glu)]NO <sub>3</sub> , c) d) [Pd(phen)(Tyr)]Cl.....	33
<b>FIGURA 1.4</b> - Estrutura de compostos de Rh(II); a)[Rh <sub>2</sub> (OOCR) <sub>4</sub> ], b) [Rh <sub>2</sub> (OOCR) <sub>4</sub> L <sub>2</sub> ], c) ácido isonicotínico, d) sulfadiazina.....	35
<b>FIGURA 1.5</b> - Estrutura química para compostos: a) [Rh(phen) <sub>2</sub> (phi)] <sup>3+</sup> e b) [Rh(phen) <sub>2</sub> (chrysi)] <sup>3+</sup> .....	36
<b>FIGURA 1.6</b> - Estrutura de ligantes usados em complexos de ródio antimalária; a) Amodiaquina, b) Mepacrina, c) Primaquina, d), Pentaquina, e) Plasmaquina e f) Cloroquina.....	37
<b>FIGURA 1.7</b> - Estruturas de [VO <sup>IV</sup> (mal) <sub>2</sub> ] e [VO <sup>IV</sup> (Cys-Me) <sub>2</sub> ].....	38
<b>FIGURA 1.8</b> - Estruturas de complexos antitumor; a) [Ti <sup>IV</sup> Cl <sub>2</sub> Cp <sub>2</sub> ] e b) [Ti <sup>IV</sup> (bzac)(OEt) <sub>2</sub> ], onde R <sub>1</sub> =R <sub>4</sub> =fenil(Ph) e R <sub>2</sub> =R <sub>3</sub> =metil(-CH <sub>3</sub> ).....	39
<b>FIGURA 1.9</b> - Estrutura de agentes anticancerígenos de compostos de gálio ; a) nitrato de gálio, c) tris(8-quinolinato)(gálio (III), GQ, c) <i>tris</i> (3-hidroxi-2-metil-4 <i>H</i> -pirano-4-onato)(gálio(III), gálio maltolato (GM).....	40
<b>FIGURA 1.10</b> - Estrutura da 2-piridinoformamida tiosemicarbazona, onde (R= H, H <sub>2</sub> Am <sub>4</sub> DH; R= metil, H <sub>2</sub> Am <sub>4</sub> Me; R=etil, H <sub>2</sub> Am <sub>4</sub> Et.....	41
<b>FIGURA 1.11</b> - Estrutura cristalina do composto [Ga(2Am <sub>4</sub> Et) <sub>2</sub> ]NO <sub>3</sub> mostrando a numeração dos átomos e as elipsóides de 50 % de probabilidade.....	41
<b>FIGURA 1.12</b> - Estrutura de complexo de Co(III); a) salicilaldoxima Co(III) e b) salicilalsemicarbazona Co(II).....	43
<b>FIGURA 1.13</b> - Estruturas das compostos de platina; a) <i>cis</i> -(diaminodicloro)platina(II), (cisplatina) b) diamino(1,1ciclobutanocarboxilato)-O,O'-platina(II) (carboplatina), c) <i>trans</i> -L-diaminociclohexano)oxalatoplatina(II) (oxilipaltina) e d) <i>cis</i> -diamino-gicolato-O,O'-platina(II) (nedaplatina).....	44
<b>FIGURA 1.14</b> - Agentes anticancerígenos de Pt(IV): a) <i>cis</i> -dicloroamino(ciclohexilamino) <i>bis</i> -(acetato)platina(IV), b) <i>cis</i> -	

amino(ciclohexilamino)-dihidroxodichloroplatina(IV),	c)	
aminodiacetatochloro(ciclohexilamino)hidroxiplatina(IV),	d)	<i>trans</i> -tetracloro(1,2-ciclohexanodiamino-N,N')platina(IV),
	e)	
aminodiacetato(ciclohexilamino)dihidroxiplatina(IV),	f)	
aminodibutiratodichloro(ciclohexilamino)platina(IV),	g)	<i>cis</i> , <i>trans</i> , <i>cis</i> -dichlorodihidroxibis(isopropilamino)platina(IV).....
		45
<b>FIGURA 1.15</b> - Mecanismo de hidrólise do cisplatina e ligação com a guanina.....		46
<b>FIGURA 1.16</b> - Interações do cisplatina com as bases adenina (a) e guanina (b)		46
<b>FIGURA 1.17</b> - Adutos intrafita (a) e interfitas (b) entre cisplatina e as bases do DNA.....		47
<b>FIGURA 1.18</b> - Estrutura do a) $[RuCl(NH_3)_5]Cl_2$ b) <i>cis</i> - $[RuCl_2(NH_3)_4]Cl$ , c) <i>fac</i> - $[RuCl_3(NH_3)_3]$ .....		58
<b>FIGURA 1.19</b> - Estrutura do <i>cis</i> - $[Ru(II)(DMSO)_4Cl_2]$ (a) e <i>trans</i> - $[Ru(II)(DMSO)_4Cl_2]$ (b).....		49
<b>FIGURA 1.20</b> - Estrutura para compostos Ru(II) piridinicos e polipiridinicos.....		51
<b>FIGURA 1.21</b> - Estrutura cristalina do composto $[Ru(SpymMe_2)(dppb)(bipy)]$ mostrando a numeração dos átomos e as elipsóides de 50 % de probabilidade..		51
<b>FIGURA 1.22</b> - Estrutura geral para ligantes tiosemicarbazona e seus respectivos compostos. a) $[Ru(itsz)(fen)_2]Cl_2$ , b) $[Ru(btszR)(fen)_2]Cl_2$ c) itsz=isatin tiosemicarbazona, d) btsz=benzil tiosemicarbazona, R1=4-OMe, R2=4-Cl e) $(H_2BzR)_2=2$ -benzoilpiridina tiosemicarbazona: R1=H, R2=CH <sub>3</sub> e R3=C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> (fenil).....		52
<b>FIGURA 1.23</b> - Estrutura cristalina do composto <i>fac</i> - $[RuCl_2(NO)(dppf)]$ mostrando a numeração dos átomos e as elipsóides de 50 % de probabilidade..		53
<b>FIGURA 1.24:</b> Estrutura do complexo <i>cis</i> - $[RuCl_2(terpy)(NO)]Cl$ .....		53
<b>FIGURA 1.25:</b> a) Estrutura do <i>trans</i> - $[RuCl_4(Ind)_2]ImdH$ (KP1019) e b) <i>trans</i> - $[RuCl_4(Im)(DMSO)]ImH$ , (NAMI-A).....		54
<b>ESQUEMA I:</b> Mecanismo proposto para compostos de Ru(III).....		55
<b>FIGURA 1.26:</b> Coordenação de aminoácido bidentado.....		55
<b>FIGURA 1.27</b> - Estrutura geral dos aminoácidos.....		56
<b>FIGURA 1.28</b> - Aminoácidos padrões encontrados nas proteínas.....		57
<b>FIGURA 1.29</b> - Íon dipolar de um aminoácido. a) forma ácida (doadora de		

próton), b) forma básica (receptora de próton).....	58
<b>FIGURA 1.30</b> - Estereoisomerismo em $\alpha$ -aminoácido; a) L-Alanina e b) D-Alanina.....	58
<b>FIGURA 1.31</b> - Diferentes posições que os átomos de nitrogênio podem ocupar na 2,2'-bipiridina.....	60
<b>FIGURA 1.32</b> - Estruturas dos complexos; a) $[\text{Ru}(\text{bipy})_2(1)](\text{PF}_6)_2$ , b) $[\text{Ru}(\text{bipy})_2(2)](\text{PF}_6)_2$ , c) $[\text{Ru}(\text{bipy})_2(3)](\text{PF}_6)_2$ .....	61
<b>FIGURA 1.33:</b> Estrutura de $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ .....	62
<b>FIGURA 3.1</b> - Disposição espacial do grupo R nos diastereoisômeros de compostos $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ .....	71
<b>FIGURA 3.2</b> - Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ de $[\text{Ru}(\text{gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ .....	73
<b>FIGURA 3.3</b> - Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ acoplado a $^{15}\text{N}$ de $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , em metanol deuterado.....	73
<b>FIGURA 3.4</b> - Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ de $[\text{Ru}(\text{L-Ser})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ .....	74
<b>FIGURA 3.5</b> - Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ de $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ .....	74
<b>FIGURA 3.6</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , em clorofórmio deuterado.....	76
<b>FIGURA 3.7</b> - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ de $[\text{Ru}(\text{L-Trp})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , em clorofórmio deuterado.....	77
<b>FIGURA 3.8</b> - Espectro de absorção na região do UV-Vis; a) do complexo $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$ , b) do complexo <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{bipy})_2]$ .....	79
<b>FIGURA 3.9</b> - Espectro de absorção do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ e $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ em diclorometano $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ .....	80
<b>FIGURA 3.10</b> - Espectro de absorção do complexo $[\text{Ru}(\text{L-Val})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ em diclorometano.....	81
<b>FIGURA 3.11</b> - Espectros de absorção na região do IV da leucina em KBr.....	82
<b>FIGURA 3.12</b> - Espectro no IV dos complexos $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ e $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , em KBr.....	84
<b>FIGURA 3.13</b> - Espectro no IV do complexo $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , em KBr.....	85

<b>FIGURA 3.14</b> - Espectro no IV do complexo [Ru(L-Val)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> , em KBr.....	85
<b>FIGURA 3.15</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de [Ru(L-Ala)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> H <sub>2</sub> O, em clorofórmio deuterado, seco com peneira molecular.....	89
<b>FIGURA 3.16</b> - Espectro de RMN <sup>1</sup> H de [Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> . 2H <sub>2</sub> O, em clorofórmio deuterado, seco com peneira molecular.....	89
<b>FIGURA 3.17</b> - Voltamograma cíclica do [RuCl <sub>2</sub> (dppb)(bipy)]. Eletrólito PTBA 0,1 mol.L <sup>-1</sup> ; solvente: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ; eletrodo de referência: Ag/AgCl; velocidade de varredura: 100 mV.s <sup>-1</sup> .....	90
<b>FIGURA 3.18</b> - Voltamograma cíclico [Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> , eletrólito PTBA 0,1 mol.L <sup>-1</sup> ; solvente: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ; eletrodo de referência: Ag/AgCl; velocidade de varredura: 100 mV.s <sup>-1</sup> .....	91
<b>FIGURA 3.19</b> - Voltamograma de pulso diferencial de [Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> , eletrólito PTBA 0,1 mol.L <sup>-1</sup> ; solvente: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ; eletrodo de referência: Ag/AgCl; velocidade de varredura: 70 mV.s <sup>-1</sup> .....	92
<b>FIGURA 3.20</b> - a) Voltamograma cíclico e b) pulso diferencial de oxidação do [Ru(L-Met)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> , eletrólito PTBA 0,1 mol.L <sup>-1</sup> ; solvente: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ; eletrodo de referência: Ag/AgCl; velocidade de varredura: 70 mV.s <sup>-1</sup> .....	93
<b>FIGURA 3.21</b> - a) Voltamograma cíclica e b) pulso diferencial de oxidação do [Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> , eletrólito PTBA 0,1 mol.L <sup>-1</sup> ; solvente: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ; eletrodo de referência: Ag/AgCl; velocidade de varredura: 70 mV.s <sup>-1</sup> .....	94
<b>FIGURA 3.22</b> - (a) voltamograma cíclico e (b) voltamograma de pulso diferencial de oxidação da glicina, eletrólito PTBA 0,1 mol.L <sup>-1</sup> ; solvente: dimetilformamida; eletrodo de referência: Ag/AgCl; velocidade de varredura: 70 mV.s <sup>-1</sup> .....	95
<b>FIGURA 3.23</b> - (a) voltamograma cíclico e (b) voltamograma de pulso diferencial de oxidação do triptofano, eletrólito PTBA 0,1 mol.L <sup>-1</sup> ; solvente: dimetilformamida; eletrodo de referência: Ag/AgCl; velocidade de varredura: 70 mV.s <sup>-1</sup> .....	95
<b>FIGURA 3.24:</b> Voltamograma cíclico de oxidação da glicina, em solução 0,1 mol.L <sup>-1</sup> HClO <sub>4</sub> com Ag/AgCl como eletrodo de referencia e prata como de trabalho.....	96
<b>FIGURA 3.25</b> - Cromatograma de misturas de diastereoisômeros do [Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> .....	97

<b>FIGURA 3.26</b> - Cromatograma da primeira fração coletada referente ao diastereoisômero $\Delta$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> .....	97
<b>FIGURA 3.27</b> - Cromatograma da segunda fração coletada referente ao diastereoisômeros $\Lambda$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> .....	98
<b>FIGURA 3.28</b> - Espectro de RMN <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H} do diastereoisomero $\Delta$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> em CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /D <sub>2</sub> O.....	98
<b>FIGURA 3.29</b> - Espectro de RMN <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H} do diastereoisomero $\Lambda$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /D <sub>2</sub> O.....	99
<b>FIGURA 3.30:</b> Espectro de RMN <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H} de $\Lambda$ , $\Delta$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /D <sub>2</sub> O.....	99
<b>FIGURA 3.31</b> - Espectro de dicroísmo circular; (----) $\Delta$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> e (----) $\Lambda$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> em metanol.....	100
<b>FIGURA 3.32</b> - Espectro de absorção na região do UV-Vis dos $\Delta$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> e $\Lambda$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> em diclorometano.....	101
<b>FIGURA 3.33</b> - Voltamogramas de pulso diferencial, mostrando os processos de oxidação das frações dos diastereoisomeros do composto com serina. Eletrólito PTBA 0,1 mol.L <sup>-1</sup> ; solvente: CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ; eletrodo de referência:Ag/AgCl; velocidade de varredura:70 mV.s <sup>-1</sup> .....	102
<b>FIGURA 3.34</b> - Estrutura cristalina para o complexo [RuCl <sub>2</sub> (dppb)(bipy)] mostrando a numeração dos átomos e as elipsóides de 50 % de probabilidade.....	104
<b>FIGURA 3.35</b> - Estrutura cristalina para o complexo [Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> mostrando a numeração dos átomos e as elipsóides de 50 % de probabilidade.....	106
<b>FIGURA 3.36</b> - Estrutura cristalina para o complexo [Ru(L-Leu)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> mostrando a numeração dos átomos e as elipsóides de 50 % de probabilidade.....	108
<b>FIGURA 3.37</b> - Ensaios de MTT para os complexos [Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (a) e [Ru(L-Met)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (b) em linhagem de célula tumoral MDA-MB-231, tempo de incubação 48 h.....	112
<b>FIGURA 3.38</b> - Ensaios de MTT para os complexos [Ru(L-Leu)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (a), [Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (b), [Ru(L-Lys)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (c) e [Ru(L-Val)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> , (d) [Ru(L-Typ)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> , em linhagem de célula tumoral MDA-MB-231, tempo de incubação 48 h.....	113

<b>FIGURA 3.39</b> - Ensaio de MTT para os complexos (a) $[\text{Ru}(\text{L-Trp})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , (b) $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e (c) $[\text{Ru}(\text{L-Try})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ em linhagem de célula tumoral MDA-MB-231, tempo de incubação 48 h.....	114
<b>FIGURA 3.40</b> - Histograma de $\text{IC}_{50}$ de compostos com aminoácidos.....	116
<b>FIGURA 3.41</b> - Estruturas para compostos carbonílicos e nitrosilos; a) <i>ct</i> - $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ b) <i>tc</i> - $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ c) <i>cc</i> - $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ d) $[\text{RuCl}_2(\text{NO})(\text{dppp})(\text{py})]\text{PF}_6$ e) $[\text{RuCl}_2(\text{NO})(\text{dppp})(\text{mepy})]\text{PF}_6$ f) $[\text{RuCl}_2(\text{NO})(\text{dppp})(4\text{-phpy})]\text{PF}_6$ .....	117



## RESUMO

### COMPLEXOS DE RUTÊNIO CONTENDO AMINOÁCIDOS, COM PROPRIEDADES CITOTÓXICAS EM CÉLULAS TUMORAIS

Síntese de compostos de metais de transição, principalmente com o rutênio vem aumentando ao longo dos anos, pois compostos desse tipo possuem diversas aplicações no campo da biologia, dentre elas como agentes antitumorais. Neste trabalho foram sintetizados compostos de rutênio com aminoácidos de formula geral  $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , onde , AA = aminoácido, dppb = 1,4-bis(difenilfosfino)butano e bipy = 2, 2'-bipiridina, usando como precursor o *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ .

Foram utilizadas as técnicas usuais de caracterização dentre elas; RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  e  $^{13}\text{C}$ , UV-Vis, IV, Voltametria Cíclica e Análise Elementar. Também, foram feitos ensaios em linhagem de células do tipo MDA-MB-231 (câncer de mama) com a intenção de avaliar as células tumorais dos complexos *in vitro*.

Nos espectros de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  dos complexos foram observados quatro dubletos com valores próximos de 46, 44, 39 e 38 ppm para todos os compostos sintetizados com exceção ao composto  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  que apresenta somente dois dubletos em 45,3 e 38,5 ppm. Isto sugere que há uma mistura de diastereoisômeros para todos os compostos, menos para o complexo  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ .

Para a voltametria cíclica de todos os compostos exceto o composto  $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  é observado um processo de redox Ru(II)/Ru(III) quasi-reversível em valores próximos de 1100 mV. Também existe outro processo de menor intensidade acima de 1200 mV, que é melhor observado pela voltametria de pulso diferencial, o qual é atribuído a processo redox dos aminoácidos. Os espectros eletrônicos dos compostos com aminoácidos são todos similares, apresentam bandas em 290, 420 e 500 nm (ombro) que são atribuídas a transições intraligante  $\pi \rightarrow \pi^*$  e  $d\pi_{(\text{Ru})} \rightarrow \pi^*_{(\text{bipy})}$ , sucessivamente.

Os diastereoisômeros do composto  $[\text{Ru}(\text{L-Ser})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  foram separados por CLAE. Estes diastereoisômeros foram identificados por

espectroscopia de dicroísmo circular(DC). Foram obtidos cristais do composto  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  e  $[\text{Ru}(\text{L-Leu})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , em ambos o nitrogênio do aminoácido encontra-se *trans* ao átomo de fósforo da dppb e o oxigênio *trans* ao átomo de nitrogênio da bipyridina. Nos testes biológicos os resultados foram bastante promissores.

Os  $\text{IC}_{50}$  nos ensaios celulares com linhagem tumoral para todos os compostos foram muito abaixo do valor da cisplatina, dando destaque para o complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  com um valor de  $5 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , valor este 17,5 vezes menor que o da cisplatina nas mesmas condições experimentais.

## ABSTRACT

### RUTHENIUM COMPLEXES CONTAINING AMINO, ACIDS WITH CYTOTOXIC PROPRIETIES IN TUMORAIS CELLS

The synthesis of transition metal compounds mainly with ruthenium, has been increasing along the time, since compounds of this kind have many applications in the biological fields, among them, as anticancer agent. In this work were synthesized and characterized ruthenium compounds with amino acids of the general formula  $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , AA = amino acid, dppb = 1,4-*bis*(diphenylphosphino)butane and bipy = 2, 2'-bipyridine, using as precursor the *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ .

Standard techniques were used for characterization of the complexes, among them:  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NMR and  $^{13}\text{C}$ , IR, UV-Vis, Cyclic Voltammetry, Differential Pulse Voltammetry and X-Ray diffraction. Also, were made cytotoxicity experiments in cells of the type MDA-MB-231 to evaluate the citotoxicity of the complexes.

In the  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NMR spectra of the complexes four doublets were detected with values close to 46, 44, 39 e 38 ppm with exception of the compound  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  that presented only two doublets on 45,3 and 38,5 ppm. This suggests that there is a mixture of diastereoisomers for all compounds, with exception for the complex  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ .

At the cyclic voltammetry of all compounds, except of compound  $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  (irreversible) is observed a quasi-reversible Ru(III)/Ru(II) redox process with values close to 1100 mV. Also, there is another process of lower intensity above 1200 mV that is better observed by this differential pulse voltammetry that are attributed to redox process of the amino acids. The electronic spectra of the compounds are practically the same, showing bands around 290, 420 and 500 nm (shoulder) that are attributed to intra-ligand  $\pi \rightarrow \pi^*$  or to  $d\pi_{(\text{Ru})} \rightarrow \pi^*_{(\text{bipy})}$  transitions.

The diastereoisomers of the compound  $[\text{Ru}(\text{L-Ser})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  were separated by HPLC. These diastereoisomers were identified by circular dichroism spectroscopy (CD). Crystals of the compounds  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  and  $[\text{Ru}(\text{L-Leu})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , were obtained and both showed the nitrogen of the

amino acid to be *trans* to the phosphorus atom of the dppb and the oxygen opposite to the nitrogen of the bipyridine.

The IC<sub>50</sub> of all compounds in the cellular experiments with tumoral lineage were found to be lower than that one of the cisplatin, especially the IC<sub>50</sub> of the compound [Ru(L-Met)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> (5 μM), which is 17,5 time lower than the IC<sub>50</sub> of the cisplatin in the same experimental condition.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....</b>	<i>vi</i>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<i>viii</i>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<i>x</i>
<b>RESUMO.....</b>	<i>xv</i>
<b>ABSTRACT.....</b>	<i>xvi</i>
<b>CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO.....</b>	<b>23</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>24</b>
1.1 Câncer, doença do passado, presente e futuro.....	24
1.2 Aplicações de compostos de coordenação na medicina.....	28
1.2.1 Histórico.....	28
1.2.2 Compostos de Arsênio.....	30
1.2.3 Compostos de Lítio.....	30
1.2.4 Compostos de Ouro.....	31
1.2.5 Compostos de Paládio.....	33
1.2.6 Compostos de Ródio.....	34
1.2.7 Compostos de Vanádio.....	37
1.2.8 Compostos de Titânio.....	38
1.2.9 Compostos de Gálio.....	40
1.2.10 Compostos de Cobalto.....	42
1.2.11 Compostos de Platina.....	43
1.2.12 Complexos de rutênio, um fármaco em potencial.....	47
1.3. Características gerais dos aminoácidos.....	56
1.3.1. Características iônicas.....	58
1.3.2 Isomeria.....	58
1.4. Ligantes fosfínicos.....	59
1.5. Ligantes bipyridínicos.....	59
1.6 Objetivo.....	62
<b>CAPÍTULO II- PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>63</b>
<b>2.1 PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>64</b>
2.1.1. Obtenção de atmosfera inerte.....	64
2.1.2. Solventes orgânicos.....	64

2.1.3 Testes de citotoxicidade.....	64
2.1.4.Aminoácidos utilizados nas sínteses dos complexos [Ru(AA)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> .....	65
<b>2.2 TÉCNICAS EXPERIMENTAIS.....</b>	<b>65</b>
2.2.1 Análise elementar (C, H, N e S) .....	65
2.2.2 Condutividade molar.....	66
2.2.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	66
2.2.4 Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis.....	66
2.2.5 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.....	66
2.2.6 Eletroquímica.....	67
2.2.7 Difração de raios-x.....	67
<b>2.3. SÍNTESE DE PRECURSORES.....</b>	<b>68</b>
2.3.1.[RuCl <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> )].....	68
2.3.2. [RuCl <sub>2</sub> (dppb)(PPh <sub>3</sub> )].....	68
2.3.3.[RuCl <sub>2</sub> (dppb)(bipy)].....	68
<b>2.4 SÍNTESE DE COMPLEXOS COM AMINOÁCIDOS.....</b>	<b>69</b>
2.4.1. [Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> .....	69
<b>CAPÍTULO III- RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>70</b>
<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>71</b>
<b>3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS.....</b>	<b>71</b>
3.1.1 Ressonância magnética nuclear.....	72
3.1.2 Espectroscopia de absorção na região do U.V-Vis.....	78
3.1.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.....	82
3.1.4 Condutimetria molar.....	87
3.1.5 Análise elementar.....	88
3.1.6 Eletroquímica.....	90
3.1.7 Resolução dos diastereoisômeros.....	96
3.1.8 Difração de raios-x.....	102
3.1.9 Testes de citotoxicidade.....	111
<b>CAPÍTULO IV - CONCLUSÕES.....</b>	<b>119</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>123</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>135</b>

# **CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO**

---

## INTRODUÇÃO

### 1.1 Câncer, doença do passado, presente e futuro

O câncer é conhecido desde 3000 anos antes de Cristo. A palavra câncer tem origem no latim, cujo significado é caranguejo. Esse nome foi dado à doença porque se refere a um processo em que as células doentes atacam e se infiltram nas células saudáveis como se fossem tentáculos de um caranguejo. Esta doença tem um período de evolução duradouro, podendo, muitas vezes, levar anos para evoluir até ser descoberta [1]. Já foram identificados mais de cem tipos de câncer, sendo que a maioria tem cura (benignos), desde que identificados num estágio inicial e tratados de forma correta. O câncer é uma doença causada por uma série de mutações somáticas do DNA, que é caracterizada por uma população de células que crescem e se dividem sem respeitar os limites normais, invadindo e destruindo tecidos adjacentes, podendo se espalhar para lugares distantes do corpo através de um processo chamado metástase [2]. Também pode originar-se de erros aleatórios de replicação, exposição à carcinógenos, ou defeitos no reparo de DNA [3]. O câncer é a causa de cerca de 7,1 milhões de mortes por ano em todo mundo, o que representa 12,6 % de todas as mortes, sendo os cânceres de pulmão, estômago, fígado, cólon e mama os que mais matam [4]. O câncer é também a segunda doença que mais mata no Brasil, perdendo apenas para doenças do sistema circulatório. Quase todos os cânceres são causados por anomalias no material genético de células transformadas. Atualmente a medicina dispõe da radioterapia, quimioterapia e de cirurgias para combater a doença. Quando é possível a retirada do tumor, a cirurgia é o procedimento mais adequado. A radioterapia (geralmente raios gama, radioisótopos como cobalto-60, raios X) é também outra forma de tratamento utilizado para o tratamento de células cancerígenas, porém este procedimento tem efeitos colaterais como, por exemplo, queimaduras na pele provocada pela passagem da radiação. A quimioterapia é um procedimento que visa, através da administração de drogas, impedir a divisão de células cancerígenas [5]. Esse procedimento também tem efeitos colaterais como, por exemplo, náusea, vômito e queda de cabelos, dentre outros listados na Tabela 1. Nos casos de câncer de mama e de próstata é usada a hormonoterapia, pois estes tipos de tumores são sensíveis à ação de determinados hormônios.



**TABELA 1** - Agentes quimioterápicos comumente utilizados no tratamento do câncer [1].

<b>Agentes antitumorais</b>		
<b>Fármaco</b>	<b>Tipo de câncer</b>	<b>Efeitos tóxicos</b>
Ciclofosfamida	Mama, ovário, linfoma, leucemia, pulmão	Supressão da medula óssea, náuseas, vômitos, queda de cabelos, hematúria
Doxorrubicina	Mama, pulmão, linfoma	Náuseas/vômitos, miocardiopatia, estomatite, supressão da medula óssea
Vincristina	Linfoma, pulmão, leucemia	Neuropatia periférica
Cisplatina	Pulmão, bexiga, ovário, cólon uterino, cabeça e pescoço	Náuseas, Neuropatia, Auditivos, Plaquetas > leucócitos da medula óssea, problemas renais
Carboplatina	Ovário, pulmões	Plaquetas > leucócitos da medula óssea, Náuseas, problemas renais (altas doses)
Oxaliplatina	Intestino	Náuseas, neuropatia Anemia
Trióxido de arsênio	Leucemia	Neuropatia periférica, dor musculoesquelético, hiperglicemia

Uma outra forma de tratamento quimioterapêutico é o uso de anticorpos monoclonais (mAbs, na sigla em inglês). São anticorpos produzidos por um único clone de um linfócito B parental [6], sendo, portanto, idênticos em relação às suas propriedades físico-químicas e biológicas. Esses mAbs podem ser gerados em laboratório para reconhecer e se ligar a qualquer antígeno de interesse. Tal procedimento foi descrito pela primeira vez em 1975, em artigo publicado na revista *Nature* pelos cientistas César Milstein e Georges Köhler [7]. Na área de oncologia, uma nova geração de medicamentos em desenvolvimento está baseada na

---

capacidade dos mAbs em reconhecer antígenos específicos de tumores e induzir uma resposta imune contra as células cancerosas. Além disso, os mAbs podem ser modificados de forma a atuarem como portadores de radioisótopos ou toxinas às células cancerosas, ampliando sua janela de aplicação terapêutica [7]. Desta forma eles são uma classe relativamente nova de substâncias e seu desenvolvimento é um dos maiores avanços no tratamento de linfoma não-Hodgkin nos últimos anos. O anticorpo monoclonal mais frequentemente usado para o tratamento de linfoma não-Hodgkin é o rituximabe (Tabela 1.2). Rituximabe é eficaz no tratamento de alguns dos tipos mais comuns de linfoma [8]. Em geral ele é administrado em combinação com a quimioterapia, embora possa ser aplicado isoladamente em algumas circunstâncias. No linfoma não-Hodgkin indolente, a medicação pode aumentar o tempo da remissão obtida pelo tratamento. No tipo agressivo a adição de rituximabe à quimioterapia padrão demonstrou aumentar a chance de cura do paciente e melhorar a sobrevida, em comparação com a quimioterapia sozinha. E o mais importante, os efeitos colaterais do rituximabe associados à infusão geralmente ocorrem só durante a administração da medicação e diminuem nas doses subsequentes. Sua administração concomitante com o regime quimioterápico não causa qualquer aumento significativo nos efeitos colaterais da quimioterapia escolhida. Efeitos colaterais com persistência superior a alguns minutos ou horas são raros e, em geral, sem qualquer relevância clínica [8].

TABELA 1.2 - Anticorpos monoclonais utilizados na terapia oncológica e seus respectivos nomes comerciais e usos clínicos[9].

Nome genérico	Ano de aprovação no FDA	Nome Comercial	Uso clínico
Rituximabe	1997	Rituxan <sup>®</sup> Mabthera <sup>®</sup>	Linfoma não-Hodgkin de células B, CD 20 positivo, recorrente ou refratário.
Trastuzumabe	1998	Herceptin <sup>®</sup>	Câncer de mama metastático e adjuvante
Gemtuzumabe ozogamicina	2000	Mylotarg <sup>®</sup>	Leucemia Mielóide Aguda CD33 positivo em pacientes com pelo menos 60 anos e que não sejam candidatos à terapia citotóxica
Alemtuzumabe	2001	Campath <sup>®</sup>	Leucemia Linfocítica Crônica-B em pacientes previamente tratados com agentes alquilantes e que falharam na terapia com fludarabina.
Ibritumomabe tiuxetana	2002	Zevalin <sup>®</sup>	Linfoma não-Hodgkin de células B de baixo grau, folicular ou transformado, com doença refratária ou recaída, incluindo aqueles refratários a rituximabe.
I-tositumomabe	2003	Bexxar <sup>®</sup>	Linfoma não-Hodgkin CD20 positivo, folicular, com ou sem transformação, com doença refratária a rituximabe e com recaída após quimioterapia.
Bevacizumabe	2004	Avastin <sup>®</sup>	Câncer colorretal metastático, associado à quimioterapia com 5-fluorouracil.
Cetuximabe	2004	Erbix <sup>®</sup>	Câncer colorretal, associado ou não ao irinotecano.

---

## 1.2 Aplicações de compostos de coordenação na medicina

### 1.2.1 Histórico

Alguns elementos inorgânicos possuem um papel crucial na biologia e em processos biomédicinais [10]. Muitos metais são de fundamental importância nos sistemas biológicos, uma vez que estes se ligam e interagem com moléculas biológicas como proteínas e DNA [11]. Estes também apresentam afinidades por moléculas indispensáveis para a sobrevivência, como oxigênio, ( $O_2$ ) óxido nítrico, NO e outros. Por exemplo, o transporte de elétrons e de oxigênio no meio biológico é feito, respectivamente, pelos citocromos e hemoglobina [12]. O cobre tem, dentre suas principais funções, a mobilização do ferro para a síntese da hemoglobina, a síntese do hormônio da adrenalina e a formação dos tecidos conjuntivos. O zinco participa da síntese protéica, metabolismo de DNA e RNA, carboidratos, lipídios e assim vários metais de alguma forma tem sua importância no meio biológico.

Existem evidências de que muitos compostos orgânicos usados na medicina não possuem uma atuação puramente orgânica. Algumas moléculas orgânicas podem ser ativadas ou biotransformadas por íons metálicos, incluindo as metaloenzimas. O organismo humano mostra-se provido de várias reações que utilizam compostos de coordenação, dentre elas reações que utilizam metaloproteínas como catalisadores. No tratamento médico à base de fármacos orgânicos, tais compostos podem algumas vezes vir a ter uma atividade associada à coordenação deste à um íon metálico. Por esta razão compostos de coordenação vêm se mostrando, ao longo dos anos, atuantes na química medicinal. Compostos de metais de transição constituem uma classe de quimioterápicos largamente empregados nas clínicas como agentes antitumorais e antivirais.

Há 5000 anos, os egípcios usavam cobre para esterilizar a água. O ouro também era usado para a fabricação de medicamentos, tanto na Arábia quanto na China, há mais de 3500 anos. Porém, somente nos últimos 100 anos é que as propriedades dos compostos inorgânicos começaram a ser estudadas de forma racional. A esse respeito, podemos citar o emprego de compostos de ouro no tratamento da tuberculose; dos antimoniais para o tratamento de leishmaniose [13] e de compostos à base de arsênio para o tratamento da sífilis [11]. A química dos fármacos inorgânicos teve impulso após os trabalhos de Paul Ehrlich, prêmio Nobel em Medicina e Fisiologia de 1908, e de Alfred Werner, prêmio Nobel em Química em

1913. Paul Ehrlich é considerado o fundador da quimioterapia. Ele introduziu a relação estrutura e atividade de compostos inorgânicos pela primeira vez e usou o arsênio para preparar drogas para o tratamento de sífilis [14].

Embora Paul Ehrlich tenha sido o primeiro a fazer o uso de compostos de metais na farmacologia, foi somente em 1965, após a descoberta feita pelo físico Barnett Rosenberg, a respeito das propriedades de inibição de divisão celular de bactérias por compostos de platina [15], que a química medicinal inorgânica deu um grande salto. Rosenberg testou vários compostos de platina, sendo que o *cis*-[(diaminodicloro)platina (II)] tornou-se fármaco no tratamento de vários tipos de câncer, incluindo o de testículo, ovários e outros. Após o uso da cisplatina como droga no tratamento do câncer de testículo, foi registrado em 1978 uma diminuição de cerca de 80% na morte de homens com este tipo de câncer [16]. Após as propriedades medicinais de compostos de platina terem sido descobertas outros compostos inorgânicos começaram a aparecer como potenciais fármacos no combate de varias doenças. Por exemplo, compostos de bismuto, como o citrato de bismuto, é uma das drogas usadas no tratamento para os distúrbios gástricos, juntamente com outras drogas orgânicas[17]. Porém devido a alguns fatores de toxicidade, este medicamento não é muito recomendável para o tratamento de úlcera péptica e gastrite, no Brasil. O nitroprussiato de sódio é um vasodilatador muito usado no controle de hipertensão severa (situações de emergência), sendo administrado por infusão intravenosa contínua, em ambiente hospitalar. Este composto contém na sua estrutura o íon de ferro (II) (Fig. 1.1), em que o grupo nitroprussiato exerce sua função vasodilatadora pela presença do grupo nitro [16].

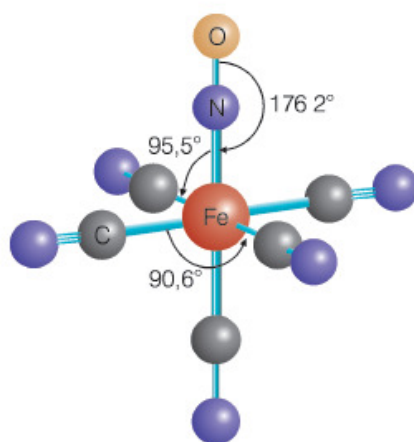


FIGURA 1.1 - Estrutura do ânion nitroprussiato [16].

### 1.2.2 Compostos de Arsênio

Ao longo da história compostos de arsênio foram conhecidos como venenos [18]. Porém estes compostos possuem toda uma história no uso medicinal. Hipócrates (460-377 dc) usou o  $As_2S_3$  e o  $As_2S_2$  no uso medicinal no tratamento de tumores e de ulcera. Galeno (130-200 AC) recomendava uma pasta de sulfeto de arsênio para o tratamento de ulcera. Os chineses também utilizaram por mais de 1000 anos compostos de arsênio na sua medicina tradicional [19, 20]. Compostos de arsênio também foram usados no tratamento de doenças como anorexia e outras doenças nutricionais, reumatite, tuberculose, diabete, malária e sífilis [21] Embora esses compostos tenham sido usados para determinados fins, eram usados sem nenhuma lógica sobre o que ocasionava suas atividades como fármacos. Foi somente em meados de 1910 que Paul Ehrlich, fez uma relação, de forma racional, estrutura-atividade de compostos de arsênio no tratamento de sífilis, e por causas do seu trabalho ele é conhecido como pai da quimioterapia.

Derivados de compostos de arsênio tornaram-se referência no tratamento de sífilis durante um longo tempo, porém mais tarde foram substituídos pela penicilina [19]. Após a descoberta das propriedades anticancerígenas de compostos de platina, em especial para o cisplatina, deu-se uma nova corrida por compostos que tivessem propriedades similares e foi então que os complexos de arsênio voltaram a ser estudados. Em aproximadamente 1970 físicos chineses descreveram o  $As_2O_3$  como um potente agente anticancer quando testado em linhagem de células de leucemia promieloide aguda (APL) obtendo bons resultados [22]. Diante do sucesso nos testes clínicos, em setembro de 2000 o  $As_2O_3$ , foi aprovado para o tratamento da APL em pacientes adultos pela organização de administração de fármacos e alimentos nos Estados Unidos (FDA), o qual atende pelo nome comercial de Trisenox<sup>®</sup> [23, 20].

### 1.2.3 Compostos de Lítio

As propriedades terapêuticas do lítio são conhecidas desde 1949, porém somente em 1957 foi dado o primeiro relato de propriedades farmacêuticas do lítio, por Mongens Schou [24]. O carbonato de lítio ( $Li_2CO_3$ ) é usado no tratamento de pacientes maníaco depressivos (MD), isquemia, esquizofrenia e mal

---

de Alzheimer. A toxicidade do carbonato de lítio é bem estabelecida e o fármaco é satisfatoriamente administrado e bem tolerado. Quando usado em altas doses causa dores de cabeça, diarreia, vômito, desmaios e sonolência. [25]. Para o tratamento da esquizofrenia o fármaco é administrado via oral em doses de 2g/dia(30mmol/dia) [23]. Berrige e colaboradores sugerem que a superativação dos sítios do inositol - monofosfatase (InsP) no cérebro dos pacientes é o causador do MD, onde os sítios de tal substância podem ser inibidos pelo carbonato de lítio [26]. O mal de Alzheimer é uma desordem neurodegenerativa do cérebro causando uma disfunção neural matando as células e levando à demência. No começo da doença de Alzheimer ocorre a acumulação extracelular de placas neuríticas compostas por proteínas  $\beta$ -amilóide e acumulação intercelular de proteínas defeituosas. A ocorrência da doença de Alzheimer é da ordem de 10% em pessoas acima dos 65 anos e de 48% para pessoas acima dos 85 anos [19].

O uso de compostos de lítio não se restringe somente ao tratamento de pacientes maníaco depressivos, isquemia, esquizofrenia e mal de Alzheimer. A droga antiviral Zidovudine (AZT) tem sido usada no tratamento da síndrome imunodeficiência adquirida (AIDS) para prolongar a vida dos pacientes infectados. Essa droga é limitada, pois provoca mielosupressão e toxicidade na medula óssea, fazendo com que o vírus adquira resistência durante o tratamento e outros efeitos colaterais. Para reduzir esses efeitos são usados sais monovalentes de lítio juntamente com o zidovudine, pois o lítio possui a capacidade de modelar a toxicidade do AZT significativamente, influenciando a produção de células sanguíneas e diminuindo assim a toxicidade [24, 25]. Além do uso no tratamento no prolongamento da vida de pessoas com o vírus da AIDS, são relatados que compostos de lítio possuem atividade antitumoral em diversos tipos de cancer[25]. Entre essas drogas está o sal de lítio-ácido  $\alpha$ -linoleico [22].

#### 1.2.4 Compostos de Ouro

Compostos contendo fosfinas como ligantes são muito estudados, pois alguns destes possuem várias atividades biológicas [27]. O complexo Auranofina (Fig. 1.2) é um dos fármacos empregados no tratamento de artrite reumatóide, pois este alivia os sintomas e impede o curso progressivo da doença [17, 28]. Embora ouro e seus complexos tenham historicamente sido usados para o tratamento de

grande número de doenças, o uso racional destes só se deu primeiramente em 1920 quando este foi clinicamente testado *in vitro* contra certos tipos de bactérias. Em 1930 complexos de ouro foram usados no tratamento de tuberculose pulmonar, porém ao serem observadas suas toxicidades, foram abandonados e substituídos por complexos de Au(I) com tiolatos que são menos tóxicos. Por décadas os complexos tiolatos de Au(I) foram usados como única forma de tratamento de artrite reumatóide, porém seus efeitos tóxicos ainda prevaleciam, levando dessa forma os pesquisadores a desenvolverem novas drogas de Au(I). O resultado de extensivos esforços levaram à compostos com ligantes tiomalato, glicose e trietilfosfínicos (Figura 1.2a, 1.2b e 1.2c) de Au(I), os quais são usados no tratamento da artrite reumatóide.

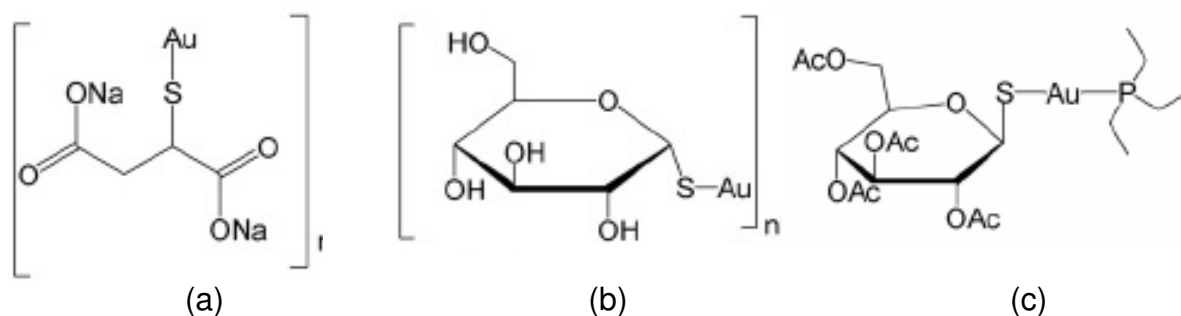


FIGURA 1.2 - Estrutura de compostos de Au(I) usados no tratamento de artrite reumatóide; a) Aurotiomalato de sódio, b) Aurotioglicose, c) Auranofina [27].

Ademais, a Auranofina mostra-se como um potente agente anticancer (Leucemia) *in vitro* e *in vivo* [19], porém este é completamente inativo contra tumores sólidos. Para estes compostos de ouro é descrito um mecanismo diferente do cisplatina, pois estudos mostram que esses composto ligam-se a proteínas que interagem com o DNA, assim desativando uma serie de funções importantes para a replicação do mesmo [17]. Embora esses compostos de ouro sejam altamente ativos contra leucemia, seus primeiros testes mostraram efeitos cardiotoxicos muito altos. Desta forma não sendo levado a diante para tal propósito. Além de compostos de Au(I), encontra-se também outros com estado de oxidação três, como  $[Au(en)_2]Cl_3$ ,



[Au(dien)Cl]Cl<sub>2</sub>, [Au(ciclam)](ClO<sub>4</sub>)Cl<sub>2</sub>, [Au(terpy)Cl]Cl<sub>2</sub>, e [Au(phen)Cl<sub>2</sub>]Cl que são citados como agente anticancer em linhagens do tipo A2780 (câncer de ovário).

### 1.2.5 Compostos de Paládio

Complexos de paládio na medicina tem sido pouco explorados em comparação com outros metais [19]. Compostos de paládio também chamam atenção como potenciais agentes antitumorais. Corbi e colaboradores relatam que compostos como Pd(II)-metSO (Figura 1.3) apresenta atividades anticancer em linhagens de célula HeLa(câncer cervical) [29]. Além do mais, compostos de paládio com aminoácidos, tipo [Pd(phen)(Tyr)] também são citados como agentes anticancerígenos (Figura 1.3). Este possui atividade anticancer em linhagem de células cancerígenas de leucemia (P388) [30].

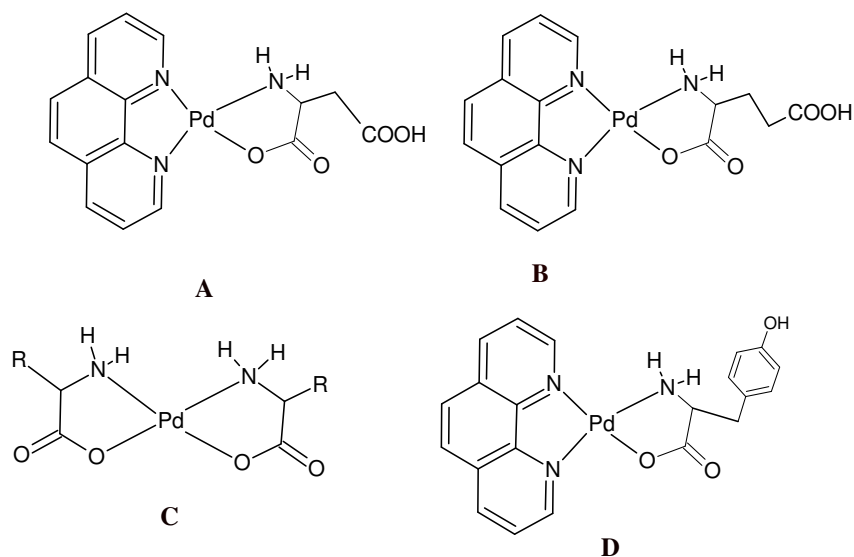


FIGURA 1.3 - Estrutura de compostos de Paládio com atividades citotóxicas; A) [Pd(phen)(Asp)]Cl, B) [Pd(phen)(Glu)]NO<sub>3</sub>, C) [Pd (AA)<sub>2</sub>], AA=aminoácido D) [Pd(phen)(Tyr)]Cl [30].

Ligantes tiosemecarbazonas possuem atividades antiviral, antimalária, antifúngica, antibactericida e anticancer. Assim para seus respectivos complexos de paládio(II) também são esperados propriedades semelhantes. Tiosemecarbazonas com ligantes contendo enxofre tem sido usadas para as sínteses de compostos de Pd(II) com propósito de potenciais agentes anticancer. Os complexos tem sido ativos em uma série de linhagens de células cancerígenas com valores de IC<sub>50</sub> similares ao

cisplatina [31]. Dentre esses complexos enquadram-se o  $[\text{Pd}(\rho\text{-isoTSCN})(\mu\text{-Cl})_2]$  e o  $[\text{Pd}(\rho\text{-isoTSCN})_4]$  [32]

Simone Dreher também descreve complexos paladaciclos do tipo  $\{[\text{Pd}(\text{CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)_2)(\text{Cl})\text{C}=\text{C}(\text{Ph})(\text{dppe})]\text{Cl}\}$  e  $[\text{Pd}(\sigma\text{-NC}_5\text{H}_4)(\text{Cl})\text{C}=\text{C}(\text{Ph})(\text{dppe})]\text{Cl}$  como agentes antitumorais. Estes possuem atividade em linhagem de células tumorais de melanoma murino [33].

### 1.2.6 Compostos de Ródio

Complexos de ródio estão entre a classe de promissores agentes anticancerígenos. A atividade antitumoral é uma das principais características de compostos de coordenação e organometálicos de Rh(I), Rh(II) e Rh(III) contendo nitrogênio, enxofre e oxigênio em seus ligantes [19]. Acredita-se que suas atividades podem estar relacionadas pelo fato desses compostos, com configuração  $d^8$ ,  $d^7$  e  $d^6$ , serem isoeletrônicos de compostos de Pt(II), Pt(III) e Pt(IV), respectivamente, esperando que estes tenham propriedades químicas semelhantes aos compostos de platina [19].

Os complexos de Rh(I) possuem duas características semelhantes ao cisplatina que são de configuração  $d^8$  (isoeletrônico) e sua geometria que é quadrado planar. Compostos de Rh(I) apresentam propriedades citotóxicas onde encontra-se o  $[\text{RhCl}(\text{COD})(\text{NH}_3)]$ ,  $[\text{RhCl}(\text{COD})(\text{piperidina})]$  e o  $[\text{RhCl}(\text{COD})(\text{NH}_3)]$ , onde COD=1,5-ciclooctadieno [19]. Estes são eficientes contra leucemia L1210 e inibem o desenvolvimento da metástase. Esses compostos podem sofrer dissociação igualmente ao cisplatina e assim se ligando no DNA.

Em 1972 Bear e colaboradores descreveram que o composto binuclear  $[\text{Rh}_2(\text{OOCR})_4]$  (Figura 1.4a) é um potente agente anticancerígeno. Esse composto mostrou-se ativo em linhagem de células L1210 (Leucemia) e câncer de boca. Um fato curioso para esse composto, é que sua atividade atitumoral está diretamente associada com aumento do caráter hidrofóbico do composto, o que aumenta à medida que a cadeia **R** alifática aumenta. Compostos de Rh(II) como o  $[\text{Rh}_2(\text{OOCR})_4\text{X}_2]$  onde X=ácido isonicotínico, e  $[\text{Rh}_2(\text{OOCF}_3)_4\text{L}_2]$ , L=sulfadiazina (Figura 1.4c), também são investigados como agentes anticancerígenos. Foi observado que para aduto do composto  $[\text{Rh}_2(\text{OOCR})_4\text{L}_2]$  (Figura 1.4b), (R=Me, Et, Pr) com o ácido isonicotínico (Figura 1.4d), é ativo *in vitro* em células tumorais

derivadas do tumor humano leucemia (K662) e quando melhor estudados *in vivo* em ratos, o aduto do composto com o ácido isonicotínico na presença da membrana celular ou de lipídios no sangue sofre uma dissociação facilitando a sua entrada do composto na célula e provavelmente apresentando um mecanismo parecido com o cisplatina, pois os ligantes L são labéis [34].

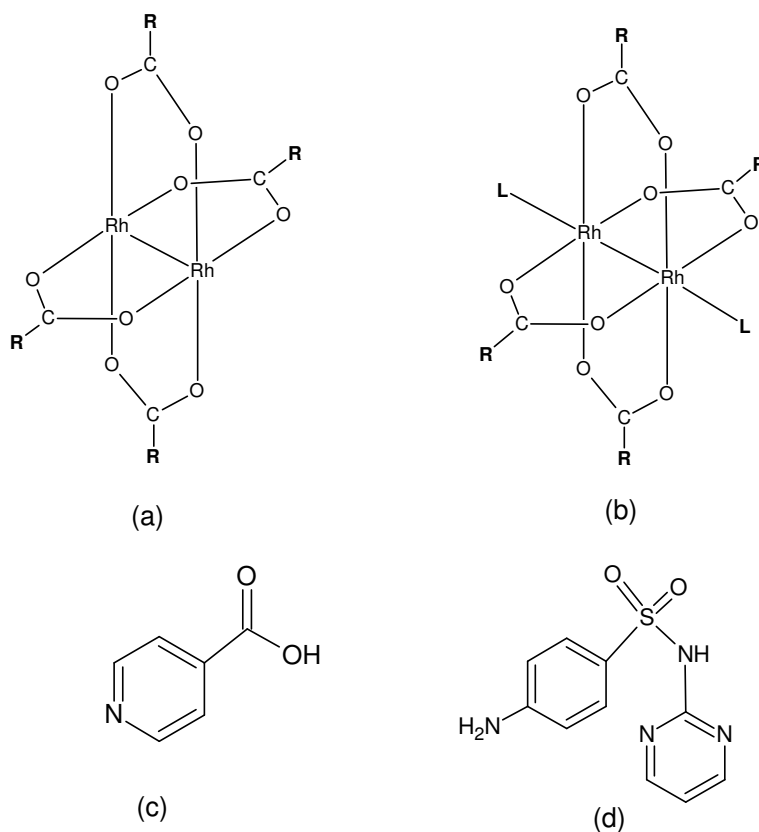


FIGURA 1.4 - Estrutura de compostos de Rh(II); a)  $[\text{Rh}_2(\text{OOCR})_4]$ , b)  $[\text{Rh}_2(\text{OOCR})_4\text{L}_2]$ , c) ácido isonicotínico, d) sulfadiazina [34].

Os compostos de Rh(III) possuem uma configuração  $d^6$  e são isoeletrônicos de compostos de Ru(II) e Pt(IV), esperando-se assim uma atividade antitumoral para os mesmos. Esses complexos são geralmente octaédricos e inertes, porém muitos desses foram testados como antitumorais e apresentaram bons resultados. Os complexos de Ru(II) podem tanto sofrer uma hidrólise igualmente ao cisplatina e se ligar no DNA, como podem apenas se intercalar no DNA. Os compostos de Pt(IV) são bastantes inertes e acredita-se que seu

mecanismo de atuação pode está primeiramente ligado à uma redução à Pt(II) por biomoléculas inter e intra celular para só então sofrer hidrólise e se ligar no DNA [35]. Deste modo os complexos de Rh(III) provavelmente podem a vir a se intercalar com o DNA através do nitrogênio das bases guanina e adenosina, semelhante a alguns compostos de Ru(II). Complexo meridional (OC-6-21)-[RhCl<sub>3</sub>(NH<sub>3</sub>)] é extraordinariamente ativo contra sarcoma 180 [36]. Os complexos contendo DMSO também se apresentam bastante ativos, onde o (OC-6-21)-[RhCl<sub>3</sub>(DMSO)<sub>2</sub>(L)], L=NH<sub>3</sub>, imidazol, mostrou-se bastante ativo em linhagens de células tipo A2780(câncer de ovário), LoVo(cólon) igualmente a cisplatina [37]. O composto [RhCl<sub>3</sub>(tpy)](CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, onde tpy= 2,2':6',2''-terpiridina, é um exemplo de composto que interage com o DNA via bases nitrogenadas e assim como o cisplatina apresenta atividade antitumoral. Os complexos [Rh(phen)<sub>2</sub>(phi)]<sup>3+</sup> e [Rh(phen)<sub>2</sub>(chrysi)]<sup>3+</sup> (Figura 1.5a e 1.5b) são também exemplos de compostos Rh(III) que se intercalam entre o DNA e as bases guanina e adenosina [19]. Em termos de toxicidade da droga, poucos estudos se têm, mas se sabe que estes complexos são pouco acumulados pelo organismo e quando acumulados estes são eliminados pela urina via trato intestinal.

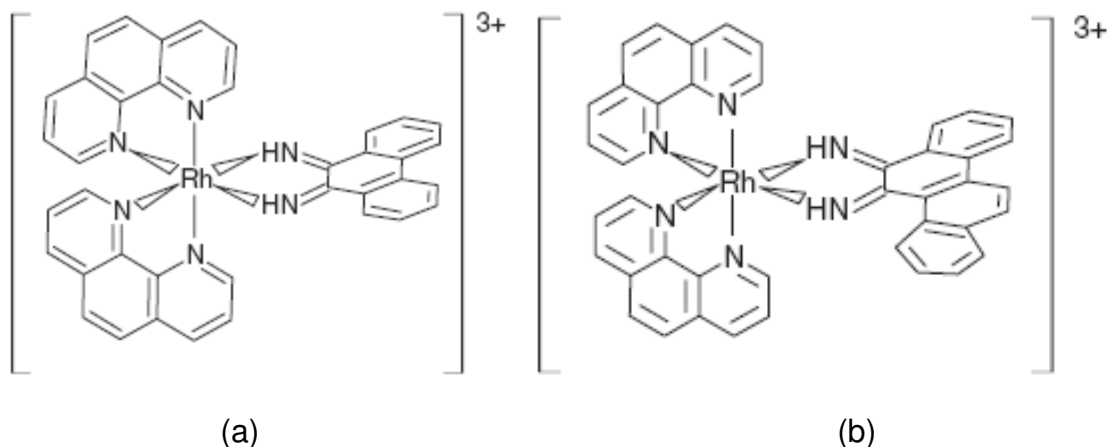


FIGURA 1.5 - Estrutura a) [Rh(phen)<sub>2</sub>(phi)]<sup>3+</sup> e b) [Rh(phen)<sub>2</sub>(chrysi)]<sup>3+</sup> [19].

Além do mais são encontrados na literatura complexos de Rh(I), Rh(II) e Rh(III) que são ativos contra malária, leishmaniose, tripanosomas, e certo tipos de bactérias. Entre tais compostos, o [RhCl(COD)(CQ)] onde CQ=cloroquina (Figura 1.6f) é um exemplo de composto com atividade antimalária [38]. Os compostos [Rh<sub>2</sub>(OOC)<sub>4</sub>L<sub>2</sub>], onde L=(Plasmaquina, Chloroquina, Primaquina, Mepacrina,

Pentaquina, Amodiaquina; Figura 1.6), mostram-se antimalária, antitumor e antitripanossomo [39].

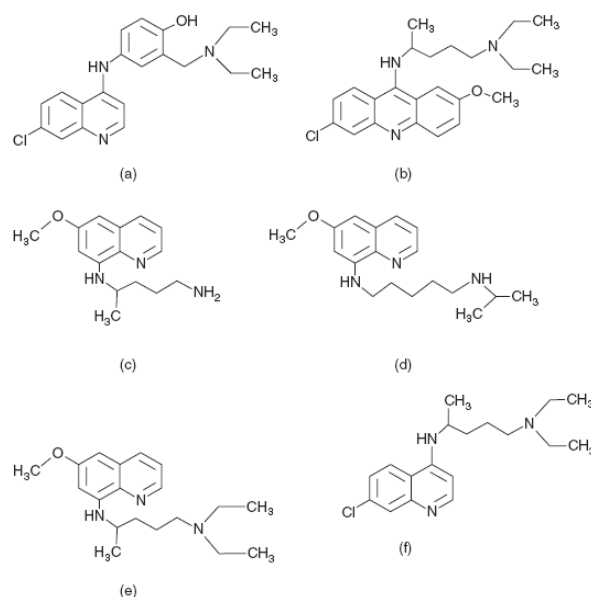


FIGURA 1.6 - Estrutura de ligantes usados em complexos de ródio antimalária; a) Amodiaquina, b) Mepacrina, c) Primaquina, d), Pentaquina, e) Plasmaquina e f) Cloroquina [38].

### 1.2.7 Compostos de Vanádio

Íons de vanádio normalmente estão presentes no meio biológico, tanto animal, quanto vegetal, em concentrações próximas de  $10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$ . O estudo do papel do vanádio no sistema biológico tem sido alvo de muitos estudos, pois alguns possuem atividades insulino-miméticas. Vários complexos mostram-se mais eficientes do que os sais de vanádio em produzir os efeitos de insulina *in vivo* e *in vitro* [40]. Entre compostos de vanádio que possuem propriedades reguladores de insulina, podemos citar os complexos  $[\text{VO}^{\text{IV}}(\text{mal})_2]$  e  $[\text{VO}^{\text{IV}}(\text{Cys-Me})_2]$  (Figura 1.7). Compostos de vanádio também são muito estudados com finalidades terapêuticas, pois estes são citados na literatura como potenciais fármacos, apresentando outras propriedades como, atividade contra doença de Chagas, e antitumoral [41].

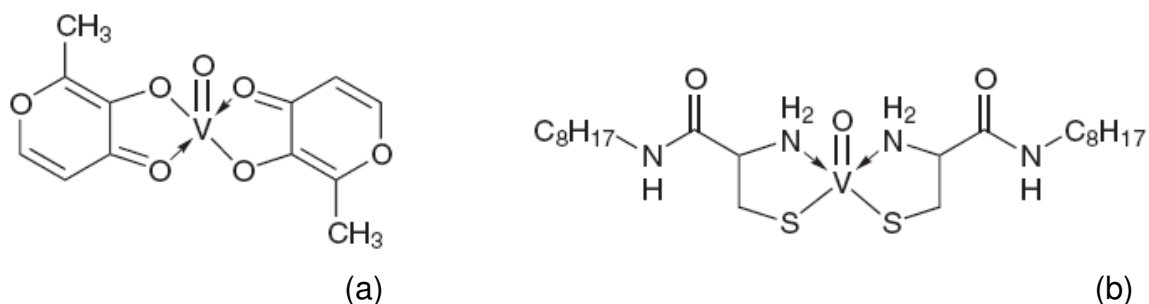


FIGURA 1.7 - Estruturas de  $[\text{VO}^{\text{IV}}(\text{mal})_2]$  e  $[\text{VO}^{\text{IV}}(\text{Cys-Me})_2]$  [19].

Compostos de organovanádio tal como o dicloro vanadoceno,  $([\text{Cp}_2\text{V}^{\text{IV}}\text{Cl}_2])$ , complexo de vanádio (III) contendo tiolatos, peroxovanadatos(V) são ditos como potentes agentes anticancerígenos [19]. Apesar dos compostos de vanádio conterem propriedades anticancerígenas, estes são mais extensivamente estudados como drogas contraladoras de insulina [23]. Alguns destes compostos de vanádio mostram-se como ótimos agentes citotóxicos, comparados com outras drogas (Tabela 1.3).

TABELA 1.3 - Atividade citotóxica de complexos de Vanádio. Valor de  $\text{IC}_{50}$  no *T. Cruzi* (Dm28cstrain). [37].

Composto	$\text{IC}_{50}$ , $\mu\text{mol.L}^{-1}$
$\text{VO}(\text{Salsem-2H})(\text{dppz})$	13
$\text{VO}(\text{Salsem-2H})(\text{bipy})$	73
$\text{VO}(\text{BrSalsem-2H})(\text{dppz})$	19
$\text{VO}(\text{BrSalsem-2H})(\text{bipy})$	84
Nifurtimox*	6

\*Nifurtimox tem sido colocado como referencial.

### 1.2.8 Compostos de Titânio

O composto  $[\text{Ti}^{\text{IV}}(\text{bzac})_2]$ , foi o primeiro composto, sem ser de platina, a ser testado clinicamente [43]. Complexos de titânio também se mostram potentes agentes anticancerígenos. Dois tipos de compostos de titânio foram testados clinicamente na Alemanha. O dicloro titanoceno ( $[\text{Ti}^{\text{IV}}\text{Cl}_2\text{Cp}_2]$ ) (Figura 1.8a),

conhecido como MTK4 e o butotitano ( $[\text{Ti}^{\text{IV}}(\text{bzac})(\text{OEt})_2]$ ) (Figura 1.8b), são compostos estruturalmente diferentes. Esses compostos são ativos em linhagens de célula leucemia L1210, sarcoma 180 e câncer de rins [44]. Estudos mostraram que o dicloro titanoceno pode sofrer hidrólise, igualmente ao cisplatina, pois estudos detalhados afirmam que este interage com o DNA, em pH 7, porém essa interação é fraca [23]. Além disto, também é observado que o titanoceno possui a capacidade de inibir a ativação da proteína quinase C e topoisomerase II, bem como também inibir a ativação do colágeno tipo IV, levando a entender que a capacidade de inibir essas biomoléculas pode vir a dar uma maior contribuição no efeito antimetastase. Além do mais o titanoceno possui a capacidade de substituir o ferro na transferrina, indicando assim um possível mecanismo de transporte [45].

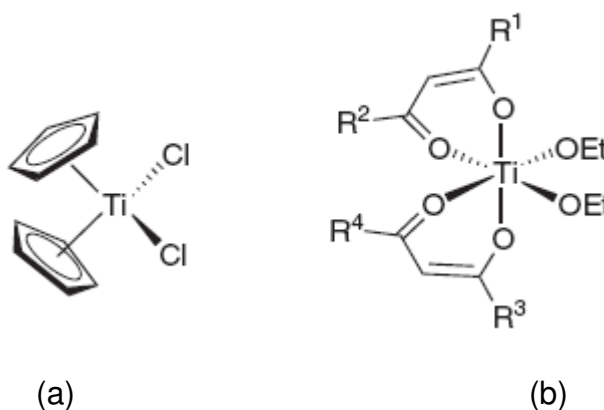


FIGURA 1.8 - Estruturas de complexos antitumor; a)  $[\text{Ti}^{\text{IV}}\text{Cl}_2\text{Cp}_2]$  e b)  $[\text{Ti}^{\text{IV}}(\text{bzac})(\text{OEt})_2]$ , onde  $\text{R}_1=\text{R}_4=\text{fenil}(\text{Ph})$  e  $\text{R}_2=\text{R}_3=\text{metil}(-\text{CH}_3)$  [19].

Estudos mostram que esses compostos possuem a capacidade de se ligar ao DNA de forma cruzada através do oxigênio dos fosfatos ou dos nitrogênios das bases nitrogenadas [19] e pelo fato de uma possível ligação através do nitrogênio da base nitrogenada estes podem ter um mecanismo de atuação parecido com o do cisplatina [23].

### 1.2.9 Compostos de Gálio

O nitrato de gálio (Figura 1.9) é usado nos Estados Unidos no tratamento terapêutico de hipercalemia, doença essa que está associada à elevada concentração de cálcio no sangue. Essa doença está diretamente ligada às células cancerígenas que estão alojadas no osso [23]. A atividade do nitrato de gálio foi primeiramente descrita em 1971 [23]. Sua eficiência foi demonstrada contra câncer carcinosarcoma em ratos ( $\text{GaCl}_3$ , e  $\text{Ga}_2(\text{SO}_4)_3$  possuem o mesmo efeito), e foi observado a inibição do crescimento de mais de 90% de tumores implantado subcutaneamente em roedores. Em se tratando de compostos terapêuticos, há somente, maltolato de gálio e o 8-quinolinolato de gálio (GQ) (Figura 1.9). O 8-quinolinolato de gálio possui a capacidade de inibir *in vitro* a proliferação de células A549 (câncer de pulmão). Diante de tais resultados esses compostos foram administrados em combinação gálio-transferrina, gálio-dexorubicina em pequenos números de pacientes com câncer.

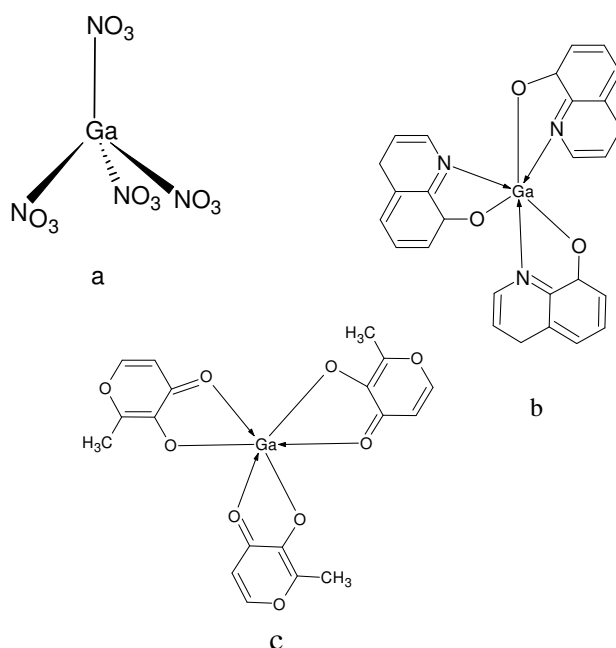


FIGURA 1.9 - Estruturas de agentes anticancerígenos de compostos de gálio ; a) nitrato de gálio, c) *tris*-(8-quinolinato)(gálio (III), GQ, c) *tris*(3-hidroxi-2-metil-4H-pirano-4-onato)(gálio(III), gálio maltolato (GM) [19].

Mendes e colaboradores demonstram em seus trabalhos que compostos de Ga(III) com 2-piridinaformamida tiosemicarbazona (Figura 1.10) como



[Ga(2Am4DH)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub>, [Ga(2Am4Me)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub> e [Ga(2Am4Et)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub> (Figura 1.11), são ativos *in vitro* em linhagens de células derivadas de câncer no cérebro (RT2 e T98). Estes possuem atividade superior ao cisplatina para essas mesmas linhagens de células (Tabela 1.4) [46].

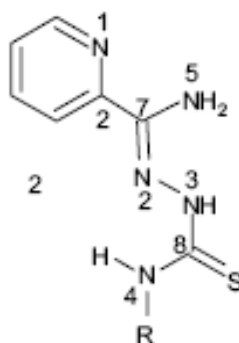


FIGURA 1.10 - Estrutura da 2-piridinoformamida tiosemicarbazona, onde (R= H, H<sub>2</sub>Am<sub>4</sub>DH; R= methyl, H<sub>2</sub>Am<sub>4</sub>Me; R=ethyl, H<sub>2</sub>Am<sub>4</sub>Et [46].

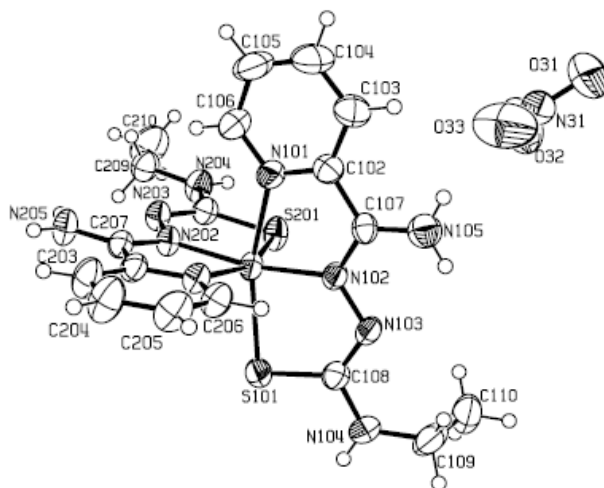


FIGURA 1.11 - Estrutura cristalina do composto [Ga(2Am4Et)<sub>2</sub>]NO<sub>3</sub> mostrando a numeração dos átomos e as elipsóides de 50 % de probabilidade [46]

TABELA 1.4 - Efeito citotóxico de derivados de 2-piridinoformamida tiosemicarbazonas e seus complexos gallium (III) em linhagem de células tipo RT2 e T98 [46].

Composto	IC <sub>50</sub> μmol.L <sup>-1</sup>	
	RT2	T98
(2Am4DH)	7,8±0,09	3,6±0,3
(2Am4Me)	12,2±0,7	32±1
(2Am4Et)	359±10	143±41
Cisplatin	17 ±1	5±3
[Ga(2Am4DH) <sub>2</sub> ]NO <sub>3</sub>	5,31±0,03	5,7±0,3
[Ga(2Am4Me) <sub>2</sub> ]NO <sub>3</sub>	0,81±0,03	4,7±0,9
[Ga(2Am4Et) <sub>2</sub> ]NO <sub>3</sub>	9,6±0,6	4,0±0,8
Ga(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	>100	>1000

As toxicidades dos compostos de Ga(III) dependem de como é administrada. Para o nitrato de gálio quando administrado de forma intravenosa, são observadas os seguintes sintomas: problemas renais, patologias nos pulmões e fígado, perda de peso e inibição da síntese da hemoglobina [47]. Quando administrado de forma oral, não é observado nenhum efeito tóxico [48].

### 1.2.10 Compostos de Cobalto

Compostos de Co(III) também tem sido relatados em vários artigos como potentes anticancerígenos. Estes são capazes de atuar como inibidores de proteínas, da Topoisomerase II (Topo II) e interagem com o DNA [19]. A Topoisomerase II é responsável por uma serie de funções de fundamental importância para o processo de divisão celular, replicação e duplicação do DNA. Uma vez bloqueadas, tais funções são impedidas de serem processadas, ocasionando a morte da célula cancerígena e assim o composto atua como anticancerígeno [19, 49, 50]. Recentes estudos mostram que compostos de cobalto com o, 2-furfural semicarbazona (Figura 1.12b) e de salicilaldoxima Co(III) (Figura 1.12a) são potentes agentes anticancerígenos contra linhagens de célula derivado

de câncer leucemia e cólon (SW480), ovário e HeLa-S<sup>3</sup>(câncer de pele), [49]. Além disso, é descrito que estes compostos têm como alvo dentro da célula a Topoisomerase II [51].

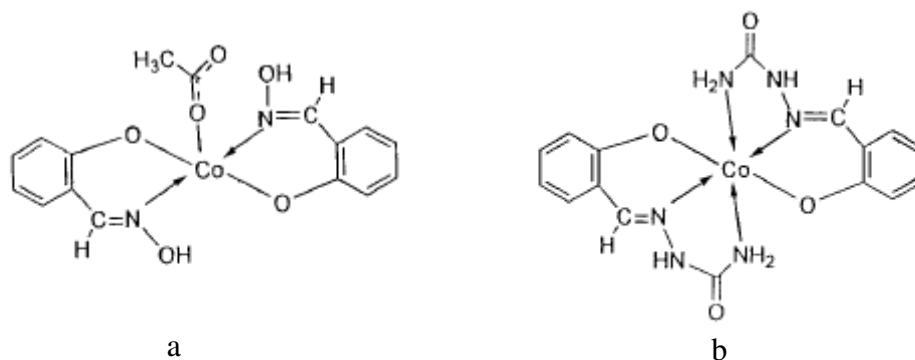


FIGURA 1.12 - Estrutura de complexo de Co(III); a) salicilaldoxima Co(III) e b) salicilalsemicarbazona Co(II) [49].

### 1.2.11 Compostos de Platina

Um dos fármacos comercialmente mais empregado no tratamento do câncer é o cisplatina. Porém, este possui atividade seletiva para certos tipos de câncer. Alguns tumores tem resistência natural ao cisplatina, enquanto outros adquirem a resistência no decorrer do tratamento. Sua administração é via intravenosa, devido sua solubilidade restrita. Além disso, seu uso pode causar alguns efeitos colaterais, como náuseas, neuropatia, problemas auditivos, supressão da medula óssea e cardiotoxicidade [52]. Isso levou os pesquisadores à procura de complexos similares ao cisplatina com atividades antitumorais, e que tivessem menos efeitos colaterais [53, 54]. Na busca de novos compostos de platina três fatores foram estabelecidos para possíveis novas drogas, tais como uma baixa toxicidade, capacidade de superar a resistência imposta pela célula doente e uma boa solubilidade, o suficiente para ser administrada via oral. Tais esforços levaram à síntese de novos compostos à base de platina como o carboplatina, nedaplatina, oxaliplatina e outros (Figura 1.13) [5].

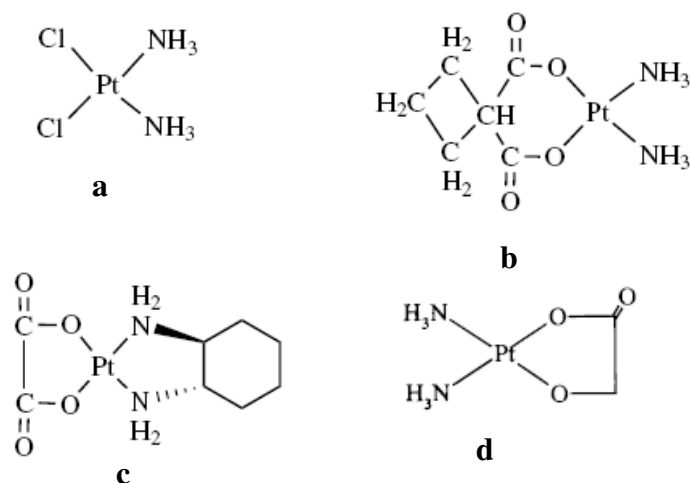


FIGURA 1.13 - Estruturas dos compostos de platina; a) *cis*-(diaminodicloro)platina(II), (cisplatina) b) diamino(1,1-ciclobutanocarboxilato)-O,O'-platina(II) (carboplatina), c) *trans*-L-diaminociclohexano)oxalatoplatina(II) (oxilipaltina) e d) *cis*-diamino-gicolato-O,O'-platina(II) (nedaplatina) [35].

Dentre estes compostos citados, destaca-se a carboplatina, devido a sua maior estabilidade cinética em relação à cisplatina pela presença do ligante 1,1-ciclobutanodicarboxilato. Esse complexo possui menores efeitos tóxicos que a cisplatina, porém é eficaz somente para alguns tipos de câncer e é usado em dosagens mais altas que o cisplatina. O oxilipaltina possui uma menor resistência a certos tipos de tumores comparando com o cisplatina, porém este só é usado na França e o nedaplatina no Japão [35].

Compostos de Pt(IV) também são ativos em células cancerígenas (Figura 1.14). Esses complexos são mais inertes a reações de substituição de ligantes de que os de Pt(II). Alguns desses complexos podem ser administrados via oral, como os compostos **a** e **g**, (Figura 1.4) que foram testados clinicamente, porém estes menos resistentes que a cisplatina e causam efeitos neurotóxicos superiores à cisplatina, o que fez com que fossem abandonados para tal propósito [35]. O mecanismo de ação descrito para esses compostos de Pt(IV) é primeiramente uma redução extra ou intracelular a Pt(II) por biomoléculas redutoras, para só então sofrerem hidrólise e posteriormente se ligarem ao DNA [35].

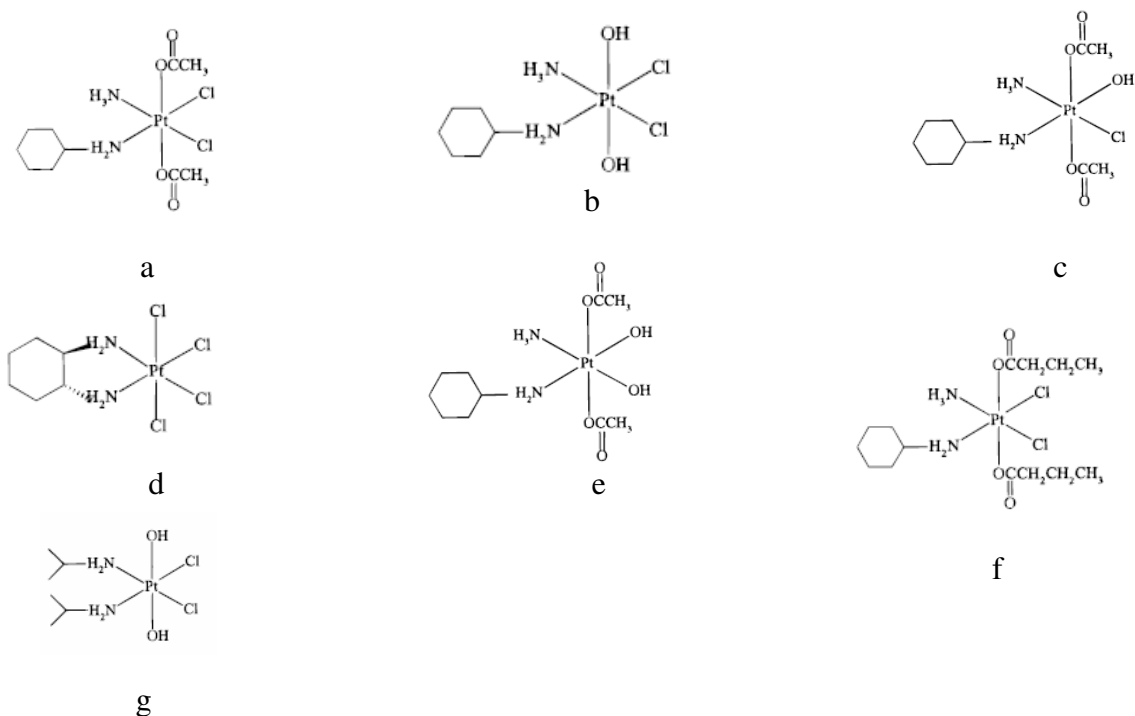


FIGURA 1.14 - Agentes anticancerígenos de Pt(IV): a) *cis*-dichloroamino(ciclohexilamino)bis-(acetato)platina(IV), b) *cis*-amino(ciclohexilamino)-dihidroxodichloroplatina(IV), c) aminodiacetatochloro(ciclohexilamino)hidroxiplatina(IV), d) *trans*-tetracloro(1,2-ciclohexanodiamino-N,N')platina(IV), e) aminodiacetato(ciclohexilamino)dihidroxiplatina(IV), f) aminodibutiratodichloro(ciclohexilamino)platina(IV), g) *cis, trans, cis*-dichlorodihidroxi-bis(isopropilamino)platina(IV) [35].

Após a descoberta das propriedades antitumorais da cisplatina e análogos, deu-se uma nova perspectiva à complexos metálicos como possíveis agentes terapêuticos. Além disso, vários pesquisadores dedicaram-se na tentativa de um entendimento do mecanismo de atuação do cisplatina e outros compostos semelhantes [53]. Esses estudos mostraram que o cisplatina sofre hidrólise (Figura 1.15) antes de se ligar ao DNA e após hidrólise este pode se ligar à bases nitrogenadas (Figura 1.16) do DNA de forma intrafita, interfita ou intermolecular (Figura 1.17). Para o carboplatina e oxilplatina (Figura 1.13b e 1.13c) o mesmo acontece, porém de forma mais lenta devido à estabilidade ocasionada pelos ligantes. Uma vez o cisplatina ligado ao DNA, ele inibe a replicação do mesmo, impedindo assim a divisão celular da célula doente, causando sua morte.

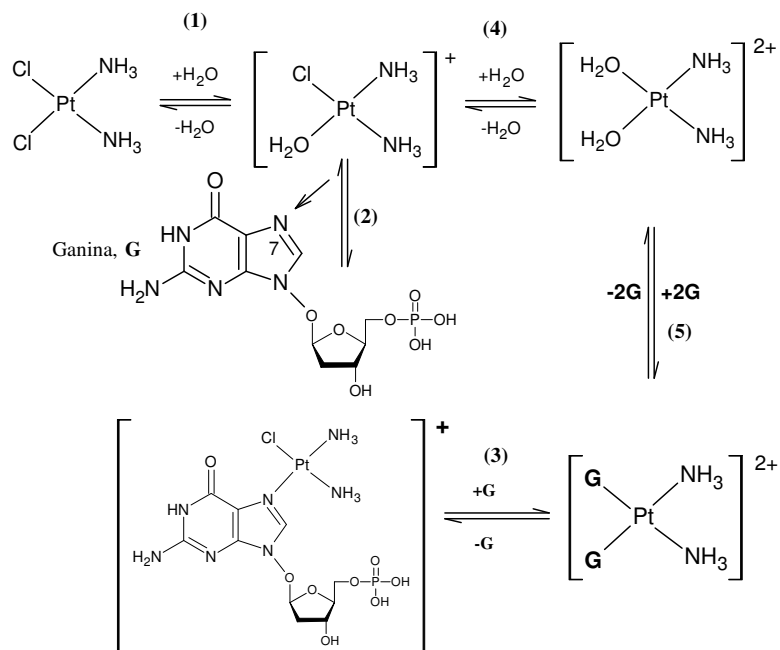


FIGURA 1.15 - Mecanismo de hidrólise do cisplatina e ligação com a guanina [54].

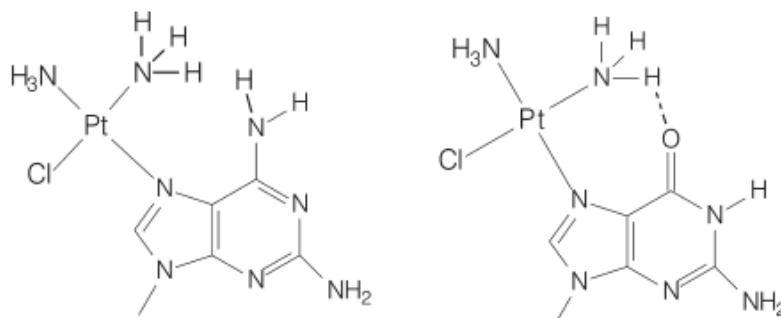


FIGURA 1.16 - Interações do cisplatina com as bases adenina (a) e guanina (b) [53].

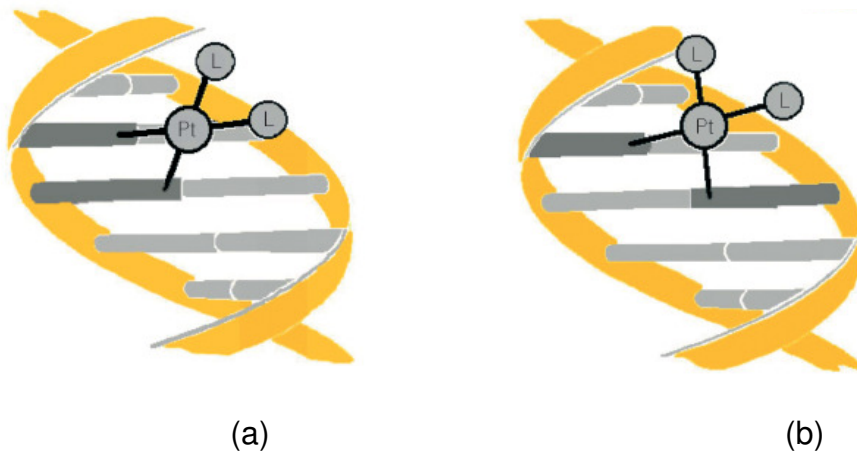


FIGURA 1.17 - Adutos intrafita (a) e interfita (b) entre cisplatina e as bases do DNA [53].

### 1.2.12 Complexos de rutênio, fármacos em potencial

Complexos de rutênio têm sido muito estudados como uma nova perspectiva de agentes anticancerígenos. Estes compostos possuem atividade anticancerígena superior ao do cisplatina, em se tratando de possuir uma menor toxicidade, pois o rutênio é menos tóxico que a platina [55]. A síntese de complexos de rutênio é bem desenvolvida, principalmente para compostos imínicos e amínicos, sendo que estes têm sido oferecidos como uma nova alternativa de fármacos [56]. Complexos de rutênio, possuem a capacidade de sofrerem hidrólise e portanto de se ligar no DNA. Além do mais, alguns compostos de rutênio são também eficientes em reações de intercalação à molécula de DNA [56].

Três fatores básicos favorecem o rutênio como um forte candidato, dentre outros metais de transição, a uma provável nova série de compostos anticancerígenos, que são ;1) o fácil manuseio na troca de ligante, 2) facilidade de obtenção de compostos estáveis de estados de oxidação II, III, e 3) semelhança de sua química com a do ferro. A semelhança do rutênio com o ferro evidencia um mecanismo de ação similar ao de transporte de metais de transição não tóxicos como o ferro, ligando-se a biomoléculas, o que faz com que este tenha uma menor toxicidade [57]. Complexos de rutênio (III) provavelmente podem ser transportados pela transferrina, albumina ou alguma outra biomolécula tendo como alvo o DNA [56, 58]. Clarke e colaboradores em seus estudos mostram que compostos como  $[\text{RuCl}(\text{NH}_3)_5]^{2+}$ , *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{NH}_3)_4]\text{Cl}$ , *fac*- $[\text{RuCl}_3(\text{NH}_3)_3]$  (Figura 1.18) atuam como agentes anticancerígenos [59] e podem ser transportados para o interior da célula pela transferrina. [60]. O  $[\text{RuCl}_2(\text{NH}_3)_4]\text{Cl}$  possui atividade anticancerígena em linhagens de células HeLa (câncer cervical) e o *fac*- $[\text{RuCl}_3(\text{NH}_3)_3]$  em linhagens P388(leucemia) [61]. Esses compostos apresentam forte afinidade pelo anel imidazólico da histidina ligada à biomoléculas como a transferrina, o que provavelmente pode facilitar sua entrada na célula [55]. Experimentos mostram que esses compostos agem como pro-drogas, dando a entender que os compostos são ativados por redução no interior da célula, pois o meio se encontra com uma alta concentração de moléculas redutoras, como glutatona e ascorbato, para só então se ligarem ao DNA ou a alguma outra biomolécula [62].

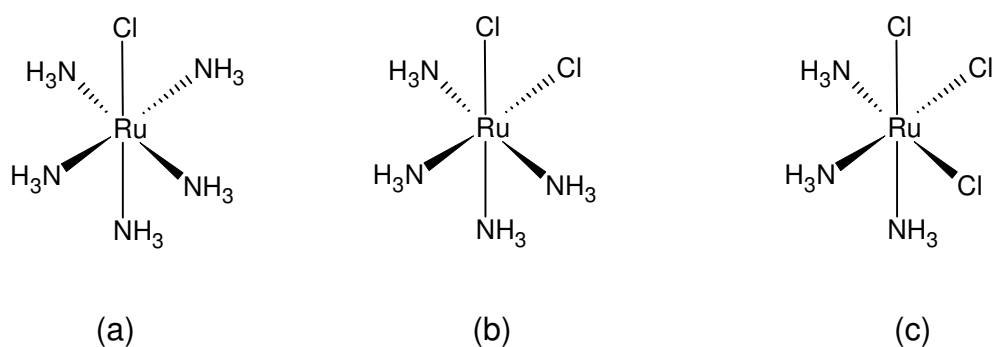


FIGURA 1.18 - Estrutura do a)  $[\text{RuCl}(\text{NH}_3)_5]\text{Cl}_2$  b) *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{NH}_3)_4]\text{Cl}$ , c) *fac*- $[\text{RuCl}_3(\text{NH}_3)_3]$  [52].

Complexos de DMSO, tanto de Ru(II), quanto de Ru(III), exibem atividade citotóxica comparável, em doses similares, ao cisplatina [55]. Dentre esses complexos podem ser citados o *cis*- $[\text{Ru}(\text{II})(\text{DMSO})_4\text{Cl}_2]$  e *trans*- $[\text{Ru}(\text{II})(\text{DMSO})_4\text{Cl}_2]$  (FIGURA 1.19). Estudos sobre a atividade desses compostos em tumores primários e metástase, mostraram que existe uma relevante citotoxicidade em tumores primários [62]. O isômero *trans* tem maior atividade citotóxica em células cancerígenas do que o *cis*. O composto *cis*, sofre hidrólise na única molécula de DMSO ligado pelo oxigênio, enquanto o *trans* sofre hidrólise nas duas moléculas de DMSO ligado pelo enxofre. Em se tratando desses dois compostos sofrerem hidrólise, um possível mecanismo de atuação para ambos seria algo semelhante ao mecanismo de atuação do cisplatina, principalmente para o *trans*- $[\text{Ru}(\text{II})(\text{DMSO})_4\text{Cl}_2]$ , que perde duas moléculas de DMSO [55]. Ademais, estudos de dicroísmo circular mostram que para esse composto ao se ligar ao DNA, é observada mudança de conformação da molécula, porém para o *cis* a mudança na conformação é pouco observada. Além da mudança na conformação, o aduto *trans*-DNA, possui a capacidade de inibir a síntese do RNA que é dependente do RNA polimerase, biomolécula responsável por uma série de funções biológicas, dentre elas o reparo de DNA danificado, porém para o aduto *cis*-DNA não é observada tal capacidade de inibição.



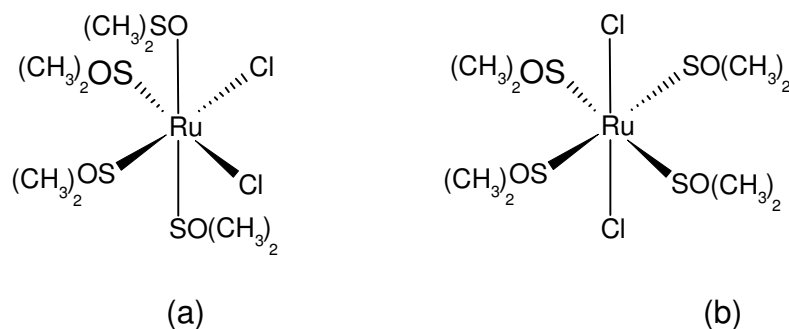


FIGURA 1.19 - Estrutura do *cis*-[Ru(II)(DMSO)<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>] (a) e *trans*-[Ru(II)(DMSO)<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>] (b) [55].

Compostos organometálicos de arenos do tipo [ RuX(n<sup>6</sup>-areno)(en)]<sup>+</sup> onde X é um haleto, inibe o crescimento de linhagem de células cancerígenas A2780 (câncer de ovário) [63]. Os ligantes arenos estabilizam e dão um maior caráter hidrofóbico ao composto, o que pode aumentar o reconhecimento e o transporte da droga através da membrana celular [63]. Esses complexos são fortes inibidores de crescimento de células cancerígenas e formam fortes adutos com o DNA. Em linhagem de célula A2780 (derivado de câncer de ovário humano), estes apresentam toxicidade com valor de IC<sub>50</sub> de 6 μmol.L<sup>-1</sup> para o [RuCl(n<sup>6</sup>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)(en)]PF<sub>6</sub> e [RuCl(n<sup>6</sup>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)(en-Et)]PF<sub>6</sub> (Tabela 1.5).

TABELA 1.5 - Inibição do crescimento de linhagem de célula A2780(câncer de ovário humano) por compostos de Ru(II) [63].

Complexo	IC <sub>50</sub> μmol.L <sup>-1</sup>
[RuCl(n <sup>6</sup> - <i>p</i> -cymene)(CH <sub>3</sub> CN) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	>150
[RuBr(n <sup>6</sup> - <i>p</i> -cymene)(CH <sub>3</sub> CN) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	>150
[RuCl(n <sup>6</sup> -C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> )(en)]PF <sub>6</sub>	17
[RuI(n <sup>6</sup> -C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> )(en)]PF <sub>6</sub>	20
[RuCl(n <sup>6</sup> - <i>p</i> -cymene)(en)]PF <sub>6</sub>	9
[RuI(n <sup>6</sup> - <i>p</i> -cymene)(en)]PF <sub>6</sub>	8
[RuCl <sub>2</sub> (n <sup>6</sup> - <i>p</i> -cymene)(isonicotinamida)]	>150
[RuCl(n <sup>6</sup> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> )(en)]PF <sub>6</sub>	55
[RuCl(n <sup>6</sup> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )(en)]PF <sub>6</sub>	6
[RuCl(n <sup>6</sup> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )(en-Et)]PF <sub>6</sub>	6
carboplatina	6
cisplatina	0,5

Além do mais estes possuem a capacidade de inibir a Topoisomerase I e II. Dos complexos citados na Tabela 1.5, o [RuCl(n<sup>6</sup>-*p*-cymene)(en)]PF<sub>6</sub>, [RuI(n<sup>6</sup>-*p*-cymene)(en)]PF<sub>6</sub>, [RuCl(n<sup>6</sup>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)(en)]PF<sub>6</sub> e [RuCl(n<sup>6</sup>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)(en)]PF<sub>6</sub>, possuem a capacidade de inibir a Topoisomerase II em concentrações entre 1-55 μmol.L<sup>-1</sup> [63].

Os compostos polipiridínicos de rutênio como *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(bipy)<sub>2</sub>], [RuCl(bipy)(terpy)]<sup>+</sup> e *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(terpy)] (Figura 1.20) também possuem propriedades citotóxicas em células cancerígenas, porém dos três, o *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(terpy)] é o que se destaca entre eles [64]. Os complexos fosfínicos como [Ru(SpymMe<sub>2</sub>)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, (Figura 1.21) [Ru(SpymMe<sub>2</sub>)(dppb)(Me-bipy)]PF<sub>6</sub>, onde SpymMe<sub>2</sub> = 4,6-dimetil-2-mercaptopirimidina e *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppb)(Me-bipy)] também são exemplos de complexos que possuem atividades citotóxicas [65].

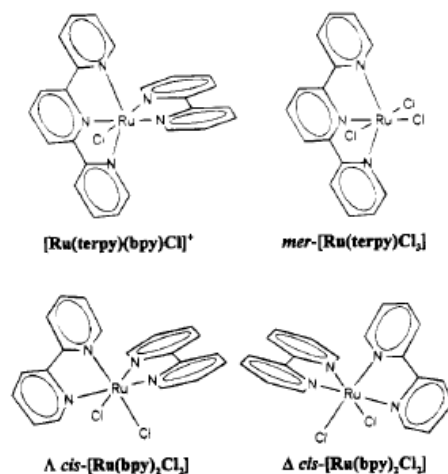


FIGURA 1.20 - Estrutura para compostos Ru(II) piridinicos e polipiridinicos [65].

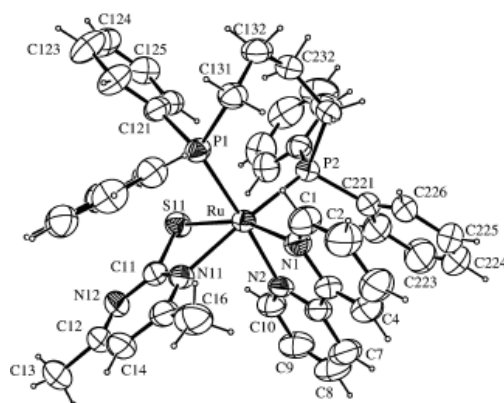


FIGURA 1.21 - Estrutura cristalina do composto  $[\text{Ru}(\text{SpymMe}_2)(\text{dppb})(\text{bipy})]$  mostrando a numeração dos átomos e as elipsóides de 50 % de probabilidade [65].

Também há de se destacar entre inúmeros compostos de rutênio encontrados na literatura contendo ligantes tiosemicarbazonas (Figura 1.22), pois os ligantes possuem atividades biológicas. Valendo-se dessa propriedade eles são usados como ligantes em uma serie de compostos de rutênio, melhorando assim a atividade biológica em células cancerigenas. Esses compostos são capazes de inibir a proliferação de células tumorais do tipo murine L1210 (leucemia), onde podem ser citados o  $[\text{Ru}(\text{itsz})(\text{fen})_2]\text{Cl}_2$ ,  $[\text{Ru}(\text{itsz})(\text{bipy})_2]\text{Cl}$ ,  $[\text{Ru}(\text{btszR1})(\text{fen})_2]\text{Cl}_2$ ,  $[\text{Ru}(\text{btszR1})(\text{bipy})_2]\text{Cl}_2$ ,  $[\text{Ru}(\text{btszR2})(\text{fen})_2]\text{Cl}_2$  (Figura 1.19b) [66] e em linhagens de células derivadas de câncer humano tipo MCF-7(câncer de mama), TK-10(câncer de rins) e UACC-62(melanoma ) para os compostos  $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{H2BzR1})]\text{Cl}$ ,  $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{H2BzR2})]\text{Cl}$  e  $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{H2BzR3})]\text{Cl}$  [67].

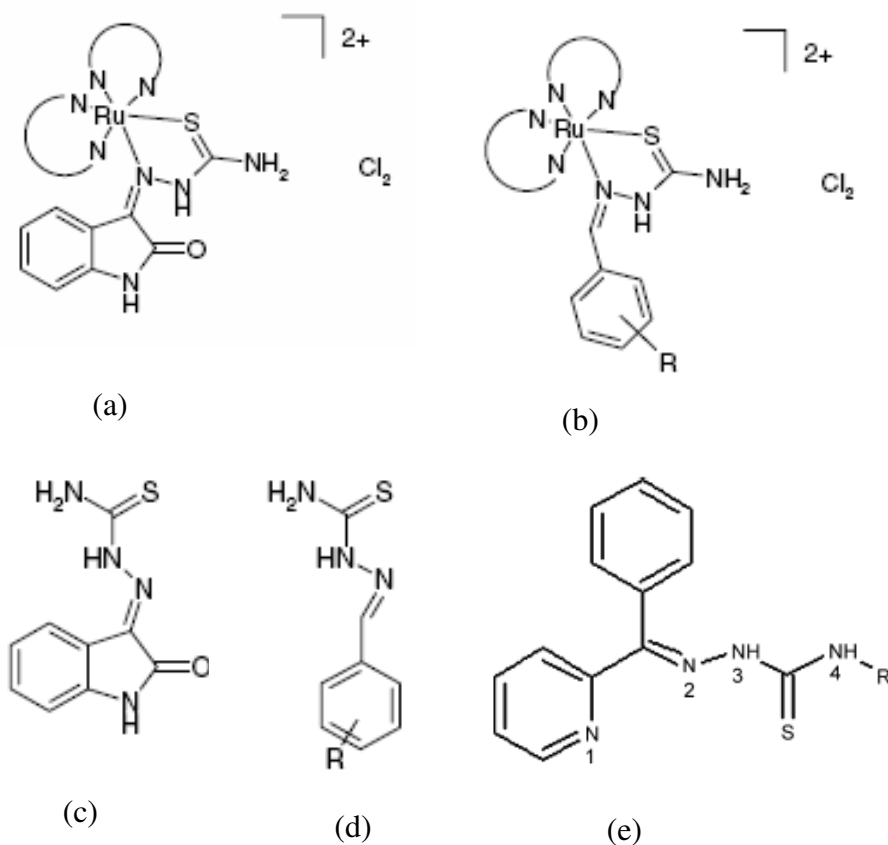


FIGURA 1.22 - Estrutura geral para ligantes tiosemicarbazona e seus respectivos compostos. a)  $[\text{Ru}(\text{itsz})(\text{fen})_2]\text{Cl}_2$ , b)  $[\text{Ru}(\text{btszR})(\text{fen})_2]\text{Cl}_2$  c) itsz=isatin tiosemicarbazona, d) btsz=benzil tiosemicarbazona, R1=4-OMe, R2=4-Cl e) (H2BzR)=2-benzoilpiridina tiosemicarbazona: R1=H, R2=CH<sub>3</sub> e R3=C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (fenil) [66].

Os compostos de rutênio com o grupo nitrosil são também alvo de muitos estudos como possíveis metalodrogas. O óxido nítrico é conhecido como responsável por muitas funções de importância biológica [68]. Recentemente foi demonstrado que o NO está envolvido como mediador no processo de inibição da formação de metástase [69]. A descoberta das funções do NO no meio biológico estimulou um enorme interesse na investigação de complexos metálicos como metalodrogas [70, 71]. Entre esses compostos o *fac*- $[\text{RuCl}_2(\text{NO})(\text{dppf})]$  [Figura 1.23] é um exemplo de metaldroga. Este possui atividade citotóxica em linhagem de célula MDA-MB-231 (câncer de mama) [72].

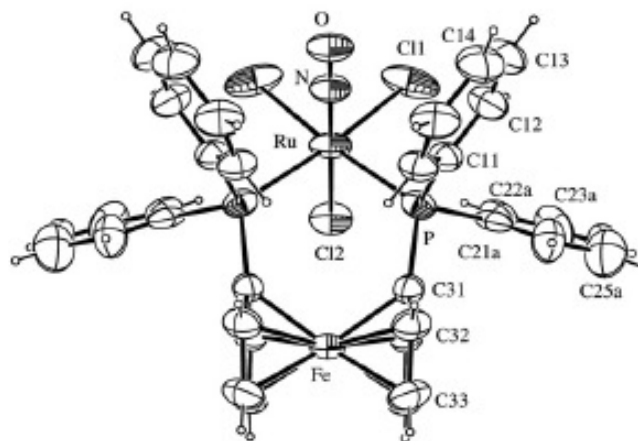


FIGURA 1.23 - Estrutura cristalina do composto *fac*-[RuCl<sub>2</sub>(NO)(dppf)] mostrando a numeração dos átomos e as elipsóides de 50 % de probabilidade [72].

O complexo *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(terpy)(NO)]Cl (Figura 1.24) possui atividade citotóxica em linhagem de célula A2780. O valor do IC<sub>50</sub> (Tabela 1.6) do *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(terpy)(NO)]Cl e [RuCl<sub>3</sub>(terpy)] são de 0,49 e 11 μM respectivamente. O IC<sub>50</sub> do *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(terpy)(NO)]Cl é menor do que o cisplatina e o carboplatina onde isto sugere que a atividade pode estar relacionada com a substituição do cloro pelo grupo nitrosil [73].

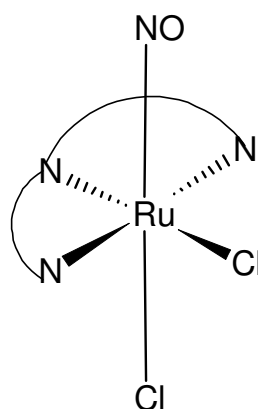


FIGURA 1.24 - Estrutura do complexo *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(terpy)(NO)]Cl [73].

TABELA 1.6 - IC<sub>50</sub> para os complexos *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(terpy)(NO)]Cl, [RuCl<sub>3</sub>(terpy)], cisplatina e carboplatina em linhagem de célula A2780 [73].

Compostos	IC <sub>50</sub> em μmol.L <sup>-1</sup>
Cisplatina	1,45
Carboplatina	9,4
[RuCl <sub>3</sub> (terpy)]	11
<i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (terpy)(NO)]Cl	0,49

Existe um número grande de compostos de rutênio com propriedade anticancerígena, porém de muitos somente o *trans*-[RuCl<sub>4</sub>(Im)(DMSO)]ImH (NAMI-A) e *trans*-[RuCl<sub>4</sub>(Ind)<sub>2</sub>]ImdH (KP1019) [74] (Figura 1.25) são os mais recentes sucessos de drogas anticâncer de rutênio(III). Devido à sua alta citotoxicidade, estes já estão na fase 3 de testes no Instituto de Câncer Netherlands, em Amsterdam [59].

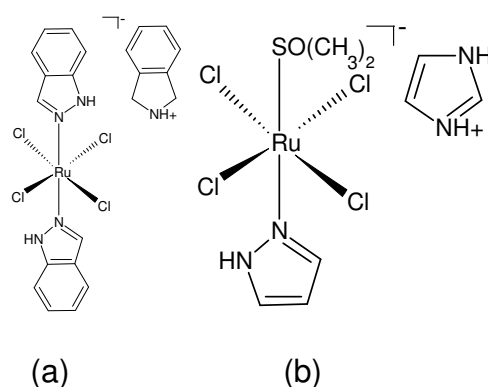
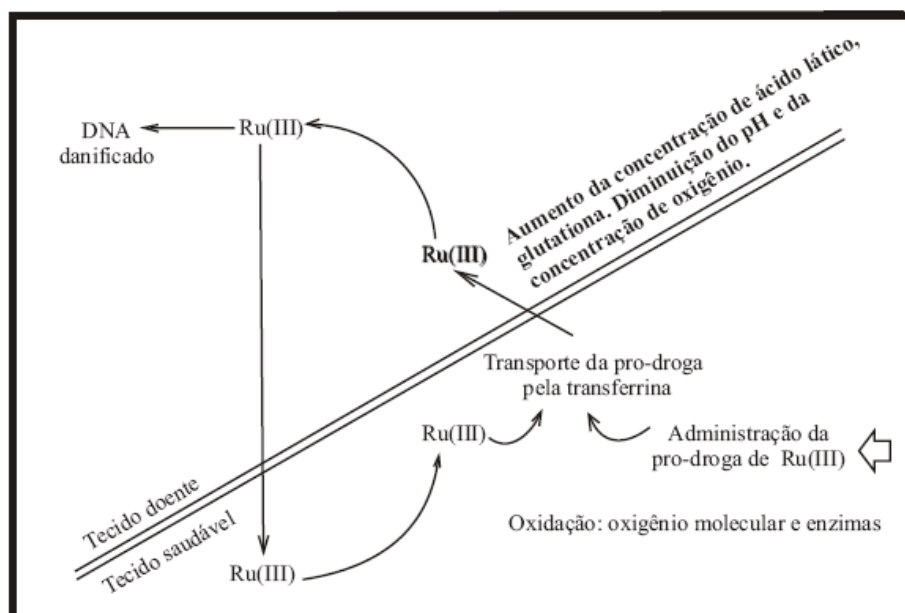


FIGURA 1.25 - a) Estrutura do *trans*-[RuCl<sub>4</sub>(Ind)<sub>2</sub>]ImdH (KP1019) e b) *trans*-[RuCl<sub>4</sub>(Im)(DMSO)]ImH, (NAMI-A) [59].

Um possível mecanismo de atuação para compostos de rutênio (III), dentre eles o NAMI-A, seria sua ativação por redução. Primeiramente, o composto é transportado para dentro da célula através da transferrina e ao chegar à célula, este é reduzido à rutênio(II) por moléculas redutoras, como glutatona ou ascorbato, que estão em maior concentração, para só então sofrer hidrólise e se ligar ao DNA ou alguma outra biomolécula (ESQUEMA I).



ESQUEMA I - Mecanismo proposto para compostos de Ru(III) [75].

Compostos contendo N, S e O como átomos doadores de elétrons têm um importante papel na atividade biológica como anticâncer e antiviral [76, 77]. Os aminoácidos podem se coordenar aos metais de transição como ligantes bi, tri e tetradentados, N-O, S-N-O, S-S-N-O [78, 79, 80]. Assim, estes ao perder seu próton, coordenam-se ao íon metálico por átomos doadores de elétrons como N, O, formando anéis de cinco membros (Figura 1.26).

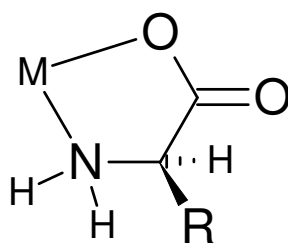


FIGURA 1.26 - Coordenação de aminoácido bidentado.

Os complexos octaédricos de aminoácido possuem tendência de formar diastereoisômeros [79], devido à quiralidade do carbono quiral ( $C_2$ ), com exceção dos complexos de glicina que não possuem quiralidade. Robert e colaboradores [81-84] relatam em seus trabalhos compostos de aminoácidos do tipo

[Ru(bipy)<sub>2</sub>(aminoácido)]ClO<sub>4</sub>. Estes compostos apresentam misturas de diastereoisômeros em que pode ser justificado pela quiralidade do carbono alfa [85].

### 1.3 Características gerais dos aminoácidos

Aminoácidos são compostos que possuem um grupo carboxílico em uma extremidade de sua cadeia e na outra, um grupo amino ligado ao carbono alfa (Fig.1.27). Eles se diferem apenas no grupo R ligado ao carbono alfa. São vinte os aminoácidos naturais, blocos construtivos das proteínas, indispensáveis para uma performance de um grande número de funções biológicas nos seres vivos [86, 87].

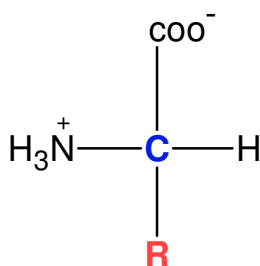


FIGURA 1.27 - Estrutura geral dos aminoácidos.

Os vinte aminoácidos apresentados na Figura 1.28 sofrem um grande número de transformações químicas para outros aminoácidos e compostos relacionados como parte de sua síntese e degradação celular normal. Muitos aminoácidos são sintetizados, não somente para serem resíduos de polipeptídios, mas também para atender outras importantes funções biológicas como, por exemplo, a de neurotransmissor. A glicina é o aminoácido mais simples e que também tem várias funções no organismo humano. Este aminoácido mostra-se útil no tratamento do mal funcionamento da glândula pituitária e, como ele fornece creatina, é também fundamental para a formação dos músculos. Tal aminoácido é também eficaz no tratamento da distrofia muscular progressiva. Os nutricionistas usam a glicina no tratamento da hipoglicemia, pois este estimula a liberação do glucagon (hormônio envolvido no metabolismo de carboidratos) que, por sua vez, mobiliza o glicogênio, liberando a glicose no sangue. A metionina ajuda no



tratamento da esquizofrenia, reduzindo o teor de histinina no sangue, uma vez que a grande concentração de histinina no sangue pode prejudicar o funcionamento normal do cérebro. A metionina, juntamente com a colina e o ácido fólico, oferece proteção contra a incidência de tumores. Ademais, estes aminoácidos também são formadores das proteínas, que por sua vez desempenham milhares de funções no sistema biológico. Dentre essas funções, temos a reparação do DNA, função desempenhada também por enzimas como os DNA polimerase [88]

Os aminoácidos podem ser classificados de acordo com a polaridade do grupo R. A polaridade do grupo R varia amplamente, indo de não polar e hidrofóbicos (insolúvel em água) até altamente polar e hidrofílicos (solúvel em água) e podem ser divididas em grupo R: **não polar alifático** (glicina, prolina, alanina, valina, leucina, isoleucina e glicina), **aromático** (tirosina, fenilalanina, triptofano), **polar neutro carregados** (serina, cisteína, treonina), **carregado positivamente** (lisina, histidina, arginina), **carregado negativamente** (aspartato, glutamato).

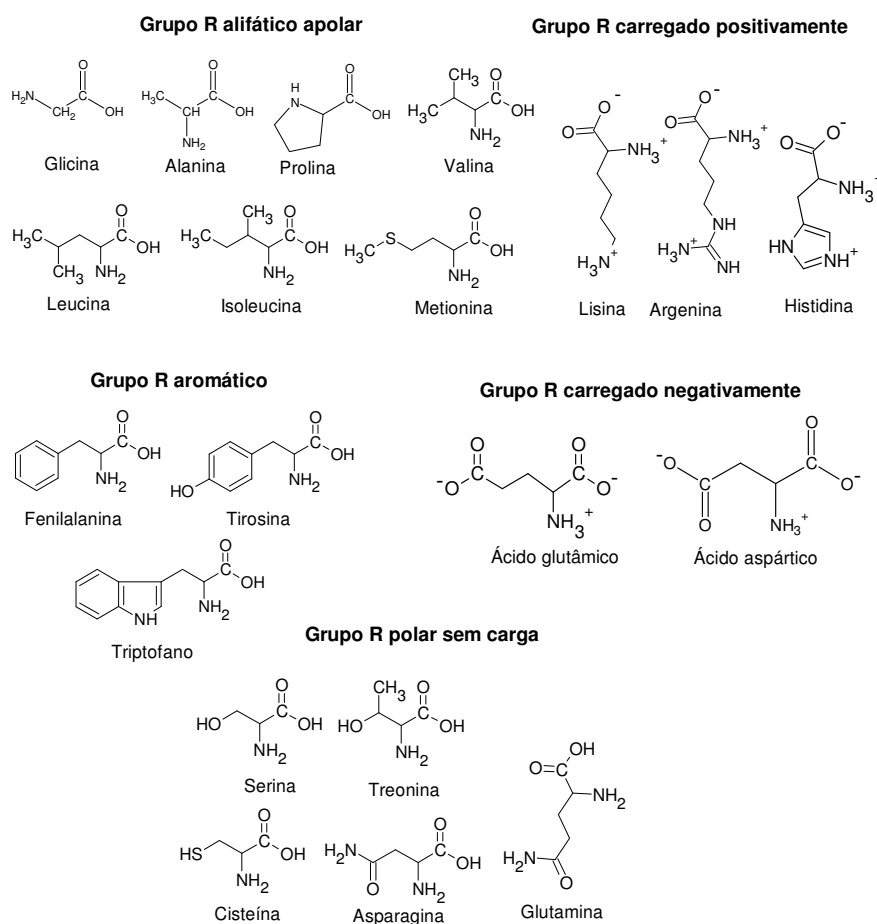


FIGURA 1.28 - Aminoácidos padrões encontrados nas proteínas [3].

### 1.3.1 Características iônicas

Os aminoácidos possuem um grupo ácido (COOH) e um grupo básico (NH<sub>2</sub>). Tal característica lhes proporciona um duplo caráter, chamado de anfótero. Em solução este existe como íons dipolares, chamados de *zwitterions* [89], como mostrado na Figura 1.29.

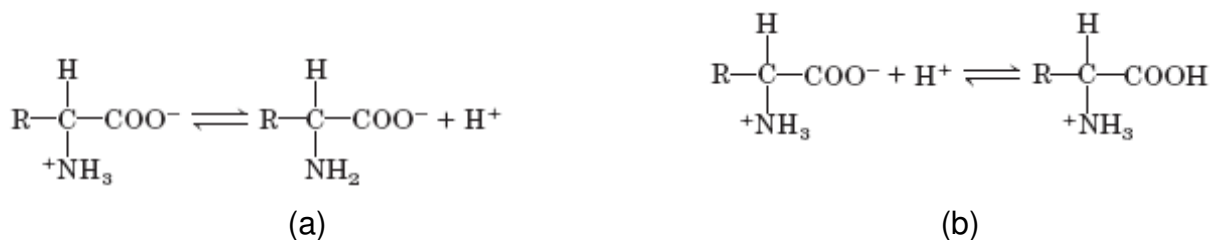


FIGURA 1.29 - Íon dipolar de um aminoácido. a) forma ácida (doadora de próton), b) forma básica (receptora de próton) [89].

### 1.3.2 Isomeria

O carbono- $\alpha$  (centro quiral) contido nos aminoácidos, com exceção da glicina, possui quatro grupos substituintes diferentes e esta característica do carbono assimétrico lhe permite duas configurações espaciais, sendo as duas imagens especulares não superponíveis. Estes dois possíveis isômeros formam uma classe de estereoisômeros chamados de enantiômeros (Figura 1.30). Em se tratando de seus diastereoisômeros, a conformação L é a encontrada nos vinte aminoácidos que os blocos construtivos das proteínas.

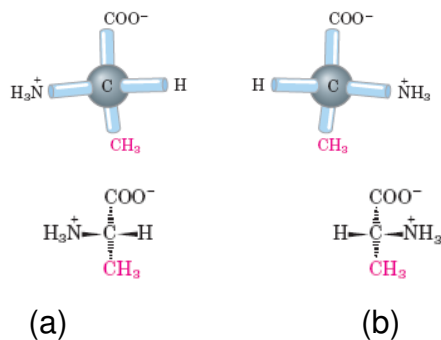


FIGURA 1.30 - Estereoisomerismo em  $\alpha$ -aminoácido; a) L-Alanina e b) D-Alanina [3].

## 1.4 Ligantes fosfínicos

Na literatura são descritos muitos compostos de coordenação contendo ligantes fosfínicos. Os complexos fosfínicos de metais de transição, ao longo dos anos têm despertado muito interesse na área da catálise e em testes de atividade citotóxica em células cancerígenas [90]. Tais ligantes possuem um efeito *trans* que geralmente leva à formação de compostos de metais de transição facilmente dissociáveis. As fosfinas ( $PR_3$ ) são ligantes neutros que possuem um caráter  $\sigma$ -doador e  $\pi$ -receptor de densidade eletrônica. O caráter  $\pi$ -receptor está relacionado os seus orbitais híbridos  $3p\sigma^*d\pi$  vazios de simetria e energia adequada, capazes de receber elétrons [90, 91]. Ligantes fosfínicos são capazes de estabilizar compostos de coordenação de altos e baixos estados de oxidação. Isto porque dependendo dos grupos R ligados ao fósforo, a fosfina pode se tornar mais  $\sigma$ -doadora e menos  $\pi$ -receptora. Sendo o grupo R um metil ( $CH_3$ ) o ligante fosfínico será um forte  $\sigma$ -doador e um pobre  $\pi$ -receptor, isto porque o metil é um bom doador de densidade eletrônica. O contrário ocorre substituindo os grupos metil por flúor, neste caso o ligante fosfínico terá um pobre caráter  $\sigma$ -doador e forte  $\pi$ -receptor, devido à alta eletronegatividade do flúor [92].

## 1.5 Ligantes bipyridínicos

Bipiridinas são ligantes aromáticos que possuem um nitrogênio no heterocíclico, sendo desta forma ótimos para formação de muitos compostos com metais de transição. Essa classe de ligante pode ter seis posições diferentes para o átomo de nitrogênio, 2, 2' (1), 2, 3' (2), 2, 4' (3), 3, 3' (4), 3, 4' (5), 4, 4' (6), sendo que a forma bidentado mais comum encontrada é a, 2, 2'-bipiridina (1).

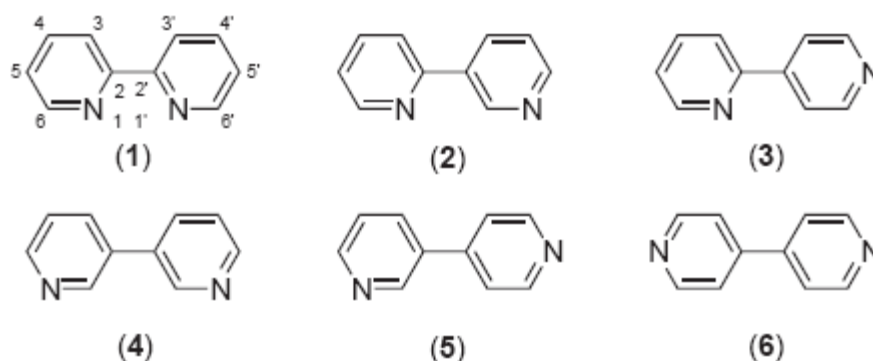


FIGURA 1.31 - Diferentes posições que os átomos de nitrogênio podem ocupar na 2,2'-bipiridina [93].

Os ligantes bipyridínicos se coordenam com o metal em uma interação  $\sigma$ -doadora e  $\pi$ -receptora de elétrons do átomo de nitrogênio. Do mesmo modo que as fosfinas, os ligantes bipyridínicos são muito versáteis, podendo variar suas propriedades físicas e químicas com a estrutura [93]. Complexos de rutênio com ligantes *N*-heterocíclicos (Fig. 1.32) têm sido bastante estudados nas últimas décadas, principalmente com a 2,2'-bipiridina. Esses estudos têm dado destaque para o  $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$  que, no seu estado excitado, é um agente redutor mais forte que no estado fundamental, sendo desta forma mais susceptível a participar de reações de transferência de elétrons [94]. A 2, 2'-bipiridina, possui a característica de gerar diversas formas de complexos com uma grande variedade de íons metálicos em uma ampla faixa de estado de oxidação. Igualmente às fosfinas, bifosfinas têm a capacidade de estabilizar íons metálicos em relativamente altos estados de oxidação, isto devido à interação  $d\pi$  do metal com os orbitais  $\pi^*$  dos ligantes [95].

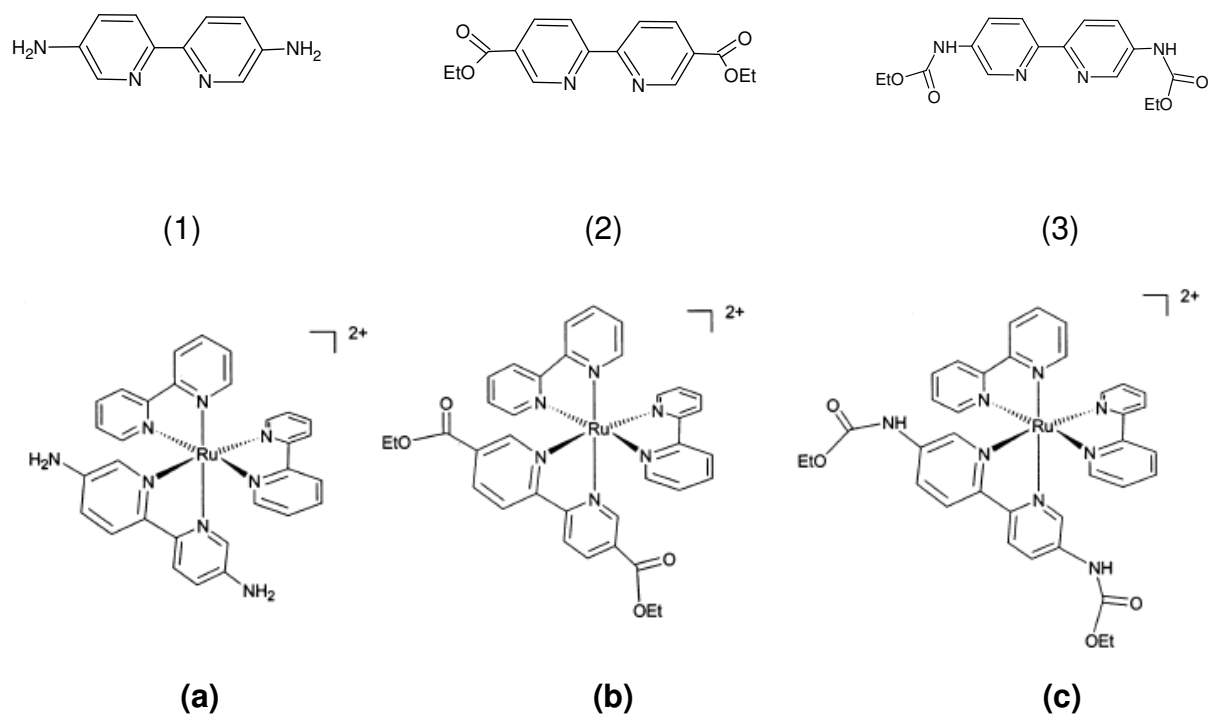


FIGURA 1.32 - Estruturas dos complexos; a) [Ru(bipy)<sub>2</sub>(1)](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub>, b) [Ru(bipy)<sub>2</sub>(2)](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub>, c) [Ru(bipy)<sub>2</sub>(3)](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub> [96].

## 1.6 OBJETIVO

- Sintetizar compostos de formula geral  $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , onde AA = aminoácido, dppb = 1,4-bis(difenilfosfino)butano e bipy = 2, 2'-bipiridina e caracterizar-los com auxilio das técnicas:
  - Ressonância Magnética Nuclear de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  e  $^{13}\text{C}$
  - Voltametria Cíclica e Voltametria de Pulso Diferencial
  - Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho
  - Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta e Visível
  - Condutimetria
  - Análise Elementar de Carbono, Nitrogênio, Hidrogênio e Enxofre
  - Difração de Raios X

Realizar ensaios de citotoxicidade na linhagem celular MDA-MB-231 (carcinoma mamário) dos compostos sintetizados.

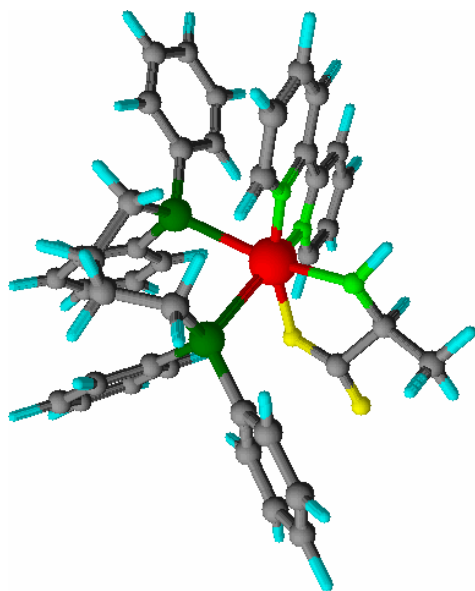


FIGURA 1.33 - Estrutura geral para complexos de formula  $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ .

## **CAPÍTULO II – PARTE EXPERIMENTAL**

---

## 2.1 PARTE EXPERIMENTAL

### 2.1.1 Obtenção de atmosfera inerte

O argônio, de procedência AGA foi utilizado nos procedimentos de sínteses, nas análises de eletroquímica e RMN, evitando desta forma a presença de oxigênio e umidade. O gás foi conduzido por uma coluna com sílica gel e em seguida por uma coluna com catalisador BTS-R-3-11 (Fluka Chemika), ativado por aquecimento a 60°C.

### 2.1.2 Solventes orgânicos

Todos os solventes, Synth P.A. foram devidamente purificados no departamento de química UFSCar segundo métodos da literatura. Os solventes usados nas sínteses foram: metanol, etanol, éter dietílico, diclorometano.

### 2.1.3 Testes de citotoxicidade

O princípio deste método consiste na absorção do sal MTT {brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]} (Sigma®) pelas células, sendo reduzido no interior da mitocôndria pela enzima succinato desidrogenase a um produto chamado formazana. Este produto, acumulado dentro da célula, é extraído através da adição de um solvente apropriado [97].

A suspensão de células cancerígenas na concentração de  $2 \times 10^6$  células/mL foi distribuída em placas de 96 poços, 90 µL por poço, e incubadas a 37 °C em incubadora a 5% de CO<sub>2</sub>, juntamente com concentrações diferentes do composto. Após o período de incubação adicionou-se mais 10 µL do corante MTT (5 mg/mL, Sigma®) e as células foram novamente incubadas por mais 48 h. Em seguida, o meio foi retirado cuidadosamente e adicionaram-se 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma®) para solubilização dos cristais de formazana. As placas foram agitadas durante 5 minutos e a absorbância correspondente a cada amostra foi medida no leitor de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) a 560 nm. A absorbância obtida das células controle não tratada, foi considerada como 100% de viabilidade celular [97].



### 2.1.4 Ligantes utilizados nas sínteses dos complexos [Ru(AA)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>

Neste trabalho a 1,4-*bis*(difenilfosfina)butano foi escolhida como ligante, pois esta fosfina além de ter a capacidade de estabilizar o complexo, como já foi dito anteriormente ela também possui uma citotoxicidade, pois na literatura são descrito suas atividades biológicas. A escolha dos aminoácidos (Tabela 2.1) como ligante foi feita por que estes são moléculas biológicas desta forma podendo vir a dar um melhor reconhecimento do composto no meio biológico, e uma melhor solubilidade do composto. As bipyridinas também têm sua importância, pois elas também ajudam a estabilizar o composto.

TABELA 2.1: Aminoácidos usados na síntese dos complexos.

Nome	Abreviatura	pK <sub>a1</sub>
Glicina	Gly	2,34
L-Alanina	Ala	2,34
L-Serina	Ser	2,21
L-Valina	Val	2,32
L-Leucina	Leu	2,36
L-Lisina	Lys	2,18
L-Metionina	Met	2,28
L-Tirosina	Try	2,20
L-Triptofano	Trp	2,38

## 2.2 TÉCNICAS EXPERIMENTAIS

### 2.2.1 Análise elementar (C, H, N e S)

As determinações dos teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre para todos os compostos sintetizados foram feitas no Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos-UFSCar, em um analisador de CHNS modelo EA 1108 da FISONs.

### 2.2.2 Condutividade molar

As medidas de condutimetria dos compostos foram feitas em diclorometano  $10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup> em um condutivímetro MICRONAL modelo B-330 equipado com uma cela de platina com constante igual a 0,089 cm<sup>-1</sup>.

### 2.2.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os experimentos de RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}, <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C para os compostos sintetizados foram feitos em um BRUKER ARX200 ou DRX400 pertencente ao Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos-UFSCar, no laboratório do prof. Dr. Antônio Gilberto Ferreira. Os dados foram processados empregando-se um software UXWIN-NMR versão 1.3. Para fazer as análises de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}, as amostras foram dissolvidas em diclorometano previamente deoxigenado, usando um capilar contendo D<sub>2</sub>O. Para as análises de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C para todos os compostos, exceto o composto com lisina e tirosina que foram dissolvidas em cetona deuterado, usou-se clorofórmio deuterado para dissolver-las.

### 2.2.4 Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis

Os espectros eletrônicos dos compostos foram obtidos em um HP 8452A DIODE ARRAY SPECTROPHOTOMETER. As medidas foram feitas em uma cubeta de quartzo com 1 cm de espessura tendo como solução de partida  $10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup> em dicloro metano. Esta foi posteriormente diluída para  $4,0 \times 10^{-5}$  mol.L<sup>-1</sup> e feita a leitura na região de 260 a 800 nm.

### 2.2.5 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho dos compostos foram obtidos em nosso laboratório em um espectrofotômetro BOMEM MICHELSON FT MB-102, utilizando o método de pastilha, sendo diluídas em KBr. Usou-se como branco pastilha de KBr previamente mantido na estufa a 120 °C.

### 2.2.6 Eletroquímica

As medidas de eletroquímicas foram feitas utilizando um potenciostato BAS-100B com tratamento de dados no software BAS 100W versão 1.0. Foi usado uma célula eletroquímica de vidro com capacidade para 3 ml para fazer as análises dos compostos. Para fazer as medidas, as amostras foram dissolvidas em solução  $10^{-3}$  mol.L<sup>-1</sup> de PTBA em diclorometano, usando como eletrodo de referência Ag/AgCl, eletrodo de Pt como de trabalho e auxiliar.

### 2.2.7 Difração de raios-x

Os cristais foram obtidos através da evaporação lenta da solução do composto em metanol. As medidas de difração de raios X foram realizadas no Instituto de Física de São Carlos-USP, no laboratório do grupo de cristalografia do prof. Dr. Eduardo Ernesto Castellano e prof. Dr Javier Ellena. O equipamento usado foi um difratometro automático NONIUS KAPPA CCD, com radiação da linha K $\alpha$  do molibdênio (0,71073 Å) à temperatura de 20°C. Na resolução das estruturas cristalinas foram usados os métodos descritos nas referências:

- Coppens, P., Leiserowitz, L. & Rabinovich, D. (1965) *Acta Cryst.* 1965, 1035-1038
- Enraf-Nonius (1997-2000). *COLLECT*. Nonius BV, Delft, The Netherlands.
- Otwinowski, Z. and Minor, W, (1997). *HKL Denzo and Scalepack*. In *Methods in Enzymology*, 276, edited by C.W. Carter, Jr. & R.M. Sweet pp. 307-326, New York: Academic Press.
- Sheldrick, G.M. *SHELXS-97*. Program for Crystal Structure Resolution. Univ. of Göttingen: Göttingen, Germany, 1997.
- Sheldrick, G.M. *SHELXL-97*. Program for Crystal Structures Analysis. Univ. of Göttingen: Göttingen, Germany, 1997.
- Farrugia, L. J. (1997). *ORTEP3* for Windows. *J. Appl. Cryst.* **30**, 565.

---

## 2.3 SÍNTESE DE PRECURSORES

### 2.3.1 $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$ , [98]

Em um balão de 250 mL foram adicionados  $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (1,00 g, 0,0038 mol), solubilizados em 200 mL de metanol, previamente desoxigenado. A solução foi posta sob refluxo por 15 minutos. Após 15 min, deixou-se esfriar, e adicionou-se trifenilfosfina (5,75 g, 0,022 mol). A solução foi agitada em refluxo por 3 horas e após o término da reação, o precipitado foi recolhido em um funil de placa porosa, lavado com metanol e secado em dessecador sob pressão reduzida, dando um rendimento de 95,3 %.

### 2.3.2 $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{PPh}_3)]$ , [99]

Em um balão de 50 mL foram adicionados  $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$  (0,5 g, 0,52 mmol) solubilizados em 10 mL de diclorometano previamente desoxigenado, seguido da adição lenta de 1,4-bis (difenilfosfina)butano (0,89 g, 1,9 mmol) durante 30 minutos e mantendo agitação por mais 15 minutos. A solução foi precipitada com adição de etanol desoxigenado, e o sólido foi recolhido em um funil de placa porosa, lavado com etanol, éter dietílico e seco em dessecador sob atmosfera reduzida, dando um rendimento de 81 %.

### 2.3.3 $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ , [100]

Em um balão de 50 mL foi adicionado  $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{PPh}_3)]$  (0,2 g, 0,26 mmol), solubilizados em 5 mL de diclorometano devidamente desoxigenado, seguido da adição de bipyridina (0,18 g, 1,8 mmol), deixando a solução em refluxo por 48 horas. Após a solução atingir a temperatura ambiente, adicionou-se éter dietílico para precipitar o composto. O sólido foi recolhido em um funil de placa porosa, lavado com éter e seco em um dessecador sob pressão reduzida, dando um rendimento de 96 %.

---

## 2.4 SÍNTESE DE COMPLEXOS COM AMINOÁCIDOS

### 2.4.1 [Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> (1)

Em um balão de 100 ml foram adicionados *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppb)(bipy)] (0,08 g, 0,10 mmol) em 50 mL de metanol previamente desoxigenado e glicina (0,011 g, 0,15 mmol) diluída em 10 mL de água, seguido da adição de NH<sub>4</sub>PF<sub>6</sub> (0,025 g, 0,16 mmol), deixando a mistura em refluxo por 48 horas. Após o término da reação, a mistura metanol/água foi removida em um rotoevaporador e seguido da adição de 2 mL de diclorometano e 10 mL de éter dietílico. O precipitado foi removido em um funil de placa porosa, lavado com água, éter dietílico e seco em um dessecador sob pressão reduzida, dando um rendimento de 75% (0,072 g).

A síntese para os demais compostos com aminoácido, foi seguido igual método usado para a síntese do composto [Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, sendo que seus rendimentos também foram próximos com valores de 82, 82, 70, 80, 90, 77, 89, 79 % para os compostos; [Ru(L-Ala)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> (**2**), [Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> (**3**), [Ru(L-Val)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> (**4**), [Ru(L-Leu)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> (**5**), [Ru(L-Lys)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> (**6**), [Ru(L-Met)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> (**7**), [Ru(L-Tyr)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> (**8**) e [Ru(L-Trp)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> (**9**), respectivamente.

# **CAPÍTULO III- RESULTADOS E DISCUSSÕES**

---

**RESULTADOS E DISCUSSÕES****3.1 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS**

Os compostos aqui obtidos, com exceção do composto  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , apresentam dois diastereoisômeros (Figura 3.1), onde estes evidenciados nos experimentos feitos por ressonância magnética nuclear de fósforo, e de  $^{13}\text{C}$ , CLAE e dicroísmo circular.

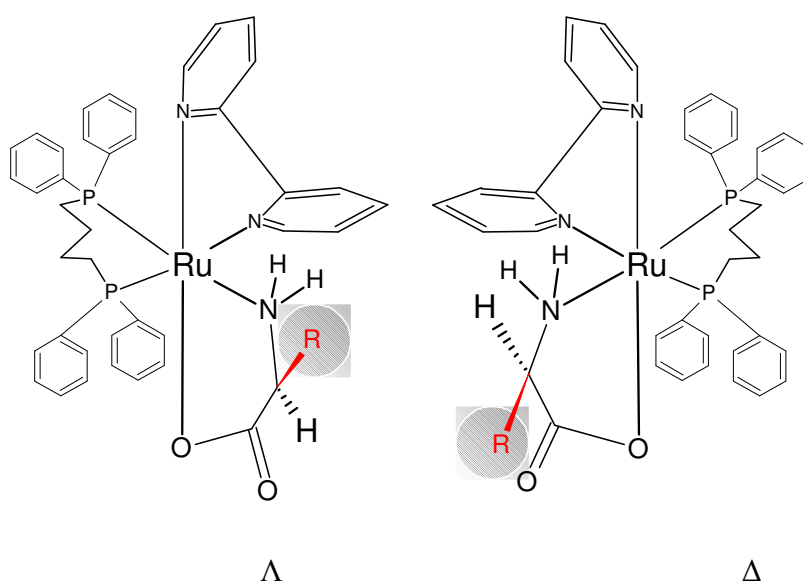


FIGURA 3.1 - Disposição espacial do grupo R nos diastereoisômeros de compostos  $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ .

### 3.1.1 Ressonância magnética nuclear

No espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do composto  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , são observados dois dubletos (45,3 e 38,5) ppm, como pode ser visto na Figura 3.2, indicando a não equivalência dos átomos de fósforo, sendo o dubleto em 45,3 ppm referente ao átomo de fósforo *trans* ao átomo de nitrogênio da 2,2'-bipiridina e o dubleto em 38,5 ppm atribuído ao átomo de fósforo *trans* ao nitrogênio da glicina. O dubleto com menor deslocamento químico em 38,5 ppm pode ser consequência do efeito *trans*, causado pelo átomo fósforo oposto ao nitrogênio do aminoácido. Isto proporciona uma maior blindagem nesse átomo de fósforo, comparado com o fósforo *trans* ao nitrogênio da 2,2'-bipiridina, fazendo com que este sinta menos o campo magnético desta forma indo para valores de campo mais alto. O espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  acoplado a  $^{15}\text{N}$ , (Figura 3.3) também ajuda a melhor entender a estrutura do composto, pois este mostra que o  $^{15}\text{N}$  do aminoácido se encontra *trans* ao de átomo de fósforo da 1,4-bis(difenilfosfino)butano. Desta forma, este além de acoplar com o átomo de fósforo, também acopla com o átomo de  $^{15}\text{N}$  *trans* e ele dando origem a dois dubletos próximo de 39 ppm.



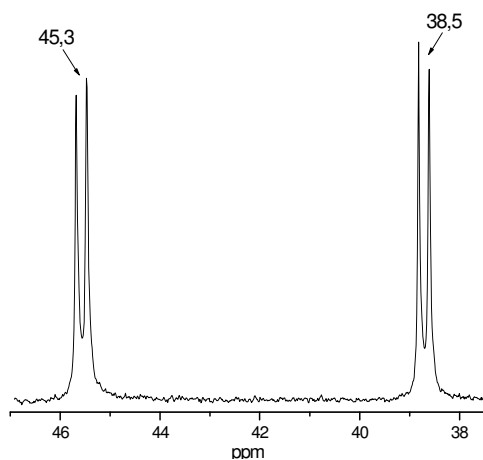


FIGURA 3.2 - Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  de  $[\text{Ru}(\text{gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ .

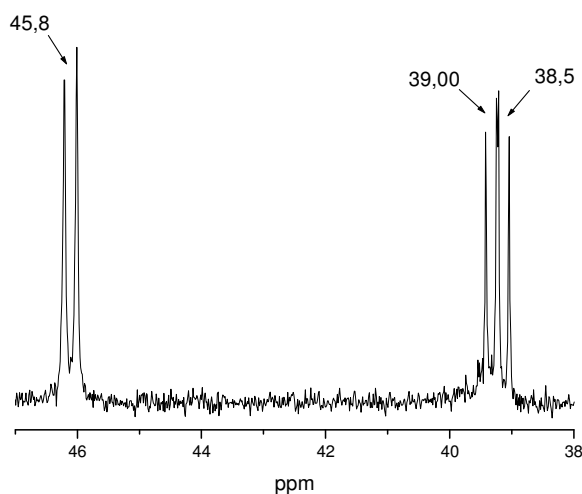


FIGURA 3.3 - Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  acoplado a  $^{15}\text{N}$  de  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , em metanol deuterado.

Nos espectros de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  dos demais compostos de fórmula geral  $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , (Figura 3.4, 3.5) esperava-se somente dois dubletos, no entanto foram observados quatro dubletos, o que indica a existência de um par de diastereoisômeros, sendo que tais espectros estão condizentes com a literatura, pois Sumio Shinoda e colaboradores [101] descrevem a formação de

diastereoisômeros em compostos desse tipo. Assim pode-se afirmar que existe um par de diastereoisômeros onde os grupos R do aminoácido dos diastereoisômeros encontra-se em posições diferentes como foi mostrado anteriormente na Figura 3.1.

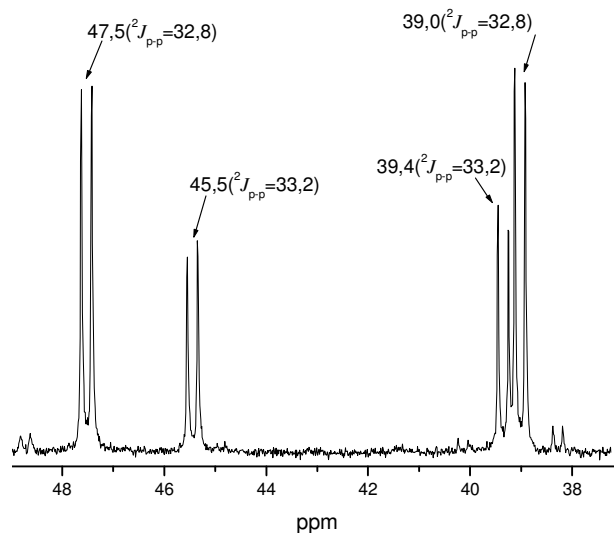


FIGURA 3.4 - Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do  $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ .

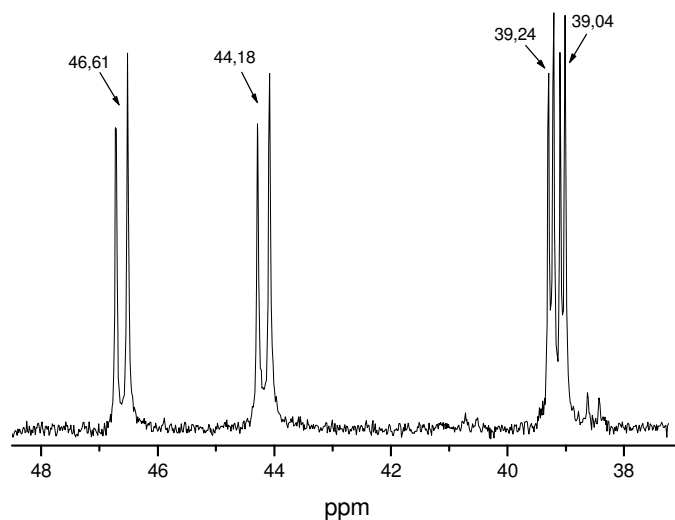


FIGURA 3.5 - Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do  $[\text{Ru}(\text{L-Ser})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ .

TABELA 3.1- Deslocamentos químicos de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  dos compostos de rutênio com aminoácidos.

Compostos	Desl. Químico de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ , ppm			
		$^2J_{\text{p-p}}$		$^2J_{\text{p-p}}$
[Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (1)	45,3, 38,5	32,3	-----	-----
[Ru(L-Ala)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (2)	47,5, 39,0	33,2	45,5; 39,4	32,8
[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (3)	46,61, 39,04	36,0	44,18; 39,24	37,0
[Ru(L-Val)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (4)	46,2, 37,6	34,2	41,5; 38,0	32,2
[Ru(L-Leu)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (5)	47,5, 39,0	33,8	45,1; 39,8	33,8
[Ru(L-Lys)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (6)	46,5, 38,8	32,3	44,0; 39,2	32,4
[Ru(L-Met)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (7)	46,7, 38,6	32,6	43,6; 38,8	32,0
[Ru(L-Tyr)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (8)	45,5, 38,0	34,0	42,0; 38,4	33,0
[Ru(L-Trp)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (9)	46,2, 38,4	32,3	42,5; 38,6	32,2

Também foi usada a espectrometria de RMN  $^{13}\text{C}$  para a comprovação dos diastereoisômeros. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  para o [Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> ( Figura 3.6) foi observado somente um sinal em 185,7 ppm referente ao carbono da carbonila do aminoácido. Para o aminoácido livre este mesmo carbono encontra-se com deslocamento em 173 ppm. Para o [Ru(L-Trp)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> (Figura 3.7) foram observados dois sinais, em 182,3 e 180,5 ppm, sendo cada um referente a um carbono da carbonila de cada diastereoisômero, desta forma vindo a dar mais um indício que se trata de mistura de diastereoisômeros. Ademais, para este aminoácido quando livre, o valor de deslocamento para o mesmo carbono, também é observado em valor menor, na ordem de 176,2 ppm. Tanto o composto de [Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, quanto o [Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, possuem valores de deslocamentos químicos diferentes dos aminoácidos livres. Isto porque o ligante ao se coordenar, o seu núcleo de  $^{13}\text{C}$  fica mais desprotegido e acaba sentindo mais o efeito do campo magnético, e desta forma indo para deslocamentos em campo mais baixo. Os demais espectros de espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  encontram-se no apêndice A.

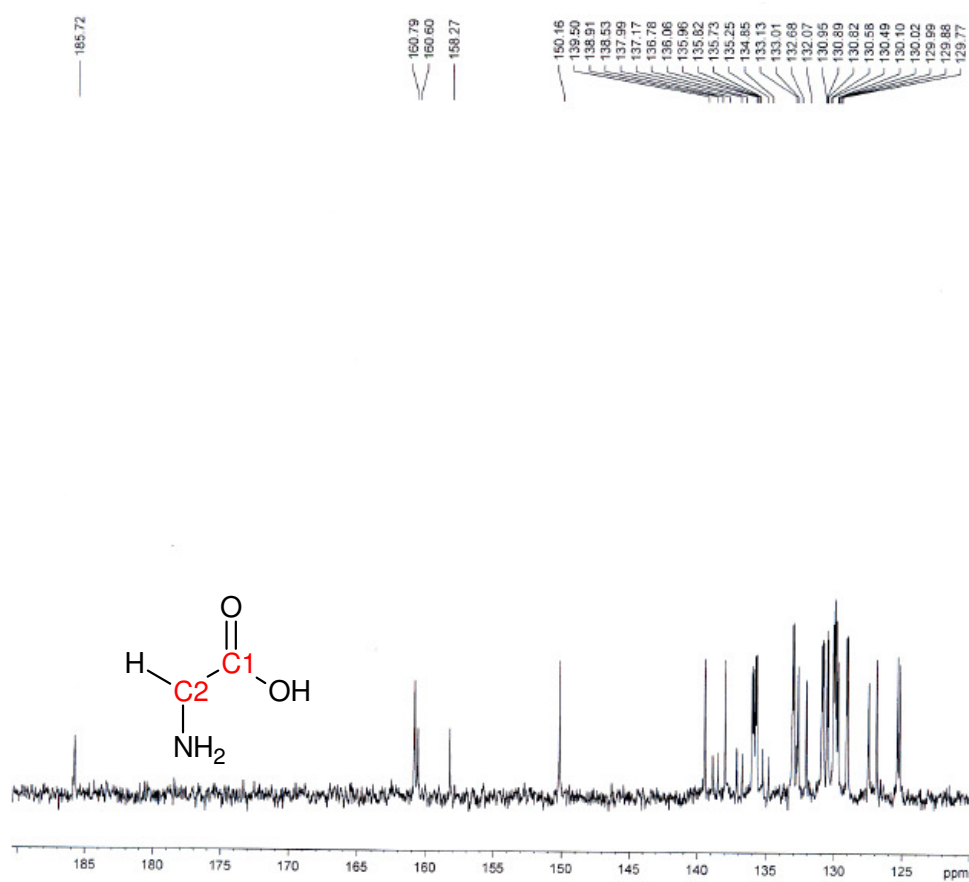


FIGURA 3.6 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , em clorofórmio deuterado.

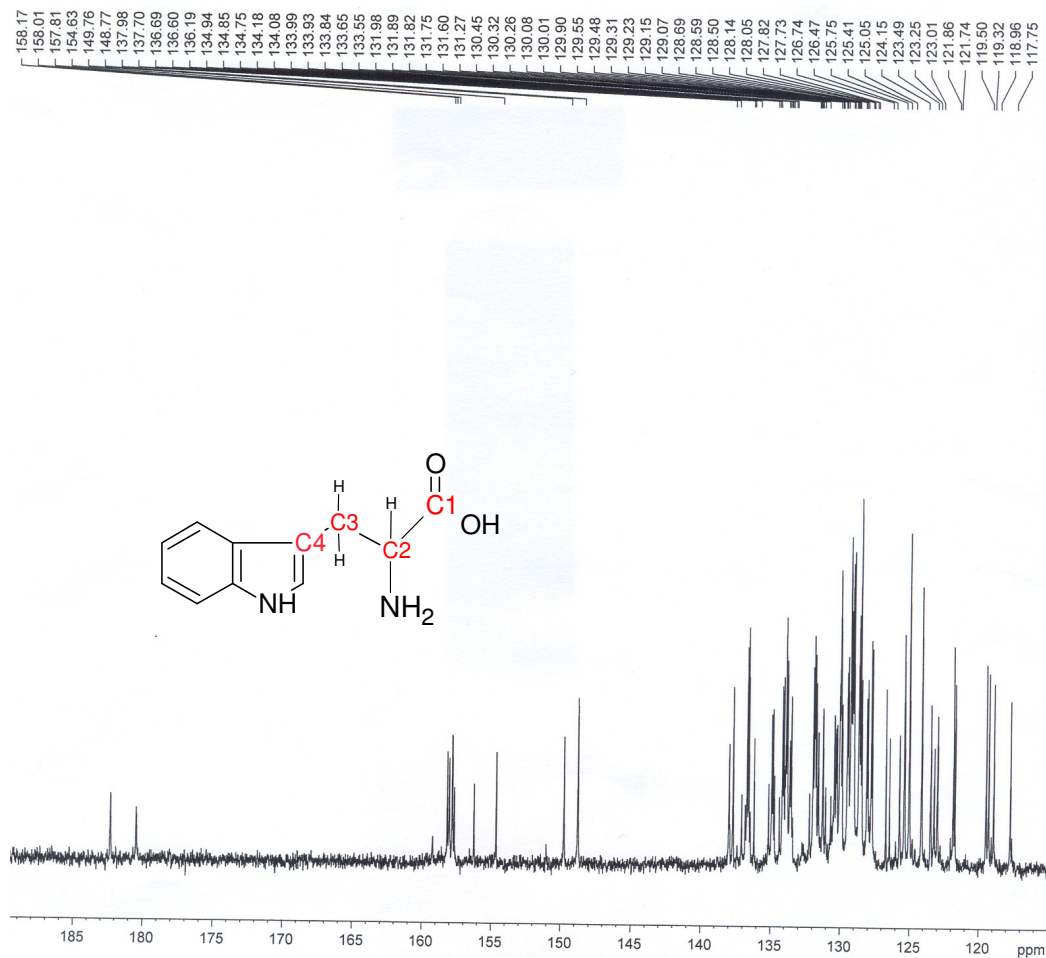


FIGURA 3.7 - Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de  $[\text{Ru}(\text{L-Trp})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , em clorofórmio deuterado.

TABELA 3.2 - Deslocamentos químicos de RMN  $^{13}\text{C}$  de \*aminoácidos [102] e seus \*\*respectivos compostos.

Compostos	C1	C2	C3
Glicina	175,2	43,2	
Alanina	176,6	51,6	17,3
Serina	176,2	62,8	57,8
Valina	175	61,5	30,2
Leucina	173,8	52,7	40
Lisina	175,4	55,5	27,20
Metionina	174,8	54,8	30,6
Tirosina	175,0	57,3	37,5
Triptofano	174,8	56,1	27,1
[Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub>	185,7	43,4	
[Ru(L-Ala)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub>	184,60/182,0	50	19
[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub>	182,50/181,0	62	54
[Ru(L-Val)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub>	182,0/180,0	60	30
[Ru(L-Leu)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub>	184,30/182,0	52,5	42
[Ru(L-Lys)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub>	194,85/181,7	54,30	27,30
[Ru(L-Met)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub>	183,0/181,2	53,5	30,0
[Ru(L-Tyr)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub>	184,50/184,3	57,2	38,3
[Ru(L-Trp)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub>	182,30/180,5	54,2	28,0

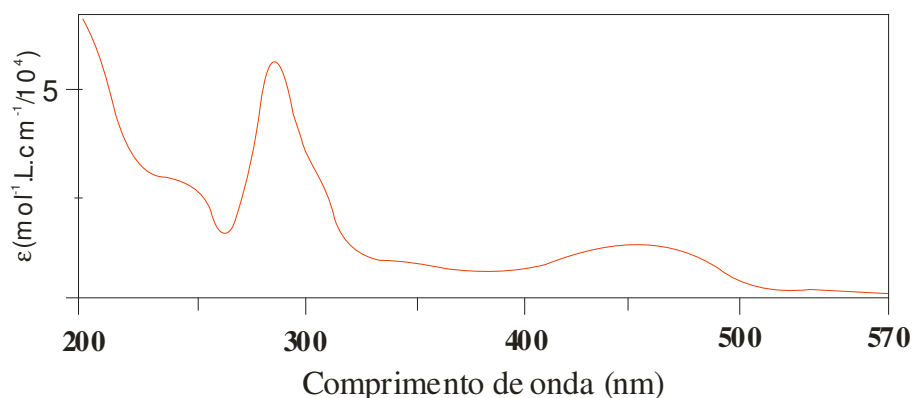
\*amostra feito em D<sub>2</sub>O

\*\*amostra feita em clorofórmio deuterado

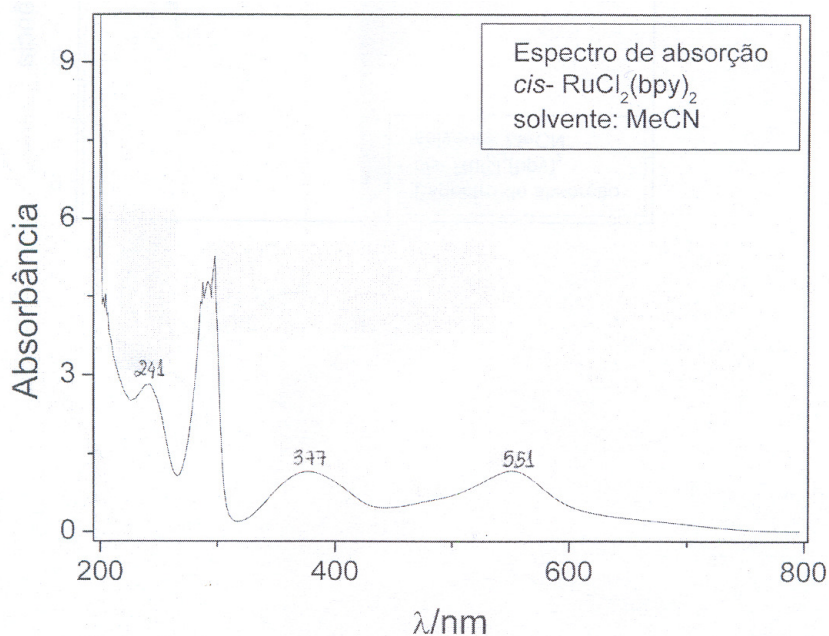
### 3.1.2 Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis

As transições de transferência de carga metal para o ligante normalmente são mais observadas em complexos com ligantes que possuem orbitais  $\pi^*$  de baixa energia, especialmente ligantes aromáticos e fosfínicos. Estas transições ocorrem em energias baixas se o íon metálico tiver um número de oxidação baixo e seus orbitais d estiverem relativamente altos em energia. Compostos que contém ligantes como as diiminas que possuem átomos de N doadores, são os ligantes normalmente mais envolvidos em TCML [103].

São relatados na literatura diversos complexos de Ru(II) com ligantes N-heterocíclicos, como 2, 2'-bipiridina, e derivados que apresentam bandas intensas da absorção na região do UV-Vis (Figura 3.8) onde são observadas bandas TCML  $d_{\pi(\text{Ru})} \rightarrow \pi^*_{(\text{bipy})}$  entre 320 e 600 nm [104].



(a)



(b)

FIGURA 3.8 - Espectro de absorção na região do UV-Vis; a) do complexo  $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$ , b) do complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{bipy})_2]$  [103, 105].

O espectro de absorção do  $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$  apresenta duas bandas, em 286 e 451 nm, que são atribuídas às transições intraligante  $\pi \rightarrow \pi^*$  e  $d\pi_{(\text{Ru})} \rightarrow \pi^*_{(\text{bipy})}$  (TCML), que são semelhantes aos complexos do tipo  $[\text{Ru}(\text{bipy})_2\text{L}]$ , onde  $\text{L} = \text{Cl}, \text{Br}$  [105]. Comparando o composto  $[\text{RuCl}_2(\text{bipy})_2]^{2+}$  com o  $[\text{Ru}(\text{bipy})_3]^{2+}$  observa-se um deslocamento da banda que antes era em 451 nm para a zona de menor energia

e o aparecimento de um banda em 377 nm que é atribuída à transição cloro-rutênio (Figura 3.8b) [106, 107].

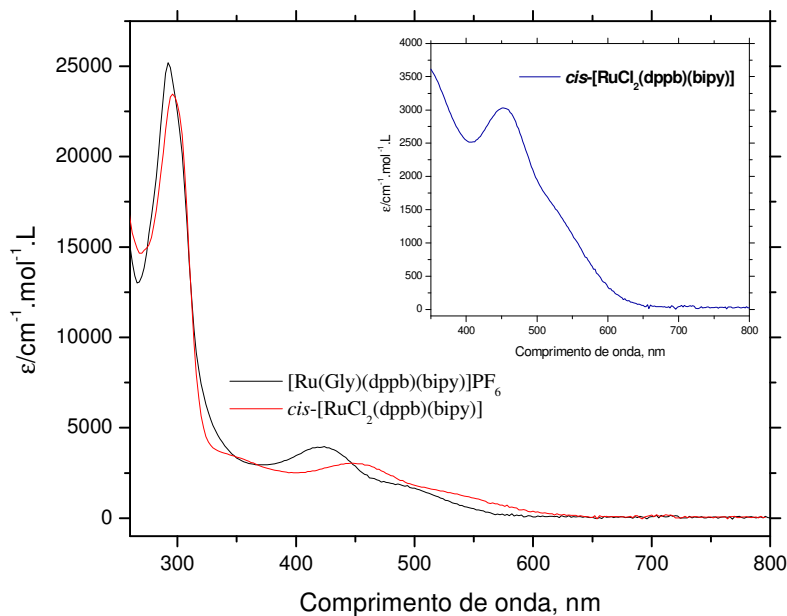


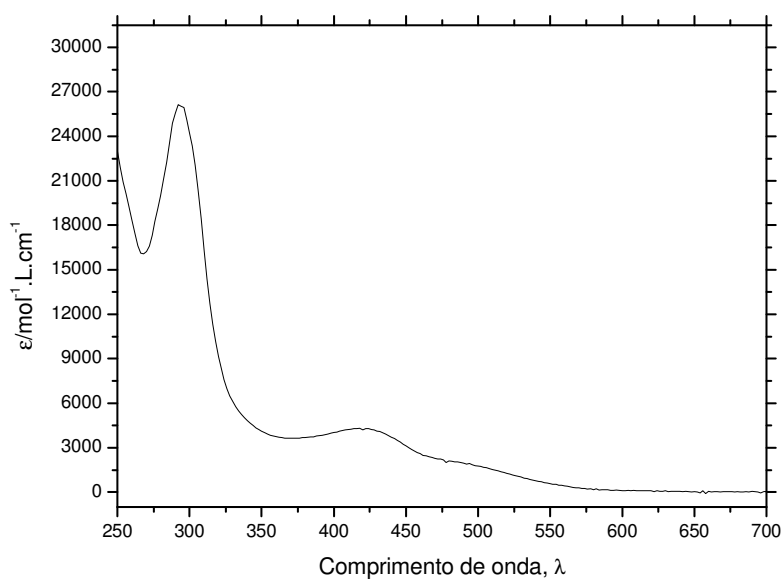
FIGURA 3.9 - Espectro eletrônico na região do UV-Vis do complexo  $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$  e  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em diclorometano  $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ .

Ao se substituir os dois cloros do complexo  $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$  por um aminoácido, é observado o desaparecimento da banda em 377 nm referente à transição TCLM ( $\sigma/\pi_{\text{cloro-rutênio}}$ ) (Figura 3.8b) [106] e um deslocamento da banda 557 nm (Figura 3.8b) para zona de maior energia, o que é observado para uma série de complexos do tipo  $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ . Em tais compostos, são observadas bandas em aproximadamente 290, 420 e 500 nm (ombro), que são atribuídas a transições intraligante ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) e transferência de carga  $d\pi_{(\text{Ru})} \rightarrow \pi^*_{(\text{bipy})}$  (TCML) [108] onde os valores das bandas são melhor observados na Tabela 3.3 e apêndice B.



TABELA 3.3 - Comprimentos de onda e logaritmo da absorvidades molares dos compostos, sintetizados com aminoácidos.

Complexos	$\lambda$ (nm), (Log[ $\epsilon$ ])		
	1	2	3
	$\pi \rightarrow \pi^*$	$d\pi_{(Ru)} \rightarrow \pi^*_{(bipy)}$	
[Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> ( <b>1</b> )	292(4,40)	420(3,60)	500(3,20)
[Ru(L-Ala)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> ( <b>2</b> )	288(4,45)	420(3,60)	500(3,15)
[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> ( <b>3</b> )	292(4,46)	421(3,67)	500(3,25)
[Ru(L-Val)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> ( <b>4</b> )	292(4,40)	420(3,60)	500(3,25)
[Ru(L-Leu)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> ( <b>5</b> )	293(4,30)	418(3,50)	477(3,20)
[Ru(L-Lys)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> ( <b>6</b> )	293(4,35)	414(3,55)	500(3,25)
[Ru(L-Met)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> ( <b>7</b> )	294(4,47)	427(3,60)	500(3,25)
[Ru(L-Tyr)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> ( <b>8</b> )	293(4,45)	427(3,60)	500(3,27)
[Ru(L-Trp)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> ( <b>9</b> )	292(4,40)	424(3,60)	500(3,20)

FIGURA 3.10- Espectro eletrônico do complexo [Ru(L-Val)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> 4,0 x 10<sup>-5</sup> mol.L<sup>-1</sup> em diclorometano.

### 3.1.3 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

A coordenação pelo íon carboxilato é a forma mais freqüentemente encontrada nos complexos de aminoácidos, e isso é observado nos espectros de absorção no infravermelho, com base nos deslocamentos sofridos pelos estiramentos simétricos e assimétricos dos grupos carboxílicos, comparando-se os espectros dos ligantes livres e coordenados. Os aminoácidos (Figura 3.11) têm como principais bandas no espectro de IV, os estiramentos  $\nu_{\text{ass}}(\text{CO})$  e  $\nu_{\text{s}}(\text{CO})$ , que se encontram em uma faixa de 1590-1600 e 1340-1400  $\text{cm}^{-1}$  [109, 110], respectivamente (Tabela 3.4), sendo que este último costuma ser de menor intensidade em comparação com o estiramento  $\nu_{\text{ass}}(\text{CO})$ . Ademais, os íons carboxilatos podem se coordenar aos metais de duas maneiras- monodentadas e bidentadas. A distinção entre essas duas formas de coordenação pode ser feita calculando-se a diferença entre o estiramento simétrico e antisimétrico ( $\Delta\text{cm}^{-1}$ ) do grupo carbonila [111, 112]. Tanto para a forma bidentadas quanto a forma monodentados,  $\Delta\text{cm}^{-1}$  do composto será maior do que no ligante livre [113]. O valor de  $\Delta\text{cm}^{-1}$  para a forma monodentados é sempre maior do que para a forma bidentada, pois os aminoácidos ao se coordenarem pela forma monodentada, o estiramento assimétrico da carbonila, vai para valores mais altos em comparação com a forma bidentada [114].

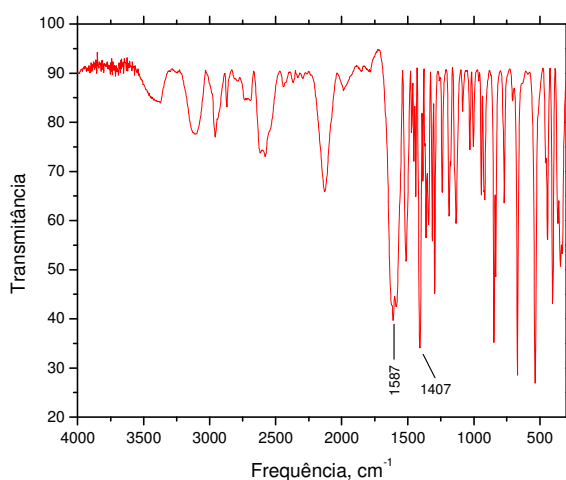


FIGURA 3.11 - Espectros de absorção na região do IV da leucina em KBr.

TABELA 3.4- Freqüências ( $\text{cm}^{-1}$ ) no IV correspondente ao grupo carboxilato nos ligantes livres [115, 116, 117].

Ligante	$\nu_s\text{COO}^-$	$\nu_{as}\text{COO}^-$
Glicina	1413	1592
Alanina	1412	1595
Serina	1411	1599
Valina	1426	1588
Leucina	1410	1587
Lisina	1420	1589
Metionina	1410	1615
Tirosina	1416	1596
Triptofano	1414	1583

Os aminoácidos, ao se coordenarem com metais de transição, como Ni(II), apresentam deslocamentos dos estiramentos assimétricos do grupos carboxilas em freqüências de maior energia e o simétrico em menores energias, e a diferença entre esses dois estiramentos aumenta na mesma ordem da serie Ni(II)<Zn(II)<Cu(II)<Pd(II)≈Pt(II)<Cr(III)[112]. Os espectros de IV dos compostos [Ru(AA)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, em KBr, são qualitativamente similares

Todos os complexos [Ru(AA)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, apresentam uma forte banda, larga entre 1615-1627  $\text{cm}^{-1}$  e outra 1382-1400  $\text{cm}^{-1}$ , (Fig. 3.12), em que são atribuídas como sendo estiramentos  $\nu_{ass}(\text{CO})$  e  $\nu_s(\text{CO})$  do grupo carboxilato [115]. Também é de costume aparecer um pico alargado próximo de 3420  $\text{cm}^{-1}$ , que pode ser atribuído ao estiramento vibracional assimétrico NH<sub>2</sub> [112]. Nessa região é também provável encontrarmos estiramentos  $\nu_{ass}(\text{OH})$ , devido à água de cristalização do composto, o que faz com que a banda fique alargada. Na região próxima de 560  $\text{cm}^{-1}$  é observado, para todos os complexos, o estiramento simétrico fosforo-fluor, o que está condizente com a literatura [114], pois a mesmo é ausente no precursor.

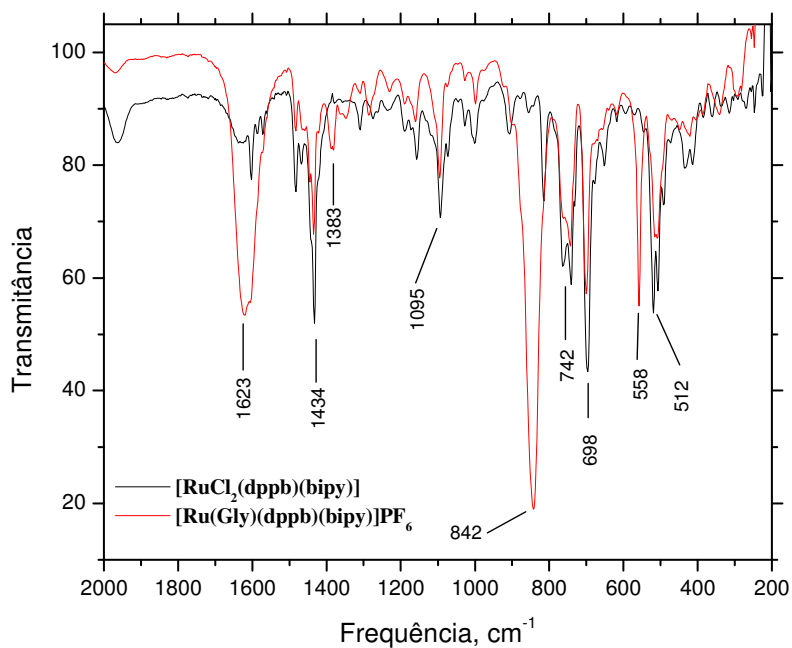


FIGURA 3.12 - Espectros de absorção na região do IV dos complexos [RuCl<sub>2</sub>(dppb)(bipy)] e [Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, em KBr.

As Figuras 3.13 e 3.14 apresentam os espectros de absorção na região do infravermelho dos complexos [Ru(L-Ala)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> e [Ru(L-Val)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>. Tentativas de atribuições para as principais bandas de todos os compostos encontram-se na Tabela 3.5. Os espectros dos demais compostos encontram-se no Apêndice C.

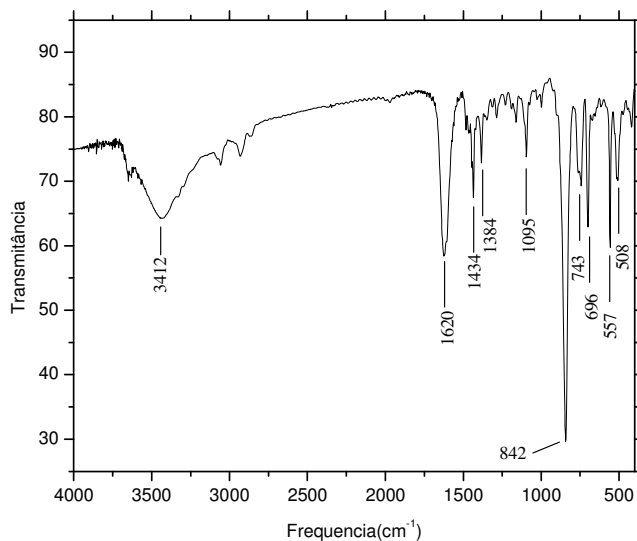


FIGURA 3.13 - Espectro de absorção na região do IV do complexo [Ru(L-Ala)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, em KBr.

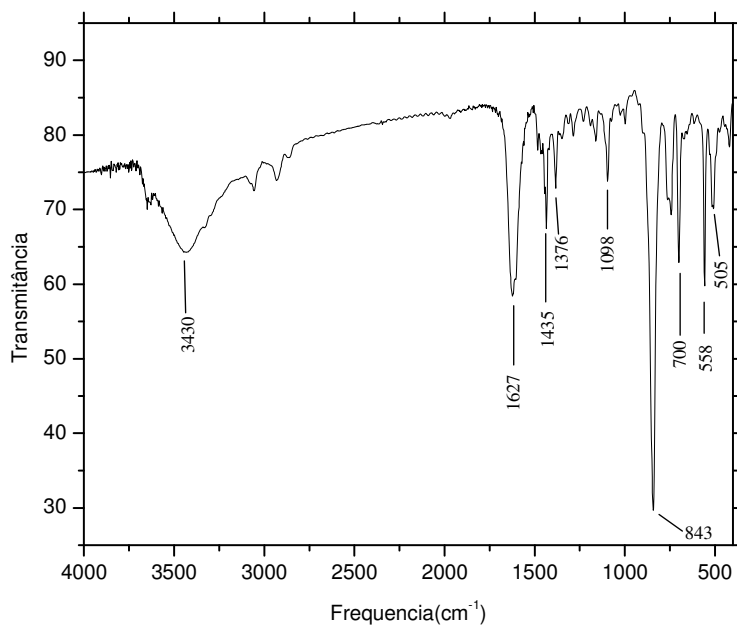


FIGURA 3.14 - Espectro de absorção na região do de IV do complexo [Ru(L-Val)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, em KBr.

TABELA 3.5 - Tentativa de atribuição para as principais bandas observadas nos espectros de absorção na região do IV para os compostos sintetizados e valores de  $\Delta\text{cm}^{-1}$  [117].

Atribuições	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
$\nu_{(ass)}\text{N-H}$ (F)	3432	3412	3420	3430	3440	3429	3412	3430	3442
$\nu_{as}\text{COO}^-(\text{F})$ e $\delta\text{NH}$	1623	1620	1616	1627	1610	1615	1626	1614	1624
$\nu_s\text{COO}^-(\text{f})$	1383	1384	1384	1376	1400	1382	1384	1384	1385
$\nu(\text{P-C})$ (m)	1095	1095	1097	1098	1098	1094	1096	1095	1094
$\nu\text{C-C}(\Phi)$ (m)	1434	1434	1435	1435	1431	1432	1431	1435	1434
$\delta(\text{C-O})$ (m)	742	743	743	741	740	738	742	744	743
$\gamma$ anel (m)	698	696	700	700	698	700	701	700	700
$\nu_{ass}(\text{P-F})$ (F)	842	842	842	843	843	843	842	842	843
$\nu_s(\text{P-F})$ (m)	558	557	557	558	555	554	557	558	558
$\nu(\text{Ru-N})$ (m)	514	508	510	505	509	511	518	509	509
$\Delta\text{cm}^{-1}$ para ligantes	179	183	188	162	144	169	205	180	169
$\Delta\text{cm}^{-1}$ para complexos	236	241	232	251	210	233	242	230	239

De acordo com os valores de  $\Delta\text{cm}^{-1}$  para os compostos aqui sintetizados pode-se chegar à conclusão de que os compostos de aminoácidos encontram-se coordenados na forma bidentada, pois Nakamoto *et al.* [113] fazem uma série de medida de deslocamentos dos estiramentos simétricos e assimétricos do grupo carboxilato dos aminoácidos e a diferença ( $\Delta\text{cm}^{-1}$ ) desses estiramentos apresentam valores semelhantes ao ( $\Delta\text{cm}^{-1}$ ) para os compostos de aminoácido aqui sintetizados.

### 3.1.4 Condutimetria molar

A condutimetria é um método de análise de íons que se baseia na medida da condutividade elétrica de uma solução. A condutimetria, que é o inverso da resistência, depende da concentração e da natureza das espécies químicas presentes na solução, que definem a capacidade de transporte de carga que essa mesma solução apresenta. Nas soluções eletrolíticas os íons positivos (cátions) e negativos (ânions) estão livres e movimentam-se, sendo os responsáveis pelo transporte de carga e, conseqüentemente, pelas propriedades condutoras destas soluções.

As medidas de condutividade dos complexos foram feitas com o objetivo de confirmar a formulação proposta para os compostos sintetizados. Todas as medidas foram feitas na concentração de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  em diclorometano, cujos valores encontrados para os complexos (Tabela 3.6) estão dentro da faixa esperada ( $17$  a  $77 \mu\text{S.cm}^{-1}$ ) para o diclorometano, dando eletrólito 1:1 [118], mostrando-se coerente com a formulação proposta para os compostos.

TABELA 3.6 - Condutividade molar para a série de complexos  $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ .

Complexos	Condutimetria( $\mu\text{S.cm}^{-1}$ )	
	Branco	Amostra
$[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	0,030	24,0
$[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	0,061	22,9
$[\text{Ru}(\text{L-Ser})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	0,024	27,0
$[\text{Ru}(\text{L-Val})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	0,054	30,5
$[\text{Ru}(\text{L-Leu})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	0,080	16,5
$[\text{Ru}(\text{L-Lys})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	0,060	19,3
$[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	0,065	27,4
$[\text{Ru}(\text{L-Try})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	0,030	27,6
$[\text{Ru}(\text{L-Trp})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	0,050	28,4

### 3.1.5 Análise elementar

A análise elementar de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre dos compostos sintetizados fornecem uma indicação de sua fórmula molecular. As fórmulas moleculares apresentadas pelos compostos são consistentes com os dados obtidos, segundo a Tabela 3.7.

TABELA 3.7 - Análise elementar de carbono, nitrogênio, hidrogênio e enxofre para a série de compostos  $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ .

Complexos	C(%)	H(%)	N(%)	S(%)
$\text{C}_{40}\text{H}_{40}\text{F}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{P}_3\text{Ru}$ (1)	53,40(53,28)	4,52(4,40)	4,90(4,75)	-----
$\text{C}_{41}\text{H}_{42}\text{F}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{P}_3\text{Ru}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (2)	52,50(52,74)	4,46(4,64)	4,59(4,50)	-----
$\text{C}_{41}\text{H}_{42}\text{F}_6\text{N}_3\text{O}_3\text{P}_3\text{Ru}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3)	50,48(50,88)	4,47(4,69)	4,80(4,34)	
$\text{C}_{43}\text{H}_{46}\text{F}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{P}_3\text{Ru}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (4)	52,78(52,65)	4,60(5,00)	4,54(4,30)	
$\text{C}_{44}\text{H}_{48}\text{F}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{P}_3\text{Ru}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (5)	54,60(53,43)	5,23(5,17)	4,20(4,73)	
$\text{C}_{46}\text{H}_{48}\text{F}_6\text{N}_4\text{O}_2\text{P}_3\text{Ru}\cdot 2\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (6)	48,20(48,9)	4,2(4,64)	4,85(3,8)	
$\text{C}_{43}\text{H}_{46}\text{F}_6\text{N}_3\text{O}_2\text{P}_3\text{SRu}$ (7)	52,80(52,87)	4,40(4,75)	4,41(4,30)	3,8(3,29)
$\text{C}_{47}\text{H}_{46}\text{F}_6\text{N}_3\text{O}_3\text{P}_3\text{Ru}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (8)	55,50(55,03)	4,46(4,62)	4,60(4,30)	
$\text{C}_{49}\text{H}_{47}\text{F}_6\text{N}_4\text{O}_2\text{P}_3\text{Ru}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (9)	55,10(55,16)	4,73(4,72)	5,57(5,25)	

Entre parêntese- Valor teórico

Um fato a ser observado é que para a microanálise de alguns compostos, ainda contem água em suas formulações, mostrando que mesmo tomando os devidos cuidados de colocar o composto no dessecador e depois na pistola de secagem (ABDERHALDEN) para remover solventes, sempre ainda fica alguma molécula de solvente no composto, o que pode ser observado no espectro de RMN  $^1\text{H}$  por exemplo para o  $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6\cdot\text{H}_2\text{O}$  (Figura 3.15) e  $[\text{Ru}(\text{L-Ser})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .



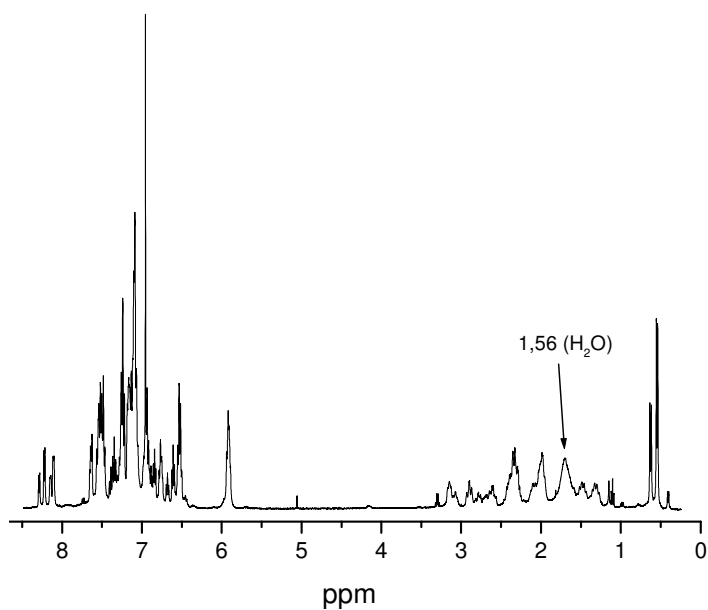


FIGURA 3.15 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de  $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , em clorofórmio deuterado, seco em peneira molecular.

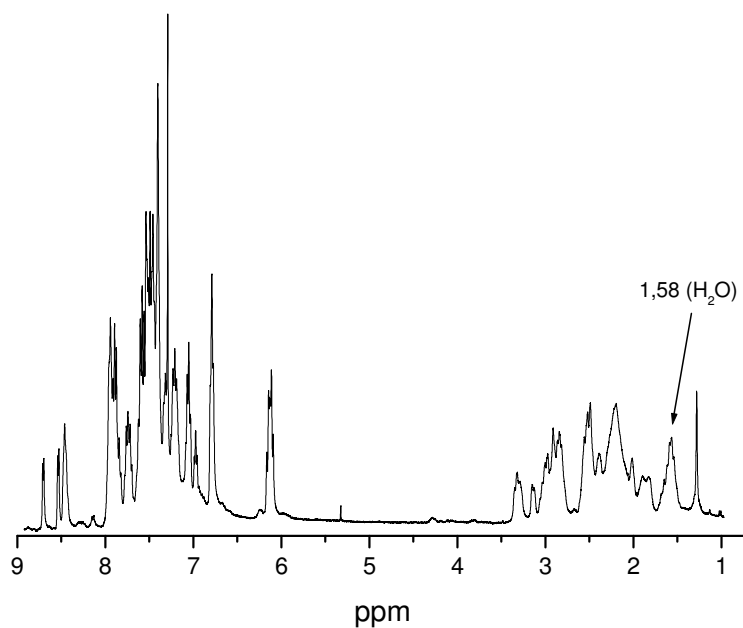


FIGURA 3.16 - Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de  $[\text{Ru}(\text{L-Ser})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  em clorofórmio deuterado, seco em peneira molecular.

### 3.1.6 Eletroquímica

As medidas eletroquímicas dos compostos foram realizadas por voltametria cíclica (VC) e voltametria de pulso diferencial (VPD). Os experimentos foram realizados em diclorometano, em PTBA 0,1 mol.L<sup>-1</sup> como eletrólito suporte com varredura de 100 mV/s indo de 0 a 1600 mV, tendo como eletrodo de referência Ag/AgCl e platina, como eletrodo de trabalho e de auxiliar. Os processos redox do precursor (*cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppb)(bipy)]) usado para todas as sínteses, é já bem conhecido em nosso laboratório (Figura 3.17), e apresenta processo redox Ru(II)/Ru(III), reversível, em 600 mV, enquanto que para o voltamograma cíclico para todos os compostos com aminoácidos aqui sintetizados, apresentam potenciais redox em valores mais altos. O voltamograma cíclico do [Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> (Figura 3.18), apresenta processo próximo de 1100 mV, acontecendo o mesmo para os demais compostos com aminoácidos.

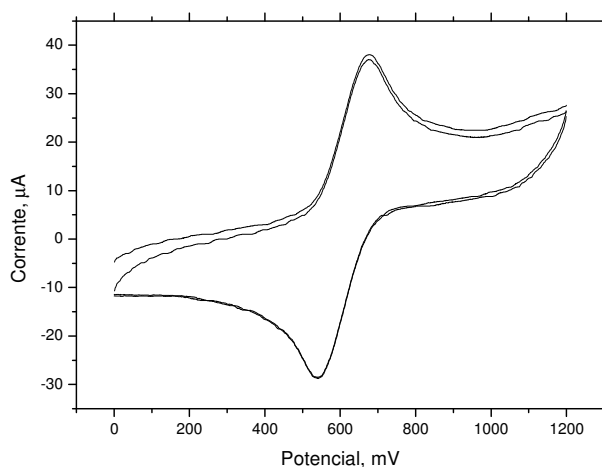


FIGURA 3.17 - Voltamograma cíclico do [RuCl<sub>2</sub>(dppb)(bipy)], eletrólito PTBA 0,1 mol.L<sup>-1</sup>; solvente- CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; eletrodo de referência Ag/AgCl e platina de trabalho; velocidade de varredura- 100 mV.s<sup>-1</sup>.

Os voltamogramas cíclicos para todos os compostos, exceto com o ligante triptofano, mostra um processo redox Ru(II)/Ru(III) quasi-reversível. Estes potenciais são da ordem de 500 mV mais altos que o observado para o precursor

*cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppb)(bipy)]. Esta alteração de potencial pode ser explicada devido ao fraco caráter doador de densidade eletrônica do átomo de nitrogênio e oxigênio do aminoácido, em comparação com os cloros, deixando o centro metálico mais deficiente em elétrons, deslocando os potenciais de oxidação do rutênio para altos valores (Tabela 3.8). O fato de se substituir um ou dois átomos de cloro por um ligante qualquer, desde que este tenha capacidade de deixar o centro metálico mais deficiente de elétrons, seja por efeito de retrodoação ou pela menor capacidade de doação eletrônica  $\sigma/\pi$  em comparação com o cloro sempre elevará o potencial de oxidação do centro metálico para valores mais altos. Assim como acontece para compostos com aminoácidos, o mesmo acontece com compostos do tipo [RuCl(dppb)(bipy)L]PF<sub>6</sub>, (L = piridina, 4-fenilpiridina, 4-vinilpiridina, 4-aminopiridina) [113]. Esses compostos possuem potenciais redox mais altos que seu precursor ([RuCl<sub>2</sub>(dppb)(bipy)]), na ordem de 550 mV.

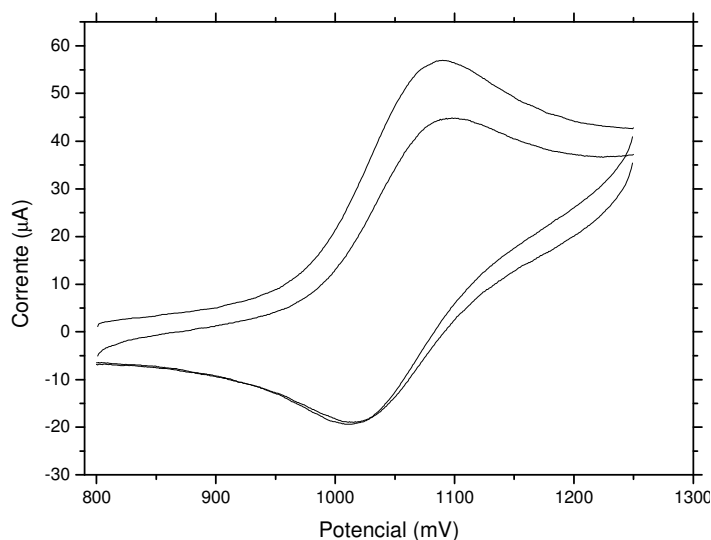


FIGURA 3.18 - Voltamograma cíclico do [Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, eletrólito PTBA 0,1 mol.L<sup>-1</sup>; solvente- CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; eletrodo de referência Ag/AgCl e platina de trabalho; velocidade de varredura- 100 mV.s<sup>-1</sup>.

Na varredura anódica dos compostos com aminoácido, além do processo redox Ru (II)/Ru(III) próximo de 1100 mV, é observado um processo redox de menor intensidade acima de 1200 mV, porém tal processo nos

voltamogramas cíclicos não é bem detectado em todos os compostos, e é melhor observado na voltametria de pulso diferencial.

No voltamograma de pulso diferencial também são observados processos redox Ru(II)/Ru(III) (Figura 3.19), vindo a comprovar a existência de compostos de aminoácidos, sendo que esse mesmo processo para o precursor é observado em 600 mV, o que já foi descrito anteriormente.

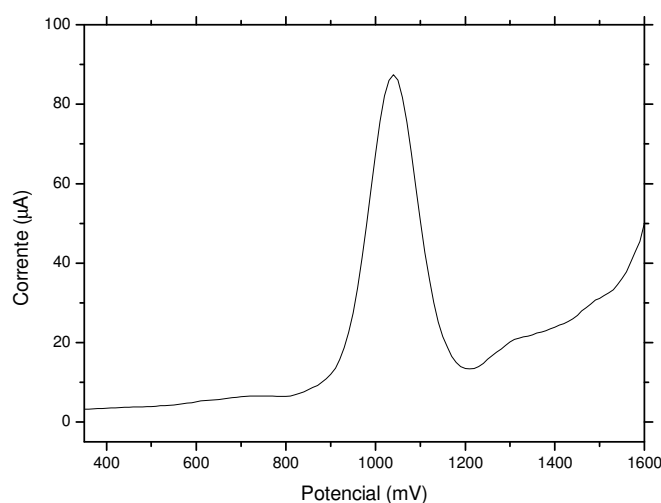
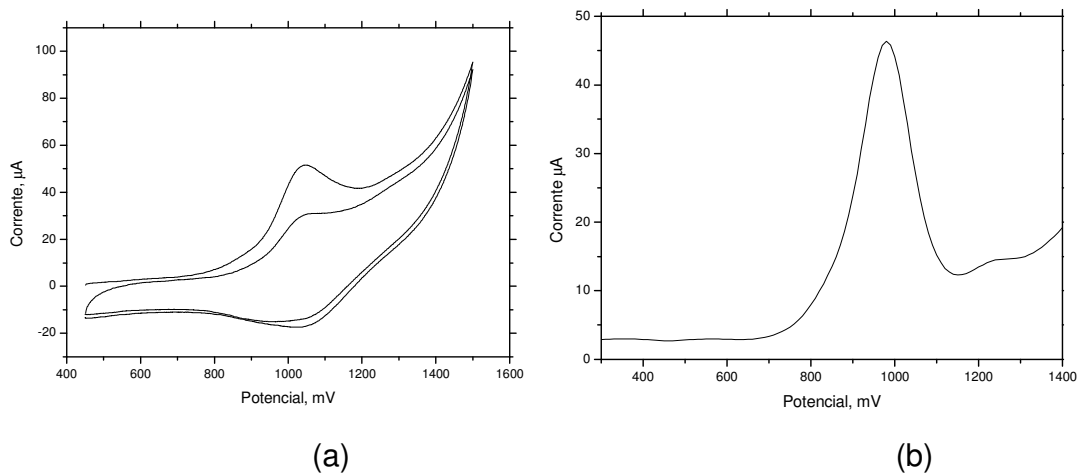


FIGURA 3.19 - Voltamograma de pulso diferencial de  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , eletrólito PTBA  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ ; solvente-  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; eletrodo de referência Ag/AgCl e platina de trabalho; velocidade de varredura-  $70 \text{ mV.s}^{-1}$ .

Para os demais compostos os voltamogramas possuem as mesmas características do composto com o aminoácido glicina, o que nos leva a acreditar que se tratam dos mesmos processos eletroquímicos (Tabela 3.8).

TABELA 3.8 - Parâmetros eletroquímicos do composto com formula geral [Ru(AA)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>.

Complexo	Voltametria cíclica mV			
	E <sub>pa</sub>	E <sub>pc</sub>	E <sub>1/2</sub> (mV)	I <sub>pa</sub> / I <sub>pc</sub>
1	1088	1025	1056	1,40
2	1100	995	1047	1,63
3	1122	1000	1061	1,70
4	1070	950	1043	1,25
5	1090	1000	1045	1,30
6	1130	1000	1061	1,88
7	1025	980	1002	3,2
8	1122	1000	1061	1,60
9	1102	-----	-----	Irreversível

FIGURA 3.20 - a) Voltamograma cíclico e b) pulso diferencial de oxidação do [Ru(L-Met)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, eletrólito PTBA 0,1 mol.L<sup>-1</sup>; solvente- CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; eletrodo de referência- Ag/AgCl e platina de trabalho; velocidade de varredura- 70 mV.s<sup>-1</sup>.

O voltamograma de pulso diferencial de oxidação do [Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, (Figura 3.21) além de potencial em 1148 mV referente a

processo redox Ru II/III, apresenta um segundo processo pouco intenso em 1300 mV, sendo que este, de menor intensidade, aparece em todos os compostos, com exceção dos compostos **6 e 5**. Em se tratando de um processo que aparece em todos os compostos com maior ou menor intensidade, este processo redox pode ser atribuído aos ligantes [119], pois para os aminoácidos livres glicina e triptofano é observado processo redox nessa região (Figuras 3.22 e 3.23). Uma vez se tratando de um processo de oxidação dos aminoácidos (Figura 3.24), a coordenação deste ao metal faz com que processo se desloque para um valor de potencial mais alto, o que é observado para a série de complexos com aminoácido.

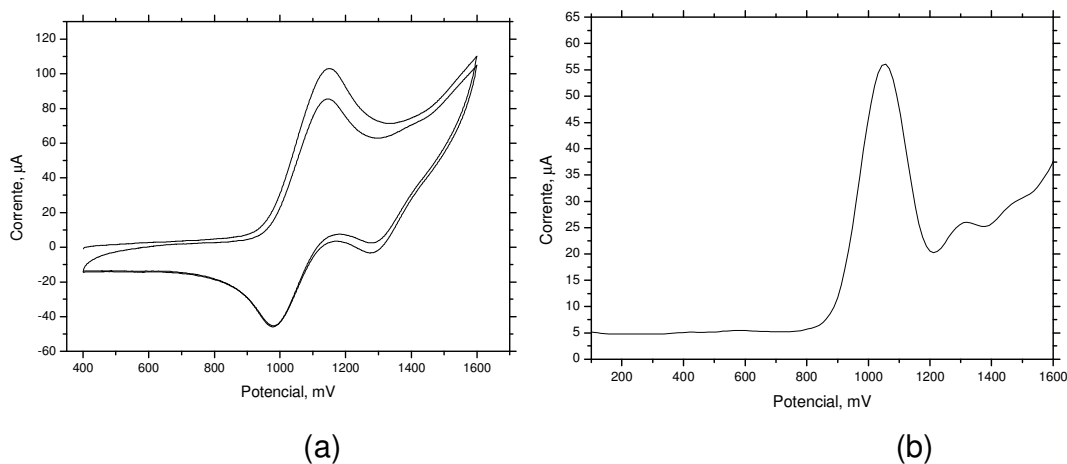


FIGURA 3.21 - a) Voltamograma cíclico e b) pulso diferencial de oxidação do  $[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF_6$ , eletrólito PTBA  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ ; solvente-  $CH_2Cl_2$ ; eletrodo de referência-  $Ag/AgCl$  e platina de trabalho; velocidade de varredura-  $70 \text{ mV.s}^{-1}$ .

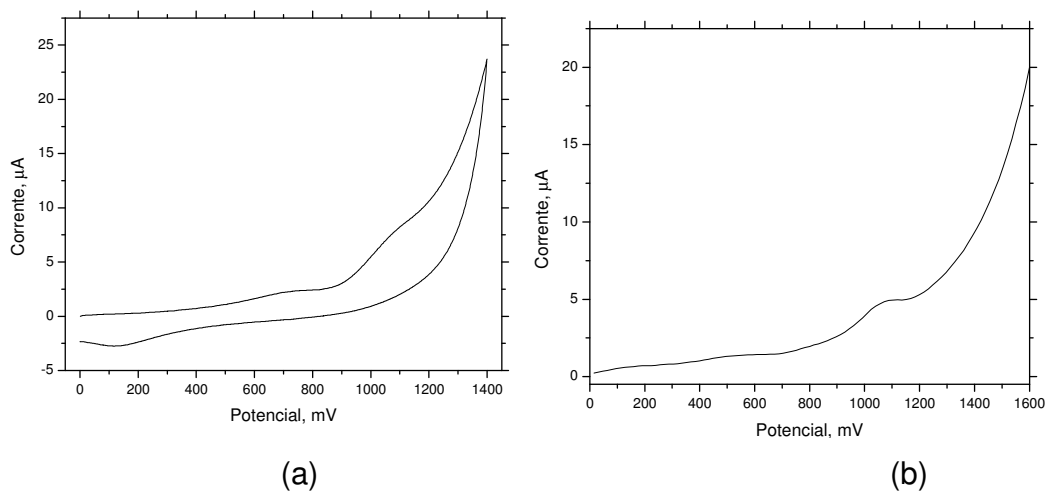


FIGURA 3.22 - (a) voltamograma cíclico e (b) voltamograma de pulso diferencial de oxidação da glicina, eletrólito PTBA  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ ; solvente- dimetilformamida; eletrodo de referência- Ag/AgCl e platina de trabalho; velocidade de varredura-  $70 \text{ mV.s}^{-1}$ .

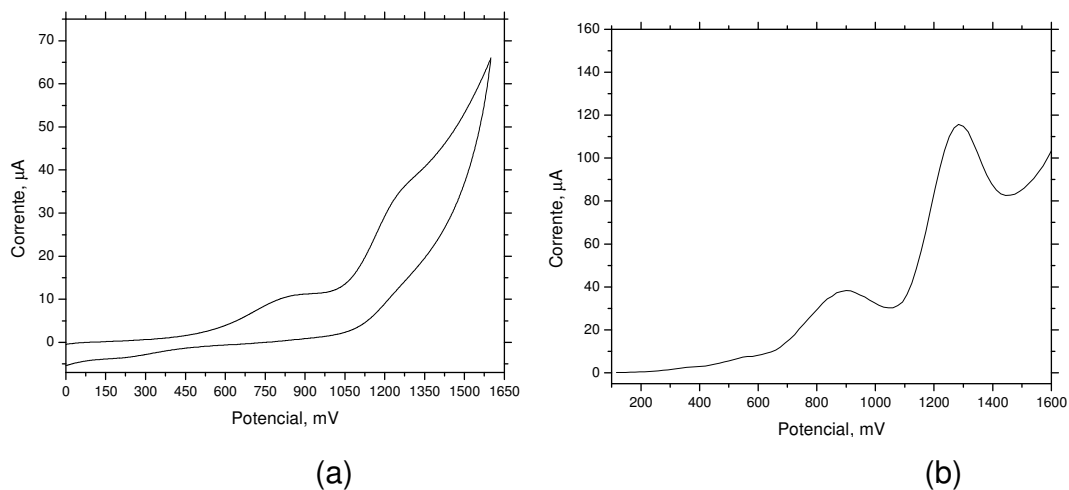


FIGURA 3.23 - (a) voltamograma cíclico e (b) voltamograma de pulso diferencial de oxidação do triptofano. Eletrólito PTBA  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ ; solvente- dimetilformamida; eletrodo de referência- Ag/AgCl e platina de trabalho; velocidade de varredura-  $70 \text{ mV.s}^{-1}$ .

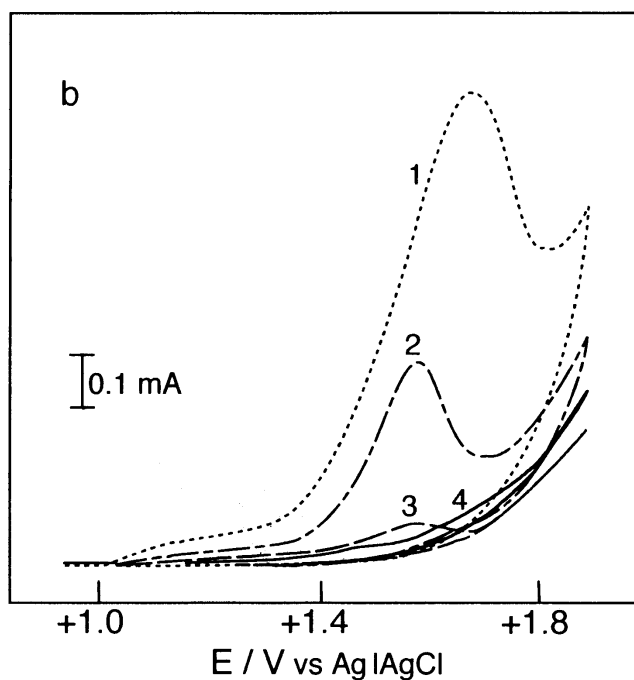


FIGURA 3.24 - Voltamograma cíclico de oxidação da glicina, em solução  $0,1 \text{ mol.L}^{-1} \text{ HClO}_4$  com Ag/AgCl como eletrodo de referencia e prata como de trabalho [119].

### 3.1.7 Resolução dos diastereoisômeros

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), assim como o RMN, é também uma técnica muito utilizada na caracterização de compostos de coordenação. Ela pode ser empregada tanto na identificação, quanto na separação de diastereoisômeros [120-122]. A Figura 3.25 mostra o cromatograma do  $[\text{Ru}(\text{L-Ser})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , onde cada pico corresponde a um diastereoisômero, sendo que estes possuem tempos de retenção próximos.



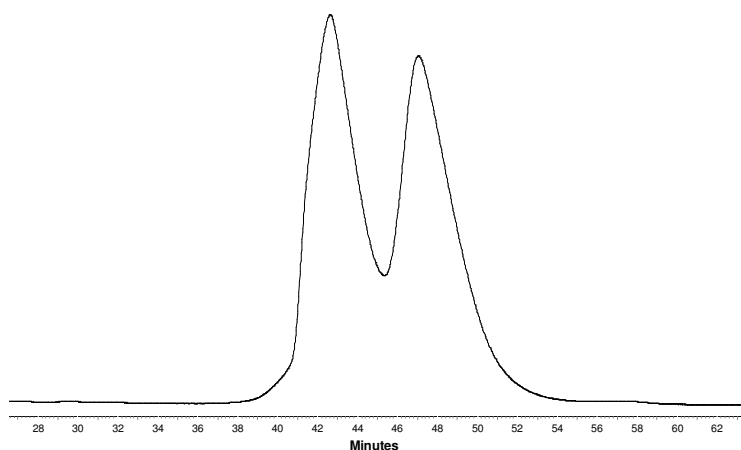


FIGURA 3.25 - Cromatograma de misturas de diastereoisômeros do  $\Delta,\Lambda$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>.

A mistura de diastereoisômeros foi resolvida passando o [Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> por uma coluna ODS-C18 (5 mm; 250 x 4.6 mm; Shimadzu) usando o método isocrático, tendo como fase móvel metanol/água (57/43) em tampão pH experimental 3,5 com um fluxo de 1 mL.min<sup>-1</sup> cujos cromatogramas são mostrados nas Figura 3.26 e 3.27.

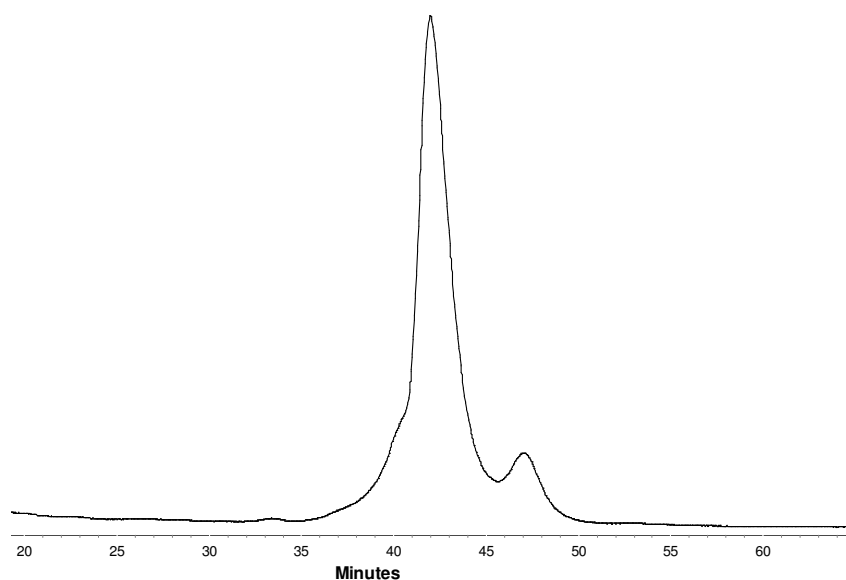


FIGURA 3.26 - Cromatograma da primeira fração coletada referente à mistura de diastereoisômero  $\Delta,\Lambda$  -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>.

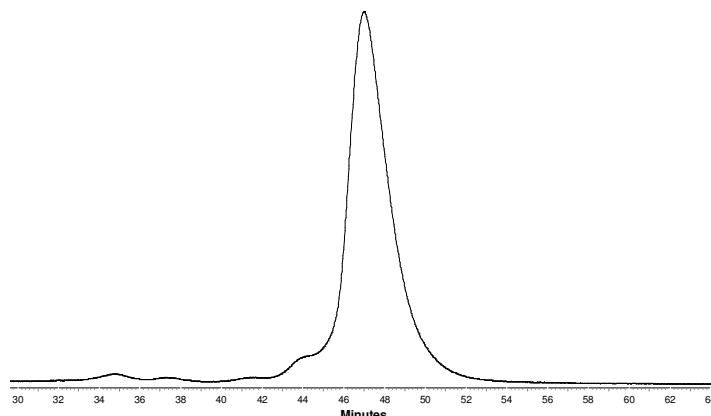


FIGURA 3.27 - Cromatograma da segunda fração coletada referente à mistura de diastereoisômeros  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>.

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência mostrou-se eficaz na resolução dos diastereoisômeros, dando uma resolução de separação ( $R_s$ ) igual a 1,11, sendo que para tal valor, mostra que apenas aproximadamente 2% de bandas estão sobrepostas [123] na Figura 3.25. Das frações referentes a cada diastereoisômero, foi feito um RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ , cujos espectros são mostrados nas Figura 3.28 e 3.29, sendo que para cada fração são observados somente dois dubletos, o que já era esperado. Os valores dos deslocamentos químicos deles separados estão condizentes com os valores na mistura (Figura 3.30).

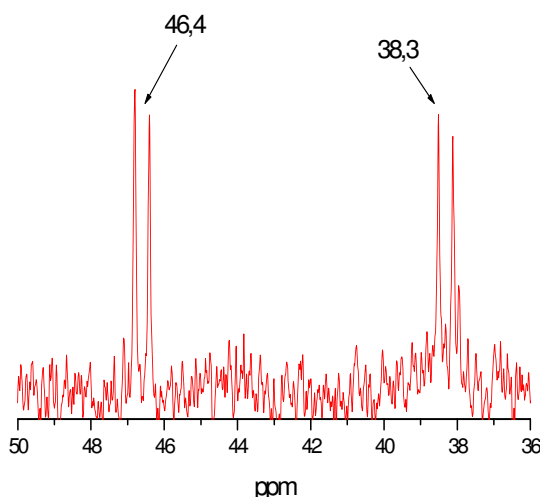


FIGURA 3.28 - Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do diastereoisômero  $\Delta$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/D<sub>2</sub>O.

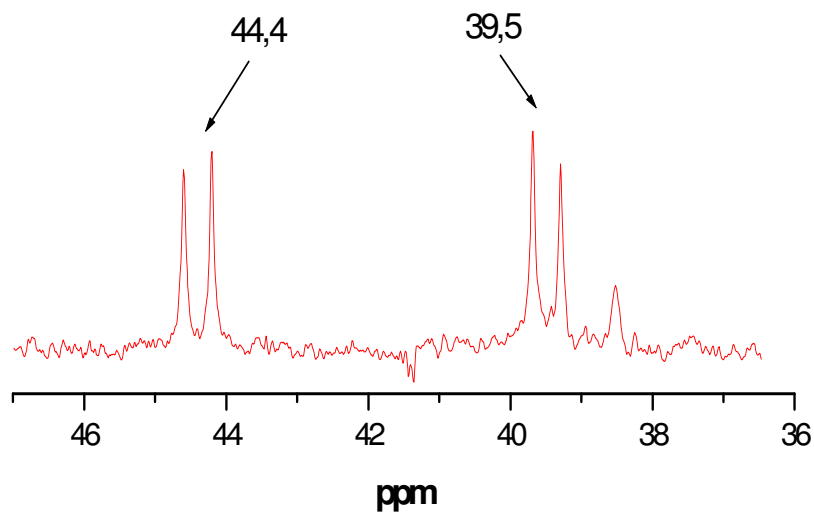


FIGURA 3.29 - Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do diastereoisomero  $\Delta$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/D<sub>2</sub>O.

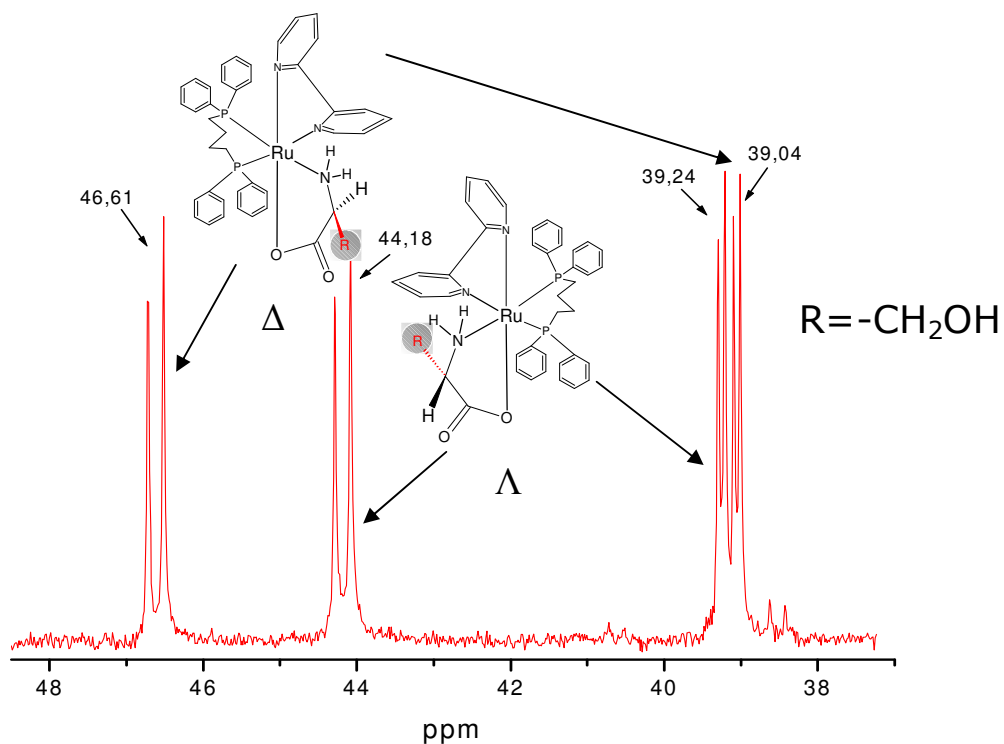


FIGURA 3.30 - Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  de  $\Lambda,\Delta$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/D<sub>2</sub>O.

Por se tratar de mistura de diastereoisômeros, foram feitas medidas em dicroísmo circular Modelo Jasco 720 com as frações separadas no CLAE. A Figura 3.31 mostra que tais amostras são realmente isômeros ópticos, em que o  $\Delta$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> apresenta um desvio da luz polarizada no sentido horário e o  $\Lambda$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, com o desvio da luz polarizada no sentido anti-horário.

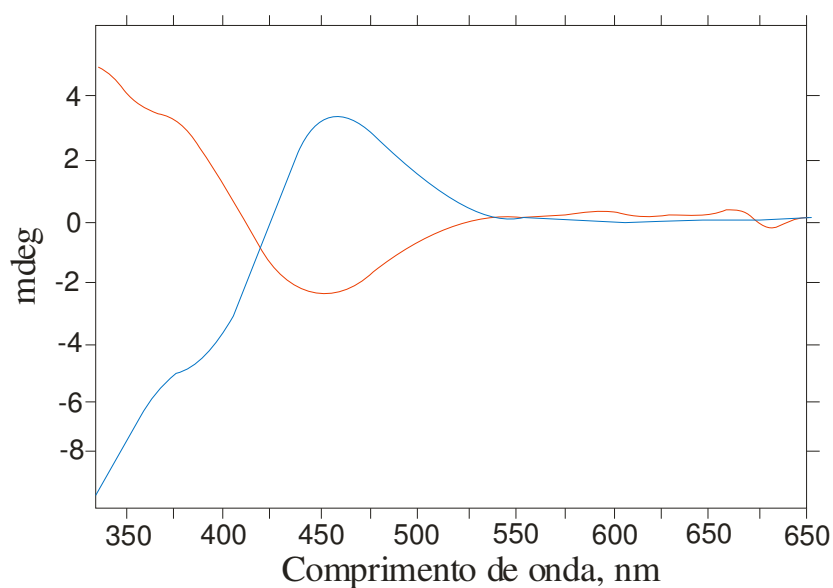


FIGURA 3.31 - Espectro de dicroísmo circular; (---)  $\Delta$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> e (---)  $\Lambda$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> em metanol.

Ademais, para as frações coletadas foram obtidas os espectros eletrônicos dos mesmos os quais são mostrados na Figura 3.32. Observa-se que os espectros eletrônicos dos diastereoisômeros são idênticos.

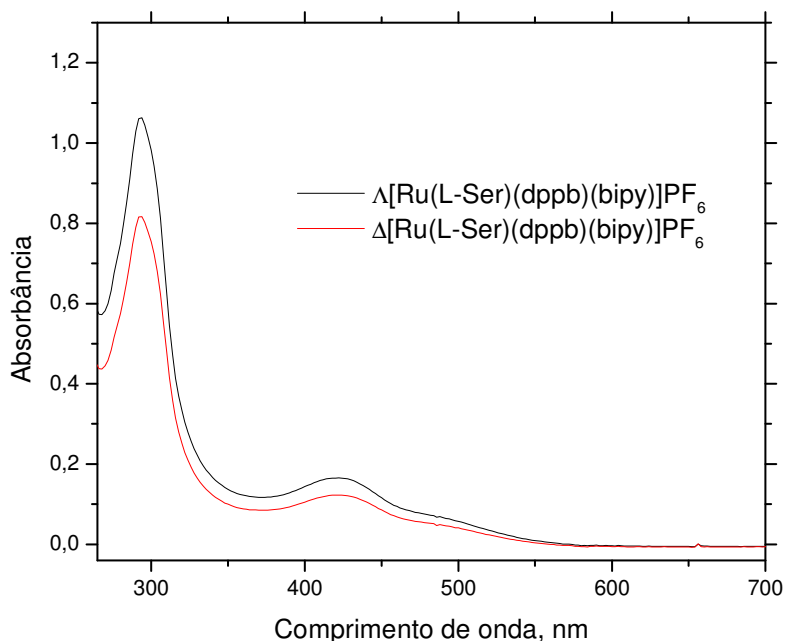


FIGURA 3.32 - Espectro de absorção na região do UV-Vis dos  $\Delta$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> e  $\Lambda$ -[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, em diclorometano.

Assim, como no espectro eletrônico, na voltametria cíclica de pulso diferencial também não é observada grande mudança de potencial de oxidação Ru(II)/Ru(III) para os diastereoisômeros, como mostrado na Figura 3.33. Os potenciais redox para as espécies são praticamente idênticos, tanto para o diastereoisômero lambda ( $\Lambda$ ), quanto o delta ( $\Delta$ ), vindo mais uma vez mostrar que a única diferença entre eles é o desvio de luz polarizada, ou seja, um desvia a luz polarizada no sentido horário e o outro, sentido anti-horário.

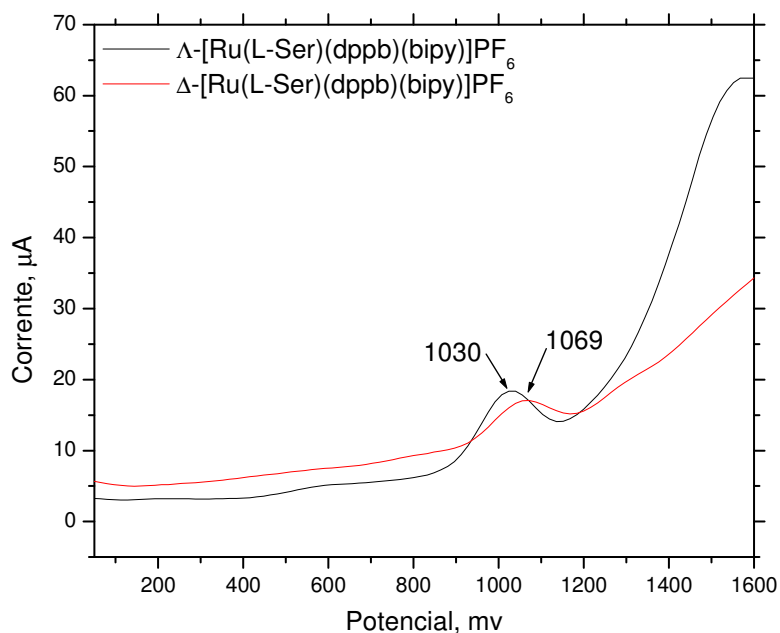


FIGURA 3.33 - Voltamograma cíclico de pulso diferencial, mostrando os procesos de oxidação das frações dos diastereoisomeros do composto com a serina. Eletrólito PTBA 0,1 mol.L<sup>-1</sup>; solvente- CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; eletrodo de referência- Ag/AgCl e platina de trabalho; velocidade de varredura- 70 mV.s<sup>-1</sup>.

### 3.1.8 Difração de raios-x

Um cristal é um sólido nos quais os constituintes, sejam eles átomos, moléculas ou íons, estão organizados num padrão tridimensional bem definido, que se repete no espaço, formando uma estrutura com uma geometria específica. A cristalografia é uma ciência experimental que tem como objeto de estudo a disposição dos átomos em sólidos. Desta forma a técnica é de fundamental importância para a elucidação da estrutura dos compostos de coordenação.

A reação do [RuCl<sub>2</sub>(dppb)(bipy)], precursor, com a glicina, produz o composto **1** como pode ser observada na estrutura molecular de raios X (Figura 3.35). O aminoácido está coordenado ao rutênio de forma bidentada, através do oxigênio do grupo carboxilato e do nitrogênio do grupo NH<sub>2</sub>, confirmando assim a estrutura proposta por <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} RMN.

---

O cristal tem uma estrutura octaédrica distorcida, com sistema do tipo monoclinico, o que é refletido nos parâmetros de ligação. O aminoácido ao se coordenar de forma bidentada, portanto formando um anel de cinco membros, este acaba tendo um ângulo  $N_{(AA)}-Ru-O_{(AA)}$  de  $78,27(12)^\circ$ , valor este condizente com outros encontrado na literatura [124].

Na Figura 3.34 é exibida a estrutura cristalina do  $[RuCl_2(dppb)(bipy)]$ , precursor utilizado em todas as sínteses. No cristal, observa-se que o comprimento da ligação (Tabela 3.9)  $Ru-Cl$  *trans* ao átomo de fósforo da 1,4-*bis*-(difenilfosfino)butano ( $2,4849\text{\AA}$ ) é maior que a ligação  $Ru-Cl$  *trans* ao átomo de nitrogênio da 2,2'-bipiridina ( $2,428\text{\AA}$ ) [125]. Quando os átomos de cloro são substituídos pelo aminoácido(glicina) (Figura 3.35), o comprimento das ligações diminui para  $2,179$  e  $2,080\text{\AA}$  para  $Ru-N_{(Gly)}$ , e  $Ru-O_{(Gly)}$ , respectivamente, devido ao tamanho do raio tanto do nitrogênio( $0,16\text{\AA}$ ) quanto do oxigênio ( $1,4\text{\AA}$ ) serem menores que do cloro ( $1,81\text{\AA}$ ). O valor comprimento de ligação  $Ru-N_{(AA)}$  está coerente com valores encontrado na literatura, pois Majumder e colaboradores descrevem complexos de rutênio com aminoácido com a mesma ordem de ligação [126].

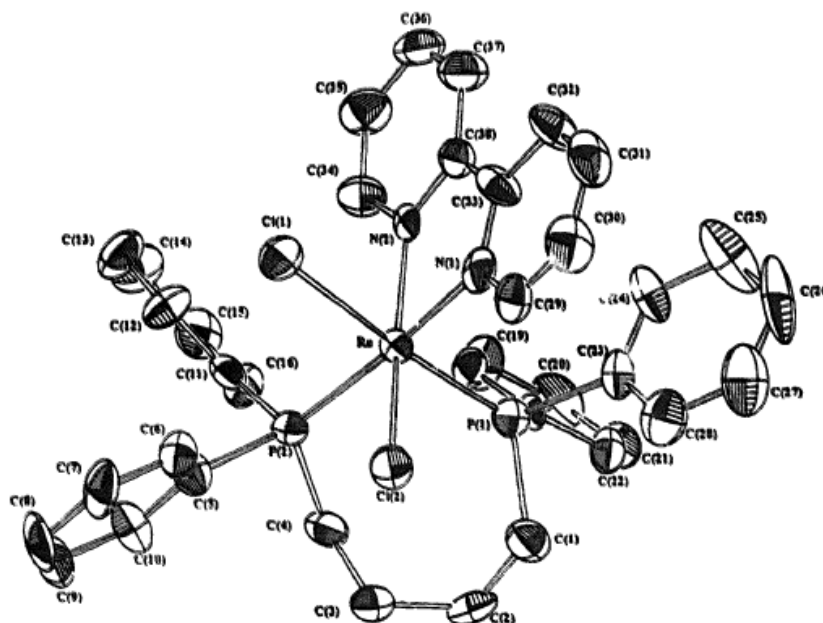


FIGURA 3.34 - Estrutura cristalina para o complexo  $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ , mostrando a numeração dos átomos e as elipsóides de 50 % de probabilidade [126].

TABELA 3.9- Distâncias de ligação do complexo *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$

Ligações	Distâncias
Ru-Cl <sub>1</sub> trans P <sub>1</sub>	2,4849(3)
Ru-Cl <sub>2</sub> trans N <sub>2</sub>	2,428(3)
Ru-N <sub>2</sub> trans Cl <sub>2</sub>	2,097(8)
Ru-N <sub>1</sub> trans P <sub>2</sub>	2,088(9)
Ru-P <sub>1</sub> trans Cl <sub>1</sub>	2,279(3)
Ru-P <sub>2</sub> trans N <sub>1</sub>	2,331(3)

Sendo o raio do nitrogênio menor que o oxigênio, esperava-se que o comprimento da ligação Ru-N<sub>(Gly)</sub> fosse menor que a ligação Ru-O<sub>(Gly)</sub>, isso de fato não acontece e uma possível explicação para o maior comprimento de ligação Ru-N<sub>(Gly)</sub> *trans* a 1,4-*bis*-(difenilfosfina)butano em comparação com o comprimento da



ligação Ru-O<sub>(Gly)</sub>, pode ser atribuído ao efeito *trans* da dppb sendo que o mesmo efeito é descrito por Sheldrick e colaboradores [127].

Os comprimentos da ligação Ru-P<sub>1</sub> e Ru-P<sub>2</sub> da 1,4-*bis*-(difenilfosfino)butano são de 2.3165(9) e 2.3139(9) Å (Tabela 3.10), valores estes que são coerente para compostos de rutênio (II) com dppb encontrados na literatura. [128, 129].

TABELA 3.10- Principais distâncias e ângulos de ligação do complexo [Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>.

Ligação	Distancia (Å)
Ru-O(1)	2.080(3)
Ru-N(2)	2.080(3)
Ru-N(3)	2.095(3)
Ru-N(1)	2.179(3)
Ru-P(2)	2.3139(9)
Ru-P(1)	2.3165(9)
	Ângulo (°)
O(1)-Ru-N(2)	166.67(11)
O(1)-Ru-N(3)	89.24(12)
N(2)-Ru-N(3)	78.34(12)
O(1)-Ru-N(1)	78.27(12)
N(2)-Ru-N(1)	95.29(12)
O(1)-Ru-P(2)	87.38(8)
N(2)-Ru-P(2)	104.34(8)
N(3)-Ru-P(2)	172.29(8)
N(1)-Ru-P(2)	89.24(9)
O(1)-Ru-P(1)	98.69(8)
N(2)-Ru-P(1)	86.62(8)
N(3)-Ru-P(1)	91.67(8)

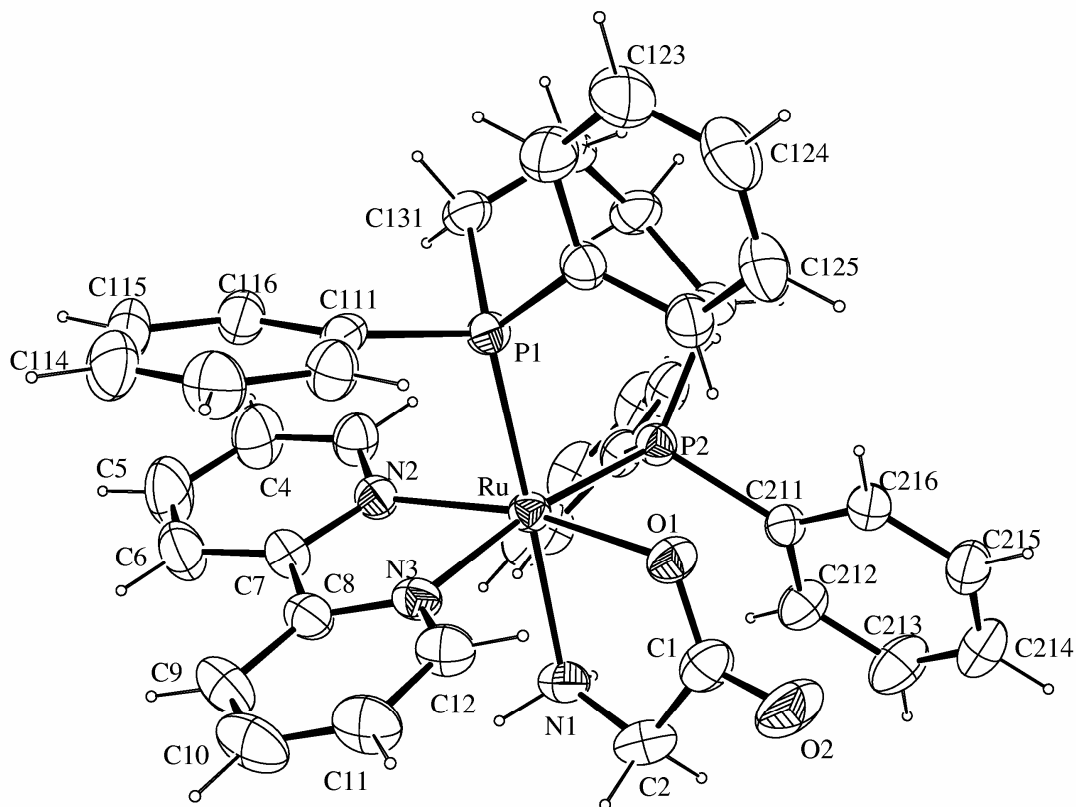


FIGURA 3.35 - Estrutura cristalina para o complexo  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  mostrando a numeração dos átomos e as elipsóides de 50 % de probabilidade.

TABELA 3.11 - Dados de refinamento da estrutura cristalina do complexo [Ru(l-Gly)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>.

Fórmula empírica	{C <sub>40</sub> H <sub>41</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> P <sub>2</sub> Ru}PF <sub>6</sub> ·3/2.H <sub>2</sub> O
Peso molecular	929.75
Temperatura	293(2) K
Comprimento de onda	0.71073 Å
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P2 <sub>1</sub> /c
Dimensão da cela unitária	$a = 14.8055(3)$ Å
	$b = 13.2182(4)$ Å = 98.791(2)°
	$c = 21.7925(4)$ Å
Volume	4214.74(17) Å <sup>3</sup>
Z	4
Densidade (calculada)	1.465 Mg/m <sup>3</sup>
Coeficiente de absorção	0.554 mm <sup>-1</sup>
F(000)	1900
Tamanho do cristal	0.15 x 0.14 x 0.11 mm <sup>3</sup>
Limite de $\theta$ para coleta de dados	3.12 to 27.01°
Razão de h, K, l	$-18 \leq h \leq 17, -16 \leq k \leq 15, -26 \leq l \leq 27$
Reflexões coletadas	26669
Reflexões independentes	8589 [R(int) = 0.0589]
Completeness to theta = 25.50°	99.3 %
Correção por absorção	Gaussian
Max. e min. transmissão	0.956 e 0.912
Método de refinamento	Matriz completa de mínimos quadrados em F <sup>2</sup>

O composto  $[\text{Ru}(\text{L-Leu})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , (Figura 3.36) possui uma estrutura octaédrica distorcida, com sistema do tipo triclínico. Seus comprimentos de ligação são semelhantes ao composto  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ . Os comprimentos de ligação  $\text{Ru-N}_{(\text{Leu})}$  e  $\text{Ru-O}_{(\text{Leu})}$ , são de 2,193(3) e 2,086(2)Å. Em se tratando de estrutura semelhantes a do composto **1**, os comprimentos de ligação  $\text{Ru-P1}$  e  $\text{Ru-P2}$ , também vão obedecer a mesma ordem de grandeza para comprimentos de ligação, com valores de 2,3325(9) e 2,3259(9)Å respectivamente.

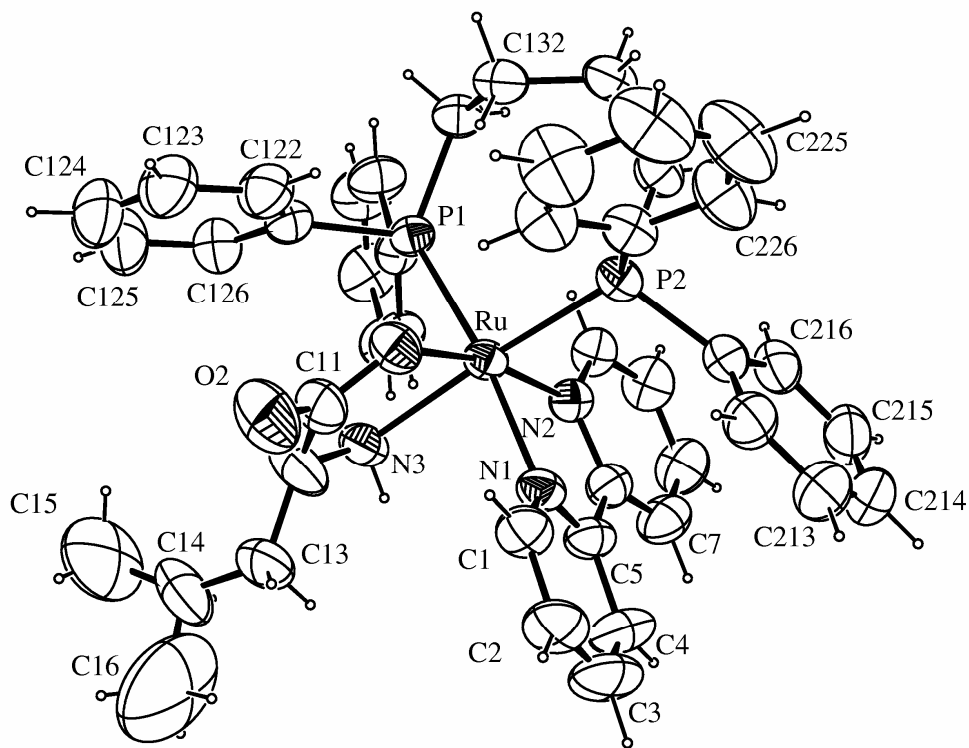


FIGURA 3.36 - Estrutura cristalina para o complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Leu})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  mostrando a numeração dos átomos e as elipsóides de 50 % de probabilidade.

TABELA 3.12 - Dados do refinamento da estrutura cristalina do complexo [Ru(L-Leu)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>.

Fórmula empírica	{C <sub>44</sub> H <sub>49</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub> P <sub>2</sub> Ru}(PF <sub>6</sub> )1/2(CH <sub>3</sub> OH)
Peso molecular	973.85
Temperatura	293(2) K
Comprimento de onda	0.71073 Å
Sistema cristalino	Triclínico
Grupo espacial	P1
Dimensão da cela unitária	$a = 10.6530(2) \text{ \AA}$ $\alpha = 85.205(1)^\circ$ $b = 13.8920(3) \text{ \AA}$ $\beta = 83.336(1)^\circ$ $c = 15.3150(3) \text{ \AA}$ $\gamma = 86.616(1)^\circ$
Volume	2240.51(8) Å <sup>3</sup>
Z	2
Densidade (calculada)	1.444 Mg/m <sup>3</sup>
Coeficiente de absorção	0.523 mm <sup>-1</sup>
F(000)	1000
Tamanho do cristal	0.26 x 0.24 x 0.10 mm <sup>3</sup>
Limite de $\theta$ para coleta de dados	2.95 to 25.41°
Razão de h, K, l	$12 \leq h \leq 12, -16 \leq k \leq 16, -18 \leq l \leq 18$
Reflexões coletadas	15666
Reflexões independentes	8217 [R(int) = 0.0418]
Completeness to theta = 25.50°	99.4 %
Correção por absorção	Gaussian
Max. and min. transmissão	0.993 e 0.874
Método de refinamento	Matriz completa de mínimos quadrados em F <sup>2</sup>

TABELA 3.13 - Principais distâncias e ângulos de ligação do complexo [Ru(L-Leu)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>.

Ligação	Distancia (Å)
Ru-O(1)	2.086(2)
Ru-N(2)	2.067(3)
Ru-N(3)	2.193(3)
Ru-N(1)	2.103(3)
Ru-P(2)	2.3259(9)
Ru-P(1)	2.3325(9)
	Ângulo (°)
O(1)-Ru-N(2)	167.32(11)
O(1)-Ru-N(3)	77.56(11)
N(2)-Ru-N(3)	97.31(12)
O(1)-Ru-N(1)	89.37(11)
N(2)-Ru-N(1)	78.51(11)
N(3)-Ru-N(1)	84.30(12)
O(1)-Ru-P(2)	97.33(8)
N(2)-Ru-P(2)	86.46(8)
N(3)-Ru-P(2)	172.15(9)
N(1)-Ru-P(2)	89.73(8)
O(1)-Ru-P(1)	92.20(8)
N(2)-Ru-P(1)	99.18(8)
N(3)-Ru-P(1)	87.24(9)
N(1)-Ru-P(1)	170.85(8)
P(2)-Ru-P(1)	99.00(3)

### 3.1.9 Testes de citotoxicidade

Os testes biológicos foram feitos pelo método MTT, que consiste na absorção do sal MTT {brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]} pelas células, sendo este reduzido no interior da mitocôndria a um produto chamado formazana. Os cristais foram solubilizados em DMSO e realizadas as leituras em um espectrofotômetro UV-Vis, em 560 nm. A viabilidade celular do composto em linhagem tumoral MDA-MB-231 foi dada em  $IC_{50}$ , que é a menor concentração da droga capaz de inibir a reprodução de 50% das células doentes. Foram feitos testes de citotoxicidade com os complexos de aminoácidos, usando como padrão de comparação o fármaco comercial cisplatina. Para efeito de comparação também foi feito o teste de citotoxicidade com o precursor *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppb)(bipy)] usado nas sínteses. O  $IC_{50}$  para o cisplatina e *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppb)(bipy)] foi de 87,5 e 131  $\mu$ M, respectivamente. Fazendo uma comparação com os compostos de aminoácidos, estes valores estão muito altos, ou seja para o mesmo efeito de citotoxicidade em células cancerígenas é necessário doses mais altas do cisplatina e *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppb)(bipy)]. Uma importante observação feita para os compostos de aminoácidos, é que todos são compostos carregados positivamente, enquanto o cisplatina e *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppb)(bipy)] são neutros. Isso pode ser um forte fator que vem a contribuir para a uma diminuição do  $IC_{50}$ . O  $IC_{50}$  para os compostos [Ru(Gly)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, [Ru(L-Met)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> (Figura 3.37a e b) e [Ru(L-Leu)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, são os menores, mostrando-se bastante ativo contra a linhagem de célula cancerígena, com valores de 14,5, 5,0 e 7,1  $\mu$ M respectivamente.

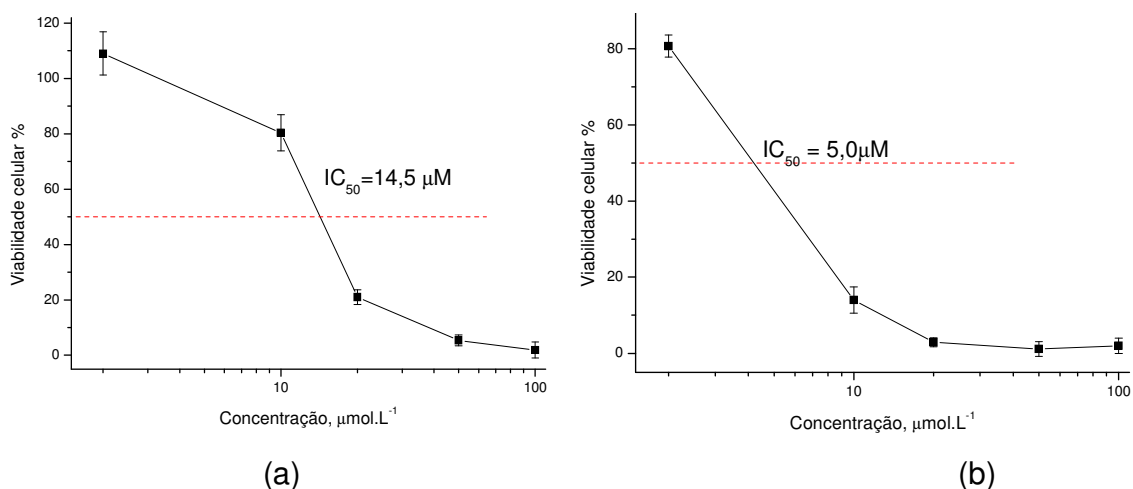


FIGURA 3.37 - Ensaio de MTT para os complexos  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  (a) e  $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , (b) em linhagem de célula tumoral MDA-MB-231, tempo de incubação 48 h.

Uma observação a ser feita nos compostos **1**, **5**, e **7**, é que o aminoácido ligado ao composto em si é dito como aminoácido com maior caráter apolar, isso por que o grupo R ligado ao carbono alfa se trata de um grupo apolar e com isso diminuindo o caráter polar do aminoácido como todo. Desta forma pode ser que esses aminoácidos estejam aumentando o caráter apolar do complexo como todo. Um maior caráter apolar para tais complexos poder vir a dar uma melhor passagem através da membrana celular que tem uma parede celular de maior caráter lipofílico, e assim chegando ao DNA.



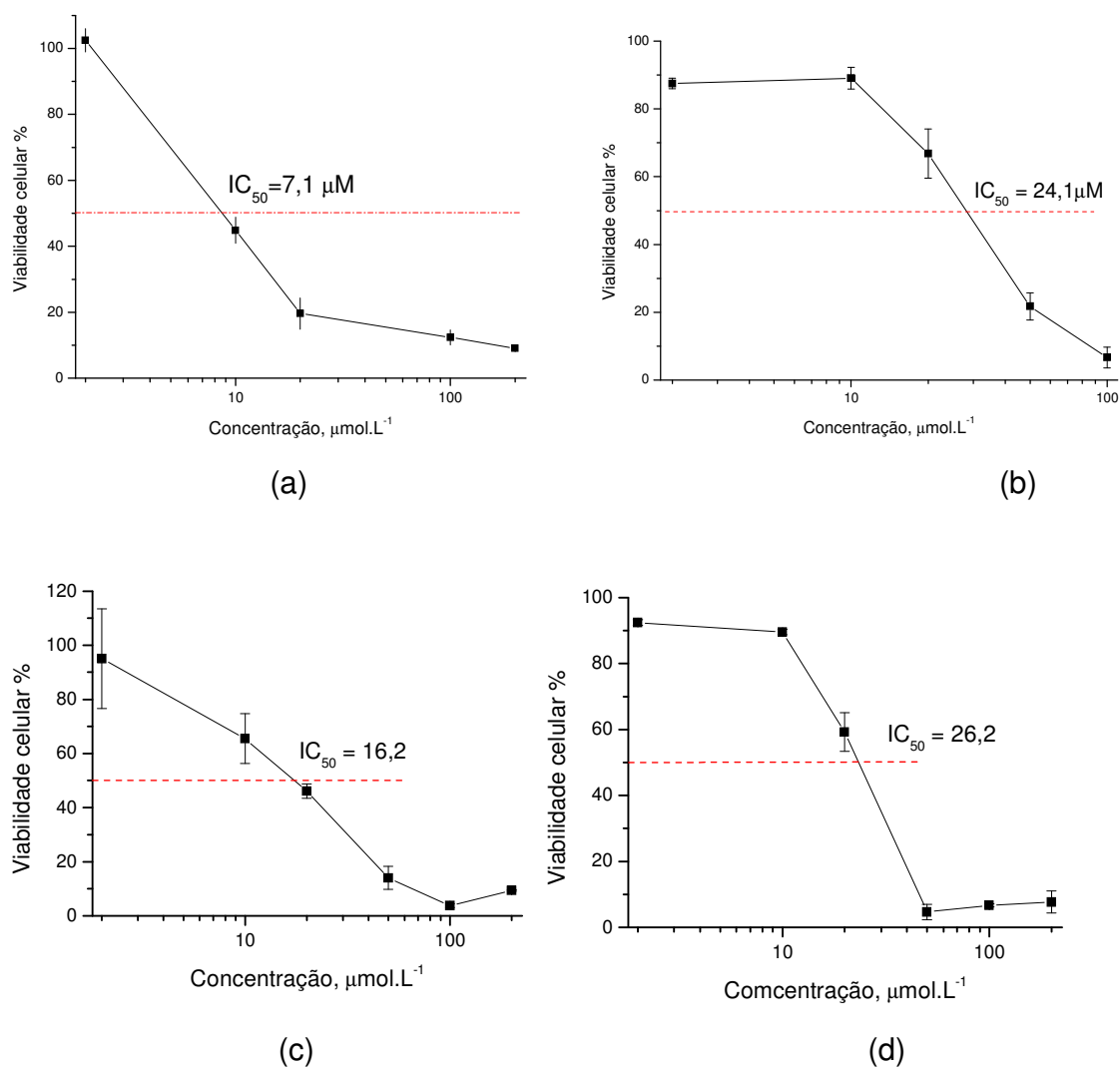
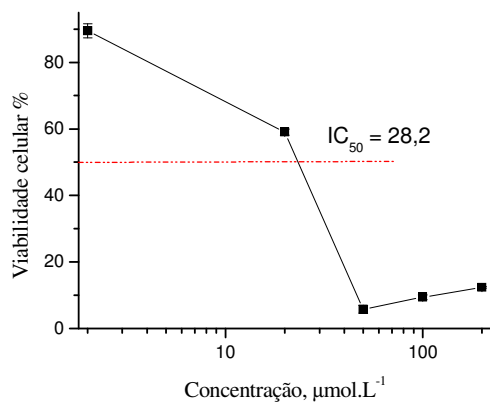
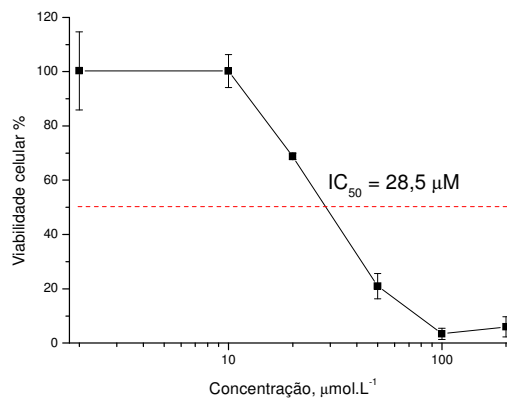


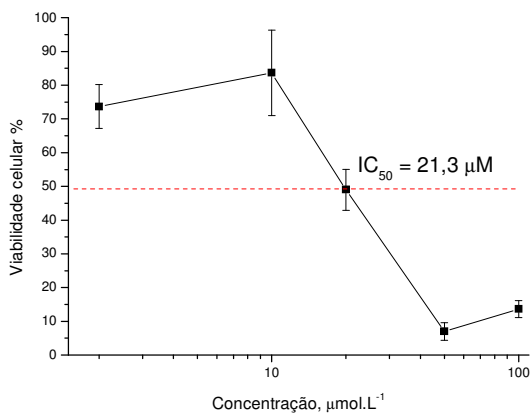
FIGURA 3.38 - Ensaio de MTT para os complexos  $[\text{Ru}(\text{L-Leu})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  (a),  $[\text{Ru}(\text{L-Ser})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  (b),  $[\text{Ru}(\text{L-Lys})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  (c) e  $[\text{Ru}(\text{L-Val})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , (d)  $[\text{Ru}(\text{L-Typ})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , em linhagem de célula tumoral MDA-MB-231, tempo de incubação 48 h.



(a)



(b)



(c)

FIGURA 3.39 - Ensaio de MTT para os complexos (a)  $[\text{Ru}(\text{L-Trp})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , (b)  $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  e (c)  $[\text{Ru}(\text{L-Try})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em linhagem de célula tumoral MDA-MB-231, tempo de incubação 48 h.

---

Para os compostos  $[\text{Ru}(\text{L-Val})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , os aminoácido coordenado ao complexo também apresentam o grupo R apolares porém os valores de  $\text{IC}_{50}$  deram valores mais altos (Figura 3.8d e 3.39a) que os compostos  $[\text{Ru}(\text{L-Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Ru}(\text{L-Leu})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ . Esperava-se que esses valores de  $\text{IC}_{50}$  próximos do composto  $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ . Isso de fato não acontece, dando a entender que outros fatores estão envolvidos além carga e caráter apolar dos complexos. De maneira geral, além da carga, o aminoácido parece ser um dos fatores que melhora a atividade dos compostos, pois o  $\text{IC}_{50}$  do precursor (*cis*- $[\text{RuCl}(\text{dppb})(\text{bipy})]$ ) é de  $131 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , e quando os cloros são substituídos pelo aminoácido esse valor cai para valores menores.

Comparando o valor de  $\text{IC}_{50}$  do composto  $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , com o  $\text{IC}_{50}$  do cisplatina  $87,5 \mu\text{mol.L}^{-1}$ , observa-se que este tem um valor 17,5 vezes menor que o  $\text{IC}_{50}$  do cisplatina, mostrando desta forma uma boa atividade nesse tipo de linhagem de célula tumoral. Em geral, todos os compostos com aminoácidos aqui testados como citotóxico, (Figura 3.40) em células tumorais do tipo mamaria, apresentam boa atividade principalmente o composto  $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  que apresentou um  $\text{IC}_{50}$  menor que os demais compostos (Tabela 3.14).

TABELA 3.14 - Valores de IC<sub>50</sub> dos ensaios de MTT para os complexos com aminoácidos em linhagem de célula tumoral MDA-MB-231, tempo de incubação 48 h.

Composto	IC <sub>50</sub> , μmol.L <sup>-1</sup> (±)
[PtCl <sub>2</sub> (NH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ]	87,5 (12,6)
[RuCl <sub>2</sub> (dppb)(bipy)]	131 (2,1)
[Ru(L-Gly)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (1)	14,5 (0,4)
[Ru(L-Ala)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (2)	28,5 (5,2)
[Ru(L-Ser)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (3)	24,1 (3,6)
[Ru(L-Val)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (4)	26,2 (4,0)
[Ru(L-Leu)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (5)	7,1 (0,6)
[Ru(L-Lys)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (6)	16,2 (1,6)
[Ru(L-Met)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (7)	5,0 (1,5)
[Ru(L-Trp)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (8)	21,3 (2,5)
[Ru(L-Trp)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub> (9)	28,2 (1,5)

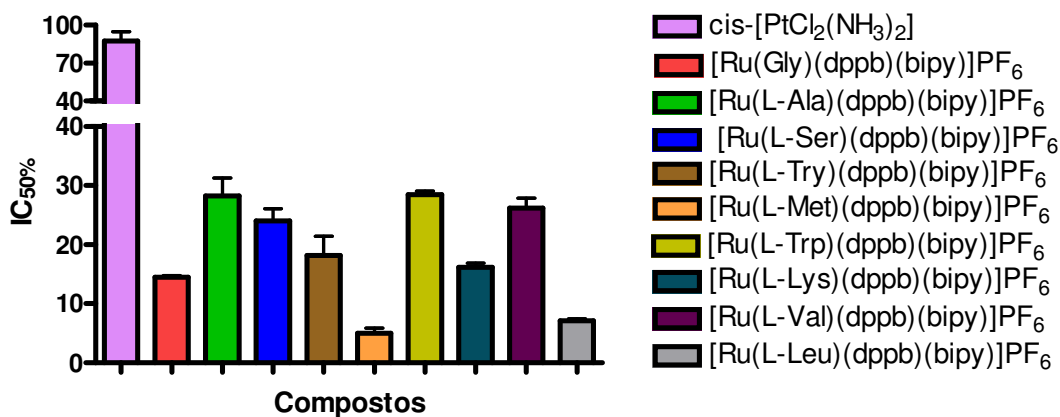


FIGURA 3.40 - Histograma de IC<sub>50</sub> de compostos com aminoácidos.

Em via de comparação de citotoxicidade, podemos fazer uma breve comparação dos compostos de rutênio com aminoácidos com outros compostos sintetizados em nosso laboratório. Os isômeros estruturais do

$[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  (Figura 3.41) são ativos na mesma linhagem de células cancerígenas testadas com complexos de aminoácidos. Esses compostos também são carregados igualmente a os compostos de aminoácidos. Os valores de  $\text{IC}_{50}$  para *ct*- $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , *tc*- $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  e *cc*- $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  são 9,8, 2,5 e 1,9  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente [130]. Compostos com NO como  $[\text{RuCl}_2(\text{NO})(\text{dppp})(\text{py})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{RuCl}_2(\text{NO})(\text{dppp})(\text{mepy})]\text{PF}_6$ ,  $[\text{RuCl}_2(\text{NO})(\text{dppp})(4\text{-phpy})]\text{PF}_6$  [131] (Figura 3.41) são também bastante ativos na mesma linhagem de célula cancerígena com valores de  $\text{IC}_{50}$  de 21, 7,4 e 7,1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectivamente. Para os compostos nitrosilos além da carga, a fosfina também aparenta dar uma grande contribuição para a atividade desses compostos, pois para o precursor ( $\text{RuCl}_3\text{NO}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), o  $\text{IC}_{50}$  é maior que 200  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . O inverso acontece com os compostos de aminoácidos, pois o precursor (*cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ ) apresenta um  $\text{IC}_{50}$  mais alto de que até mesmo o cisplatina, onde este é tem uma redução com a substituição dos cloros pelos aminoácidos.

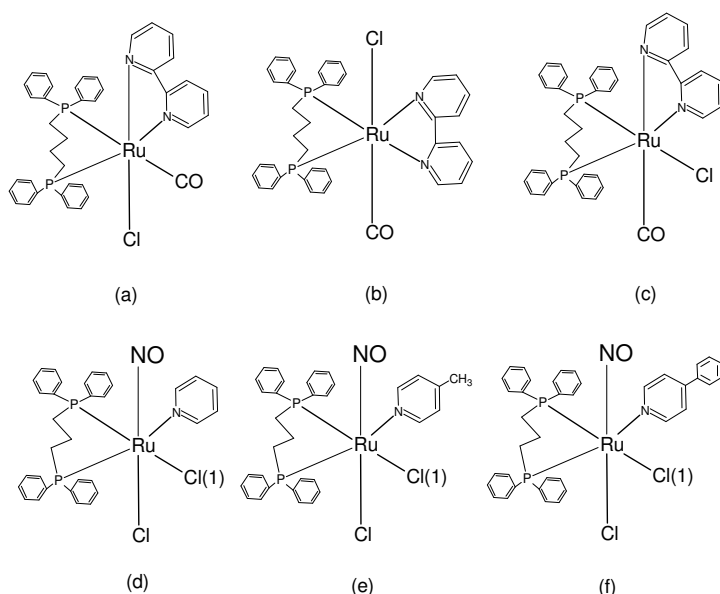


FIGURA 3.41 - Estrutura química para compostos carbonílicos e nitrosilos; a) *ct*- $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  b) *tc*- $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  c) *cc*- $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  d)  $[\text{RuCl}_2(\text{NO})(\text{dppp})(\text{py})]\text{PF}_6$  e)  $[\text{RuCl}_2(\text{NO})(\text{dppp})(\text{mepy})]\text{PF}_6$  f)  $[\text{RuCl}_2(\text{NO})(\text{dppp})(4\text{-phpy})]\text{PF}_6$ .

---

Em se tratando de mecanismo de atuação para os compostos de CO, NO e aminoácidos, tudo indica que se trata de mecanismos semelhantes, pois os cloros dos compostos nitrosilos e carbonílicos não são labéis, e nem os compostos com aminoácidos sofrem hidrólise. Desta forma esses compostos apresentam mecanismo de atuação deferente da cisplatina. Nakabayashi e colaboradores [132] descrevem que compostos de aminoácidos com rutênio podem interagir com o DNA via interações eletrostáticas, ademais estes também podem se intercalar ao DNA via hidrogênio do grupo amino do aminoácido e o oxigênio da guanina através de ligação de hidrogênio. Embora os compostos de aminoácidos tenham valores de IC<sub>50</sub> maiores que os compostos com NO e CO, dentro de uma margem de erro de IC<sub>50</sub>, os valores são próximos. Os compostos com aminoácidos podem ser fármacos em potencial mais promissores do que os com CO e NO, pois os aminoácidos presentes nos complexos podem facilitar o reconhecimento do complexo como um todo pelo DNA, sendo assim menos tóxico.

No estágio de nossos trabalhos com os dados em mãos, ainda não é possível de fato indicar um mecanismo real para os compostos de aminoácidos, necessitando assim de mais estudos, principalmente no que se diz interação dos complexos de aminoácidos com o DNA, topoisomerase II, transferrina, ou alguma outra biomolécula.

## **CAPÍTULO IV- CONCLUSÕES**

---

**CONCLUSÕES**

Os aminoácidos formam complexos de rutênio, estáveis na presença de ligantes fosfínicos(dppb), em que o estado de oxidação 2+ é estabilizado. Compostos desse tipo possuem características de formar diastereoisômeros, o que pode ser verificado por RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  e  $^{13}\text{C}$ . Os deslocamentos químicos de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  para todos os compostos, com exceção do composto  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , são semelhantes. Para, o composto  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  são observados dois dubletos em 38,5 e 45,3 ppm, enquanto que para os demais, estes apresentam quatro dubletos bem intensos em 38,0; 38,40; 42,0; 46,50 ppm. A existência de quatro dubletos para esses compostos sugere uma mistura de diastereoisômeros, o que também é evidenciado mediante os espectros RMN de  $^{13}\text{C}$  dos mesmos, que apresentam dois sinais, entre 190 e 180 ppm. Como são misturas de diastereoisômeros, isto sugere que cada sinal pode está associado a um diastereoisômero. Para o composto  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  é observado no espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  somente um sinal em 185,7 ppm referente ao carbono da carbonila, indicando a não existência de mistura diastereoisômerica, desta forma concordando com o seu espectro de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ . No voltamograma cíclico para todos os compostos é observado um processo de oxidação quasi-reversível de oxidação rutênio(II)/rutênio(III), em aproximadamente 1100 mV. Esse potencial alto pode ser justificado por causa da saída dos cloros e entrada do aminoácido deixando o centro metálico mais deficiente eletronicamente havendo um aumento de 500 mV no potencial, indicando assim que um novo composto foi formado, sendo que para o precursor, este vem a possuir processo redox rutênio(II)/rutênio(III) reversível em 600 mV. Ademais, nestes compostos é observado processo redox próximo de 1300 mV, processo este atribuído ao ligante aminoácido. No espectro IV dos complexos do tipo  $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , tem como principais bandas a serem observadas as dos estiramentos assimétricos  $\text{NH}_2$ , entre 3200 e 3400  $\text{cm}^{-1}$ , uma banda intensa entre 1600 a 1620  $\text{cm}^{-1}$  do  $\nu_{\text{ass}}(\text{CO})$  e uma banda de menor intensidade em 1380  $\text{cm}^{-1}$  atribuídas a estiramento assimétrico e simétrico, bandas estas que estão condizentes com a literatura. Para seus espectros eletrônicos são observadas duas bandas próximos de 290, 415 e 500 nm que são decorrentes de transições de transferência de carga intraligante  $\pi \rightarrow \pi^*$  e rutênio/bipiridina  $d_{(\pi)} \rightarrow \pi^*_{(\text{bipy})}$  para essas duas ultimas. Para as condutimetria dos



compostos de aminoácidos, todos deram dentro da faixa ( $17$  a  $77\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ), indicando assim a razão eletrólito 1:1, mostrando-se coerente com a formulação proposta. Para a análise elementar de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre os valores deram dentro do esperado para as estruturas propostas. A estrutura cristalográfica dos compostos  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  e  $[\text{Ru}(\text{L-Leu})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  foram resolvidas por difração de raios X. As estruturas para ambos mostram-se semelhantes, no que se diz às formas de coordenação dos aminoácidos. Os comprimentos de ligação são também semelhantes. O comprimento da ligação  $\text{Ru-N}_{(\text{Gly})}$ , é de  $2,179$  Å enquanto para a mesma ligação do composto  $[\text{Ru}(\text{L-Leu})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  ligação é da ordem de  $2,193(3)$  Å. A ligação  $\text{Ru-O}_{(\text{Gly})}$  possui um comprimento de ligação de  $2,080(3)$  Å, enquanto para a mesma ligação  $\text{Ru-O}_{(\text{Leu})}$  do composto  $[\text{Ru}(\text{L-Leu})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  é de  $2,086$  Å. A mistura racêmica do composto  $[\text{Ru}(\text{L-Ser})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  foi resolvida por CLAE, usando uma coluna ODS-C18 (5 mm; 250 x 4.6 mm; Shimadzu) usando o método isocrático, tendo como fase móvel metanol/água (57/43) em tampão pH 3,5, com um fluxo de  $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . No cromatograma do composto  $[\text{Ru}(\text{L-Ser})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  foram observados dois picos, com tempos de retenção em 43 e 47 min., mostrando assim que os diastereoisômeros possuem tempos de retenção próximos. O espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  para as frações separadas deram somente dois dubletos cada uma, visto que na mistura diastereoisomérica eram observados quatro dubletos, dando indícios de que os isômeros foram realmente separados. Os espectros eletrônicos dos mesmos mostram-se semelhante, não havendo algo a diferenciar entre eles. Para a voltametria de pulso diferencial dessas frações é observado uma pequena diferença de 30 mV no processo redox rutênio(II)/rutênio(III). Além do mais para os diastereoisômeros separados foram feitas medidas em um espectrofotômetro de dicromismo circular Modelo Jasco 720, determinando assim a configuração absoluta dos diastereoisômeros  $\Delta$ - $[\text{Ru}(\text{L-Ser})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  e  $\Lambda$ - $[\text{Ru}(\text{L-Ser})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ . Nos testes de citotoxicidade, todos os compostos mostraram-se bastante ativos na linhagem de célula tumoral do tipo mamária, dando um destaque maior para o composto **6** com um  $\text{IC}_{50}$  de  $5\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , valor este 17,5 vezes menor que o  $\text{IC}_{50}$  da cisplatina que é de  $87,5\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Então neste trabalho podemos afirmar que todos os compostos de aminoácidos mostram-se fortes agentes citotóxicos na linhagem de célula MD-MDA-231, em comparação com a cisplatina.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1 DENIS, L. K.; ANTONIO, S. F. "HARRISON: Medicina interna", Rio de Janeiro, McGraw-Hill, 2006, 1565p.
- 2 CELCIL, R. L. "Tratado de medicina interna", KEMPER, A. (Trad.) 22 ed., Rio de Janeiro: Elsevier, 2005, 1225p.
- 3 LEHNING, A. L.; NELSON, D. L. "Princípios de bioquímica", SIMÕES, A. A. (Trad.) 3ª. ed., São Paulo: SARVIER, 1995, 839p.
- 4 Ministério da Saúde; Mensagem aos médicos. Câncer Fundamentos, Secretaria de Assistência Médica-Divisão Nacional de Câncer; Brasília, 1971, 47p.
- 5 ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L. "Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: Uma introdução", *Química Nova*, **28**(1): 118-129, 2005.
- 6 [http://pt.wikipedia.org/wiki/Anticorpo\\_monoclonal](http://pt.wikipedia.org/wiki/Anticorpo_monoclonal) acessada em 19 de junho de 2009.
- 7 [http://www.receptabiopharma.com.br/port/produtos/anticorpos\\_monoclonais/index.htm](http://www.receptabiopharma.com.br/port/produtos/anticorpos_monoclonais/index.htm) acessada em 19 de junho de 2009..
- 8 [http://www.roche.com.br/TherapeuticAreas/Oncologia/linfoma/tratamento/anticorpos\\_monoclonais\\_PT.htm](http://www.roche.com.br/TherapeuticAreas/Oncologia/linfoma/tratamento/anticorpos_monoclonais_PT.htm) acessada em 19 de junho de 2009.
- 9 DEL DEBBIO, C. B.; TONON, L. M.; SECOLI, S. R. "Terapia com anticorpos monoclonais: uma revisão de literatura, *Revista Gaúcha de Enfermagem*, **28**(1):133-42, 2007.
- 10 STONE, D. L.; SMITH, D. K.; WHITWOOD, A. C. "Copper amino-acid complexes—towards encapsulated metal centers", *Polyhedron*, **23**: 1709–1717, 2004.
- 11 FARRELL, N. "Biomedical uses and applications of inorganic chemistry. A overview", *Coordination Chemistry Reviews*, **232**: 1-4, 2002.
- 12 WILKINS, P. C; WILKINS, R. G. "Inorganic chemistry in biology". Oxford, New York, 2002, 100p.

- 13 MOREIRA, R. C .R.; COSTA, G. C.; LOPES, T. C.; BEZERRA, J. L.; ROSANE, GUERRA, N. M. "Efeito leishmanicida in vitro de *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl (Verbenaceae)", *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, **17**(1): 59-63, 2007.
- 14 ORVIG, C.; ABRAMS, M. J. "Medicinal Inorganic Chemistry: Introduction", *Chemical Reviews*, **99**(9): 2201-2204, 1999.
- 15 <http://www.chemcases.com/cisplat/> acessada em 9 de fevereiro de 2009.
- 16 PAULA, W. X; SINISTERRA, R. D.; SANTOS, R. A. S.; BERALDO, H. "A química inorgânica no planejamento de fármacos usado no controle de hipertensão", *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola*, **6**: 19-26, 2005.
- 17 THOMPSON, K. H.; ORVIG, C. "Boon and bane of metal ions in medicine", *Science*, **300**: 936-939, 2003.
- 18 JOLLIFFE, D M. "A history of the use of arsenicals in man", *Journal of the Royal Society of Medicine*, **86**: 287-289, 1993.
- 19 GIELEN, M.; TIEKINK, E. R.T. "Metallotherapeutic drugs and metal-based diagnostic agents: The use of metals in medicine", U.S.A., John Wiley & Sons Inc, 2005, 644p.
- 20 CHEN, G; SHI, X.; TANG, W; XIONG, S.; PAUI, P.; NAOE, T.; KITAMURA, K.; MILLER, W.; SAMUEL, W. "Use of Arsenic Trioxide (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) in the Treatment of Acute Promyelocytic Leukemia (APL): I. As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Exerts Dose-Dependent Dual Effects on APL Cells", *Blood*, **89**(9): 3345-3353, 1997.
- 21 TALLMAN, M. S. "Arsenic trioxide: its role in acute promyelocytic leukemia and potential in other hematologic malignancies", *Blood Reviews*, **15**: 133-142, 2001.
- 22 WANG, Z. "Arsenic compounds as anticancer agents", *Câncer Chemother Pharmacol*, **48**(S1): S72-S76, 2001.
- 23 MEYER, T. J.; MCCLEVERTY, J. A. "Comprehensive Coordination Chemistry II V 1, 2<sup>nd</sup> Ed. V.9, *from biology to nanotechnology*". U.S.A., Elsevier, 2003, 819p.
- 24 FARRELL, N. P. "Uses of inorganic chemistry in medicine", *Royal Society of Chemistry, Cambridge*, 1999, 159p.
- 25 BIRCH, N. J. "Inorganic pharmacology of lithium", *Chemical Reviews*, **99**: 2659-2682, 1999.

- 
- 26 BERRIDGE, M. J. "Neural and developmental actions of lithium: A unifying hypothesis", *Cell*, **59**: 411-419, 1989.
  - 27 QUEIROZ, S. L.; BATISTA, A. A. "Complexos fosfínicos e suas aplicações na medicina". *Química nova*, **19**(6): 651-659, 1996.
  - 28 NAVARO, M.; CLARA, H.; IBIS, C.; PAOLA, H.; MERCEDES, F.; ANIBAL, S.; EDGAR, M. "Synthesis and characterization of [Au(dppz)<sub>2</sub>]Cl<sub>3</sub>. DNA interaction studies and biological activity against *Leishmania (L) mexicana*", *Journal of Inorganic Biochemistry*, **101**: 111-116, 2007.
  - 29 CORBI, P. P.; CAGNIN, F.; SABEH, L. P.; MASSABNI, A. C. COSTA-NETO, C. M. "Synthesis, spectroscopic characterization and biological analysis of a new palladium(II) complex with methionine sulfoxide", *Spectrochimica Acta Part A*, **66**: 1171-1174, 2007.
  - 30 JIN, V. X.; RANFORD, J. D. "Complexes of platinum(II) or palladium(II) with 1,10-phenanthroline and amino acids", *Inorganica Chimica Acta*, **304**: 38-44, 2000.
  - 31 BERMEJO, E.; CARBALLO, R.; CASTINEIRAS, A.; DOMÍNGUEZ, R. "Synthesis, characteristics and biological of complexes of Zn<sup>II</sup>, Cd<sup>II</sup>, Hg<sup>II</sup>, Pd<sup>II</sup>, and Pt<sup>II</sup> with 2-acetylpyridine 4-methylthiosemicarbazone", *European Journal of Inorganic Chemistry*, **6**: 965-973, 1999.
  - 32 QUIROGA, A. G.; PÉREZ, J. M.; LÓPEZ-SOLERA, I.; MONTERO, E. I.; MASAGUER, J. R.; ALONSO, C.; NAVARRO-RANNINGER, C. "Binuclear chloro-bridged palladated and platinated complexes derived from *p*-isopropylbenzaldehyde thiosemicarbazone with cytotoxicity against cisplatin resistant tumor cell lines", *Journal of Inorganic Biochemistry*, **69**: 275-281, 1998.
  - 33 DREHER, S. Síntese e aplicação de paladaciclos contendo o ligante 1,2-bis(difenilfosfina)etano como agentes antitumorais, 2004, 147f. Dissertação (Mestrado em biotecnologia) Universidade Mogi das Cruzes, 2004.
  - 34 SOUZA, A. R.; NAJJAR, R.; GLIKMANAS, S. "Water-soluble rhodium(II) carboxylate adducts: cytotoxicity of the new compounds", *Journal of Inorganic Biochemistry*, **64**: 1-5, 1996
  - 35 WONG, E.; GIANDOMENICO, C. M. "Current status of platinum-based antitumor drugs", *Chemical Reviews*, **99**: 2451-2466, 1999.

- 
- 36 MESTRONI, G.; ZASSINOVICH, G.; ALESSIO, E.; BONTEMPI, A. "Chemical properties of rare platinum metal complexes having antitumor activity", *Inorganica Chimica Acta*, **137**: 63-67, 1987.
- 37 RUSSO, N.; TOSCANO, M.; RIZOPOULOS, A. L.; SIGALAS, M. P. "Comparative DFT and HF-MP2 study on structure, relative stabilities and rotational barriers of end-on ( $n^1$ ) and side-on ( $n^2$ )  $(\text{PH}_3)_2\text{Pd HPPH}$  model complexes", *Inorganica Chimica Acta*, **273**: 72-75, 1998.
- 38 SHARMA, V.; PIWNICA-WORMS, D. "Metal complexes for therapy and diagnosis of drug resistance", *Chemical Reviews*, **99**: 2545-2560, 1999.
- 39 SÁNCHEZ-DELGADO, R. A.; NAVARRO, M.; LAZARDI, K.; ATENCIO, R.; CAPPARELLI, M.; VARGAS, F. "Toward a novel metal based chemotherapy against tropical diseases 4. Synthesis and characterization of new metal-clotrimazole complexes and evaluation of their activity against *Trypanosoma crud*", *Inorganic Chimica Acta*, **275-276**: 528-540, 1998.
- 40 MCNEILL, J. H.; YUEN, V. G.; DAI, S.; ORVIG, C. "Increased potency of vanadium using organic ligands", *Molecular and Cellular Biochemistry*, **153**:175-180, 1995.
- 41 PABLA, N.; MARISOL, V.; BEATRIZ, S.; PARAJO, C.; ENRIQUE, J. B. "Vanadium(V) complexes with salicylaldehyde semicarbazone derivatives bearing in vitro anti-tumor activity toward kidney tumor cells (TK-10): crystal structure of  $[\text{V}^{\text{V}}\text{O}_2(5\text{-bromosalicylaldehyde semicarbazone})]$ ", *Journal of Inorganic Biochemistry*, **99**: 443-451, 2005.
- 42 JULIO, B.; LUCÍA G.; ISABEL, T.; GABRIEL, A.; MARIBEL, N. "Design of vanadium mixed-ligand complexes as potential anti-protozoa agents", *Journal of Inorganic Biochemistry*, **103**: 609-616, 2008.
- 43 KEPPLER, B. K.; FRIESEN, C.; MORITZ, H. G.; VONGERICHTEN, E.; VOGEL, E. "Tumor-inhibiting bis( $\beta$ -diketonato) metal complexes. budotitane, cis-diethoxybis(1-phenylbutane-1,3-dionato)titanium(IV)", *Structure and Bonding*, **78**: 97-127, 1991.
- 44 KOEPF-MAIER, P.; KOPFS, H. "Non-platinum-group metal antitumor agents: history, current status, and perspectives", *Chemical Reviews*, **87**: 1137-1152, 1987.

- 
- 45 SUN, H.; LI, H.; WEIR, R. A.; SADLER, P. J. "The first specific Ti<sup>IV</sup>-protein complexes: Potential relevance to anticancer activity of titanocenes", *Angewandte Chemie International Edition*, **37**: 1577-1597, 1998.
  - 46 MENDES, I. C.; SOARES, M. A.; SANTOS, R. G.; PINHEIRO, C.; BERALDO, H. "Gallium(III) complexes of 2-pyridineformamide thiosemicarbazones: Cytotoxic activity against malignant glioblastoma", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **44**: 1870–1877, 2009.
  - 47 CHITAMBAR, C. A.; ZIVKOVIC, Z. "Inhibition of hemoglobin production by transferrin-gallium", *Blood*, **69**: 144-149, 1987.
  - 48 COLLERY, P.; KEPPLER, B.; MADOULET, C.; DESOIZE, B. "Gallium in cancer treatment", *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, **42**: 283–296, 2002.
  - 49 HALL, I. H.; LACKEY, C. B.; KISTLER, T. D.; DURHAM, R. W. "Cytotoxicity of copper and cobalt complexes of furfural semicarbazone and thiosemicarbazone derivatives in murine and human cell lines, *Pharmazie*", **55**: 937-941, 2000.
  - 50 HALL, I. H.; BASTOWK, F.; WARREN, A. E.; BARNES, C. R. BOUET, G. M. "Cytotoxicity of cobalt complexes of furan oximes in murine and human tissue-cultured cell lines", *Appl. organometallic Chemistry*, **13**(11): 819-828 1999.
  - 51 JAYARAJU, D., GOPAL, Y. N. V.; KONDAPI, A. K. "Topoisomerase II is a cellular target for antiproliferative cobalt salicylaldehyde complex", *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **369**: 68-77, 1999.
  - 52 CLARKE, M. J. "Ruthenium metallopharmaceuticals", *Coordination Chemistry Reviews*, **232**: 69-93, 2002.
  - 53 FONTES, A. PAULA, S.; CÉSAR, E. T.; BERALDO, H. "A química inorgânica na terapia do câncer", *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola*, **6**: 13-18, 2005.
  - 54 ROSETTE, M. R. "Bioinorganic Chemistry: A Short Course", John Wiley & Sons, Inc., 2002, 670p.
  - 55 BRABEC, V.; NOVÁKOVÁ, O. "DNA binding mode of ruthenium complexes and relationship to tumor cell toxicity", *Drug Resistance Updates*, **9**: 111-122, 2006.
  - 56 DIK-LUNG, M.; CHI-MING, C.; FUNG-MING, S.; MENGSI, Y.; KWOK-YIN, W. "DNA Binding and Cytotoxicity of Ruthenium(II) and Rhenium(I) Complexes of 2-Amino-4-phenylamino-6-(2-pyridyl)-1,3,5-triazine", *Inorganic Chemistry*, **46**: 740-749, 2007.

- 
- 57 ALLARDYCE, C. S.; DYSON, P. J.; ELLIS, D. J.; SALTER, P. A.; SCOPELLITI, R. "Synthesis and characterisation of some water soluble ruthenium(II)/arene complexes and an investigation of their antibiotic and antiviral properties", *Journal of Organometallic Chemistry*, **668**: 35-42, 2003.
- 58 SMITH, C. A.; SUTHERLAND-SMITH, A. J.; KEPPLER, B. K.; KRATZ, F.; BAKER, E. N.; B. KEPPLER, H. "Binding of ruthenium(III) anti-tumor drugs to human lactoferrin probed by high resolution X-ray crystallographic structure", *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, **1**: 424-431, 1996.
- 59 CLARKE, M. J.; BITLER, S.; RENNERT, D.; BUCHBINDER, M.; KELMAN, A. D. "Reduction and subsequent binding of ruthenium ions catalyzed by subcellular components", *Journal of Inorganic Biochemistry*, **12**: 79-209, 1980.
- 60 FRANCA, D.; CIAMPA, J.; EMERSON, J.; UMANS, R. S.; CLARKE, M. J. "Effects of hypoxia and transferrin on toxicity and DNA binding of ruthenium antitumor agents in hela cells", *Metal-Based Drugs*, **3**: 197, 1996.
- 61 MESTRONI, G.; ALESSIO, E.; SAVA, G.; PACOR, S.; COLUCCIA, M.; BOCCARELLI, A. "Water-soluble ruthenium(III)-dimethyl sulfoxide complexes: chemical behaviour and pharmaceutical properties", *Metal Drugs*, **1**(1): 41-63, 1993.
- 62 CLARKE, M. J.; ZHU, F.; FRASCA, D. R. "Non-platinum chemotherapeutic metallopharmaceuticals", *Chemical Reviews*, **99**(9): 2511-2533, 1999.
- 63 MORRIS, R. E.; AIRD, R. E.; MURDOCH, P. del S.; CHEN, H.; CUMMINGS, J.; HUGHES, N. D. "Inhibition of cancer cell growth by ruthenium(II) arene complexes", *Journal of Medicinal Chemistry*, **44**(22): 3616-3621, 2001.
- 64 NOVÁKOVÁ, O.; KASPÁRKOVÁ, J.; VRÁNA, O.; VLIET, P. M. V.; REEDIJK, J.; BRABEC, V. "Correlation between cytotoxicity and DNA binding of polypyridyl, ruthenium complexes", *Biochemistry*, **34**: 12369-12378, 1995.
- 65 NASCIMENTO, F. B.; POELHSITZ, G. V.; PAVAN, F. R.; SATO, D. N.; LEITE, C. Q. F.; ARAÚJO, H. S. S.; ELLENA, J.; CASTELLANO, E. E.; DEFLON, V. M.; BATISTA, A. A. "Synthesis, characterization, X-ray structure and in vitro antimycobacterial and antitumoral activities of Ru(II) phosphine/diimine complexes containing the "SpymMe<sub>2</sub>" ligand, SpymMe<sub>2</sub>=4,6-dimethyl-2-mercaptopyrimidine", *Journal of Inorganic Biochemistry*, **102**: 1783-1789, 2008.



- 
- 66 KARKI, S. S.; THOTA, S.; DARJ, S. Y.; BALZARINI, J.; CLERCQ, E. D. "Synthesis, anticancer, and cytotoxic activities of some mononuclear Ru(II) compounds", *Bioorganic & medicinal Chemistry*, **15**: 6632-6641, 2007.
- 67 GRAMINHA, A. E.; RODRIGUES, C.; BATISTA, A. A.; TEIXEIRA, L. R. ; FAGUNDES, E. S.; BERALDO, H. "Ruthenium(II) complexes of 2-benzoylpyridine-derived thiosemicarbazones, with cytotoxic activity against human tumor cell lines", *Spectrochimica Acta Part A*, **69**: 1073–1076, 2008.
- 68 MURAD, F. "Discovery of some of the biological effects of nitric oxide and its role in cell Signaling (Nobel Lecture)", *Angewandte Chemie International Edition*, **38**: 1856-1868, 1999.
- 69 ZICHE, M.; MORBIDELLI, L.; CHOUDHURI, R.; ZHANG, H.; DONNINI, S.; GRANGER, H. J.; BICKNELL, R. "Nitric oxide synthase lies downstream from vascular endothelial growth factor–induced but not basic fibroblast growth factor–induced angiogenesis", *Journal Clinical Investigation*, **99**: 2625-2634, 1997.
- 70 LI, W.; PARIGI, G.; FRAGAI, M.; LUCHINAT, C.; MEADE, T. J. "Mechanistic studies of a calcium-dependent MRI contrast agent", *Inorganic Chemistry*, **41**(15): 4018-4024, 2002.
- 71 SERLI, B.; ZANGRANDO, E.; GIANFERRARA, T.; YELLOWLEES, L.; ALESSIO, E. "Coordination and release of NO by ruthenium-dimethylsulfoxide complexes-implications for antimetastases activity", *Coordination Chemistry Reviews*, **245**: 73–83, 2003.
- 72 POELHSITZ, G. V.; BOGADO, A. L.; ARAUJO, M. P.; SELISTRE-de-ARAÚJO, H. S.; ELLENA, J.; CASTELLANO, E. E.; BATISTA, A. A. "Synthesis, characterization, X-ray structure and preliminary in vitro antitumor activity of the nitrosyl complex *fac*-[RuCl<sub>3</sub>(NO)(dppf)], dppf = 1,10-bis(diphenylphosphine)ferrocene", *Polyhedron*, **26**: 4707–4712, 2007.
- 73 KARIDI, K.; GAROUFIS, A.; TSIPIS, A.; HADJILIADIS, N.; DULK, H. D.; REEDIJK, J. "Synthesis, characterization, *in vitro* antitumor activity, DNA-binding properties and electronic structure (DFT) of the new complex *cis*-(Cl,Cl)[Ru<sup>II</sup>Cl<sub>2</sub>(NO<sup>+</sup>)(terpy)]Cl", *Dalton Transaction*, 1176–1187, 2005.
- 74 KEPPLER, B. K. "Metal complexes in cancer chemotherapy". VCH, Weinheim, Germany, 1993.

- 
- 75 CLAIRE, S. A.; PAUL, J. D. "Ruthenium in medicine: current clinical uses and future prospects". *Platinum Metals Reviews*, **45**(2): 62-69, 2001.
- 76 REED, M. I.; JAMES, J. C.; RYTTING, J. H. "Sites and thermodynamic quantities associated with proton and metal ion interaction with ribonucleic acid, deoxyribonucleic acid, and their constituent bases, nucleosides, and nucleotides", *Chemical Reviews*, **71**(5): 439-481, 1971.
- 77 MAMDOUH, S. M.; MOHAMED, F. A.; AHMED, M. R.; GHADA, M. E. "Synthesis and characterization of some pyrimidine, purine, amino acid and mixed ligand complexes" *Spectrochimica Acta Part A*, **69**: 230-238, 2008.
- 78 KISE, K. J.; BOWLER, B. E. "A Ruthenium(II) *tris*(bipyridyl) amino acid: synthesis and direct incorporation into an  $\alpha$ -helical peptide by solid-phase synthesis", *Inorganic Chemistry*, **41**: 379-386, 2002.
- 79 SHELDRIK, W. S.; EXNER, R. "Preparation and structural characterization of ruthenium(II) complexes of the peptides diglycine and triglycine", *Inorganica Chimica Acta*, **184**: 119-125, 1991.
- 80 SHINODA, S.; INOUE, N.; TAKITA, K.; SAITO, Y. "Synthesis of RuCl(amino acido)(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, a Catalyst for Oxidative Dehydrogenation of Glycerin", *Inorganica Chimica Acta*, **65**: L21-L23, 1982.
- 81 ROBERT, S. V.; PETER A. W. "Chiral metal complexes 3\*. The pH-controlled equilibrium of diastereoisomeric pairs of ternary *cis*-Ru(II)-diimine complexes with L-Glutamic acid", *Inorganica Chimica Acta*, **58**: 101-105, 1982.
- 82 ROBERT, S. V.; PETER A. W. "Chiral metal complexes 2\*. Light-catalysed diastereoisomeric equilibration in aqueous solutions of *cis*-[Ru(phen)<sub>2</sub>(L-Serine)]<sup>+</sup> and its 2,2'-bipyridyl analogue", *Inorganica Chimica Acta*, **52**: 69-72, 1981.
- 83 ROBERT, S. V.; PETER A. W. "Chiral metal complexes.1. Photochemical inversion in ternary Ru(II) complexes of diimines and L-Tryptophane", *Inorganica Chimica Acta*, **51**: 61-65, 1981.
- 84 ROBERT, S. V.; PETER A. W. "Chiral metal complexes. 7\*. A comparison of the structures of the two diastereoisomeric forms of [Ru(bipy)<sub>2</sub>(L-Alanine)]ClO<sub>4</sub>.0,5H<sub>2</sub>O as determined by single crystal X-ray diffraction", *Inorganica Chimica Acta*, **72**: 253-261, 1983.
- 85 TERENCE J. G.; PETER A. W. "Chiral metal complexes. 5. Sources of chiral discrimination in aqueous solutions of the complexes  $\Delta, \Lambda$ -[Ru(diimine)<sub>2</sub>(L-

- Aspartate)] and their conjugate acids”, *Inorganica Chimica Acta*, **63**: 133-140, 1982.
- 86 STANILA, A.; MARCU, A.; RUSUH, D.; RUSU, M.; DAVID, L. “Spectroscopic studies of some copper(II) complexes with amino acids”, *Journal of Molecular Structure*, **834–836**: 364-368, 2007.
- 87 VOET, D.; VOET, J. G.; PRATT, C. W. “Fundamentos de Bioquímica” NETO, A. G. F. et. al (Trad.). Artmed, Porto Alegre, 2002. 931p.
- 88 HOLME, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; CLARKE, N. D. “Bioquímica. 5<sup>a</sup>.ed”, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2004, 1059p.
- 89 SOLOMONS, T. W. “Fundamentals of Organic Chemistry V. 2 Fifth Edition”, New York, John Wiley & Sons, 1997.
- 90 VALLE, E. M. A.; DO NASCIMENTO, F. B.; FERREIRA, A. G.; BATISTA, A. A.; MONTEIRO, M. C. R.; MACHADO, S. P.; ELLENA, J.; CASTELLANO, E. E.; AZEVEDO, E. R. “Sobre uma degenerescência acidental nos deslocamentos químicos de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  em complexos difosfínicos de rutênio”, *Química Nova*, **31**(4): 807-812, 2008.
- 91 FRANCO, D. W. “Ruthenium ammine complexes of group V donor ligands”, *Coordination Chemistry Reviews*, **119**: 199-225, 1992.
- 92 PORTERFIELD, W. W. “Inorganic Chemistry, A Unified Approach 2<sup>th</sup>”, San Diego, Academic Press, Inc, 1993, 921p
- 93 MEYER, T. J.; MCCLEVERTY, J. A. “Comprehensive Coordination Chemistry II 2<sup>nd</sup> Ed. V.1, *from biology to nanotechnology*”, U.S.A., Elsevier, 2003, 819p.
- 94 KRASNA, A. I. “Acridines, deazaflavins, and *tris*(2,2’-bipyridine)ruthenium as catalysts for photoproduction of hydrogen from organic compounds”, *Photochemistry and Photobiology*, **31**: 75-82, 1980.
- 95 CUNHA, C. J.; DODSWORTH, E. S.; MONTEIRO, M. A.; LEVER, A. B. P. “Bis(2,2’-bipyridine)(1,2-diimino-9,10-anthraquinone)ruthenium(II) derivatives: A ZINDO analysis of a redox series involving coupled proton and electron transfers”, *Inorganic Chemistry*, **38**(23): 5399-5409, 1999.
- 96 YANG, X. J.; JANIAC, C.; HEINZE J.; DREPPER, F.; MAYER, P.; Holger; PIOTROWSKI, P. K. “Heteroleptic 5,5’-disubstituted-2,2’-bipyridine complexes of

- ruthenium(II): spectral, electrochemical, and structural investigations”, *Inorganica Chimica Acta*, **318**: 103–116, 2001.
- 97 SHINODA, S.; INOUE, N.; KEIJI, T. “Synthesis of RuCl(amino acido)(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, a catalyst for oxidative dehydrogenation of glycerin”, *Inorgânica Chimica Acta*, **65**: L21-L23, 1982.
- 98 BREITMAIER, E.; HAAS, G.; VOELTER, W. “Atlas of carbon-13 NMR data V. 2”, London, Heyden, 1979, 3014p.
- 99 SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W. “Inorganic Chemistry”, New York; W. H. Freeman, 1990, 706p
- 100 YANG, X. J.; JANIÁK, C.; HEINZE, J.; DREPPER, F.; MAYER, P.; PIOTROWSKI, H.; KLUFERS, P. “Heteroleptic 5,5'-disubstituted-2,2'-bipyridine complexes of ruthenium(II): spectral, electrochemical, and structural investigations”, *Inorgânica Chimica Acta*, **318**: 103–116, 2001.
- 101 PEARSON, P.; BOND, A. M.; Deacon, G. B.; FORSYTH, C.; SPICCIA, L. “Synthesis and characterisation of bis(2,20-bipyridine)-(4-carboxy-40-(pyrid-2-ylmethylamido)2,20-bipyridine)-ruthenium(II) di(hexafluorophosphate) Comparison of spectroelectrochemical properties with related complexes”, *Inorganica Chimica Acta*, **361**: 601–612, 2008.
- 102 SEDDON, E. A.; SEDDON, K. R. “The chemistry of ruthenium”, New York, ELSEVIER, 1984, 600p.
- 103 VALLE, E. M. A. “Cinética da interação de n-heterocíclicos com o cis-[RuCl<sub>2</sub>(dppb)(bipy)]” (dppb=1,4-bis(difenilfosfina)butano, bipy=2,2'-bipiridina)”, 2005. 66f. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica) Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, 2001.
- 104 TOMA, H. E.; SANTOS, P. S.; BOLAÑOS, A. “Electronic spectra and resonance raman behavior of dichlorobis(pyridine)bis(triphenylphosphine)ruthenium(II)”, *Journal of Chemical Research*, (**S**): 124-125, 1988.
- 105 BARBOSA, L. C. A. “Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos”, UFV, Viçosa, 2007, 189p.
- 106 SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. “Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 3 ed.”, Guanabara: Rio de Janeiro, 1987, 299p.

- 
- 107 MELNIKOV, P.; CORBI, P. P.; AGUILA, C. D.; ZACHARIAS, M. A.; CAVICCHIOLI, M.; MASSABNI, A. C. "Iron(II) djenkolate: synthesis and properties", *Journal Alloys and Compounds*, **307**: 179-183, 2000.
- 108 CORBI, P. P.; MELNIKOV, P.; MASSABNI, A. C. "A solid nickel(II) complex with methionine sulfoxide", *Journal Alloys and Compounds*, **308**: 153-157, 2000.
- 109 NAKAMOTO, K.; MORIMOTO, Y.; MARTELL, A. E. "Infrared Spectra of aqueous solutions. Metal chelate compounds of amino acids", *Journal of American Chemical Society*, **83**: 4528-4532, 1961.
- 110 NAKAMOTO, K. "Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds 4 ed.", New York: John Wiley, 1978, 448p.
- 111 REFAT, M. S.; EL-KORASHY, S. A.; AHMED, S. A. "Preparation, structural characterization and biological evaluation of L-tyrosinate metal ion complexes", *Journal of Molecular Structure*, **881**: 28-45, 2008.
- 112 KORBÉLY, B.; KISS, J.T.; HERNADI, K.; PÁLINKÓ, I. "Amino acids and their Cu complexes covalently grafted onto a polystyrene resin—A vibrational spectroscopic study" *Journal of Molecular Structure*, **834–836**: 345–348, 2007.
- 113 ZAMPIERI, R. C. L. "Nitrosilo-complexos de rutênio contendo bifosfinas e aminoácidos em suas estruturas", São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química-UFSCar, 2001. Dissertação(Mestrado em Química Inorgânica), 103p.
- 114 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 (Mestrado em Química Inorgânica), 60p.
- 115 OGURA, K.; KOBAYASHI, M.; MIHO, Y. "Electrochemical and in situ FTIR studies on the absorption and oxidation of glycine and lysine in alkaline medium", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **449**: 101-109, 1998.
- 116 SHEPHERD, R. E. "Chromatographic and related electrophoretic methods in the separation of transition metal complexes or their ligands", *Coordination Chemistry Reviews*, **247**: 147–184, 2003.
- 117 FLETCHER, N. C.; NIEUWENHUYZEN, M.; RAINEY, S. "The isolation and purification of tris-2,2-bipyridine complexes of ruthenium(II) containing unsymmetrical ligands" *Journal of the Chemical Society, Dalton Transaction*, 2641–2648, 2001.

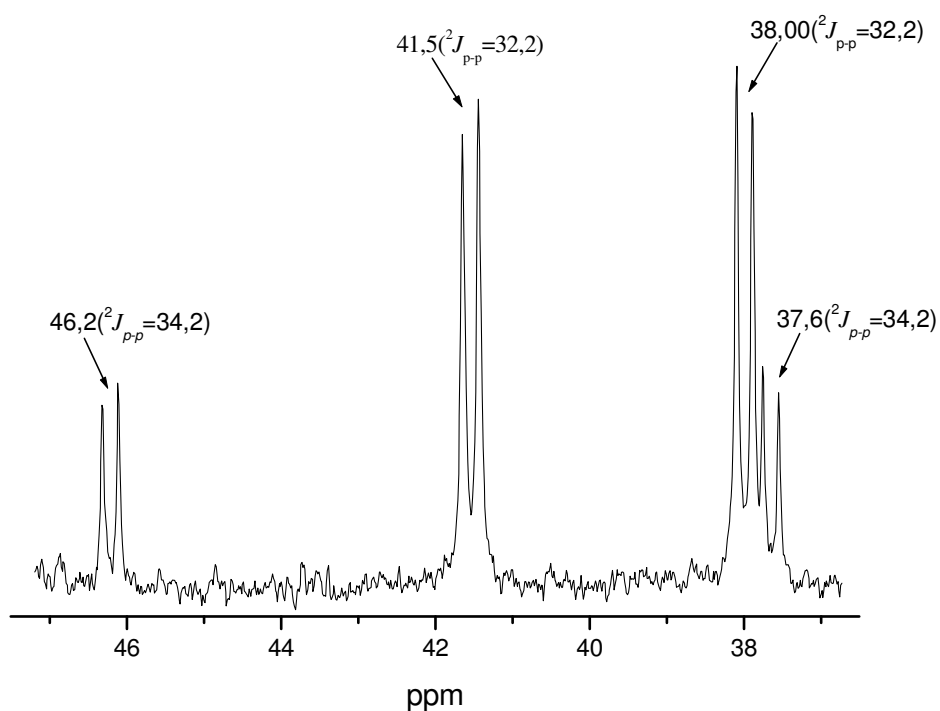
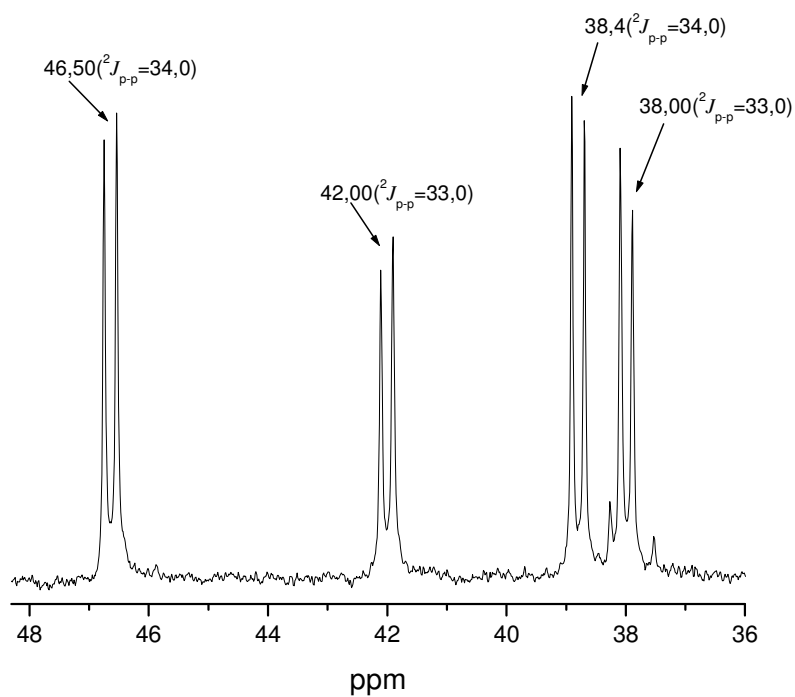
- 
- 118 ALDRICH-WRIGHT, J. R.; VAGG, R. S.; WILLIAMS, P. A. "HPLC separation of diastereomeric metal complexes of the form  $\Delta,\Lambda$ -[Ru(diimine)<sub>2</sub>(S)-aminoacidate]", *Australian Journal Chemistry*, **56**: 1193-1200, 2003.
- 119 SNYDER, L. R.; KIRKLAND J. J. "Introduction to modern liquid chromatography", New York, John Wiley & Sons, 1979, 350p.
- 120 SHELDRIK, W. S.; EXNER, R. "Synthesis and structural characterization of ruthenium(II) complexes of histidine and methionine derivatives", *Inorganica Chimica Acta*, **195**: 1-9, 1992.
- 121 QUEIROZ, S. L.; BATISTA, A., A.; OLIVA, G.; GAMBARELLA, M. T. P.; SANTOS, R. H. A.; MAcFARLANE, K. S.; RETTIG, S. J.; JAMES, B. R. "The reactivity of five-coordinate Ru (II) ( 1,4-bis (diphenylphosphino) butane) complexes with the N-donor ligands: ammonia, pyridine, 4-substituted pyridines, 2,2'-bipyridine, bis( o-pyridyl)amine, 1,10-phenanthroline, 4,7-diphenylphenanthroline and ethylenediamine", *Inorganica Chimica Acta*, **267**: 209-221, 1998.
- 122 MAJUMDER, K.; BUTCHER, R. J.; BHATTACHARYA, S. "Chemistry of some amino acid complexes of ruthenium. synthesis, characterization, and DNA binding properties", *Inorganic Chemistry*, **41**: 4605-4609, 2002.
- 123 SHELDRIK, W. S.; EXNER, R. "Reaction of [RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] with  $\alpha$ -amino acids. Synthesis and X-ray structural characterization of the Schiff base complexes {Ru[(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C:NCH(R)COO]<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>} (R = H, CH<sub>3</sub>)", *Inorganica Chimica Acta*, **175**: 261-268, 1999.
- 124 PINHEIRO, S. O.; SOUSA, J. R.; SANTIAGO, M. O.; CARVALHO, I. M. M.; SILVA, ;A L. R.; BATISTA, A. A.; CASTELLANO, E. E.; ELLENA, J.; MOREIRA, Í. S.; DIOGENES, I. C. N. "Synthesis, characterization and structure of ruthenium(II) phosphine complexes with N-heterocyclic thiolate ligands", *Inorganica Chimica Acta*, **359**: 391-400, 2006.
- 125 SILVA, A. L. R.; SANTIAGO, M. O.; DIÓGENES, I. C.N.; PINHEIRO, S. O.; CASTELLANO, E. E.; ELLENA, J.; BATISTA, A. A.; NASCIMENTO, F B.; MOREIRA, I. S. "The RuCl<sub>3</sub>(dppb)H<sub>2</sub>O complex: A new metal-assisted oxidative dehydrogenation of the o-phenylenediamine ligand", *Inorganic Chemistry Communications*, **8**: 1154-1158, 2005.

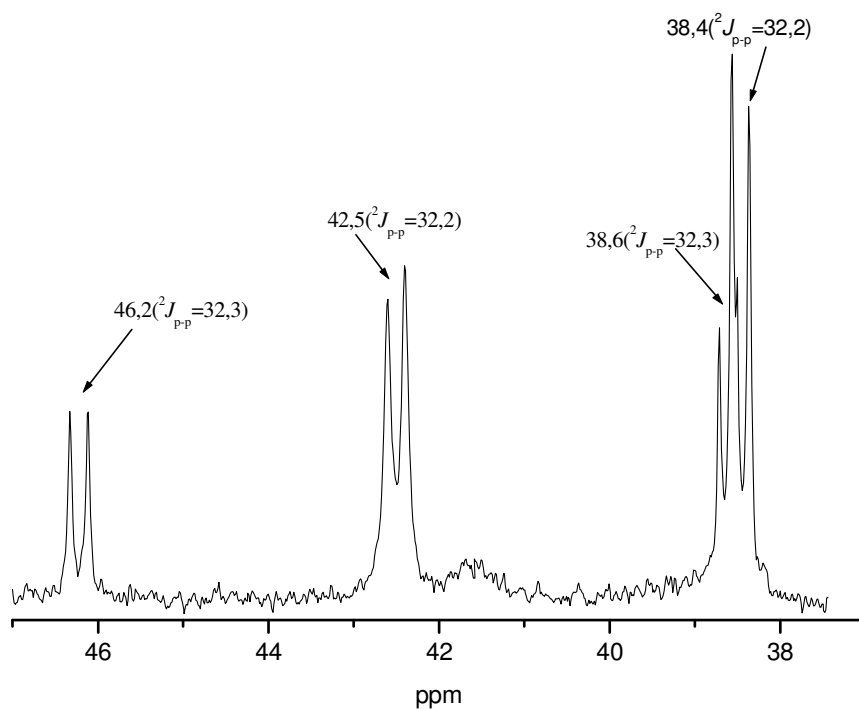
- 
- 126 BARBOSA, M. I. F. "Complexos carbonílicos de rutênio. De um gás tóxico a uma droga com potencial agente citotóxico", São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química-UFSCar, 2007. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica), 107p.
- 127 GOLFETO, C. C. "Nitrosilos complexos de rutênio; Síntese, caracterização e avaliação de suas potencialidades citotóxicas", São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química-UFSCar, 2008. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica), 100p.
- 128 NAKABAYASHI, Y.; WATANABE, Y.; NAKAO, T.; YAMAUCHI, O. "Interactions of mixed ligand ruthenium(II) complexes containing an amino acid and 1,10-phenanthroline with DNA", *Inorganica Chimica Acta*, **357**: 2553-2560, 2004.

# APÊNDICE

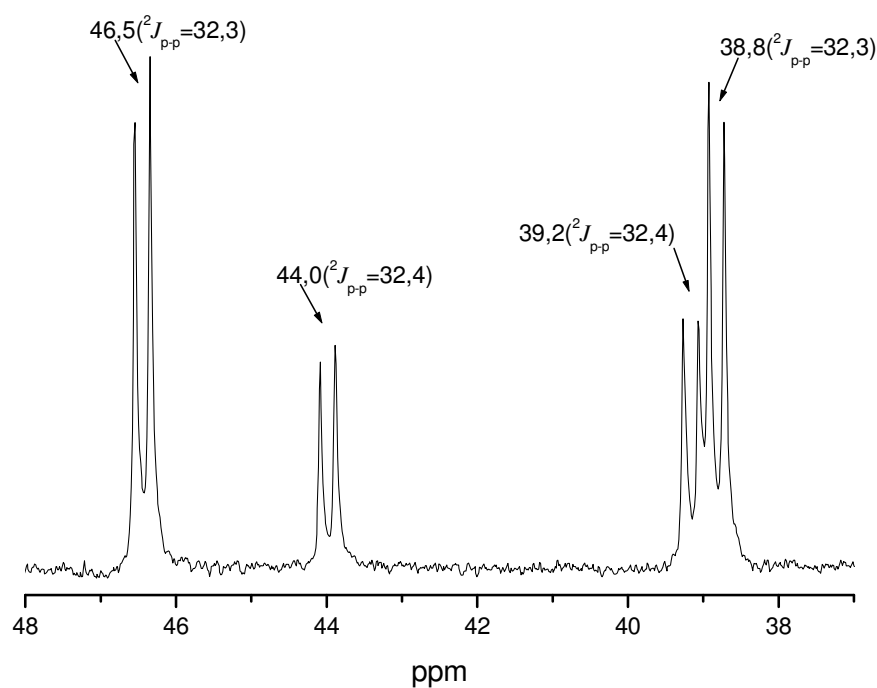


## APÊNDICE A - Espectros de Ressonância Magnética Nuclear.

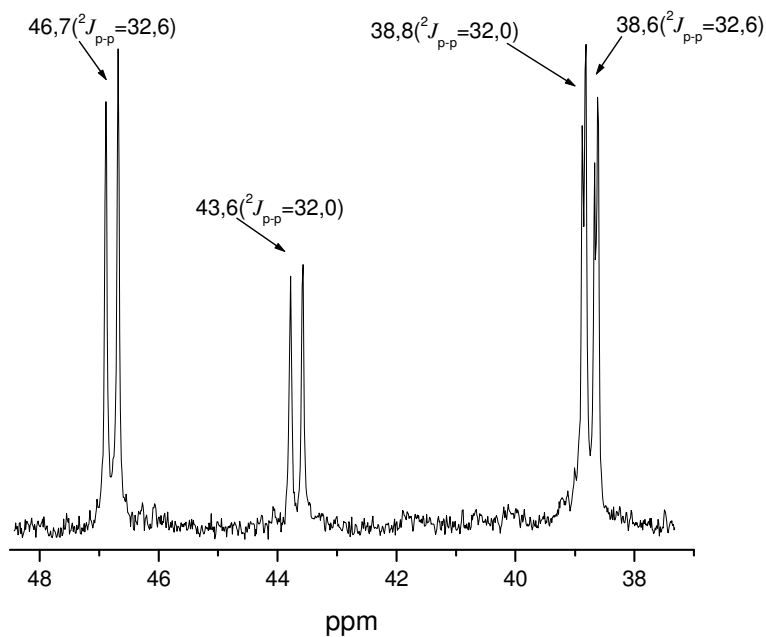
Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Val})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Tyr})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$



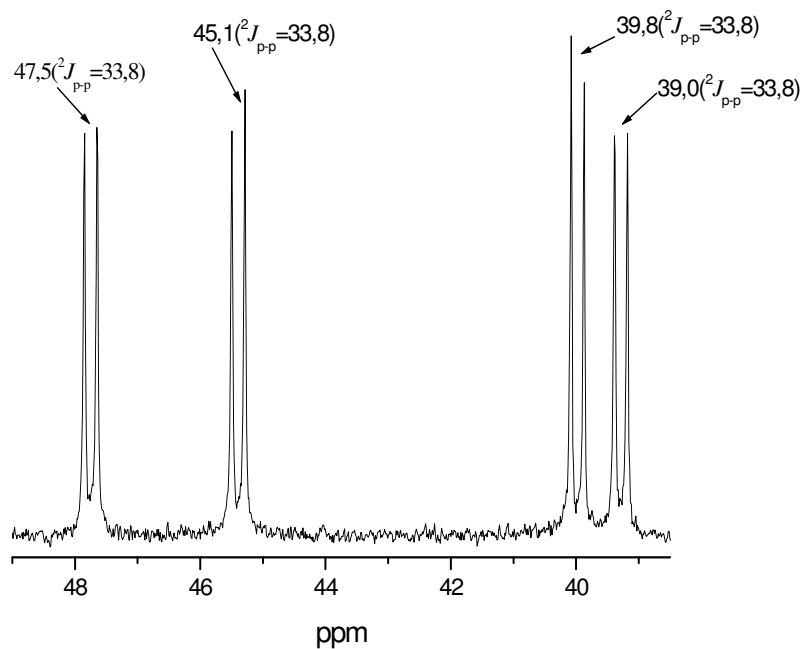
Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Trp})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$



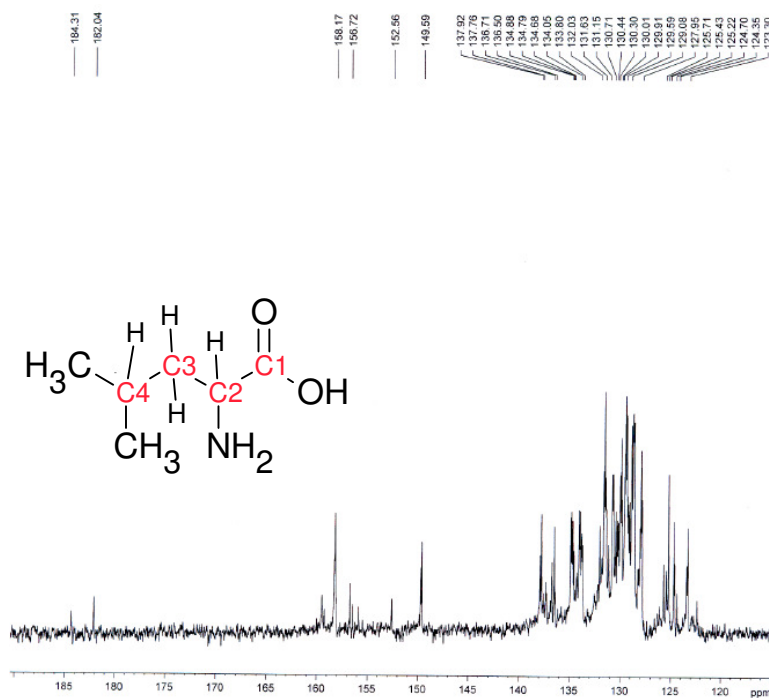
Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Lys})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$



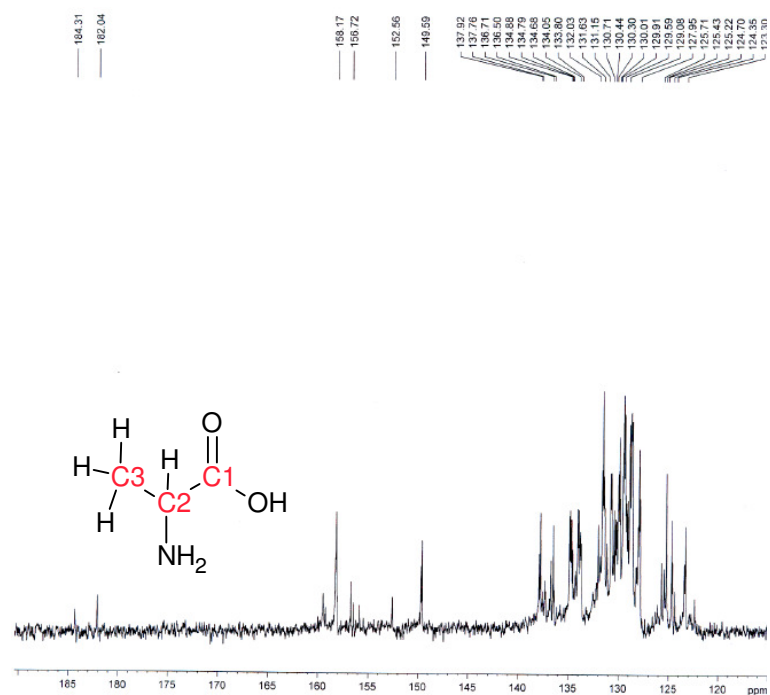
Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$



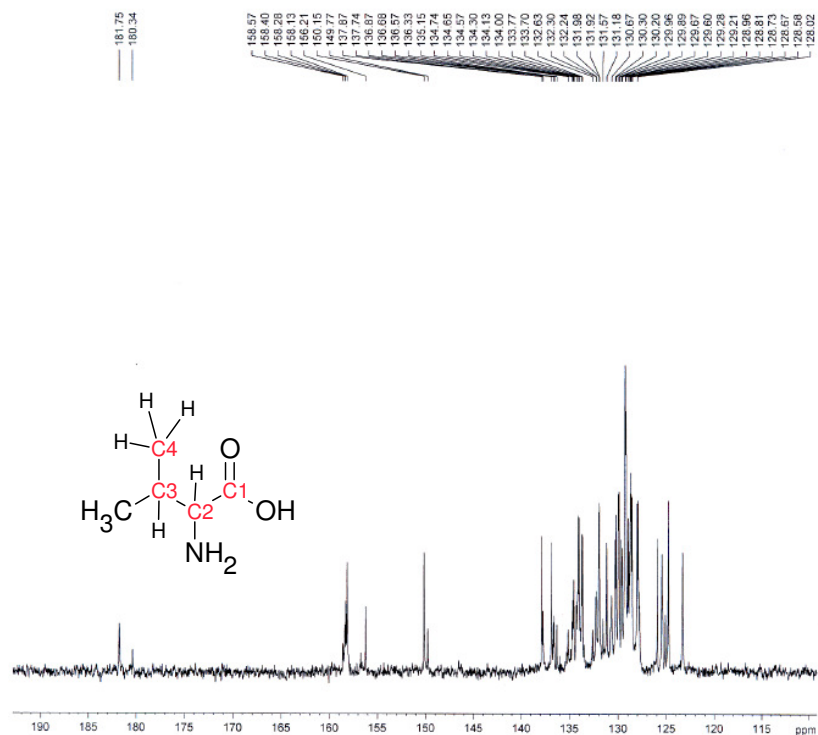
Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Leu})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$



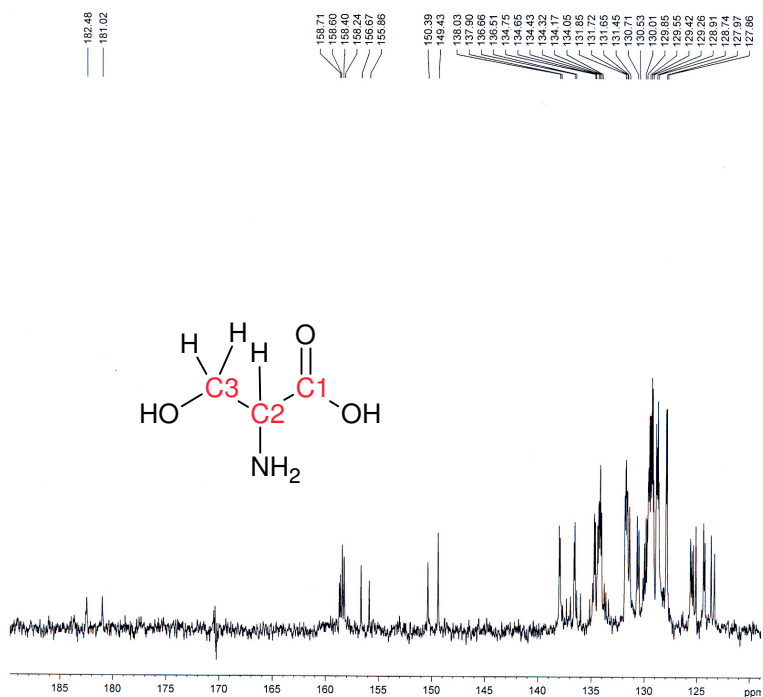
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Leu})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em clorofórmio deuterado.



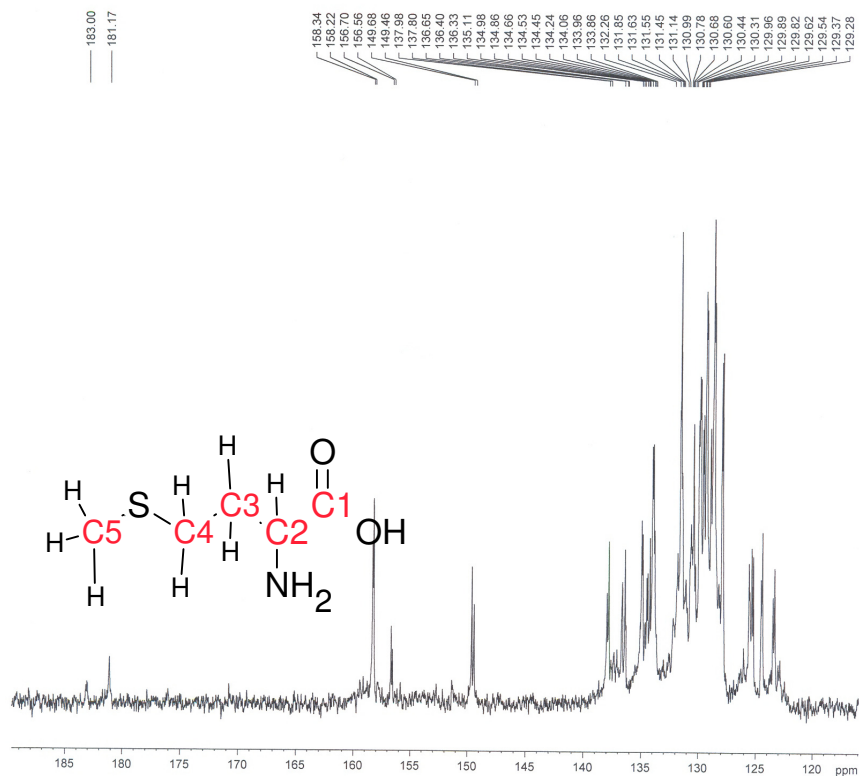
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em clorofórmio deuterado.



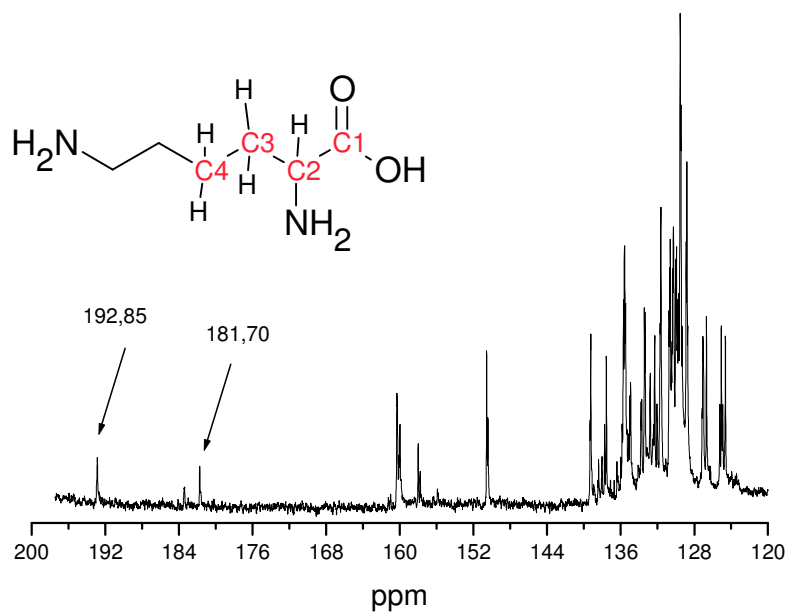
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Val})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em clorofórmio deuterado.



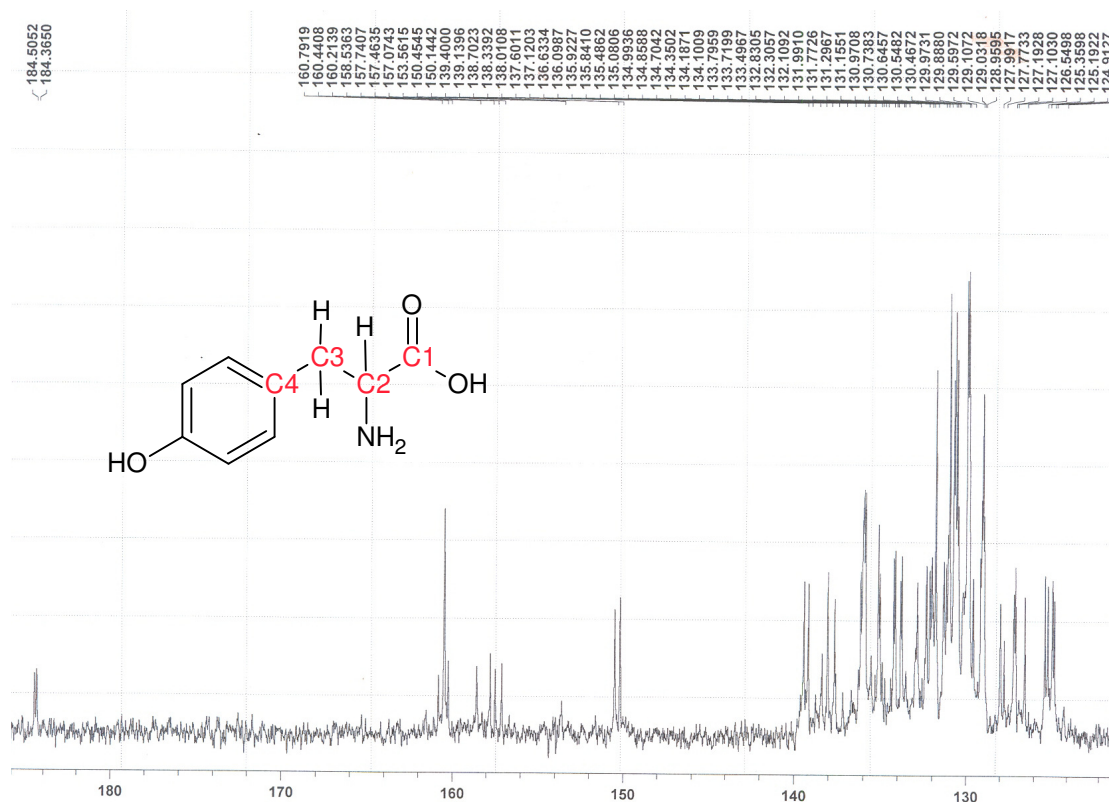
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Ser})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em clorofórmio deuterado.



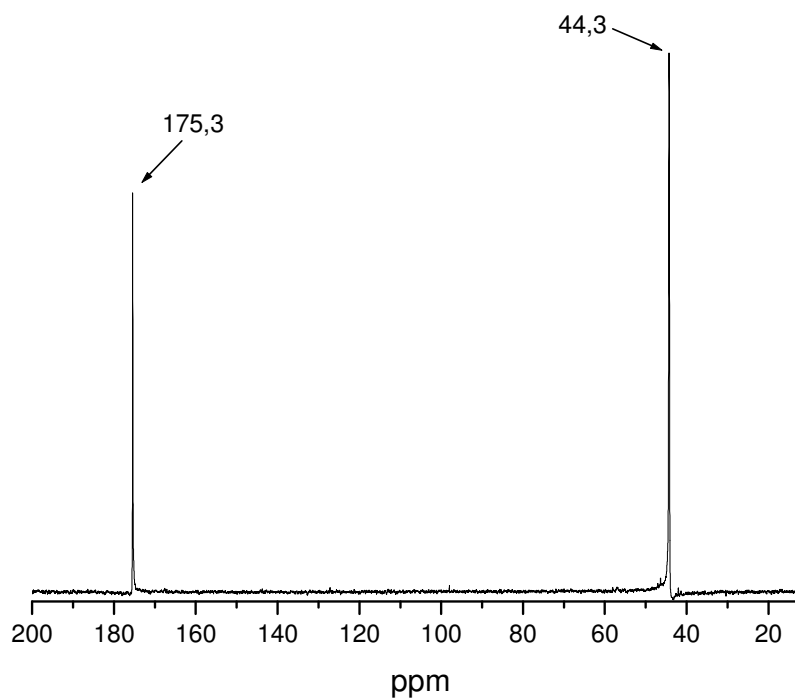
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em clorofórmio deuterado.



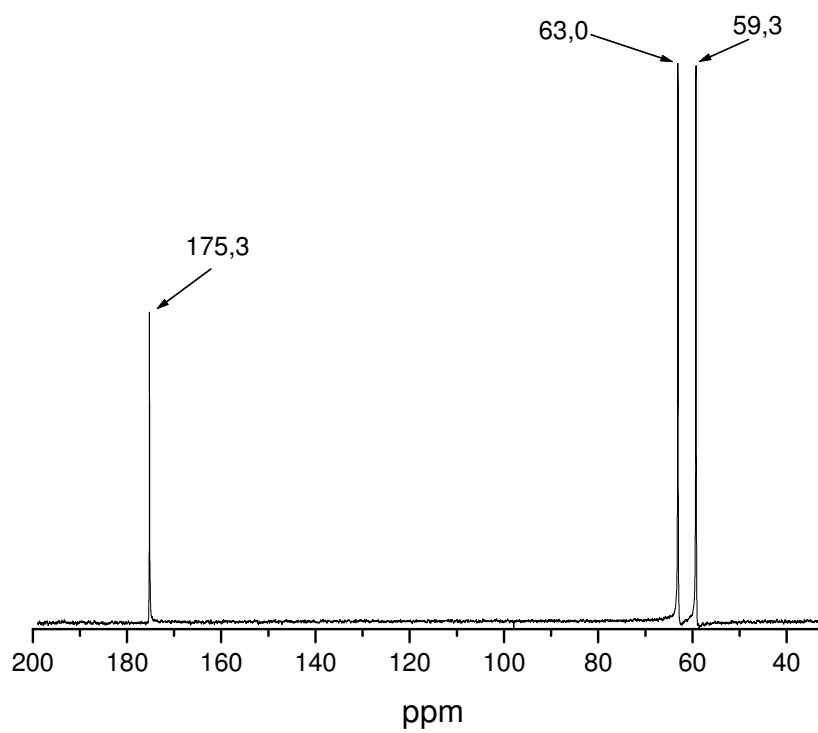
Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Lys})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em clorofórmio deuterado.



Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Tyr})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em metanol deuterado

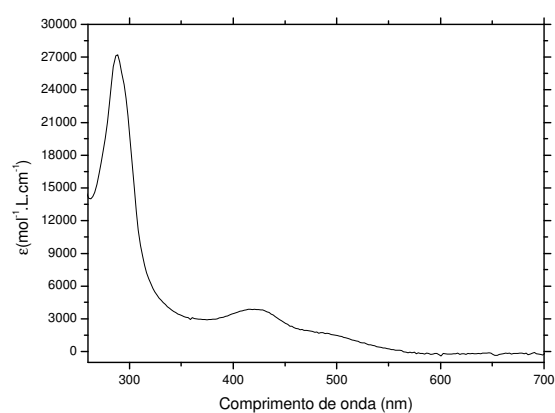


Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  Glicina em  $\text{D}_2\text{O}$ .

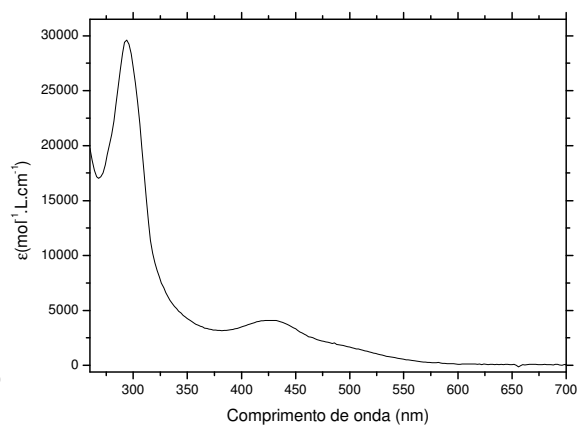


Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  L-Ser em  $\text{D}_2\text{O}$ .



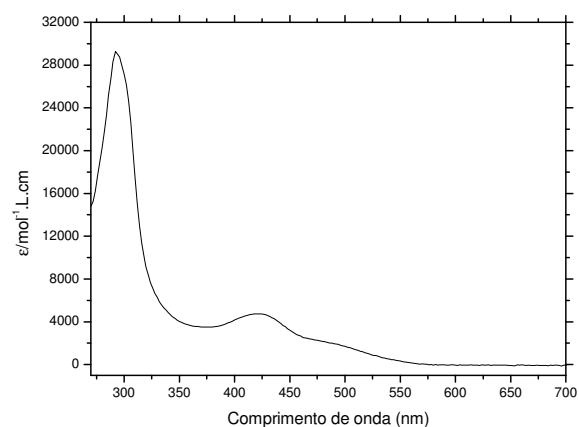
**APÊNDICE B** - Espectro de Absorção na Região do Ultravioleta e Visível dos compostos  $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ .

(a)

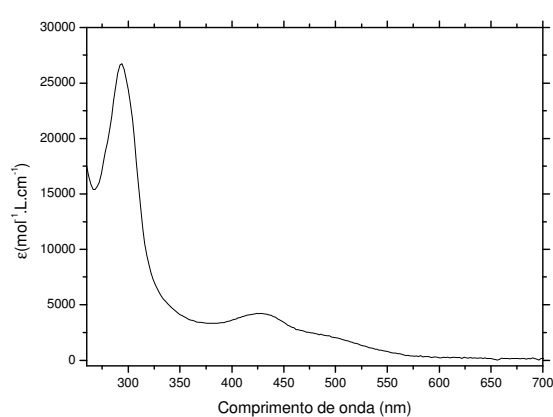


(b)

Espectro de absorção UV-Vis; a)  $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , b)  $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ ,  $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$  em diclorometano.

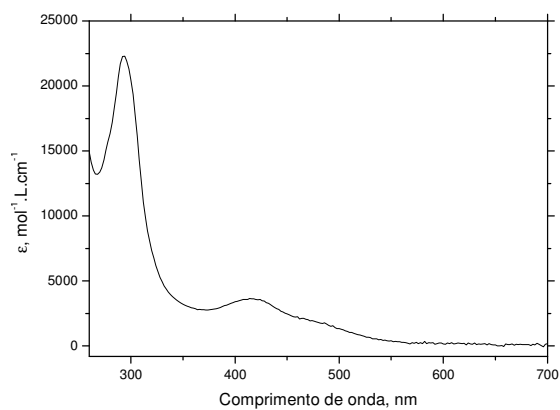


(c)

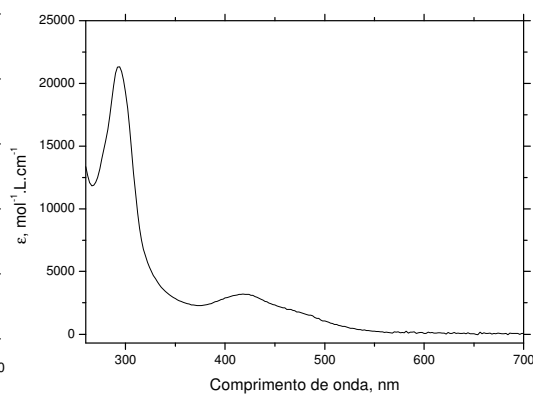


(d)

Espectro de absorção UV-Vis; c)  $[\text{Ru}(\text{L-Ser})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , d)  $[\text{Ru}(\text{L-Try})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ ,  $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$  em diclorometano.

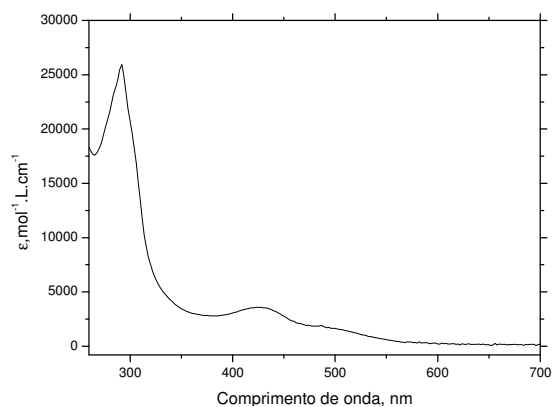


(e)



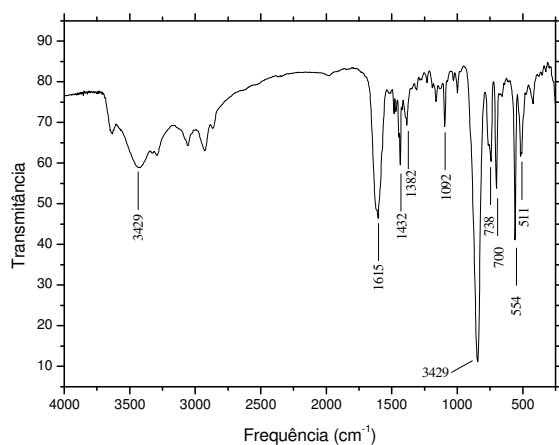
(f)

Espectro de absorção UV-Vis; e)  $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , f)  $[\text{Ru}(\text{L-Leu})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ ,  $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  em diclorometano.

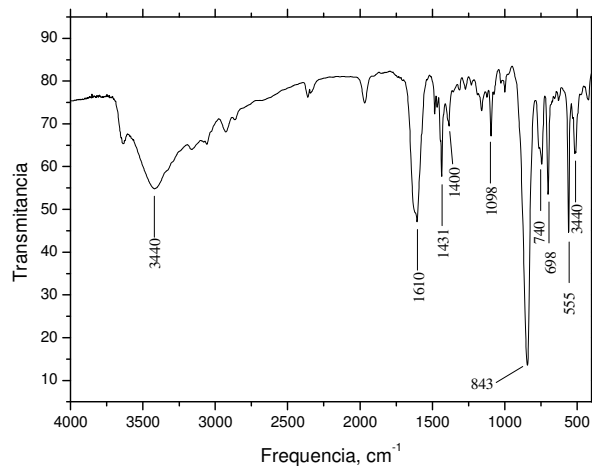


(g)

Espectro de absorção UV-Vis; g)  $[\text{Ru}(\text{L-Trp})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ ,  $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  em diclorometano

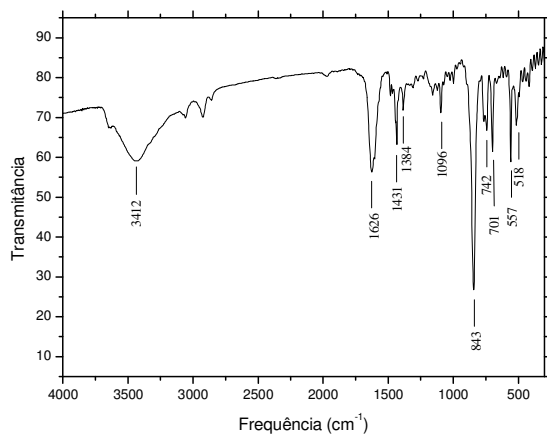
**APÊNDICE C** - Espectro de Absorção na Região do Infravermelho dos compostos  $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ .

(a)

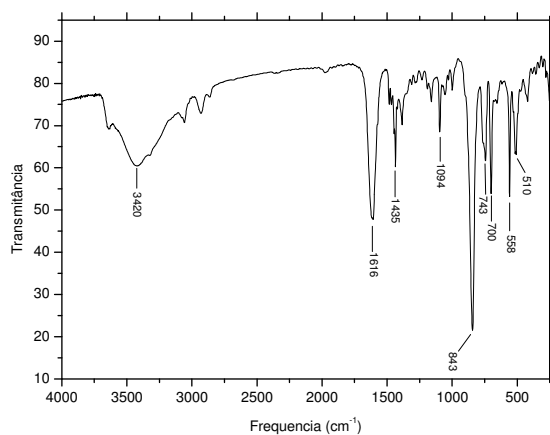


(b)

Espectro de I.V.: a)  $[\text{Ru}(\text{L-Lys})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , b)  $[\text{Ru}(\text{L-Leu})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em pastilha de KBr.

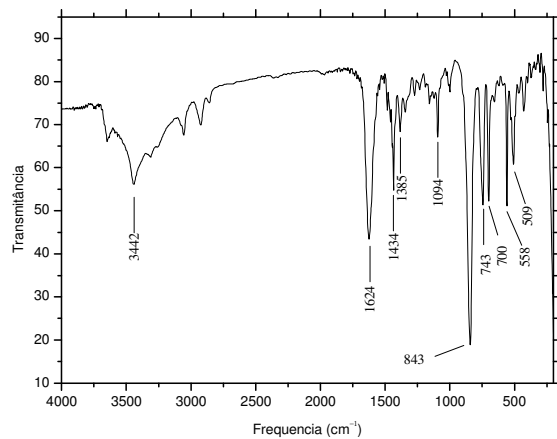


(c)

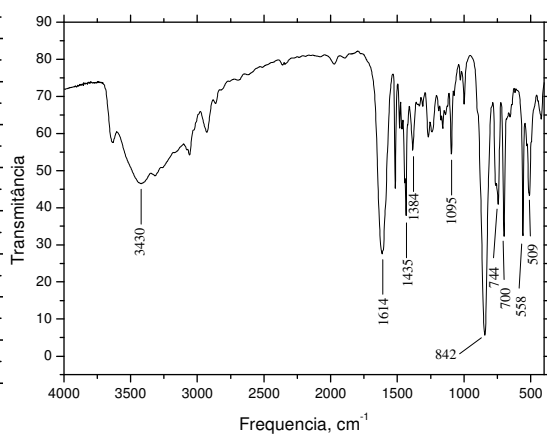


(d)

Espectro de I.V.: c)  $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ , d)  $[\text{Ru}(\text{L-Ser})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$  em pastilha de KBr.

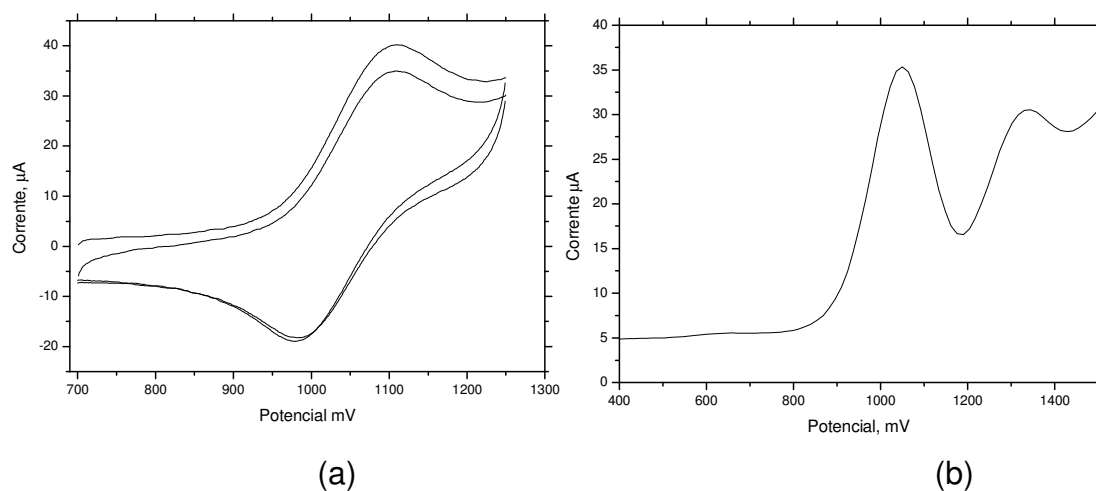


(e)

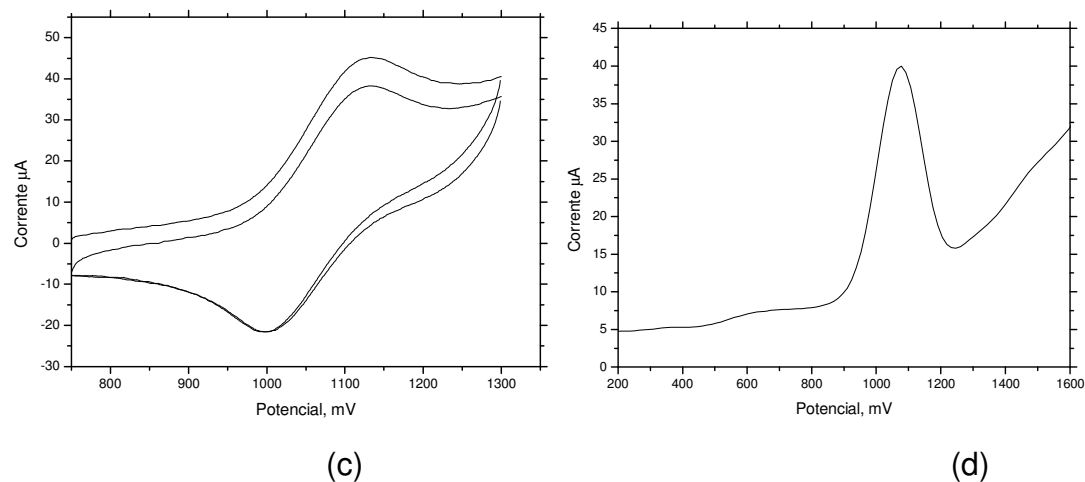


(f)

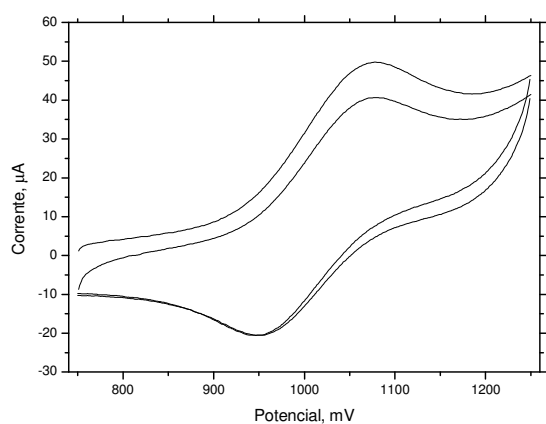
Espectro de I.V.: e) [Ru(L-Trp)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>, f) [Ru(L-Tyr)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub> em pastilha de KBr.

**APÊNDICE D** - Voltamogramas cíclicos e de pulso diferencial para os compostos  $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ .

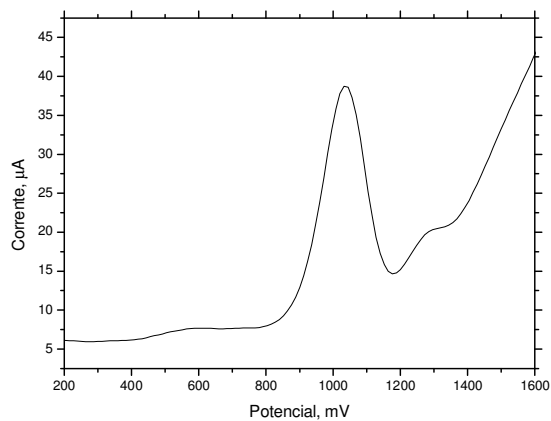
Voltamogramas do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ ; a) cíclico b) de pulso diferencial.



Voltamogramas do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Lys})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ ; c) cíclico d) de pulso diferencial.

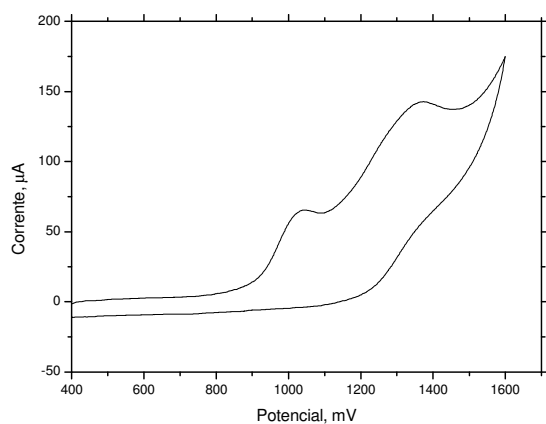


(e)

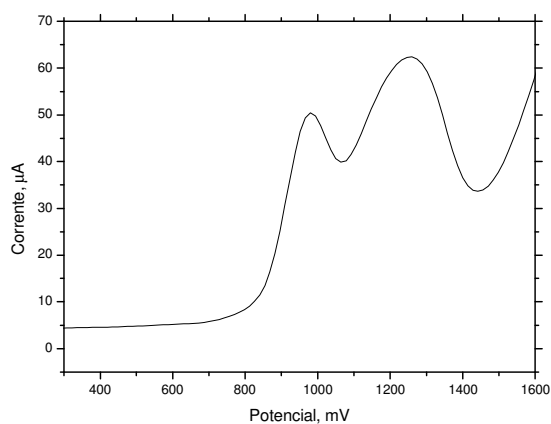


(f)

Voltamogramas do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Val})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ ; e) cíclico f) de pulso diferencial.

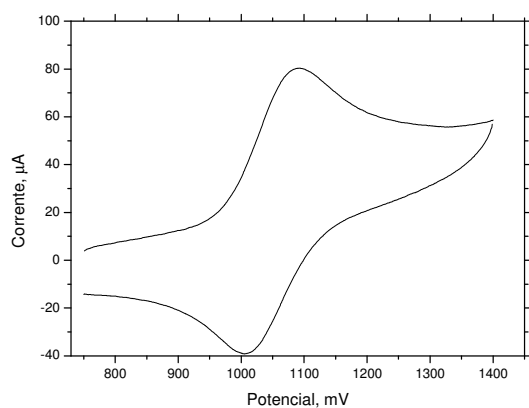


(g)

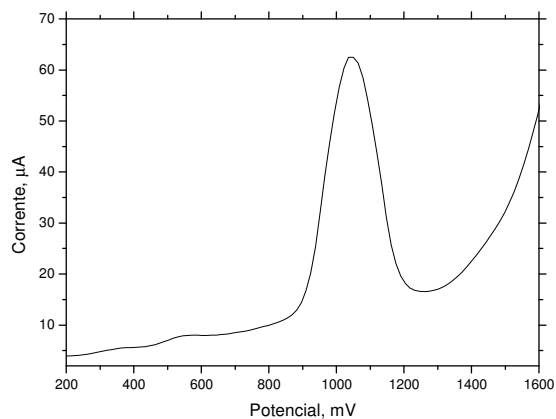


(h)

Voltamogramas do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Trp})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ ; g) cíclico h) de pulso diferencial..

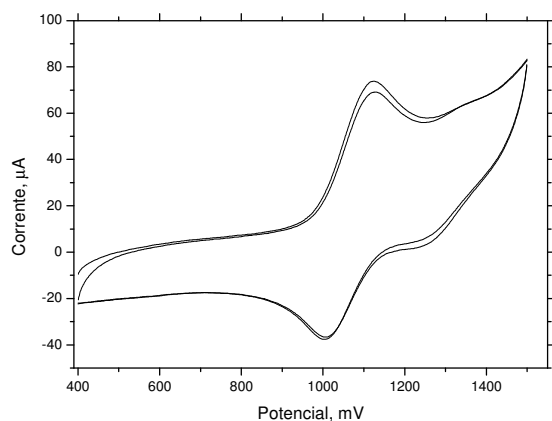


(i)

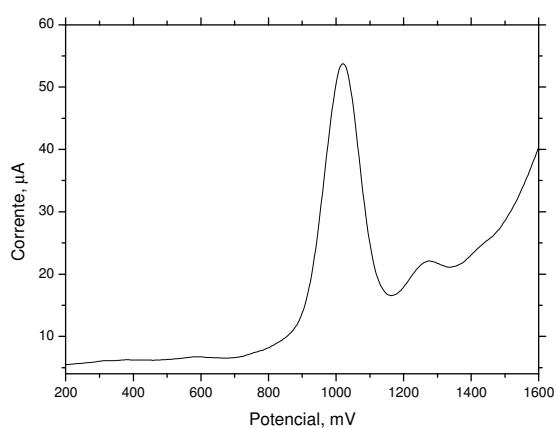


(j)

Voltamogramas do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Leu})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ ; i) cíclico j) de pulso diferencial.



(l)



(m)

Voltamogramas do complexo  $[\text{Ru}(\text{L-Try})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ ; l) cíclico m) de pulso diferencial.