

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

**COMPLEXOS FOSFÍNICOS DE Ru(II) e Ru(III) COM
FÁRMACOS ANTI-TUBERCULOSE E SEUS
DERIVADOS**

Lucas Vinicius Pozzi da Cunha *

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

Orientadora: Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista

*** bolsista CNPq**

**São Carlos - SP
2012**

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

C972cf Cunha, Lucas Vinicius Pozzi da.
Complexos fosfínicos de Ru(II) e Ru(III) com fármacos
anti-tuberculose e seus derivados / Lucas Vinicius Pozzi da
Cunha. -- São Carlos : UFSCar, 2013.
69 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São
Carlos, 2012.

1. Química. 2. Complexo de rutênio. 3. Química
bioinorgânica. I. Título.

CDD: 540 (20^a)

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

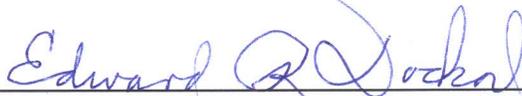
Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a defesa de dissertação de Mestrado Acadêmico do candidato Lucas Vinícius Pozzi da Cunha, realizada em 25 de maio de 2012:



Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista



Prof. Dr. Fernando Rogério Pavan



Prof. Dr. Edward Ralph Dockal

“Talento é quando um atirador atinge o alvo que os outros não conseguem. Gênio é quando um atirador atinge o alvo que os outros não veem.”

Arthur Schopenhauer

Eu dedico este trabalho à minha família, em especial à minha mãe, por terem me proporcionado todas as condições necessárias para o meu desenvolvimento. À Maria Amélia, minha companheira em todas as horas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por confiar a mim a tarefa de realizar este trabalho e por colocar no meu caminho todas as pessoas importantes ao meu crescimento intelectual e espiritual.

A minha mãe Eliana Ferreira Pozzi, com quem aprendi a nunca desistir frente às dificuldades, pelos exemplos de superação.

Aos meus avós Romualdo Pozzi e Ondina Ferreira Pozzi por terem me criado como filho.

Ao Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista, pela orientação segura na realização deste trabalho, pela convivência e paciência durante todos esses anos e, principalmente, pelo grande exemplo como pesquisador mostrando-me a importância do estudo.

A minha noiva, amiga e companheira Maria Amélia por ter estado comigo em todos os momentos constituindo-se em minha força nos momentos mais difíceis.

Ao Prof. Dr. Cristiano dos Santos Neto pelos conselhos e amizade.

A toda a minha família pelo incentivo e, em particular, a minha tia e madrinha Rosely Ferreira Pozzi por ter contribuído para as condições necessárias ao meu aprendizado.

Aos professores do Departamento de Química da UFSCar, peças fundamentais no meu aprendizado.

A Profa Dra Clarice Queico Fujimura Leite (UNESP-Araraquara) pela oportunidade e confiança em mim depositada quando da realização dos testes antimicobacterianos.

A todos os colegas do Laboratório de Estrutura e Reatividade de Compostos Inorgânicos (LERCI), em especial a aluna de Doutorado Angélica Ellen Graminha, pela grande ajuda na realização deste trabalho e pelo companheirismo ao longo de todos esses anos.

A aluna de Doutorado Claudia Rodrigues por toda a ajuda desde os tempos da Iniciação Científica. Obrigado pela sua amizade e pelo exemplo de determinação e força de vontade.

Ao aluno de Doutorado Rodrigo de Souza Corrêa pela ajuda na determinação das estruturas cristalográficas.

Aos colegas de Laboratório Hugo Davi (UNESP-Araraquara), Daisy Nakamura Sato, Fernando Pavan e Paula Carolina de Souza pela ajuda com os testes antimicobacterianos.

A todos os meu AAm.:. Ilr.:. em particular ao Fabio Batista do Nascimento pelo apoio em todos os momentos.

Aos meus grandes amigos Vinicius Milaneto Gussi e Paolo Fiorentino pela amizade e apoio todos esses anos.

Aos técnicos do Departamento de Química da UFSCar Luciana Vizotto, Paulo Lambertucci, Ademir Sartori e Dorai Periotto Zandonai pela ajuda.

As secretárias do PPGQ-UFSCar Ariane Gonzalez Leonardo, Cristina Aparecida Motta e Luciani G. Juarez Silverio pela ajuda.

As minhas professoras de inglês Vanessa Chiconeli e Paula Bullio por todos esses anos de convivência e sincera amizade.

Ao CNPq, CAPES, e FAPESP pela bolsa concedida e apoio financeiro.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABREVIATURA	NOME
MeOH	Metanol
EtOH	Etanol
DMSO	Dimetilsulfóxido
dppb	1,4-bis(difenilfosfina)butano
bipy	2,2'-bipiridina
4,4'-Me-bipy	4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina
fen	1,10-fenatrolina
PTBA	Perclorato de tetrabutilamônio
IV	Espectroscopia Vibracional de absorção na região do infravermelho
(E _{1/2})	Potencial de meia onda
I _{pa}	Corrente de pico anódico
I _{pc}	Corrente de pico catódico
REMA	Resazurin Microtiter Assay
Resazurina	7-hidroxi-3H-fenoxazin-3-ona-10-óxido de sal de sódio
UFC	Unidade Formadora de Colônia
SFB	Soro Fetal Bovino
MTT	3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)2,5-Difenil Brometo de Tetrazolium
INH	Isoniazida
PZA	Pirazinamida
INA	Ácido Isonicotínico
ins	Isonicotinamida

LISTA DE TABELAS

TABELA 4. 1: Potenciais redox dos complexos <i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(L)].	27
TABELA 4. 2: Atribuição das principais bandas observada no espectro de absorção no infravermelho da série de complexos <i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(L)] [42].	28
TABELA 4. 3: Bandas observadas nos espectros eletrônicos dos complexos <i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(L)].	30
TABELA 4. 4: Valores de análise elementar para os complexos [RuCl ₃ (dppb)(L)] (L = INA, PZA e ins).	31
TABELA 4. 5: Deslocamentos químicos e constantes de acoplamento para a série de complexos [RuCl(ins)(dppb)(N-N)]PF ₆ .	34
TABELA 4. 6: Atribuição das principais bandas observada no espectro de absorção na região da série de complexos [RuCl(N-N)(dppb)(ins)]PF ₆ .	34
TABELA 4. 7: Valores de I_{pa}/I_{pc} , E_{pa} , E_{pc} e $E_{1/2}$, em mV, para a série de complexos [RuCl(ins)(dppb)(N-N)]PF ₆ .	37
TABELA 4. 8: Comprimento das principais ligações dos complexos <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(bipy)] e <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(fen)] [40].	39
TABELA 4. 9: Comprimento das principais ligações nos complexos [RuCl(ins)(dppb)(bipy)]PF ₆ e [RuCl(ins)(dppb)(fen)]PF ₆ .	41
TABELA 4. 10: Ângulos de ligação dos complexos [RuCl(ins)(dppb)(bipy)]PF ₆ e [RuCl(ins)(dppb)(fen)]PF ₆ .	42
TABELA 4. 11: Dados cristalográficos e parâmetro de refinamento dos complexos [RuCl(ins)(dppb)(bipy)]PF ₆ e [RuCl(ins)(dppb)(fen)]PF ₆ .	44
TABELA 4. 12: Valores de Análise Elementar para a série de complexos [RuCl(ins)(dppb)(N-N)]PF ₆ .	45

TABELA 4. 13: Resultados das avaliações biológicas (CIM e IC ₅₀) e determinação do IS dos compostos.	46
TABELA 4. 14: Resultado da CIM dos complexos estudados por Pavan e colaboradores [29].	46
TABELA 4. 15: Variação dos valores de CIM para a PZA em diferentes valores de pH [51].	50

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. 1: Sítio central da hemoglobina.	2
FIGURA 1. 2: Estrutura da aurofina.	3
FIGURA 1. 3: Estrutura do mercuriocromo e mertiolato.	4
FIGURA 1. 4: Estrutura da cisplatina.	4
FIGURA 1. 5: Estrutura do complexo pentacianonitroferrato(II) de sódio.	5
FIGURA 1. 6: Estrutura do complexo [$^{99m}\text{Tc}(\text{V})(\text{dl-hm-pao})$], (Ceretec®).	5
FIGURA 1. 7: Estruturas dos complexos: a) gadopentato de dimeglumina (Magnevist®); b) gadoretato de meglumina (Dotarem®); c) gadodiamida (Omniscan®) e d) gadoteridol (Prohance®).	6
FIGURA 4. 1: Esquema das reações do aquacomplexo com os ligantes a) Isonicotinamida b) Ácido Isonicotínico c) Pirazinamida.	26
FIGURA 4. 2: Voltamograma cíclico do complexo <i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(INA)], em CH ₂ Cl ₂ e eletrólito PTBA.	27
FIGURA 4. 3: Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo <i>mer</i> - [RuCl ₃ (dppb)(PZA)], em KBr.	29
FIGURA 4. 4: Espectro de absorção na região do ultravioleta/visível do complexo <i>mer</i> - [RuCl ₃ (dppb)(INA)], em CH ₂ Cl ₂	30
FIGURA 4. 5: Estrutura proposta para os complexos <i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(L)] (L = INA, PZA e ins).	31

FIGURA 4. 6: Esquema para a obtenção dos complexos a) $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ b) $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$ e c) $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$.	32
FIGURA 4. 7: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$.	33
FIGURA 4. 8: Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo $[\text{RuCl}(\text{bipy})(\text{dppb})(\text{ins})]\text{PF}_6$, em KBr.	35
FIGURA 4. 9: Voltamograma cíclico do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 , em CH_2Cl_2 e eletrólito PTBA.	36
FIGURA 4. 10: Voltamogramas de Pulso diferencial do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 .	36
FIGURA 4. 11: Estrutura cristalográfica do complexo <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ [40].	38
FIGURA 4. 12: Estrutura cristalográfica do complexo <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{fen})]$ [40].	38
FIGURA 4. 13: Representação do tipo ORTEP do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ com os elipsoides a 30% de probabilidade.	40
FIGURA 4. 14: Representação do tipo ORTEP do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$ com os elipsoides a 30% de probabilidade.	40
FIGURA 4. 15: Interações intermoleculares no complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$.	43
FIGURA 4. 16: Interações intermoleculares no complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$.	43
FIGURA 4. 17: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$, em CH_2Cl_2 .	47
FIGURA 4. 18: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$, em DMSO.	48

FIGURA 4. 19: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 .	48
FIGURA 4. 20: Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do composto $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ realizado em DMSO.	49
FIGURA 4. 21: Gráfico de viabilidade celular contra a linhagem celular de fibroblastos de camundongo (L-929) para a série $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$.	50
FIGURA 4. 22: Gráfico de viabilidade celular contra a linhagem celular de fibroblastos de camundongo (L-929) para a série <i>mer</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{L})]$.	51
FIGURA A. 1: Voltamograma cíclico do complexo <i>mer</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{ins})]$, em CH_2Cl_2 e eletrólito PTBA.	64
FIGURA A. 2: Voltamograma cíclico do complexo <i>mer</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{PZA})]$, em CH_2Cl_2 e eletrólito PTBA.	64
FIGURA A. 3: Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo <i>mer</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{ins})]$, em KBr.	65
FIGURA A. 4: Espectro de absorção na região do ultravioleta/visível do complexo <i>mer</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{ins})]$, em CH_2Cl_2 .	65
FIGURA A. 5: Espectro de absorção na região do ultravioleta/visível do complexo <i>mer</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{PZA})]$, em CH_2Cl_2 .	66
FIGURA A. 6: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 .	66
FIGURA A. 7: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 .	67

- FIGURA A. 8: Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$, em KBr..... 67
- FIGURA A. 9: Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$, em KBr. 68
- FIGURA A. 10: Voltamograma cíclico do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 e eletrólito PTBA. 68
- FIGURA A. 11: Voltamogramas de Pulso Diferencial do Complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 e eletrólito PTBA..... 69
- FIGURA A. 12: Voltamograma cíclico do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 e eletrólito PTBA. 69
- FIGURA A. 13: Voltamogramas de Pulso Diferencial do Complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 e eletrólito PTBA. 69

RESUMO

COMPLEXOS FOSFÍNICOS DE Ru(II) e Ru(III) COM FÁRMACOS ANTI-TUBERCULOSE E SEUS DERIVADOS

Neste trabalho foram sintetizados complexos de rutênio utilizando como ligante a pirazinamida (PZA), fármaco de primeira linha no tratamento da tuberculose, e os derivados da isoniazida (INH): isonicotinamida (ins) e ácido isonicotínio (INA). A ideia de utilizar um medicamento como ligante se dá na tentativa de potencializar a ação deste fármaco, ou de fazer com que o mesmo tenha seus efeitos colaterais minimizados.

Os complexos da série $mer-[RuCl_3(dppb)(L)]$ (L = INA, PZA e ins) foram caracterizados por voltametria cíclica, IV, UV-*vis*, análise elementar e condutância molar. Estudos eletroquímicos mostraram que complexos de Ru(III) tanto binuclear, quanto mononuclear, são gerados na solução a partir da aplicação de um potencial específico, como descrito na literatura para complexos muito similares. A atribuição das principais bandas de absorção no IV comprovou a ligação do ligante ao centro metálico. Os espectros de UV-*vis* apresentaram três bandas referentes à transferência de carga do ligante para o metal, e a neutralidade desses complexos foi comprovada pela condutividade.

Os complexos da série $[RuCl(ins)(dppb)(N-N)]PF_6$ foram caracterizados por RMN, Voltametria cíclica e de Pulso diferencial, IV, UV-*vis*, difração de raio X, análise elementar e condutância molar. A presença de dois dubletos no espectro de RMN mostrou que os fósforos não são equivalentes. Com a troca de um cloreto por um ligante N-heterocíclico houve um aumento no potencial redox desses complexos em comparação aos seus precursores, devido o caráter π -receptor do ligante entrante. As estruturas cristalográficas dos complexos $[RuCl(ins)(dppb)(bipy)]PF_6$ e $[RuCl(ins)(dppb)(fen)]PF_6$ comprovaram a entrada do ligante ins na posição *trans* ao átomo de fósforo da bifosfina. A condutividade desta série de complexos indicou a presença de uma contra-íon, PF_6^- , para neutralizar a carga do complexo.

Foram determinadas as atividades anti-*M. tuberculosis* e a citotoxicidade dos complexos das séries $[RuCl(ins)(dppb)(N-N)]PF_6$ e $mer-[RuCl_3(dppb)(L)]$ e de seus ligantes, sendo que estes não apresentaram uma boa atividade.

ABSTRACT

Ru(II) and Ru(III) PHOSPHINES COMPLEXES WITH DRUG ANTI-TUBERCULOSIS AND DERIVATIVES

In this work were synthesized ruthenium complexes using pyrazinamide (PZA), a first-line drug in the treatment of tuberculosis, as well as isonicotinamide (ins) and isonicotinic acid (INA), isoniazid derivatives, as ligand. The reason why some drugs are been used as ligand is to enhance their activit or minimize the side effects.

These *mer*-[RuCl₃(dppb)(L)] (L = INA, PZA and ins) complexes was characterized by cyclic voltammetry, FTIR, UV-Vis, elemental analysis and conductivity. Electrochemical studies showed the presence of Ru (III) and other species, both binuclear and mononuclear that are generate in solution by a specific potential application, as described in the literature for *mer*-[RuCl₃(dppb)(H₂O)]. The assignment of the main absorption bands in FTIR spectra showed the appearance of metal-ligand bonds. The UV-Vis spectra showed three bands related to ligand charge transfer to the metal (LMCT), and the neutrality of these complexes was confirmed by conductivity.

The series of complexes [RuCl(ins)(dppb)(N-N)]PF₆ was characterized by NMR, cyclic and differential pulse voltammetry, FTIR, UV-Vis, X ray diffraction, elemental analysis and conductivity. The presence of two doublets in the NMR spectra showed that the phosphorus atoms are not equivalent. When the chloride ligand is exchanged by a N-heterocyclic ligand the redox potential was increased if compared with the precursor complex potential, due to the nature of the π-receptor ligand ins. The crystal structures of complexes [RuCl(ins)(dppb)(bipy)]PF₆ and [RuCl(ins)(dppb)(phen)]PF₆ were determined by X ray and were suggested that the ins ligand is in *trans* position to the phosphorus atom of dppb. The conductivity indicated the presence of an anion PF₆, stabilizing the complexes.

Anti-*M. tuberculosis* and cytotoxicity studies were performed for these complexes [RuCl(ins)(dppb)(N-N)]PF₆ and *mer*-[RuCl₃(dppb)(L)] and their respective free ligands.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	1
1.1 – Química Bioinorgânica Medicinal	1
1.1.1 – Histórico da utilização de metais na medicina	3
1.1.2 – Química Bioinorgânica Medicinal Terapêutica	4
1.2 – Rutênio	6
1.3 – Tuberculose (TB).....	9
2 – OBJETIVOS	13
3 – PARTE EXPERIMENTAL	15
3.1 – Atmosfera Inerte.....	15
3.2 – Solventes.....	15
3.3 – Reagentes químicos.....	15
3.3.1 – Tricloreto de rutênio	15
3.3.2 – Ligantes.....	15
3.3.3 – Hexafluorofosfato de Amônio	15
3.3.4 – Perclorato de Tetrabutilamônio	16
3.4 – Instrumentação e Técnicas Experimentais	16
3.4.1 – Análise Elementar	16
3.4.2 – Espectroscopia absorção na região do Infravermelho	16
3.4.3 – Espectroscopia de Ressonância magnética Nuclear	16
3.4.4 – Eletroquímica	16
3.4.5 – Condutividade	17
3.4.6 – Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta -Visível	17
3.4.7 – Difração de Raios X	17
3.5 – Cepa de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	17
3.6 – Determinação da atividade anti- <i>M. tuberculosis</i> extracelular <i>in vitro</i> dos complexos	18
3.7 – Ensaios de citotoxicidade	19
3.8 – Síntese dos complexos precursores	20
3.8.1 – Síntese do $[RuCl_2(PPh_3)_3]$	20

3.8.2 – Síntese do $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})\text{PPh}_3]$	20
3.8.3 – Síntese do <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$	20
3.8.4 – Síntese do <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{fen})]$	21
3.8.5 – Síntese do <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]$	21
3.8.6 – Síntese do <i>mer</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})\text{H}_2\text{O}]$	21
3.9 – Síntese dos complexos de formula geral $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{L})]$ (L = isonicotinamida (ins), ácido isonicotínico (INA) e pirazinamida (PZA)).....	22
3.9.1 – Síntese do complexo <i>mer</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{ins})]$	22
3.9.2 – Síntese do complexo <i>mer</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{INA})]$	22
3.9.3 – Síntese do complexo <i>mer</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{PZA})]$	22
3.10 – Síntese dos complexos de formula geral $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$ (N-N = 2,2'-bipiridina; 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina e 1,10-fenantrolina).....	23
3.10.1 – Síntese do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	23
3.10.2 – Síntese do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$	23
3.10.3 – Síntese do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$	23

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 26

4.1 – Caracterização dos complexos <i>mer</i> - $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{L})]$ (L = Isonicotinamida (ins), Ácido Isonicotínico (INA) e Pirazinamida (PZA)).....	26
4.2.1 – Estudos Eletroquímicos.....	26
4.2.2 – Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho	28
4.2.3 – Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível	29
4.2.4 – Condutividade e Análise Elementar	31
4.3 – Caracterização dos complexos $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$ (N-N = 2,2'-bipiridina (bipy), 1,10-fenantrolina (fen) e 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina (4,4'-Me-bipy)).....	32
4.3.1 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	33
4.3.2 – Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho	34
4.3.3 – Estudos Eletroquímicos.....	35
4.3.4 – Difração de raios X.....	37
4.3.5 – Condutividade e Análise Elementar	45
4.4 – Avaliação da atividade antimicrobacteriana e Citotoxicidades dos complexos	45

5 – CONCLUSÃO	53
6 – PERSPECTIVAS FUTURAS	55
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
APÊNCICES	64

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – Química Bioinorgânica Medicinal

O principal objetivo da Química Bioinorgânica é o estudo de elementos inorgânicos de ocorrência natural em sistemas biológicos, o desenvolvimento de metalofármacos, sua utilização e consequências. Estuda-se na Bioinorgânica as funções, metabolismo e aplicações de íons inorgânicos além dos seus complexos em sistemas biológicos, correlacionando a atividade biológica de um sistema inorgânico com suas especificidades estruturais e eletrônicas [1].

Os elementos químicos são responsáveis por funções essenciais nos processos biológicos. Muitos compostos orgânicos, os quais são utilizados na medicina como fármacos, não possuem mecanismo de ação estritamente orgânico; alguns são ativados ou biotransformados por íons metálicos incluindo metaloenzimas (MEZ), outros têm efeito direto ou indireto de íons metálicos no metabolismo [2].

Assim sendo, a Química Bioinorgânica Medicinal está em evidência como parte nova e essencial da química, auxiliando no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos [3].

Os principais metais em processos metabólicos não obrigatoriamente estão em maior quantidade que os outros e, assim, a atividade biológica de um elemento metálico não está diretamente ligada à sua abundância relativa, mas sim às suas características específicas à sua biodisponibilidade. Isto nos explicitaria, por exemplo, a diminuta participação do alumínio – o qual é o mais abundante da crosta terrestre, em processos biológicos. Embora o Al apresente uma quantidade significativa, este só é encontrado em um ambiente altamente oxidante, além disso, é encontrado na forma de óxidos e hidróxidos insolúveis em pH fisiológico 6-8, o que acarreta na sua pouca disponibilidade para ser incorporado ao metabolismo celular [4].

Os metais apresentam uma participação efetiva na constituição protéica tendo assim, variadas funções relacionadas à sustentação da vida. A respiração é uma função realizada somente por metaloproteínas, haja vista que são estas que realizam o transporte de oxigênio, sua fixação e estocagem contendo ferro ou cobre. As três classes de proteínas transportadoras de oxigênio são: a família hemoglobina-mioglobina (Fe), as hemocianinas (Cu) e as hemeritinas (Fe) [5].

O transporte de oxigênio na hemocianina ocorre quando há uma transferência eletrônica com a redução do oxigênio para peróxido, seguido da oxidação dos dois íons de cobre (I). Já a hemoglobina (transportador) ou mioglobina (armazenador), o mecanismo de ligação do oxigênio abarca somente interações entre os orbitais d_{xz} , d_{yz} e d_{xy} preenchidos do ferro (II) e o orbital π vazio do oxigênio (retrodoação) [5].

Nestas proteínas há um equilíbrio encontrado por meio da ligação da molécula de O_2 com o átomo central de ferro ou cobre, sem sofrer transferência eletrônica ou redox irreversível, levando à quebra, e em seguida à oxidação química da ligação O–O. Na hemoglobina e mioglobina o sítio ativo é um complexo Fe–porfirina que muda suas estruturas para ligar O_2 (FIGURA 1. 1) [5].

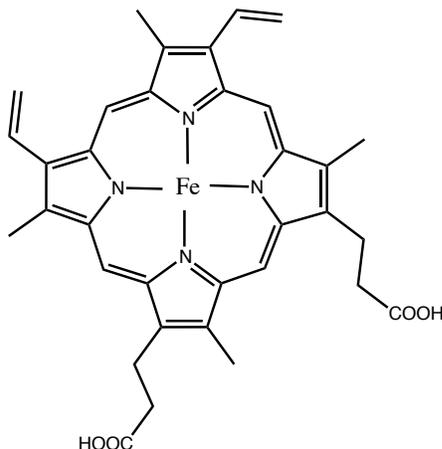


FIGURA 1. 1: Sítio central da hemoglobina.

Outro papel bastante significativo das metaloproteínas é o transporte de elétrons. Íons metálicos em diferentes estados de oxidação Fe(II)/Fe(III), Cu(I)/Cu(II), Mo(IV)/Mo(V)/Mo(VI) são empregados pelos organismos vivos para o transporte de elétrons. A transferência é efetuada de um agente redutor para um oxidante [6].

Muitas famílias de proteínas que regulam a expressão genética contêm o íon Zn(II). Por exemplo, os fatores da transcrição contêm um elemento funcional chamado de “Zinc-Finger”, composto de aproximadamente 30 aminoácidos ao redor do íon zinco. O conceito de “Zinc-Finger” explica a ação do zinco na expressão genética e na função endócrina e o mecanismo de ação envolve os efeitos do metal na síntese de DNA e RNA e na divisão celular [5].

As metaloenzimas são uma subclasse de metaloproteínas que realizam funções catalíticas específicas. O componente metálico de uma metaloenzima pode conservar a integridade estrutural da proteína; ligar-se ao substrato, coenzima ou ambos, na estrutura enzimática ou tomar parte das reações catalíticas e sofrer oxidação durante reações de transferência de elétrons [7].

1.1.1 – Histórico da utilização de metais na medicina

Como é sabido a utilização de metais em medicina existe há quase 5000 anos. Mesmo não tendo sido comprovado nenhum efeito terapêutico, em 3500 a.C., os Egípcios usavam o cobre para esterilizar a água. Vários fármacos à base de ferro foram utilizados por esse povo, também à cerca de 1500 a.C., quando foi descoberto que zinco promovia a cura de feridas [8].

Na medicina chinesa e árabe à 3000 a.C. surgem as primeiras referências da utilização do ouro como agente terapêutico, como a bebida da vida. Neste caso, mais pela preciosidade do metal do que por suas atividades medicinais [8].

No fim do século XIX Robert Koch demonstrou, claramente, os efeitos citotóxicos *in vitro* de sais de ouro ($K[Au(CN)_2]$) contra o bacilo da tuberculose [9]. Desde então vários sais de ouro foram amplamente utilizados, especialmente na Europa, para o tratamento da tuberculose (até 1930). Jacques Forestier popularizou em 1930 o tratamento da artrite reumatoide com sais de ouro, por exemplo, a aurofina (FIGURA 1. 2) [9].

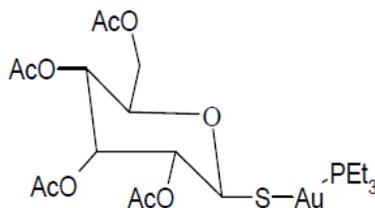


FIGURA 1. 2: Estrutura da aurofina.

Escritos do século X referem-se ao tratamento de infecções utilizando sais de mercúrio, os quais também foram usados na Idade Média com o mesmo objetivo, além do tratamento da epidemia de sífilis no século XVI (halogenetos, cianetos, óxidos e sulfuretos de mercúrio). No Renascimento (Europa) o cloreto de mercúrio também foi

utilizado como diurético e a essência nutricional do ferro foi descoberta. Também foram usados sais de mercúrio com atividade antisséptica local suave nesse período, tais como mercuriocromo e mertiolato (FIGURA 1. 3), que permanece em uso até hoje.

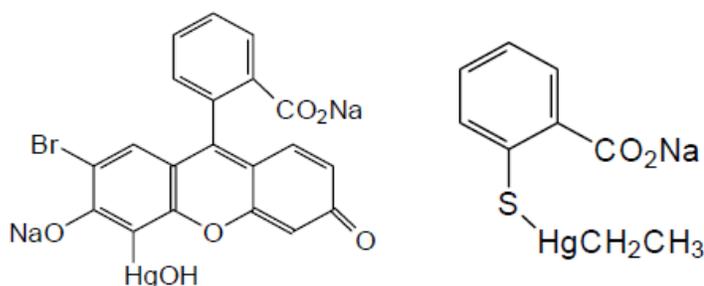


FIGURA 1. 3: Estrutura do mercuriocromo e mertiolato.

A atividade antitumoral do complexo diclorodiaminoplatina(II) (cisplatina) (FIGURA 1. 4), foi descoberta de forma acidental. A cisplatina foi o primeiro composto de coordenação, contendo platina, usado no tratamento do câncer. Esta foi sintetizada pela primeira vez em 1844 e recebeu o nome de cloreto de Peyrone. Rosenberg, em 1964, descreveu sua atividade inibitória na divisão da *Escherichia coli*. Sua eficácia no tratamento do câncer em humanos foi comprovada somente em 1970, revolucionando o tratamento de câncer testicular [10].

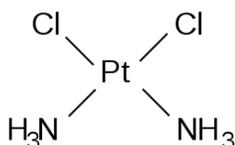


FIGURA 1. 4: Estrutura da cisplatina.

1.1.2 – Química Bioinorgânica Medicinal Terapêutica

O complexo pentacianonitrosilferrato(II) de sódio (FIGURA 1. 5), baixo-spin, é o único complexo metal-nitrosila utilizado clinicamente para controlar a pressão arterial. Após infusão os efeitos hipotensivos ficam evidentes em segundos, e o decréscimo da pressão sanguínea é conseguido geralmente em um/dois minutos. Seu efeito terapêutico está relacionado à liberação do óxido nítrico, que relaxa o músculo liso vascular. A ativação *in vivo* pode envolver a redução do $[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]^{3-}$, liberando cianeto e formando $[\text{Fe}(\text{CN})_4(\text{NO})]^{2-}$ e posteriormente o óxido nítrico [11].

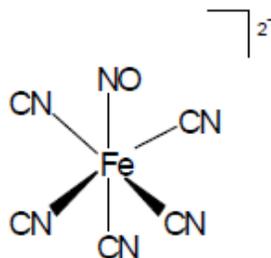


FIGURA 1. 5: Estrutura do complexo pentacianonitroferrato(II) de sódio.

Os núcleos radioativos metálicos, não somente os emissores de raios γ de alta intensidade, são muito utilizados clinicamente, em especial ^{99m}Tc e ^{201}Tl , ^{111}In , ^{67}Ga , ^{51}Co , ^{51}Cr , e ^{169}Yb para imagens em diagnósticos, mas também emissores β , por exemplo, ^{89}Sr , ^{153}Sm , e ^{186}Re , para terapia. Muitos radiofármacos baseados em ^{99m}Tc são utilizados na previsão de diagnósticos clínicos, dentre eles o complexo [$^{99m}\text{Tc(V)}(\text{dl-hm-pao})$], (Ceretec[®]) (FIGURA 1. 6) é um dos melhores exemplos do sucesso de agentes de perfusão para o diagnóstico de traumatismo no cérebro [12].

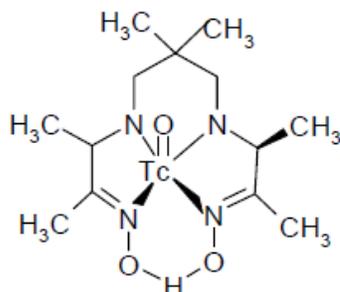


FIGURA 1. 6: Estrutura do complexo [$^{99m}\text{Tc(V)}(\text{dl-hm-pao})$], (Ceretec[®]).

As imagens de ressonância magnética representam uma ferramenta importante para diagnósticos clínicos. As doenças podem ser detectadas pelas diferenças apresentadas entre tecidos normais e patogênicos pela administração de agentes contrastantes, sendo que vários destes agentes contêm Gd(III) , Mn(II) ou Fe(III) , íons que tem um número significativo de elétrons desemparelhados.

Quatro complexos de Gd(III) foram aprovados para uso clínico e tem sido vastamente utilizados, por exemplo, na detecção de anormalidades na circulação sanguínea do cérebro: o gadopentato de dimeglumina (Magnevist[®]), o gadoretato de

meglumina (Dotarem[®]), a gadodiamida (Omniscan[®]) e o gadoteridol (Prohance[®]). Todos estes agentes são extracelulares e difundem-se rapidamente por meio do espaço intersticial do cérebro (FIGURA 1. 7) [13].

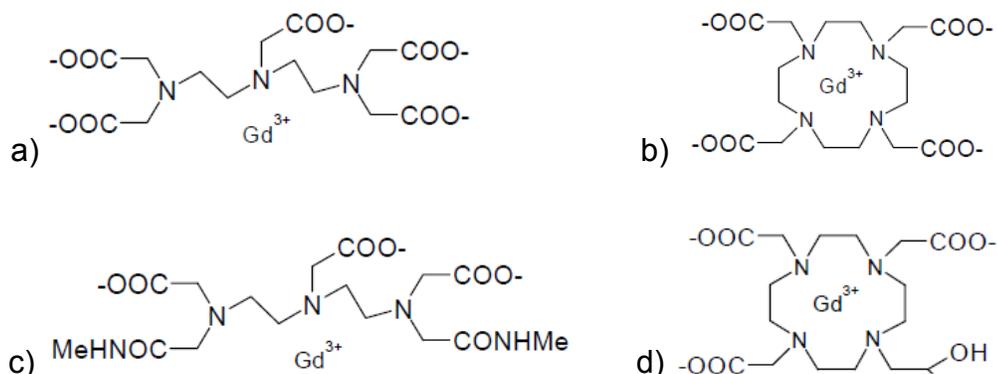


FIGURA 1. 7: Estruturas dos complexos: a) gadopentato de dimeglumina (Magnevist[®]); b) gadoretato de meglumina (Dotarem[®]); c) gadodiamida (Omniscan[®]) e d) gadoteridol (Prohance[®]).

1.2 – Rutênio

Os conceitos de ácido e base de Lewis, bem como sua combinação na formação de complexos, são favoráveis para a descrição das estruturas de moléculas e íons poliatômicos [14]. Estas características são notadamente úteis para a discussão sobre estrutura e reatividade de compostos de metais de transição.

Um íon metálico em solução não está isolado, mas combinado com ligantes, como moléculas de solvente ou íons simples, dando origem aos íons complexos ou compostos de coordenação [15]. Muitos complexos são moléculas relativamente inertes, passando por várias operações químicas ou físicas, sem mudanças estruturais, podendo ser isolados como sólidos estáveis. Outros complexos têm uma existência muito curta e podem existir somente em solução ou altamente reativos e convertidos de maneira fácil em outras espécies [16].

Para um metal ter a capacidade de formar complexos estáveis com um ligante específico é necessária a adequação de sua estrutura eletrônica para formar uma interação forte com este ligante. Os metais são átomos que formam cátions

deficientes de elétrons, os quais tendem a interagir como moléculas que possuem pares de elétrons disponíveis a serem compartilhados. Esta interação ocorre entre orbitais que se encontram no mesmo eixo de ligação, ligação σ [17].

Quando o metal possui um orbital preenchido de elétrons que podem ser doados a um orbital vazio do ligante pode ocorrer outra forma de interação entre metais e ligantes com simetria adequada. Os orbitais envolvidos nesta interação, semelhante à ligação π , estão em eixos ortogonais ao eixo de ligação, paralelos entre si. Neste sistema a densidade eletrônica é sinergisticamente compartilhada do ligante para o metal e vice-versa, originando uma ligação mais estável. Este retorno de densidade eletrônica ao ligante é denominado retrodoação [18].

Metais com baixo número de elétrons nos orbitais d interagem de forma mais efetiva com ligantes fortemente σ - doadores; enquanto metais com os orbitais d preenchidos interagem de forma mais efetiva com ligantes fortemente π receptores. Os metais com configuração eletrônica d^6 em baixo spin, possuem dois orbitais vazios (e_g), que podem se ligar a ligantes σ - doadores, entretanto também possuem três orbitais d preenchidos (t_{2g}), que podem interagir com orbitais de simetria adequada de ligantes π receptores. Esta configuração é especialmente interessante por permitir a interação com ligantes doadores e receptores de elétrons e um exemplo de íon metálico com esta configuração é o rutênio no estado de oxidação (II) [19].

O rutênio destaca-se, entre os metais de transição, pela sua capacidade de formar complexos assumindo estados de oxidação de (-II) a (+VIII), exceto o (-I) [18]. Esta variedade de estados de oxidação, principalmente (+II) e (+III), confere ao rutênio uma química muito diversificada em que ocorre a fácil interconversão entre as configurações eletrônicas d^6 - d^5 , estabilizando, preferencialmente, complexos penta e hexacoordenados.

O Ru(III) comporta-se como um íon metálico σ e π - receptor, relativamente duro, sendo bastante inerte com relação à troca de ligantes. Este íon possui grande afinidade por ligantes saturados, tais como: H_2O , NH_3 , OH^- , Cl^- , etc [20].

As interações de retrodoação nos complexos de Ru(III) não é tão significativa, quanto é para complexos de Ru(II), em que o íon apresenta configuração $(t_{2g})^6$ e comporta-se como íon metálico doador relativamente mole, tendo portanto grande afinidade por ligantes insaturados de características moles que apresentam

orbitais vazios, tais como: N_2 , N-heterocíclicos, CO, organonitrilas, tióis, etc. Entretanto, isto não significa que o Ru(II) não forme complexos estáveis com ligantes saturados, como aminas e H_2O [21].

Os complexos de Ru(III) geralmente apresentam transferência de carga ligante \rightarrow metal na região do visível, em menores energias que os análogos de Ru(II). A grande versatilidade de rutênio em formar ligações do tipo σ e/ou π , torna sua química muito rica. Inúmeros estudos de síntese, caracterização, reatividade e todos os tipos de aplicações de complexos inorgânicos têm sido desenvolvidos tanto com Ru(II), quanto Ru(III) [18].

As fosfinas possuem um par de elétrons capaz de formar ligações σ estáveis, e orbitais híbridos, do tipo $3p\sigma^*d\pi$, vazios e capazes de receber elétrons π [22], logo são adequadas à retrodoação. As fosfinas conseguem combinar as propriedades da ligação σ doadora forte, como as aminas, com as ligações receptoras π , semelhantes ao monóxido de carbono, tornando-se ligantes muito versáteis, capazes de estabilizar as valências mais altas e as mais baixas de metais de transição [23].

A possibilidade de variar os substituintes ligados ao átomo de fósforo com grupos doadores ou receptores de densidade eletrônica torna as fosfinas úteis à exploração sistemática dos efeitos dos ligantes L, na labilidade da ligação de alguns complexos do tipo P – M – L, bem como na afinidade do centro metálico por tais ligantes [24].

Os ligantes de fósforos (III), quando coordenados a um metal, exercem alterações fundamentais sobre a reatividade do centro metálico, labilizando a posição *trans*, estabilizando estados de oxidação mais baixos e aumentando a solubilidade desses complexos em solventes orgânicos [22].

Outro aspecto ilustrativo da versatilidade das fosfinas refere-se ao impedimento estérico. Aumentando-se o tamanho do substituinte R em compostos do tipo $P(OR)_3$ ou PR_3 , é possível aumentar os ângulos R – P – R; variar os ângulos entre L e outros ligantes associados ao metal; aumentar a distância M – P e M – L; reduzindo o caráter doador dos pares isolados do fósforo; favorecendo baixos números de oxidação; favorecer reações de adição oxidativa e intramolecular; favorecer a coordenação e a formação de isômeros, em que o impedimento estérico seja menor. Essas propriedades, somadas à versatilidade de um metal como o rutênio, forma um

sistema único que permite mudanças na esfera de coordenação de diversas maneiras, sem, no entanto, desestabilizar o composto.

Do mesmo modo que as fosfinas, os ligantes N-heterocíclicos são muito versáteis, podendo variar suas propriedades físicas e químicas com a estrutura: sistemas aromáticos ou não, anéis de diferentes formatos, compostos com anéis conjugados ou não, adição de grupos substituintes em diferentes posições [25]. Uma das características destes compostos é a possibilidade de mimetizar estruturas biológicas que possuem propriedades particulares no metabolismo geral: ácidos nucléicos, proteínas, enzimas, alcalóides, etc [26].

Os N-heterocíclicos possuem orbitais $p\pi$ antiligantes vazios e um par de elétrons capaz de formar ligações σ fortes e desta forma são adequados à retrodoação, doando elétrons através da ligação σ e recebendo elétrons do metal através do orbital $p\pi$ vazio [27]. A 2,2'-bipiridina é uma destas diversas estruturas, capaz de formar complexos com uma grande variedade de íons metálicos em ampla faixa de estados de oxidação. Estes ligantes podem estabilizar os íons metálicos em estados de oxidação formais baixos. Nesses complexos acredita-se que há uma extensa ocupação dos π antiligantes do ligante, de modo que os compostos podem ser considerados como tendo ânions do ligante (L^-) [28].

Neste contexto, nosso grupo de pesquisa vem estudando as propriedades antimicrobacteriana de complexos de rutênio contendo ligantes fosfínicos e bipyridínico [29], apresentando bons resultados.

1.3 – Tuberculose (TB)

O gênero *Mycobacterium* possui mais de 110 espécies que estão distribuídas no ambiente (solo e a água) e no trato gastrointestinal, em animais e no homem. Desse total mais de 30 espécies são capazes de causar doenças no ser humano [30].

Em geral as micobactérias são caracterizadas como microrganismos aeróbios imóveis, com forma de bastonetes, que não esporulam e são coradas pelo método de Ziehl-Neelsen. Elas se diferenciam das bactérias gram-positivas e gram-negativas no tocante à composição da parede celular, pois apresentam duas camadas

adicionais (ácidos micólicos e a camada arabinoglicana), que aumentam o grau de hidrofobicidade da parede celular [31].

Uma forma geral de classificação desse gênero é pela taxa de crescimento. As colônias que se tornam visíveis em menos de sete dias são classificadas como de crescimento rápido, e se esse tempo for excedido, são classificadas como de crescimento lento [32].

Entre as micobactérias de crescimento lento a espécie *M. tuberculosis* (MTB) é o principal responsável pela tuberculose (TB) no homem. Além desse bacilo outras espécies também podem causar a doença como o *M. africanum* e *M. canettii*, que são endêmicos na África, e o *M. bovis*, que apesar de ser o mais virulento entre as espécies citadas, somente acomete o homem através do contato diário com produtos animais contaminados.

A primeira descrição do MTB como agente etiológico da TB foi feita no final do século XIX pelo patologista alemão Heinrich Hermann Robert Koch, por isso, o MTB passou a ser conhecido como bacilo de Koch [33].

A transmissão da TB ocorre basicamente pela inalação de perdigotos expelidos por doentes, acometendo principalmente os pulmões devido à grande oferta de oxigênio. Apesar da dependência do oxigênio o bacilo pode se disseminar por todo o organismo do hospedeiro, atingindo os sistemas geniturinário, nervoso central, osteoarticular, ganglionar, gastrointestinal, entre outros [34].

Quando o bacilo se estabelece no pulmão pode ocorrer uma resposta eficaz do sistema imune e o paciente não desenvolve a TB. Se a resposta imune for ineficiente o bacilo pode se desenvolver e ocasionar a TB. O sistema imune pode, também, responder eficazmente contra o bacilo, porém este não ser eliminado, entrando em um estado de latência e assim, podendo permanecer no corpo por anos. A doença pode ressurgir devido a desequilíbrios imunológicos que podem estar relacionados à fatores como estresse, desnutrição e doenças que acometem o sistema imune, como por exemplo, o vírus da imunodeficiência humana (VIH ou HIV) [35].

Apesar do tratamento padrão preconizado pela Organização Mundial de Saúde promover a cura na maior parte dos casos, a TB continua sendo um grave problema de saúde pública, que afeta cerca de um terço da população mundial (aproximadamente 2,0 bilhões de pessoas) na forma latente. De acordo com

estimativas da Organização mundial de Saúde somente em 2009, 9,4 milhões de novos casos de TB ativa foram registrados no mundo, com 1,3 milhões de óbitos, sendo que a maior parte dos casos ocorreu no sudeste da Ásia (35%), na África (30%) e nas regiões ocidentais do Pacífico (20%) [36].

Os fatores que contribuem para esse quadro alarmante são as desigualdades sociais, os aglomerados populacionais, os movimentos migratórios, o aparecimento de cepas resistentes aos fármacos utilizados na terapêutica, o surgimento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), na década de 1980, e a falta de investimentos no desenvolvimento de fármacos mais eficientes [36].

Outro grave problema associado à TB é o aparecimento da infecção causada por MDR-TB (tuberculose multidroga-resistente), que, em 2008, acometeu aproximadamente 440 mil pacientes no mundo. Entre os 27 países avaliados, 15 deles encontram-se na Europa e são responsáveis por 86% dos casos. Além disso, até julho de 2010, aproximadamente 68 países reportaram pelo menos um caso de XDR-TB (tuberculose extremamente droga-resistente) [37].

No Brasil, o quadro da TB é preocupante, visto que o país ocupa a décima quarta posição dentre os 22 países que concentram 80% de todos os casos registrados de TB no mundo. Em 2009, por exemplo, foram registrados mais de 87 mil casos, desse total. Estima-se que mais de 11% dos pacientes são portadores do HIV e 0,45% dos pacientes são portadores de cepas resistentes aos fármacos de primeira escolha (MDR-TB). Nesse mesmo período foram registrados mais de 4 mil óbitos relacionados de alguma forma à TB [36].

O atual panorama mundial da TB, com o surgimento de cepas resistentes e os problemas associados ao tratamento padrão e de segunda escolha, torna necessária a descoberta de novas substâncias capazes de combater eficientemente o MTB. Nesse contexto, uma importante estratégia explorada é a utilização de fármacos amplamente descritos na literatura como protótipos para a descoberta de novas entidades químicas com a atividade biológica desejada. Essa estratégia é interessante do ponto de vista econômico, devido ao prévio conhecimento dos efeitos do fármacoprotótipo contra o MTB. Por esse motivo, essa estratégia tem sido muito utilizada, principalmente, na busca de novos fármacos contra doenças negligenciadas, como a TB.

CAPÍTULO 2: OBJETIVOS

2 – OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho foi sintetizar seis novos compostos de rutênio e estudar a atividade antimicobacteriana e citotoxicidade dos mesmos, contendo como ligantes a pirazinamida (PZA), fármaco de primeira linha utilizados no tratamento da tuberculose, o ácido isonicotínico (INA) e isonicotinamida (ins) derivados do fármaco isoniazida.

Como precursores foram utilizados os complexos *mer*-[RuCl₃(dppb)(H₂O)] e *cis*-[RuCl₂(N-N)(dppb)] (N-N = 2,2'-bipiridina; 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina e 1,10-fenantrolina), muito utilizados em nosso laboratório. A partir do complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(H₂O)] foram sintetizados e caracterizados por diversas técnicas três de fórmula geral *mer*-[RuCl₃(dppb)(L)] (L = ácido isonicotínico (INA); isonicotinamida (ins) e pirazinamida (PZA)) novos complexos. Já com o precursor *cis*-[RuCl₂(N-N)(dppb)] foram sintetizados três novos complexos de fórmula geral [RuCl(ins)(N-N)(dppb)]PF₆.

Após a síntese desses complexos foi estudada a atividade antimicobacteriana frente à Cepa H₃₇Rv e a citotoxicidade frente a linhagem celular L-929 (fibroblasto de camundongo).

CAPÍTULO 3: PARTE EXPERIMENTAL

3 – PARTE EXPERIMENTAL

3.1 – Atmosfera Inerte

Todas as sínteses foram realizadas sob atmosfera inerte obtida pela passagem de um fluxo de argônio por um sistema de colunas contendo sílica gel, cloreto de cálcio e catalisador BTS – R – 3 – 11 (Fluka Chemika), mantido a 60 °C para aumentar a eficiência do catalisador.

3.2 – Solventes

Os solventes utilizados neste trabalho foram submetidos à purificação prévia, segundo métodos usuais da literatura (PERRIN *et al.*, 1980). Os solventes deuterados utilizados na espectroscopia de RMN foram de procedência Fluka ou Aldrich.

3.3 – Reagentes químicos

3.3.1 – Tricloreto de rutênio

O sal tricloreto de rutênio $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, de procedência Aldrich, foi utilizado para a preparação dos complexos.

3.3.2 – Ligantes

Os ligantes trifenilfosfina e a bifosfina 1,4-*bis*(difenilfosfina)butano, de procedência Aldrich, foram utilizados sem qualquer purificação prévia. Assim como os ligantes N-heterocíclicos: 2,2'-bipiridina, 1,10'-fenantrolina e 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina, também, de procedência Aldrich. O ligante pirazinamida de procedência Aldrich foi cedido pela Profa. Dra. Clarice Queico Fujimura Leite.

3.3.3 – Hexafluorofosfato de Amônio

O sal hexafluorofosfato de amônio, de procedência Aldrich, foi utilizado nas preparações dos complexos para facilitar suas precipitações pela troca do contra-íon cloreto pelo Hexafluorofosfato.

3.3.4 – Perclorato de Tetrabutylamônio

O Perclorato de Tetrabutylamônio (PTBA), de procedência Fluka, foi utilizado como eletrólito de suporte nos experimentos de eletroquímica.

3.4 – Instrumentação e Técnicas Experimentais

3.4.1 – Análise Elementar

As análises elementares de carbono, hidrogênio e oxigênio dos compostos sintetizados foram realizadas utilizando-se um analisador CHN modelo EA 1108 da FISONS, no laboratório de microanálises do departamento de química da UFSCar.

3.4.2 – Espectroscopia absorção na região do Infravermelho

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram realizados por diluição em pastilha de KBr (Merck, P. A.) na região compreendida entre $4000-250\text{ cm}^{-1}$ utilizando um espectrofotômetro BOMEM MICHELSON FT MB-102.

3.4.3 – Espectroscopia de Ressonância magnética Nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ foram obtidos em um aparelho BRUKER ULTRASHIELD – 400/ B-ACS 60, pertencente ao departamento de Química da UFSCar, Laboratório do Prof. Dr. Antônio Gilberto Ferreira. Os espectros de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ foram realizados em CH_2Cl_2 contendo um capilar com D_2O como referência externa.

3.4.4 – Eletroquímica

Os voltamogramas cíclicos e de pulso diferencial foram obtidos em um potenciostato Bioanalytical System, modelo BAS 100W. As medidas de voltametria dos complexos foram realizadas utilizando um sistema convencional de três eletrodos, consistindo de um eletrodo de platina como eletrodo de trabalho, um eletrodo auxiliar, também, de platina e um eletrodo de referência de Ag/AgCl. Os voltamogramas foram obtidos em CH_2Cl_2 e como eletrólito suporte utilizando-se Perclorato de Tetrabutylamônio (PTBA), de procedência Merck, com concentração de $0,1\text{ mol.L}^{-1}$.

3.4.5 – Condutividade

As medidas de condutividade molar foram realizadas em condutivímetro MICRONAL, modelo B-330, equipado com eletrodo de Pt com constante igual 0,089 cm^{-1} , utilizando-se soluções com concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em CH_2Cl_2 .

3.4.6 – Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta -Visível

Os espectros eletrônicos foram obtidos utilizando um espectrofotômetro de arranjo de diodo da Hewlett Packard, modelo 8452A. As medidas foram feitas de soluções dos compostos, com concentrações iniciais da ordem de $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

3.4.7 – Difração de Raios X

Todas as estruturas foram resolvidas no Laboratório de Cristalografia do Instituto de Física de São Carlos/USP pelo doutorando Rodrigo Corrêa.

Para a resolução das estruturas cristalinas foi utilizado um difratômetro automático NONIUS KAPPA CCD utilizando radiação da linha $K\alpha$ do molibdênio (0,71070 Å). As estruturas foram resolvidas com o programa SHELXS 97 (SHELDRICK, 1997) usando métodos diretos, sucessivos mapas de Fourier-Diferença permitiram a localização dos átomos não hidrogênios. Excetuando-se os átomos de hidrogênio, todos os demais foram refinados anisotropicamente. Os refinamentos foram feitos pelo método dos mínimos quadrados através do programa SHELXL 97 (SHELDRICK, 1997). Detalhes específicos sobre coleta de dados e os parâmetros para cada complexo são fornecidos nos apêndices apropriados.

3.5 – Cepa de *Mycobacterium tuberculosis*

A cepa padrão de *M. tuberculosis* H37Rv – ATCC 27294 foi utilizada na técnica do REMA para determinar o MIC das amostras. A cultura bacilar foi congelada a -80°C até o uso.

3.6 – Determinação da atividade anti-*M. tuberculosis* extracelular *in vitro* dos complexos

A CIM (Concentração Inibitória Mínima) foi determinada empregando a metodologia padronizada por Palomino *et al.*, (2002) denominada REMA [38]. Nas colunas 1 e 12 de uma microplaca estéril de 96 orifícios foram depositados 200 µL de água destilada estéril para evitar a desidratação do meio de cultura no ensaio durante a incubação na estufa. Os complexos foram diluídos em DMSO, obtendo-se solução estoque de 10 mg/mL. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas destas soluções na própria microplaca, de maneira a se obter concentrações variadas de Isoniazida (1 a 0,03 µg/mL) e dos demais compostos (250 a 3,90 µg/mL). O primeiro orifício da microplaca contendo cada composto a ser analisado foi utilizado para controle de contaminação do composto. Neste orifício foi adicionado apenas o meio de cultura e a amostra na diluição 1:4, onde se esperava não haver crescimento de espécie bacteriana. A cepa de *M. Tuberculosis* H₃₇Rv congelada foi utilizada no início do ensaio na concentração de 10⁵ UFC/mL para que no final do experimento fosse obtido população de 10⁷ UFC/mL. 100 µL da diluição de 10⁵ UFC/mL foi inoculada em cada um dos orifícios contendo os compostos em análise e a Isoniazida. A microplaca foi selada com parafilme e incubada a 37 °C. Após 7 dias de incubação foi adicionado em todos os orifício volume de 30 µL da resazurina 0,01 % diluída em água estéril. A microplaca foi reincubada a 37 °C por 24 h. Após este período, foi realizada leitura baseada na interpretação da fluorescência no leitor de microplacas SpectraFluor Plus (TECAN®), onde utilizou-se filtros de excitação e emissão nos comprimentos de onda de 530 e 590 nm, respectivamente.

A porcentagem de inibição da multiplicação bacteriana foi determinada aplicando-se a fórmula:

$$(1 - b/a) \times 100 = \% \text{ de inibição da multiplicação bacteriana};$$

onde: a = média da leitura dos orifícios controle-positivo (orifício apenas com bactéria e meio de cultura) e

b = resultado de cada orifício com a respectiva diluição do composto analisado.

3.7 – Ensaios de citotoxicidade

Os compostos analisados foram avaliados pela capacidade de inibir o crescimento *in vitro* de células sadias de camundongos L-929 (Fibroblastos de camundongos).

Os compostos foram avaliados em células sadias de camundongos (L-929) usando o ensaio com MTT (3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)2,5-Difenil Brometo de Tetrazolium - MOSMAN, 1983), que consiste em uma determinação colorimétrica de viabilidade celular durante tratamento *in vitro* com o composto. Este ensaio colorimétrico de microcultura, desenvolvido como um estágio inicial para o “screening” de potenciais fármacos, mede a quantidade de MTT reduzido pela dehidrogenase mitocondrial e assume que a viabilidade celular (correspondente à atividade redutiva) é proporcional à produção de cristais de formazan (violeta) que, após solubilizado, é medido espectrofotometricamente. A densidade óptica (absorbância dos poços) foi medida em um leitor de microplacas a 570 nm. Para verificar o efeito do solvente DMSO, controles adicionais receberam 1% deste solvente.

Um alto IC₅₀ é desejado e implica baixa citotoxicidade ou antiproliferação a baixas concentrações do composto. O valor de IC₅₀ representa a concentração do composto que é necessário para reduzir 50% o crescimento celular.

Para o ensaio foram preparadas 8 concentrações de cada complexo (20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,31; 0,08; 0,02 mM) utilizando-se DMSO para solubilizar os mesmos. Considerando que a concentração final de DMSO junto às células não deve ultrapassar 1 % e que o volume de meio de cultura em cada poço é 200 µL, toma-se uma alíquota de 2 µL de cada concentração de complexo e adiciona-se ao poço. Desta maneira as concentrações finais dos complexos são 200; 100; 50; 25; 12,5; 3,1; 0,8; 0,2 µM. As soluções dos compostos são preparadas no fluxo laminar utilizando-se materiais estéreis (DMSO e frascos de armazenagem).

3.8 – Síntese dos complexos precursores

3.8.1 – Síntese do $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$ [39]

Em um balão de 250 mL contendo 100 mL metanol previamente deaerado foram dissolvidos 0,500 g (1,91 mmol) de $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. A solução resultante foi refluxada por 15 minutos sob atmosfera de argônio. A solução foi então resfriada e 2,875 g (10,85 mmol) de trifenilfosfina (PPh_3) foram adicionados e a mistura reacional foi refluxada por 3 horas. Após o resfriamento um sólido marrom cristalino foi obtido, o qual foi separado por filtração, utilizando-se um funil de placa porosa, e lavado com metanol e seco a vácuo. Massa = 1,795 g (Rendimento = 98%).

3.8.2 – Síntese do $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})\text{PPh}_3]$ [40]

Em um balão de 50 mL contendo 10 mL de diclorometano deaerado foi dissolvido 1,0 g (1,04 mmol) de $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$; em seguida adicionou-se lentamente 0,445 g (1,04 mmol) de dppb (1,4-*bis*(difenilfosfino)butano) durante 30 minutos aproximadamente. A reação permaneceu sob agitação e atmosfera de argônio por 1 hora. Em seguida adicionou-se 40 mL de etanol para a precipitação de um composto de cor verde que foi filtrado, utilizando-se um funil de placa porosa, e lavado com etanol e éter. Massa = 0,8528 g (Rendimento = 95%).

3.8.3 – Síntese do *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ [41]

Em um balão de 250 mL foram dissolvidos 0,5 g (0,581 mmols) de $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{PPh}_3)]$ em 100 mL de diclorometano previamente deaerado, e então foram adicionados 0,272 g (1,743 mmols) do ligante bipy (2,2'-bipiridina). O sistema permaneceu sob refluxo em atmosfera inerte por 48 horas. A solução foi rotaevaporada até o volume de aproximadamente 5 mL e em seguida foram adicionados cerca de 30 mL de éter etílico previamente deaerado. O precipitado vermelho formado foi filtrado, utilizando-se um funil de placa porosa, lavado com éter etílico e seco a vácuo. Massa = 0,3726 g (Rendimento = 85%).

3.8.4 – Síntese do *cis*-[RuCl₂(dppb)(fen)] [40]

Em um balão de 250 mL foram dissolvidos 0,5 g (0,581 mmols) de [RuCl₂(dppb)(PPh₃)] em 100 mL de diclorometano previamente deaerado, e então foi adicionado 0,3175 g (1,743 mmols) do ligante fen (1,10-fenantrolina). O sistema permaneceu sob refluxo em atmosfera inerte por 48 horas. A solução foi rotaevaporada até o volume de aproximadamente 5 mL e em seguida foram adicionados cerca de 30 mL de éter etílico previamente deaerado. O precipitado vermelho formado foi filtrado, utilizando-se um funil de placa porosa, lavado com éter etílico e seco a vácuo. Massa = 0,4374 g (Rendimento = 87%).

3.8.5 – Síntese do *cis*-[RuCl₂(dppb)(4,4'-Me-bipy)] [40]

Em um balão de 250 mL foram dissolvidos 0,5 g (0,581 mmols) de [RuCl₂(dppb)(PPh₃)] em 100 mL de diclorometano previamente deaerado, e então foi adicionado 0,3211 g (1,743 mmols) do ligante 4,4'-Me-bipy (4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina). O sistema permaneceu sob refluxo em atmosfera inerte por 48 horas. A solução foi rotaevaporada até o volume de aproximadamente 5 mL e em seguida foram adicionados cerca de 30 mL de éter etílico previamente deaerado. O precipitado vermelho formado foi filtrado, utilizando-se um funil de placa porosa, lavado com éter etílico e seco a vácuo. Massa = 0,4556 g (Rendimento = 90%).

3.8.6 – Síntese do *mer*-[RuCl₃(dppb)H₂O] [42]

Em um Schlenk dissolveu-se 0,200 g (2,324 mmol) do complexo [RuCl₂(dppb)(PPh₃)] em 10 mL de metanol. Nessa solução borbulhou-se gás cloro (Cl_{2(g)}) gerado pela reação do ácido clorídrico com permanganato de potássio, até a obtenção de um precipitado vermelho intenso. O precipitado foi filtrado, utilizando-se um funil de placa porosa, lavado com éter etílico e seco a vácuo. Massa = 0,1367 g (Rendimento = 97%).

3.9 – Síntese dos complexos de fórmula geral $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{L})]$ (L = isonicotinamida (ins), ácido isonicotínico (INA) e pirazinamida (PZA))

3.9.1 – Síntese do complexo *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{ins})]$

Em um balão de 25 mL contendo 0,100 g (1,53 mmol) do complexo $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})\text{H}_2\text{O}]$ em 10 mL de CH_2Cl_2 , previamente deaerado, foram adicionado aproximadamente 0,0393 g (3,213 mmol) do ligante isonicotinamida (ins). Agitou-se a reação durante 12 horas à temperatura ambiente. Reduziu-se o volume a aproximadamente 2 mL, em seguida foram adicionados cerca de 30 mL de éter etílico previamente deaerado. O precipitado vermelho formado foi filtrado, utilizando-se um funil de placa porosa, lavado com éter etílico e água para remoção do excesso de ligante e seco a vácuo. Massa = 0,0925 g (Rendimento = 80%).

3.9.2 – Síntese do complexo *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{INA})]$

Em um balão de 25 mL contendo 0,100 g (1,53 mmol) do complexo $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})\text{H}_2\text{O}]$ em 10 mL de CH_2Cl_2 , previamente deaerado, foram adicionado aproximadamente 0,0397 g (3,213 mmol) do ligante Ácido Isonicotínico (INA). Agitou-se a reação durante 12 horas à temperatura ambiente. Reduziu-se o volume a aproximadamente 2 mL. Em seguida foram adicionados cerca de 30 mL de éter etílico previamente deaerado. O precipitado vermelho formado foi filtrado, utilizando-se um funil de placa porosa, lavado com éter etílico e água para remoção do excesso de ligante e seco a vácuo. Massa = 0,0961 g (Rendimento = 83%).

3.9.3 – Síntese do complexo *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{PZA})]$

Em um balão de 25 mL contendo 0,100 g (1,53 mmol) do complexo $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})\text{H}_2\text{O}]$ em 10 mL de CH_2Cl_2 , previamente deaerado, foram adicionado aproximadamente 0,0396 g (3,213 mmol) do ligante Pirazinamida (PZA). Agitou-se a reação durante 12 horas à temperatura ambiente. Reduziu-se o volume a aproximadamente 2 mL. Em seguida foram adicionados cerca de 30 mL de éter etílico previamente deaerado. O precipitado vermelho formado foi filtrado, utilizando-se um funil de placa porosa, lavado com éter etílico e água para remoção do excesso de ligante e seco a vácuo. Massa = 0,0982 g (Rendimento = 86%).

3.10 – Síntese dos complexos de formula geral $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$ (N-N = 2,2'-bipiridina; 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina e 1,10-fenantrolina)

3.10.1 – Síntese do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$

Em um balão de 50 mL contendo 20 mL de e 10 mL de metanol, previamente deaerado, foi adicionado 0,100 g (1,325 mmol) do complexo *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$. Em seguida, foi adicionado à solução 0,0809 g (6,625 mmol) do ligante isonicotinamida (ins) e 0,0416 g (2,556 mmol) do sal NH_4PF_6 . A solução ficou sob agitação em atmosfera inerte por 12 horas. Em seguida reduziu-se o volume a aproximadamente 2 mL e foram adicionados cerca de 30 mL de éter etílico previamente deaerado. O precipitado amarelo formado foi filtrado, utilizando-se um funil de placa porosa, lavado com éter etílico e água para remoção do excesso de ligante e seco a vácuo. Massa = 0,9532 g (Rendimento = 87%).

3.10.2 – Síntese do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$

Em um balão de 50 mL contendo 20 mL de e 10 mL de metanol, previamente deaerado, foi adicionado 0,100 g (1,284 mmol) do complexo *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{fen})]$. Em seguida, foi adicionado à solução 0,0784 g (6,421 mmol) do ligante isonicotinamida (ins) e 0,0416 g (2,556 mmol) do sal NH_4PF_6 . A solução ficou sob agitação em atmosfera inerte por 12 horas. Em seguida, reduziu-se o volume a aproximadamente 2 mL e foram adicionados cerca de 30 mL de éter etílico previamente deaerado. O precipitado amarelo formado foi filtrado, utilizando-se um funil de placa porosa, lavado com éter etílico e água para remoção do excesso de ligante e seco a vácuo. Massa = 0,9891 g (Rendimento = 89%).

3.10.3 – Síntese do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$

Em um balão de 50 mL contendo 20 mL de e 10 mL de metanol, previamente deaerado, foi adicionado 0,100 g (1,278 mmol) do complexo *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]$. Em seguida, foi adicionado à solução 0,0780 g (6,390 mmol) do ligante isonicotinamida (ins) e 0,0416 g (2,556 mmol) do sal NH_4PF_6 . A solução ficou sob agitação em atmosfera inerte por 12 horas. Em seguida, reduziu-se o

volume a aproximadamente 2 mL e foram adicionados cerca de 30 mL de éter etílico previamente deaerado. O precipitado amarelo formado foi filtrado, utilizando-se um funil de placa porosa, lavado com éter etílico e água para remoção do excesso de ligante e seco a vácuo. Massa = 0,9475 g (Rendimento = 86%).

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÃO

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 – Caracterização dos complexos *mer*-[RuCl₃(dppb)(L)] (L = Isonicotinamida (ins), Ácido Isonicotínico (INA) e Pirazinamida (PZA))

As sínteses do Aquacomplexo com os ligantes Isonicotinamida (ins), Ácido isonicotínico (INA) e Pirazinamida (PZA) foram baseadas nos trabalhos de WOHNATH (1999) [43]. Como esperado esses ligantes tiveram o mesmo comportamento que os ligantes piridinas e derivados. A FIGURA 4. 1 mostra um esquema das reações desses ligantes com o complexo [RuCl₃(dppb)H₂O].

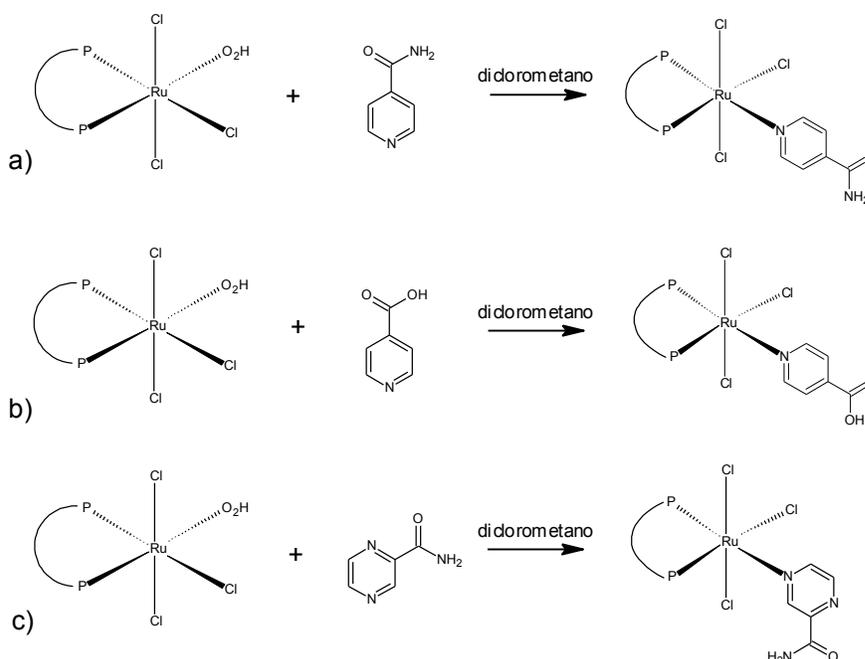


FIGURA 4. 1: Esquema das reações do aquacomplexo com os ligantes a) Isonicotinamida b) Ácido Isonicotínico c) Pirazinamida.

4.2.1 – Estudos Eletroquímicos

Comparando com os estudos eletroquímicos de WOHNATH (1999) [42], quando complexos do tipo *mer*-[RuCl₃(dppb)(L)] são reduzidos de Ru(III) para Ru(II) há a liberação de um cloreto e a formação, em solução, da espécie “[RuCl₂(dppb)(L)]”, que na presença do complexo inicial reage e forma outras espécies tanto binucleares, quanto mono nucleares. A FIGURA 4. 2 mostra o voltamograma cíclico do complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(INA)].

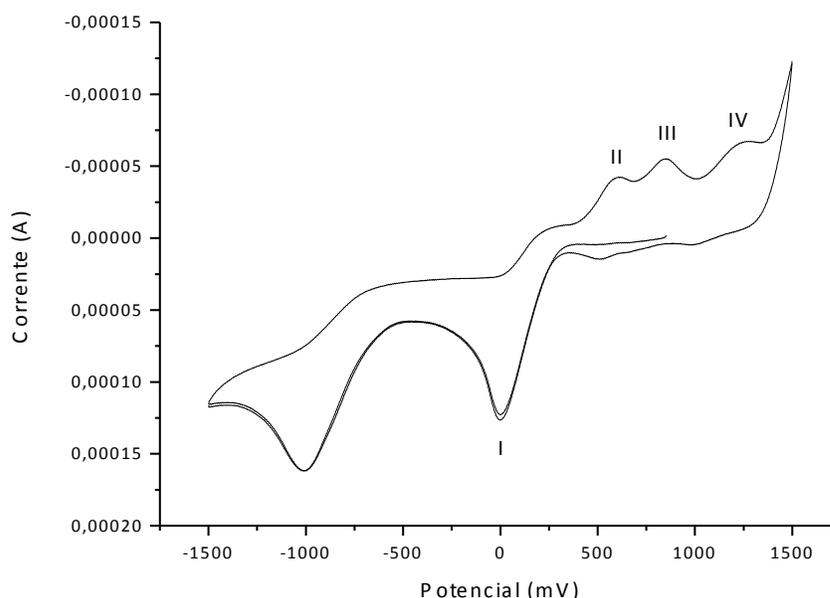


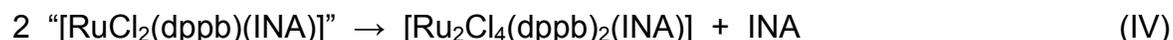
FIGURA 4. 2: Voltamograma cíclico do complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(INA)], em CH₂Cl₂ e eletrólito PTBA.

Observa-se que se partindo do potencial de repouso para região catódica ocorre a formação do primeiro processo I referente à espécie de rutênio II, “[RuCl₂(dppb)(INA)]”, em torno de -0,003 V. Esta espécie, na presença do complexo inicial *mer*-[RuCl₃(dppb)(INA)], reage e gera três novos complexos (II, III e IV) que podem ser vistos pelos seus potenciais de oxidação. Fazendo um estudo comparativo com WOHNATH (1999) [42] propomos que os processos de oxidação que surgem após a redução do complexo [RuCl₃(dppb)(INA)] são referente as espécies [Ru₂Cl₅(dppb)₂], potencial 0,609 V, *trans*-[RuCl₂(dppb)(INA)], potencial 0,852 V, e [Ru₂Cl₅(dppb)₂(INA)], potencial 1,231 V. A TABELA 4. 1 mostra os potenciais redox dos complexos *mer*-[RuCl₃(dppb)(L)].

TABELA 4. 1: Potenciais redox dos complexos *mer*-[RuCl₃(dppb)(L)].

Complexo	I (V)	II (V)	III (V)	IV (V)
<i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(ins)]	0,015	0,593	0,719	1,162
<i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(INA)]	-0,003	0,609	0,852	1,231
<i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(PZA)]	-0,111	0,584	0,801	1,071

O mesmo comportamento foi observado para os complexos *mer*-[RuCl₃(dppb)(ins)] e *mer*-[RuCl₃(dppb)(PZA)]. O mecanismo sugerido para esse processo é análogo ao proposto por WOHRATH (1999) [42].



4.2.2 – Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em pastilhas de KBr e as atribuições baseadas em comparações com os espectros dos ligantes, complexos precursores e dados da literatura[44; 45]. As principais bandas encontradas no espectro de absorção na região do infravermelho para a série de complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(L)] (L = ins, INA e PZA) estão resumidas na TABELA 4. 2.

TABELA 4. 2:Atribuição das principais bandas observada no espectro de absorção no infravermelho da série de complexos *mer*-[RuCl₃(dppb)(L)] [42].

Complexo	$\nu_{\text{(C=O)}}$	$\nu_{\text{(Ru-P)}}$	$\nu_{\text{(Ru-N)}}$	$\nu_{\text{(Ru-Cl)as}}$
<i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(ins)]	1682	516	420	337; 304; 277
<i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(INA)]	1687	514	429	334; 305; 279
<i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(PZA)]	1695	510	436	336; 308; 281

No complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(PZA)], as frequências de estiramento da ligação carbono-hidrogênio $\nu_{\text{(C-H)}}$ aromáticos e alifáticos aparecem em 3054 e 2915 cm⁻¹, respectivamente. As bandas de estiramento da ligação fósforo-carbono ($\nu_{\text{(P-C)}}$) exibidas pelo ligante bifosfínico são observada em 1482 e 998 cm⁻¹ [46], assim como,

$\delta_{(C=C)}$ do anel em 1435 e 699 cm^{-1} e $\delta_{(C-H)}$ do anel em 740 cm^{-1} . A FIGURA 4. 3 mostra o espectro do complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(PZA)].

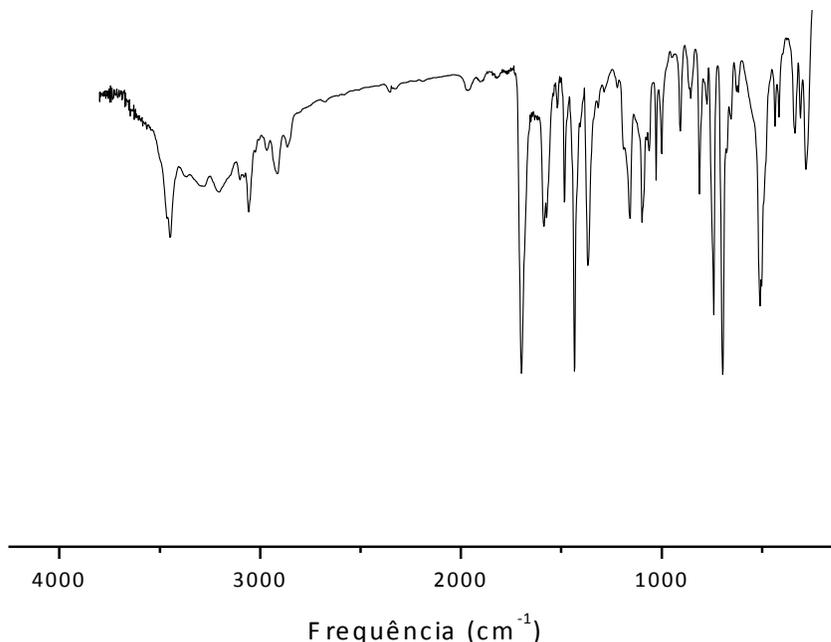


FIGURA 4. 3: Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(PZA)], em KBr.

Notou-se, também, a presença do ligante bifosfínico através da banda de forte intensidade em 689 cm^{-1} , atribuída $\gamma_{(C-H)}$ (deformação angular assimétrica fora do plano).

4.2.3 – Espectroscopia de Absorção na Região do Ultravioleta-Visível

Os espectros de UV- Vis dos complexos *mer*-[RuCl₃(dppb)(L)] (L = ins, INA e PZA) apresentaram comportamento similar ao complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)H₂O] [42]. A FIGURA 4. 4 mostra o espectro do complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(INA)], no qual observa-se três bandas na região do visível, entre 340 e 540 nm.

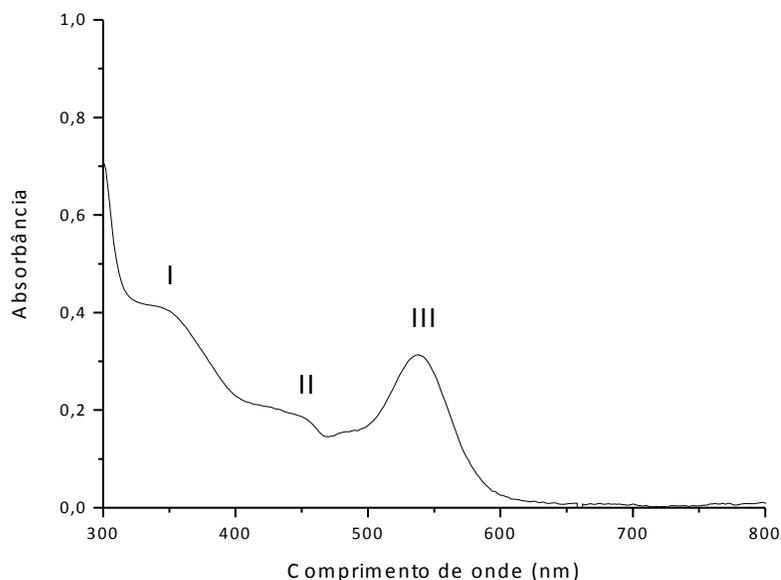


FIGURA 4. 4: Espectro de absorção na região do ultravioleta/visível do complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(INA)], em CH₂Cl₂.

A banda por volta de $\lambda \approx 340$ observada no espectro foi atribuída à transições TCLM, devido às transferências de carga dos orbitais internos do átomo de fósforo do ligante bifosfínico dppb para o orbital $d\pi$ do metal. A banda na região de 450 nm foi atribuída à transição do nitrogênio, do anel N-heterocíclico, para o rutênio. A banda na região de 540 nm foi atribuída à transição TCLM dos cloretos para o rutênio ($p\pi(\text{Cl}) \rightarrow d\pi(\text{Ru(III)})$). A TABELA 4. 3 mostra as bandas dos espectros eletrônicos dos complexos *mer*-[RuCl₃(dppb)(L)].

TABELA 4. 3: Bandas observadas nos espectros eletrônicos dos complexos *mer*-[RuCl₃(dppb)(L)].

Complexo	I	II	III
<i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(ins)]	353	450	538
<i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(INA)]	346	449	537
<i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(PZA)]	349	450	541

4.2.4 – Condutividade e Análise Elementar

A medida de condutividade para a série de complexos *mer*-[RuCl₃(dppb)(L)] (L = ins, INA e PZA) foram realizadas em diclorometano. O valores medidos foram de 1,207, 2,586 e 4,012 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ para os complexos *mer*-[RuCl₃(dppb)(ins)], *mer*-[RuCl₃(dppb)(INA)] e *mer*-[RuCl₃(dppb)(PZA)], respectivamente. Portanto, estes complexos são não-eletrólito em solução, para essa faixa de valores, em diclorometano [47].

A partir dos dados de microanálise foi possível confirmar a estrutura dos complexos (FIGURA 4. 5). A TABELA 4. 4 apresenta os valores de análise elementar para a série [RuCl₃(dppb)(L)] (L = INA, PZA e ins).

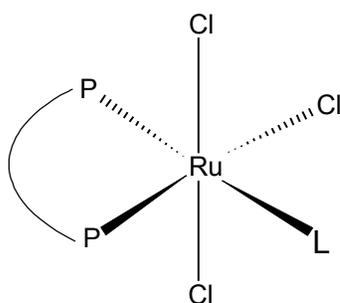


FIGURA 4. 5: Estrutura proposta para os complexos *mer*-[RuCl₃(dppb)(L)] (L = INA, PZA e ins).

TABELA 4. 4: Valores de análise elementar para os complexos [RuCl₃(dppb)(L)] (L = INA, PZA e ins).

<i>Complexo</i>	%C (cal.)	%H (cal.)	%N (cal.)
<i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(INA)]	53,60 (53,94)	4,02 (4,39)	2,19 (1,85)
<i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(PZA)]	52,35 (52,36)	4,66 (4,39)	5,81 (5,55)
<i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(ins)]	53,86 (54,01)	5,14 (4,53)	4,17 (3,71)

4.3 – Caracterização dos complexos $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$ (N-N = 2,2'-bipiridina (bipy), 1,10-fenantrolina (fen) e 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina (4,4'-Me-bipy))

Os complexos de fórmula geral $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$ foram sintetizados como mostra o esquema da FIGURA 4. 6. Para as reações de diferentes precursores de rutênio com o ligante isonicotinamida. Observou-se que este se liga através do nitrogênio da piridina. Este comportamento foi similar aos compostos com ligantes N-heterocíclicos estudados por VALLE (2005) [48], onde um série de diferentes ligantes piridínicos foram sintetizados e caracterizados a partir do precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$.

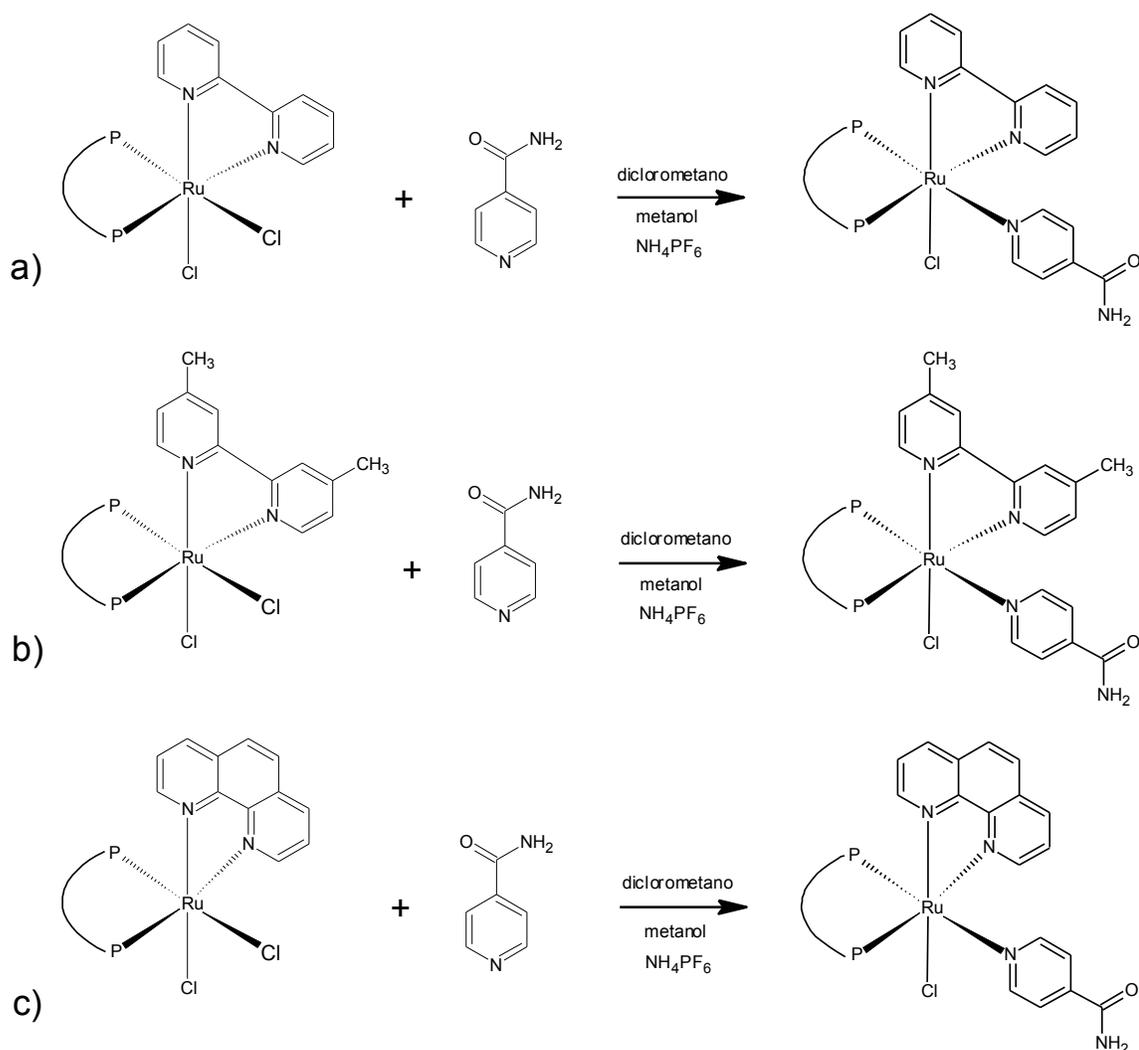


FIGURA 4. 6: Esquema para a obtenção dos complexos a) $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ b) $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$ e c) $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$.

4.3.1 – Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN de fósforo dos complexos desta série mostram dois dubletos próximos, indicando a não equivalência dos fósforos. A FIGURA 4. 7 mostra o RMN de fósforo do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$, com um dubleto na região de 38 ppm e o outro na região de 37 ppm ($^2J_{\text{pp}}$ 36,4 Hz).

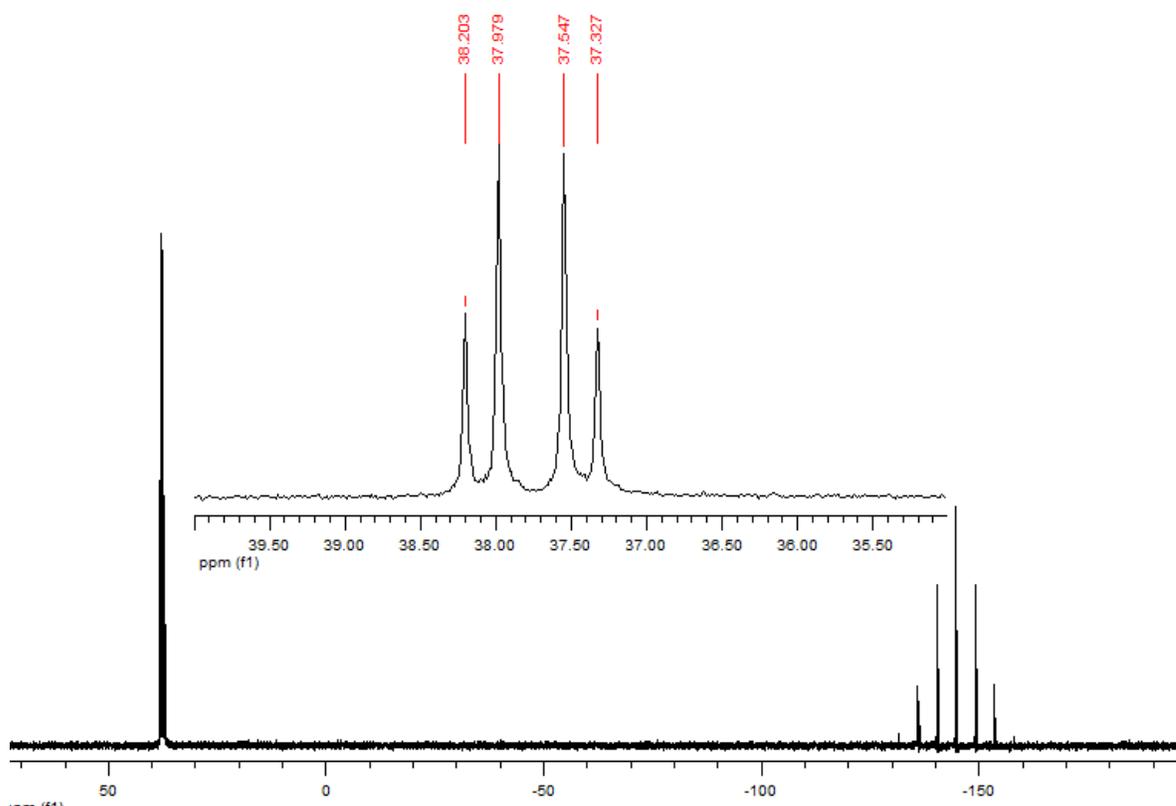


FIGURA 4. 7: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$.

Os precursores apresentam dois dubletos, em 43 e 32 ppm, sugerindo que durante a reação ocorra a saída do cloreto *trans* ao átomo de fósforo e a entrada do nitrogênio piridínico, aproximando os dubletos. Este fato ocorre devido o ligante cloreto ser um σ e π doador, blindando o fósforo *trans* a ele. Com a saída do cloreto e a entrada do ligante piridínico, que é π receptor, o fósforo *trans* ao mesmo fica mais desblindado, caindo em uma região de campo mais baixo.

A TABELA 4. 5 mostra os valores dos deslocamentos químicos e as constantes de acoplamento para os complexos da série.

TABELA 4. 5: Deslocamentos químicos e constantes de acoplamento para a série de complexos $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$.

Complexo	δ (ppm)	$^2J_{\text{pp}}$ (Hz)
$[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	37,7 e 37,0	36,4
$[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$	38,1 e 37,4	36,4
$[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$	38,4 e 37,9	36,4

4.3.2 – Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em pastilhas de KBr e as atribuições baseadas em comparações com os espectros dos ligantes, complexos precursores e dados da literatura [43; 44]. As principais bandas encontradas nos espectros de absorção estão listadas na TABELA 4. 6.

TABELA 4. 6: Atribuição das principais bandas observada no espectro de absorção na região da série de complexos $[\text{RuCl}(\text{N-N})(\text{dppb})(\text{ins})]\text{PF}_6$.

Complexo	$\nu_{(\text{C}=\text{O})}$	$\delta_{(\text{NH}_2)}$	$\nu_{(\text{Ru-P})}$	$\nu_{(\text{Ru-N})}$	$\nu_{(\text{Ru-Cl})}$
$[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	1689	1597	557	520	248
$[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$	1680	1621	555	512	-
$[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$	1693	1600	559	513	-

Para o complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ as bandas de estiramento da ligação fósforo-carbono ($\nu_{(\text{P-C})}$) do ligante bifosfínico são observadas em 1470 e 993 cm^{-1} [46], assim como, $\delta_{(\text{C}=\text{C})}$ do anel em 1434 e 698 cm^{-1} e $\delta_{(\text{C-H})}$ do anel em 739 cm^{-1} . Para o complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$ foi observada uma banda de baixa intensidade em torno de 248 cm^{-1} referente ao estiramento Ru-Cl assimétrico, sendo que para os outros complexos da série não foi possível atribuir esta banda.

Um fato interessante a ser ressaltado é o deslocamento das bandas $\nu_{(\text{C}=\text{O})}$, estiramento da dupla ligação carbono-oxigênio, e $\delta_{(\text{NH}_2)}$, deformação angular simétrica no plano, em relação ao ligante livre, 1666 cm^{-1} e 1632 cm^{-1} , respectivamente. Acredita-se que esse deslocamento de cerca de 20 cm^{-1} nos complexos se deve ao fato

de estarem ocorrendo interações intermoleculares. A FIGURA 4. 8 mostra o espectro de absorção na região do infravermelho do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$.

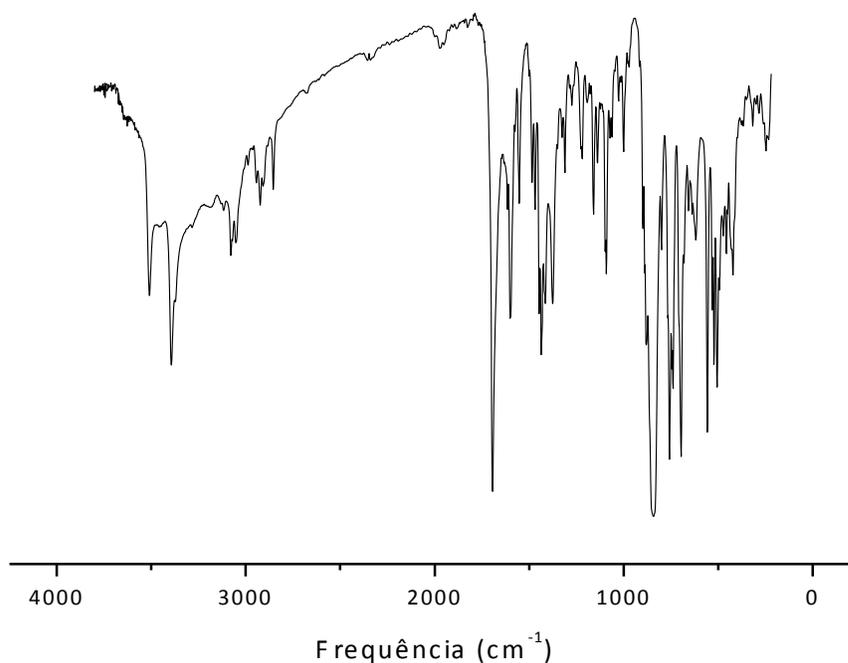


FIGURA 4. 8: Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo $[\text{RuCl}(\text{bipy})(\text{dppb})(\text{ins})]\text{PF}_6$, em KBr.

4.3.3 – Estudos Eletroquímicos

Os precursores, *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{N-N})]$, para a série desses complexos apresentam potencial de meia onda ($E_{1/2}$) em torno de 600 mV, enquanto que os complexos, $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$ apresentam $E_{1/2}$ em torno de 1200 mV. A FIGURA 4. 9 mostra o voltamograma cíclico do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$.

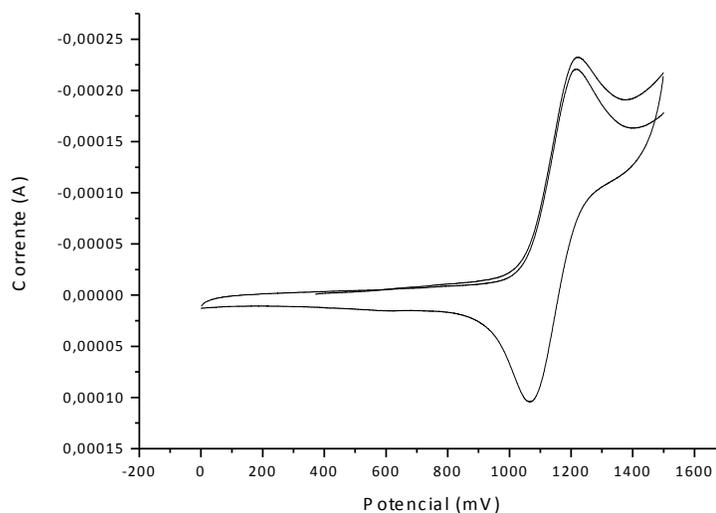


FIGURA 4. 9: Voltamograma cíclico do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 , em CH_2Cl_2 e eletrólito PTBA.

Os potenciais redox dos complexos obtidos neste trabalho aumentam em relação ao precursor, devido à diminuição da densidade eletrônica do centro metálico, pelo fato de estarmos trocando um ligante σ/π -doador por um ligante π -receptor, o que faz com que o centro metálico (Ru(II)) fique empobrecido de elétrons, necessitando de uma maior energia para a oxidação do mesmo. A FIGURA 4. 10 mostra os voltamogramas de pulso diferencial do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$. Os valores da relação entre o pico anódico (I_{pa}) e catódico (I_{pc}) e do potencial formal de meia onda estão apresentados na (TABELA 4. 7) para a série de complexos $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$.

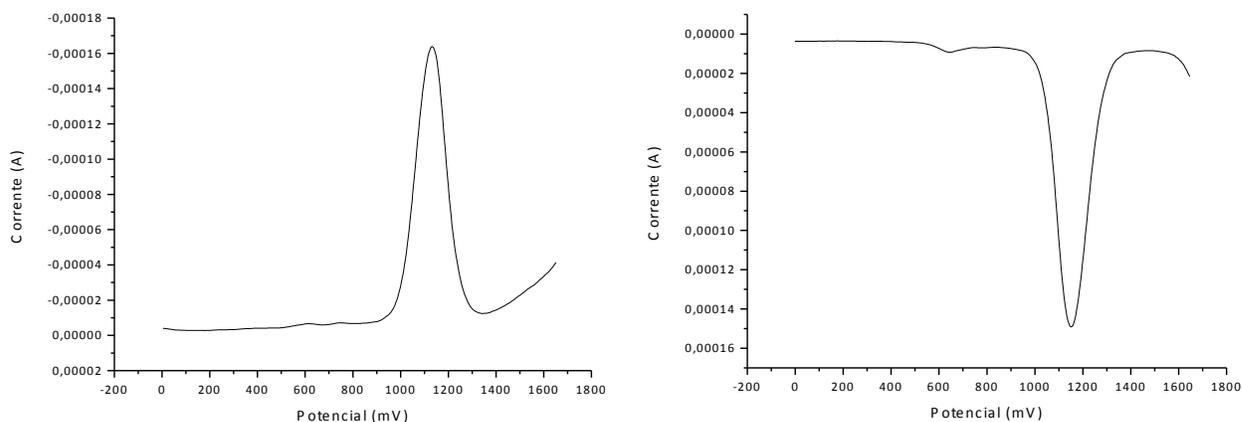


FIGURA 4. 10: Voltamogramas de Pulso diferencial do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 .

TABELA 4. 7: Valores de I_{pa}/I_{pc} , E_{pa} , E_{pc} e $E_{1/2}$, em mV, para a série de complexos $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$.

Complexos	I_{pa}/I_{pc}	E_{pa}	E_{pc}	$E_{1/2}$
$[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	1,11	1220	1100	1160
$[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$	1,03	1219	1072	1145
$[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$	1,10	1304	1130	1217

Observa-se, também, que ocorre uma relação entre a basicidade do ligante bipyridínico com o potencial redox. O ligante 4,4'-Me-bipy possui um valor de pK_a maior (4,55) que o ligante bipy (4,20) [49], logo doa mais densidade eletrônica para o metal, fazendo com que o seu potencial de meia onda ($E_{1/2}$) seja menor.

4.3.4 – Difração de raios X

Através do método de difração de raios-X é possível investigar a estrutura dos cristais dos compostos e determinar, com boa confiabilidade, o seu arranjo atômico.

Neste trabalho, o método de difração de raios X foi de grande importância, o qual auxiliou na elucidação das estruturas dos novos compostos obtidos, observando a coordenação do ligante pelo nitrogênio piridínico. Os cristais foram obtidos pela evaporação lenta de uma solução do complexo em diclorometano em um sistema fechado.

Os complexos precursores *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ (FIGURA 4. 11) e *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{fen})]$ (FIGURA 4. 12) apresentam um cloreto na posição *trans* ao átomo de fósforo do ligante dppb.

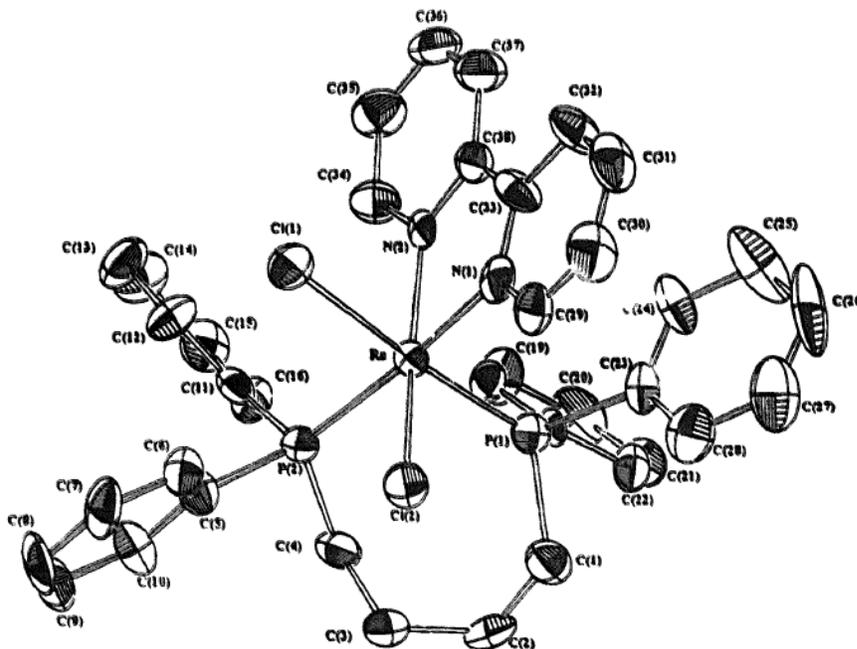


FIGURA 4. 11: Estrutura cristalográfica do complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)] [40].

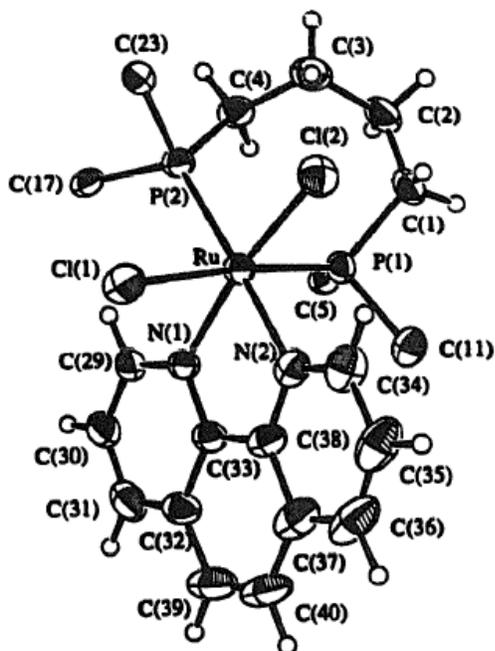


FIGURA 4. 12: Estrutura cristalográfica do complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(fen)] [40].

A ligação Ru–Cl *trans* ao átomo de fósforo da dppb é mais longa que a ligação do que a ligação Ru–Cl *trans* ao átomo de nitrogênio do ligante bipyridínico, confirmando a preferência da retirada deste cloro, pois esta ligação é mais fraca devido

a forte interação Ru–P *trans* a ele. A TABELA 4. 8 mostra o comprimento das principais ligações nos complexos precursores.

TABELA 4. 8: Comprimento das principais ligações dos complexos *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)] e *cis*-[RuCl₂(dppb)(fen)] [40].

Ligação	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(bipy)]	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(fen)]
Ru–N1	2,088(9)	2,092(3)
Ru–N2	2,097(8)	2,117(4)
Ru– P1	2,279(3)	2,286(1)
Ru–P2	2,331(3)	2,322(1)
Ru–Cl1	2,484(3)	2,421(1)
Ru– Cl2	2,428(3)	2,417(1)

Quando é feita a troca do ligante cloreto por ligante N-heterocíclico, como a isonicotinamida, há um aumento no comprimento da ligação Ru–P1 *trans* a ele, devido o efeito competitivo entre os átomos de fósforo da dppb e o nitrogênio do ligante ins.

As estruturas cristalográficas dos complexos [RuCl(ins)(dppb)(bipy)]PF₆ e [RuCl(ins)(dppb)(fen)]PF₆ estão representadas nas FIGURA 4. 13 e FIGURA 4. 14 respectivamente. A TABELA 4. 9 mostra o comprimento das principais ligações nos complexo [RuCl(ins)(dppb)(bipy)]PF₆ e [RuCl(ins)(dppb)(fen)]PF₆.

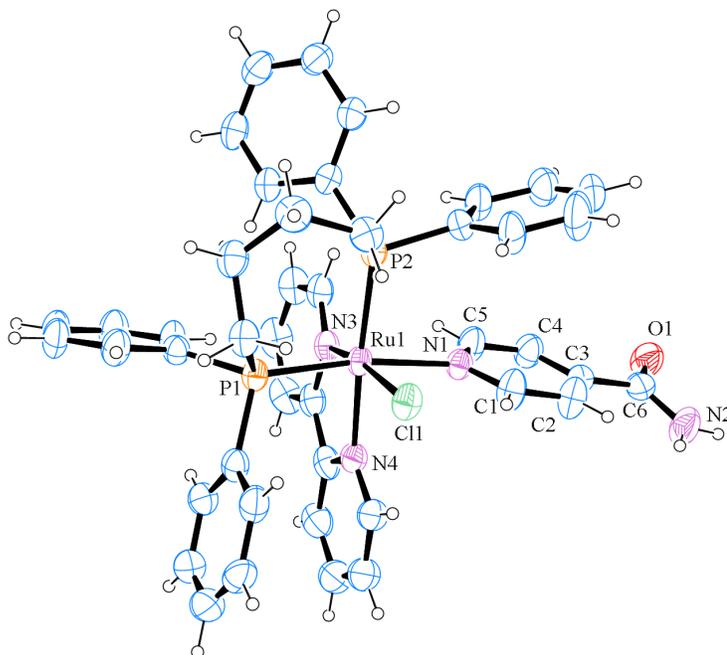


FIGURA 4. 13: Representação do tipo ORTEP do complexo [RuCl(ins)(dppb)(bipy)]PF₆ com os elipsoides a 30% de probabilidade.

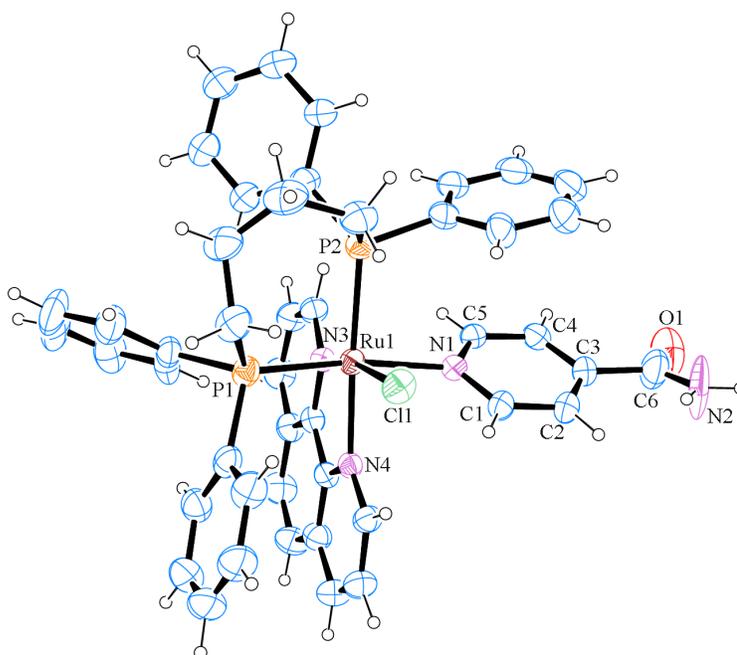


FIGURA 4. 14: Representação do tipo ORTEP do complexo [RuCl(ins)(dppb)(fen)]PF₆ com os elipsoides a 30% de probabilidade.

TABELA 4. 9: Comprimento das principais ligações nos complexos $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$.

Ligação	$[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	$[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$
Ru1–N1	2,219 (3)	2,192 (3)
Ru1–N3	2,089 (3)	2,068 (3)
Ru1–N4	2,116 (4)	2,122 (3)
C6–N2	1,328 (6)	1,306 (12)
C6–O1	1,223 (6)	1,216 (15)
Ru1– P1	2,3220 (11)	2,3227 (11)
Ru1–P2	2,3422 (12)	2,3409 (11)
Ru1– Cl1	2,4366 (10)	2,4272 (10)

Os comprimentos de ligação do Ru-N_(py) são mais longos que os da ligação Ru-N_(bipy), como era de se esperar, devido ao efeito quelante da bipyridina o que torna a ligação mais forte e mais curta do que com os ligantes piridínicos substituídos. Assim como os comprimentos de ligação Ru-X (X = haleto) *trans* ao átomo de fósforo são mais longos que Ru-X *trans* ao átomo de N da bipy, como observado por Cyr [50], devido a forte influência *trans* do fósforo.

Os complexos se apresentam em uma forma octaédrica distorcida. Estas distorções podem ser vistas através dos ângulos de ligação N3-Ru1-Cl1, P1-Ru1-P2 e N3-Ru1-N4, para o complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ apresentam valores de 169,07 (10), 93,66 (4) e 77,54 (14), respectivamente. A TABELA 4. 10 mostra os valores dos principais ângulos das ligações dos complexos $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$.

TABELA 4. 10: Ângulos de ligação dos complexos $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$.

Ângulo	$[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	$[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$
N3-Ru1-N4	77,54 (14)	78,79 (11)
N3-Ru1-N1	86,80 (12)	86,94 (11)
N4-Ru1-N1	83,50 (12)	83,73 (11)
N3-Ru1-P1	97,82 (9)	99,48 (8)
N4-Ru1-P1	89,82 (9)	90,02 (8)
N1-Ru1-P1	170,90 (9)	170,03 (8)
N3-Ru1-P2	103,24 (10)	100,57 (9)
N4-Ru1-P2	176,29 (9)	176,91 (8)
N1-Ru1-P2	92,90 (9)	93,23 (8)
P1-Ru1-P2	93,66 (4)	93,06 (4)
N3-Ru1-Cl1	169,07 (10)	169,08 (9)
N4-Ru1-Cl1	91,99 (10)	91,06 (8)
N1-Ru1-Cl1	88,93 (9)	87,96 (8)
P1-Ru1-Cl1	85,12 (4)	84,39 (4)
P2-Ru1-Cl1	87,01 (4)	89,35 (4)

Através das estruturas cristalográficas podemos observar as interações intermoleculares. Os grupos carbonila e grupo amina interagem com os grupos carboxila e amina de outra molécula através de ligações de hidrogênio. Isso explica o deslocamento nas bandas de estiramento e de deformação angular nos espectros de absorção na região de infravermelho para as ligações carbono-oxigênio e nitrogênio-hidrogênio, respectivamente.

A FIGURA 4. 15 mostra as interações entre as moléculas no complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$. Para o complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ as interações são entre o átomo de oxigênio carbonílico com um dos hidrogênio do grupo fenila do ligante dppb e do átomo de nitrogênio do grupo amina com o fluoreto do contra-íon PF_6 (FIGURA 4. 16). A TABELA 4. 11 mostra os principais dados cristalográficos e parâmetro de refinamento dos complexos $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ e $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$.

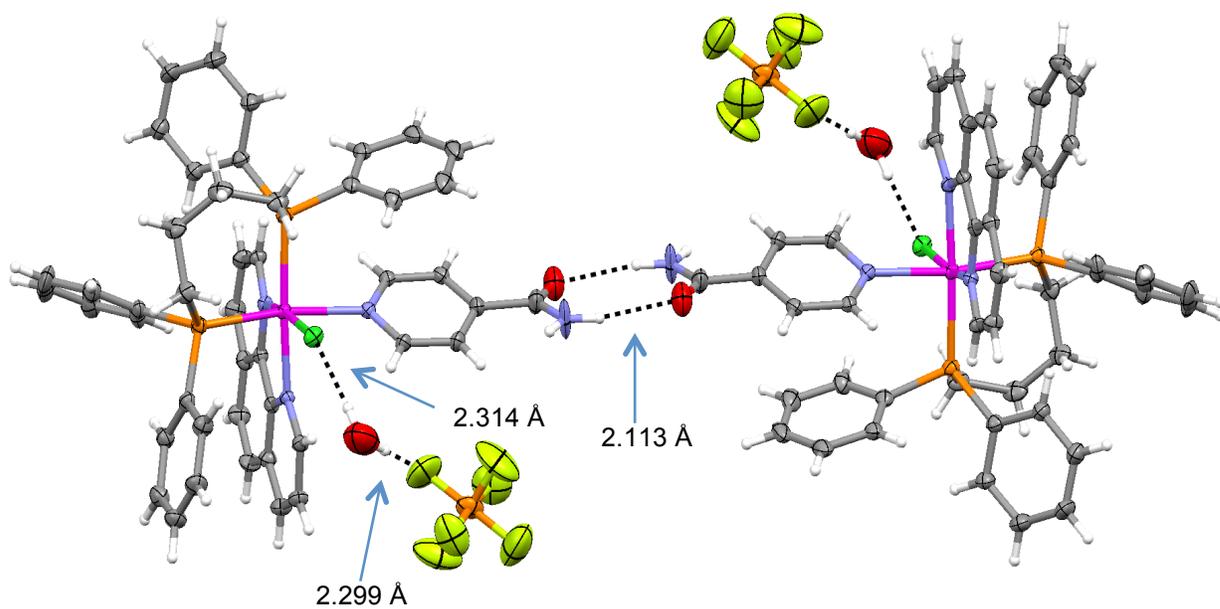


FIGURA 4. 15: Interações intermoleculares no complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$.

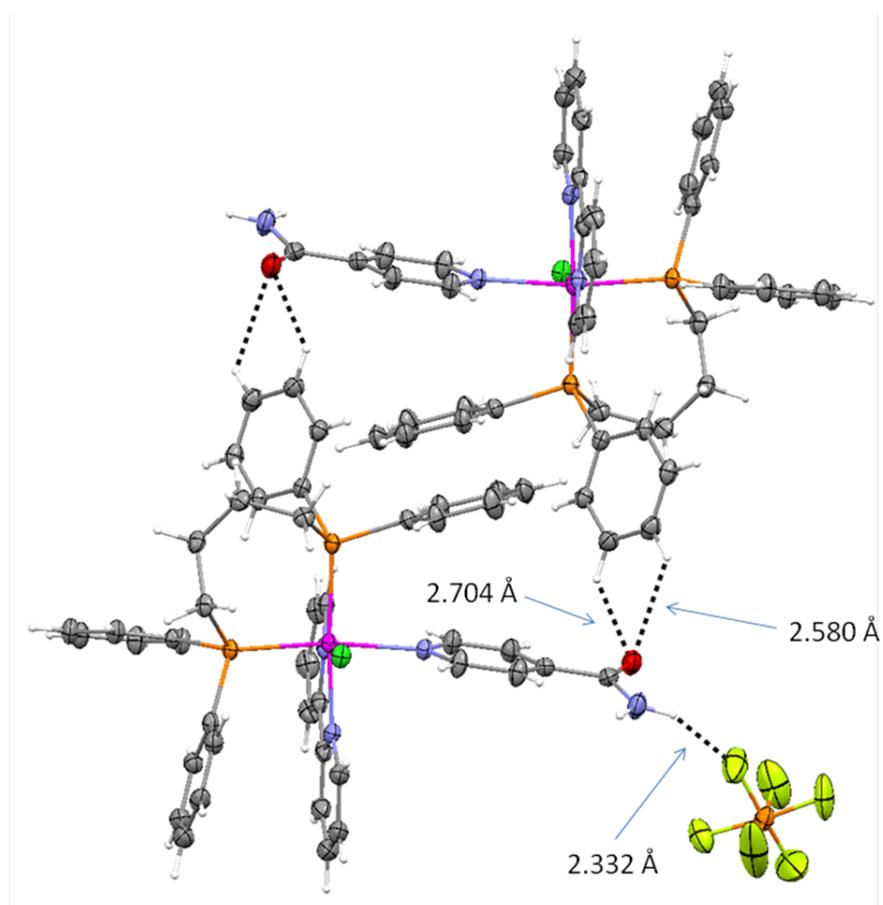


FIGURA 4. 16: Interações intermoleculares no complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$.

TABELA 4. 11: Dados cristalográficos e parâmetro de refinamento dos complexos [RuCl(ins)(dppb)(bipy)]PF₆ e [RuCl(ins)(dppb)(fen)]PF₆.H₂O

Complexo	[RuCl(ins)(dppb)(bipy)]PF ₆	[RuCl(ins)(dppb)(fen)]PF ₆ .H ₂ O
Empirical formula	[RuC ₄₄ H ₄₂ ClN ₄ OP ₂] ₂ PF ₆	[RuC ₄₆ H ₄₂ ClN ₄ OP ₂] ₂ PF ₆ .H ₂ O
Formula weight	895.64	1028.28
Crystal system	Orthorhombic	Monoclinic
Space group	Pbca	P2 ₁ /n
Unit cell dimensions		
a (Å)	14.696(2)	10.6017(1)
b (Å)	19.660(3)	29.8976(4)
c (Å)	29.420(7)	16.7784(2)
α (deg)	90	90
β (deg)	90	93.527(1)
γ (deg)	90	90
Volume (Å ³)	8500.1(3)	5308.1(1)
Z	8	4
Density calculated (Mg/m ³)	1.541	1.287
Absorption coefficient (mm ⁻¹)	0.612	0.494
F(000)	4016	2096
Crystal size (mm ³)	0.26 x 0.09 x 0.08	0.17 x 0.13 x 0.09
θ range for data collection (deg)	3.04 to 26.50°.	3.01 to 26.75
Index ranges	-18 ≤ h ≤ 18, -24 ≤ k ≤ 21, -36 ≤ l ≤ 27	-13 ≤ h ≤ 13, -37 ≤ k ≤ 35, -21 ≤ l ≤ 21
Reflections collected	48585	37596
Independent reflections	8648 [R(int) = 0.0871]	11234 [R(int) = 0.0596]
Completeness to θ (%)	98.0	99.4
Max. and min. transmission	0.970 and 0.917	0.962 and 0.930
Data / restraints / parameters	8648 / 0 / 541	11234 / 4 / 595
Goodness-of-fit on F ²	1.030	1.023
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0576, wR2 = 0.1482	R1 = 0.0539, wR2 = 0.1563
R indices (all data)	R1 = 0.1030, wR2 = 0.1653	R1 = 0.0933, wR2 = 0.1730
Largest diff. peak and hole (e.Å ⁻³)	0.678 and -0.708	0.717 and -0.574

4.3.5 – Condutividade e Análise Elementar

As medidas de condutividade para a série de complexos $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$ (N-N = 2,2'-bipiridina (bipy), 1,10'-fenantrolina (fen) e 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina (4,4'-Me-bipy)) foram realizadas em diclorometano. Os valores medidos foram de 28,27; 25,15 e 26,93 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ para os complexos $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$ e $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$, respectivamente. Portanto, estes complexos são eletrólito 1:1 em solução, para a faixa de 12–77 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ em diclorometano [46].

As estruturas cristalográficas e os resultados de microanálise confirmam a estrutura proposta para a série $[\text{RuCl}(\text{N-N})(\text{dppb})(\text{ins})]\text{PF}_6$. A TABELA 4. 12 apresenta os valores de Análise Elementar dos complexos $[\text{RuCl}(\text{N-N})(\text{dppb})(\text{ins})]\text{PF}_6$.

TABELA 4. 12: Valores de Análise Elementar para a série de complexos $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$.

Complexo	%C (cal.)	%H (cal.)	%N (cal.)
$[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$	52,72 (53,58)	4,63 (4,29)	5,79 (5,68)
$[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$	54,44 (54,69)	4,75 (4,19)	5,69 (5,55)
$[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6\cdot\text{H}_2\text{O}$	53,04 (53,73)	4,37 (4,31)	5,73 (5,45)

4.4 – Avaliação da atividade antimicobacteriana e Citotoxicidades dos complexos

Os complexos e os ligantes foram avaliados frente ao *M. tuberculosis* H₃₇Rv ATCC 27294 utilizando a técnica de Rezaurin Microtiter Assay (REMA), para a determinação de sua Concentração Inibitória Mínima (CIM). Os compostos foram avaliados, também, quanto a sua citotoxicidade, empregando células de fibroblastos de camundongo (linhagem L-929), em que foi possível determinar a concentração do composto capaz de inibir o crescimento de 50% das células (IC₅₀).

Ao contrário do que se esperava, os dados de MIC para a série de complexos $[\text{RuCl}(\text{N-N})(\text{dppb})(\text{ins})]\text{PF}_6$ não apresentaram boa atividade frente a esse tipo de bactéria, pois foram capazes de inibir o crescimento bacteriano apenas em concentrações maiores que 135 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (TABELA 4. 13). Esperava-se que estes

complexos apresentassem atividade próxima aos complexos estudados por Pavan e colaboradores [29], pois estes complexos apresentaram muito boa atividade (TABELA 4. 14).

TABELA 4. 13: Resultados das avaliações biológicas (CIM e IC₅₀) e determinação do IS dos compostos.

Compostos	CIM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	CIM ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	IC ₅₀ ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)
[RuCl(ins)(dppb)(bipy)]PF ₆	117,53	139,7	24,12 ± 1,54
[RuCl(ins)(dppb)(fen)]PF ₆	234,14	270,6	12,15 ± 0,92
[RuCl(ins)(dppb)(4,4'-Me-bipy)]PF ₆	> 250	287	13,57 ± 1,16
<i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(INA)]	> 250	330	5,89 ± 0,68
<i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(PZA)]	136,51	180,3	6,59 ± 0,69
<i>mer</i> -[RuCl ₃ (dppb)(ins)]	> 250	331	5,76 ± 0,71
ácido isonicotínico	> 250	2031	-
isonicotinamida	> 250	2047	-
pirazinamida	100	813	-
isoniazida	0,03	0,36	-

TABELA 4. 14: Resultado da CIM dos complexos estudados por Pavan e colaboradores [29].

Compostos	CIM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	CIM ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)
[Ru(pic)(dppb)(bipy)]PF ₆	0,91	0,95
[Ru(pic)(dppb)(fen)]PF ₆	0,63	0,74
[Ru(pic)(dppb)(4,4'-Me-bipy)]PF ₆	0,49	0,50

Os complexos da série *mer*-[RuCl₃(dppb)(L)], também, não apresentaram boa atividade para esse tipo de bactéria, pois foram capazes de inibir o crescimento bacteriano apenas em concentrações maiores que 180 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ (TABELA 4. 13).

Na tentativa de entender o motivo da baixa atividades destes complexos foram realizados um experimento de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ com o precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ e o complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ em diferentes solventes. Comparando os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$ em CH_2Cl_2 (FIGURA 4. 17) e em DMSO (FIGURA 4. 18) e do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ em CH_2Cl_2 (FIGURA 4. 19) e em DMSO (FIGURA 4. 20), podemos notar que houve troca do ligante *trans* ao átomo de fósforo pelo solvente DMSO tanto com no complexo *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$, quanto $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$.

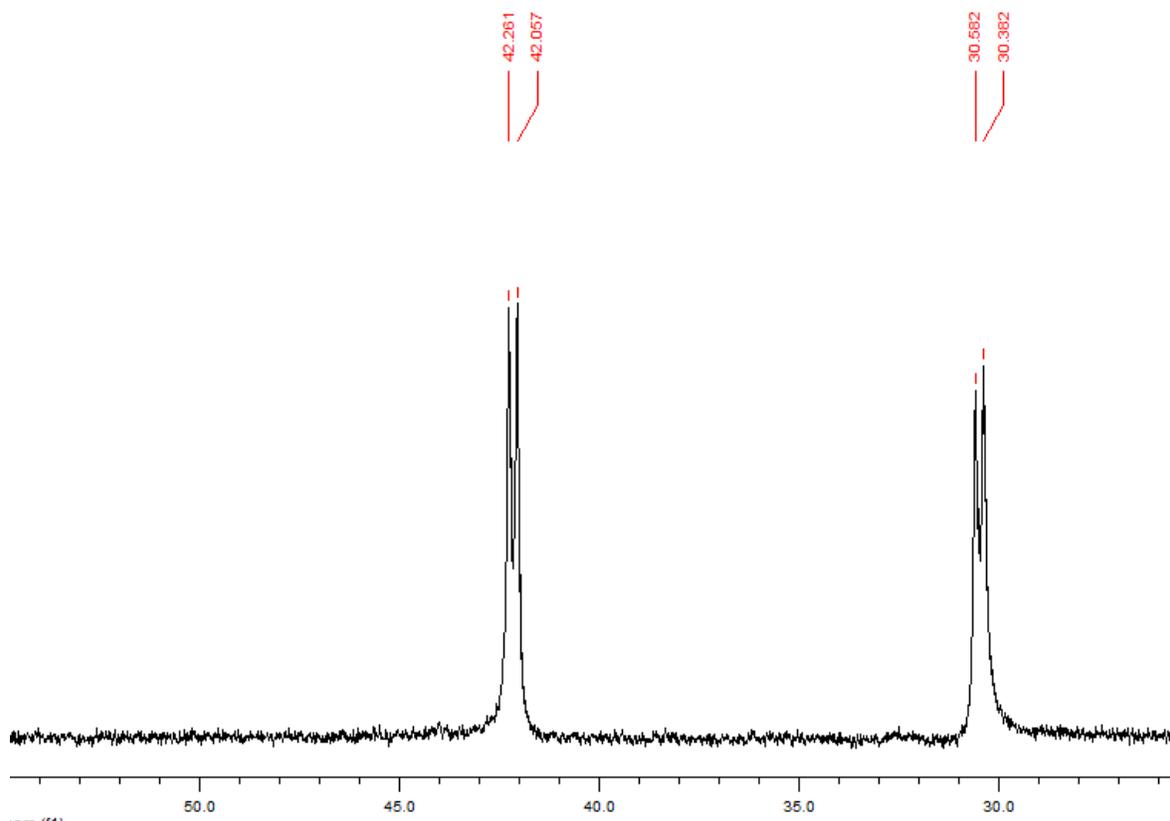


FIGURA 4. 17: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$, em CH_2Cl_2 .

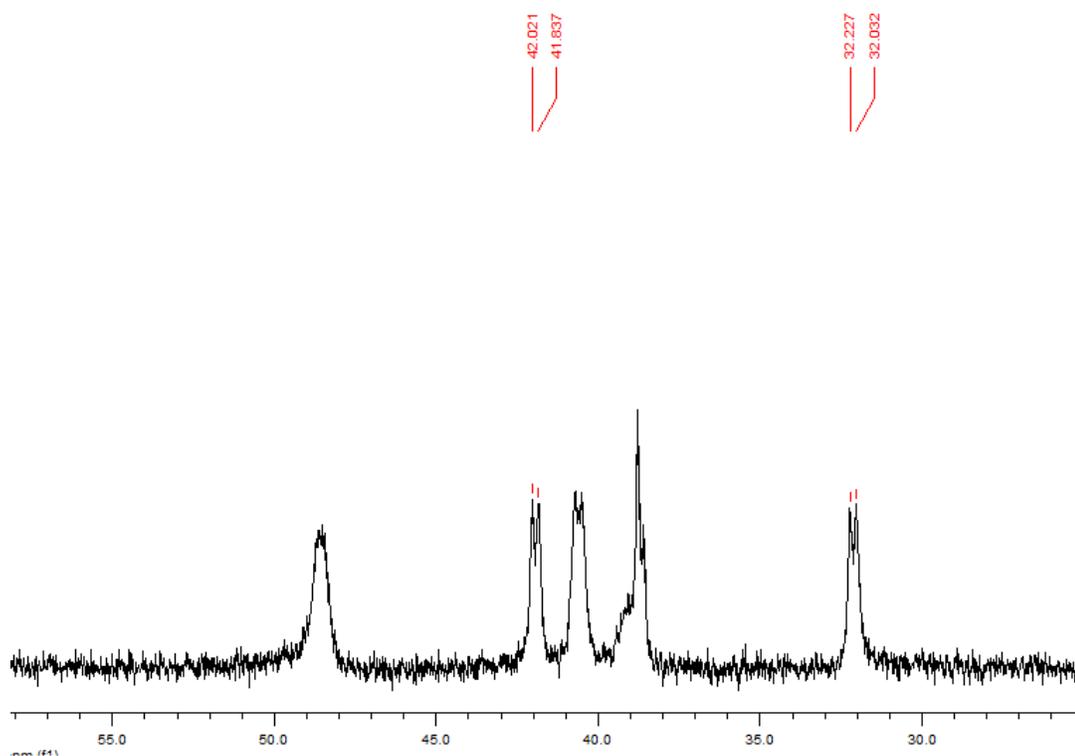


FIGURA 4. 18: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{bipy})]$, em DMSO.

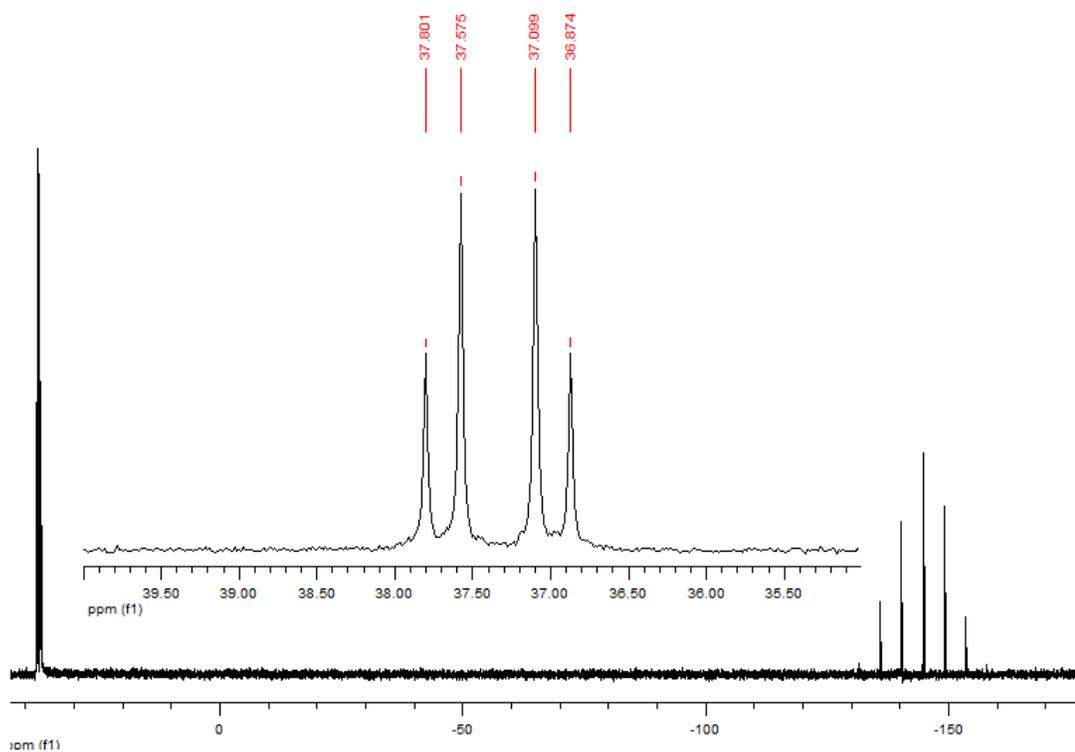


FIGURA 4. 19: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 .

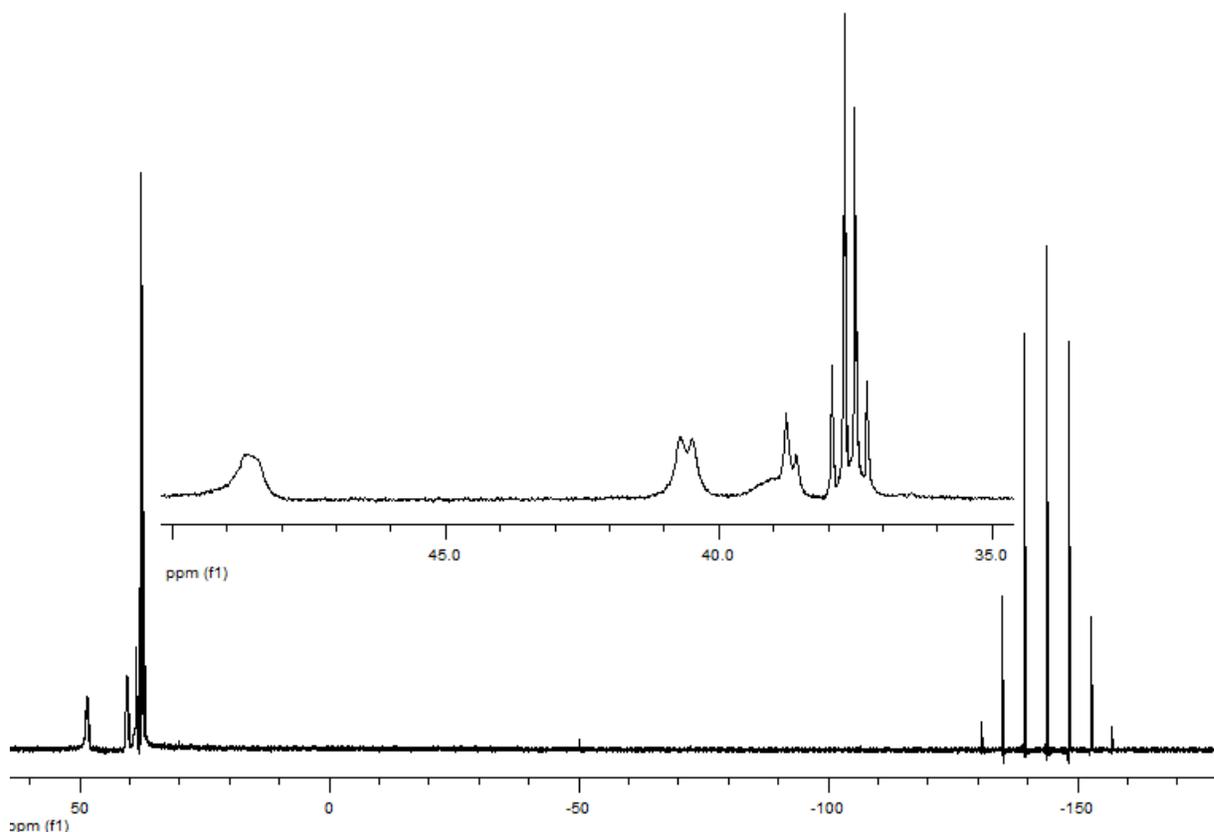


FIGURA 4. 20: Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do composto $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ realizado em DMSO.

Levando em consideração que para a realização dos experimentos as amostras são solubilizadas em DMSO e em meio de cultura, que apresenta várias biomoléculas coordenantes, podemos sugerir que o composto analisado já não é na sua totalidade o composto de partida e sim um novo complexo contendo agora a substituição do ligante ins por outro ou mesmo pelo solvente DMSO coordenando. Este fato pode estar contribuindo para os altos valores de MIC.

Já para o complexo *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{PZA})]$ a razão deste não ter apresentado uma boa atividade pode estar relacionada ao pH do meio de cultura utilizado para a realização do experimento. A PZA apresenta alta atividade em meio ácido, já em meio neutro sua atividade diminui drasticamente (TABELA 4. 15) [51].

TABELA 4. 15: Variação dos valores de CIM para a PZA em diferentes valores de pH [51].

pH	CIM ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
5,5	50
5,8	100
6,1	200
6,8	> 200

Com relação aos ensaios de citotoxicidade dos compostos frente à linhagem de fibroblasto de camundongo (L-929) observou-se que os compostos da série $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$ apresentaram maiores valores de IC_{50} do que os complexos da série $\text{mer-}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{L})]$, indicando uma menor toxicidade (TABELA 4. 13), sendo o complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ o que apresentou menor toxicidade. O gráfico FIGURA 4. 21 mostra os resultados da viabilidade para a série $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$ e a FIGURA 4. 22 mostra os valores de viabilidade para a série $\text{mer-}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{L})]$.

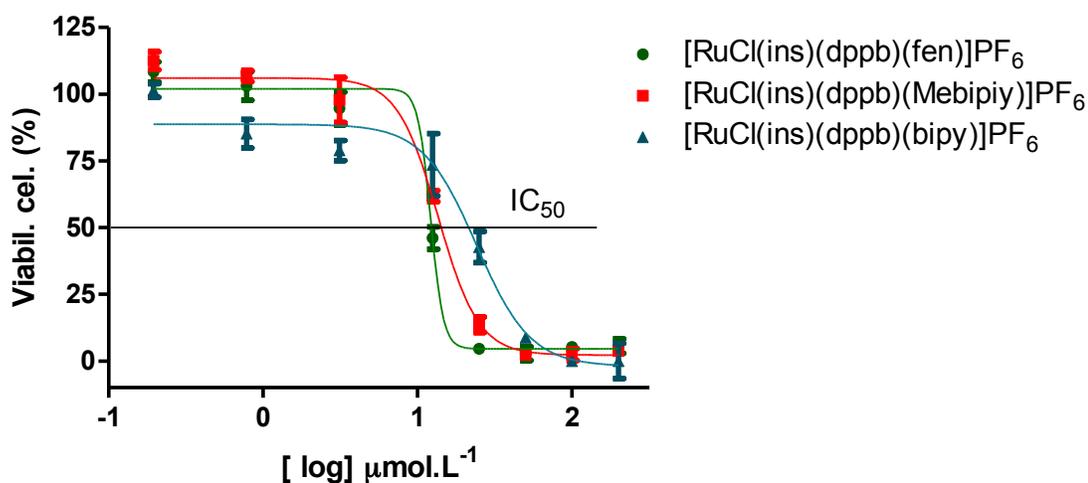


FIGURA 4. 21: Gráfico de viabilidade celular contra a linhagem celular de fibroblastos de camundongo (L-929) para a série $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{N-N})]\text{PF}_6$.

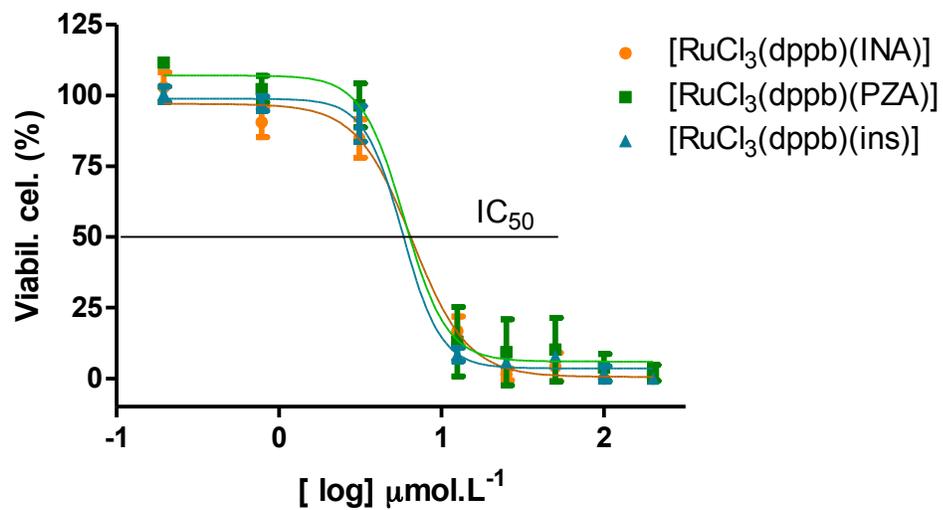


FIGURA 4. 22: Gráfico de viabilidade celular contra a linhagem celular de fibroblastos de camundongo (L-929) para a série *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{L})]$.

CAPÍTULO 5: CONCLUSÃO

5 – CONCLUSÃO

Neste trabalho foram sintetizados seis novos complexos de rutênio contendo como ligante o fármaco de primeira linha no tratamento da tuberculose pirazinamida (PZA) e, também, com os ligantes: ácido isonicotínico (INA) e isonicotinamida (ins).

As reações do aquacomplexo com os ligantes: ácido isonicotínico, pirazinamida e isonicotinamida formaram complexos de rutênio (III), com o ligante coordenado pelo nitrogênio do anel piridínico e pirazínico, no caso da pirazinamida. Os espectros de absorção na região do infravermelho mostraram um banda na região de 500 cm^{-1} característico da vibração da ligação rutênio–nitrogênio do anel piridínico e pirazínico. Os voltamogramas desses complexos mostraram que há a formação de novas espécies em solução após a redução de Ru(III)/Ru(II) como sugerido por WOHRATH (1999) [42] para complexos análogos.

Para a reação dos complexos *cis*-[RuCl₂(dppb)(N-N)] (N-N = 2,2'-bipiridina (bipy), 1,10-fenantrolina (fen) e 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina (4,4'-Me-bipy)) com o ligante isonicotinamida houve a saída de um ligante cloreto para a entrada do ligante ins coordenado pelo nitrogênio do anel piridínico. Os voltamogramas desses complexos mostraram um deslocamento de 600 mV para potenciais mais anódico em comparação aos seus complexos precursores, devido à substituição de um ligante σ e π doadores por um ligante π receptor. Outro fato que confirma a estrutura proposta são as estruturas cristalográficas dos complexos [RuCl(ins)(dppb)(bipy)]PF₆ e [RuCl(ins)(dppb)(fen)]PF₆, onde mostra o ligante ins coordenado pelo nitrogênio da piridina *trans* ao átomo de fósforo da dppb.

Apesar dos complexos não terem apresentado uma boa atividade frente à Cepa H₃₇Rv, eles não apresentaram alta toxicidade frente à linhagem L-929, sendo que o complexo [RuCl(ins)(dppb)(bipy)]PF₆ o que apresentou menor toxicidade.

CAPÍTULO 6: PERSPECTIVAS FUTURAS

6 – PERSPECTIVAS FUTURAS

Devido aos altos valores de MIC e da suspeita que estes resultados estejam relacionados com a modificação dos complexos de partida por interferentes presentes nos meios de análise, pretende-se sintetizar o complexo $[\text{RuCl}(\text{DMSO})(\text{dppb})(\text{bipy})]$ e estudar a sua atividade.

Além disso, realizar novos testes contra tuberculose utilizando estes complexos encapsulados em lipossoma, polímeros, etc., para verificar se os valores de MIC podem ser alterados. Desta forma, o encapsulamento poderia garantir a integridade do complexo.

Já para o complexo *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{PZA})]$ pretende-se realizar os testes antimicobacteriano variando-se o pH do meio de cultura, para analisar se o pH interfere nos valores de CIM como para o fármaco PZA.

Testes de citotoxicidade frente a células tumorais de mama (MDA-MB-231 e MCF-7) de próstata (DU) e ovário (Hela) serão realizados no intuito de verificar se os complexos serão muito mais ativos do que apresentaram na linhagem L-929 analisados neste trabalho.

CAPÍTULO 7: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ QUE JR, L.; BANCI, L. “Current Opinion in Chemical Biology”, *Bioinorganic chemistry*, **6**, 169-170, 2002.
- ² LIPPARD, S. J.; BERG, J. M. *Principles of Bioinorganic Chemistry*, University Science Books, 1994.
- ³ WILLIAMS, R. J. P. “Bio-Inorganic Chemistry: Its Conceptual Evolution”, *Coordination Chemistry Reviews*, **100**, 573-610, 1990.
- ⁴ WILLIAMS, R. J. P. “The Chemical Elements of Life”, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* 539-546, 1991.
- ⁵ VALLET, M.; FAUS, J.; GARCÍA-ESPAÑA, E.; MORATAL, J. *Introducción a la química bioinorgánica*. Editorial Síntesis, Madrid, 2003.
- ⁵ HAYASHI, T. “Iron: Heme Proteins & Dioxygen Transport & Storage”, *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*, 1994.
- ⁷ HOLM, R. H.; KENNEPOHL, P.; SOLOMON, E. I. “Structural and Functional Aspects of Metal Sites in Biology”, *Chem. Rev.*, **96**, 2239-2314, 1996.
- ⁸ ORVIG, C.; ABRAMS, M. J. “Medicinal Inorganic Chemistry: Introduction”, *Chem. Rev.*, **99**, 1999.
- ⁹ SHAW, C. F. “Gold-Based Therapeutic Agents”, *Chem. Rev.*, **99**, 2589-2600, 1999.
- ¹⁰ FONTES, A.P.S.; ALMEIDA, S.G.; NADER, L.A. “Compostos de platina em quimioterapia do câncer”, *Química Nova*, **20**, 398-406, 1997.
- ¹¹ STOCHEL, G.; WANAT, A.; KULIS, E.; STASICKA, Z. “Light and metal complexes in medicine”, *Coordination Chemistry Reviews*, **171**, 203-220, 1998.

- ¹² LIU, S.; EDWARDS, D. S. “^{99m}Tc-Labeled Small Peptides as Diagnostic Radiopharmaceuticals”, *Chem. Rev.*, **99**, 2235-2268, 1999.
- ¹³ AIME, S.; CRICH, S. G.; GIANOLIO, E.; GIOVENZANA, G.B.; TEIA, L.; TERRENO, E. “High sensitivity lanthanide(III) based probes for MR-medical imaging”, *Coordination Chemistry Reviews*, **250**, 1562–1579, 2006.
- ¹⁴ SHRIVER, D.F.; ATKINS, P.W.. *Química inorgânica*. Gomes, M. A. B. (trad.). 4 ed. Porto Alegre: Bookman, 2008.
- ¹⁵ COTTON, F. A.; WILKISON, G. *Advanced Inorganic Chemistry*. 5^a ed. New York, John Wiley, 1988.
- ¹⁶ BASOLO, F. A.; PERSON, R. G. *Mechanisms of Inorganic Reactions: Study of Metal Complexes in Solution*. 2^a ed. New York , John Wiley, 1967.
- ¹⁷ CONSTABLE, E. C. *Metal and ligands Reactivity: An Introduction to the Organic Chemistry of Metal Complexes*. Weinheim, VCH, 1996.
- ¹⁸ DEKOCK, R. L.; GRAY, H. B. *Chemical Structure and Bonding*. Menlo Park, Benjamin, 1980.
- ¹⁹ SEDDON, E. A.; SEDDON, K.R. *The Chemistry of Ruthenium*. New York, Elsevier Publishing Company, 1984.
- ²⁰ TAUBE, H. *New coordination chemistry of saturated ligands*. *Coordination Chemistry Reviews*, 26: 33 – 45, 1978.
- ²¹ FORD, P.C. *Properties and reactions of ruthenium(II) amine complexes*. *Coordination Chemistry Reviews*, 5: 75 – 99, 1970.

- ²² MARYNICK, D. S. π - accepting abilities of phosphines in transition-metals complexes. *Journal of the American Chemical Society*, 106: 4064 – 4065, 1984.
- ²³ MCAULIFFE, C.A.; MACKEI, A. G. *P – donor ligands*. IN: *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*. King, R. B. (Ed.). New York, Wiley Interscience, 2989 – 3010, 1994.
- ²⁴ FRANCO, D. W.; TAUBE, H. *Triethyl phosphite as a ligand on ruthenium(II)*. *Inorganic Chemistry*, 17: 571 – 578, 1978.
- ²⁵ GERASIMCHUK, N.N.; BOWMAN-JAMES, K. *Mixed-donor ligands*. IN: *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*. King, R. B. (Ed.). New York, Wiley Interscience, 2254 – 2269, 1994.
- ²⁶ KAIM, W.; SCHWEDERSKI, B. *Bioinorganic Chemistry: Inorganic Elements in the Chemistry of Life*. Portland, John Wiley, 1994.
- ²⁷ HANNAY, C.; DUFLOT, D.; FLAMENT, J. P.; HUBIN-FRANSKIN, M.J. *The core excitation of pyridine and pyridazine: An electron spectroscopy and ab initio study*. *Journal of Chemical Physics*, 110: 5600 – 5610, 1999.
- ²⁸ KALYANASUDARAM, K. *Photochemistry of polypyridine and porphyrin complexes*. London, Academic Press, 1992.
- ²⁹ PAVAN, F. R.; POELHSITZ, G. V.; BARBOSA, M. I.F.; LEITE, S. R.A.; BATISTA, A. A.; ELLENA, J.; SATO, L. S.; FRANZBLAU, S. G.; MORENO, V.; GAMBINO, D.; LEITE, C. Q.F. "Ruthenium(II) phosphine/diimine/picolinate complexes: Inorganic compounds as agents against tuberculosis" *European Journal of Medicinal Chemistry*, **46**, 5099-5107, 2011.
- ³⁰ SALMAN, L. "The mycobacteriology of non-tuberculous mycobacteria", *Paediatric Respiratory Reviews*, **5**, S221–S223, 2004.

- ³¹ SOUZA, M. V. N.; FACCHINETTI, V.; CARDINOT, D.; GOMES, C. R. B. “Produtos Naturais com atividade inibitória da Translocase I, uma promissora classe de compostos contra tuberculose”, *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, **9** (1), 1-12, 2010.
- ³² BROSCH, R.; PYM, A. S.; GORDON, S. V.; COLE, S. T. “The evolution of mycobacterial pathogenicity: clues from comparative genomics”, *Trends in Microbiology*, **9**, 452-458, 2001.
- ³³ SOUZA, M. V. N. “A tuberculose e o desenvolvimento de novos tuberculostáticos em Far-Manguinhos (FIOCRUZ) no Rio de Janeiro”, *Rev. Virtual Quim.*, **1** (1), 9-16, 2009.
- ³⁴ LOPES, A. J.; CAPONE, D.; MOGAMI, R.; TESSAROLLO, B.; CUNHA, D. L.; CAPONE, R. B.; SIQUEIRA, H. R.; JANSEN, J. M. “Tuberculose extrapulmonar: aspectos clínicos e de imagem”, *Pulmão RJ*, **15** (4), 253-261, 2006.
- ³⁵ OLIVEIRA, H. B.; FILHO, D. C. M. “Recidivas em tuberculose e seus fatores de risco”, *Pan Am J Public Health*, **7** (4), 232-241, 2000.
- ³⁶ SOUZA, M. V. N.; VASCONCELOS, T. R. A. “Fármacos no Combate à Tuberculose: Passado, Presente e Futuro”, *Quim. Nova*, **28** (4), 678-682, 2005.
- ³⁷ Sítio da Organização Mundial de Saúde. Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241564069_eng.pdf.
- ³⁸ PALOMINO, J. C., MARTIN, A., CAMACHO, M., GUERRA, H., SWINGS, J., PORTAELS, F., “Resazurin microtiter assay plate: simple and 157 inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium Tuberculosis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **46**: 203, 2006.

- ³⁹ STEPHENSON, T. A.; WILKINSON, G. A., "New complexes of ruthenium (II) and (III) with triphenylphosphine, triphenylarsine, trichlorostannate, pyridine and other ligands", *Journal of Inorganic Nuclear Chemistry*, **28**: 945-956, 1966.
- ⁴⁰ JUNG, C. W.; GARROU, P. E.; HOFFMAN, P. R.; CAULTON, K. G., "Reexamination of the reactions of $\text{Ph}_2\text{P}(\text{CH}_2)_n\text{PPh}_2$ ($n = 1-4$) with $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3$ " *Inorganic Chemistry*, **23** (6): 726- 729, 1984.
- ⁴¹ QUEIROZ, S.L.; BATISTA, A.A.; OLIVA, G.; GAMBARDELLA, M.T.P.; SANTOS, R.H.A.; MACFARLANE, K. S.; RETTIG, S.J.; JAMES, B.R. "The reactivity of five-coordinate Ru(II) (1,4-bis(diphenylphosphino)butane) complexes with the N-donor ligands: ammonia, pyridine, 4-substituted pyridines, 2,2'-bipyridine, bis(o-piridyl)amine, 1,10-phenanthroline, 4,7-diphenylphenanthroline and ethylenodiamine". *Inorganica Chimica Acta*, **267**: 209,1998.
- ⁴² DINELLI, L. R.; BATISTA, A. A.; WOHRNATH, K.; ARAUJO, M. P. DE; QUEIROZ, S. L.; BONFANDINI, M. R.; OLIVA, G.; NASCIMENTO, O. R.; CYR, P.W.; MACFARLANE, K. S.; JAMES, B. R. "Synthesis and characterization of $[\text{RuCl}_3(\text{P-P})\text{H}_2\text{O}]$ complexes, P-P = achiral or chiral, chelating ditertiary phosphine ligands" *Inorg. Chem.*, **38**, 5341, 1999.
- ⁴³ WOHRNATH, K. *Aplicação do $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$ na obtenção de complexos Mono e Binucleares*. Araraquara, Programa de Pós-Graduação em Química – UNESP, 1999. Tese de Doutorado.
- ⁴⁴ SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D.J. *Spectrometric Indetification of Organic Compounds*. 7ª edição, Editora John Wiley & Sons, Inc., 2005.
- ⁴⁵ NAKAMOTO.; K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*. 6ª edição, Editora Wiley Inter-Science, 2009.
- ⁴⁶ DAASCH, L. W.; SMITH, D. C. "Infrared Spectra of Phosphorus Compounds" *Anal. Chem.*, **23**, 853, 1951.

⁴⁷ VELHO, R.G. *Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: um levantamento bibliográfico*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2006. Dissertação de Mestrado.

⁴⁸ VALLE, E. M. A. *Cinética da Interação de N-heterocíclicos com o cis-[RuCl₂(dppb)(bipy)]* (dppb = 1,4-bis(difenilfosfina)butano, bipy = 2,2'-bipiridina). São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2005. Dissertação de Mestrado.

⁴⁹ SANTIAGO, M. O. *Síntese, Caracterização e Estudos Cinéticos da Isomerização de Compostos de Ru(II) contendo ligantes (X-bipy)* (X = -H, -NO₂, =Me, -COOH, =SMe, O=SMe, -Cl, -OMe), São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química – UFSCar, 2004. Tese de Doutorado.

⁵⁰ JAMES, R.B.; PATRICK, B.O.; CYR, P.W. "A remarkable temperature-dependent, coincidental degeneracy of ³¹P NMR chemical shifts in Ru(II) diphosphine/diimine complexes". *Chemistry communication*, 1570-1571, 2001.

⁵¹ SALFINGER, M.; HEIFETS, L. B. "Determination of Pyrazinamide MICs for Mycobacterium tuberculosis at Different pHs by the Radiometric Method" *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **32**, 1002, 1988.

APÊNDECES

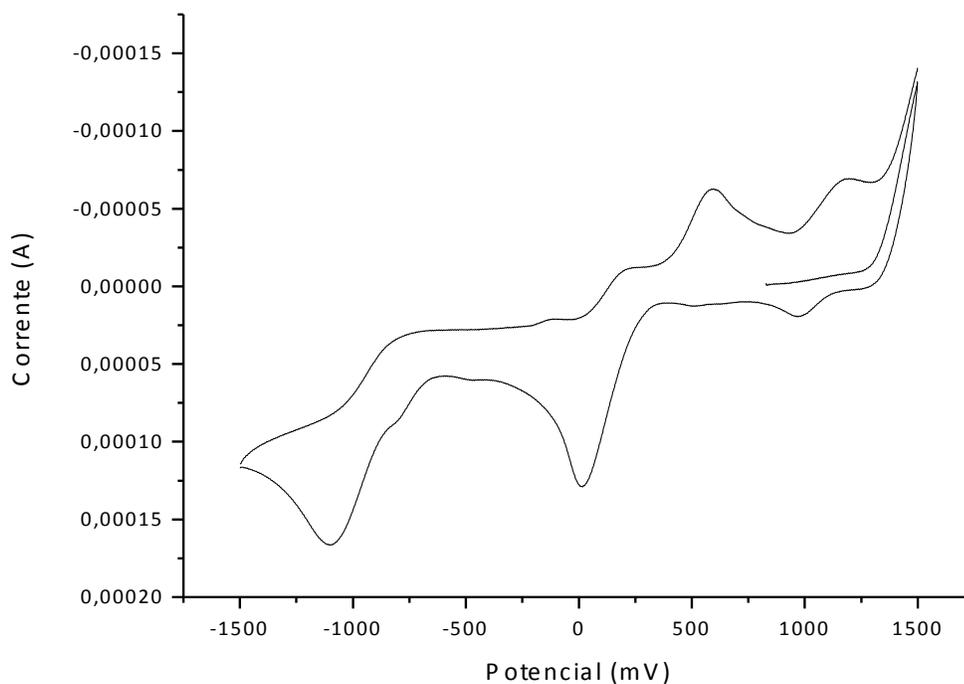


FIGURA A. 1: Voltamograma cíclico do complexo $mer-[RuCl_3(dppb)(ins)]$, em CH_2Cl_2 e eletrólito PTBA.

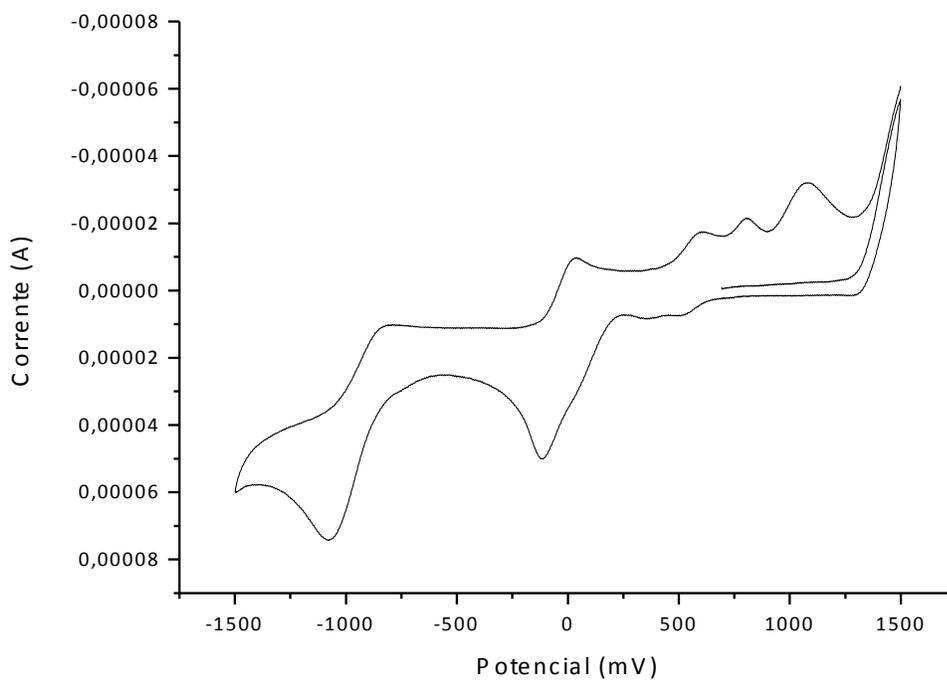


FIGURA A. 2: Voltamograma cíclico do complexo $mer-[RuCl_3(dppb)(PZA)]$, em CH_2Cl_2 e eletrólito PTBA.

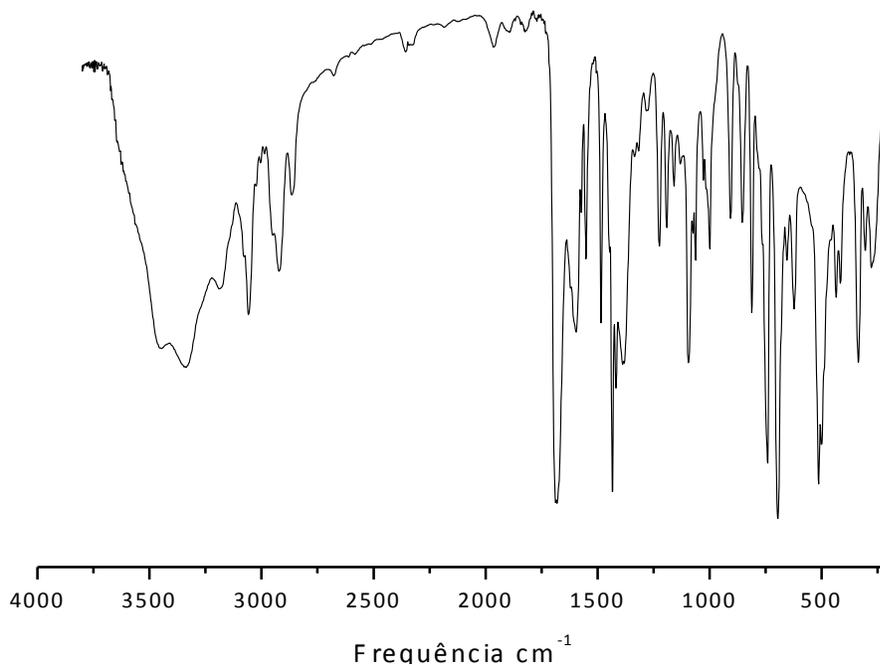


FIGURA A. 3: Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(ins)], em KBr.

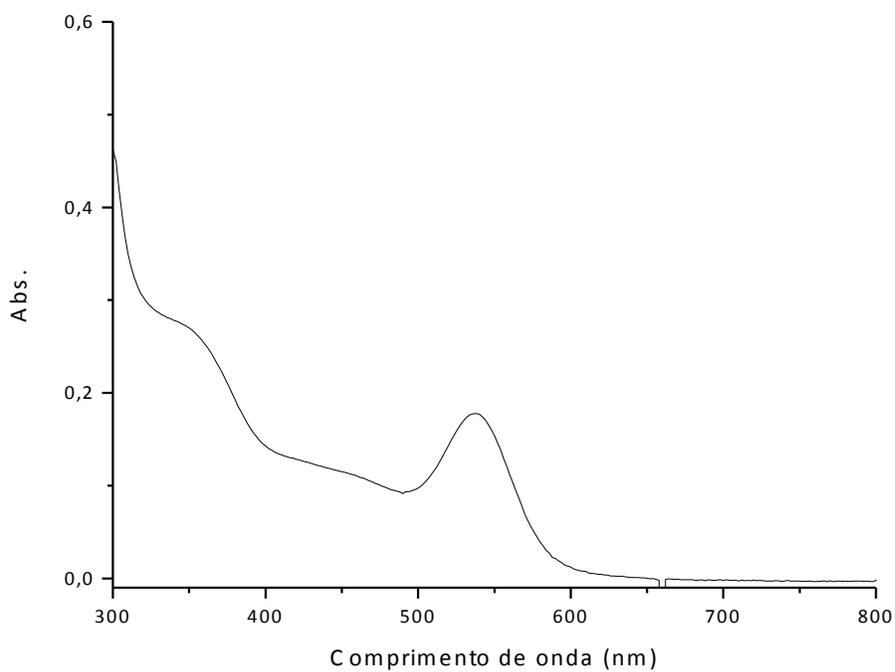


FIGURA A. 4: Espectro de absorção na região do ultravioleta/visível do complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(ins)], em CH₂Cl₂.

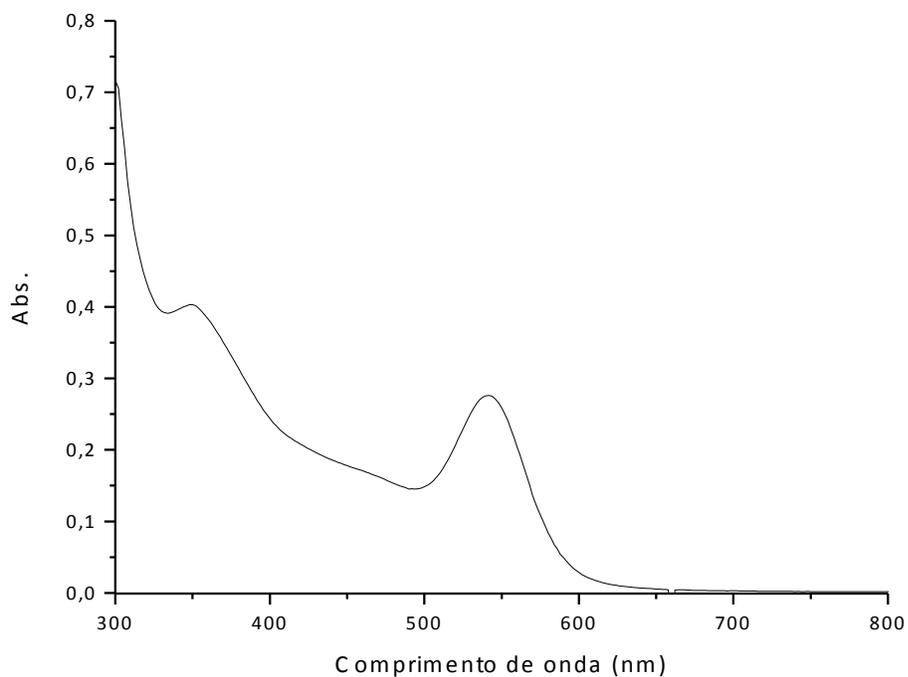


FIGURA A. 5: Espectro de absorção na região do ultravioleta/visível do complexo *mer*-[RuCl₃(dppb)(PZA)], em CH₂Cl₂.

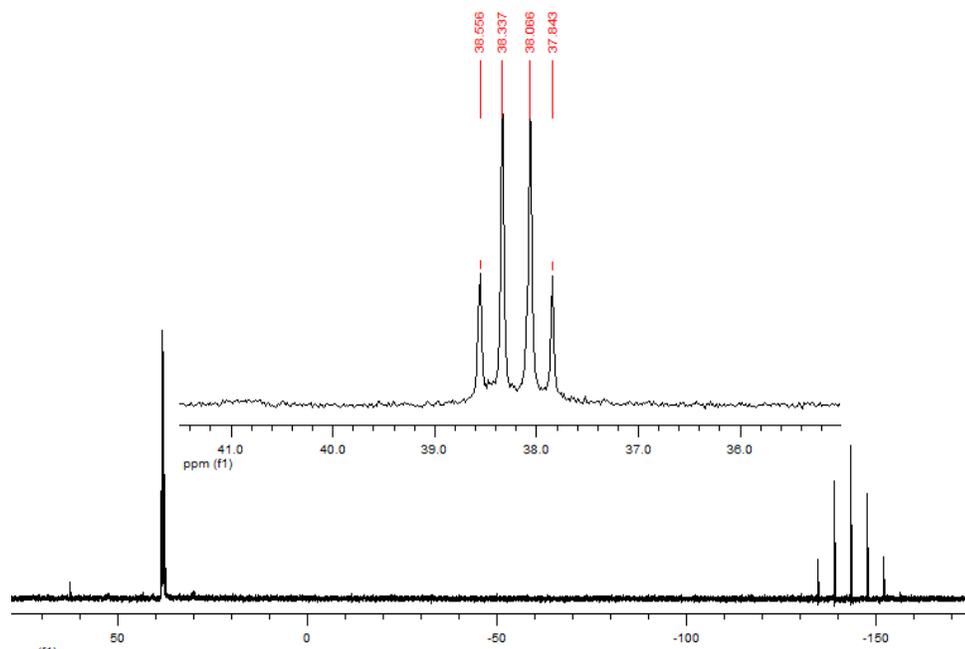


FIGURA A. 6: Espectro de RMN ³¹P{¹H} do complexo [RuCl(ins)(dppb)(fen)]PF₆, em CH₂Cl₂.

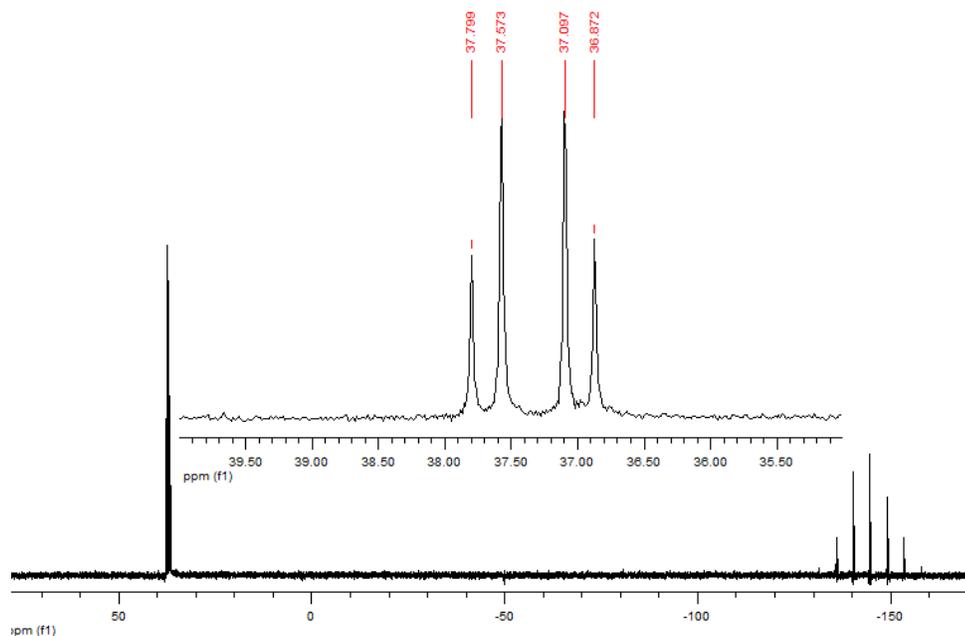


FIGURA A. 7: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 .

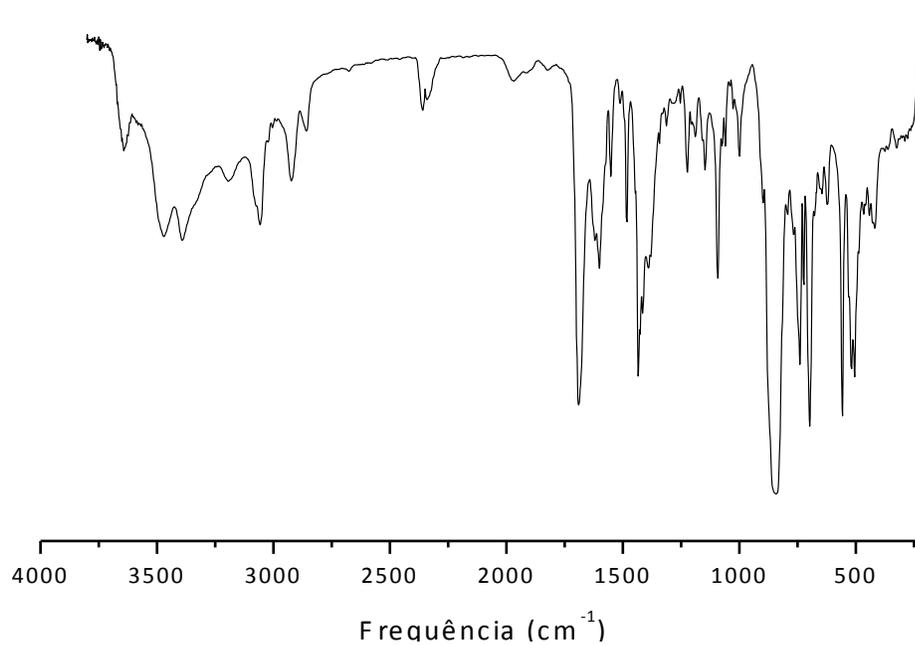


FIGURA A. 8: Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$, em KBr.

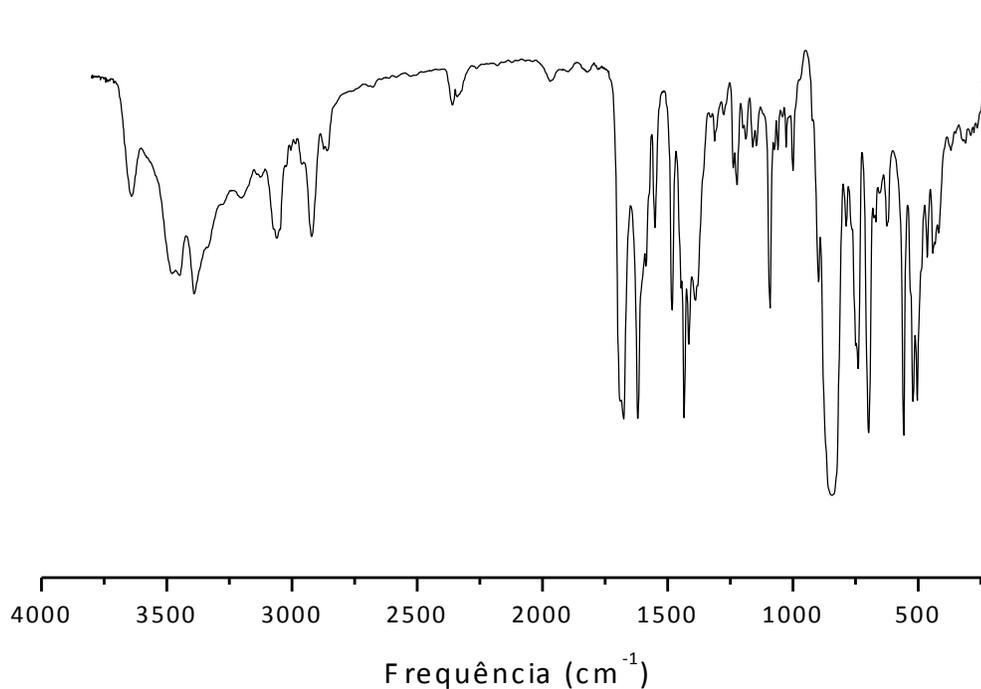


FIGURA A. 9: Espectro de absorção na região do infravermelho do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$, em KBr.

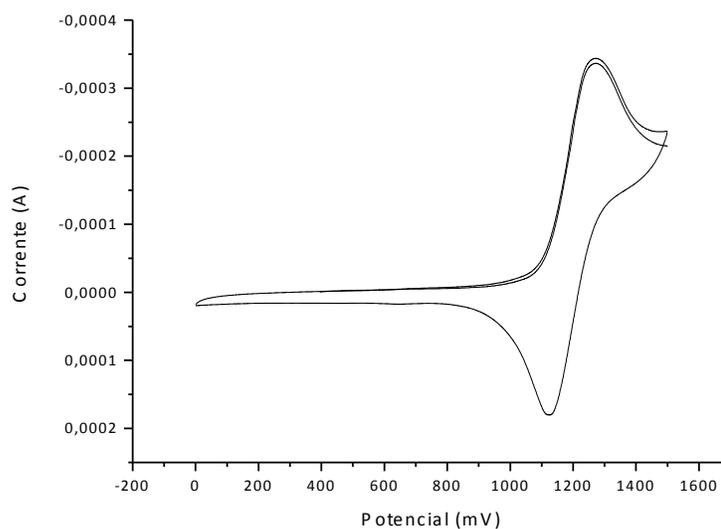


FIGURA A. 10: Voltamograma cíclico do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 e eletrólito PTBA.

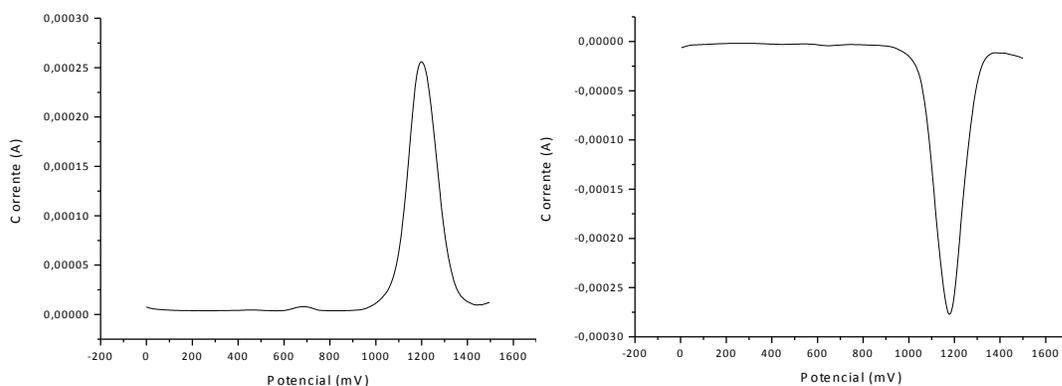


FIGURA A. 11: Voltamogramas de Pulso Diferencial do Complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 e eletrólito PTBA.

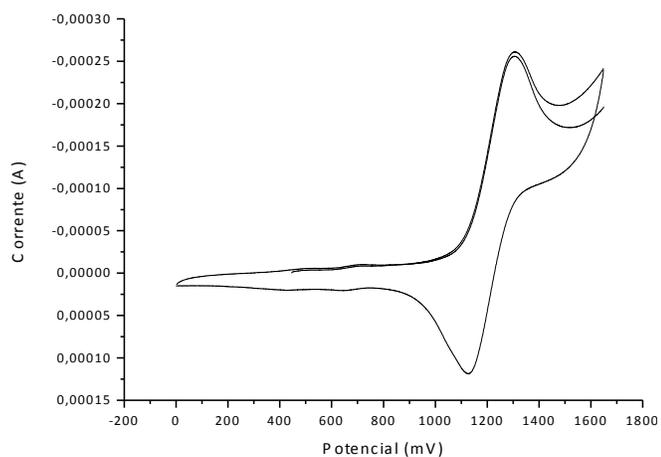


FIGURA A. 12: Voltamograma cíclico do complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 e eletrólito PTBA.

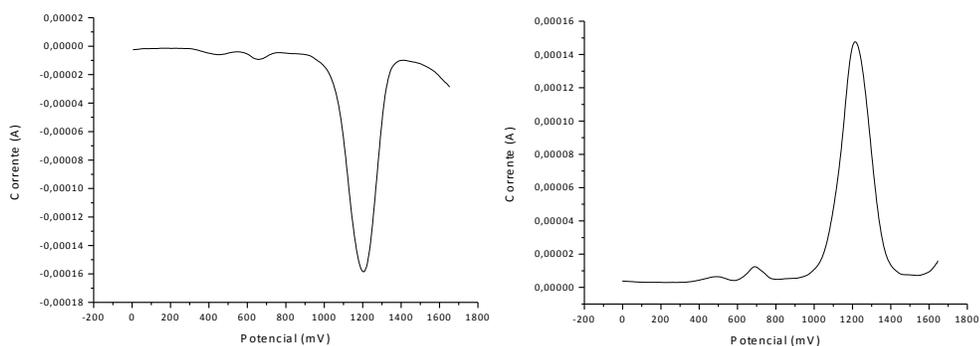


FIGURA A. 13: Voltamogramas de Pulso Diferencial do Complexo $[\text{RuCl}(\text{ins})(\text{dppb})(\text{fen})]\text{PF}_6$, em CH_2Cl_2 e eletrólito PTBA.