

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

**PREPARO DE NOVOS COMPLEXOS DE Ru(II) COM LIGANTES
MISTOS COMO AGENTES FOTOCITOTÓXICOS**

ARIANE CARLA CAMPOS DE MELO

Orientadora: Prof^a. ELENE CRISTINA PEREIRA MAIA

BELO HORIZONTE – MG

2017

UFMG/ ICEX/DQ. 1243^a

T. 561^a

Ariane Carla Campos de Melo

Preparo de novos complexos de Ru(II) com ligantes mistos como agentes fotocitotóxicos

Tese apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Química- Química Inorgânica.

Área de concentração: Química

Orientadora: Prof^a. Elene Cristina Pereira Maia

Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte – MG

2017

M528p
2017
T

Melo, Ariane Carla Campos de
Preparo de novos complexos de Ru(II) com ligantes mistos como agentes fotocitotóxicos [manuscrito] / Ariane Carla Campos de Melo. 2017.
[xiii], 148 f.: il.

Orientadora: Elene Cristina Pereira Maia.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais - Departamento de Química.

Inclui bibliografia.

1. Química inorgânica - Teses 2. Complexos metálicos - Teses 3. Agentes antineoplásicos - Teses 4. Fotoquimioterapia - Teses 5. Compostos de rutênio - Teses 6. Antibióticos - Teses 7. Sulfonamidas - Teses 8. Proteínas - Teses 9. Ácido desoxirribonucléico - Teses 10. Raios X - Difração - Teses I. Maia, Elene Cristina Pereira, Orientadora II. Título.

CDU 043



**"Preparo de Novos Complexos de Ru(II) com Ligantes Mistos como Agentes
Fotocitotóxicos "**

Ariane Carla Campos de Melo

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:


Profa. Elene Cristina Pereira Maia - Orientadora
UFMG


Prof. André Luiz Barboza Formiga
UNICAMP


Prof. Pedro Paulo Corbi
UNICAMP


Prof. Wagner da Nova Mussel
UFMG


Prof. Rubén Darío Sinisterra Millán
UFMG

Belo Horizonte, 04 de setembro de 2017.

DEDICATÓRIA

Dedico a Deus, à minha mãe e meu pai, às minhas irmãs Aline e Aniela.

AGRADECIMENTOS

A Deus

A minha fortaleza, a minha torre de proteção e o meu libertador, é o meu escudo.

Aos meus pais

Pela compreensão em todas minhas ausências, nos momentos de estresse, choro, mau humor e incontáveis reclamações. Por todo apoio emocional e financeiro, sem vocês eu jamais teria realizado este trabalho. Amo vocês!!!

Mãe, obrigada por me ligar três vezes (até mais) por dia, encurtando os 1000 quilômetros que nos separava. Eu sei o quanto foi difícil ficar longe.

Pai, obrigada por sempre me ligar perguntando se eu precisava de alguma coisa, e principalmente por ter me incentivado quando pensei em desistir (maio de 2016).

Às minhas irmãs

Aline e Aniela, minhas melhores amigas, vocês são meu exemplo do espírito de luta. Agradecida também pela paciência e torcida incondicional.

Aos amigos

Gracielle e família, por toda ajuda dedicada a mim, o qual não há palavras para agradecer.

Aline e Aécio, quero agradecer por todo apoio e carinho, todos os conselhos e por sempre estarem ao meu lado nos momentos bons e ruins. Os “piolhos” Fernanda, Diego e Manuela jamais poderiam ficar de fora de meus agradecimentos.

Juscelino, são mais de vinte anos de amizade, seria incoerente não agradecer sua vibração para a condução deste trabalho.

À minha orientadora

Profa. Elene Cristina Pereira Maia,

Por ter me recebido, mesmo sem me conhecer. Pela incansável dedicação, amizade, paciência, incentivo incondicional e experiência compartilhada no desenvolvimento de todas as etapas desta jornada, o meu muito obrigado. Aqui, não posso deixar de mencionar todas as orientações realizadas em sua casa, e agradecer também ao seu esposo Jose Raiumundo e filho Frederico pela compreensão.

Aos alunos de iniciação científica

Jaime Murilo por ter sempre me ajudado nas sínteses e nas medidas, quando precisei, principalmente em horários nada habituais. Não fiquem com ciúme, também adorei trabalhar com Henrique e Jonathan.

Aos colaboradores deste trabalho

Em especial aos professores Bernardo Lages Rodrigues, Adolfo Henrique Moraes e Hernán Terenzi.

Aos professores da pós-graduação e graduação

Pelo conhecimento compartilhado. Em especial ao professor Ruben Dario Sinisterra Millán, agradeço por todas as aulas de inorgânica II e sistemas de liberação de fármacos. Nunca estudei tanto, mas sei que será essencial para etapas futuras.

Ao CNPq

Pelo apoio financeiro.

À UFMG

Por permitir o uso das instalações para a realização deste trabalho.

Aos Funcionários da UFMG

Pela colaboração no desenvolvimento de todas as etapas deste trabalho. Não posso deixar de mencionar quanto os técnicos Marley, Ana, Mirra, Gustavo e Vitor foram primordiais

para execução deste trabalho, serei eternamente agradecida. Ao bibliotecário Sérgio por toda paciência.

Aos porteiros Sr Luis e Edson pela simpatia, companhia e cafés nos finais de semana.

A todas as secretárias da pós graduação, vocês são lindas.

A todos os colegas de laboratório

Por vocês tenho profunda admiração e gratidão. Obrigada pela companhia nestes quatro anos. Bruno Henrique e Arshad Islan sentirei muita saudade de vocês.

A todos os colegas da pós-graduação

Pois juntos trilhamos uma etapa importante de nossas vidas. A companhia, amizade construída e agradáveis “almoços”: Debora Rosa, Herculano, João Otavio, Barbara, Debora, Jeane, Thiago, Will, Kelen, Camila, Ana, Ane, Eduardo, Cleiton, Samara, Wallace, Claudilene, Renata, Fernanda, Bernardo, Karine, Cleide, Cristiano, Lenka, Carolina, Gabriel, Ana Delia, Henrique, Gesiane, Juan (USP) e Paulo (USP).

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	I
LISTA DE TABELA.....	VIII
LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS	IX
LISTA DE ESTRUTURA	X
RESUMO	XII
Palavras chave:	XII
ABSTRACT	XIII
CAPÍTULO 1	- 1 -
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	- 1 -
1.1 Introdução geral.....	- 1 -
1.2 Complexos de rutênio e atividade antitumoral.....	- 2 -
1.2.1 Complexos polipiridínicos com rutênio	- 5 -
1.3 Antibióticos: uma importante classe de agentes antineoplásicos.....	- 7 -
1.3.1 As sulfas	- 7 -
1.3.1.1 Sulfametizol	- 9 -
1.3.1.2 Sulfametoxipiridazina	- 9 -
1.3.1.3 Sulfametoxazol.....	- 10 -
1.3.1.4 Sulfapiridina	- 12 -
1.2.1.5 Sulfassalazina	- 12 -
1.4 Hidrazidas.....	- 13 -
1.4.1 Hidrazida do ácido 2-tiofenocarboxílico.....	- 14 -
1.5 Interação entre complexos metálicos e alvos biológicos	- 14 -
CAPÍTULO 2	- 17 -
OBJETIVOS	- 17 -
2.1 Objetivos	- 17 -
CAPÍTULO 3	- 18 -
PARTE EXPERIMENTAL	- 18 -
3.1- MATERIAIS.....	- 18 -
3.1.1- Reagentes e solventes	- 18 -
3.1.2- Células e cultura.....	- 18 -
3.1.2.1- Estudo da Fotocitotoxicidade: Determinação da CI_{50}	- 19 -

3.2- SÍNTESES DOS COMPLEXOS	- 20 -
3.2.1 Síntese dos precursores de rutênio(II) empregados nas sínteses dos complexos metálicos inéditos.....	- 20 -
3.2.1.1 Preparo do complexo <i>cis</i> -[RuCl ₂ (bpy) ₂].2H ₂ O	- 20 -
3.2.1.2 Preparo do complexo <i>cis</i> -[RuCl ₂ (phen) ₂].....	- 20 -
3.2.2 Síntese de novos complexos de Ru(II) com ligantes mistos	- 20 -
3.2.2.1 Preparo do complexo [Ru(bpy) ₂ (smp)](PF ₆), complexo 1.....	- 20 -
3.2.2.2 Preparo dos complexos 2 a 11.....	- 21 -
3.3 Instrumentos e métodos.....	- 22 -
3.3.1 Análise Elementar: (C, H, N).....	- 22 -
3.3.2 Temperatura de Fusão/decomposição	- 22 -
3.3.3 Análises Condutimétricas.....	- 23 -
3.3.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	- 23 -
3.3.5 Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível.....	- 23 -
3.3.5.1 Clivagem e fotoclivagem do ADN plasmidial	- 23 -
3.3.5.2 Determinação das constantes de ligação ADN-complexo empregando espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível.....	- 24 -
3.3.6 Espectroscopia de fluorescência.....	- 24 -
3.3.6.1 Estudo da interação com BSA via espectroscopia de fluorescência	- 25 -
3.3.6.2 Estudo da interação com Abl-SH3 via espectroscopia de fluorescência	- 25 -
3.3.7 Espectroscopia de dicroísmo circular (CD)	- 25 -
3.3.7.1 Espectroscopia de dicroísmo circular (CD)	- 26 -
3.3.8 Espectrometria de Massas-ESI.....	- 26 -
3.3.9 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio- RMN de ¹ H	- 26 -
3.3.10.1 Estudo da interação com Abl-SH3 via RMN	- 26 -
3.3.11 Cristalografia de raios-X de monocristal	- 27 -
CAPÍTULO 4	- 29 -
RESULTADOS E DISCUSSÃO: NOVOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO(II) COM sulfonamidas e α-α diiminas	- 29 -
4.1 Os complexos	- 29 -
4.1.1 Análise elementar, condutimetria e temperatura de decomposição	- 31 -
4.1.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	- 32 -
4.1.3 Espectroscopia de eletrônica no ultravioleta visível (UV-Vis).....	- 49 -
4.1.4 Espectroscopia de fluorescência.....	- 55 -

4.1.5 Espectrometria de massas.....	- 58 -
4.1.6 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio RMN de ¹ H	- 70 -
4.1.7 Difração de raios X de monocristal.....	- 82 -
4.1.8 Atividade citotóxica e fotocitotóxica em células tumorais (Determinação da CI ₅₀).....	- 89 -
4.1.9 Clivagem e fotoclivagem do ADN plasmidial	- 91 -
4.1.10 Estudo de interação dos complexos 3 e 4 com CT-ADN: análise por espectroscopia eletrônica no ultravioleta visível (UV-Vis)	- 94 -
4.1.11 Estudo de interação dos complexos 3 e 4 com ADN: análise por espectroscopia de dicroísmo circular (CD)	- 96 -
4.1.12 Estudo de interação de complexos de Ru(II) com albumina sérica bovina-	97 -
-	
4.1.13 Estudo de interação dos complexos 1, 2, 3, 4, 9 e 10 com domínio Abl-SH3: análise por espectroscopia de fluorescência.....	- 106 -
4.1.14 Estudo da interação do domínio Abl-SH3 via RMN de ¹ H.....	- 109 -
CAPÍTULO 5	- 111 -
RESULTADOS E DISCUSSÃO: COMPLEXO DE RUTÊNIO(II) COM A shyd e BYP.....	- 111 -
5.1 Complexo com a hidrazida do ácido tiofenocarboxílico.....	- 111 -
5.1.1 Análise elementar, condutimetria e temperatura de decomposição	- 111 -
5.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	- 112 -
5.3 Espectroscopia eletrônica no ultravioleta visível (UV-Vis).....	- 115 -
5.4 Espectroscopia de fluorescência.....	- 116 -
5.5 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio RMN de ¹ H	- 118 -
5.6 Espectrometria de massas.....	- 120 -
5.7 Atividade citotóxica em células tumorais (Determinação da CI ₅₀).....	- 124 -
CONCLUSÃO.....	- 125 -
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	- 127 -
ANEXO 1	- 136 -
Distribuição experimental e teórica para os complexos 3 a 10	- 136 -
CARACTERIZAÇÃO DE PRECURSORES EMPREGADOS NO PREPARO DO COMPLEXOS DE Ru(II) COM LIGANTES MISTOS.....	- 147 -
1 Análise elementar, condutimetria e ponto de decomposição.	- 147 -
2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	- 147 -
3 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio RMN de ¹ H	- 151 -

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Estruturas químicas do NAMI-A (a) e do KP1019 (b).	3 -
Figura 1.2 Representação da estrutura da cisplatina, <i>cis</i> -diamindicloroplatina (II) e de seus análogos.	4 -
Figura 1.3 Representação da estrutura química de sulfas empregadas como antimicrobianos.	8 -
Figura 1.4 Estrutura química da sulfonamida 4-amino-N- (5-metil-1,3,4-tiadiazole-2-il).....	9 -
Figura 1.5 Estrutura química da sulfametoxipiridazina (C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₃ S)	10 -
Figura 1.6 Estrutura química do sulfametoxazol. Em negrito estão destacados os possíveis sítios de coordenação.	11 -
Figura 1.7 Estrutura química da trimetoprima, base fraca lipofílica.	11 -
Figura 1.8 Estrutura química do sulfapiridina (C ₁₁ H ₁₁ N ₃ O ₂ S).....	12 -
Figura 1.9 Representação geral da estrutura química dos complexos de ssz e os metais alcalinos Mg (II), Ca (II), Sr (II) e Ba (II).	13 -
Figura 1.10 Representação geral da estrutura química dos complexos [M(shyd) ₂ X ₂], em que M= Mn ²⁺ , Co ²⁺ , Ni ²⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , Cd ²⁺ e X=NO ₃ (a) e Cl(b).....	14 -
Figura 4.1 Esquema representativo da equação genérica para obter complexos 1 a 8	30 -
Figura 4.2 Esquema representativo da equação genérica para obter complexos 9 e 10	31 -
Figura 4.3 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bpy) ₂] ₂ H ₂ O, ligante smp e complexo 1	35 -
Figura 4.4 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (<i>cis</i> -[RuCl ₂ (phen) ₂] ₂ H ₂ O, ligante smp e complexo 2	36 -
Figura 4.5 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bpy) ₂] ₂ H ₂ O, ligante smz e complexo 3	37 -
Figura 4.6 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (<i>cis</i> -[RuCl ₂ (phen) ₂] ₂ H ₂ O, ligante smz e complexo 4	38 -
Figura 4.7 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bpy) ₂] ₂ H ₂ O, ligante spd e complexo 5	39 -
Figura 4.8 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (<i>cis</i> -[RuCl ₂ (phen) ₂] ₂ H ₂ O, ligante spd e complexo 6	40 -
Figura 4.9 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bpy) ₂] ₂ H ₂ O, ligante smx e complexo 7	42 -
Figura 4.10 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (<i>cis</i> -[RuCl ₂ (phen) ₂] ₂ H ₂ O, ligante smx e complexo 8	43 -
Figura 4.11 Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante bpy.	44 -
Figura 4.12 Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante phen.	44 -
Figura 4.13 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bpy) ₂] ₂ H ₂ O, ligante ssz e complexo 9	47 -

Figura 4.14 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (<i>cis</i> -[RuCl ₂ (phen) ₂] \cdot 2H ₂ O, ligante ssz e complexo 10	48 -
Figura 4.15 Espectro eletrônico de soluções 3,0 \times 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em tampão Hepes pH 7,2 dos ligantes bpy, phen e smp e os complexos 1 e 2	50 -
Figura 4.16 Espectro eletrônico de soluções 3,0 \times 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em tampão Hepes pH 7,2 dos ligantes bpy, phen e smz e os complexos 3 e 4	51 -
Figura 4.17 Espectro eletrônico de soluções 3,0 \times 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em tampão Hepes pH 7,2 dos ligantes bpy, phen e spd e os complexos 5 e 6	51 -
Figura 4.18 Espectro eletrônico de soluções 3,0 \times 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em tampão Hepes pH 7,2 dos ligantes bpy, phen e smx e os complexos 7 e 8	52 -
Figura 4.19 Espectro eletrônico de soluções 3,0 \times 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em tampão Hepes pH 7,2 dos ligantes bpy, phen e ssz e os complexos 9 e 10	52 -
Figura 4.20 Espectro eletrônico de soluções 3,0 \times 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ dos complexos 1 e 2 em tampão Hepes pH 7,2 com variação de tempo em 1, 5 e 24 horas.....	54 -
Figura 4.21 Espectro eletrônico de soluções 3,0 \times 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ dos complexos 3 e 4 em tampão Hepes pH 7,2 com variação de tempo em 1, 5 e 24 horas.....	54 -
Figura 4.22 Espectro eletrônico de soluções 3,0 \times 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ dos complexos 5 e 6 em tampão Hepes pH 7,2 com variação de tempo em 1, 5 e 24 horas.....	54 -
Figura 4.23 Espectro eletrônico de soluções 3,0 \times 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ dos complexos 7 e 8 em tampão Hepes pH 7,2 com variação de tempo em 1, 5 e 24 horas.....	55 -
Figura 4.24 Espectro eletrônico de soluções 3,0 \times 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ dos complexos 9 e 10 em tampão Hepes pH 7,2 com variação de tempo em 1, 5 e 24 horas.....	55 -
Figura 4.25 Espectro de fluorescência dos complexos 1 (1,0 \times 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , $\lambda_{excitação}$ = 470 nm) 2 (5,0 \times 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ , $\lambda_{excitação}$ = 472 nm), em tampão hepes pH 7,2 a temperatura ambiente.	56 -
Figura 4.26 Espectro de fluorescência dos complexos 3 (1,0 \times 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , $\lambda_{excitação}$ = 454 nm) 4 (5,0 \times 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ , $\lambda_{excitação}$ = 468 nm), em tampão hepes pH 7,2.	56 -
Figura 4.27 Espectro de fluorescência dos complexos 5 (1,0 \times 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , $\lambda_{excitação}$ = 488 nm) 6 (5,0 \times 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ , $\lambda_{excitação}$ = 486 nm), em tampão hepes pH 7,2 a temperatura ambiente.	57 -
Figura 4.28 Espectro de fluorescência dos complexos 7 (1,0 \times 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , $\lambda_{excitação}$ = 468 nm) 8 (5,0 \times 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ , $\lambda_{excitação}$ = 473 nm), em tampão hepes pH 7,2 a temperatura ambiente.	57 -
Figura 4.29 Espectro de fluorescência dos complexos 9 (1,0 \times 10 ⁻⁴ mol L ⁻¹ , $\lambda_{excitação}$ = 489 nm) 10 (5,0 \times 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ , $\lambda_{excitação}$ = 495 nm), em tampão hepes pH 7,2 a temperatura ambiente.	57 -
Figura 4.30 Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo 1 .-	59 -
Figura 4.31 Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo 2 .-	59 -
Figura 4.32 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie [Ru(C ₁₀ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₁ H ₁₁ N ₄ O ₃ S)] ⁺ em solução acetonitrila:acetona (1:1).	60 -

Figura 4.33 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_3\text{S})]^{+1}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).	61 -
Figura 4.34 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_3\text{S})]^{+2}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).	63 -
Figura 4.35 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_3\text{S})]^{+2}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).	64 -
Figura 4.36 Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo 3 .-	65 -
Figura 4.37 Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo 4 .-	65 -
Figura 4.38 Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo 5 .-	66 -
Figura 4.39 Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo 6 .-	67 -
Figura 4.40 Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo 7 .-	67 -
Figura 4.41 Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo 8 .-	68 -
Figura 4.42 Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo 9 .-	69 -
Figura 4.43 Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo 10	69 -
Figura 4.44 Espectro de RMN de ^1H do ligante bpy, ($\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2$), em dms -d_6 a 298K, 400 MHz.....	70 -
Figura 4.45 Espectro de RMN de ^1H do ligante phen, ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2$), em dms -d_6 a 298K, 400 MHz.....	71 -
Figura 4.46 Espectro de RMN de ^1H do ligante smp ($\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$), em dms -d_6 a 298K, 400 MHz.	72 -
Figura 4.47 Espectro de RMN de ^1H do ligante smz ($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$), em dms -d_6 a 298K, 400 MHz.	73 -
Figura 4.48 Espectro de RMN de ^1H do ligante spd ($\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$), em dms -d_6 a 298K, 400 MHz.	73 -
Figura 4.49 Espectro de RMN de ^1H do ligante smx ($\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$), em dms -d_6 a 298K, 400 MHz.	74 -
Figura 4.50 Espectro de RMN de ^1H do ligante ssz ($\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$), em dms -d_6 a 298K, 400 MHz.	75 -
Figura 4.51 Espectro de RMN de ^1H do complexo 1 , em dms -d_6 a 298K, 400 MHz-	77 -
Figura 4.52 Espectro de RMN de ^1H do complexo 2 , em dms -d_6 a 298K, 400 MHz. ...	77 -
Figura 4.53 Espectro de RMN de ^1H do complexo 3 , em dms -d_6 a 298K, 400 MHz. ...	78 -
Figura 4.54 Espectro de RMN de ^1H do complexo 4 , em dms -d_6 a 298K, 400 MHz. ...	78 -

Figura 4.55 Espectro de RMN de ^1H do complexo 5 , em $\text{dms}\text{-d}_6$ a 298K, 400 MHz. ...	79 -
Figura 4.56 Espectro de RMN de ^1H do complexo 6 , em $\text{dms}\text{-d}_6$ a 298K, 400 MHz. ...	79 -
Figura 4.57 Espectro de RMN de ^1H do complexo 7 , em $\text{dms}\text{-d}_6$ a 298K, 400 MHz. ...	80 -
Figura 4.58 Espectro de RMN de ^1H do complexo 8 , em $\text{dms}\text{-d}_6$ a 298K, 400 MHz. ...	80 -
Figura 4.59 Espectro de RMN de ^1H do complexo 9 , em $\text{dms}\text{-d}_6$ a 298K, 400 MHz. ...	81 -
Figura 4.60 Espectro de RMN de ^1H do complexo 10 , em $\text{dms}\text{-d}_6$ a 298K, 400 MHz. .	82 -
Figura 4.61 Projeção do conteúdo da célula unitária monoclinica do complexo 1 ao longo do eixo a (cinza: x, y, z; verde: -x, $1/2 + y$, $1/2 - z$; amarelo: -x, -y- z; rosa: -x, $1/2 - y$, $1/2 + z$).....	83 -
Figura 4.62 Projeção do conteúdo da célula unitária triclinica do complexo 2 ao longo do eixo a (cinza: x, y, z; amarelo: -x, -y, -z).....	83 -
Figura 4.63 Projeção ORTEP da estrutura molecular dos complexos 1 (esquerda) e 2 (direita), com a simbologia dos átomos. Átomos não-hidrogenóides são representados como elipsóides de probabilidade 50%, enquanto que todos os átomos de hidrogênio foram suprimidos.....	85 -
Figura 4.64 Esquema representativo das interações intermoleculares do complexo 1 , ao longo de z-90. As interações de hidrogênio clássicas entre complexo 1 e molécula de água são esquematizadas pela linha verde tracejada. As distâncias entre os centros dos anéis de bpy e smp foram calculados e são exibidos através das linhas pretas tracejadas.-	88 -
Figura 4.65 Esquema representativo das interações intermoleculares (superior) e intramoleculares (inferior) do complexo 2 , ao longo de z+90. As interações de hidrogênio clássicas entre complexo 2 e molécula de álcool isopropílico são esquematizadas pela linha azul. As distâncias entre os centros dos anéis de phen e smp, e phen e phen, foram calculados e são exibidos através das linhas pretas tracejadas.-	89 -
Figura 4.66 Clivagem do DNA plasmidial pBSK-II pelos complexos 1 (à esquerda) e 2 (à direita) na ausência de luz UV. Condições reacionais: [DNA] = 330 ng, ~ 25 μM ; [Tampão] = Hepes (10 mM, pH 7,0); [complexos] = 0 a 500 μM ; Temperatura = 37 $^\circ\text{C}$; Tempo = 16 horas ao abrigo de luz. Eletroforese em gel de agarose. Resultados expressos como média \pm desvio padrão de três experimentos independentes.	92 -
Figura 4.67 Fotoclivagem do DNA plasmidial pBSK-II pelos complexos 1 (à esquerda) e 2 (à direita). Condições reacionais: [ADN] = 330 ng, ~ 25 μM ; [Tampão] = Hepes (10 mM, pH 7,0); [complexo] = 0 a 500 μM ; Tempo = 5 minutos (A), 10 minutos (B), 15 minutos (C) sob luz UV. Eletroforese em gel de agarose. Resultados expressos como média \pm desvio padrão de três experimentos independentes.....	93 -
Figura 4.68 Comparação da atividade de clivagem de ADN nos complexos 1 e 2 a 100 μM (em ausência de luz durante 16 h e após diferentes tempos de exposição à luz UV). -	94 -

Figura 4.69 Espectros de soluções contendo os complexos 3 (superior) e 4 ($3,0 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹) e crescentes concentrações de ADN de 0 a $6,2 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹ em tampão TRIS pH 7,2. Inferior: plotagem de $[ADN]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ versus $[ADN]$, $\lambda=334$ nm.	96
Figura 4.70 Espectro de dicroísmo circular de CT-DNA ($1,5 \times 10^{-4}$ mol L ⁻¹) em $2,5 \times 10^{-3}$ mol L ⁻¹ de tampão Tris pH 7,2 na ausência e presença dos complexos 3 e 4 ($3,9 \times 10^{-5}$ mol L ⁻¹).	97
Figura 4.71 Interações dos complexos 1 , 2 , 3 e 4 com albumina sérica bovina. Espectros de emissão de fluorescência da BSA ($1,0 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ : $\lambda_{excitação} = 280$ nm) na presença de concentrações crescentes dos complexos. Relação molar complexo-BSA variando de (a= 0, b=1,66, c=1,65, d=4,95, e=6,57, f=8,19, g=9,8, h=11,4, i= 12,9, j=14, 5, l=16,1). Reta inserida: plotagem de $[(F_0-F)-1]$ vs $[complexo]$	99
Figura 4.72 Interações dos complexos 5 , 6 , 7 , 8 , 9 e 10 com albumina sérica bovina. Espectros de emissão de fluorescência da BSA ($1,0 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ : $\lambda_{excitação} = 280$ nm) na presença de concentrações crescentes dos complexos. Relação molar complexo-BSA variando de (a= 0, b=1,66, c=1,65, d=4,95, e=6,57, f=8,19, g=9,8, h=11,4, i= 12,9, j=14, 5, l=16,1). Reta inserida: plotagem de $[(F_0-F)-1]$ vs $[complexo]$	100
Figura 4.73 Gráficos de $\log\{(F_0-F)/F\}$ versus $\log[Q]$, para os complexos 1 (esquerda), e 2 (direita).	101
Figura 4.74 Gráficos de $\log\{(F_0-F)/F\}$ versus $\log[Q]$, para os complexos 3 (esquerda), e 4 (direita).	102
Figura 4.75 Gráficos de $\log\{(F_0-F)/F\}$ versus $\log[Q]$, para os complexos 5 (esquerda), e 6 (direita).	102
Figura 4.76 Gráficos de $\log\{(F_0-F)/F\}$ versus $\log[Q]$, para os complexos 7 (esquerda), e 8 (direita).	103
Figura 4.77 Gráficos de $\log\{(F_0-F)/F\}$ versus $\log[Q]$, para os complexos 9 (esquerda), e 10 (direita).	103
Figura 4.78 Efeito da irradiação na fluorescência da BSA e dos complexos 3 e 4 . A solução de amostra contendo $1,0 \times 10^{-6}$ M dos complexos 3 e 4 e $1,0 \times 10^{-6}$ M BSA em tampão Tris (pH 7,2) foi irradiada durante 30 min, $\lambda_{excitação} = 365$ nm.	105
Figura 4.79 Efeito da irradiação na fluorescência da BSA e dos complexos 9 e 10 . A solução de amostra contendo $1,0 \times 10^{-6}$ M de complexos 9 e 10 e $1,0 \times 10^{-6}$ M BSA em tampão Tris (pH 7,2) foi irradiada durante 30 min, $\lambda_{excitação} = 365$ nm.	106
Figura 4.80 Fotodegradação da BSA pelos complexos de rutênio(II). $[complexo] = [BSA] = 1,0 \times 10^{-6}$ M (pH 7,2). Tempo de irradiação = 30 min, $\lambda_{excitação} = 365$ nm.-	106
Figura 4.81 Interações dos complexos 1 , 2 , 3 , 4 , 9 e 10 com a proteína Abl-SH3. Espectros de emissão de fluorescência da Abl-SH3 ($1,0 \times 10^{-6}$ mol L ⁻¹ : $\lambda_{excitação} = 280$ nm) na presença de concentrações crescentes dos complexos. Relação molar complexo-Abl-SH3 variando de (a= 0, b=2,00, c=3,96, d=5,92, e=7,87, f=9,80, g=11,7, h=13,61, i= 15,5, j=17,37, l=19,2). Reta inserida: plotagem de $\log\{(F_0-F)/F\}$ versus $\log[complexo]$	108
Figura 4.82 (A) Coeficiente de perturbação do deslocamento químico (CSP, sigla em inglês) em função da sequência primária ABL-SH3. Os valores de CSP foram	

calculados a partir da diferença dos valores de desvio químico ^1H e ^{15}N nos espectros HSQC ^1H - ^{15}N de ABL-SH3 marcado com ^{15}N em solução com o Complexo **2**. A linha de corte, cor magenta, é a soma do valor médio e o desvio padrão, ambos calculados utilizando todos os valores de CSP. (B) Os resíduos com CSP superior ao valor de corte foram coloridos em magenta na estrutura cristalina de ABL-SH3 (PDB ID: 4JJC). As cadeias laterais desses resíduos também são destacadas.- 110 -

Figura 5.1 Esquema representativo da equação genérica para obter complexo **11**.- 112 -

Figura 5.2 Espectro de absorção na região do infravermelho da shyd.- 113 -

Figura 5.3 Espectro de absorção na região do infravermelho para o complexo **11**.- 115 -

Figura 5.4 A esquerda, espectro eletrônico de soluções $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ dos ligantes bpy e shyd e complexo **11** em tampão Hepes pH 7,2, e a direita, espectro eletrônico de soluções $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do complexo **11** em tampão Hepes pH 7,2 com variação de tempo em 1, 5 e 24 horas.- 116 -

Figura 5.5 Espectro de fluorescência do complexo **11** ($5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $\lambda_{\text{excitação}} = 492 \text{ nm}$) em tampão hepes pH 7,2 a temperatura ambiente.- 117 -

Figura 5.6 Interação do complexo **11** com albumina sérica bovina. Espectros de emissão de fluorescência da BSA ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$: $\lambda_{\text{excitação}} = 280 \text{ nm}$) na presença de concentrações crescentes do complexo. Relação molar complexo-BSA variando de (a= 0, b=1,66, c=1,65, d=4,95, e=6,57, f=8,19, g=9,8, h=11,4, i= 12,9, j=14, 5, l=16,1). Retra inserida: plotagem de $[(F_0-F)-1]$ vs [complexo]. Gráficos de $\log\{(F_0-F)/F\}$ versus $\log[Q]$ (à direita).- 118 -

Figura 5.7 Espectro de RMN de ^1H do ligante shyd, ($\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_2\text{OS}$), em dms o - d_6 a 298K, 400 MHz.- 119 -

Figura 5.8 Espectro de RMN de ^1H do complexo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{shyd}](\text{PF}_6)_2$, em dms o - d_6 a 298K, 400 MHz.- 120 -

Figura 5.9 Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo **11**. - 121 -

Figura 5.10 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_2\text{OS})]^{+1}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).- 122 -

Figura 5.11 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_2\text{OS})]^{+2}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).- 123 -

Figura S1 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2)]^{+1}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).- 136 -

Figura S2 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2)]^{+2}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).- 137 -

Figura S3 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2)]^{+1}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).- 138 -

Figura S4 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2\text{S})]^{+1}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).- 139 -

Figura S5 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2\text{S})]^{+2}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).- 140 -

Figura S6 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{S})]^{+2}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).- 141 -

Figura S7 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{S})]^{+2}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).	- 142 -
Figura S8 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{S})]^{+1}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).	- 143 -
Figura S9 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{S})]^{+1}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).	- 144 -
Figura S10 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_5\text{S})]^{+1}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).	- 145 -
Figura S11 Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_5\text{S})]^{+1}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).	- 146 -
Figura S12 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor $\text{cis}[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]\cdot\text{H}_2\text{O}$	- 148 -
Figura S13 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor $\text{cis}[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{Cl}_2]$	- 150 -
Figura S14 Espectro de RMN de ^1H do precursor $\text{cis}[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$, em $\text{dms}\text{-}d_6$ a 298K, 400 MHz.	- 152 -
Figura S15 Espectro de RMN de ^1H do precursor $\text{cis}[\text{RuCl}_2(\text{phen})_2]$, em $\text{dms}\text{-}d_6$ a 298K, 400 MHz.	- 153 -

LISTA DE TABELA

Tabela 3.1 Massas dos precursores e ligantes usados nas sínteses dos complexos 2 a 11	- 22 -
Tabela 4.1 Dados das análises elementares, medidas de condutividade e ponto de fusão dos complexos 1 a 10	- 32 -
Tabela 4.2 Principais frequências (cm ⁻¹) na região do infravermelho dos complexos 1 a 8 e ligantes sulfas.....	- 33 -
Tabela 4.3 Modos vibracionais de estiramento $\nu(\text{C}=\text{C})$, $\nu(\text{C}=\text{N})$, ν_3 (F1u), ν_4 (F1u) e deformação angular fora do plano $\nu\text{C-H}$, νCCN , νCCC que aparecem região do infravermelho dos complexos 9 e 10 e dos ligantes bpy e phen.....	- 41 -
Tabela 4.4 Modos vibracionais de estiramento $\nu(\text{C}=\text{C})$, $\nu(\text{C}=\text{N})$, ν_3 (F1u), ν_4 (F1u) e deformação angular fora do plano $\nu\text{C-H}$, νCCN , νCCC que aparecem região do infravermelho dos complexos 9 e 10 e dos ligantes bpy e phen.....	- 49 -
Tabela 4.5 Principais bandas ($\lambda_{\text{máx}}$ absorção) observadas nos espectros eletrônicos dos ligantes bpy, phen e sulfas.....	- 49 -
Tabela 4.6 Valores de m/z (experimental e calculado) para os complexos de rutênio (II).....	- 58 -
Tabela 4.7 Atribuições dos sinais de RMN de ¹ H as sulfas smp, smz, spd e smx. ...	- 72 -
Tabela 4.8 Atribuição dos sinais de RMN de ¹ H do ligante ssz em dmsó-d ₆ a 298K, 400 MHz.....	- 74 -
Tabela 4.9 Atribuições dos sinais de RMN de ¹ H dos complexos 1 a 8	- 76 -
Tabela 4.10 Dados de coletas e refinamento das estruturas dos complexos 1 e 2	- 84 -
Tabela 4.11 Comprimentos e ângulos de ligações selecionados para os átomos envolvidos na coordenação ao rutênio nos complexos 1 e 2 . Desvio padrão entre parênteses.....	- 86 -
Tabela 4.12 Comprimentos e ângulos de ligações selecionados para os complexos 1 e 2 . Desvio padrão entre parênteses.	- 86 -
Tabela 4.13 Geometrias das ligações de hidrogênio clássicas presentes nas estruturas dos complexos 1 e 2	- 87 -
Tabela 4.14 Valores de CI ₅₀ para os ligantes bpy, phen, smp, smx e aos complexos de 1 a 10 com tempo de incubação de 72 horas.	- 90 -
Tabela 4.15 Valores de CI ₅₀ para complexos 1 , 2 , 3 , 4 , 9 e 10 com e sem irradiação UV-A por 5 minutos, tempo de incubação de 4 horas.....	- 91 -
Tabela 4.16 Constantes de Stern-Volmer (K _{sv}), constante de velocidade bimolecular de supressão (k _q), constante de ligação (K _b), número de sítios de ligação (n) e coeficientes de determinação da regressão linear (R ²) para a interação dos complexos de rutênio(II) de ligantes mistos.	- 104 -
Tabela 5.1 Dados das análises elementares, medidas de condutividade e ponto de fusão do complexo 11	- 111 -

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

Λ_M = condutividade em solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$

δ = deformação angular na espectroscopia de absorção de infravermelho

ν = estiramento na espectroscopia de absorção de infravermelho

ADN= ácido desoxirribonucléico

byp= 2,2'-bipiridina

dmsO= dimetilsulfóxido (CH_3SOCH_3)

ddpz= 2,3' dipiridofenazina

DRMX= Difração de raios-X de monocristal

ESI-MS= Espectrometria de massas com ionização por eletrospray

Hepes= ácido 2-[4-(2-Hidroxietil)-1-piperazino]-etanossulfônico

LMC= leucemia mielóide crônica

TRIS= tris(hidroximetil)aminometano

M= mol L^{-1}

phen= 1,10 fenantrolina

RMN ^1H = Ressonância paramagnética de hidrogênio

Ru= rutênio

shyd= hidrazida do ácido 2-tiofenocarboxílico

smp= sulfametoxipiridazina

smx= sulfametoxazol

spd= sulfapiridina

smz= sulfametizol

ssz=sulfassalazina

TCML= transferência de carga do metal para o ligante

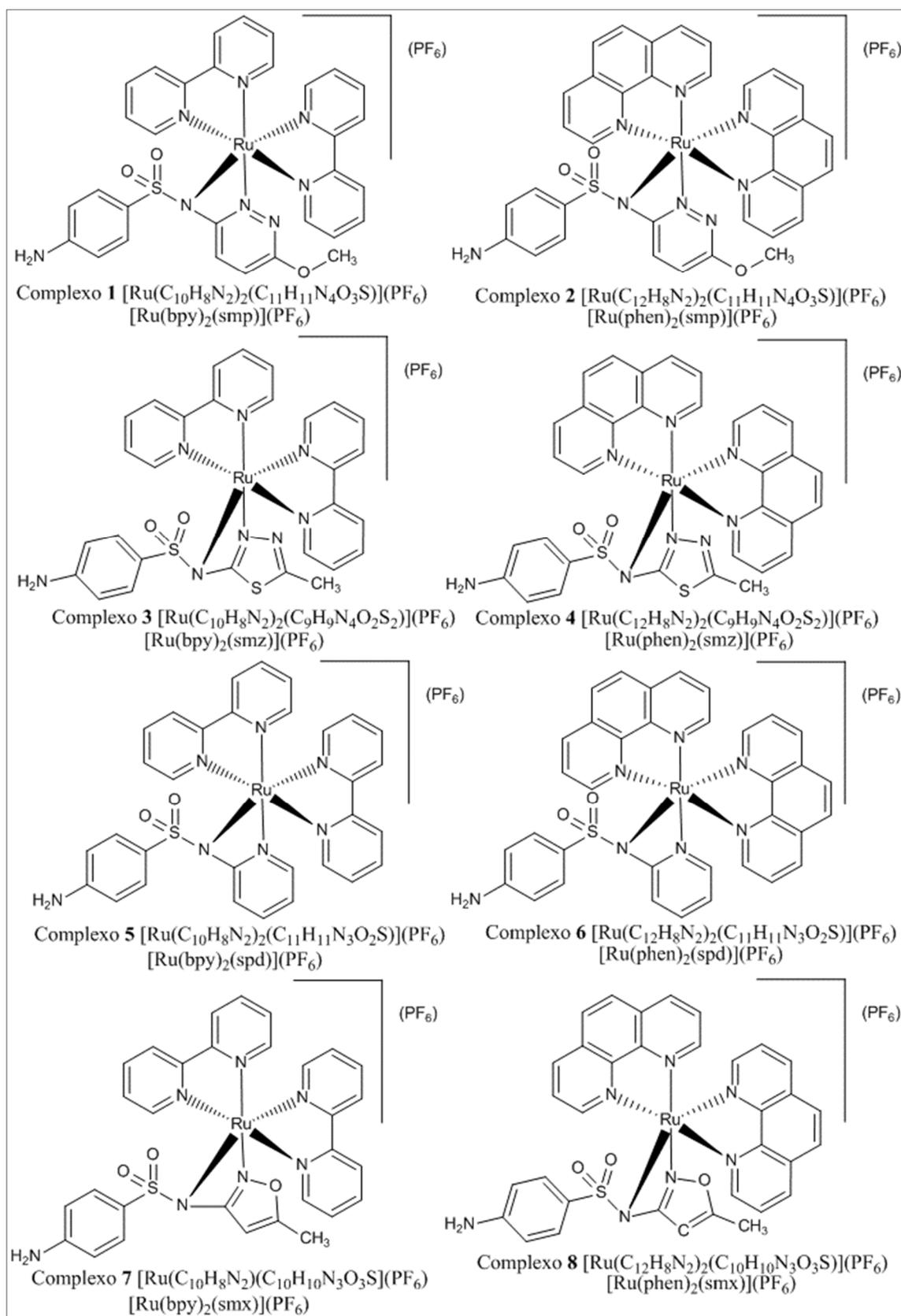
tpy= 2'2''6''2'''-terpiridina

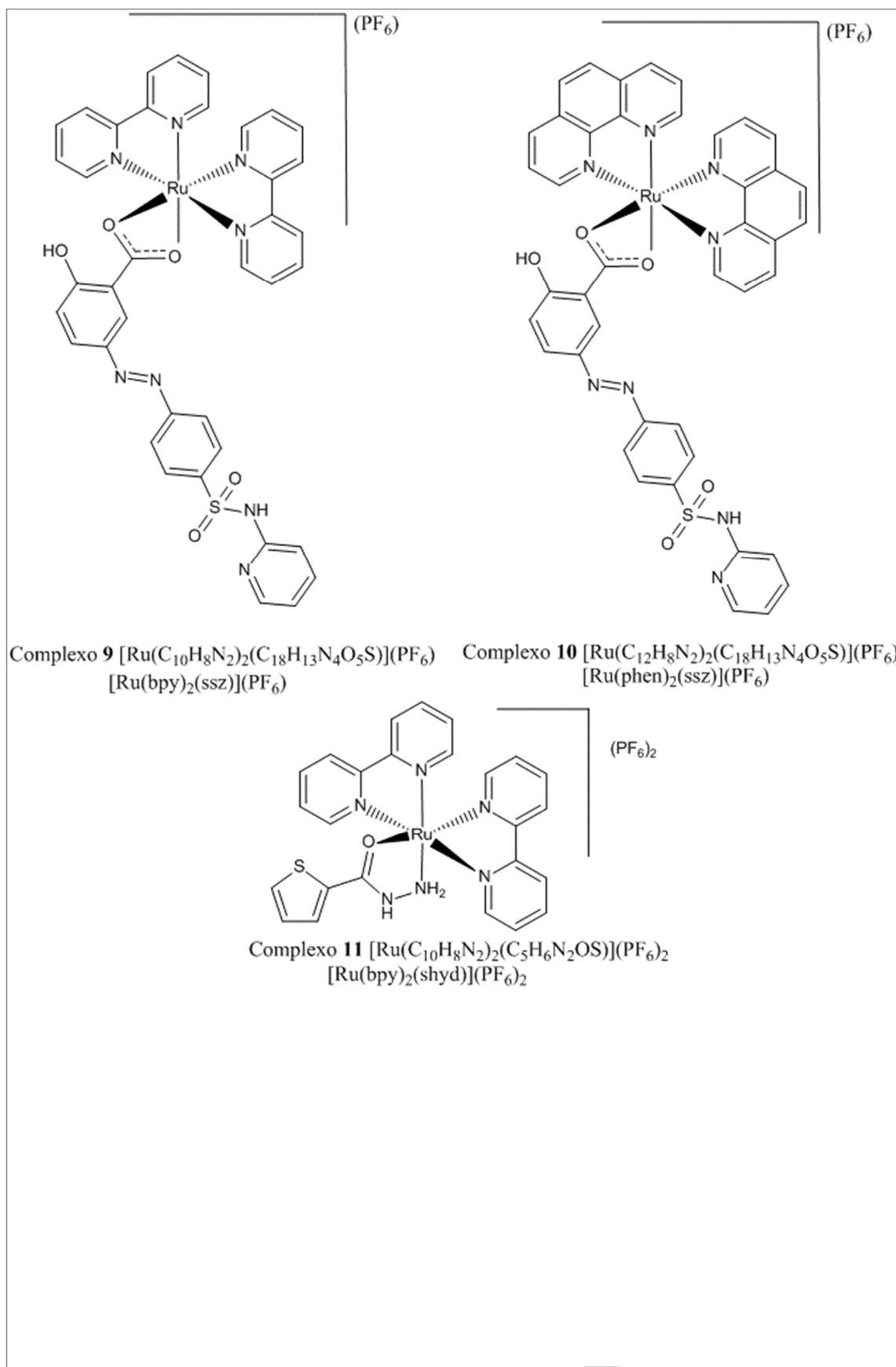
UV= região do ultravioleta no espectro eletromagnético

Vis= região do visível no espectro eletromagnético

CI₅₀= concentração inibitória média

LISTA DE ESTRUTURA





RESUMO

Uma das aplicações mais importantes de complexos metálicos é no tratamento do câncer. O aparecimento de resistência celular e os efeitos colaterais aos medicamentos atualmente disponíveis têm incentivado a pesquisa de novos compostos. Neste trabalho, sintetizamos onze complexos inéditos de Ru(II) do tipo $[\text{RuLL}'_2]\text{PF}_6$, onde L = sulfametizol (smz), sulfametoxazol (smx), sulfassalazina (ssz), sulfametoxipiridazina (smp), sulfapiridina (spd) ou hidrazida do ácido 2-tiofenocarboxílico (shyd), L' = 2,2'-bipiridina (bpy) ou 1,10-fenantrolina (phen). Os complexos foram caracterizados por análise elementar, condutimetria, temperatura de decomposição, espectroscopias no UV-vis e IV, RMN de ^1H , espectrometria de massas (ESI-MS). Os complexos $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{smp}](\text{PF}_6)$ (**1**) e $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{smp}](\text{PF}_6)$ (**2**) tiveram a estrutura determinada por difração de raios X de monocristal. Em todos os complexos a geometria em torno do íon metálico é octaédrica distorcida. Nos complexos de spd, smz, smx e smp, o Ru(II) está coordenado às sulfas através do nitrogênio sulfonamídico desprotonado e do nitrogênio do anel heterocíclico; nos complexos de ssz o rutênio está coordenado aos oxigênios docarboxilato bidentado; e no complexo da shyd, ao oxigênio da amida e ao nitrogênio da amina. A esfera de coordenação é completada por dois nitrogênios heterocíclicos das α,α -diiminas. Os complexos ligam-se à BSA por mecanismo estático com constantes de ligação variando de 10^4 a 10^6 . O efeito dos complexos no crescimento de células de leucemia mielóide crônica foi avaliado. Todos os complexos possuem atividade citotóxica significativa e superior à dos ligantes livres. Os complexos **1** e **2** foram os mais ativos. As atividades fotocitotóxicas dos complexos **1**, **2**, $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{smz}](\text{PF}_6)$ (**3**), $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{smz}](\text{PF}_6)$ (**4**), $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{ssz}](\text{PF}_6)$ (**9**) e $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{ssz}](\text{PF}_6)$ (**10**) foram investigadas. A exposição à luz UV-A por 5 minutos induziu um aumento na atividade citotóxica dos complexos, com aumento de cerca de 100 vezes para o complexo **2**. Os complexos **1** e **2** clivam o ADN de plasmídeo após irradiação com luz UV-A. A substituição de phen por bpy resultou na diminuição do efeito citotóxico e na clivagem de ADN. Os complexos **1** e **2** ligam-se ao CT-ADN com os valores de $K = 2,8 \times 10^4 \text{ mol L}^{-1}$ e $2,5 \times 10^5 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Os complexos **1**, **2**, **3**, **4**, **9** e **10** interagem com o domínio regulatório SH3 da proteína c-Abl, que é responsável pelo desenvolvimento de leucemia mielóide crônica. As constantes de ligação, determinadas por espectrofluorimetria, foram $1,50 \times 10^5$, $2,50 \times 10^5$, $9,78 \times 10^3$, $7,99 \times 10^6$, $4,16 \times 10^4$ e $4,02 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$ para os complexos **1**, **2**, **3**, **4**, **9** e **10**, respectivamente. Estudos da interação do complexo **2** com o domínio Abl-SH3 mostraram, através dos espectros de RMN, que os resíduos mais afetados foram T79, G97, W99 e Y115.

Palavras chave: antitumoral, fotocitotoxicidade, complexos de Ru(II), ligantes mistos, domínio Abl-SH3, ADN e BSA.

ABSTRACT

One of the most important uses of metal compounds is in the treatment of cancer. The appearance of cellular resistance and the side effects associated to the known drugs have stimulated the search for new compounds. In this work, we have synthesized novel ternary complexes of Ru(II) with N-heterocyclic ligands. Eleven complexes of Ru(II) of type $[\text{RuLL}_2']\text{PF}_6$, in which L = sulfamethizole (smz), sulfamethoxazole (smx), sulfasalazine (ssz), sulfamethoxypyridazine (smp), sulfapyridine (spd), or 2-thiophenecarboxylic acid hydrazide (shyd), L' = 2,2'-bipyridine (bpy) or 1,10-phenanthroline (phen) were prepared. The complexes were characterized by elemental and conductivity analyses, decomposition temperature, UV-vis, ^1H NMR, and IR spectroscopies, electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS). The structures of $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{smp}](\text{PF}_6)$ (**1**) and $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{smp}](\text{PF}_6)$ (**2**) were determined by single crystal X-ray diffraction. In all complexes, the geometry around the metal ion is a distorted octahedron. In the complexes with smz, smx, spd and smp, Ru(II) is coordinated to the sulfa via the sulfonamidic nitrogen and the nitrogen of the heterocyclic ring; in the complexes with ssz Ru(II) is coordinated to the carboxylate as a chelating ligand; and in the complex with shyd via the terminal nitrogen and the carbonyl oxygen. Two heterocyclic nitrogens of the $\alpha\text{-}\square\text{-}\alpha$ -diimines complete the coordination sphere. The interactions between the Ru (II) complexes and bovine serum albumin (BSA) were investigated by fluorescence spectroscopy at pH 7.3. The experimental data indicate that both complexes bind to BSA by a static mechanism. The complexes bind to BSA with binding constants ranging from 10^4 to 10^6 . The effect of complexes in the growth of chronic myelogenous leukemia cells was investigated. All complexes exhibit significant cytotoxic activity and higher than those of the corresponding free ligands. The photocytotoxic activity of the complexes **1**, **2** $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{smz}](\text{PF}_6)$ (**3**), $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{smz}](\text{PF}_6)$ (**4**), $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{ssz}](\text{PF}_6)$ (**9**) and $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{ssz}](\text{PF}_6)$ (**10**) was also investigated. UV-light exposure for 5 min increases cytotoxicity of all complexes, with an increase of approximately 100 times in the case of **2**. Complexes **1** and **2** cleave supercoiled DNA after UV light irradiation but not in dark conditions. Complexes **1** and **2** bind to CT-DNA with the values of $K = 2.8 \times 10^4 \text{ mol L}^{-1}$ and $2.5 \times 10^5 \text{ mol L}^{-1}$, respectively. Complexes **1**, **2**, **3**, **4**, **9** and **10** interact with the regulatory domain SH3 of the c-Abl protein, which is responsible for the development of chronic myeloid leukemia. The binding constants, determined by spectrofluorimetry, were 1.50×10^5 , 2.50×10^5 , 9.78×10^3 , 7.99×10^6 , 4.16×10^4 and $4.02 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$ for complexes **1**, **2**, **3**, **4**, **9** and **10**, respectively. NMR studies of the interaction of complex **2** with the Abl-SH3 domain showed that the most affected residues were T79, G97, W99 and Y115.

Key words: antitumor, photocytotoxicity, Ru(II) complexes with mixed ligands, domain ABL-SH3, DNA and BSA.

1 **CAPÍTULO 1**

2 **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

3 **1.1 Introdução geral**

4 Um câncer é uma massa anormal de tecido cujo crescimento ultrapassa e não é
5 coordenado aos tecidos normais e persiste na mesma maneira excessiva depois da
6 interrupção dos estímulos que deram origem à mudança [1]. Em outros termos, o câncer
7 é uma doença de células caracterizada por um desvio dos mecanismos de controle que
8 dirigem a proliferação e a diferenciação celular. [2]. Os tipos de câncer são agrupados
9 em grandes categorias: os carcinomas, os sarcomas, as leucemias, os linfomas e
10 mielomas e os tumores do sistema nervoso central [1,2]. A velocidade de multiplicação
11 das células e a capacidade de invadir tecidos e órgãos vizinhos ou distantes também
12 diferenciam os diversos tipos de câncer [1]. Por exemplo, o câncer de mama que se
13 dissemina para o pulmão formando um tumor metastático é o câncer de mama
14 metastático e não um câncer de pulmão [2]. Assim, câncer metastático é aquele que se
15 espalhou a partir do lugar onde se iniciou para outro local do corpo [1,2].

16 O perfil epidemiológico do câncer pode ser atribuído ao envelhecimento da
17 população, mudanças econômicas que refletem em mudanças de hábitos, além de
18 fatores multifatoriais determinantes para o crescimento desordenado de células
19 anormais com potencial invasivo [2]. No manual do INCA (Estimativas/2014
20 Incidências de Câncer no Brasil), destaca-se que cerca de 100 tipos de câncer já foram
21 identificados. Estima-se para até 2030, 21,4 milhões de novos casos de câncer e 8,2
22 milhões de mortes por câncer no mundo. Os tipos mais incidentes de câncer para 2016
23 são pele não melanoma, traqueia, brônquio e pulmão, cólon e reto, estômago, cavidade
24 oral em homens e em mulheres pele não melanoma, traqueia, brônquio e pulmão, cólon
25 e reto, colo de útero, estômago. A estimativa do número de novos casos de câncer,
26 segundo sexo e região mostrou maior incidência na região sudeste e a menor na região
27 nordestes. No Brasil são esperados 567 mil casos por ano, com predominância dos
28 cânceres de próstata, pulmão e estômago para homens, e mama e colo do útero para
29 mulheres [2].

30 Os agentes antineoplásicos mais empregados no tratamento do câncer são
31 agrupados nas seguintes classes farmacológicas: alquilantes polifuncionais,

32 antimetabólitos, antibióticos antitumorais e inibidores mitóticos [3]. Os quimioterápicos
33 disponíveis no mercado não são letais a células neoplásicas de modo seletivo, células
34 normais também são afetadas. Um antineoplásico ideal deveria induzir apoptose nas
35 células cancerígenas e não ser tóxico às células normais.

36 O aparecimento de resistência celular e os efeitos colaterais decorrentes do uso
37 dos medicamentos atualmente disponíveis constituem obstáculos à terapêutica
38 antitumoral, fazendo com que seja de extrema importância o desenvolvimento de novos
39 fármacos. A introdução de complexos metálicos na terapia do câncer tem sido um
40 elemento imprescindível para estimular diversos grupos de pesquisa na busca por novos
41 candidatos a agentes quimioterápicos.

42 Complexos metálicos de rutênio são agentes antitumorais interessantes, entre
43 outros fatores por penetrarem mais facilmente nas células cancerosas, que tendem a ser
44 metabolicamente mais ativas do que as células normais [4]. Desta forma, a estratégia
45 empregada neste estudo foi a de aliar propriedades farmacológicas de pró-ligantes a
46 atividade antitumoral de compostos de Ru(II).

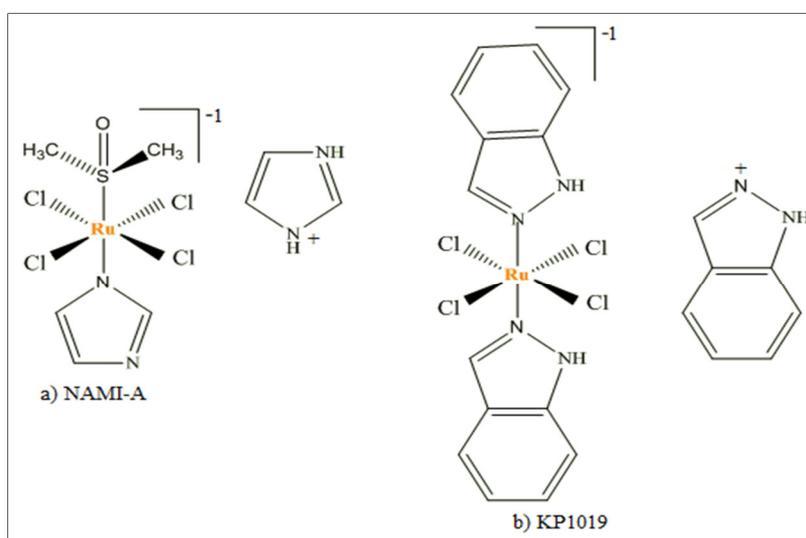
47 Entretanto, é necessário salientar que o lançamento no mercado de novos
48 fármacos para o uso em oncologia é um processo longo e complexo. Nesse sentido,
49 ações conjuntas entre universidades, centros de pesquisas e indústria farmacêutica são
50 de extrema importância para os primeiros passos na proposição de um novo fármaco.

51 **1.2 Complexos de rutênio e atividade antitumoral**

52 As propriedades antitumorais de compostos de rutênio foram reconhecidas nas
53 três últimas décadas [5]. A investigação sistemática da atividade antitumoral foi
54 realizada inicialmente nos complexos *fac*-triclорidotriaminorutênio (III) *fac*-
55 $[\text{RuCl}_3(\text{NH}_3)_3]$ e cloreto de *cis*-tetraaminodicloridorutênio(III) *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{NH}_3)_4]\text{Cl}$ [6].
56 Estes complexos apresentaram atividade antitumoral próxima à exibida pela cisplatina
57 para leucemia P388, mas foram considerados inviáveis para teste clínico devido à sua
58 alta insolubilidade em água [6].

59 Os primeiros complexos à base de rutênio a entrarem em triagens clínicas
60 visando o tratamento de certos tipos de câncer foram *trans*- $[\text{Ru}(\text{dmsO})(\text{Im})\text{Cl}_4][\text{ImH}]$
61 (NAMI-A, Im = imidazol, dmsO = dimetilsulfóxido) e *trans*- $[\text{Ru}(\text{Ind})_2\text{Cl}_4][\text{IndH}]$
62 (KP1019, Ind = indazol) [7,8]. Os complexos NAMI-A (Figura 1.1a) e KP1019 (Figura
63 1.1b) são estruturalmente semelhantes, ambos apresentam ligantes heterocíclicos e
64 cloretos ligados ao Ru(III). NAMI-A é mais eficaz em metástases do que em tumores

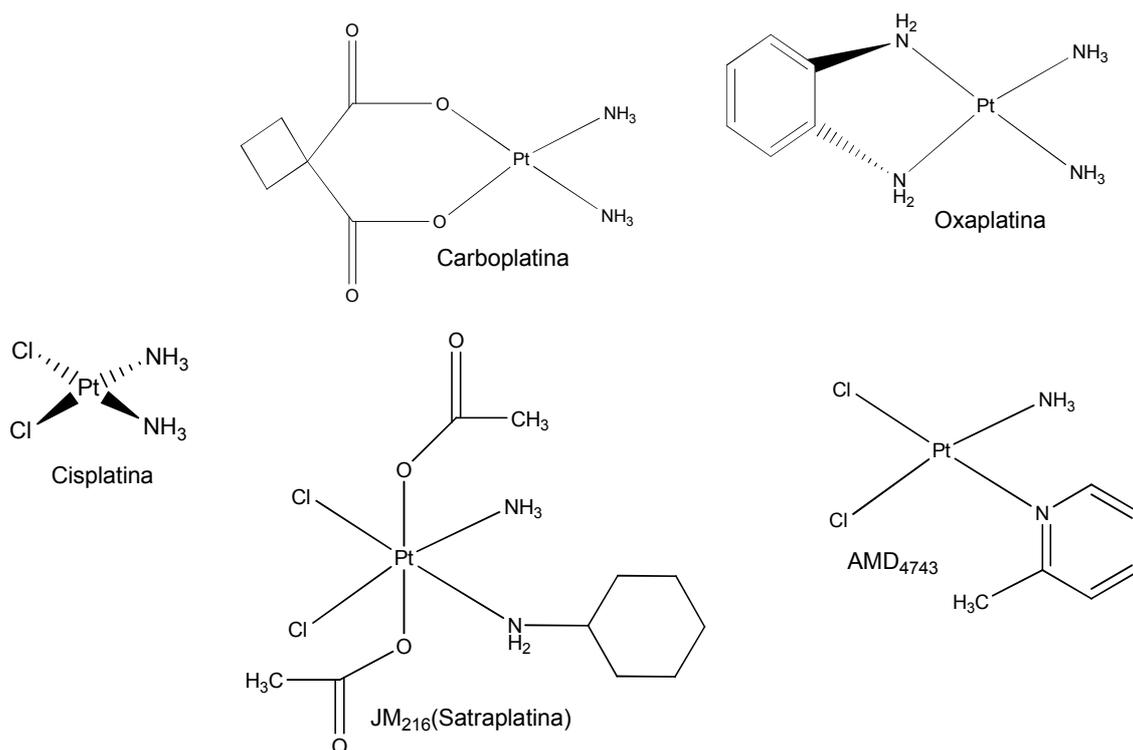
65 primários, enquanto, o KP1019 exerce efeito direto em células tumorais sem interferir
66 em processos de metástases [7,8]. Em estudos pré-clínicos com modelos de tumores
67 sólidos metastáticos, NAMI-A reduziu 100% das metástases de carcinoma de pulmão
68 de Lewis, adenocarcinoma mamário de camundongo, e melanoma [6,7]. Foi observada
69 também diminuição de 90% de metástases em um modelo xenográfico de câncer de
70 pulmão de células não-pequenas [6,7]. NAMI-A completou as fases I/II dos testes
71 clínicos [9,10]. Ainda em fase de estudos clínicos, NAMI-A em combinação com
72 gencitabina é visto como tratamento de segunda escolha em pacientes com câncer de
73 pulmão de células não-pequenas metastático [10]. Até ao presente, não foram ainda
74 encontrados fármacos capazes de tratar metástases, sendo este problema uma das
75 principais dificuldades na terapêutica do câncer.



76

77 **Figura 1.1** Estruturas químicas do NAMI-A (a) e do KP1019 (b).

78 Complexos de rutênio são vistos como uma alternativa ao uso de complexos a
79 base de platina (Figura 1.2). A cisplatina, *cis*-diaminodicloridoplatina(II), é um fármaco
80 que exerce seu efeito citotóxico inibindo a síntese do ácido desoxirribonucleico (ADN)
81 [11]. O mecanismo de ação da cisplatina relaciona-se com a formação de adutos
82 cisplatina-ADN, inibindo sua replicação e o prolongamento de sua cadeia [12]. Os
83 adutos são formados quando a platina liga-se aos átomos de nitrogênio da guanina [12].
84 Apesar do sucesso inicial da cisplatina no tratamento de diversos tipos de câncer, o
85 aparecimento de resistência celular a compostos de platina e seus efeitos colaterais têm
86 estimulado a busca por novos complexos com outros íons metálicos [6, 13].



87

88 **Figura 1.2** Representação da estrutura da cisplatina, *cis*-diaminodicloridoplatina(II) e
 89 de seus análogos.

90 Complexos de Ru(II) e Ru(III) têm geometria octaédrica, enquanto que os de
 91 platina(II) têm geometria quadrática. Essa diferença espacial contribui para que os
 92 complexos de rutênio funcionem de modo distinto aos de platina. Os testes já realizados
 93 apontam que podem ocorrer interações entre íon Ru(II) e proteínas, desta maneira o
 94 ADN não é o único alvo [6].

95 Complexos de rutênio apresentam baixa toxicidade quando comparados aos
 96 complexos de platina. A baixa toxicidade é associada à capacidade do rutênio em imitar
 97 a ligação de íons ferro com biomoléculas [6, 14]. As células tumorais possuem uma
 98 necessidade maior de ferro devido à angiogênese e, conseqüentemente, apresentam um
 99 número maior de receptores de transferrina. A ligação da transferrina ao rutênio(III) é
 100 favorecida devido à sua similaridade ao ferro(III). Essa proteína é composta por uma
 101 única cadeia polipeptídica, com dois sítios de ligação para o íon férrico, envolvendo
 102 dois tirosinatos, um aspartato, um ânion carbonato bidentado e um resíduo de histidina.
 103 O complexo KP1019 entra nas células ligado à transferrina via histidina, sendo que os
 104 ligantes indazóis permanecem coordenados [6, 8, 15, 16]. A proteína libera o composto
 105 em ambientes ácidos, como os endossomas [8, 15, 16].

106 Outro fator relevante para o emprego de complexos de rutênio como agentes
107 antitumorais está relacionado à capacidade redox dos complexos de Ru(III) em
108 ambientes celulares [16, 17]. A geometria de coordenação e os ligantes nos compostos
109 de rutênio podem direcionar a ocorrência de processos redox [17]. A redução pode
110 também aumentar a reatividade com biomoléculas e determinar a formação da estrutura
111 dos adutos [17].

112 É oportuno destacar que antes de alcançar o alvo pretendido o composto
113 inicialmente administrado sofre alterações que podem interferir em sua atuação. A
114 atividade antitumoral também é dependente do número de oxidação do íon metálico.
115 Complexos de rutênio em solução aquosa podem apresentar número de oxidação II, III
116 ou VI [18]. Em meados da década de 70 começaram os primeiros estudos considerando
117 o mecanismo de ação dos complexos de rutênio (III) via ativação por redução [17, 18].
118 O estudo do mecanismo de ativação por redução de complexos octaédricos de Ru(III)
119 sugere que estes complexos mantêm o seu estado de oxidação até alcançarem o tumor
120 [6, 16, 17, 18]. As células saudáveis sobrevivem melhor em um ambiente rico em
121 oxigênio, em contrapartida, o tumor geralmente apresenta hipóxia, em outros termos,
122 redução drástica do fluxo de oxigênio. Deste modo, a região com baixo nível de
123 oxigênio funciona como um excelente ambiente redutor permitindo assim redução a
124 Ru(II), o que origina compostos mais ativos.

125 O ADN é um dos principais alvos de fármacos antitumorais [19]. Contudo,
126 estudos preliminares do mecanismo de ação dos metalofármacos NAMI-A e KP1019
127 mostraram que a ligação destes metalofármacos ao ADN é muito pequena em
128 comparação com a cisplatina [20]. Há evidências químicas e bioquímicas do
129 envolvimento de outros alvos tais como, aminoácidos, agentes redutores, hormônios,
130 peptídeos, proteínas e mais especificamente a enzima topoisomerase II [18, 21].

131 É crescente o número de estudos descrevendo complexos ternários de Ru(II)
132 contendo ligantes N-heterocíclicos, na expectativa de atuarem como agentes
133 antitumorais [22, 23, 24, 25, 26 e 27]. No próximo tópico serão abordados aspectos
134 relativos a complexos polipiridínicos com rutênio, importantes para a compreensão
135 deste trabalho.

136 **1.2.1 Complexos polipiridínicos com rutênio**

137 A combinação de estabilidade química e redox, propriedades físicas e
138 fotoquímicas apresentadas por complexos de Ru (II) com ligantes polipiridínicos têm

139 sido intensivamente estudadas durante os últimos dois decênios [28]. Ligantes
140 polipiridínicos apresentam orbitais $p\pi$ antiligantes vazios e um par de elétrons livre
141 capaz de formar ligação σ forte, podendo estabilizar íons metálicos em baixo estado de
142 oxidação.

143 Vários complexos de rutênio com ligantes polipiridínicos [29-35] já têm
144 atividade citotóxica demonstrada em células cancerosas. Os complexos Δ e Λ -
145 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}]$ ($\text{L} = p\text{-tFMPIP}$; $m\text{-tFMPIP}$; $o\text{-tFMPIP}$, $\text{FMPIP} = 2\text{-}(4\text{-trifluorometilfenil})\text{-}$
146 $1\text{H-imidazol}[4,5\text{f}][1,10]\text{fenantrolina}$) são moléculas quirais capazes de induzir a
147 apoptose, mediada por mitocôndrias em células de melanoma A375 [34]. Os complexos
148 $[\text{Ru}((\text{bpy})(\text{tpy})\text{Cl})\text{Cl}]$, $\text{cis-}[\text{RuCl}_2((\text{bpy})_2)]$ e $\text{mer-}[\text{RuCl}_3(\text{tpy})]$ ($\text{bpy} = 2,2'\text{-bipiridina}$, tpy
149 $= 2,2':6',2''\text{-terpiridina}$) apresentaram citotoxicidade para células de carcinoma cerebral
150 humano [35]. Dentre estes complexos, o $\text{mer-}[\text{RuCl}_3(\text{tpy})]$ exibe uma citotoxicidade
151 consideravelmente superior à dos outros complexos. É interessante destacar que o
152 mecanismo de ação do complexo $\text{mer-}[\text{RuCl}_3(\text{tpy})]$ envolve intercalação do ligante
153 $2,2':6',2''\text{-terpiridina}$ com o ADN [35].

154 Estudos mostraram que complexos de metais de transição com ligantes
155 polipiridínicos têm capacidade de se intercalar no ADN [35,36,37]. Os complexos
156 $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{dpq-df}]^{2+}$, $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{dpq-df}]^{2+}$, $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ e $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})]^{2+}$
157 ($\text{dpq-df} = \text{dipirido}$ (3,2-a: 2',3'-b)quinoxalina-difurano, $\text{dppz} = 2,3'\text{-dipiridofenazina}$) não
158 são luminescentes em solução aquosa, porém quando estes complexos associam-se a
159 forma B do ADN em solução aquosa passam a exibir fotoluminescência [36]. A
160 fotoluminescência é resultante da blindagem do ligante ao se intercalar depois ter
161 migrado do interior do solvente. Isso é equivalente à introdução do complexo em um
162 solvente orgânico que proteja os nitrogênios do anel (intercalante) da protonação. Esse
163 efeito é descrito como interruptor molecular de luz (*molecular light switch*) [36, 37].

164 Os primeiros complexos com ligantes aromáticos capazes de se intercalar entre
165 os pares de base dos ácidos nucleicos foram $[\text{Ru}(\text{L})_2(\text{dppz})]^{2+}$ ($\text{L} = 2,2'\text{-bipiridina}$ ou
166 $1,10\text{ fenantrolina}$, $\text{dppz} = 2,3'\text{-dipiridofenazina}$) [38, 39]. As propriedades que o
167 complexo $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{dppz}]^{2+}$ apresenta têm sido intensivamente investigadas, pois este
168 pode ser usado como sonda fluorescente útil na visualização de alterações na estrutura
169 do ADN [40].

170 Os ligantes intercaladores do ADN geralmente são policíclicos e apresentam
171 uma função aromática planar. No entanto, sabe-se que além do ADN de dupla fita,
172 existem outras formas dessa estrutura se arranjar, como por exemplo, o ADN de hélice

173 quádrupla ou G-quadruplex. Os G-quadruplexes são constituídos por sequências ricas
174 em guanina capazes de formar tétrades ligadas por ligações de hidrogênio. Moléculas de
175 alta especificidade e afinidade, portando anéis aromáticos, também são capazes de se
176 ligar ao ADN de hélice quádrupla bloqueando a ação da telomerase [41]. A telomerase
177 encontra-se ativa nas células tumorais, e em neoplasias há um aumento da expressão da
178 telomerase [41].

179 Em 2014 foram reportados dois novos complexos de rutênio capazes de se ligar
180 de modo reversível ao ADN G-quadruplex: $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{dpq-df}]^{2+}$ e $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{dpq-df}]^{2+}$
181 (dpq-df= dipirido (3,2-a: 2',3'-b)quinoxalina-difurano) [41].

182 **1.3 Antibióticos: uma importante classe de agentes antineoplásicos**

183 O sucesso da quimioterapia no tratamento de infecções bacterianas estimulou a
184 busca por antibióticos antitumorais. Antibióticos antitumorais empregados clinicamente
185 são derivados de várias cepas do fungo *Streptomyces* [43]. Antraciclina, empregada para
186 tratamento câncer de mama, sarcoma e linfoma [44,45], e seus congêneres
187 doxorubicina e daunorrubicina, assim como mitomicina, dactinomicina, plicamicina,
188 bleomicina, alcalóides pirrolizidínico representam uma importante classe de agentes
189 antineoplásicos: antibióticos antitumorais naturais [44,45].

190 Ensaios clínicos recentes com doxiciclina e azitromicina mostraram efeitos
191 terapêuticos positivos em pacientes com câncer [46]. Doxiciclina e outras tetraciclina
192 sintéticas modificadas inibem as metaloproteinases de matriz, que são implicadas em
193 estágios avançados da progressão do câncer. [47].

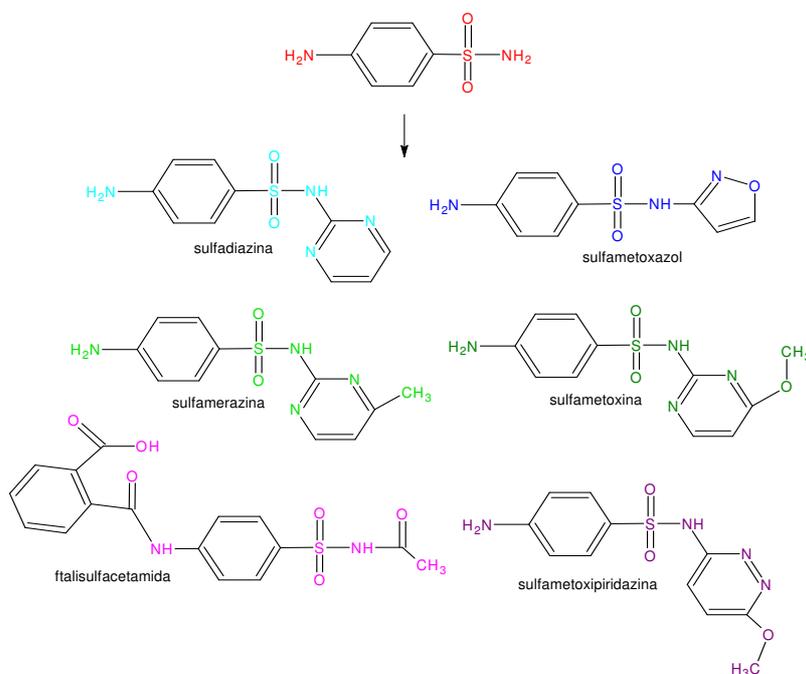
194 Além disso, as propriedades metabólicas mitocondriais de células cancerosas são
195 diferentes das de células normais. Por exemplo, em contraste com as células
196 hematopoiéticas normais, células de leucemia têm aumentada a biogênese mitocondrial
197 e a respiração mitocondrial para a geração de ATP para satisfazer as exigências de
198 energia e manter a sobrevivência. A ação de antibióticos em células tumorais pode
199 ocorrer pela inibição da biogênese mitocondrial [48]. Um estudo publicado em 2016
200 [48] mostrou que atividade do antibiótico levofloxacina para tratar câncer da mama é
201 dependente da sua capacidade de suprimir a biogênese mitocondrial.

202 **1.3.1 As sulfas**

203 O conhecimento da atividade antimicrobiana das sulfonamidas teve início em
204 meados do terceiro decênio do século XX. A descoberta das sulfas coincide com o

205 desenvolvimento industrial da Alemanha no século passado e resultou de pesquisas
206 destinadas a obtenção de corantes azóicos [49]. Gerhardt Domagk recebeu o prêmio
207 Nobel de medicina em 1939 ao mostrar a eficácia da sulfonamida *p*-sulfamidocrisoidina
208 patenteada sob o nome Prontosil Rubrum® [50].

209 As sulfonamidas interferem na síntese do ácido fólico, essencial à sobrevivência
210 de uma variedade de bactérias [51]. As sulfonamidas possuem atividade antibacteriana,
211 hipoglicêmica, inibidora da anidrase carbônica, inibidora da atividade da tireoide, entre
212 outras [52, 53]. Um grande número de novos derivados de sulfonamidas foram descritos
213 a partir da descoberta de suas propriedades antitumorais em 1992 [50,52,53]. A
214 estrutura química das sulfonamidas é delineada pela presença de grupos R-SO₂-NR'R'',
215 de modo que a variação dos grupos R, R' e R'' produz compostos com propriedades
216 físicas, químicas e farmacológicas distintas. As variações nestes grupos ocasionam
217 ainda distintos mecanismos de ação antitumoral das sulfonamidas heterocíclicas [53,
218 54]. Embora o mecanismo da ação não tenha sido completamente elucidado, ocorre
219 inibição da anidrase carbônica, inibição da angiogênese, perturbação do ciclo celular na
220 fase G1 e/ou perturbação na montagem de microtúbulos [53, 54]. A grande maioria das
221 sulfas é relativamente insolúvel em água [55]. Na Figura 1.3, estão representadas as
222 estruturas de algumas sulfas derivadas da sulfanilimida empregadas como
223 antimicrobianos.



224

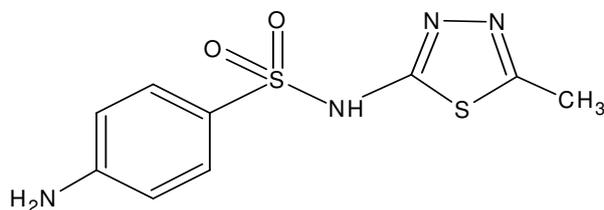
225 **Figura 1.3** Representação da estrutura química de sulfas empregadas como
226 antimicrobianos.

227 Cinco sulfas foram selecionadas para elaboração deste trabalho, na tentativa de
228 desenvolver fármacos antitumorais mais ativos e menos tóxicos. Devido à extensão do
229 tema, será feita uma brevíssima revisão sobre os antibióticos sulfametizol,
230 sulfametoxipiridazina, sulfametoxazol, sulfapiridina e sulfassalazina.

231 1.3.1.1 Sulfametizol

232 Neste trabalho dar-se-á ênfase primeiramente à sulfonamida (4-amino-N- (5-
233 metil-1,3,4-tiadiazole-2-il) conhecida comercialmente como sulfametizol. Sulfametizol
234 é usado, principalmente, como agente antibacteriano no trato de infecções urinárias
235 [56].

236 Na Figura 1.4, está representada a estrutura do sulfametizol (smz). Este
237 antibiótico tem vários grupos com potenciais átomos doadores capazes de interagir com
238 íons metálicos: os três átomos de nitrogênio dos grupos amina, sulfonamida e do anel de
239 tiadiazol, além do oxigênio do grupo sulfonila e do enxofre do anel de tiadiazol. No
240 entanto, um estudo [57] publicado em 1981 enfatizou que os dois modos mais comuns
241 de coordenação ocorrem via nitrogênios do grupo NH₂ ou do anel heteroaromático.
242 Destaca-se ainda que a coordenação pode ocorrer de modo monodentado ou bidentado.



243

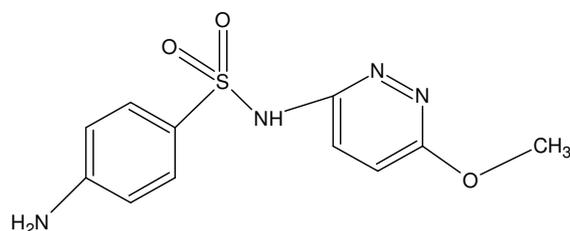
244 **Figura 1.4** Estrutura química da sulfonamida 4-amino-N- (5-metil-1,3,4-tiadiazole-2-
245 il).

246 Os primeiros metais empregados no preparo de complexos com a smz foram a
247 prata e ouro, a coordenação destes metais à sulfa ocorre de modo bidentado envolvendo
248 o nitrogênio do anel heterocíclico e o oxigênio do grupo sulfonila [58]. Cabe salientar
249 que as primeiras estruturas cristalinas de complexos metálicos com a smz foram
250 relatadas apenas em 2000 [59]. Neste trabalho [59], foram sintetizados complexos
251 metálicos de Cu(II), Co(II) e Ni(II) com smz: [Cu(smz)₂py₂(OH₂)]·H₂O e
252 [Co(smz)₂py₂(OH₂)₂], [Ni(smz)₂py₂(OH₂)₂] e [Cu(smz)₄(dmf₂)].

253 1.3.1.2 Sulfametoxipiridazina

254 A sulfametoxipiridazina (Figura 1.5) (4-amino-N-(6-metoxipiridazin-3-a)
255 benzenosulfonamida) é usada para tratar irritações vaginais, infecções urinárias, aftas

256 agudas e dermatite herpetiforme. A sulfa smp é suscetível à muitas modificações
257 metabólicas. Entre as reações de metabolismo desta sulfa destacam-se a acetilação do
258 grupamento amina ou sulfonila e hidroxilação do anel aromático [60].



259

260 **Figura 1.5** Estrutura química da sulfametoxipiridazina (C₁₁H₁₂N₄O₃S)

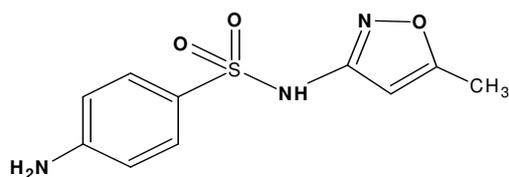
261 São poucos os trabalhos relativos à química de coordenação da
262 sulfametoxipiridazina (smp), em específico quanto à abordagem de complexos desta
263 sulfa e sua potencial atividade biológica. Entre os poucos complexos metálicos com a
264 smp, podem-se citar os complexos [Ni(smp)(OH₂)₂], [Cu(smp)₂]·H₂O, [Hg(smp)₂],
265 [Zn(smp)₂]·2,5H₂O, [Cd(smp)·2(H₂O)], [Co(smp)₂], [Cr(smp)₂Cl₂], [Fe(smp)₂Cl₂] e
266 [Ag(smp)], [61-66].

267 Em alguns trabalhos [61, 63, 64, 65] foram feitos relatos apenas acerca da
268 análise estrutural destes complexos, sendo que o estudo da atividade antitumoral não foi
269 realizado até o momento. Estudos da atividade antimicrobiana e antiviral foram
270 realizados para os complexos com Cu(II) e Co(II), respectivamente [62, 66].

271 1.3.1.3 Sulfametoxazol

272 A atividade antimicrobiana do sulfametoxazol (Figura 1.6) (4-amino-N-(5-
273 metilisoaxazol-3-il)-benzenossulfonamida) já é bastante conhecida. [67] A combinação
274 desta sulfa com diferentes íons metálicos resultou em complexo com atividade
275 antimicrobiana [67].

276 O sulfametoxazol (smx) apresenta cinco possíveis sítios de coordenação,
277 podendo atuar como ligante monodentado, quelante ou formador de ponte. A
278 desprotonação do nitrogênio sulfonamídico gera um ligante aniônico, favorecendo a
279 formação de complexos.



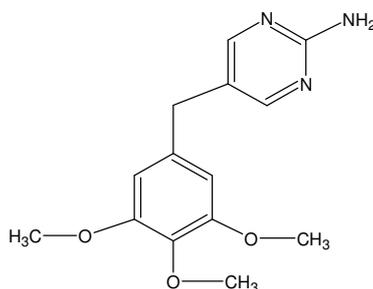
280

281 **Figura 1.6** Estrutura química do sulfametoxazol. Em negrito estão destacados os
 282 possíveis sítios de coordenação.

283 O sucesso terapêutico da associação entre o smx e a trimetoprima (Figura 1.7),
 284 na década de 70 resultou no medicamento conhecido comercialmente como Bactrim,
 285 empregado no trato de infecções respiratórias superiores [68].

286 Além disso, complexos metálicos de Co(II), Fe(II), Mn(II), Zn(II) e Cu(II) com
 287 smx, sintetizados por Bamigboye e colaboradores [69] apresentaram considerável
 288 atividade antibacteriana contra *Escherichia spp*, *Streptococcus spp*, *Proteus sp*, *Candida*
 289 *albicans*, *Salmonella sp*, *Bacillus spp*, *Staphylococcus sp*, e *Pseudomonas spp*. Outros
 290 metais, como por exemplo prata, ouro e rutênio [70, 71] também foram empregados no
 291 preparo de complexos metálicos com smx visando o tratamento de infecções
 292 bacterianas.

293



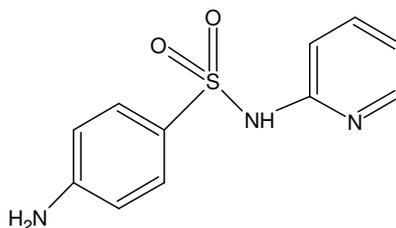
294

295 **Figura 1.7** Estrutura química da trimetoprima, base fraca lipofílica.

296

297 1.3.1.4 Sulfapiridina

298 A sulfapiridina (4-amino-*N*-piridin-2-ilbenzenosulfonamida) é uma sulfa de
299 segunda geração empregada para tratar pneumonia e meningite [72]. Esta sulfa
300 mimetiza o ácido paraaminobenzoico (PABA), que é necessário para a biossíntese de
301 ácido fólico. Mais especificamente, a sulfapiridina (spd) inibe a atividade da enzima
302 sintetase de dihidroperato (DHPs) [73]. Deste modo, a spd entre no lugar do PABA e
303 como consequência o ácido diidrofólico não é formado. A estrutura química da
304 sulfapiridina está esquematizada na Figura 1.8.



305

306 **Figura 1.8** Estrutura química do sulfapiridina (C₁₁H₁₁N₃O₂S)

307 Como exemplo da avaliação atividade antitumoral de complexos metálicos com
308 spd pode-se citar o *fac*-triclortris(4-amino-*N*-piridin-2-
309 ilbenzenosulfonamida)bismuto(III), [Bi(C₁₁H₁₁N₃O₂S)₃Cl₃]. O metal está coordenado
310 de modo monodentado a três sulfapiridinas via nitrogênio sulfonamídico. O composto
311 inibe o crescimento de células de leucemia mieloide crônica com um valor de CI₅₀ de 44
312 μM enquanto que o ligante livre não apresenta efeito até 100 μM [74].

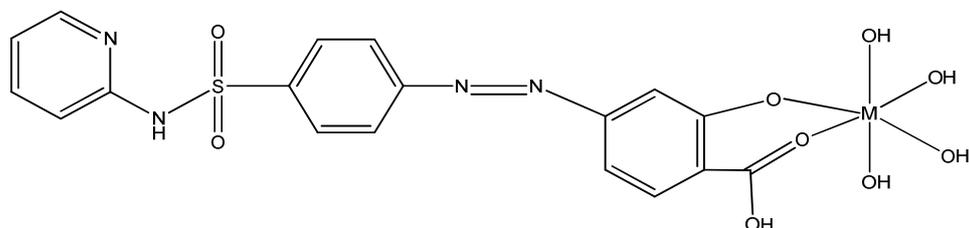
313 Mondelli e colaboradores [75] sintetizaram e caracterizaram um composto de
314 Ni(II) com sulfapiridina. A geometria de coordenação em torno íon Ni (II) é um
315 octaedro ligeiramente distorcido. Cabe destacar que este complexo é ativo contra seis
316 cepas bacterianas resistentes à sulfapiridina. Este resultado é importante, pois, a
317 resistência bacteriana é um dos principais obstáculos para a terapêutica de infecções
318 bacterianas.

319 1.2.1.5 Sulfasalazina

320 A sulfasalazina (ácido 2-hidroxi-5-[4-(2-pirisilsulfamoil)fenildiazenil]benzóico)
321 é a droga de primeira escolha no tratamento da artrite reumatóide, sozinha ou em
322 combinação com metotrexato [76]. Por outro lado, a ssz entrou em estudos clínicos de
323 fase 1-2 no tratamento de gliomas malignos [77].

324 Há poucos estudos relativos à coordenação da sulfassalazina (ssz) a íons
325 metálicos. Na Figura 1.9 estão representados respectivamente os complexos de ssz com
326 os íons Mg(II), Ca(II), Sr(II) e Ba(II) [78]. O efeito dos compostos de ssz com os íons
327 metálicos Mg(II), Ca(II), Sr(II) e Ba(II) no crescimento de células tumorais foi estudado
328 [78]. O complexo de ssz com Mg(II) inibe o crescimento celular das células de
329 carcinoma de fígado e colón com valores de CI_{50} de 0,54 e 1,54 μg , enquanto que o
330 complexo de ssz com Ca(II) inibe o crescimento celular das células de carcinoma de
331 colón e fígado com valores de CI_{50} de 0,67 e 0,94 μg .

332 A coordenação de Bi(III) e de Ga(III) à ssz dobraram a atividade citotóxica em
333 células de leucemia mielóide crônica: clorobis(sulfassalazinato)bismuto(III) e
334 aquahidroxo(sulfassalazinato)gálio(III) [79]. Estes resultados nos motivaram a estudar a
335 atividade de compostos de Ru(II) com a sulfassalazina.



336

337 **Figura 1.9** Representação geral da estrutura química dos complexos de ssz e os metais
338 alcalinos Mg (II), Ca (II), Sr (II) e Ba (II).

339 Outro exemplo de estudo envolvendo a atividade antimicrobiana de complexos
340 de ssz é representado pela complexação entre esta sulfa e íons metálicos de lantanídeos
341 como Ce (III), Eu (III), Nd (III) e La (III) [80]. Os resultados mostraram que o
342 complexo $\text{Na}_2[\text{La}(\text{ssz})\text{Cl}_3(\text{H}_2\text{O})] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ é o mais ativo apresentando a seguinte ordem de
343 atividade: *Aspergillus niger* > *Bacillus subtilis* > *Pencillium*. Enquanto, que os complexos
344 de Ce(III), Eu(III) e Nd(III) com ssz apresentam atividade antimicrobiana somente para
345 *Bacillus subtilis* e *Pencillium*.

346 1.4 Hidrazidas

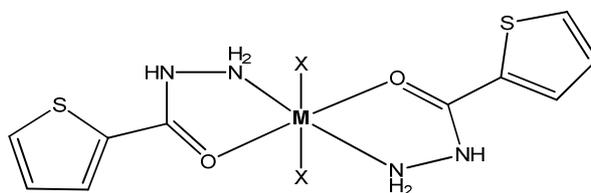
347 As hidrazidas são uma classe de compostos orgânicos caracterizados pela
348 presença dos grupos $\text{R}-\text{C}=\text{O}-\text{NH}-\text{NH}_2$.

349 Os grupos de pesquisas dos professores Elene Cristina Pereira Maia (UFMG) e
350 Wendell Guerra (UFU) têm dedicado esforços na proposição de complexos de distintas
351 hidrazidas, a hidrazida do ácido 4-fluorofenoxiácetico, a hidrazida do ácido 4-
352 nitrobenzóico, a hidrazida do ácido 2-furanóico e do 2-tiofenocarboxílico, e a hidrazida

353 do ácido isonicotínico-(9-antrylmetileno) com diferentes íons metálicos, tais como
354 cobre(II), platina(II) e paládio(II) [81, 82, 83]. Nesse sentido, será feita uma breve
355 revisão bibliográfica sobre a hidrazida do ácido 2-tiofenocarboxílico, selecionada para
356 elaboração deste trabalho.

357 1.4.1 Hidrazida do ácido 2-tiofenocarboxílico

358 A hidrazida do ácido 2-tiofenocarboxílico (shyd) foi sintetizada visando o
359 tratamento de tuberculose [84, 85]. A shyd pode formar complexos com metais de
360 transição, uma vez que estes metais podem coordenar-se pelo átomo de oxigênio
361 carboxílico e/ou nitrogênio dos grupos NH e NH₂. Complexos do tipo [M(shyd)₂X₂], em
362 que M= Mn²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺ e X=NO₃ ou Cl estão representado na Figura
363 1.10 [86].



364
365 **Figura 1.10** Representação geral da estrutura química dos complexos [M(shyd)₂X₂], em
366 que M= Mn²⁺, Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺ e X=NO₃(a) e Cl(b).

367 Cabe destacar ainda que a sensibilidade de células de leucemia mielóide crônica,
368 linhagem K562, aos compostos foi avaliada e a CI₅₀ determinada para os seguintes
369 complexos ternários com shyd: [Cu(shyd)(phen)(acn)(ClO₄)](ClO₄) e
370 [Cu(shyd)(bpy)(acn)(ClO₄)](ClO₄) [83]. O complexo *trans*-[RuCl₂(dmsO)₂(shyd)]H₂O,
371 foi testado quanto a atividade antibacteriana contra cinco bactérias, sendo três Gram
372 negativas (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. sonnei*) e duas Gram-positivas (*S. aureus*, *S.*
373 *epidermidis*) [87]. Deste modo, os fatores mencionados anteriormente apontam que o
374 uso da shyd no planejamento de novos complexos metálicos pode resultar potenciais
375 fármacos a serem usados em diversas patologias.

376 1.5 Interação entre complexos metálicos e alvos biológicos

377 Conforme mencionado nos tópicos de 1.2.1 a 1.2.1.5 as sulfonamidas são
378 amplamente utilizadas na medicina devido às suas propriedades farmacológicas, tais
379 como atividade antibacteriana. Além disso, mudanças nas propriedades farmacológicas
380 vêm sendo observadas quando as sulfas são complexadas a íons metálicos. O

381 conhecimento detalhado da interação destes complexos a uma biomolécula é importante
382 para entender os seus mecanismos de ação.

383 O estudo da interação entre macromoléculas biológicas e complexos metálicos
384 como potenciais agentes antitumorais gera importante informação sobre os sítios de
385 ligação, transporte e o metabolismo de moléculas no corpo humano. Alguns estudos da
386 interação de complexos de Ru(II) com ácido desoxirribonucléico (DNA) [88, 89, 90] e
387 albumina sérica bovina e/ou humana (BSA e/ou HSA) merecem destaque [91, 92, 93,
388 94].

389 Thota e colaboradores (2016) destacam ainda que a natureza do ligante, bem
390 como a identidade e estado de oxidação do metal, desempenham papéis fundamentais
391 na sua interação com a molécula de ADN [88]. Adicionalmente, essas interações podem
392 ocorrer de forma covalente, através da ligação direta do complexo ao ADN por suas
393 bases nitrogenadas ou pelo grupo fosfato; ou de forma não-covalente através de
394 interações eletrostáticas, interações hidrofóbicas no sulco menor do ADN, ou através da
395 intercalação [88, 89]. Estes pesquisadores mostram a ocorrência de intercalação dos
396 complexos de rutênio, $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{R-pdc})]^{2+}$ and $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{pbinh})]^{2+}$ (onde R = 4-CF₃,
397 4-F, 4-OH pdc= 3-fenil-5-(1H-pirrol-2-il)-4,5-di-hidro-1H-pirazole-1-carbotioamida,
398 pbinh= fenoxibenzilideno-isonicotinil-hidrazidas) entre os pares de base do ADN.
399 Porém, identificaram que eficiência anticancerígena não está relacionada com a
400 afinidade de ligação ao ADN [88].

401 Vários métodos vêm sendo empregados no estudo das interações complexo-
402 ADN. Podem ser citadas a espectrofotometria de absorção e de dicroísmo circular na
403 região do ultravioleta-visível, espectrofluorimetria, medidas de viscosidade e
404 eletroforese em gel de agarose. Em um estudo recente [89] avaliou-se que $[\text{Ru}(\text{Cl-Ph-tpy})\text{Cl}_3]$,
405 $[\text{Ru}(\text{Cl-Ph-tpy})(\text{dach})\text{Cl}]\text{Cl}$ e $[\text{Ru}(\text{Cl-Ph-tpy})(\text{bpy})\text{Cl}]\text{Cl}$ interagem com o
406 ADN via intercalação por espectrofotometria UV-Vis, espectrofluorimetria e medições
407 de viscosidade [89]. Entretanto, microscopia de absorção atômica também tem sido
408 utilizada para visualizar como ocorre a ligação de vários complexos metálicos
409 octaédricos ao ADN [90].

410 Foi apresentado anteriormente que o ADN não é o único alvo de complexos de
411 rutênio [6], desta forma é necessário ampliar este estudo para outras macromoléculas.
412 A interação de complexos metálicos com as proteínas BSA ou HSA pode ser estimada
413 através de espectroscopia de fluorescência [91]. Franciscato e Souza (2016)
414 correlacionaram a influência do estado de oxidação do centro metálico à afinidade de

415 ligação entre HSA e o complexo $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{bpydip})]^{2+/3+}$, onde bpydip= bis[1-(2-
416 piridinil)etilideno]-1,3-propanodiamina) usando fluorescência e dicroísmo circular [89].
417 O K_b para o complexo Ru(II) é da ordem de 10^3 L mol^{-1} , enquanto que para Ru(III), a
418 ordem é de cerca de 10^9 L mol^{-1} [92].

419 Com frequência, utiliza-se a BSA como alvo biológico, devido à sua semelhança
420 estrutural com a HSA [91]. Por exemplo, Lai e colaboradores (2016) reportaram que
421 complexos polipiridínicos de rutênio, que apresentam atividade antitumoral e podem
422 induzir apoptose celular, ligam-se à BSA, e o local de ligação está próximo dos resíduos
423 de triptofano e tirosina [93]. Por sua vez, Panah e colaboradores (2017) estudaram a
424 interação do complexo *trans*- $[\text{Ru}(\text{Hmel})_2(\text{dmsO})_2]$ (H_2mel = meloxicam) a BSA em
425 diferentes condições fisiológicas, mostrando que este composto interage com BSA e
426 altera seu microambiente durante a interação [94].

427 Embora esta breve revisão bibliográfica esteja centrada nas interações com BSA,
428 HSA e ADN é imprescindível expandir o estudo de interação de complexo metálico a
429 outras biomoléculas.

430 **CAPÍTULO 2**

431 **OBJETIVOS**

432 **2.1 Objetivos**

433 O objetivo geral deste trabalho é a obtenção de novos complexos metálicos de
434 rutênio(II) com atividade antitumoral e o estudo do seu mecanismo de ação. A estratégia
435 adotada foi a de aliar as propriedades de antibióticos à de complexos de Ru(II) com α,α -
436 diiminas a fim de obter complexos mais ativos e menos tóxicos.

437 Mais especificamente, pretendeu-se:

- 438 • sintetizar e caracterizar complexos metálicos inéditos de Ru(II) com cinco
439 antibióticos da família das sulfas e α,α -diiminas como ligantes;
- 440 • sintetizar e caracterizar complexo metálico inédito de Ru(II) com a hidrazida do
441 ácido 2 tiofenocarboxílico e a bpy;
- 442 • estudar o efeito dos complexos sintetizados no crescimento de células tumorais;
- 443 • estudar o efeito fotocitotóxico dos compostos sintetizados;
- 444 • estudar da interação dos complexos metálicos inéditos de Ru(II) com albumina
445 sérica bovina;
- 446 • estudar da interação dos complexos mais ativos com o ADN;
- 447 • estudar da interação dos complexos mais ativos com Abl-SH3.

448

449

450

451

452

453 **CAPÍTULO 3**

454 **PARTE EXPERIMENTAL**

455 **3.1- MATERIAIS**

456 **3.1.1- Reagentes e solventes**

457 A água utilizada nas sínteses e no preparo das soluções foi purificada em
458 aparelho deionizador da marca Millipore, SinPak. Para preparar e purificar os
459 complexos foram utilizados os solventes etilenoglicol (Grau analítico P.A, Qhemis®),
460 água deionizada (sistema de purificação Milli-Q, Millipore Corp), etanol (Synth),
461 acetato de etila (Sigma Aldrich), acetona (Sigma Aldrich) e éter etílico (Vetec).

462 Os reagentes utilizados neste trabalho foram 1,10 fenantrolina ($C_{12}H_8N_2$, 180,21
463 g/mol), 2,2'-bipiridina ($C_{10}H_8N_2$, 156,19 g/mol), hexafluorofosfato de potássio (KPF_6 ,
464 183,00 g/mol), hidrazida do ácido 2-tiofenocarboxílico ($C_5H_6N_2OS$, 142,21 g/mol),
465 cloreto de rutênio (III) hidratado ($Ru \cdot Cl_3 \cdot H_2O$, 207,43 g/mol), sulfassalazina (ácido 2-
466 hidróxi-5-[4-(2pirilsulfamoil)fenildiazenil], $C_{18}H_{14}N_4O_5S$ 398,40 g/mol),
467 sulfametoxazol (4-amino-N-(5-metilsoxazol-3-il)-benzenosulfonamida), $C_{10}H_{11}N_3O_3S$
468 253,27 g/mol), sulfametoxipiridazina ((6-metilpiridin-3-il)-benzenossulfonamida 4-
469 amino-N, $C_{11}H_{12}N_4O_3S$ 280,30 g/mol), sulfametizol (4-amino-N-(1,3,4-tiadiazol-2-il-5-
470 metil) – benzenossulfonamida $C_9H_{10}N_4O_2S_2$ 270,33 g/mol), sulfapiridina (4 amino-N-
471 piridin-2ilbenzenosulfonamida), $C_{11}H_{11}N_3O_2S$. Todos os reagentes são Sigma Aldrich, e
472 os mesmos não passaram por purificação prévia.

473 **3.1.2- Células e cultura**

474 A linhagem celular K562 (número CR083 do acervo do BCRJ) foi adquirida no
475 Banco de Células do Rio de Janeiro. A linhagem de células foi cultivada em meio RPMI
476 1640, contendo L-glutamina e suplementado com 10% de soro fetal bovino a 37°C, em
477 atmosfera umidificada, contendo 5% de CO_2 . O meio RPMI 1640 e o soro fetal foram
478 adquiridos da Cultilab em São Paulo. A sensibilidade de células tumorais aos
479 complexos, precursores e ligantes foram avaliadas por meio da concentração de
480 composto necessária para inibir 50% do crescimento celular, a CI_{50} . Para estudo
481 citotóxico, 1×10^5 células mL^{-1} foram incubadas por 72 horas na presença e na ausência
482 do composto em várias concentrações. Após este período, as células foram contadas e o
483 valor de CI_{50} foi determinada com o auxílio do programa computacional OriginPro7,

484 sendo os dados analisados com ajuste sigmoidal (Boltzmann). A viabilidade das células
485 foi verificada por exclusão com azul de Tripán e o número de células foi determinado
486 por análise no contador Coulter. As soluções estoques dos ligantes e dos complexos
487 foram preparadas em uma mistura acetonitrila:água:dimetilformamida = 10:8:1. Estes
488 estudos foram realizados no laboratório de pesquisa da professora Elene Cristina Pereira
489 Maia no Departamento de Química da UFMG.

490 **3.1.2.1- Estudo da Fotocitotoxicidade: Determinação da CI_{50}**

491 Para os complexos **1, 2, 3, 4, 9 e 10** foi avaliado o efeito da radiação, em 365
492 nm, na sua citotoxicidade. Para isto, 1×10^5 células mL^{-1} foram incubadas por 4 horas
493 na ausência e na presença de várias concentrações dos compostos. Após este período, o
494 meio de cultura foi substituído por tampão HEPES isotônico. Em seguida, as amostras
495 foram irradiadas com luz UV-A (365 nm, $610 \mu Wcm^{-2}$) por 5 minutos. Foi utilizada
496 uma cabine de fluorescência Spectroline Modelo CX-20.

497 As células foram, então, novamente incubadas com RPMI por 72 horas. Passado
498 este período, as células foram contadas e a CI_{50} foi determinada com o auxílio do
499 programa computacional OriginPro7, sendo os dados analisados com ajuste sigmoidal
500 (Boltzmann). A viabilidade das células foi verificada por exclusão com azul de Tripán e
501 o número de células foi determinado por análise no contador Coulter. As soluções
502 estoques dos ligantes e dos complexos foram preparadas em uma mistura
503 acetonitrila:água:dimetilformamida 10:8:1. Os testes foram realizados no laboratório de
504 pesquisa da professora Elene Cristina Pereira Maia no Departamento de Química da
505 UFMG.

506 Para efeito de comparação, foram realizados testes de citotoxicidade com os
507 compostos nas mesmas condições descritas acima, mas sem irradiação. Incubaram-se 1
508 $\times 10^5$ células mL^{-1} por 4 horas na presença e na ausência do composto em várias
509 concentrações dos complexos testados. Após este período, as células foram lavadas com
510 tampão HEPES isotônico e, em seguida, incubadas novamente com RPMI por 72 horas.

511 3.2- SÍNTESES DOS COMPLEXOS

512 3.2.1 Síntese dos precursores de rutênio(II) empregados nas sínteses dos complexos 513 metálicos inéditos.

514 3.2.1.1 Preparo do complexo *cis*-[RuCl₂(bpy)₂] \cdot 2H₂O

515 Em um balão de fundo redondo foram adicionados respectivamente: 7,0 mL de
516 N,N-dimetilformamida; 1,000 g de RuCl₃ \cdot 3H₂O; 1,195 g de 2,2-bipiridina e 1,077g de
517 LiCl. O sistema foi mantido em refluxo a 100°C por 10 horas. Ao término da reação
518 foram adicionados 30 mL de acetona e o sistema foi mantido por mais 15 horas em
519 agitação magnética em uma mistura de água e banho de gelo seco até a precipitação do
520 complexo. O sólido obtido é roxo escuro. O precursor *cis*-[RuCl₂(bpy)₂] \cdot 2H₂O é solúvel
521 em acetona, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, acetonitrila, etilenoglicol e
522 tetrahidrofurano. Essa síntese foi adaptada do trabalho de Sullivan et al., 1978 [95].
523 Rendimento 94%.

524 3.2.1.2 Preparo do complexo *cis*-[RuCl₂(phen)₂]

525 Protocolo semelhante ao usado na síntese do complexo [RuCl₂(bpy)₂] foi
526 utilizado para o preparo do complexo [RuCl₂(phen)₂], cuja diferença foi apenas a adição
527 de 1,378g de 1,10-fenantrolina em substituição ao ligante 2,2'-bipiridina. Essa síntese
528 foi adaptada de Sullivan et al., 1978 [95]. O sólido obtido é preto. O precursor *cis*-
529 [RuCl₂(phen)₂] \cdot 2H₂O é solúvel em acetona, dimetilformamida, dimetilsulfóxido
530 acetonitrila, etilenoglicol e tetrahidrofurano. Rendimento 81%.

531 3.2.2 Síntese de novos complexos de Ru(II) com ligantes mistos

532 3.2.2.1 Preparo do complexo [Ru(bpy)₂(smp)](PF₆), complexo 1

533 *cis*-[RuCl₂(bpy)₂] \cdot 2H₂O (0,40 mmol, 0,2100 g) e o ligante smp (0,60 mmol;
534 0,168 g) foram adicionados em um mistura de solventes, etilenoglicol/água (7:1). A
535 solução roxa foi mantida em refluxo a 185°C por 6 horas. Após o tempo de refluxo
536 houve mudança de coloração na solução, de roxo para laranja. A solução final laranja
537 foi resfriada em uma mistura de banho de gelo e água, e posteriormente filtrada. Ao
538 filtrado adicionaram-se 2,00 g (12,0 mmol) de KPF₆. O filtrado foi colocado na
539 geladeira por 24 horas. A solução resultante foi novamente filtrada a vácuo e o sólido
540 vinho lavado com água, etanol e éter etílico. O sólido foi seco com auxílio da pistola de
541 secagem Abderhalden utilizando vapor de tetraidrofurano. Essa síntese foi adaptada de

542 Lu et al., 2014 [42]. Rendimento 71%. Para preparar cristais do complexo **1** optou-se
543 pela técnica de lenta evaporação do solvente. A massa do complexo **1** (5mg, $5,96 \times 10^{-3}$
544 mmol) foi devidamente pesada em balança analítica, e o volume dos solventes (5mL de
545 álcool isopropílico e 5mL de acetona) aferidos com auxílio de pipetas graduadas
546 convencionais. As matrizes de cristalização foram acondicionadas em recipientes
547 cilíndricos de vidro (5 × 1,5 cm). Os frascos não foram vedados durante período de
548 repouso.

549 **3.2.2.2 Preparo dos complexos 2 a 11.**

550 Protocolo semelhante ao usado na síntese do complexo **1** foi utilizado para o
551 preparo dos complexos **2** a **11** (Tabela 3.1).

552 Todos os complexos apresentados foram purificados em coluna cromatográfica
553 utilizando-se como fase estacionária alumina e como fase móvel uma mistura de acetato
554 de etila e acetona, variando-se a proporção dos dois solventes de forma a aumentar
555 gradativamente a polaridade.

556 Os complexos sintetizados são solúveis em dimetilformamida, dimetilsulfóxido
557 e acetonitrila.

558 **Tabela 3.1** Massas dos precursores e ligantes usados nas sínteses dos complexos **2** a **11**.
 559

Complexo	Massa do precursor	Massa de ligantes	Cor	Rendimento
complexo 2 *	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (phen) ₂]	smp	vinho	61%
[Ru(phen) ₂ (smp)](PF ₆)	0,40 mmol; 0,239g	0,60 mmol; 0,168g		
complexo 3	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bpy) ₂]	smz	marrom café	53%
[Ru(bpy) ₂ (smz)](PF ₆)	0,40 mmol; 0,239g	0,60 mmol; 0,162g		
complexo 4	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (phen) ₂]	smz	marrom café	70%
[Ru(phen) ₂ (smz)](PF ₆)	0,40 mmol; 0,210g	0,60 mmol; 0,162g		
complexo 5	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bpy) ₂]	Spd	marrom café	33%
[Ru(bpy) ₂ (spd)](PF ₆)	0,40 mmol; 0,210g	0,60 mmol; 0,149g		
complexo 6	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (phen) ₂]	spd	marrom café	43%
[Ru(phen) ₂ (spd)](PF ₆)	0,40 mmol; 0,239g	0,60 mmol; 0,149g		
complexo 7	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bpy) ₂]	smx	vinho	47%
[Ru(bpy) ₂ (smx)](PF ₆)	0,40 mmol; 0,210g	0,60 mmol; 0,151g		
complexo 8	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (phen) ₂]	smx	vinho	55%
[Ru(phen) ₂ (smx)](PF ₆)	0,40 mmol; 0,239g	0,60 mmol; 0,151g		
complexo 9	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bpy) ₂]	ssz	laranja	68%
[Ru(bpy) ₂ (ssz)](PF ₆)	0,40 mmol; 0,210g	0,60 mmol; 0,239g		
complexo 10	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (phen) ₂]	ssz	laranja	68%
[Ru(phen) ₂ (ssz)](PF ₆)	0,40 mmol; 0,239g	0,60 mmol; 0,239g		
complexo 11	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bpy) ₂]	shyd	marrom	63%
[Ru(bpy) ₂ (shyd)](PF ₆)	0,40 mmol; 0,210g	0,60 mmol; 0,0853g	avermelhado	

560 * Também foram obtidos cristais do complexo **2**. Os ensaios de cristalização são os mesmos descritos para
 561 o complexo **1**.
 562

563 3.3 Instrumentos e métodos

564 3.3.1 Análise Elementar: (C, H, N)

565 Para estabelecer os números relativos (porcentagens) de C, H e N usou-se o
 566 equipamento da Perkin Elmer modelo 2400, disponível no Departamento de Química-
 567 UFMG.

568 3.3.2 Temperatura de Fusão/decomposição

569 A temperatura de fusão/decomposição dos complexos foi determinada em um
 570 aparelho de ponto de fusão modelo MQAPF-302 da Microquímica LTDA (Temperatura
 571 máxima 350°C).

572 **3.3.3 Análises Condutimétricas**

573 As condutividades em solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, a 25°C , dos complexos de
574 rutênio foram determinadas através do aparelho Digimed DM 31. As condutividades
575 dos complexos e precursores foram determinadas a partir de solução $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$
576 dos complexos em nitrometano de grau ultrapuro, HPLC, adquiridos da Vetec. A
577 constante da célula foi de $1,130 \text{ cm}^{-1}$ e a condutividade $\Lambda_M=8,10 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^{-2} \text{ mol}^{-1}$ para
578 o solvente nitrometano [96]. O equipamento foi primeiramente calibrado com solução
579 padrão de cloreto de potássio da Digimed à temperatura de 25°C .

580 **3.3.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho**

581 O espectrômetro de infravermelho usado foi um Perkin-Elmer 283 B, na região
582 de 4000 a 400 cm^{-1} , disponível na infraestrutura do Departamento de Química da
583 UFMG. Brometo de potássio adquiridos da Synth em grau espectroscópico foi
584 empregado para o preparo das amostras sólidas (complexos, ligantes e precursores). As
585 amostras, na forma de pastilha, foram introduzidas diretamente no caminho ótico do
586 equipamento para a leitura percentual de transmitância. A resolução em número de onda
587 para as configurações standard está na faixa de 2 cm^{-1} .

588 **3.3.5 Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível**

589 Os espectros de absorção eletrônica na região ultravioleta-visível dos
590 complexos, ligantes e precursores foram registrados na região de 200 a 600 nm no
591 espectrofotômetro ultravioleta visível duplo feixe Cary 100, disponível na infraestrutura
592 do Departamento de Química da UFMG. As análises foram realizadas em cubetas de
593 quartzo de $1,0 \text{ cm}$ de caminho ótico. Tampão Hepes pH $7,2$ foi empregado para
594 dissolver as amostras. Para se avaliar a estabilidade em solução aquosa, foram
595 registrados espectros eletrônicos de soluções $3,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ dos complexos **1** a **11**
596 em diferentes intervalos de tempos (1 , 5 e 24 horas).

597 **3.3.5.1 Clivagem e fotoclivagem do ADN plasmidial**

598 Os testes de fotoclivagem do ADN foram executados no grupo de pesquisa do
599 professor Hernán Terenzi da UFSC pelo doutorando Philippe Gabriel. O procedimento
600 adotado está descrito em Silva e colaboradores (2011) e Bortolotto e colaboradores
601 (2011) [83, 97]. Nos ensaios de clivagem de ADN foi empregado o plasmídeo pBSK-II
602 superenovelado de dupla-fita (Stratagene, USA) com 2961 pares de base (pb). Em uma

603 reação típica de clivagem de 20 μL , 330 ng do plasmídeo pBSK II ($\sim 25 \mu\text{M}$ em pb)
604 foram tratados com os complexos (em diferentes concentrações) em meio tamponado
605 com 10 mM de Tris-HCl (pH 7,4), a 37 °C com ou sem irradiação com luz UV ($\lambda =$
606 365nm, 12 W) nos intervalos de 5, 10 e 15 min. O tempo padrão de reação foi de 16 h
607 sendo as amostras mantidas a 37 °C (em estufa e ao abrigo da luz) durante todo o
608 experimento. Para finalizar as reações de clivagem, foram adicionados às misturas
609 reacionais 5 μL de tampão de corrida 6X concentrado (EDTA 250 mM, em pH 7,5,
610 glicerol 50% e azul de bromofenol 0,01%). Em seguida, as amostras foram submetidas
611 à eletroforese em gel de agarose (1 %) contendo brometo de etídio ($0,3 \mu\text{g mL}^{-1}$) por
612 100 min a 90 V em tampão TBE 0,5X (Tris 44,5 mM, ácido bórico 44,5 mM, EDTA 1
613 mM em pH 8,0). Os géis resultantes foram visualizados e digitalizados usando o sistema
614 de documentação DigiDoc-It (UVP, USA) a fração de ADN plasmidial em cada banda
615 foi quantificada utilizando o software KODAK Molecular Imaging Software 5.0
616 (Carestream Health, USA).

617 **3.3.5.2 Determinação das constantes de ligação ADN-complexo empregando** 618 **espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta-visível**

619 Para determinar a constante de afinidade dos complexos de Ru(II) com
620 sulfametizol e α - α -diiminas foram feitas titulações espectrofotométricas destes
621 complexos com o ADN de timo de vitelo (CT-ADN).

622 Preparou-se uma solução de CT-ADN em tampão Tris (pH 7,2), cuja
623 concentração foi determinada por análise espectrofotométrica na região do UV-vis
624 utilizando-se a lei de Lambert-Beer, $A = \epsilon \cdot l \cdot c$; onde A é a absorvância, ϵ é absortividade
625 molar, l é o caminho ótico e c é a concentração da substância absorvente no meio. Visto
626 que a absortividade molar para a macromolécula de ADN é igual a $6600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ em
627 260 nm, é possível calcular a concentração do mesmo.

628 Os complexos foram dissolvidos em acetonitrila na concentração de $1,0 \times 10^{-2}$
629 mol L^{-1} . Posteriormente, as soluções destes complexos foram diluídas em tampão TRIS
630 (pH 7,2) para preparar soluções $3,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} . As concentrações de CT-ADN
631 adicionada as soluções de complexos variaram de 0 a $6,2 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} .

632 **3.3.6 Espectroscopia de fluorescência**

633 Os espectros de fluorescência dos complexos foram registrados na região de 360
634 a 800nm através de um espectrofotômetro de emissão Shimadzu RF5301PC disponível
635 na infraestrutura do Departamento de Química da Universidade Federal de Minas

636 Gerais. As análises foram realizadas em cubetas de quartzo de 1,0 cm de diâmetro.
637 Tampão Hepes pH 7,2 foi empregado para dissolver as amostras.

638 **3.3.6.1 Estudo da interação com BSA via espectroscopia de fluorescência**

639 Estudou-se a interação dos complexos de rutênio(II) com albumina sérica bovina
640 (BSA) utilizando espectroscopia de fluorescência. Todas as medidas foram realizadas
641 em triplicata. Os complexos foram dissolvidos em acetonitrila na concentração de $1,0 \times$
642 10^{-2} mol L⁻¹. Posteriormente, as soluções destes complexos foram diluídas em tampão
643 HEPES (pH 7,2) para preparar soluções $5,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹. As soluções de BSA com a
644 concentração $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ também foram preparadas em tampão HEPES.

645 Para cada experimento, 3,0 mL da solução de BSA, sob agitação magnética, foi
646 titulada com alíquotas de 0,01 mL das soluções dos complexos. Foram feitas leituras na
647 faixa de 290 a 600 nm, com uma excitação de 280 nm para a BSA. Avaliou-se a
648 supressão de fluorescência dos triptofanos, presentes na proteína, após a adição dos
649 complexos em estudo

650 Esta supressão pode ser descrita pela equação de *Stern-Volmer* ($F/F_0=1+K_{sv}[Q]$).
651 O gráfico (F_0/F vs [*complexo*]) é representado por uma reta cujo coeficiente angular da
652 reta é a constante de associação (K_{sv}). Os estudos de fluorescência com a BSA foram
653 feitos a 25 °C.

654 **3.3.6.2 Estudo da interação com Abl-SH3 via espectroscopia de fluorescência**

655 Este estudo foi realizado de modo similar ao descrito no tópico 3.2.6.1. Porém,
656 foram feitas titulações espectrofotométricas da proteína ABL-SH3 e dos complexos **1, 2**
657 **3, 4, 9 e 10**. As concentrações dos complexos e da proteína foram respectivamente $5,0 \times$
658 10^{-4} mol L⁻¹ e $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ em tampão TRIS (pH=7,2).

659 **3.3.7 Espectroscopia de dicroísmo circular (CD)**

660 Os espectros de dicroísmo circular (CD) foram obtidos em um aparelho JASCO
661 modelo J-815, com um sistema de controle de temperatura da marca Peltier Jasco
662 modelo PFD-425S. O espectropolarímetro de dicroísmo circular Jasco-815 está
663 disponível na infraestrutura do Departamento de Química da Universidade Federal de
664 Minas Gerais.

665 **3.3.7.1 Espectroscopia de dicroísmo circular (CD)**

666 A interação dos complexos Ru(II) com sulfametizol e α - α -diiminas com o ADN
667 de timo de vitelo (CT-ADN) também foi estudada usando espectroscopia de dicroísmo
668 circular. Para cada experimento, 2,5 mL da solução de ADN ($1,51 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) foi
669 titulada com alíquotas de concentrações das soluções dos complexos a $3,9 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹.
670 ¹. Foram feitas leituras na faixa de 230 a 650 nm.

671 **3.3.8 Espectrometria de Massas-ESI**

672 Os espectros de massas foram obtidos no equipamento LC-MS-IT-TOF
673 Shimadzu da infraestrutura do Departamento de Química da UFMG. As amostras foram
674 dissolvidas em uma mistura equimolar de acetonitrila e acetona.

675 **3.3.9 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio- RMN de ¹H**

676 Os espectros de RMN foram registrados no espectrômetro de RMN Bruker
677 Advance DRX 400 da infraestrutura do Departamento de Química da UFMG. As
678 amostras foram primeiramente solubilizadas em 0,5 mL de dimetilsulfóxido deuterado
679 (dmsó-d₆) e acondicionadas em tubo de 5mm.

680 **3.3.10.1 Estudo da interação com Abl-SH3 via RMN**

681 Estudou-se a interação entre Abl-SH3 e o complexo **2** utilizando ressonância
682 magnética nuclear de ¹H, em colaboração com o professor Adolfo Henrique de Moraes
683 do Departamento de Química da UFMG.

684 Os experimentos de RMN foram realizados a 303 K utilizando um
685 espectrômetro Bruker Onebay 400 MHz equipado com uma sonda de dupla ressonância
686 TXI de 5 mm. O processo de atribuição dos espectros de RMN foi feito utilizando as
687 atribuições depositadas de Abl-SH3-SH2 no Banco de Dados de Ressonância
688 Magnética Biológica (BMRB, número de acesso BMRB 4251). Os espectros de RMN
689 foram processados utilizando o Topspin 3.2 software (Bruker Biospin SA) . O ensaio de
690 interação entre Abl-SH3 e o complexo **2** foi realizado utilizando espectros ¹H-¹⁵N [97].
691 A atribuição e a análise das experiências de titulação Abl-SH3 - Complexo **2** foram
692 realizadas utilizando o software CCPN Analysis [99]. O índice de Perturbação por
693 Deslocamento Químico (CSP) foi calculado utilizando a seguinte equação:

$$694 \text{CSP} = \sqrt{(\Delta 1H)^2 + 0.15(\Delta 15N)^2},$$

695 Onde $\Delta 1H$ e $\Delta 15N$ são a diferença de deslocamentos químicos na dimensão 1H e
696 ^{15}N nos espectros Sofast-HMQC 1H - ^{15}N , respectivamente. As amostras foram
697 preparadas em tampão fosfato 20 mM pH 7,4 contendo 5% (v / v) de dmsó-d₆. O dmsó-
698 d₆ foi usado para possibilitar a dissolução do complexo **2**. A concentração de Abl-SH3
699 foi de 85 μM e a de complexo **2**, seis vezes menor. O pH foi verificado antes e depois
700 da adição de 5% (v / v) de dmsó-d₆ e após a titulação do complexo **2** para evitar
701 qualquer variação de mudança química devida a alterações de pH.

702 **3.3.11 Cristalografia de raios-X de monocristal**

703 As determinações estruturais dos complexos **1** e **2** foram realizadas em
704 colaboração com o professor Bernardo Rodrigues Lage do Departamento de Química da
705 UFMG. As amostras monocristalinas obtidas foram submetidas à análise por difração
706 de raios-X de monocristal em baixa temperatura (120 K) em um difratômetro Oxford
707 Atlas Gémeos. Para a coleta de dados utilizou-se fonte de molibdênio, MoK α (0,71073
708 Å) e monocromador de grafite usando o Crysalis-Pro. Um dispositivo de gás criogênico
709 foi empregado para manter a temperatura de 120 K. As estruturas dos complexos foram
710 coletadas em baixa temperatura. Este procedimento foi necessário devido à
711 impossibilidade de determinar as celas unitárias dos complexos em temperatura
712 ambiente.

713 Em um primeiro momento, as amostras tiveram a monocristalinidade verificadas
714 em um microscópio com polarizador e analisador acoplados; tais amostras foram
715 submetidas à pré-coleta para verificar a cela unitária e separar a melhor amostra para a
716 coleta completa de dados. Os parâmetros de célula dos complexos foram determinados a
717 partir de um conjunto de imagens contendo reflexões correspondentes aos planos de
718 rede.

719 O refinamento final das estruturas dos complexos envolveu tratamento dos
720 parâmetros térmicos isotrópicos para átomos de H e anisotrópico para os átomos não
721 hidrogenóides, correção por absorção das intensidades de reflexão e correção da
722 desordem de ocupação. Os átomos não hidrogenóides, C, O, N, e S, foram localizados a
723 partir do mapa de diferença de Fourier. O complexo **2** apresenta em sua célula unitária
724 uma molécula de álcool isopropílico, e esta exibe sítios desordenados para alguns de
725 seus átomos. Aplicou-se o modelo de desordem estática do átomo para tais sítios. Nesse
726 modelo dois sítios de ocupação são fixados de modo a resultar em melhor refinamento

727 estrutural. Por fim, os programas MERCURY [100] e ORTEP-3 [101] disponíveis no
728 programa Wingx [101] foram utilizados para preparar as Figuras de representação
729 gráfica. As estruturas foram resolvidas usando o programa SHELXS-97 e refinados
730 usando SHELXL-14 / 7 [102].
731

733 RESULTADOS E DISCUSSÃO: NOVOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO(II)
734 COM SULFONAMIDAS E α - α DIIMINAS

735

736 Neste capítulo, serão descritas as sínteses, caracterizações em solução e no
737 estado sólido de 10 complexos inéditos de Ru(II), e serão apresentados e discutidos os
738 resultados da atividade antitumoral (CI₅₀) desses complexos. As seguintes técnicas
739 foram usadas nas caracterizações dos complexos: análise elementar, ponto de fusão,
740 medida de condutividade, espectroscopia de absorção na região do infravermelho,
741 espectroscopia eletrônica no ultravioleta visível (UV-Vis), espectroscopia de
742 fluorescência, espectrometria de massas, espectroscopia de ressonância magnética
743 nuclear de ¹H e difração de raios X de monocristal.

744 4.1 Os complexos

745 **Complexo 1-** [Ru(bpy)₂(smp)](PF₆), [Ru(C₁₀H₈N₂)₂(C₁₁H₁₁N₄O₃S)](PF₆)

746 **Complexo 2-**[Ru(phen)₂(smp)](PF₆), [Ru(C₁₂H₈N₂)₂(C₁₁H₁₁N₄O₃S)](PF₆)(C₃H₈O)

747 **Complexo 3-** [Ru(bpy)₂(smz)](PF₆), [Ru(C₁₀H₈N₂)₂(C₉H₉N₄O₂S₂)](PF₆)

748 **Complexo 4-**[Ru(phen)₂(smz)](PF₆), [Ru(C₁₂H₈N₂)₂(C₉H₉N₄O₂S₂)](PF₆)

749 **Complexo 5-** [Ru(bpy)₂(spd)](PF₆), [Ru(C₁₀H₈N₂)₂(C₁₁H₁₀N₃O₂S)](PF₆)

750 **Complexo 6-**[Ru(phen)₂(spd)](PF₆), [Ru(C₁₂H₈N₂)₂(C₁₁H₁₀N₃O₂S)](PF₆)

751 **Complexo 7-** [Ru(bpy)₂(smx)](PF₆), [Ru(C₁₀H₈N₂)₂(C₁₀H₁₀N₃O₃S)](PF₆)

752 **Complexo 8-**[Ru(phen)₂(smx)](PF₆), [Ru(C₁₂H₈N₂)₂(C₁₀H₁₀N₃O₃S)](PF₆)

753 **Complexo 9-** [Ru(bpy)₂(ssz)](PF₆), [Ru(C₁₀H₈N₂)₂(C₁₈H₁₃N₄O₅S)](PF₆)

754 **Complexo 10-**[Ru(phen)₂(ssz)](PF₆), [Ru(C₁₂H₈N₂)₂(C₁₈H₁₃N₄O₅S)](PF₆)

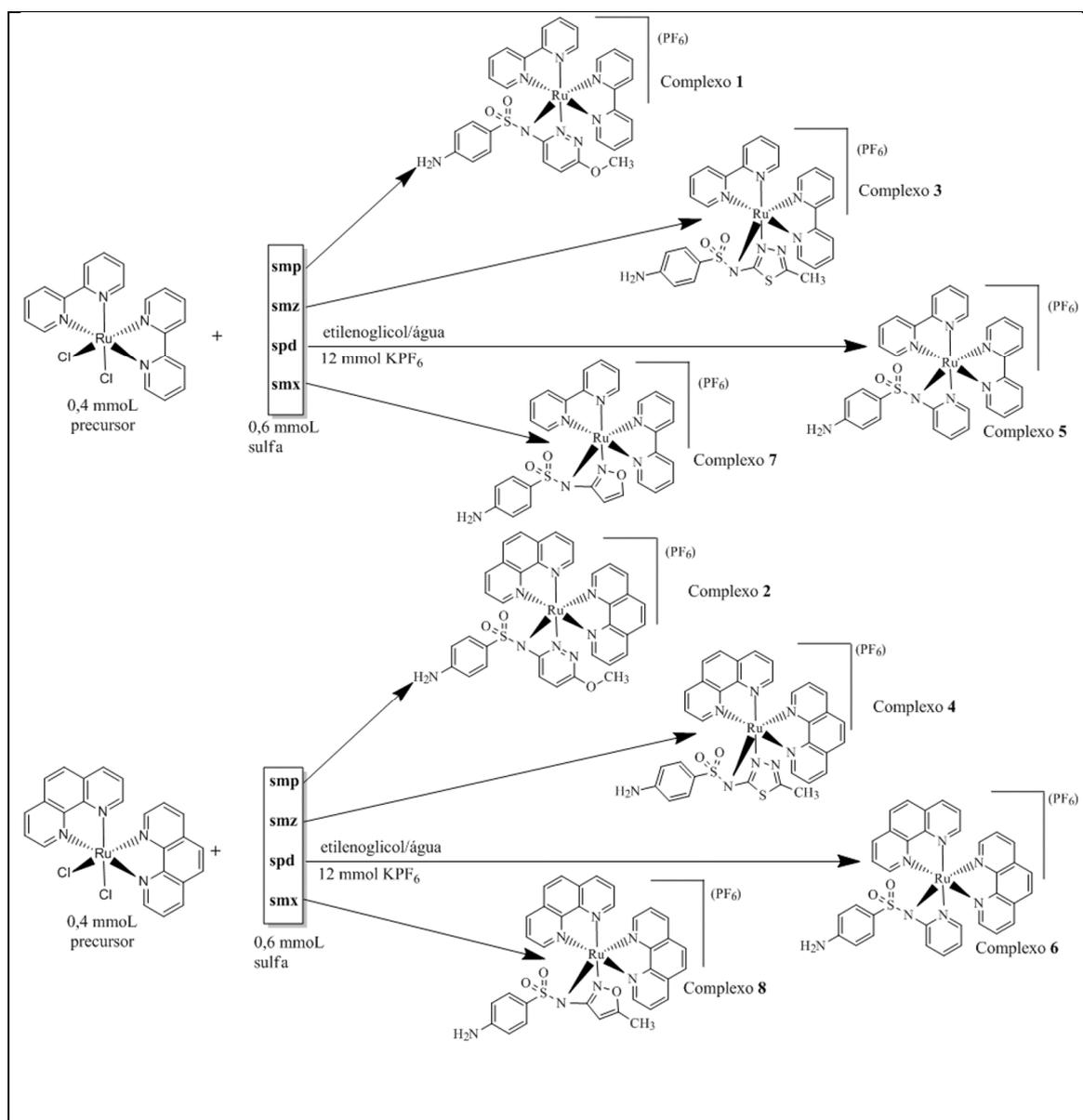
755

756 Os precursores [RuCl₂(bpy)₂] e [RuCl₂(phen)₂] foram sintetizados pela reação do
757 RuCl₃.nH₂O com o ligante NN'-heterocíclico. Os complexos inéditos foram obtidos pela
758 reação dos precursores com as respectivas sulfonamidas (Figuras 4.1 e 4.2).

759 A ssz apresenta 4 prótons ionizáveis: pKa=0,62 (H ligado ao nitrogênio
760 piridínico), pKa =2,9 (hidrogênio carboxílico), pKa= 8,7 (H fenólico) e pKa= 11,1 (H

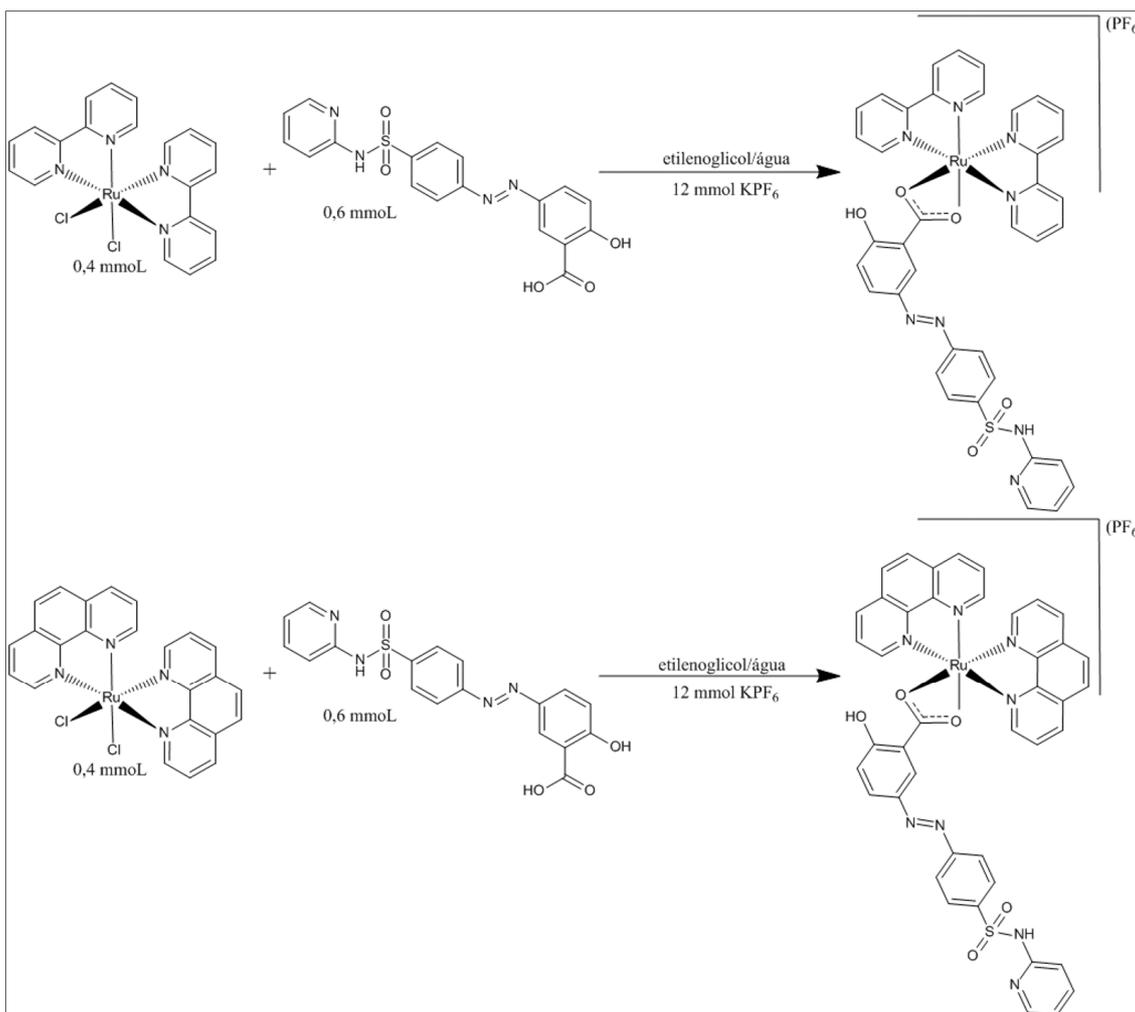
761 sulfonamídico) [103] conforme esquematizado na Figura 4.2. O pKa do hidrogênio
 762 sulfonamídico na ssz é maior que o das outras sulfas, smp (H sulfonamídico, pKa= 6,7),
 763 smz (H sulfonamídico, pKa= 6,71), spd (H sulfonamídico, pKa= 8,43) e smx (H
 764 sulfonamídico, pKa= 6,16) [104], o que justifica a diferença no modo de coordenação
 765 adotado, através dos oxigênios do carboxilato.

766 O sal de hexafluorofosfato de potássio foi empregado para facilitar a
 767 precipitação dos complexos, pela troca do contra-íon cloreto pelo hexafluorofosfato.
 768 Esse ânion não é bom coordenante, e é volumoso, o que pode contribuir para a
 769 formação de cristais.



770 **Figura 4.1** Esquema representativo da equação genérica para obter complexos 1 a 8.

771



772
773

Figura 4.2 Esquema representativo da equação genérica para obter complexos **9** e **10**.

774 4.1.1 Análise elementar, condutimetria e temperatura de decomposição

775 As caracterizações dos precursores, (*cis*-[RuCl₂(bpy)₂] \cdot 2H₂O ou *cis*-[RuCl₂
776 (phen)₂]), empregados no preparo destes complexos estão disponíveis no Anexo 1.

777 Os dados referentes às condutividades em solução $1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹
778 [Λ_M (μ S/cm)], teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio e temperatura de
779 decomposição dos complexos **1** a **10** estão listados na Tabela 4.1.

780 Segundo revisão feita por Geary (1971), medidas de condutividade elétrica em
781 soluções de eletrólitos podem indicar o número de íons presentes uma vez que a
782 condutividade aumenta com o número (e a carga) dos íons. Este autor sugeriu também
783 que para diferentes solventes orgânicos é possível determinar os parâmetros de
784 condutividade para os diferentes tipos de eletrólitos [96]. Os valores das condutividades
785 dos complexos **1** a **10** estão de acordo com a faixa de referência para eletrólitos 1:1 (75-
786 95 ohm⁻¹ cm² mol⁻¹) [96]. As condutividades em nitrometano indicaram, portanto, a
787 presença de um contra-íon para neutralizar o complexo.

788 Os resultados das análises elementares desses complexos estão em
 789 correspondência com as fórmulas moleculares propostas. Esses dados são coerentes
 790 com a substituição de dois ligantes cloretos dos complexos precursores (*cis*-[Ru
 791 Cl₂(bpy)₂] \cdot 2H₂O ou *cis*-[RuCl₂(phen)₂]) pelo ligante sulfa (Figura 4.1).

792

793 **Tabela 4.1** Dados das análises elementares, medidas de condutividade e ponto de
 794 decomposição dos complexos **1** a **10**.

Complexos	%C	%H	%N	Λ_M ohm ⁻¹ cm ² mol ⁻¹	Decomposição
[Ru(C ₁₀ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₁ H ₁₁ N ₄ O ₃ S)] \cdot 0,4H ₂ O \cdot (PF ₆) (1) MM= 845,49 g mol ⁻¹					256-258
experimental	43,64	3,64	13,43	93,79	
calculado	44,04	3,32	13,25		
[Ru(C ₁₂ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₁ H ₁₁ N ₄ O ₃ S)](PF ₆)(C ₃ H ₈ O)(2) MM= 945,84 g mol ⁻¹					260-262
experimental	48,33	3,52	11,89	94,28	
calculado	48,25	3,73	11,85		
[Ru(C ₁₀ H ₈ N ₂) ₂ (C ₉ H ₉ N ₄ O ₂ S ₂)](PF ₆) (3) MM= 828,05 g mol ⁻¹				94,86	243-245
experimental	42,18	3,43	13,20		
calculado	42,03	3,16	13,52		
[Ru(C ₁₂ H ₈ N ₂) ₂ (C ₉ H ₉ N ₄ O ₂ S ₂)](PF ₆) (4) MM= 876,05 g mol ⁻¹				81,30	246-248
experimental	45,24	2,54	12,95		
calculado	45,21	2,99	12,78		
[Ru(C ₁₀ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₁ H ₁₀ N ₃ O ₂ S)](PF ₆) (5) MM= 846,15 g mol ⁻¹				92,00	233-236
experimental	46,08	3,03	12,01		
calculado	46,16	3,27	12,15		
[Ru(C ₁₂ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₁ H ₁₀ N ₃ O ₂ S)](PF ₆) (6) MM= 894,15 g mol ⁻¹				94,06	254-257
experimental	49,44	3,03	13,15		
calculado	49,18	3,07	13,74		
[Ru(C ₁₀ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₀ H ₁₀ N ₃ O ₃ S)](PF ₆) (7) MM= 811,08 g mol ⁻¹				89,45	240-243
experimental	44,88	3,73	12,15		
calculado	44,34	3,47	12,07		
[Ru(C ₁₀ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₀ H ₁₀ N ₃ O ₃ S)](PF ₆) (8) MM= 859,08 g mol ⁻¹				91,38	242-244
experimental	47,77	3,13	11,48		
calculado	47,50	3,17	11,40		
[Ru(C ₁₀ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₈ H ₁₃ N ₄ O ₅ S)](PF ₆) (9) MM= 956,10 g mol ⁻¹				90,86	280-282
experimental	47,35	3,22	11,78		
calculado	47,70	3,16	11,76		
[Ru(C ₁₂ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₈ H ₁₃ N ₄ O ₅ S)](PF ₆) (10) MM= 1004, 10 g mol ⁻¹				93,00	279-281
experimental	50,15	3,20	10,94		
calculado	50,21	3,01	11,15		

795 4.1.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

796 As sulfas e as α - α diiminas que foram empregadas neste trabalho possuem
 797 distintos grupos funcionais que absorvem na região do infravermelho. Deste modo, a

798 espectroscopia vibracional pode auxiliar na atribuição dos sítios de coordenação desses
 799 ligantes ao íon metálico rutênio(II). Entretanto, as vibrações relacionadas com os anéis
 800 heteroaromáticos não podem ser interpretadas como modos vibracionais simples pois a
 801 maioria delas tem origem complexa envolvendo diferentes tipos de vibrações [59].

802 As análises dos espectros vibracionais das sulfonamidas smp [58], smz [56], spd
 803 [74] e smx [70] foram feitas com base em estudo comparativo aos descritos na
 804 literatura. As principais bandas no espectro na região de infravermelho destas sulfas e
 805 dos complexos **1** a **8** encontram-se listadas na Tabela 4.2. O Ru(II) coordena-se a estas
 806 sulfas através de dois átomos distintos de nitrogênio. Os espectros de absorção na região
 807 de infravermelho para os complexos **1** a **8** e suas respectivas sulfas e precursores estão
 808 apresentados nas Figuras 4.3 a 4.10. As interpretações das bandas destes compostos são
 809 complexas, uma vez que ocorrem sobreposições entre as bandas dos anéis aromáticos
 810 das sulfonamidas e dos precursores (*cis*-[RuCl₂(bpy)₂] \cdot 2H₂O ou *cis*-[RuCl₂(phen)₂]).
 811 Apesar dessa dificuldade identificou-se uma mudança no diz respeito à banda associada
 812 ao estiramento ν (N-H). A banda de absorção atribuída ao grupo ν (N-H) das sulfas
 813 (Tabela 4.2) não foi visualizada nos espectros dos complexos **1** a **8** (Figuras 4.3 a 4.10).
 814 Isto sugere a desprotonação do grupo N-H devida à coordenação do íon metálico ao
 815 nitrogênio que está ligado ao grupo sulfonamídico. Verifica-se ainda um deslocamento
 816 no estiramento ν (SN) nos espectros dos complexos **1** a **8** (Figuras 4.3 a 4.10). Essas
 817 diferenças são apresentadas na Tabela 4.2. É importante destacar que este deslocamento
 818 reforça a coordenação do nitrogênio sulfonamídico ao íon metálico Ru(II). Ademais, o
 819 segundo nitrogênio envolvido na coordenação ao metal encontra-se no anel
 820 heteroaromático, a saber, piridazina (complexos **1** e **2**), tiadiazol (complexos **3** e **4**),
 821 piridínico (complexos **5** e **6**) ou isoxazol (complexos **7** e **8**).

822 Na Tabela 4.2 são apresentadas as principais bandas que também poderiam estar
 823 envolvidas na coordenação do metal à sulfa. No entanto, não foram observadas
 824 diferenças significativas quando comparados os estiramentos ν_{as} (NH₂), ν_s (NH₂),
 825 ν_{as} (SO₂), ν_s (SO₂) e δ (NH₂) das sulfonamidas e dos complexos **1** a **8**.

826

827 **Tabela 4.2** Principais frequências (cm⁻¹) na região do infravermelho dos complexos **1** a
 828 **8** e ligantes sulfas.

composto	ν_{as} (NH ₂)	ν_s (NH ₂)	ν (NH)	ν_{as} (SO ₂)	ν_s (SO ₂)	ν (NN)	ν (SN)	ν (C=C)	δ (NH ₂)
smp	3482(s)	3388(s)	3162(s)	1324(s)	1156(s)	998(m)	928(w)	1596(s)	1628(s)
complexo 1	3478(w)	3382(w)	-	1328(w)	1160(m)	1024(s)	974(s)	1596(s)	1628(s)

complexo 2	3478(w)	3392(m)	-	1328(w)	1138(m)	1012(s)	972(s)	1596(s)	1628(s)
smz	3469(s)	3358(s)	3254(m)	1326(m)	1130(s)	980(w)	924(s)	1544(s)	1636(w)
complexo 3	3466(w)	3370(w)	-	1342(w)	1138(s)	1008(w)	990(s)	1598(s)	1630(s)
complexo 4	3468(w)	3390(w)	-	1330(w)	1138(s)	1012(s)	972(s)	1596(s)	1630(s)
spd	3414(s)	3308(s)	3148(w)	1324(s)	1126(s)	-	948(s)	1584(s)	1636(s)
complexo 5	3478(w)	3370(w)	-	1312(m)	1140(s)	-	990(w)	1590(s)	1634(w)
complexo 6	3480(w)	3368(w)	-	1322(w)	1136(s)	-	998(s)	1588(s)	1634(s)
smx	3466(s)	3377(s)	3142(s)	1366(s)	1157(m)	-	927(s)	1596(s)	1621(s)
complexo 7	3462(w)	3400(w)	-	1360(m)	1146(s)	-	930(s)	1596(s)	1626(w)
complexo 8	-	3368(w)	-	1364(m)	1148(s)	-	948(w)	1598(m)	1618(w)

* strong (s, forte), médium (m, médio), weak (w, fraco)

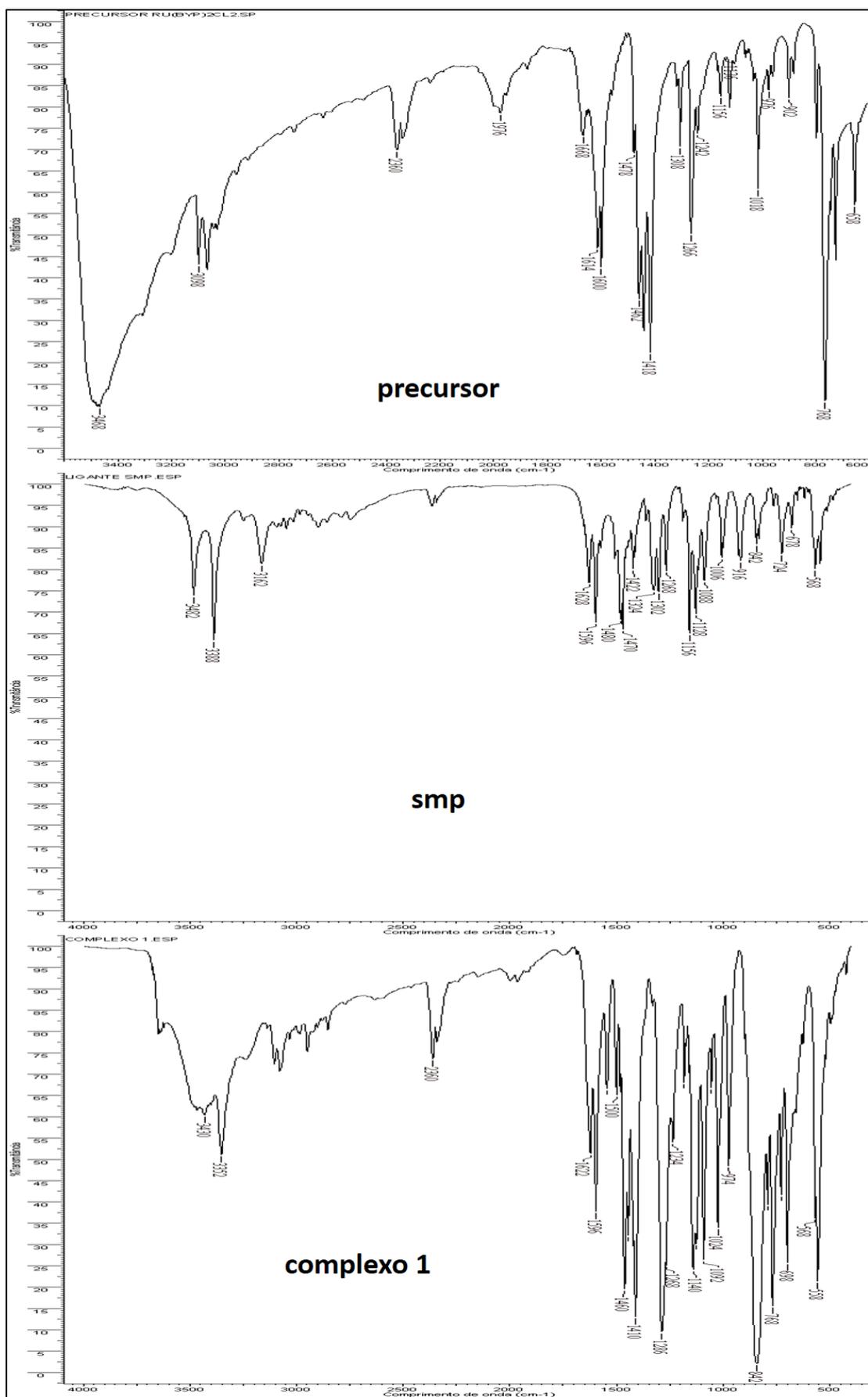
829

830

831 O estiramento $\nu(\text{N}=\text{N})$ da piridazina livre aparece em 986 cm^{-1} [105], por
 832 comparação atribuímos que no ligante smp, esta banda aparece em 998 cm^{-1} . Enquanto,
 833 que no espectro do complexo **1**, este estiramento aparece 1024 cm^{-1} , e em 1012 cm^{-1} no
 834 complexo **2** (Figuras 4.3 e 4.4). Esses deslocamentos indicam a coordenação ao centro
 835 metálico via nitrogênio do anel de piridazina.

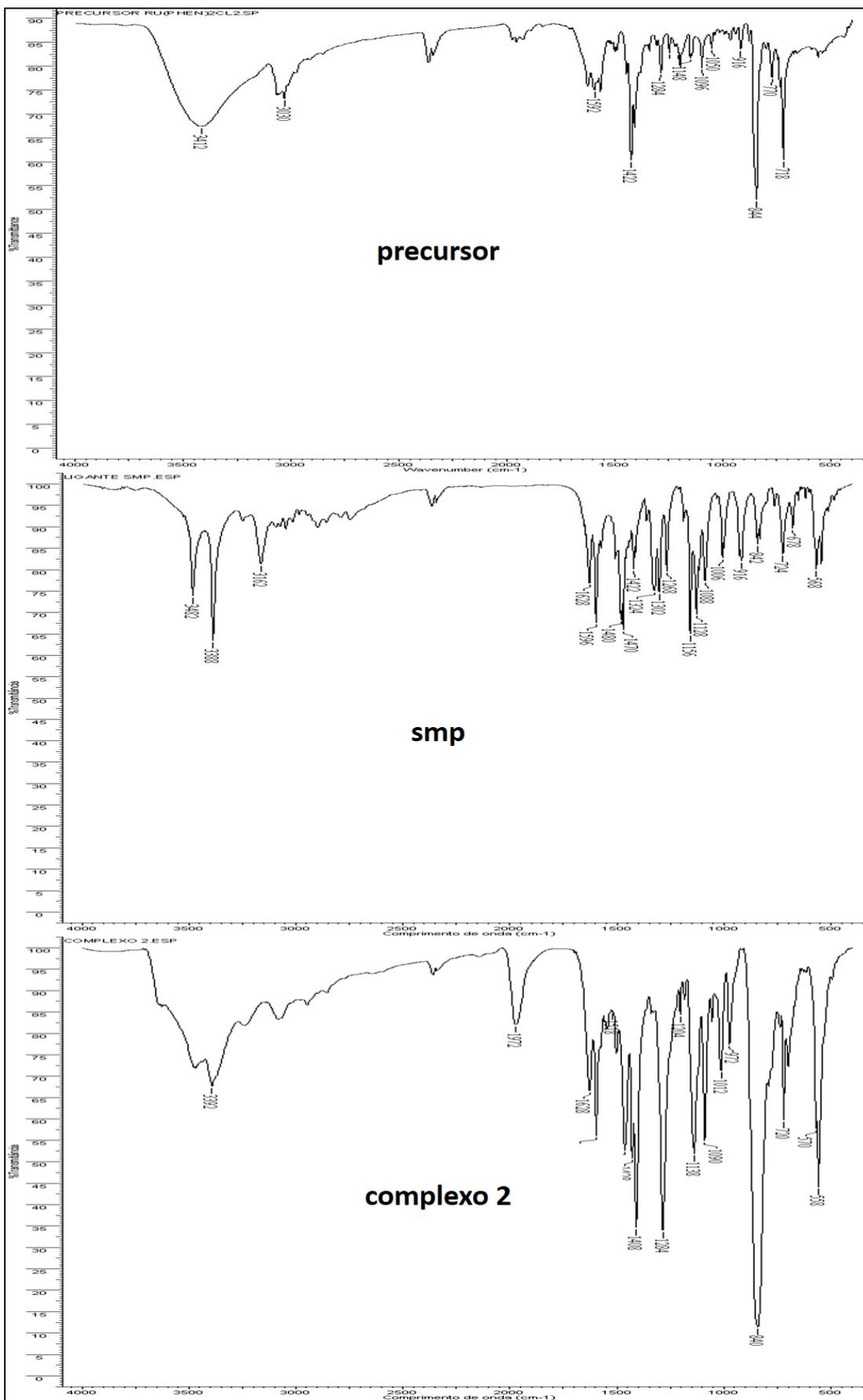
836 Por outro lado, nos complexos **3** e **4** os deslocamentos referentes aos
 837 estiramentos $\nu(\text{C}=\text{N})$ e $\nu(\text{N}-\text{N})$ indicam a coordenação ao centro metálico via nitrogênio
 838 do anel de tiadiazol A banda associada ao estiramento $\nu(\text{C}=\text{N})$ aparece no espectro do
 839 ligante smz em 1544 cm^{-1} . Nos complexos **3** e **4** esta banda apareceu respectivamente
 840 em 1540 cm^{-1} e 1578 cm^{-1} (Figuras 4.5 e 4.6). O estiramento $\nu(\text{N}=\text{N})$ da smz livre
 841 aparece em 980 cm^{-1} [59], enquanto, que no espectro do complexo **3**, este estiramento
 842 aparece 1008 cm^{-1} , e em 972 cm^{-1} no complexo **4**.

843 Segundo Kremer e colaboradores [62] é difícil atribuir os modos vibracionais do
 844 anel piridínico a suas respectivas bandas, visto que a maioria é de origem complexa e
 845 envolve diferentes modos vibracionais. Apesar desta dificuldade, Wandas e Puszeko
 846 [106] destacaram que as bandas atribuídas aos estiramentos $\nu\text{CN}+\nu\text{CN}$ do anel
 847 piridínico aparecem dentro dos intervalos $1610\text{--}1590$, $1590\text{--}1510$, $1490\text{--}1435$ e 1450--
 848 1377 cm^{-1} , por comparação atribuímos que no ligante spd, estas bandas aparecem
 849 respectivamente em 1584 e 1452 cm^{-1} . No espectro do complexo **5**, este estiramento
 850 aparece 1590 e 1456 cm^{-1} , e em 1588 e 1456 cm^{-1} no complexo **6** indicando a
 851 coordenação ao centro metálico via nitrogênio do anel piridínico (Figuras 4.7 e 4.8).



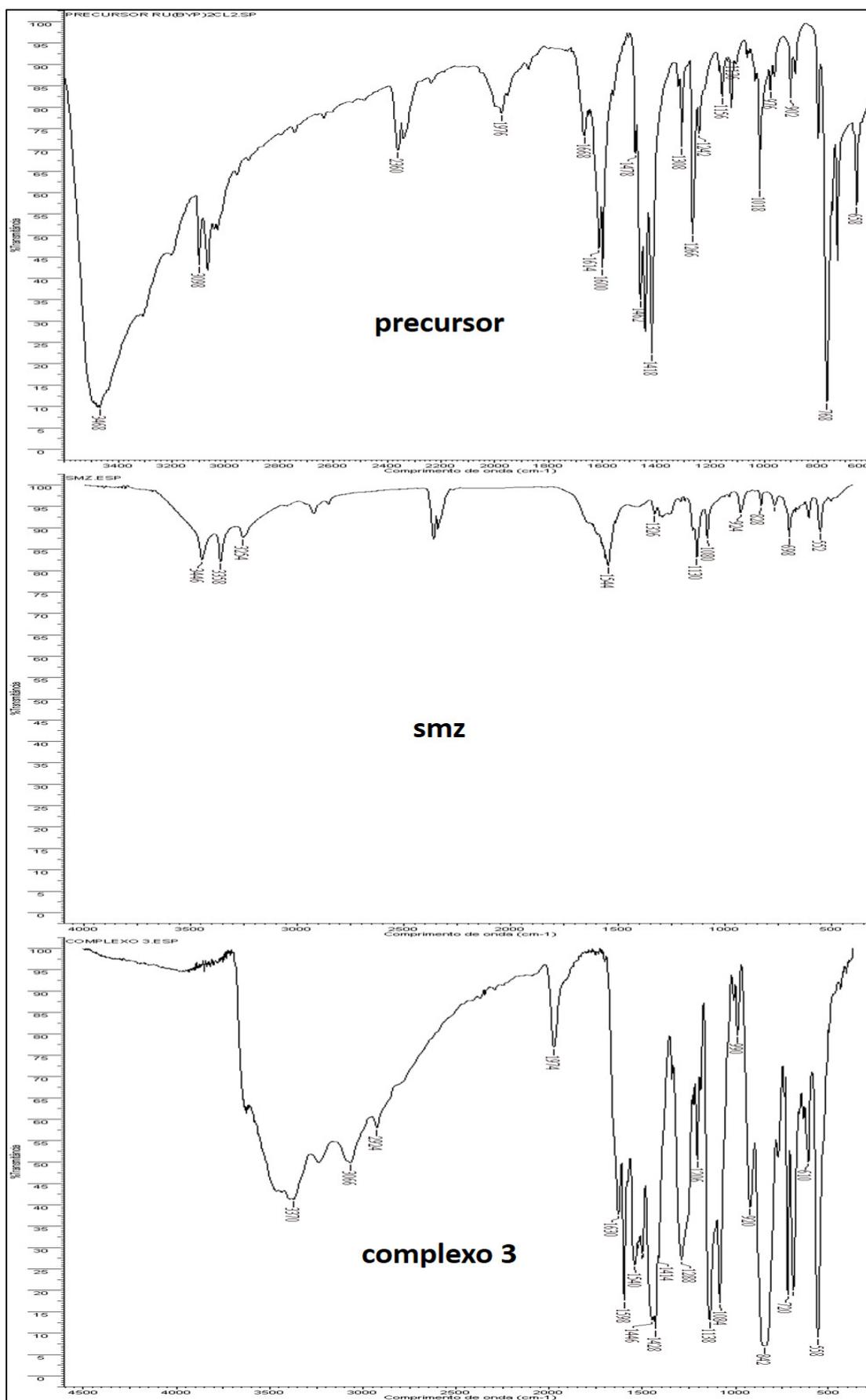
852
853
854

Figura 4.3 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (*cis*-[RuCl₂(bpy)₂] \cdot 2H₂O, ligante smp e complexo 1.



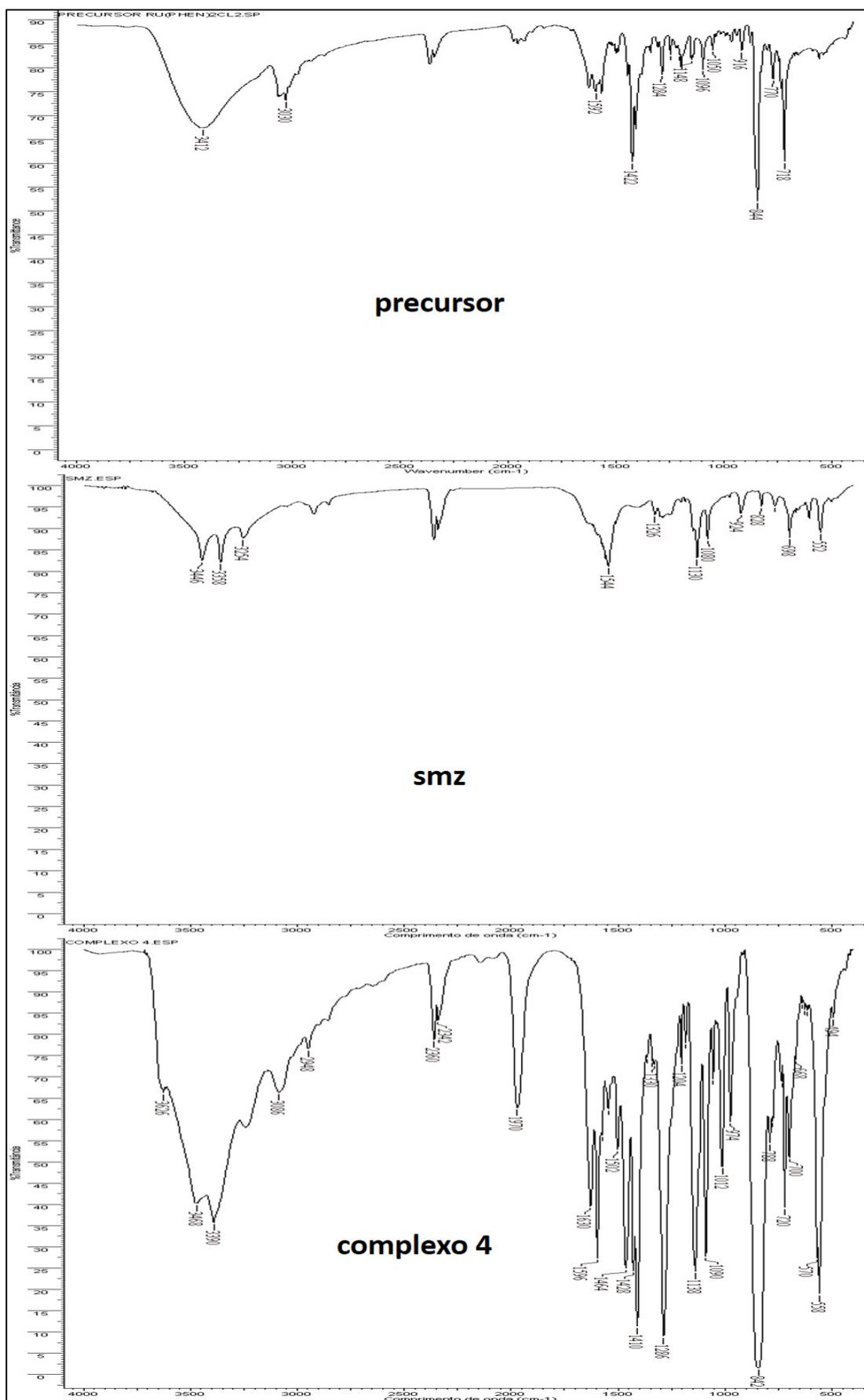
855
856
857

Figura 4.4 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (*cis*-[RuCl₂(phen)₂] \cdot 2H₂O, ligante smp e complexo 2.



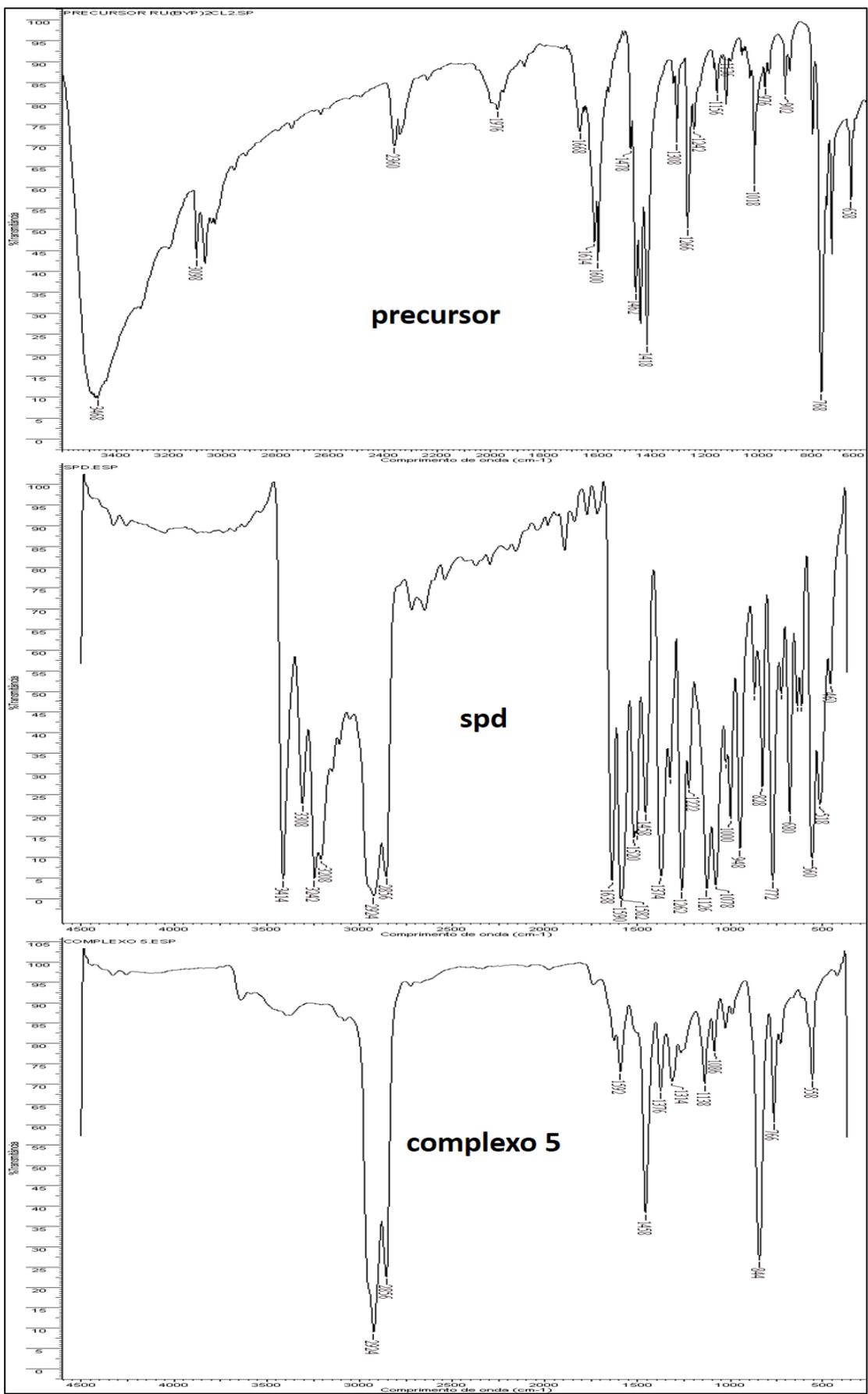
858
859
860

Figura 4.5 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (*cis*-[RuCl₂(bpy)₂] \cdot 2H₂O, ligante smz e complexo **3**.



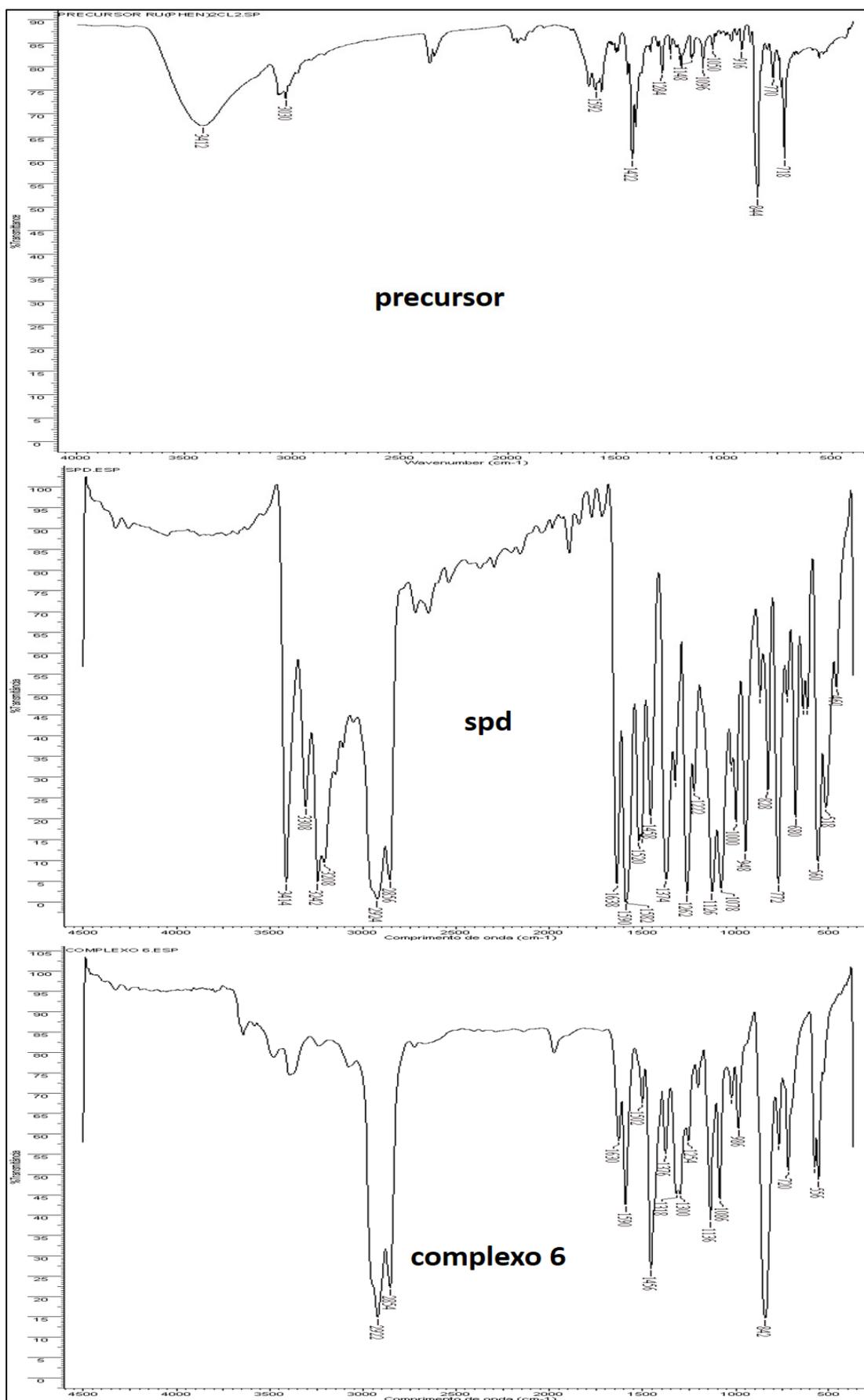
861
862
863

Figura 4.6 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (*cis*-[RuCl₂(phen)₂] \cdot 2H₂O, ligante smz e complexo 4.



864
865
866

Figura 4.7 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (*cis*-[RuCl₂(bpy)₂] \cdot 2H₂O, ligante spd e complexo **5**.



867
868
869

Figura 4.8 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (*cis*-[RuCl₂(phen)₂] \cdot 2H₂O, ligante spd e complexo 6.

870 No anel isolado de isoxazol, a banda média em 1585-1555 cm⁻¹ é atribuída aos
 871 estiramentos das ligações $\nu(\text{C}=\text{N})$ e $\nu(\text{C}=\text{C})$ [107]. Ao comparar as bandas atribuídas a
 872 este estiramento, observou-se que no ligante livre smx o estiramento $\nu(\text{C}=\text{N})$ está
 873 presente em 1575 cm⁻¹, enquanto que nos complexos **7** e **8** este estiramento aparece
 874 respectivamente 1552 cm⁻¹ e 1550 cm⁻¹ (Figuras 4.9 e 4.10).

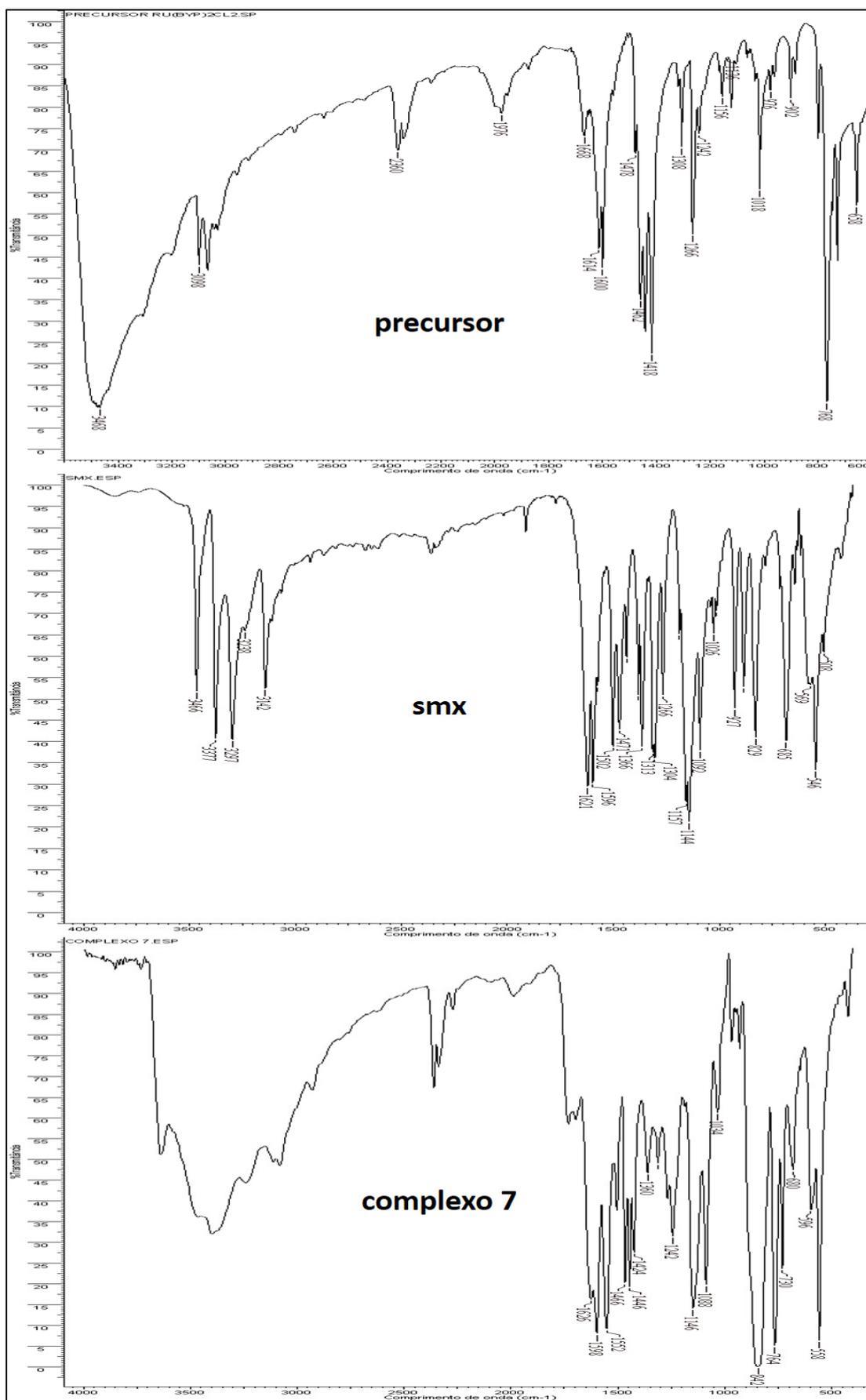
875 Para análise completa dos espectros dos complexos **1** a **8** é necessário considerar
 876 também os estiramentos referentes ao ligante bpy e phen. Os espectros de absorção na
 877 região do infravermelho da bpy e phen estão apresentados nas Figuras 4.11 e 4.12.
 878 Observam-se duas bandas nas regiões de 3084 e 3052 cm⁻¹ para o ligante bpy, e em
 879 3066 e 3032 cm⁻¹ para o ligante phen, que podem ser atribuídas aos modos vibracionais
 880 de estiramento assimétrico e simétrico $\nu\text{C-H}$, característico de anéis aromáticos.

881 As vibrações dos anéis heteroaromáticos não podem ser interpretadas como
 882 modos vibracionais simples pois a maioria delas são de origem complexas e envolvem
 883 diferentes tipos vibracionais. Os modos vibracionais de estiramento $\nu\text{C}=\text{N}$ e $\nu\text{C}=\text{C}$
 884 também podem ser identificadas através de quatro bandas intensas presentes entre 1578-
 885 1414 cm⁻¹ na bpy, e em 1588-1420 cm⁻¹ na phen. O modo de deformação angular fora
 886 do plano $\nu\text{C-H}$ e deformação angular no plano do anel e νCCN , νCCC são sinalizados
 887 respectivamente através das bandas em 756, 652 e 618 cm⁻¹ na bpy, e em 850, 732 e
 888 624 cm⁻¹ na phen [108,109].

889 Ao comparar os espectros dos complexos **1** a **8** e dos ligantes livres bpy e phen,
 890 observou-se ainda o deslocamento das bandas características dos modos vibracionais de
 891 estiramentos das bandas heterocíclicas e deformação angular $\nu\text{C-H}$, νCCN , νCCC para
 892 regiões de maior comprimento de onda, indicando a coordenação ao centro metálico,
 893 conforme apresentado na Tabela 4.3.

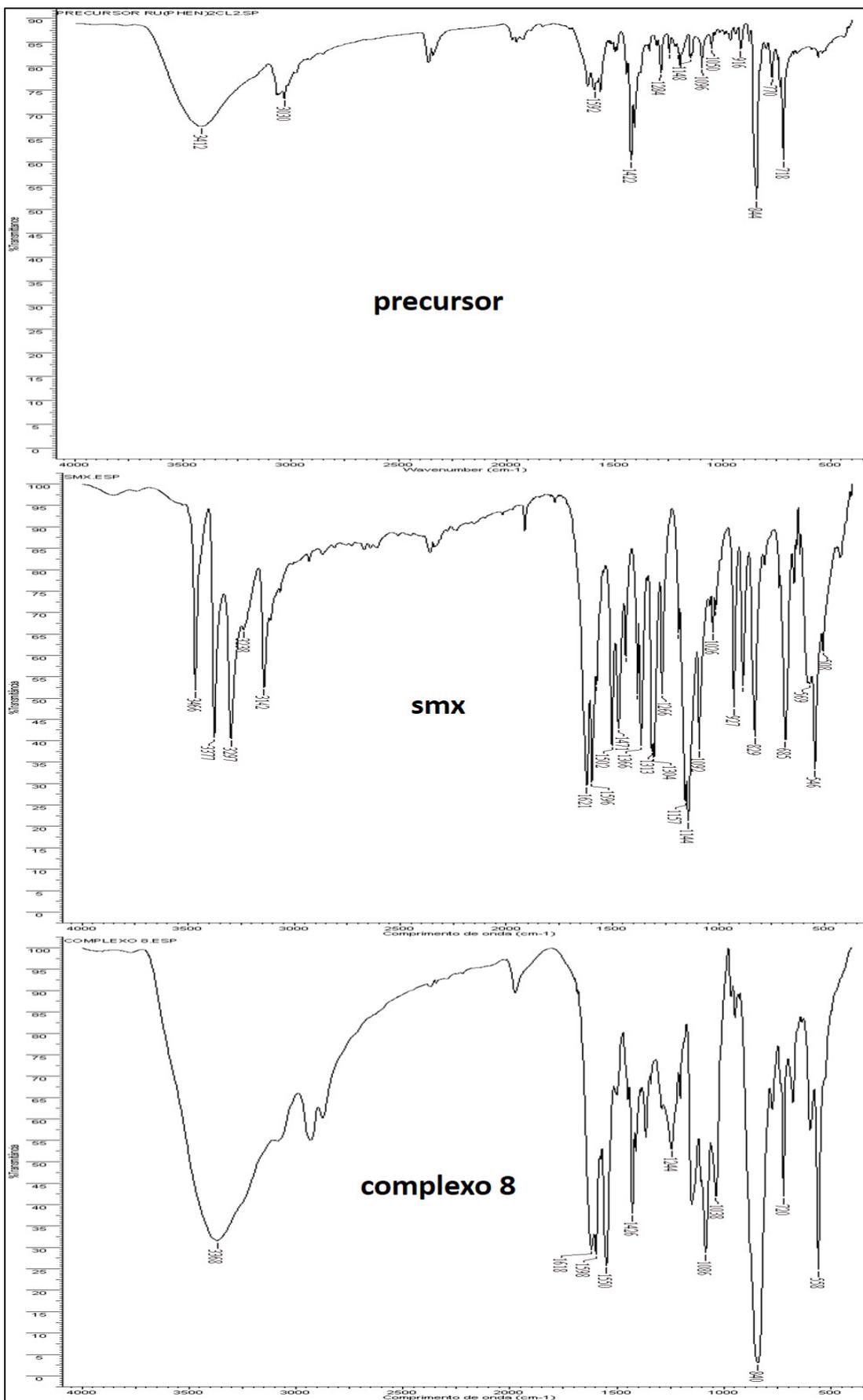
894 **Tabela 4.3** Modos vibracionais de estiramento $\nu(\text{C}=\text{C})$, $\nu(\text{C}=\text{N})$, ν_3 (F_{1u}), ν_4 (F_{1u}) e
 895 deformação angular fora do plano $\nu\text{C-H}$, νCCN , νCCC que aparecem região do
 896 infravermelho dos complexos **9** e **10** e dos ligantes bpy e phen.

	$\nu\text{C}=\text{N}$ e $\nu\text{C}=\text{C}$	$\nu\text{C-H}$	νCCN	νCCC	ν_3 (F_{1u})	ν_4 (F_{1u})
bpy	1578-1414	756	652	618	-	-
phen	1588-1420	850	732	624	-	-
complexo 1	1596-1410	768	728	698	842	558
complexo 2	1598-1408	720	700	614	840	558
complexo 3	1598-1428	720	688	610	842	558
complexo 4	1596-1410	720	700	668	842	558
complexo 5	1590-1424	764	764	668	844	558
complexo 6	1588-1428	768	720	700	840	558
complexo 7	1596-1424	764	730	700	844	558
complexo 8	1598-1412	774	720	676	840	558



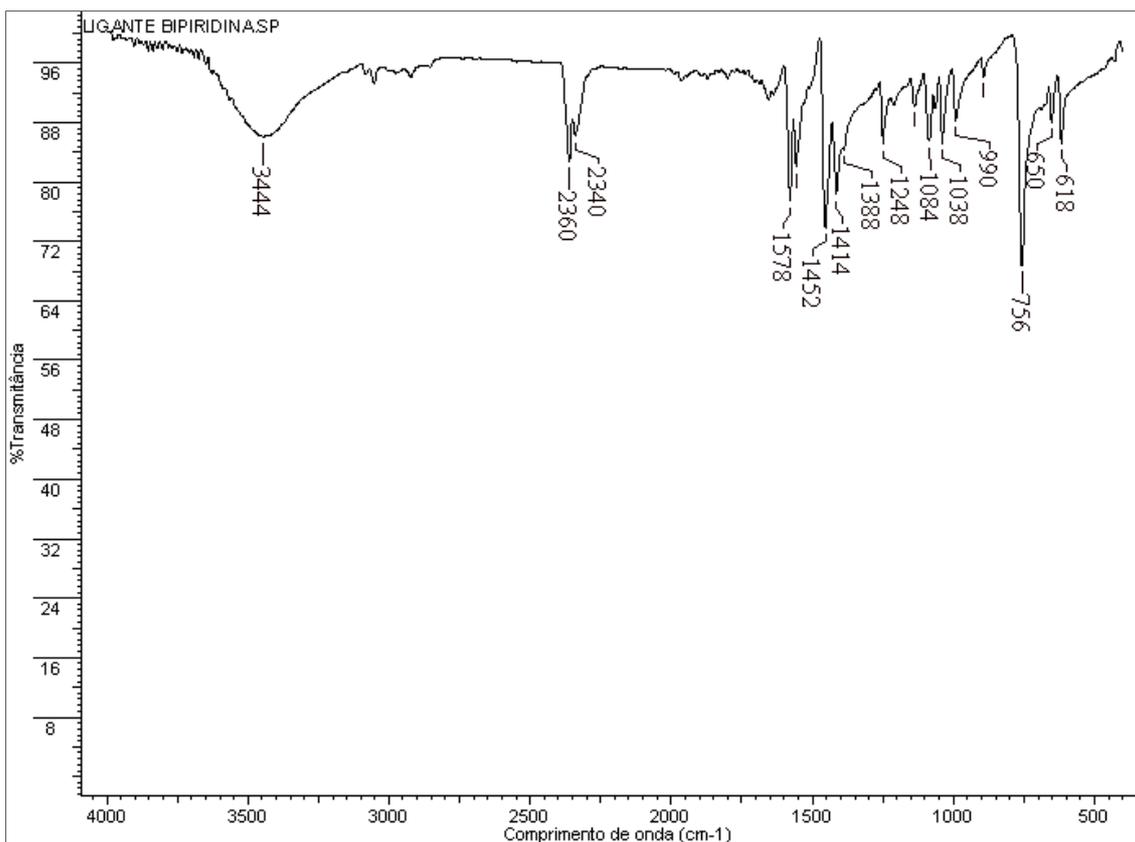
897
898
899

Figura 4.9 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (*cis*-[RuCl₂(bpy)₂] \cdot 2H₂O, ligante smx e complexo 7.



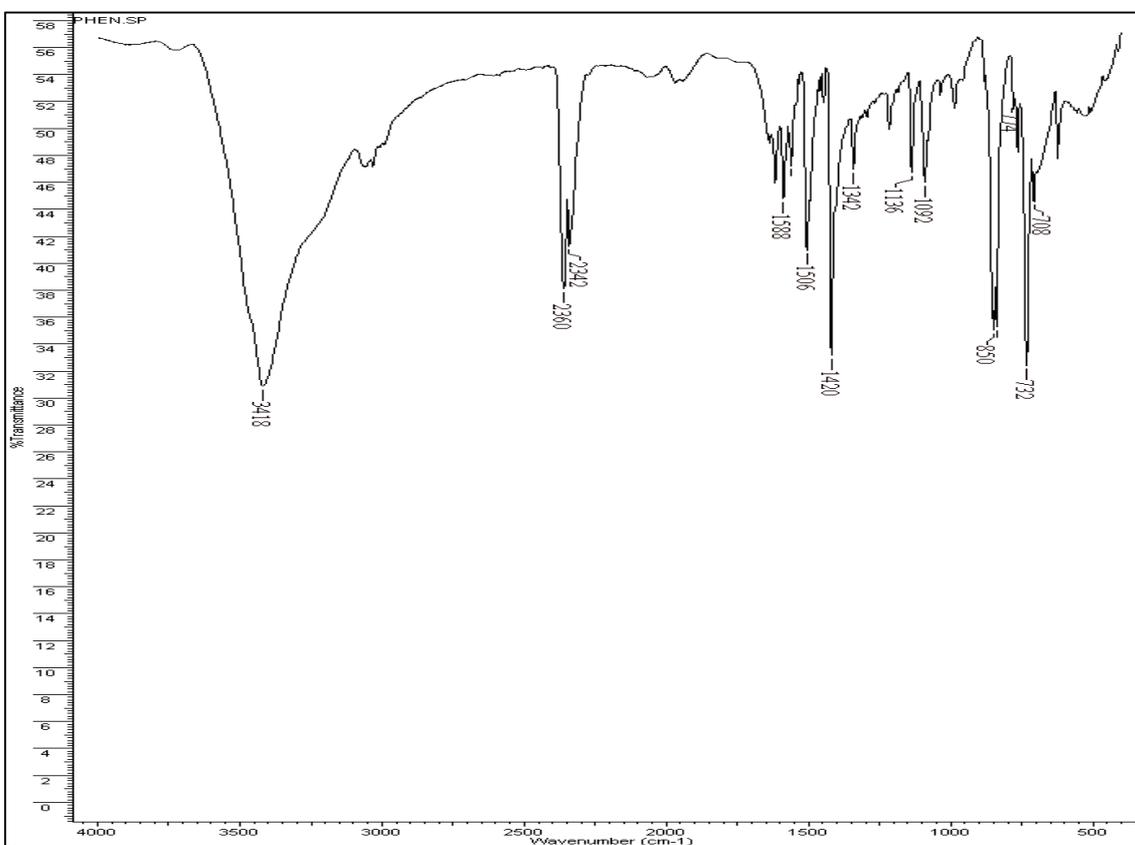
900
901
902

Figura 4.10 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (*cis*-[RuCl₂(phen)₂·2H₂O), ligante *smx* e complexo **8**.



903

904 **Figura 4.11** Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante bpy.



905

906 **Figura 4.12** Espectro de absorção na região do infravermelho do ligante phen.

907 As modificações observadas nos espectros infravermelho dos complexos **1** a **8** se
908 comparados aos espectros das sulfas livres sugerem que as mesmas atuam como
909 ligantes bidentados. Deste modo, é possível apontar que a substituição da α - α diimina
910 bpy para phen não interfere no modo de coordenação da sulfa ao rutênio (II).

911 Nos espectros dos complexos **1** a **8** fica evidente a presença do grupo PF_6^- na
912 constituição do complexo. O íon PF_6^- livre tem simetria O_h e as vibrações ν_3 e ν_4 (F_{1u})
913 são ativas no infravermelho [110]. O modo de estiramento ν_3 (F_{1u}) que aparece como
914 uma banda forte, e o modo ν_4 (F_{1u}) para os complexos **1** a **8** estão listados na Tabela 4.3.

915 Conforme visto na seção 3.3.2.1, foram obtidos monocristais dos complexos **1** e
916 **2**. A análise estrutural feita através da difração de raios X possibilitou identificar que o
917 solvente álcool isopropílico está incluso na rede cristalina do complexo **2**. A presença
918 deste solvente também foi visualizada através da espectroscopia de absorção na região
919 do infravermelho. As bandas 2946, 2854 e 1462 cm^{-1} são atribuídas respectivamente aos
920 estiramentos $\nu_{\text{as}}(\text{CH}_3)$, $\nu_{\text{s}}(\text{CH}_3)$ e $\delta(\text{CH}_3)$ [109]. A banda característica do álcool terciário
921 ocorre em 3644-3626 cm^{-1} [111]

922 Deste modo, o Ru(II) se liga a uma molécula de sulfa de modo bidentado,
923 através do nitrogênio desprotonado que está ligado ao grupo sulfonamídico e via
924 nitrogênio do anel heteroaromático, e coordena-se de modo bidentado a duas moléculas
925 α - α -diiminas através dos nitrogênios azometinos.

926 A ssz e seus respectivos complexos apresentam particularidades estruturais em
927 relação as demais sulfas, deste modo, suas principais atribuições serão destacadas e
928 discutidas de modo particular.

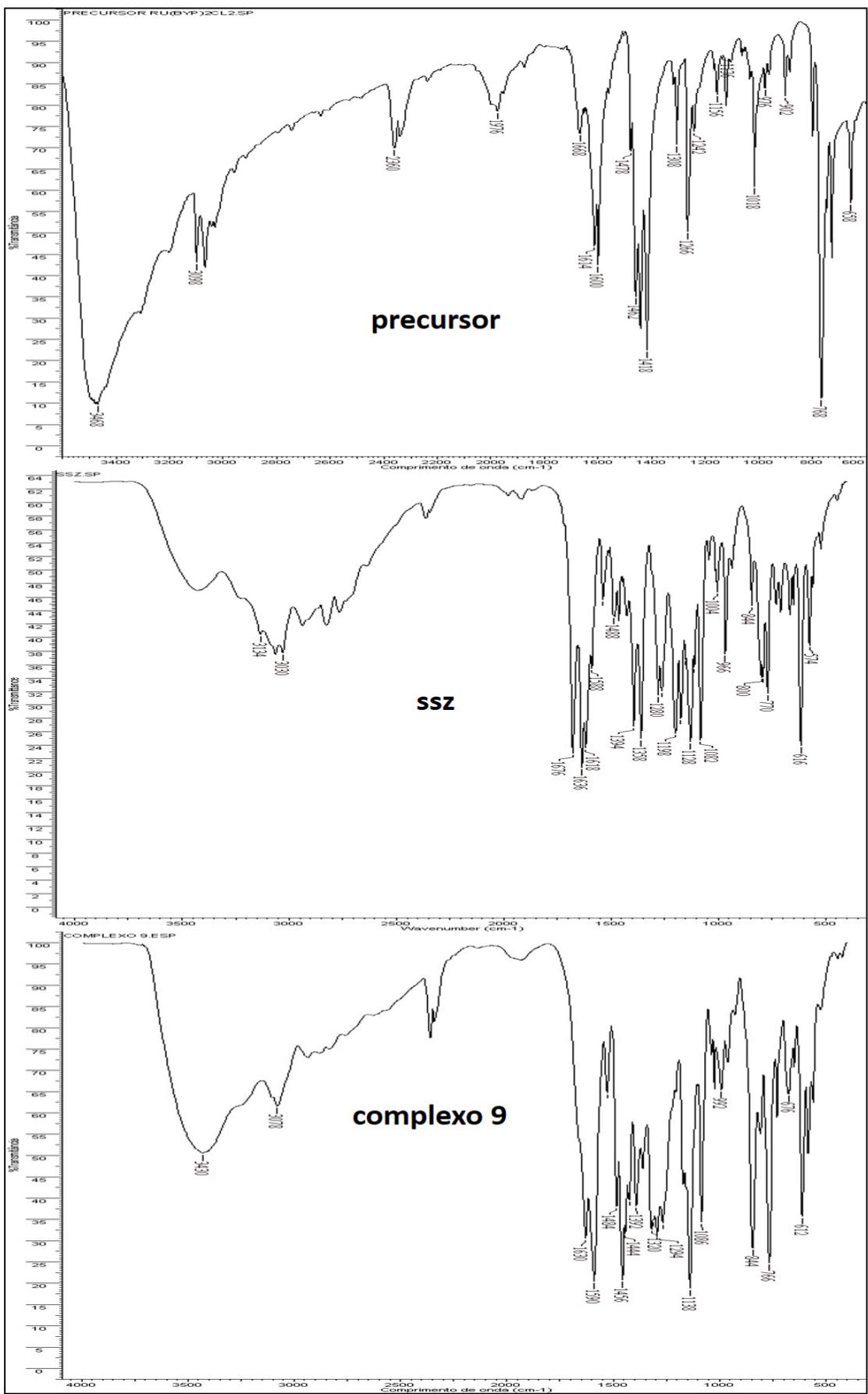
929 Dentre as sulfas empregadas neste trabalho foi identificado que a ssz apresenta o
930 espectro mais complexo. A complexidade deste espectro foi atribuída à presença de três
931 anéis aromáticos diferentes (o anel salicílico, o anel central p -substituído e o anel
932 piridínico), dos grupos oxigenados $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$ e $-\text{SO}_2$, e do $-\text{NH}$ sulfonamídico [79].
933 Desta forma, aparecem várias bandas de absorção, algumas sobrepostas ou combinadas,
934 e tal ocorrência torna difícil a atribuição deste espectro.

935 Apesar de um número amplo de bandas de absorção foi possível identificar
936 alguns modos vibracionais do ligante ssz. Essas atribuições foram feitas com base em
937 trabalho reportado por Marzano [79]. As principais bandas na região do infravermelho
938 para a ssz e suas respectivas atribuições são 3422 $\nu(\text{OH})$, 3134 $\nu(\text{NH})$, 3062 $\nu(\text{CH})$,
939 1676 $\nu(\text{C}=\text{O})$ carboxílico, 1618 e 1588 modos vibracionais do anel salicílico, 1482

940 ($\nu_{CC} + \nu_{CN}$) do anel piridínico, 1358 $\nu_{as}(\text{SO}_2)$, 1263 $\nu(\text{C-O})$ carboxílico, 1174 $\nu_s(\text{SO}_2)$
941 e 1280 $\nu(\text{CO})$ fenólico.

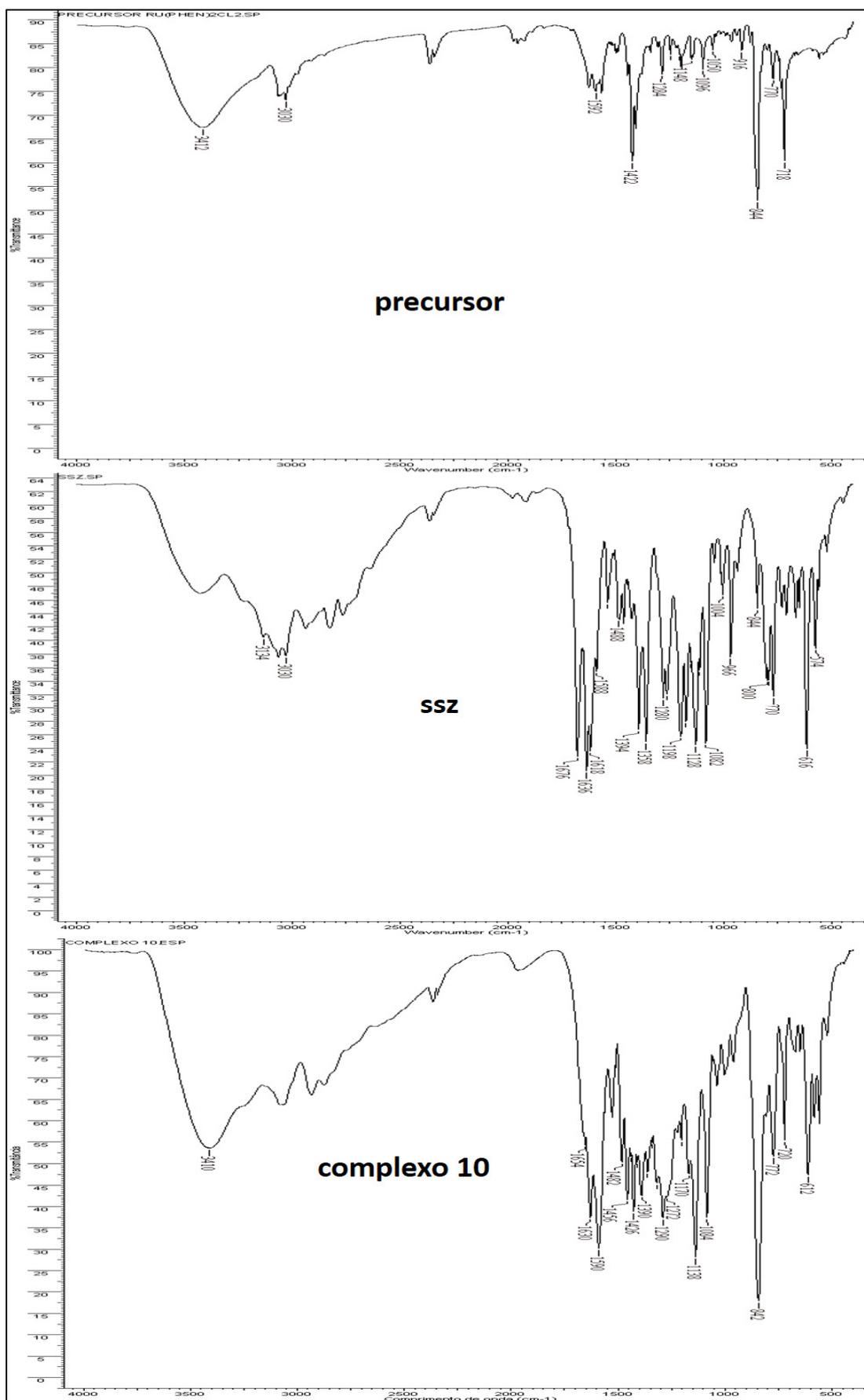
942 Cabe ressaltar primeiramente que não foram observadas mudanças significativas
943 nas bandas atribuídas aos estiramentos $\nu_{CC} + \nu_{CN}$ do anel piridínico nos complexos **9** e
944 **10** quando comparadas ao espectro do ligante ssz (Figura 4.13 e 4.14). Deste modo, o
945 anel piridínico não participa na coordenação com o íon metálico. Ainda nos espectros
946 dos complexos **9** e **10** quando comparado com a ssz livre, ressaltou-se o deslocamento
947 da banda característica do modo vibracional de estiramento $\nu(\text{C=O})$ do grupo COOH
948 para região de menor comprimento de onda. A banda de vibração forte em 1676 cm^{-1} ,
949 atribuída ao estiramento da ligação $\nu(\text{C=O})$ no espectro da ssz livre, deslocou-se para
950 região de maior energia formando uma única banda em 1630 cm^{-1} nos espectros dos
951 complexos **9** e **10**, sugerindo a participação da carbonila na coordenação ao Ru(II).

952 As bandas dos modos vibracionais do anel salicílico em 1618 e 1588 cm^{-1} não
953 foram identificadas nos complexos **9** e **10**. Nos complexos **9** e **10** observaram-se apenas
954 um ombro largo em 1590 cm^{-1} , sugerindo a união das bandas em 1618 e 1588 cm^{-1}
955 (Figuras 4.13 e 4.14). Alterações nestas bandas possivelmente procedem de um novo
956 ambiente químico envolvendo o anel salicílico na coordenação. Essa modificação foi
957 anteriormente observada em complexos de gálio(III) e bismuto(III) com ssz [79]. Nos
958 complexos **9** e **10**, a vibração de estiramento assimétrico do carboxilato aparece em
959 1590 cm^{-1} e o simétrico em 1456 cm^{-1} . A diferença entre $\nu_{ass}(\text{COO}^-)$ e $\nu_s(\text{COO}^-)$, 134
960 cm^{-1} , é indicativa da coordenação do carboxilato como um ligante quelante [79]. As
961 informações apresentadas acima permitem inferir que o ligante ssz está coordenado ao
962 íon metálico rutênio (II) de modo bidentado, através dos oxigênios do carboxilato
963 (Figuras 4.13 e 4.14).



964
965
966

Figura 4.13 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (*cis*-[RuCl₂(bpy)₂] \cdot 2H₂O, ligante ssz e complexo **9**.



967
968
969

Figura 4.14 Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor (*cis*-[RuCl₂(phen)₂] \cdot 2H₂O), ligante ssz e complexo **10**.

970 É necessário considerar também os estiramentos referentes ao ligantes bpy e
 971 phen. Ao comparar os espectros dos complexos **9** e **10** e dos ligantes livres bpy e phen,
 972 observou-se ainda o deslocamento das bandas características dos modos vibracionais de
 973 estiramento $\nu(\text{C}=\text{C})$, $\nu(\text{C}=\text{N})$ e deformação angular $\nu\text{C-H}$, νCCN , νCCC para regiões de
 974 maior comprimento de onda, indicando a coordenação ao centro metálico (Tabela 4.4).

975 A presença do grupo PF_6^- na constituição do complexo é indicada pelos modos
 976 de estiramento $\nu_3 (F_{1u})$ e $\nu_4 (F_{1u})$, conforme destacado na Tabela 4.4.

977 **Tabela 4.4** Modos vibracionais de estiramento $\nu(\text{C}=\text{C})$, $\nu(\text{C}=\text{N})$, $\nu_3 (F_{1u})$, $\nu_4 (F_{1u})$ e
 978 deformação angular fora do plano $\nu\text{C-H}$, νCCN , νCCC que aparecem região do
 979 infravermelho dos complexos **9** e **10** e dos ligantes bpy e phen.

	$\nu\text{C}=\text{N}$ e $\nu\text{C}=\text{C}$	$\nu\text{C-H}$	νCCN	Nccc	$\nu_3 (F_{1u})$	$\nu_4 (F_{1u})$
bpy	1578-1414	756	652	618	-	-
complexo 9	1528-1424	766	730	676	844	582
phen	1588-1420	850	732	624	-	-
complexo 10	1528-1426	722	720	670	842	558

980

981 4.1.3 Espectroscopia de eletrônica no ultravioleta visível (UV-Vis)

982 As transições envolvendo sistemas conjugados são atribuídas às transições $\pi-\pi^*$
 983 dos anéis heteroaromáticos. As bandas entre 245 e 280 nm correspondem às transições
 984 $\pi-\pi^*$ dos ligantes bpy, phen e as sulfas (smp, smz, spd e smx) e possuem altos
 985 coeficientes de absorvidade molar por serem completamente permitidas pelas regras de
 986 seleção (Laporte e spin). Os ligantes ssz e spd apresentam, respectivamente, uma banda
 987 em 359 nm e 312 nm atribuídas as transições $n \rightarrow \pi^*$. As bandas dos ligantes bpy, phen
 988 e as sulfas estão listadas na Tabela 4.5.

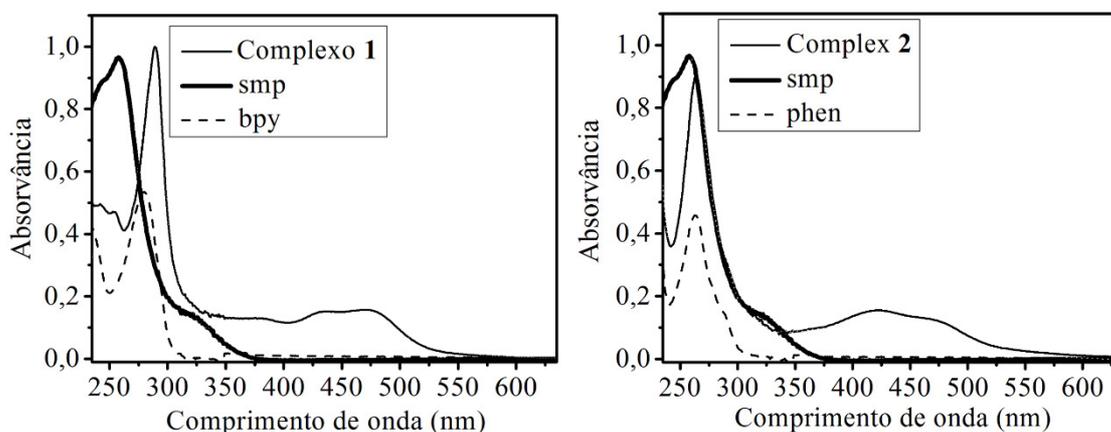
989 **Tabela 4.5** Principais bandas ($\lambda_{\text{máx}}$ absorção) observadas nos espectros eletrônicos dos
 990 ligantes bpy, phen e sulfas.

Composto	Comprimento de onda (nm)
bpy	280
phen	264
smp	257
smz	260
Spd	245-312
Smx	255
Ssz	359

991

992 Estas absorções sofrem alterações nos espectros dos complexos de **1** a **10** devido
 993 à coordenação ao íon metálico. As bandas das $\alpha-\alpha$ diiminas e das sulfas sofreram
 994 deslocamento batocrômico nos complexos **1** a **10**.

995 Complexos metálicos coordenados a ligantes insaturados, apresentam,
996 geralmente bandas na região do visível, atribuídas transferência de carga, transições de
997 campo ligante e transições internas do ligante [112]. Os espectros de absorção na região
998 UV-vis dos complexos de **1** a **10** com seus respectivos ligantes estão representados nas
999 Figuras 4.15 a 4.19. Foram observadas bandas na região de 420 a 495 nm nos
1000 complexos de **1** a **10** devidas às transições de transferência de carga do metal para o
1001 ligante (TCML, $d-\pi^*$). A presença de duas bandas de TCML nos complexos de **1** a **8**
1002 deve-se às transições envolvendo os dois ligantes, uma $\alpha-\alpha$ diimina e uma sulfa. A
1003 segunda banda surge pela coordenação do Ru(II) ao nitrogênio sulfonamídico. Nos
1004 espectros dos complexos **9** e **10** aparece apenas uma banda de TCML, o que está de
1005 acordo com a coordenação através do grupo carboxilato.
1006



1007

1008 **Figura 4.15** Espectro eletrônico de soluções $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em tampão Hepes pH
1009 7,2 dos ligantes bpy, phen e smp e os complexos **1** e **2**.

1010

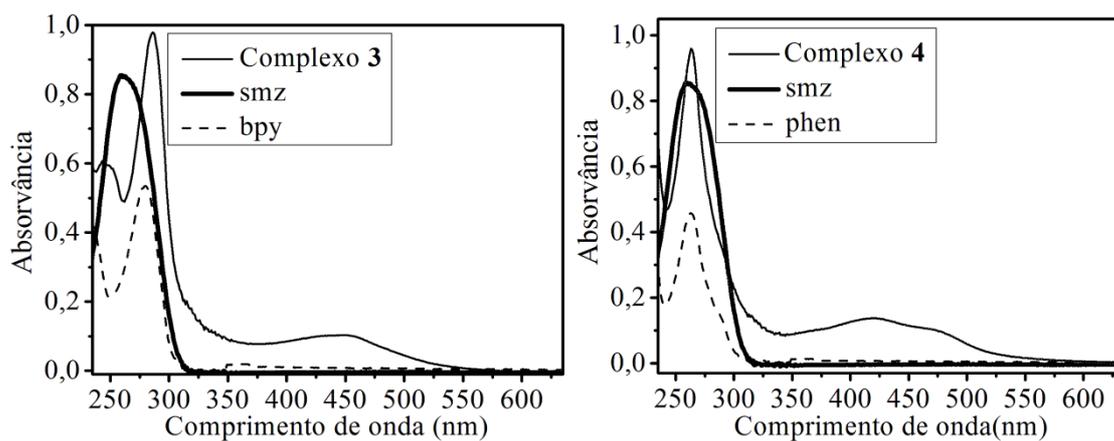


Figura 4.16 Espectro eletrônico de soluções $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em tampão Hepes pH 7,2 dos ligantes bpy, phen e smz e os complexos **3** e **4**.

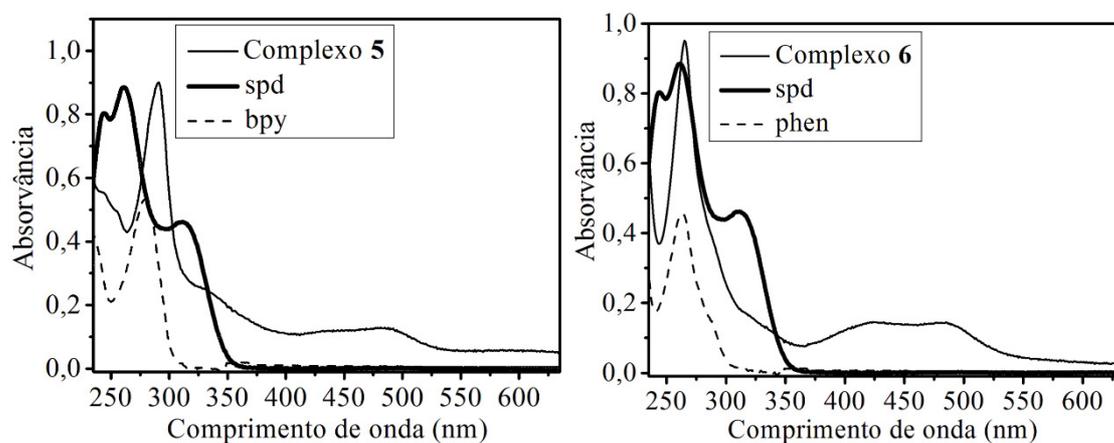


Figura 4.17 Espectro eletrônico de soluções $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em tampão Hepes pH 7,2 dos ligantes bpy, phen e spd e os complexos **5** e **6**.

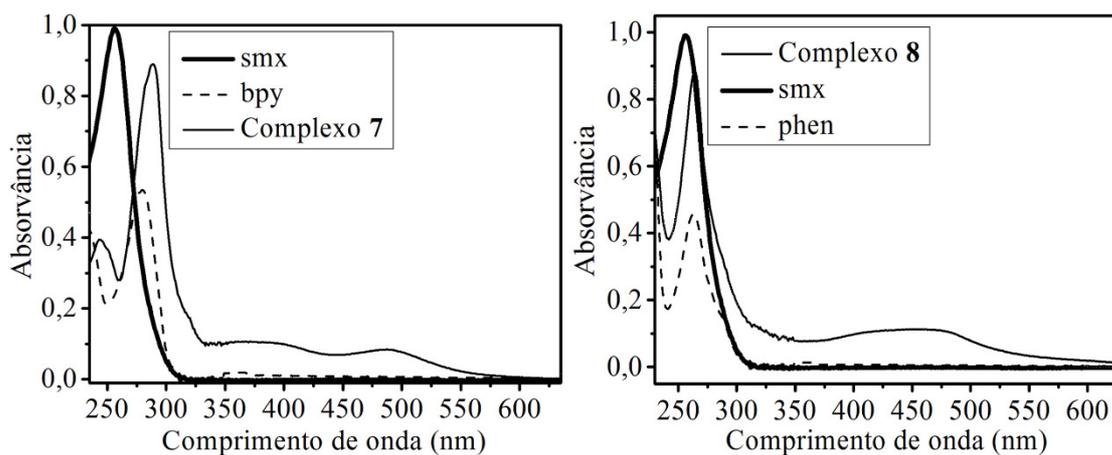


Figura 4.18 Espectro eletrônico de soluções $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Hepes pH 7,2 dos ligantes bpy, phen e smx e os complexos 7 e 8.

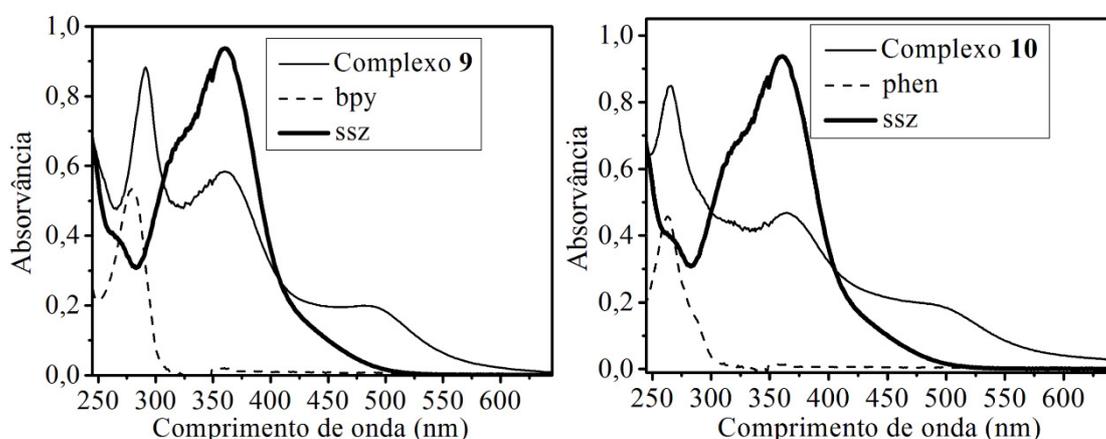


Figura 4.19 Espectro eletrônico de soluções $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão Hepes pH 7,2 dos ligantes bpy, phen e ssz e os complexos 9 e 10.

1011 Em geral, complexos de rutênio com ligantes N-N heterocíclicos apresentam
 1012 banda intensa típica de TCML centrada em cerca de 455 nm [113, 114]. Knoll e Turro
 1013 ressaltam que os complexos $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ e $[\text{Ru}(\text{phen})_3]^{2+}$ absorvem entre 400 e 500
 1014 devido a transições TCML ($\text{Ru} \rightarrow \text{bpy}$ ou $\text{Ru} \rightarrow \text{phen}$) [115]. O complexo
 1015 $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{dppz}]^{2+}$ exibe uma banda centrada em 450 nm que é devido a duas transições
 1016 TCML, uma de $\text{Ru} \rightarrow \text{bpy}$ e outra $\text{Ru} \rightarrow \text{dppz}$ [113]. Nos complexos $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{dppn}]^{2+}$,
 1017 $[\text{Ru}(\text{bpy})(\text{CH}_3\text{CN})_2\text{dppn}]^{2+}$ e $[\text{Ru}(\text{bpy})(\text{CH}_3\text{CN})_2]^{2+}$ as bandas típicas de TCML estão
 1018 centradas respectivamente em 444 nm, 430 nm e 425 nm [116]. Os valores obtidos para
 1019 as bandas de absorção dos complexos de 1 a 10 foram concordantes com os valores
 1020 reportados para complexos de rutênio. Os valores de $\lambda_{\text{máx}}$ dos complexos de 1 a 10
 1021 (destacados nas Figuras 4.20 a 4.24) mostraram que a substituição dos cloretos por
 1022 sulfonamidas resultaram no deslocamento da banda TCML, visto que os precursores
 1023 (*cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ou *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{phen})_2]$) apresentam bandas decorrentes de

1024 transição $d \rightarrow \pi^*$ centradas respectivamente em 556 e 552 nm. Como os cloretos são
1025 ligantes de campo mais fraco do que as sulfonamidas, o deslocamento das bandas para
1026 região de maior energia evidencia a troca dos ligantes.

1027 A estabilidade dos complexos em solução aquosa foi estudada por
1028 espectrofotometria na região UV-Vis. Espectros eletrônicos dos complexos **1** a **10**
1029 (Figuras 4.20 a 4.24), ao longo do tempo de 1, 5 e 24 horas, não exibem mudanças
1030 significativas, evidenciando a estabilidade dos complexos **1** a **10** em solução aquosa.

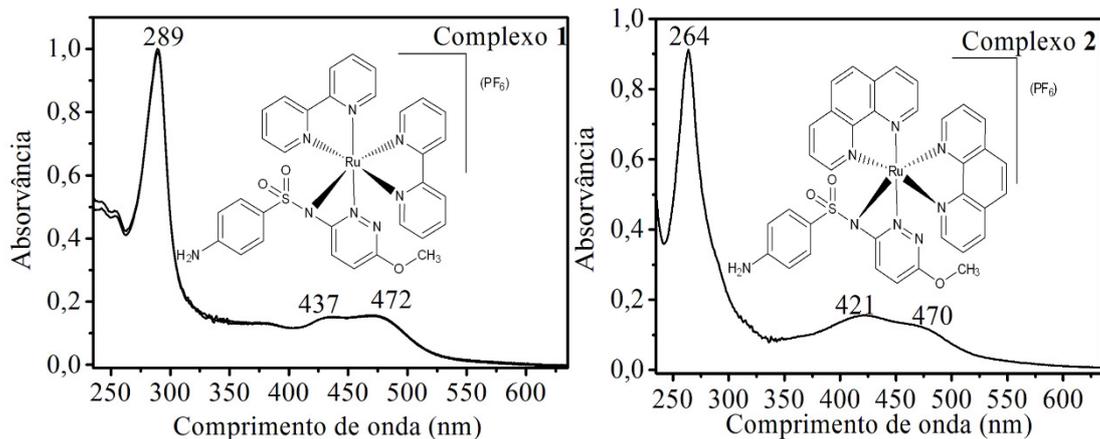


Figura 4.20 Espectro eletrônico de soluções $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ dos complexos **1** e **2** em tampão Hepes pH 7,2 com variação de tempo em 1, 5 e 24 horas.

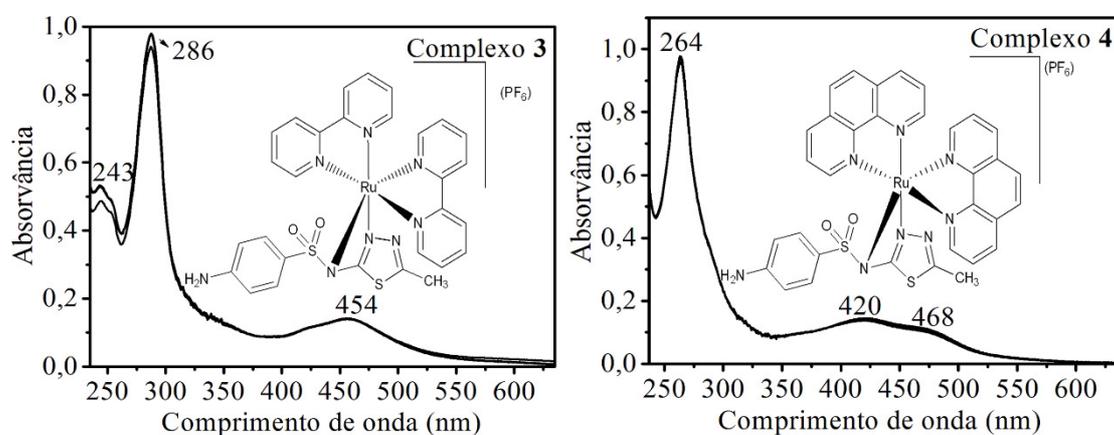


Figura 4.21 Espectro eletrônico de soluções $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ dos complexos **3** e **4** em tampão Hepes pH 7,2 com variação de tempo em 1, 5 e 24 horas.

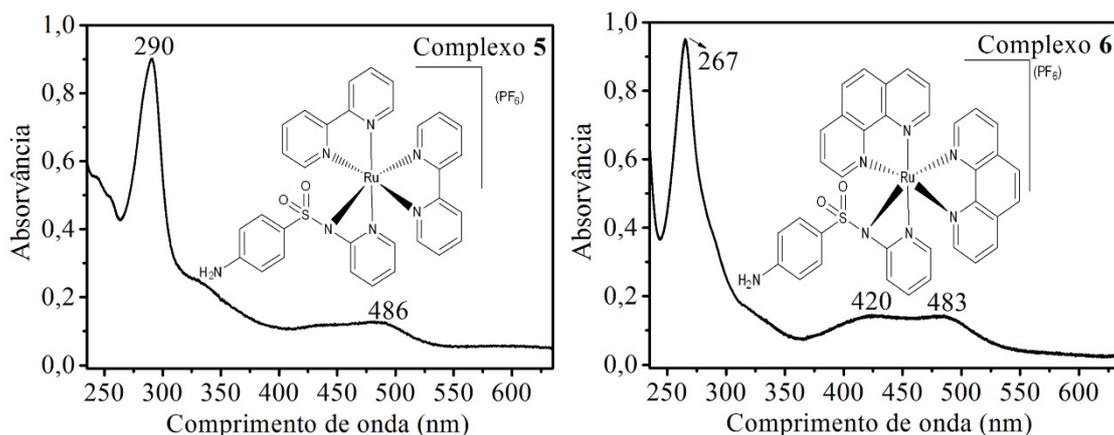


Figura 4.22 Espectro eletrônico de soluções $3,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ dos complexos **5** e **6** em tampão Hepes pH 7,2 com variação de tempo em 1, 5 e 24 horas.

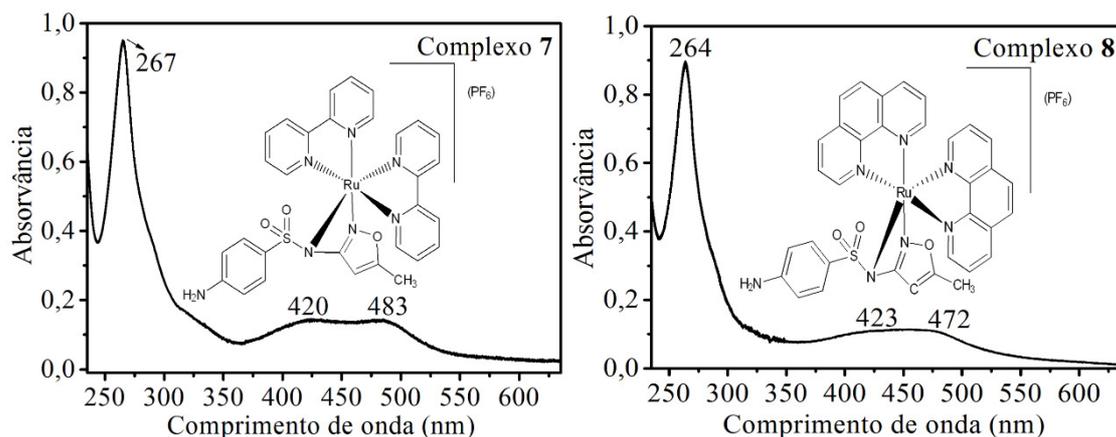


Figura 4.23 Espectro eletrônico de soluções $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ dos complexos **7** e **8** em tampão Heps pH 7,2 com variação de tempo em 1, 5 e 24 horas.

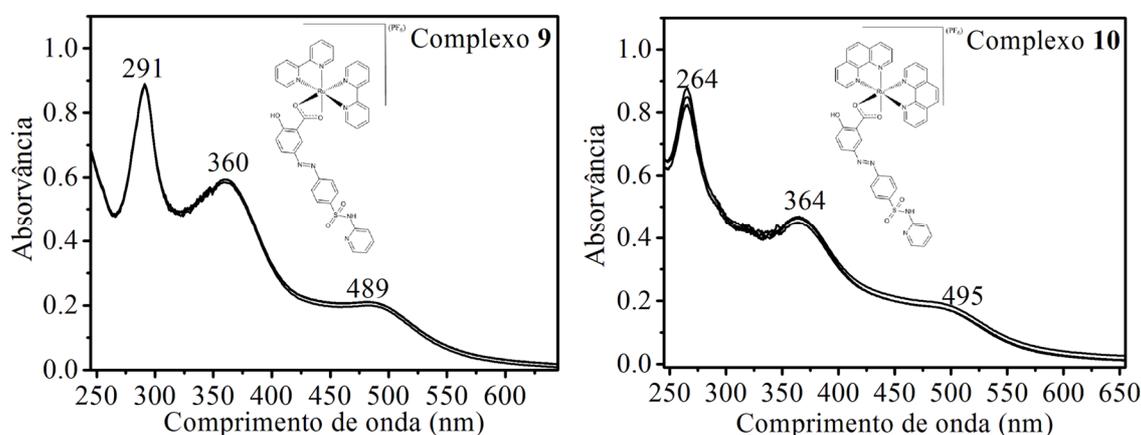


Figura 4.24 Espectro eletrônico de soluções $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ dos complexos **9** e **10** em tampão Heps pH 7,2 com variação de tempo em 1, 5 e 24 horas.

1031 **4.1.4 Espectroscopia de fluorescência**

1032 Nas Figuras 4.25 a 4.29 são apresentados os espectros de emissão de
 1033 fluorescência dos complexos **1** a **10**, quando excitados no comprimento de onda
 1034 referente à TCML em temperatura ambiente.

1035 Entre os compostos heterocíclicos contendo a estrutura α - α diimina ($-\text{N}=\text{C}=\text{C}=\text{N}$)
 1036 foi possível identificar que a intensidade da banda de emissão de fluorescência é maior
 1037 nos complexos que apresentam phen. Essa diferença pode ser atribuída a maior rigidez
 1038 destas estruturas quando comparados aos complexos que apresentam bpy.

1039

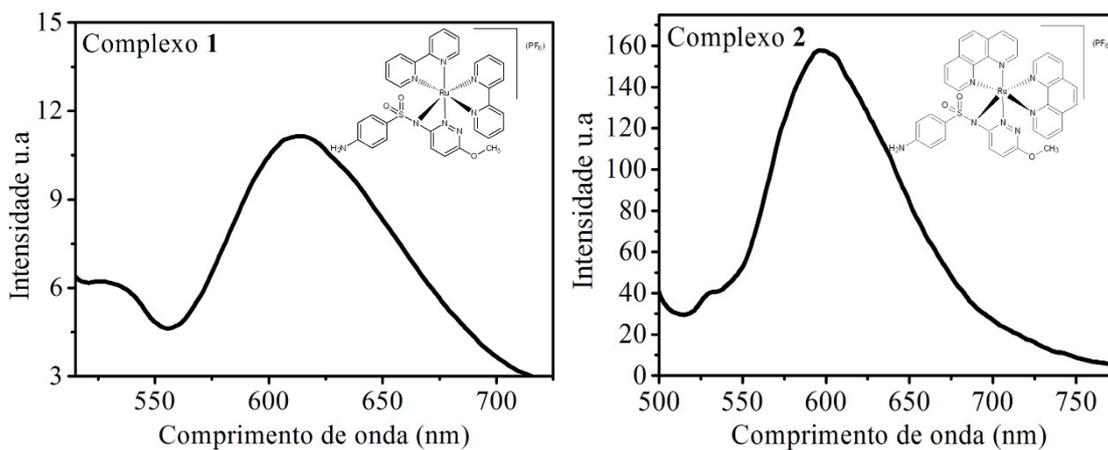


Figura 4.25 Espectro de fluorescência dos complexos **1** ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, $\lambda_{\text{excitação}} = 470$ nm) **2** ($5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, $\lambda_{\text{excitação}} = 472$ nm), em tampão hepes pH 7,2 a temperatura ambiente.

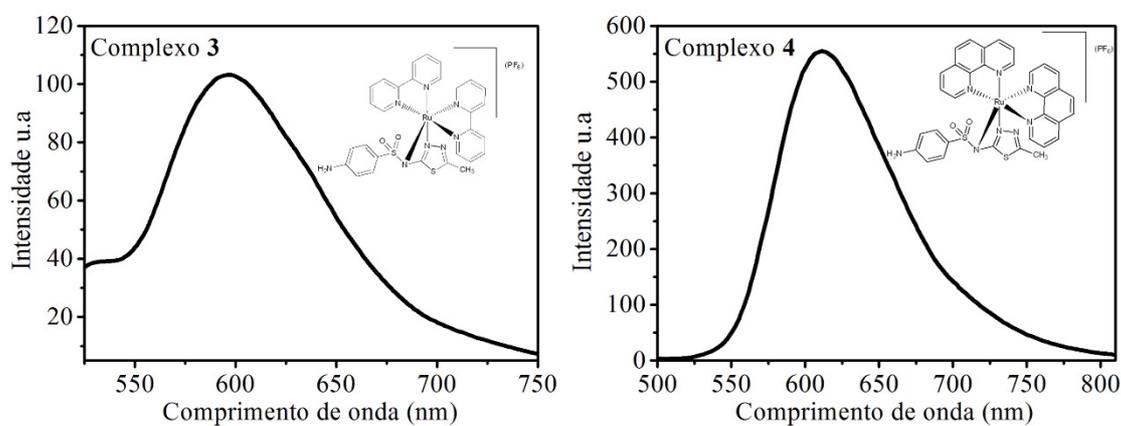


Figura 4.26 Espectro de fluorescência dos complexos **3** ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, $\lambda_{\text{excitação}} = 454$ nm) **4** ($5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, $\lambda_{\text{excitação}} = 468$ nm), em tampão hepes pH 7,2.

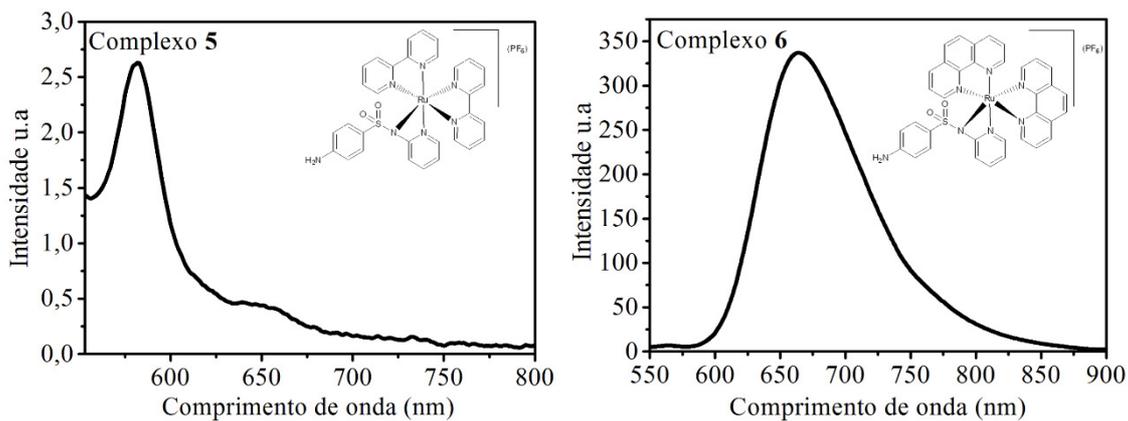


Figura 4.27 Espectro de fluorescência dos complexos **5** ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, $\lambda_{\text{excitação}} = 488$ nm) **6** ($5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, $\lambda_{\text{excitação}} = 486$ nm), em tampão hepes pH 7,2 a temperatura ambiente.

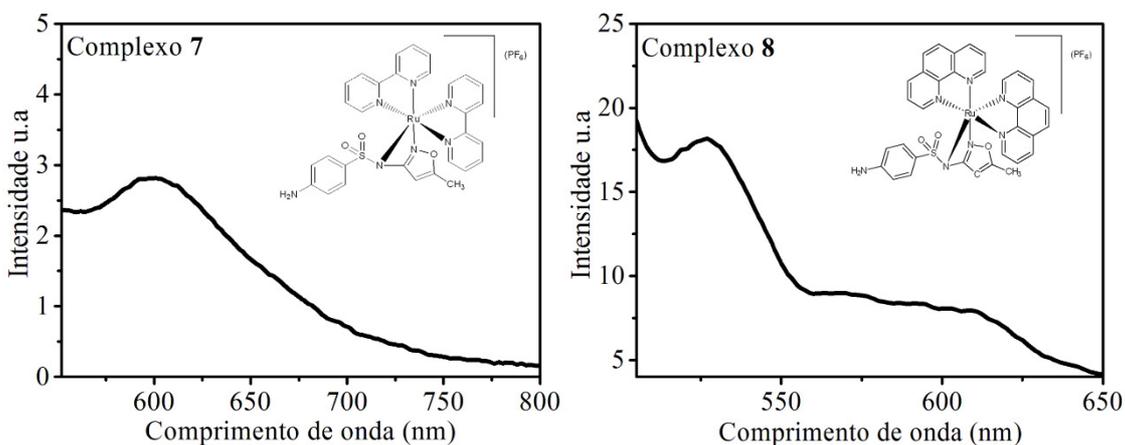


Figura 4.28 Espectro de fluorescência dos complexos **7** ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, $\lambda_{\text{excitação}} = 468$ nm) **8** ($5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, $\lambda_{\text{excitação}} = 473$ nm), em tampão hepes pH 7,2 a temperatura ambiente.

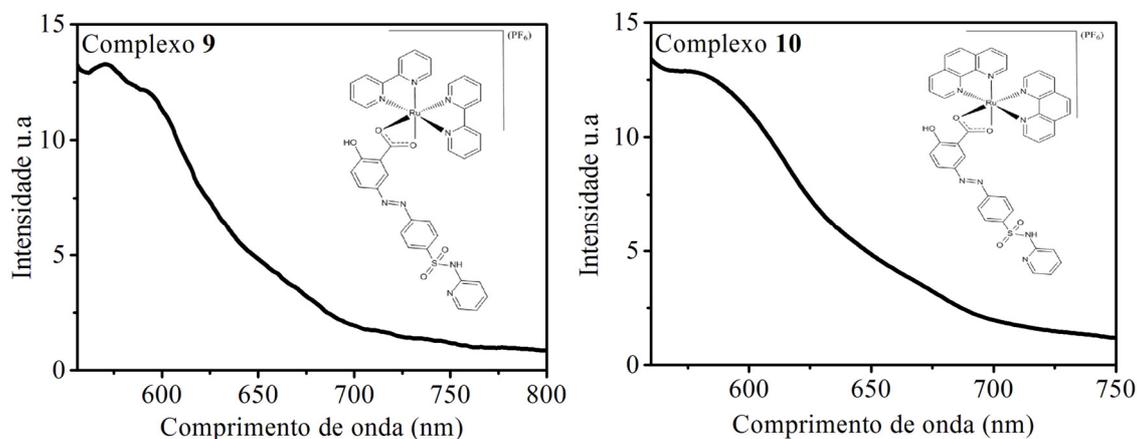


Figura 4.29 Espectro de fluorescência dos complexos **9** ($1,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹, $\lambda_{\text{excitação}} =$

489 nm) **10** ($5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹, $\lambda_{\text{excitação}} = 495$ nm), em tampão hepes pH 7,2 a temperatura ambiente.

1041 4.1.5 Espectrometria de massas

1042 Os valores de m/z experimentais e calculados, e os resultados associados aos
 1043 complexos **1** a **10** encontram-se resumidos na Tabela 4.6. Os estudos de ESI-MS
 1044 confirmaram as fórmulas propostas para os complexos **1** a **10** e a presença dos mesmos
 1045 em solução acetonitrila:acetona (1:1).

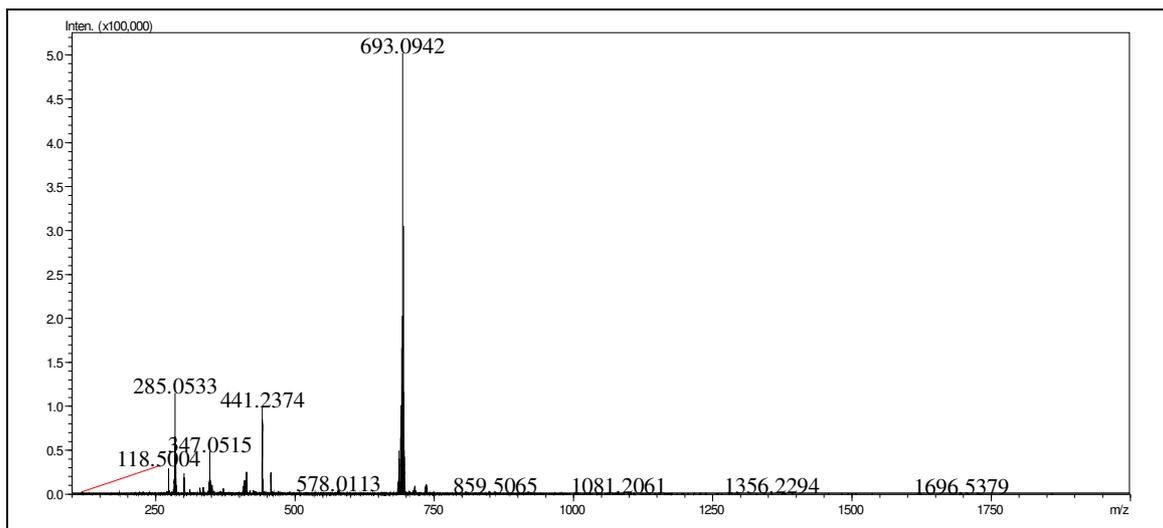
1046 **Tabela 4.6** Valores de m/z (experimental e calculado) para os complexos de rutênio
 1047 (II).

Complexo	Espécie	Calculado m/z	Experimental m/z	Calculado m/z (Pico iônico)	Experimental m/z (Pico iônico)
1	[Ru(C ₁₀ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₁ H ₁₁ N ₄ O ₃ S)] ⁺¹	693,0978	693,0941	347,5562	347,0487
2	[Ru(C ₁₂ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₁ H ₁₁ N ₄ O ₃ S)] ⁺¹	741,0979	741,0929	371,5562	371,0443
3	[Ru(C ₁₀ H ₈ N ₂) ₂ (C ₉ H ₉ N ₄ O ₂ S ₂)] ⁺¹	683,0586	683,1196	342,5369	342,0382
4	[Ru(C ₁₂ H ₈ N ₂) ₂ (C ₉ H ₉ N ₄ O ₂ S ₂)] ⁺¹	731,0587	731,0790	-	-
5	[Ru(C ₁₀ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₁ H ₁₀ N ₃ O ₂ S)] ⁺¹	662,0914	662,0890	-	-
6	[Ru(C ₁₂ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₁ H ₁₀ N ₃ O ₂ S)] ⁺¹	710,0915	710,1301	-	-
7	[Ru(C ₁₀ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₀ H ₁₀ N ₃ O ₃ S)] ⁺¹	666,0863	666,1758	333,0432	333,5462
8	[Ru(C ₁₂ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₀ H ₁₀ N ₃ O ₃ S)] ⁺¹	714,0864	713,9898	357,0432	357,5376
9	[Ru(C ₁₀ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₈ H ₁₃ N ₄ O ₅ S)] ⁺¹	811,1029	811,1012	-	-
10	[Ru(C ₁₂ H ₈ N ₂) ₂ (C ₁₈ H ₁₃ N ₄ O ₅ S)] ⁺¹	859,1030	859,1024	-	-

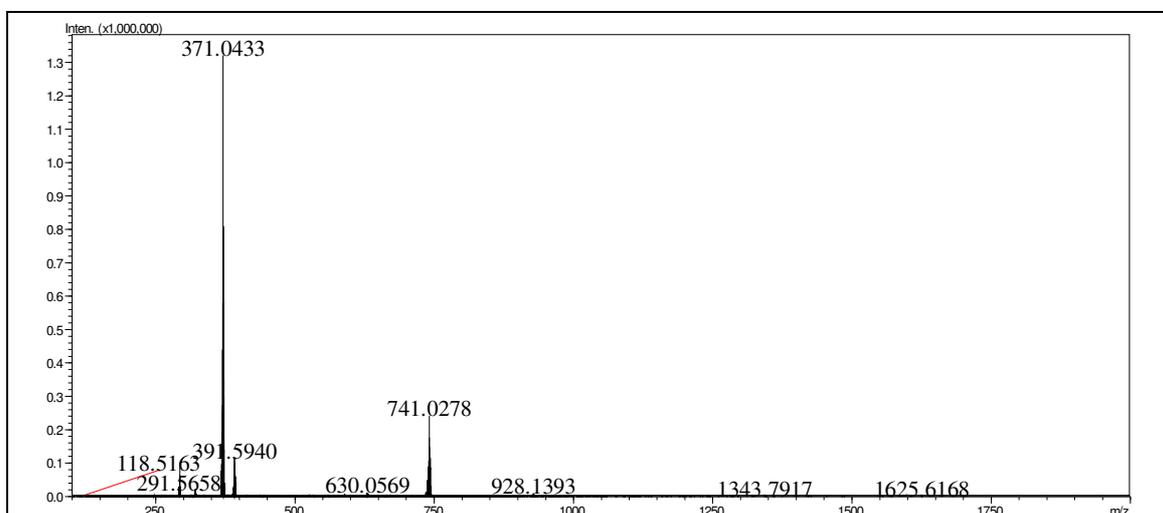
1048

1049 Os espectros de massas ESI-MS experimentais dos complexos **1** e **2** estão
 1050 representados nas Figuras 4.30 e 4.31. O espectro de massas ESI-MS experimental do
 1051 complexo **1** exibe um pico principal em m/z 693,0941, este é atribuído à espécie
 1052 [Ru(C₁₀H₈N₂)₂(C₁₁H₁₁N₄O₃S)]⁺¹, cujo valor calculado corresponde a 693,0978. Por sua
 1053 vez, o espectro de massas ESI-MS experimental do complexo **2** apresenta o pico em m/z
 1054 741,0929, este é atribuído a espécie [Ru(C₁₂H₈N₂)₂(C₁₁H₁₁N₄O₃S)]⁺¹, cujo valor
 1055 calculado corresponde a 741,0979.

1056



1057 **Figura 4.30** Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo **1**.



1058 **Figura 4.31** Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo **2**.

1059

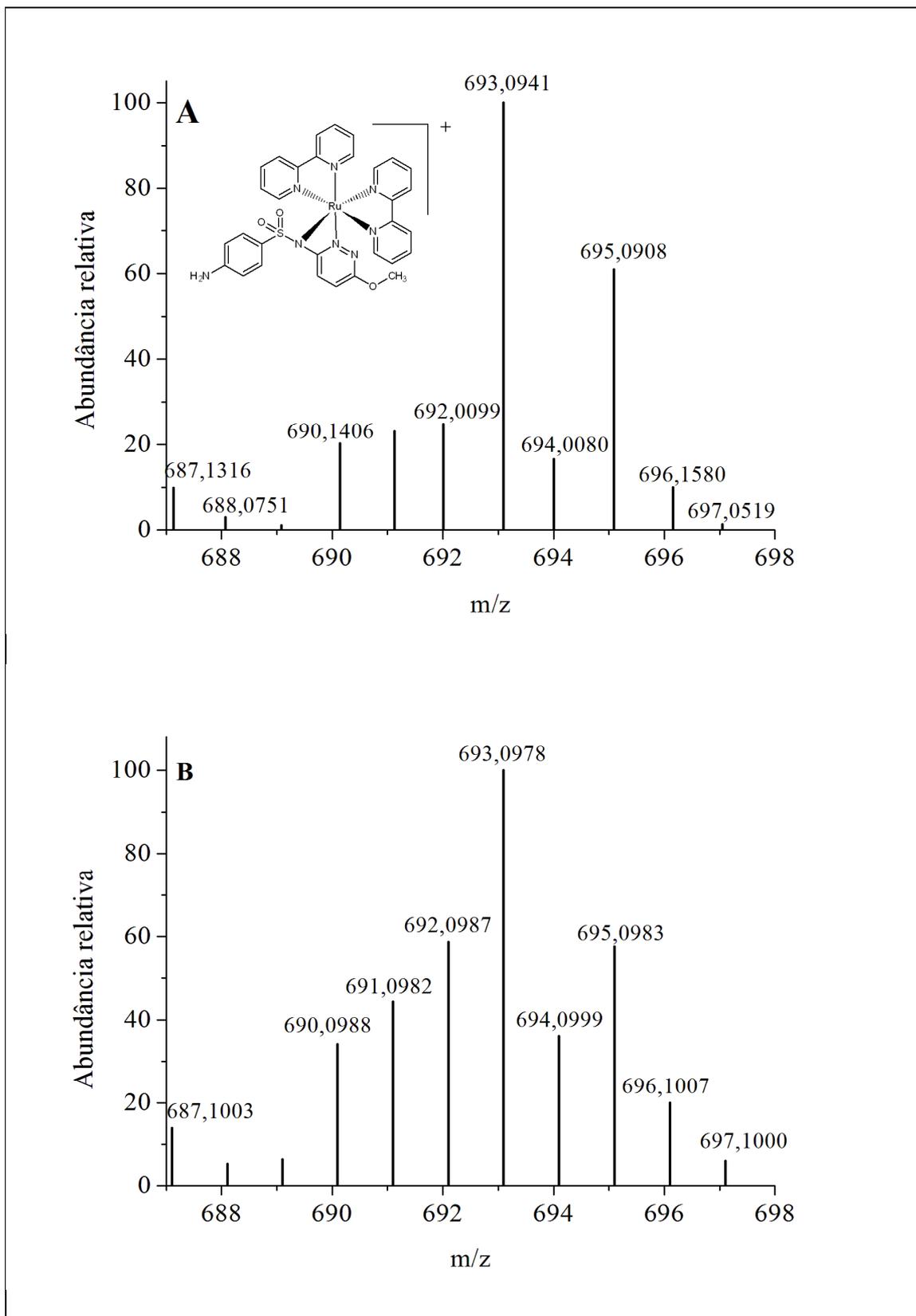
1060 Nas Figuras 4.32 e 4.33 são mostradas respectivamente as distribuições
 1061 isotópicas experimental e simulada para as espécies $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_3\text{S})]^{+1}$ e
 1062 $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_3\text{S})]^{+1}$. O comparativo destas distribuições mostrou
 1063 concordância entre o valor teórico e experimental.

1064

1065

1066

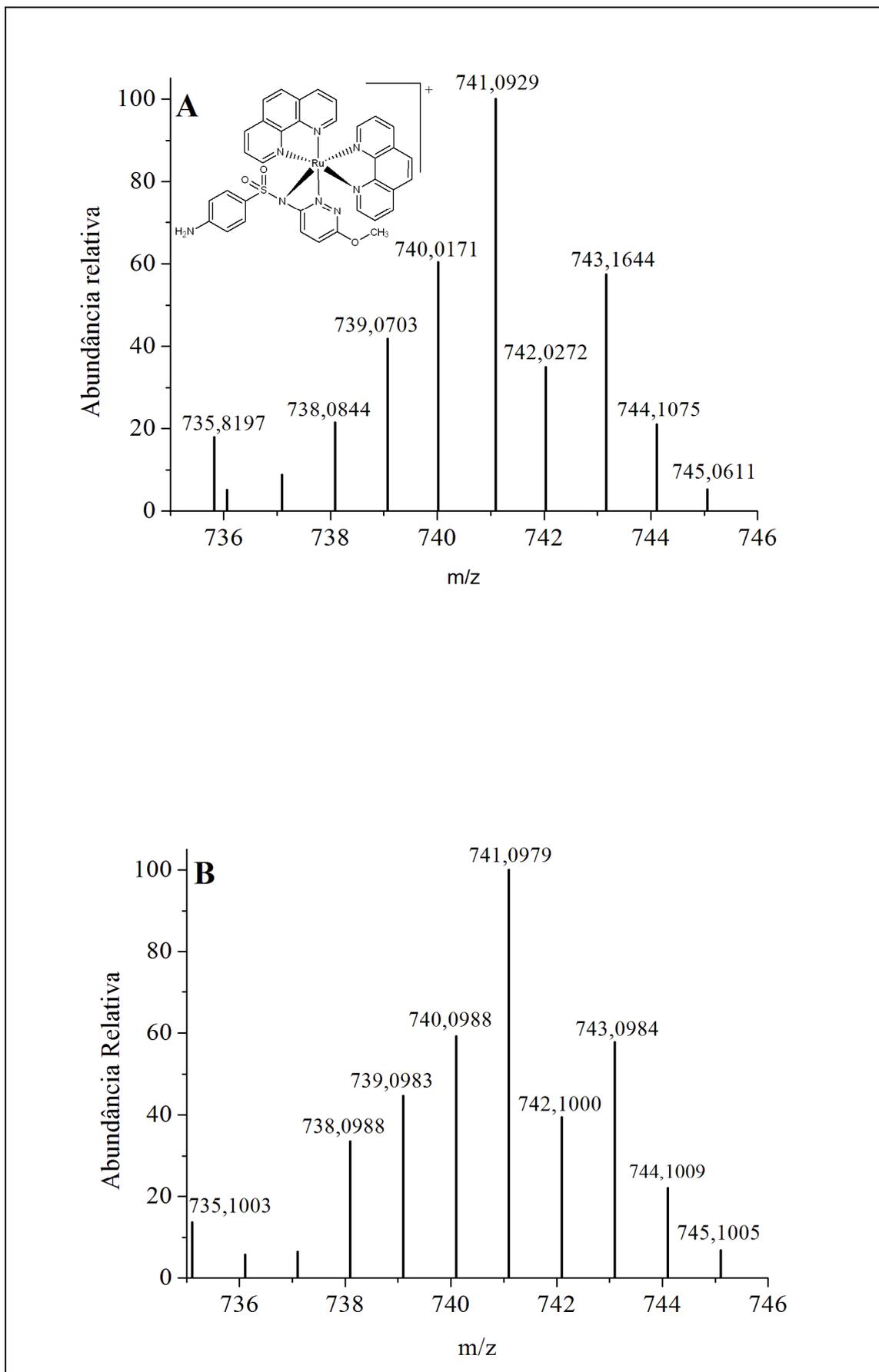
1067



1068 **Figura 4.32** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
 1069 $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_3\text{S})]^+$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).

1070

1071



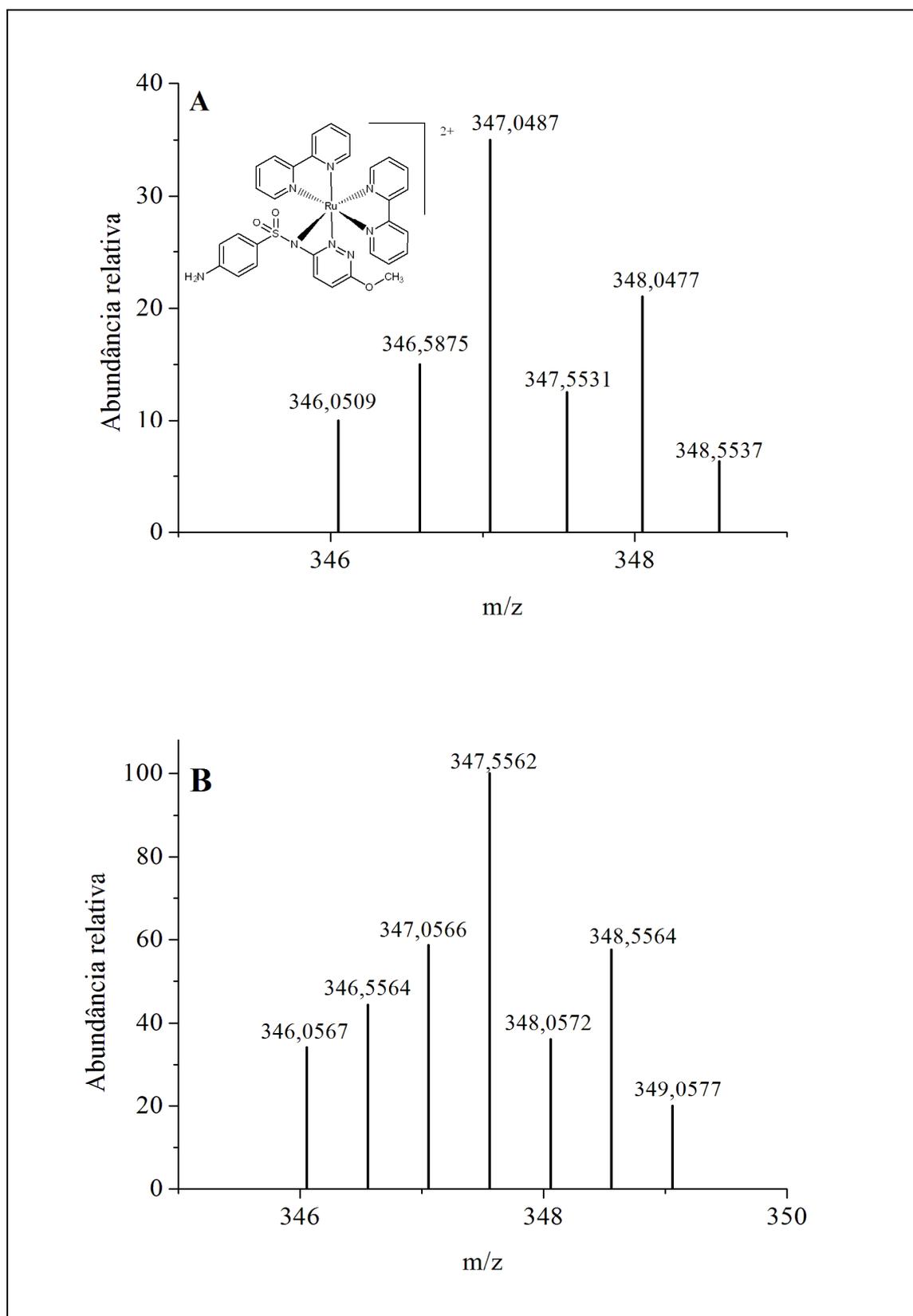
1072 **Figura 4.33** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
 1073 $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_3\text{S})]^+$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).

1074 Além do pico base foi observado o pico iônico nos espectros de massas ESI-MS
1075 experimentais dos complexos **1** e **2**. O pico iônico com $m/z = 347,0487$ corresponde a
1076 espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_3\text{S})]^{+2}$ (MM=347,5562; complexo **1**), esse pico possui
1077 abundância relativa inferior a 35%. No entanto, para o complexo **2**, o pico iônico com
1078 $m/z = 371,0443$ corresponde a espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_3\text{S})]^{+2}$
1079 (MM=371,5562). Nas Figuras 4.34 e 4.35 estão representadas a distribuições isotópicas
1080 experimentais e calculadas para os picos iônicos $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_3\text{S})]^{+2}$ e
1081 $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_3\text{S})]^{+2}$. As distribuições isotópicas experimentais destes picos
1082 iônicos estão em concordância com as distribuições isotópicas calculadas.

1083 Uma diferença entre os pares de complexos com a smp diz respeito à
1084 predominância das espécies monovalente e bivalente. Os valores de abundância relativa
1085 indicam que o complexo **1** está disponível em maior quantidade em solução de
1086 acetonitrila:acetona (1:1) na forma monovalente, enquanto que o complexo **2** predomina
1087 na forma bivalente.

1088 Essas diferenças podem ser provenientes do processo de ionização por
1089 eletrospray. As cargas dos íons gerados não refletem necessariamente o estado da carga
1090 da amostra em solução. A carga transferida para as moléculas dos complexos (em geral,
1091 na forma de próton) surge de uma combinação de concentração de carga gotículas
1092 durante a evaporação do aerossol e de processos eletroquímicos resultantes de
1093 potenciais eletrostáticos do tubo capilar. Assim, os íons da amostra podem ter uma
1094 carga única ou várias cargas [117]. Além disso, pode haver a necessidade de acidificar a
1095 amostra para favorecer a ligação dos analitos com a matriz polimérica do cartucho do
1096 espectrômetro de massas. Conseqüentemente isso pode levar ao aumento na
1097 disponibilidade de prótons em solução, contribuindo para formação da espécie bivalente
1098 [117].

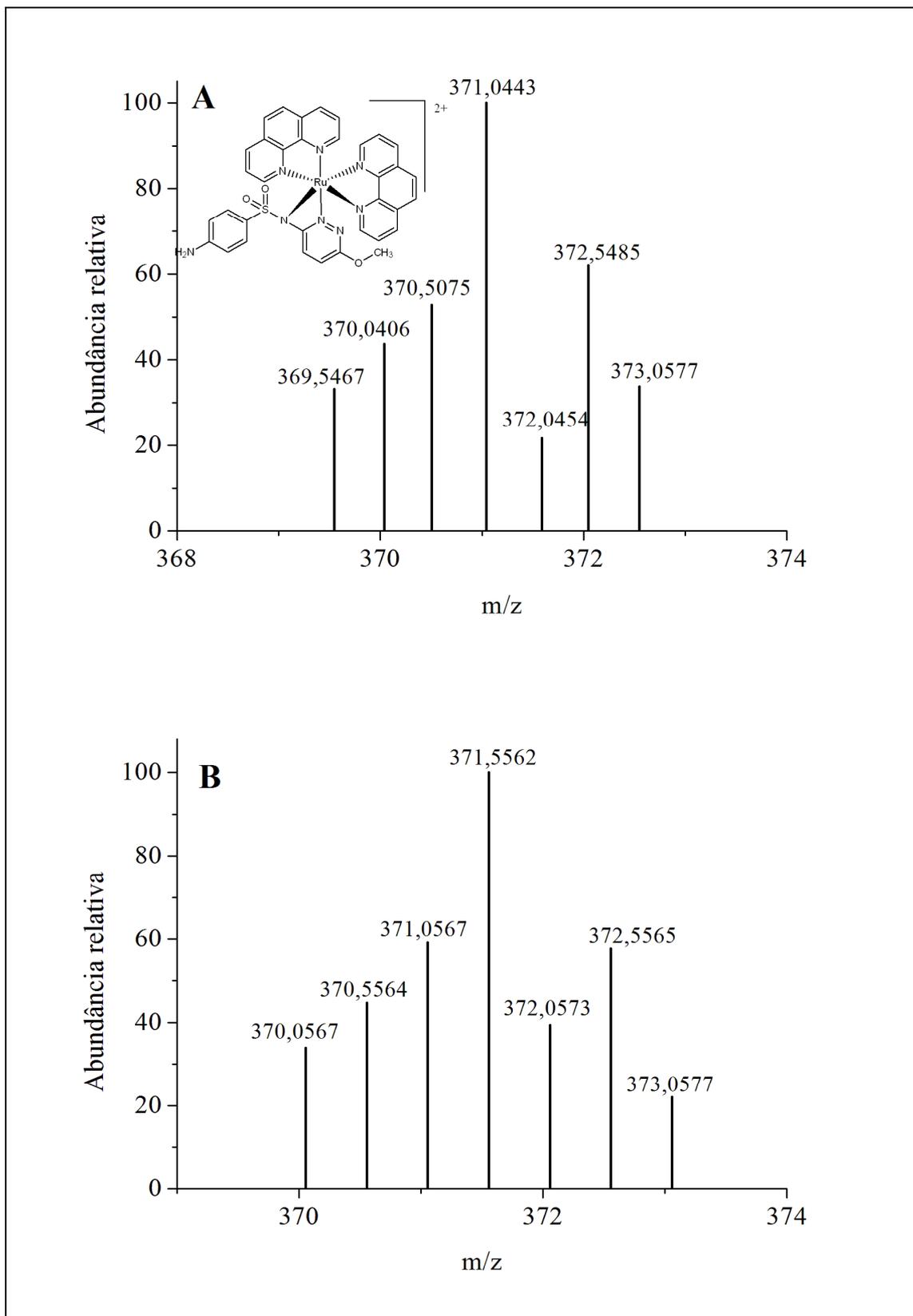
1099



1100 **Figura 4.34** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
 1101 $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_3\text{S})]^{+2}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).

1102

1103

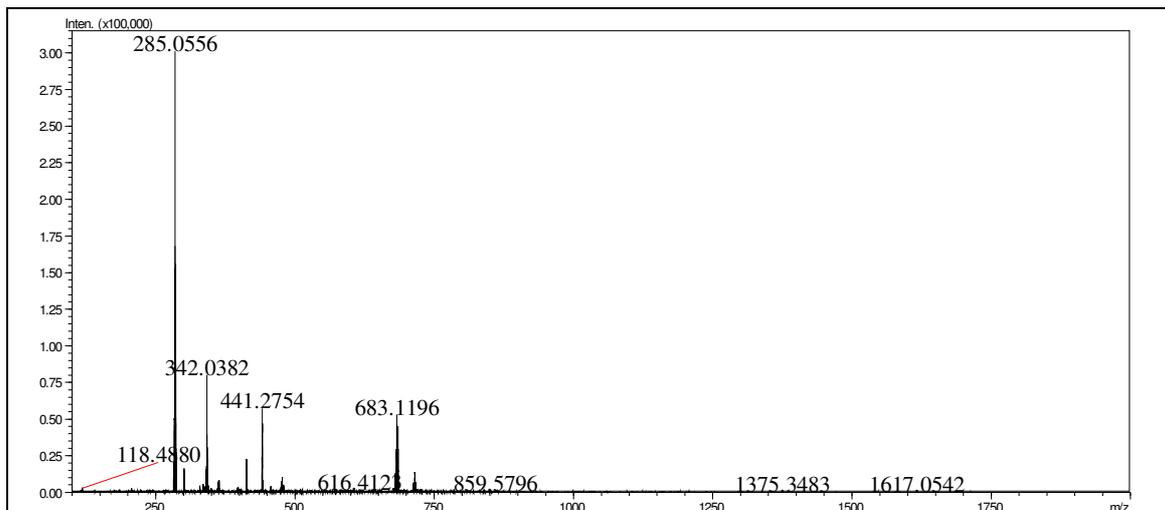


1104 **Figura 4.35** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
 1105 $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_3\text{S})]^{+2}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).

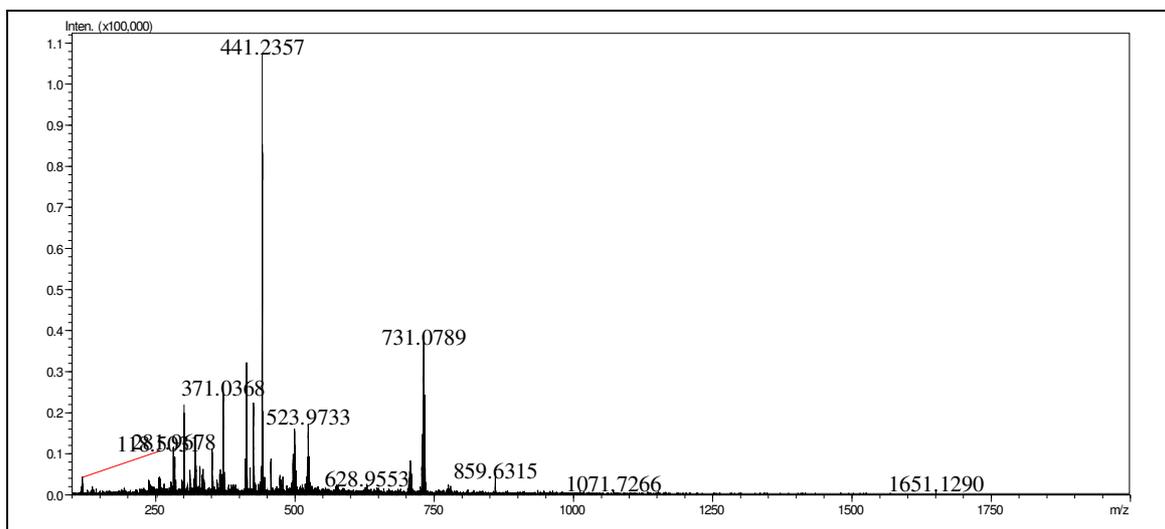
1106

1107

1108 As Figuras 4.36 e 4.37 exibem os espectros de massas ESI-MS experimentais
1109 dos complexos **3** e **4**.



1110 **Figura 4.36** Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo **3**.



1111 **Figura 4.37** Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo **4**.

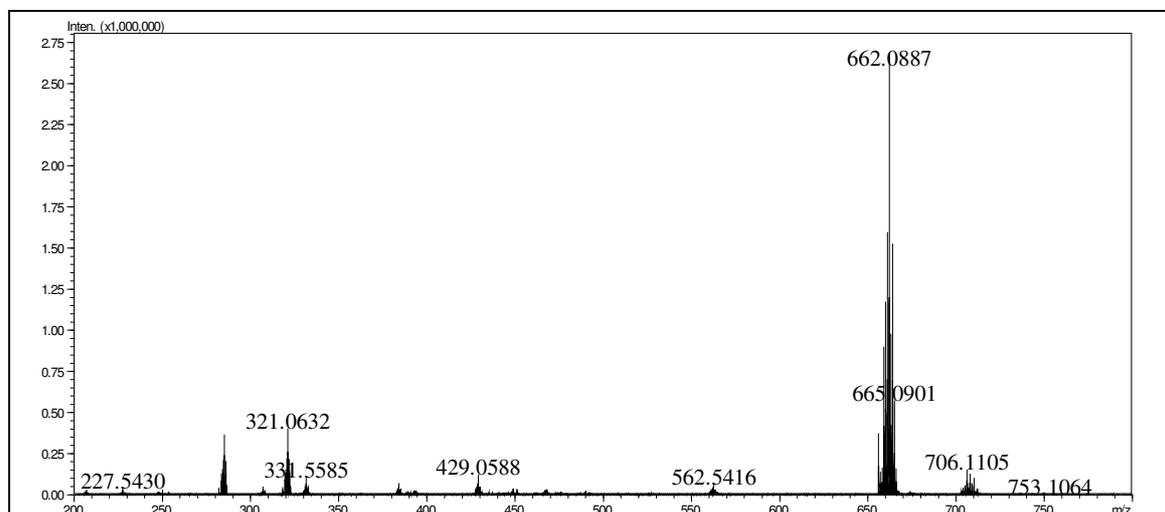
1112 No espectro do complexo **3** foi possível identificar um pico com $m/z=683,1196$
1113 atribuído à espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2)]^{+1}$, cujo valor calculado corresponde a
1114 $683,0586$. As similaridades, entre os valores teóricos e experimentais para esta espécie,
1115 estão representadas nos espectros de massas ESI-MS ampliados disponíveis na Figura
1116 S1 (Anexo 1, pág 133).

1117 Ainda neste espectro experimental foi possível identificar um pico
1118 $m/z=342,0382$ que é referente a espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2)]^{+2}$. A distribuição
1119 isotópica experimental deste pico iônico está em boa concordância com a distribuição
1120 isotópica calculada, conforme exposto nas Figuras S2 (Anexo 1, pág 134).

1121 O espectro de massas ESI-MS do complexo **4** apresentou particularidades ainda
1122 não identificadas nos complexos apresentados anteriormente. Além do pico principal
1123 em $m/z=731,0790$ foram destacados os picos em $m/z= 281,9678$ e $m/z= 371,1096$. Os
1124 dois últimos picos foram atribuídos as espécies $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)]^{+1}$ e $[\text{Ru}(\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2)]^{+1}$.

1125 O pico em $m/z 731,0790$ é atribuído a espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2)]^{+}$,
1126 cujo valor calculado corresponde a 731,0587. Na Figura S3 (Anexo 1, pág 134) estão
1127 representadas as distribuições isotópicas experimental e calculada deste pico. As
1128 distribuições isotópicas experimentais estão em concordância com a distribuições
1129 isotópicas calculadas.

1130 As Figuras 4.38 e 4.39 ilustram os espectros de massas ESI-MS experimentais
1131 dos complexos **5** e **6**.



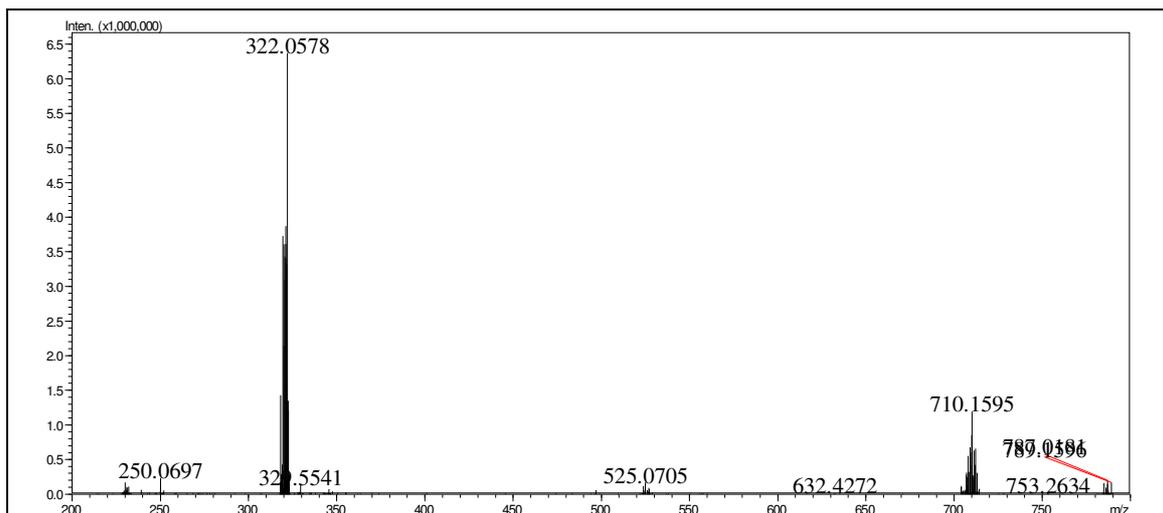
1132 **Figura 4.38** Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo **5**.

1133

1134

1135

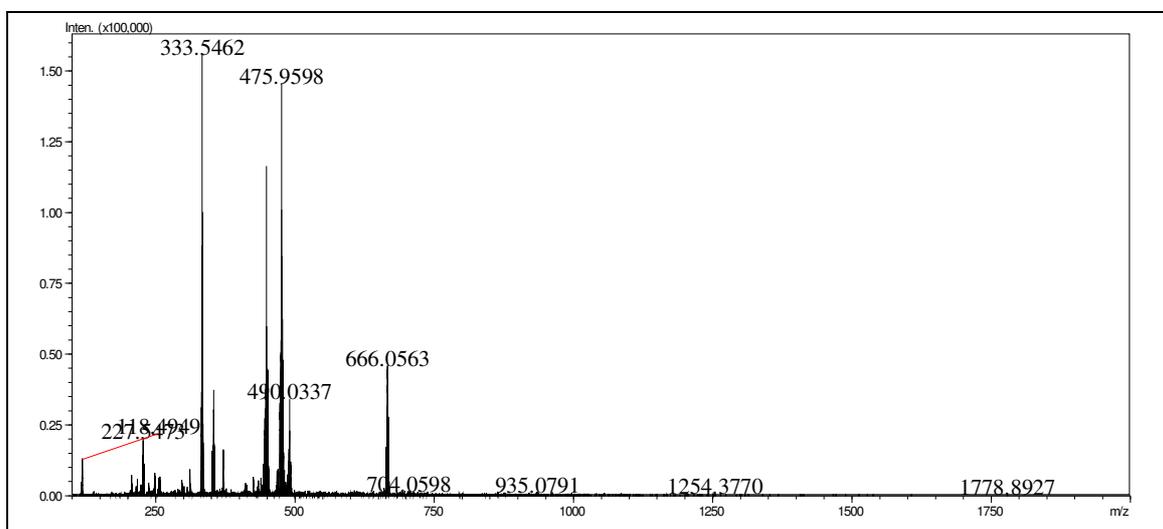
1136



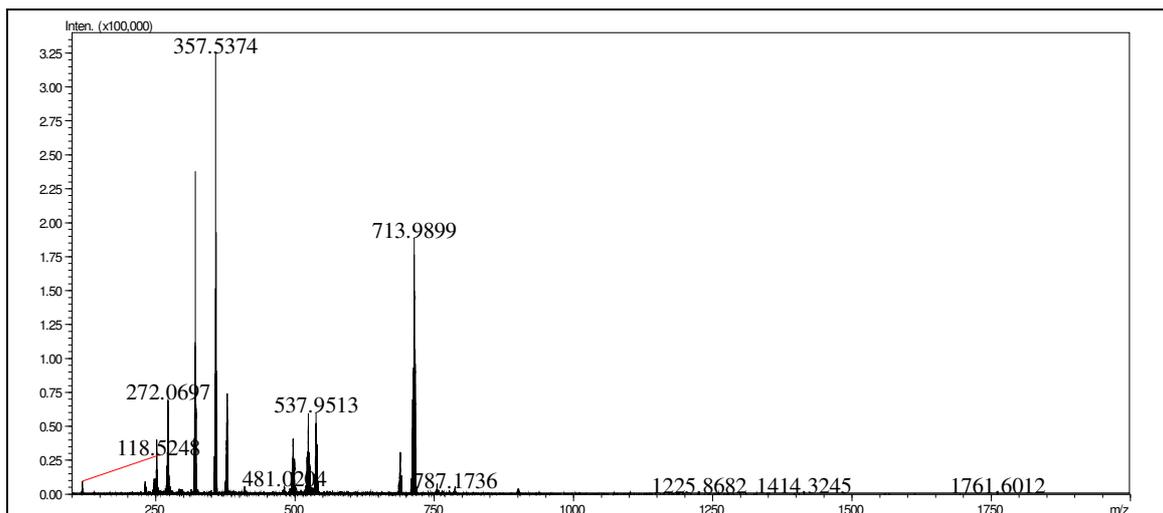
1137 **Figura 4.39** Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo **6**.

1138 No espectro do complexo **5** foi possível identificar um pico com $m/z=662,0890$
 1139 atribuído à espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2\text{S})]^+$, cujo valor calculado corresponde a
 1140 $662,0914$. Para o complexo **6** observou-se apenas o pico base em $m/z710,1301$, cujo
 1141 valor calculado corresponde a $710,0915$, este foi atribuído a espécie
 1142 $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_4\text{O}_3\text{S})]^+$. As similaridades, entre os valores teóricos e
 1143 experimentais para estas espécies, estão representadas nos espectros de massas ESI-MS
 1144 ampliados disponíveis nas Figuras S4 e S5 (Anexo 1, págs 136 e 137).

1145 Os espectros de massas ESI-MS experimentais dos complexos **7** e **8** (Figuras
 1146 4.40 e 4.41) mostram que há predomínio respectivamente das espécies
 1147 $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{S})]^{+2}$ e $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{S})]^{+2}$, isto pode ser
 1148 justificado pelos fatores mencionados anteriormente. As distribuições isotópicas
 1149 experimentais destes picos estão em concordância com a distribuições isotópicas
 1150 calculadas conforme ilustrado nas Figuras S6 e S7 (Anexo 1, págs 138 e 139).



1151 **Figura 4.40** Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo **7**.



1152 **Figura 4.41** Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo **8**.

1153

1154

1155 No entanto, apesar da menor abundância relativa identificou-se no espectro de
 1156 massas ESI-MS experimental do complexo **7** o pico em m/z 666,1758, atribuído a
 1157 espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{S})]^+$, cujo valor calculado corresponde a 666,0863.
 1158 Comparativamente, no espectro de massas ESI-MS experimental do complexo **8**, o pico
 1159 em m/z 713,9898 é atribuído a espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{S})]^+$, cujo valor
 1160 calculado corresponde a 714,0864. A distribuição isotópica experimental exibe grande
 1161 semelhança com a distribuição isotópica calculada conforme apresentado nas Figuras S8
 1162 $\{[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{S})]^+\}$ e S9 (Anexo 1, pág 141)
 1163 $\{[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{S})]^+\}$.

1163

1164

1165

1166

1167

1168

1169

1170

1171

Ainda no que concerne o espectro de massas do complexo **7**, há um pico em m/z
 448,9704 atribuído a espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2\text{Cl}]^+$, cujo valor calculado corresponde a
 448,0825. A abundância relativa para este pico é de 75%, porém, esse percentual não
 indica a predominância desta espécie em solução de acetonitrila:acetona (1:1), visto que
 a espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{S})]^{+2}$ apresenta abundância relativa superior a
 98%.

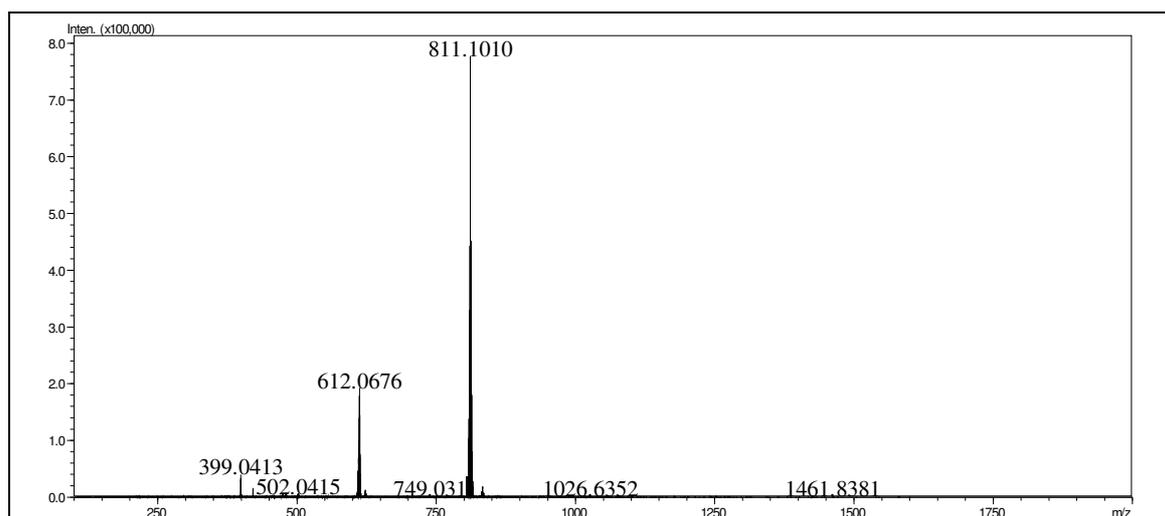
1169

1170

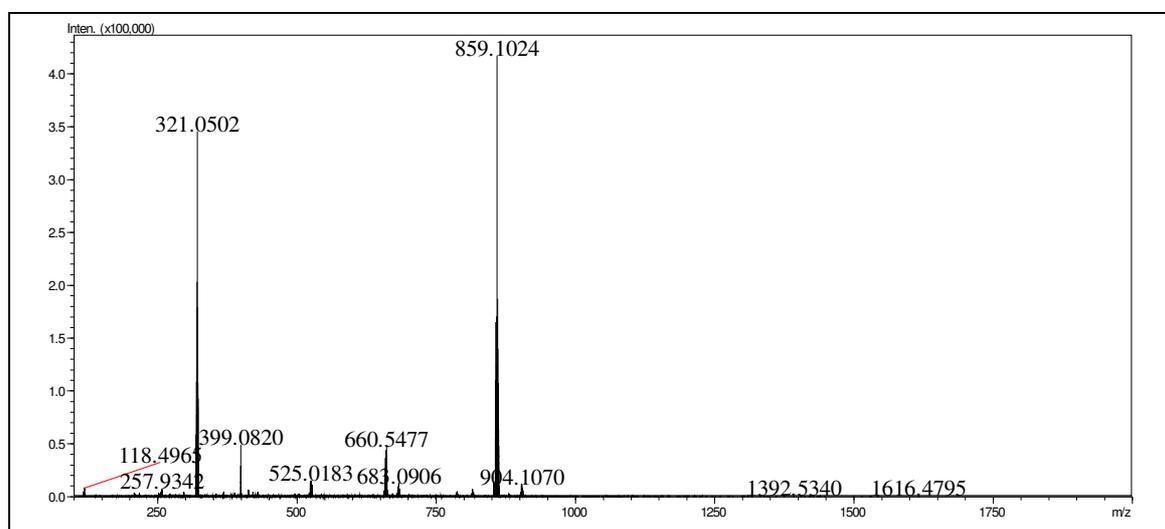
1171

Os espectros de massas ESI-MS experimentais, dos complexos **9** e **10**, estão
 representados nas Figuras 4.42 e 4.43.

1171



1172 **Figura 4.42** Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo **9**.



1173 **Figura 4.43** Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo **10**.

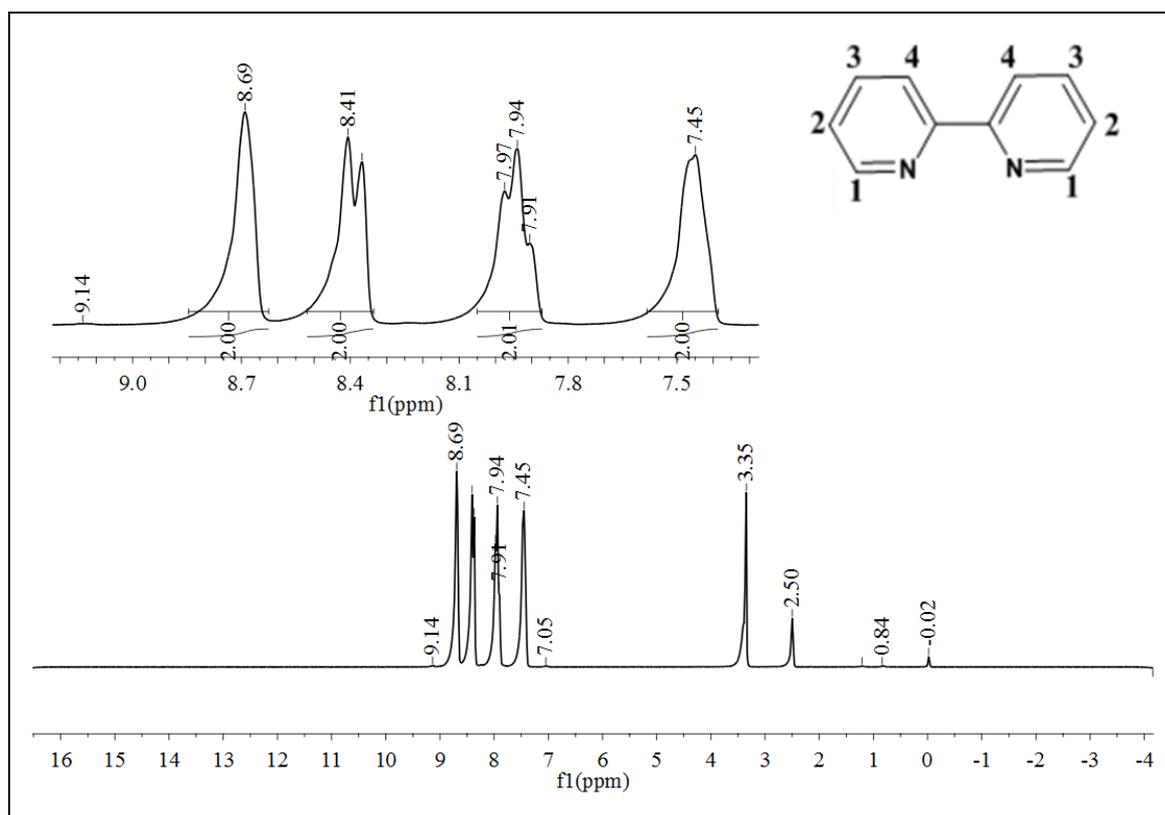
1174 A distribuição isotópica simulada (Figura S10, Anexo 1, pág 142) exibe pico
 1175 base com $m/z = 811,1029$, apresentando grande semelhança com a distribuição isotópica
 1176 experimental com $m/z = 811,1012$ (Figura S10, Anexo 1, pág 142). Essas semelhanças
 1177 confirmam que à estrutura proposta corresponde a espécie
 1178 $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_5\text{S})]^{+1}$, em solução acetonitrila:acetona (1:1).

1179 Por sua vez, o espectro simulado para complexo **10** apresenta pico base com
 1180 $m/z = 859,1030$ confirmando que a estrutura proposta corresponde a espécie
 1181 $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_5\text{S})]^{+}$, em solução acetonitrila:acetona (1:1). Os espectros
 1182 experimental e calculado foram ampliados para mostrar tais similaridades (Figura S11,
 1183 Anexo 1, pág 143).

1184 4.1.6 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio RMN de ^1H

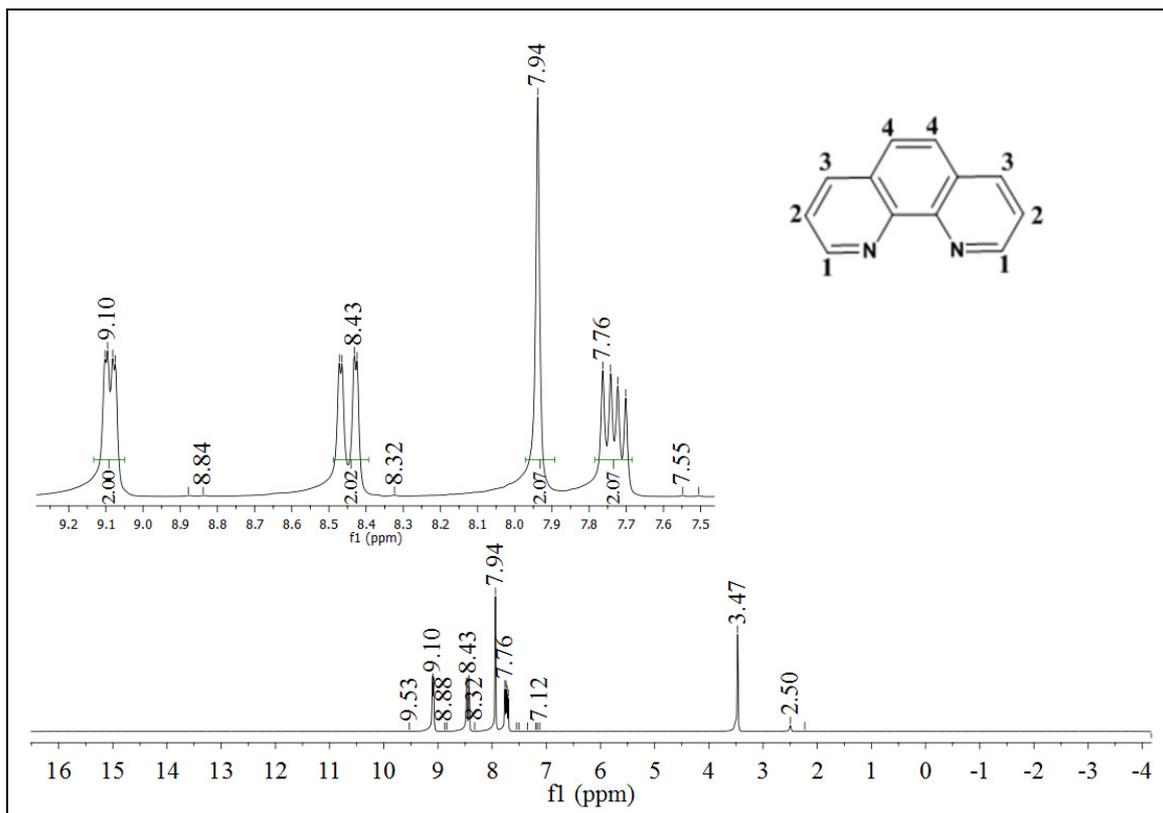
1185 Foram registrados espectros de RMN de ^1H dos complexos de **1** a **10** em dms-
1186 d_6 a fim de auxiliar na proposição do sítio de coordenação dos ligantes α - α diiminas e
1187 das sulfas ao rutênio(II).

1188 No espectro do ligante bpy foi possível identificar quatro grupos de ressonância
1189 na região entre δ 7,35-8,85 (Figura 4.44). Os hidrogênios H1 e H1 aparecem em δ 8,69;
1190 H4 e H4 em δ 8,4; H3 e H3 em δ 7,93 e H2 e H2 em δ 7,45. Tratando-se de sistemas
1191 aromáticos, os elétrons encontram-se mais livres e, desta forma, os átomos desse
1192 sistema estão mais protegidos [117]. As atribuições dos sinais de hidrogênio para o
1193 ligante bpy já estão relatadas na literatura [118]. Ainda neste espectro ocorre a presença
1194 de um sinal intenso em δ 3,35 que é referente a presença de moléculas de água
1195 absorvidas pelo dms- d_6 , por sua vez o sinal em δ 2,50 é referente às metilas do dms-
1196 d_6 .



1197 **Figura 4.44** Espectro de RMN de ^1H do ligante bpy, ($\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2$), em dms- d_6 a 298K,
1198 400 MHz.

1199 O espectro de RMN de ^1H da phen (Figura 4.45) também apresenta quatro
1200 grupos de ressonâncias em δ 9,09 (H1 e H1), δ 8,45 (H4 e H4), δ 7,94 (H3 e H3) e δ
1201 7,75 (H2 e H2). Em δ 3,47 aparece o sinal da água e em δ 2,50 das metilas do dms- d_6 .



1202 **Figura 4.45** Espectro de RMN de ¹H do ligante phen, (C₁₂H₈N₂), em dms0-d₆ a 298K,
 1203 400 MHz.

1204

1205

1206 As atribuições dos sinais de RMN de ¹H das sulfas empregadas neste trabalho
 1207 foram encontradas na literatura, para a smx [70] spd [79] e ssz [78,79]. Os espectros de
 1208 RMN de ¹H das sulfas smp, smz, spd e smx são bem parecidos entre si em decorrência
 1209 de suas semelhanças estruturais. Nos três espectros foi possível identificar sinais
 1210 atribuídos aos prótons dos grupos CH₃, NH sulfonamídico, NH₂, além dos hidrogênios
 1211 aromáticos. Os sinais nos espectros de RMN de ¹H (Figuras 4.46 a 4.49) obtidos para as
 1212 sulfas smp, smz, spd e smx foram atribuídos e estão discriminados na Tabela 4.7.

1212

1213

1214

1215

1216

1217

1218

1219

Apesar das semelhanças estruturais entre as sulfas, no espectro de RMN de ¹H da smp foi observado um pequeno deslocamento químico em relação sinal atribuído ao grupo CH₃. Este sinal encontra-se em δ 3,85, maior deslocamento químico em relação ao grupo CH₃ do smz. Entretanto, este deslocamento é justificado uma vez que os hidrogênios deste grupo estão mais desblindados devido ao oxigênio que está ligado ao carbono.

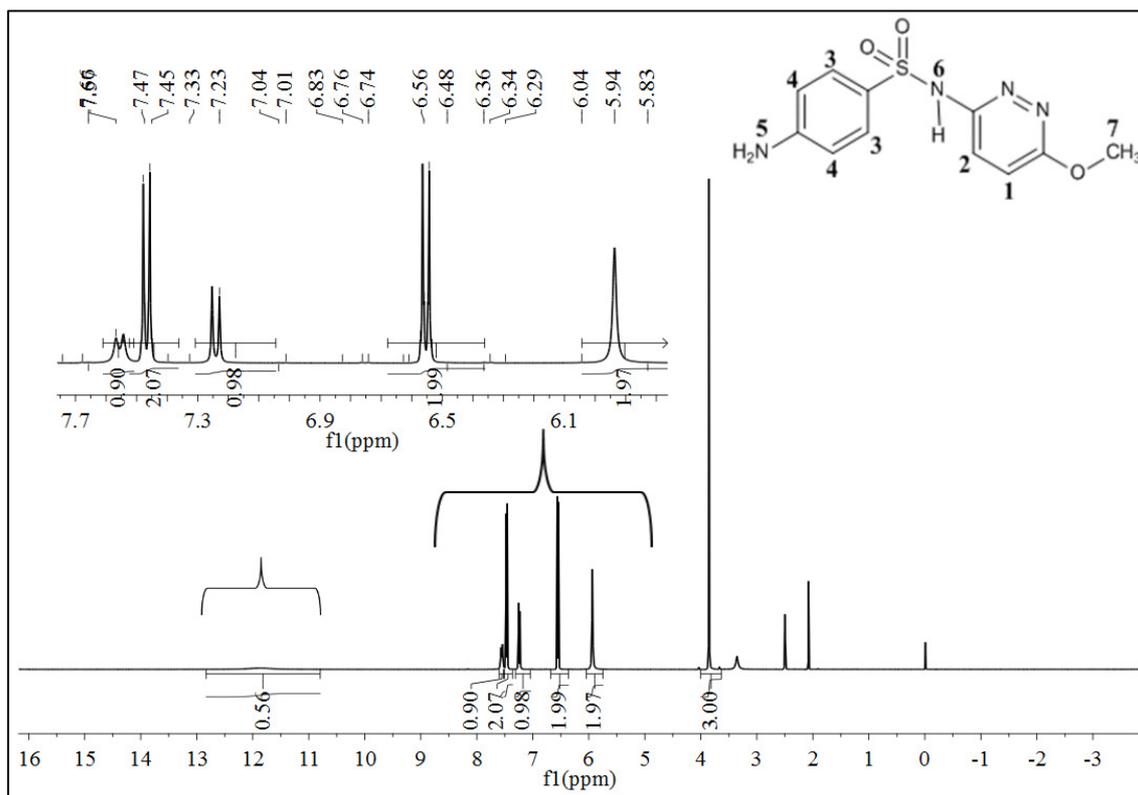
1218

1219

1220 **Tabela 4.7** Atribuições dos sinais de RMN de ^1H as sulfas smp, smz, spd e smx.

	Atribuição (integral)
smp δ	3,85 (7,7,7); 5,94 (5,5); 6,56 (4,4); 7,25 (2); 7,46 (3,3); 7,57 (1); 11,9 (6)
smz δ	2,43 (5,5,5); 5,92 (3,3); 6,58 (2,2); 7,40 (1,1);
spd δ	5,97 (7,7); 6,47 (6,6); 6,80 (2); 6,99 (4); 7,44 (5,5); 7,54 (3); 8,00 (1); 10,87 (11)
smx δ	2,28 (6,6,6); 6,08 (1,4,4); 6,57 (3,3); 7,45 (2, 2); 10,94 (5)

1221

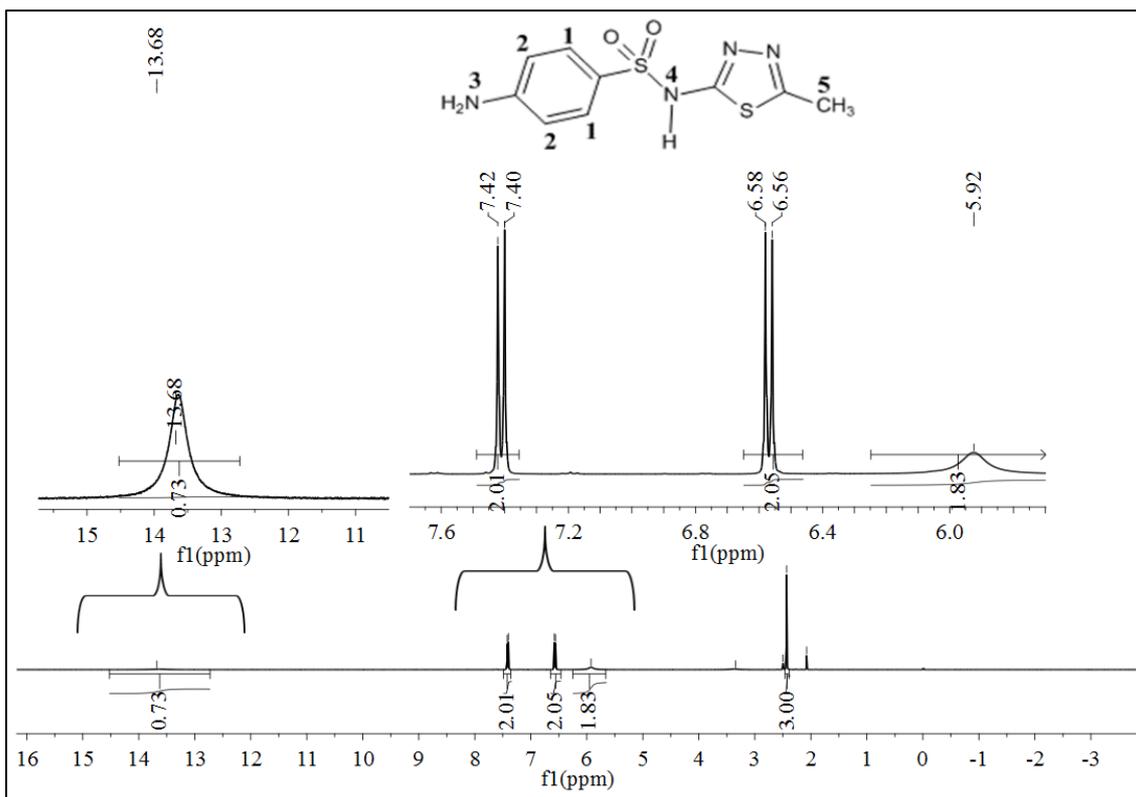


1222

1223

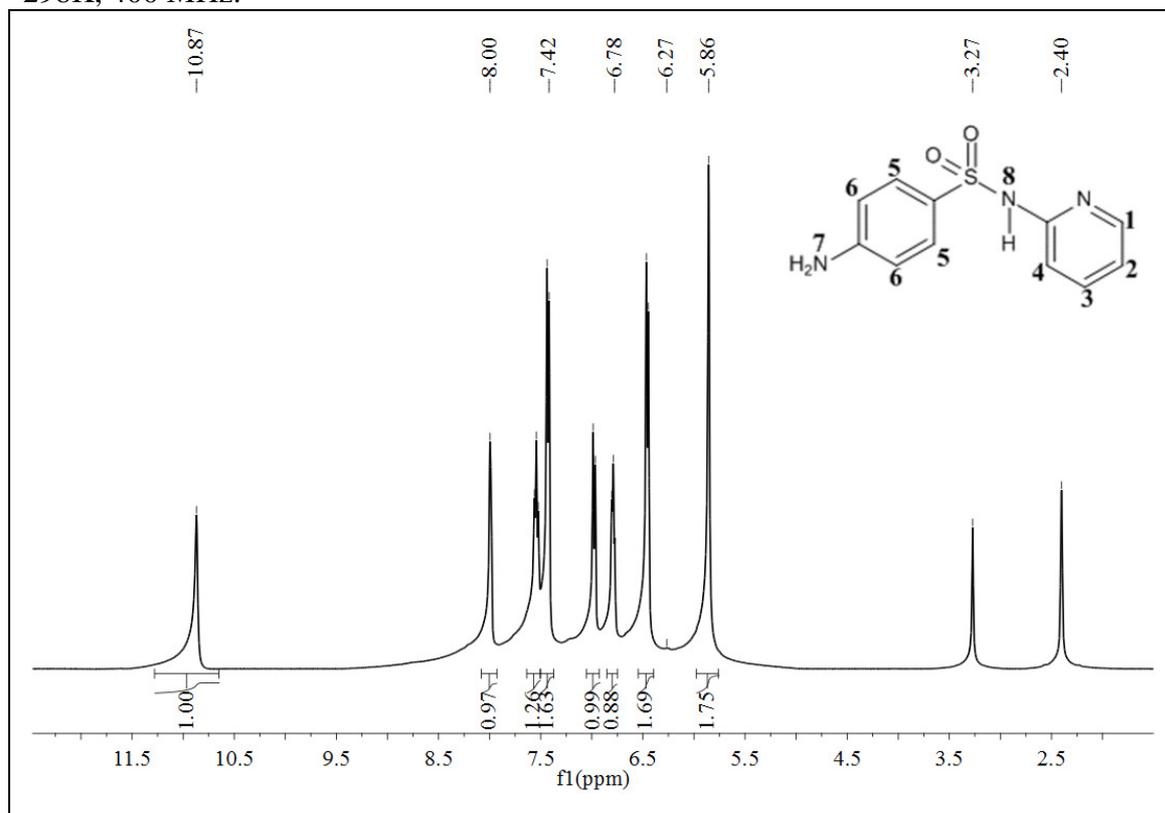
1224

Figura 4.46 Espectro de RMN de ^1H do ligante smp ($\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$), em dmsO-d_6 a 298K, 400 MHz.



1225
1226
1227

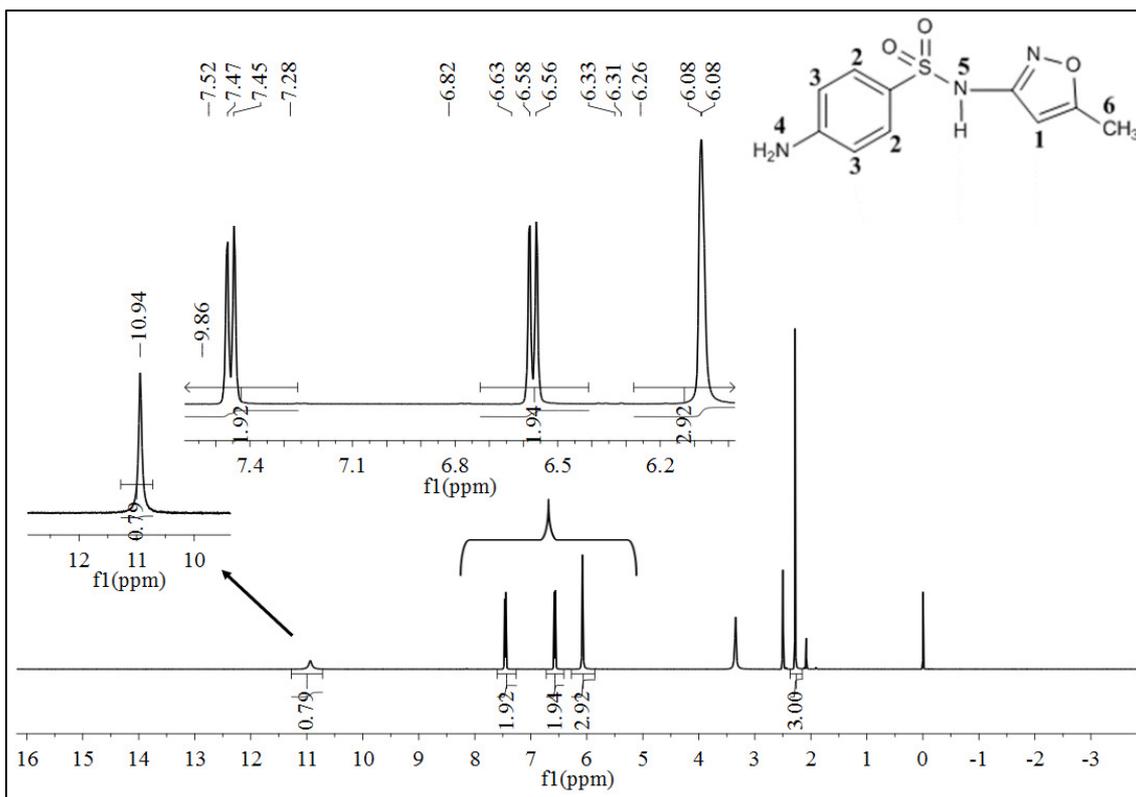
Figura 4.47 Espectro de RMN de 1H do ligante **smz** ($C_9H_{10}N_4O_2S_2$), em $dms0-d_6$ a 298K, 400 MHz.



1228
1229

Figura 4.48 Espectro de RMN de 1H do ligante **spd** ($C_{11}H_{11}N_3O_2S$), em $dms0-d_6$ a 298K, 400 MHz.

1230



1231

1232

Figura 4.49 Espectro de RMN de ¹H do ligante smx (C₁₀H₁₁N₃O₃S), em dmsO-d₆ a 298K, 400 MHz.

1233

1234

1235

1236

Os sinais no espectro de RMN de ¹H para a ssz foram atribuídos por Refat e colaboradores [78] e por Marzano [79]. Os sinais no espectro de RMN de ¹H obtidos para a ssz foram atribuídos e estão discriminados na Tabela 4.8 e Figura 4.50.

1237

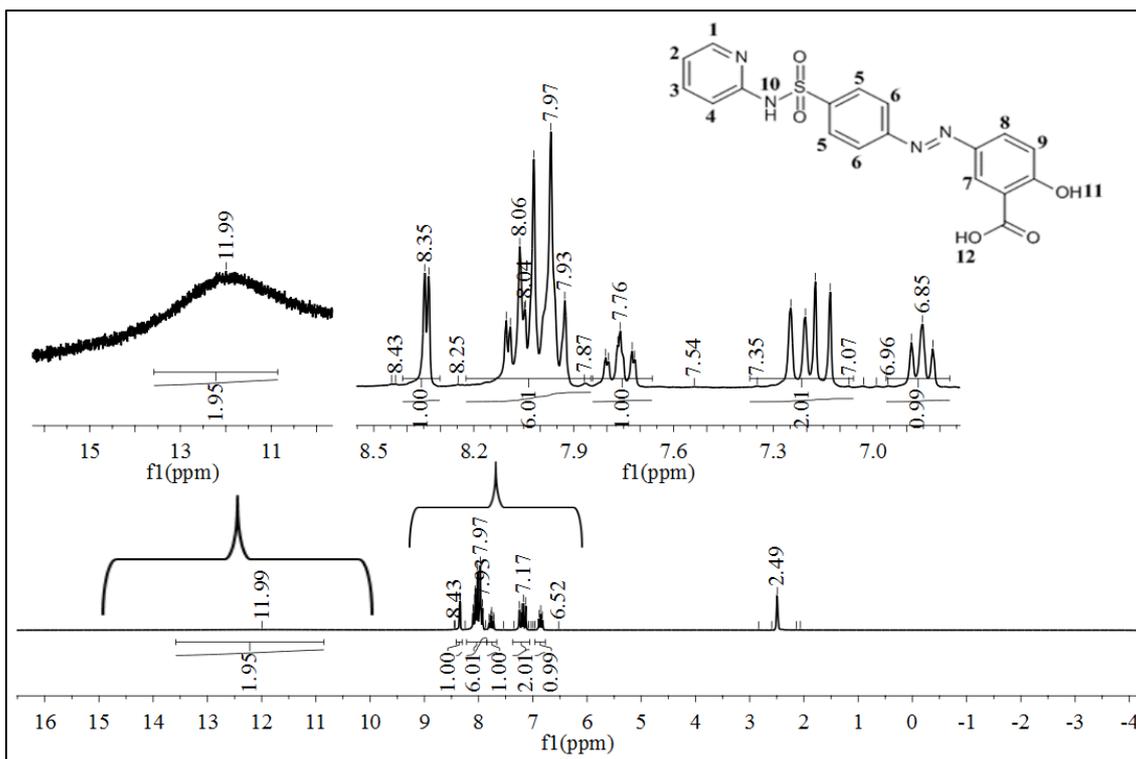
1238

Tabela 4.8 Atribuição dos sinais de RMN de ¹H do ligante ssz em dmsO-d₆ a 298K, 400 MHz.

1239

Atribuição (integral)	ssz δ/ppm
Hs: 8, 5, 1, 6, (6H)	8,01-7,90
H2 (1H)	6,85
H3 (1H)	7,76
H4 (1H)	7,20
H7 (1H)	8,35
H9 (1H)	7,17
H11 e H12 (2H, NH e OH)	11,99

1240



1241

1242

1243

1244

Figura 4.50 Espectro de RMN de ^1H do ligante ssz ($\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}$), em dms0-d_6 a 298K, 400 MHz.

1244

1245

1246

1247

1248

1249

A atribuição de todos os sinais dos espectros de RMN de ^1H dos complexos **1** a **10** é extremamente complexa devido à sobreposição de sinais de prótons pertencentes aos diferentes sistemas aromáticos. Apesar dessa dificuldade, foi possível a partir desses espectros obter informações importantes a respeito do número de ligantes e dos sítios de coordenação. Em relação ao número de ligantes identificou-se que nestes complexos de Ru(II) a proporção dos ligantes α - α diiminas para sulfas é de 2:1.

1250

1251

1252

1253

1254

1255

1256

Foi apresentado anteriormente, através da espectroscopia de absorção na região do infravermelho, que um dos sítios de coordenação das sulfas smp, smz, spd e smx é o nitrogênio do grupo NH sulfonamídico. Conforme apresentando nos espectros de RMN de ^1H dos ligantes smp, smz, spd e smx o próton do grupo NH sulfonamídico está em δ 11,90, 13,63, 10,81, 10,93 respectivamente. O desaparecimento destes sinais, nos espectros de RMN de ^1H dos complexos de **1** a **8**, confirma a coordenação das sulfas smp, smz, spd e smx ao Ru(II) através do nitrogênio sulfonamídico.

1257

1258

1259

1260

1261

Além disso, os sinais dos prótons característicos dos grupos CH_3 e NH_2 também foram identificados nos espectros de RMN de ^1H dos complexos **1** a **8** confirmando a presença das sulfas nos compostos (Tabela 4.9). Os hidrogênios aromáticos aparecem (Tabela 4.9) entre δ 6 e 10. Hidrogênios ligados ao anel aromático são desblindados pelo grande campo anisotrópico gerado pelos elétrons do sistema π do anel [118].

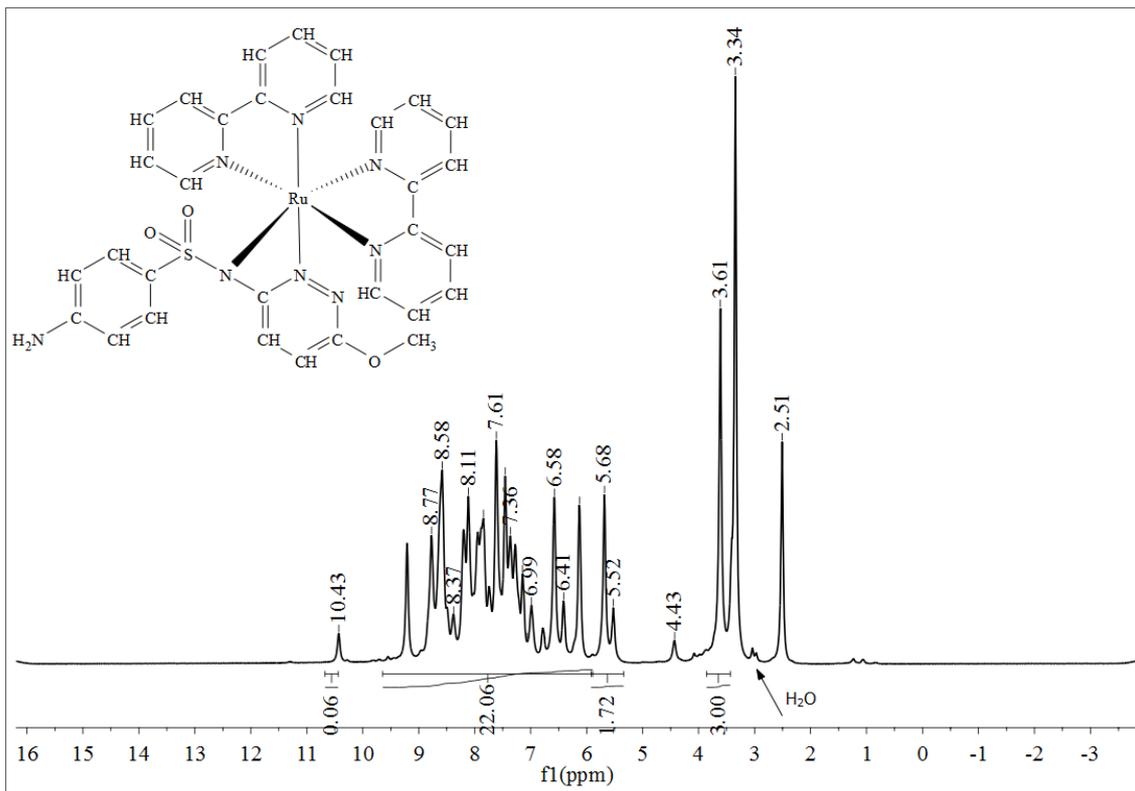
1262 Na Tabela 4.9 são apresentados os prótons identificados para as estruturas
 1263 propostas dos complexos de **1** a **8**. Os espectros de RMN de ^1H para estes compostos
 1264 estão disponíveis nas Figuras de 4.51 a 4.58. Em geral, para estes complexos, a presença
 1265 de um sinal intenso em δ 3,35 é referente à presença de moléculas de água absorvidas
 1266 pelo dms o - d_6 , por sua vez o sinal em δ 2,50 é referente às metilas do dms o - d_6 .

1267 Os espectros de RMN de ^1H dos complexos **1** e **2** merecem destaque devido a
 1268 presença de moléculas de solvatação. No espectro de RMN de ^1H do complexo **1** foi
 1269 possível identificar pelos sinais em δ 2,93 a presença de água (Figura 4.51), que foi
 1270 visualizada inicialmente na difração de raios X. Por sua vez, o espectro de RMN de ^1H
 1271 do complexo **2** mostra um álcool isopropílico (Figura 4.52) que foi previamente
 1272 detectado na espectroscopia de absorção na região do infravermelho e difração de raios
 1273 X. A hidroxila deste álcool é identificada pelo sinal em δ 2,16, e as metilas são
 1274 sinalizadas pelo sinal em δ 1,01. O próton do grupo CH está em torno de δ 3,85, sinal
 1275 próximo ao grupo CH $_3$ da smp (δ 3,54).

1276 **Tabela 4.9** Atribuições dos sinais de RMN de ^1H dos complexos **1** a **8**.

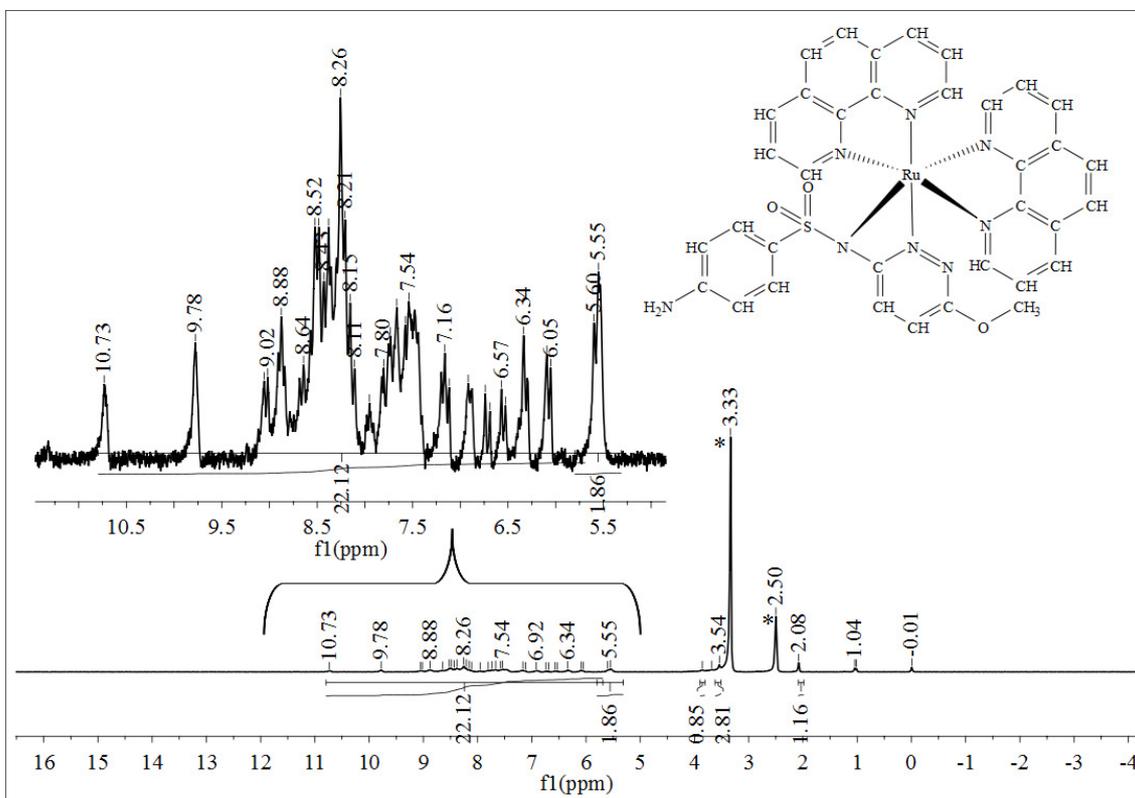
	Região dos prótons aromáticos: δ	CH $_3$: δ /ppm	NH $_2$: δ /ppm	Número de H.
complexo 1	9,20-6,13 (22H)	3,61 (3H, s)	5,68 (2H, s)	27
complexo 2	9,78-6,09 (22H)	3,54 (3H)	5,55 (2H)	27
complexo 3	10,10-6,45 (20H)	2,54 (3H)	5,68 (2H)	25
complexo 4	9,62-6,41 (20H)	2,44 (3H)	5,91 (2H)	25
complexo 5	9,22-6,14 (24H)	-	5,66 (2H)	26
complexo 6	9,79-6,12 (24H)	-	5,65 (2H)	26
complexo 7	9,82-7,12 (21H)	2,51 (3H)	6,56 (2H)	26
complexo 8	10,54-6,38 (21H)	2,51 (3H)	6,08 (2H)	26

1277



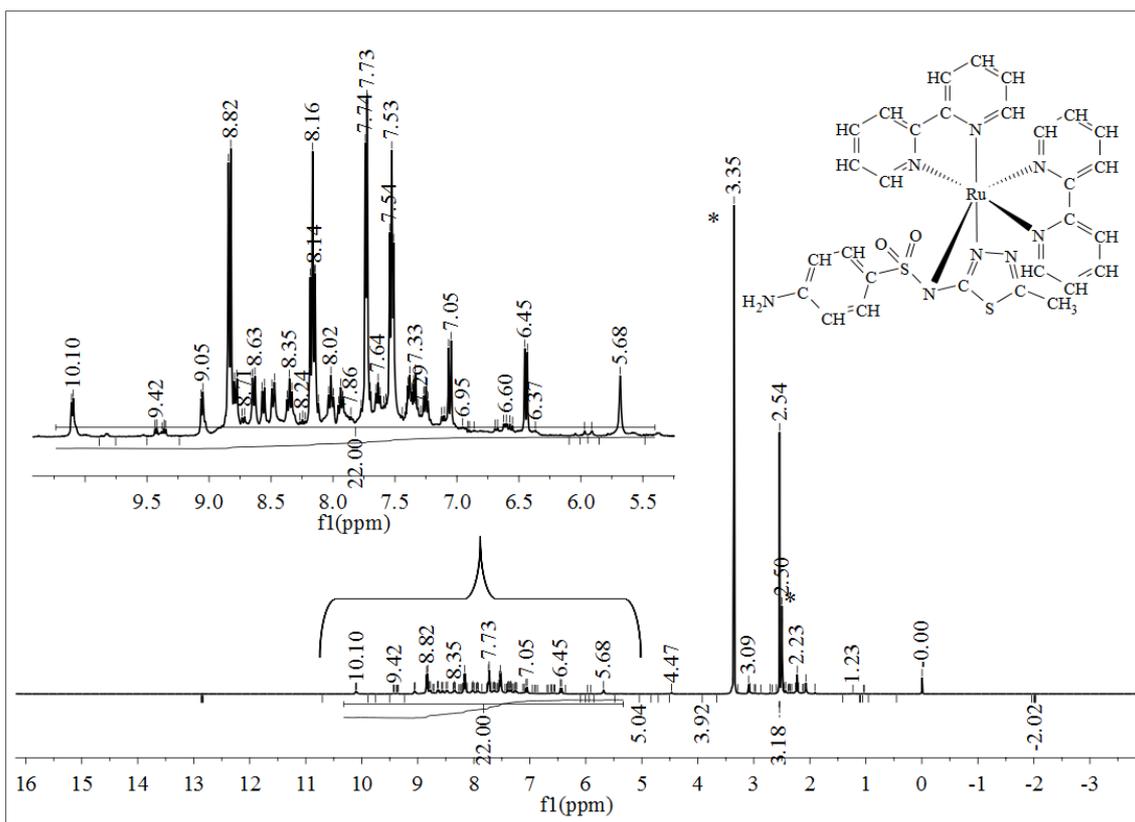
1278
1279
1280

Figura 4.51 Espectro de RMN de ^1H do complexo **1**, em dms0-d_6 a 298K, 400 MHz



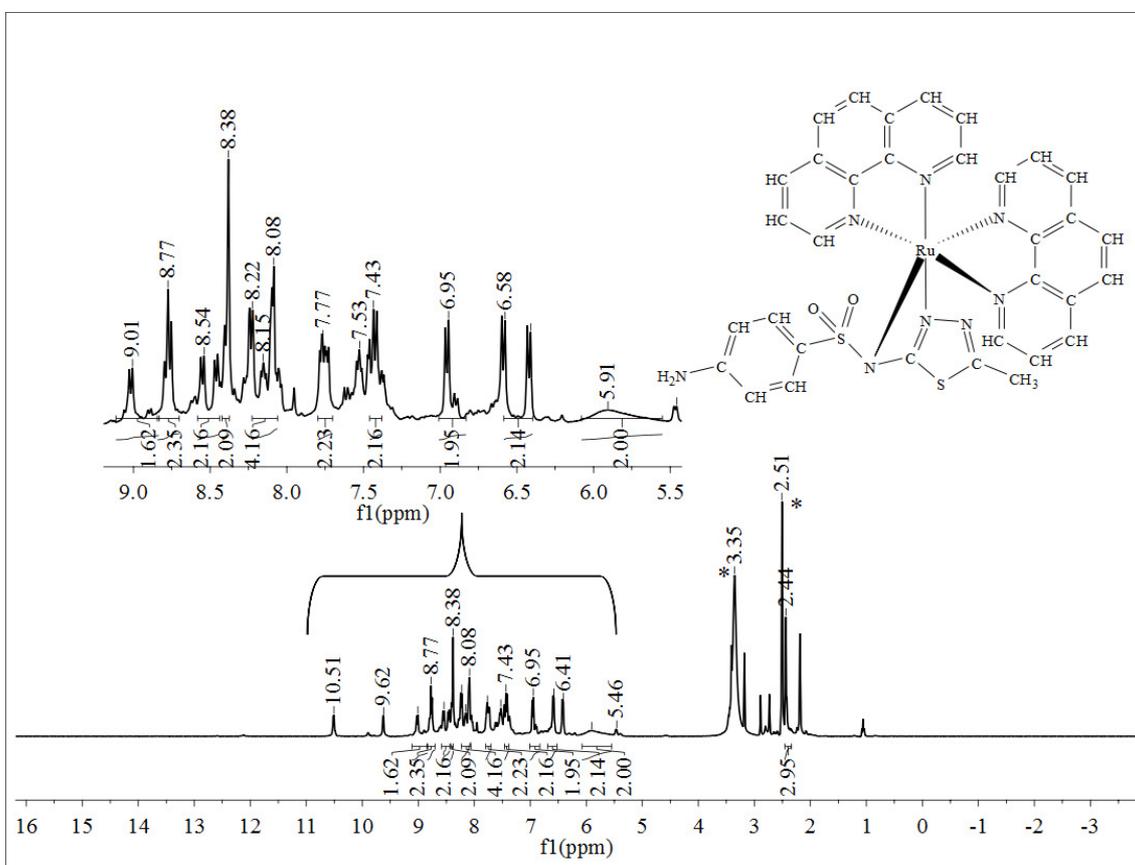
1281
1282
1283

Figura 4.52 Espectro de RMN de ^1H do complexo **2**, em dms0-d_6 a 298K, 400 MHz.



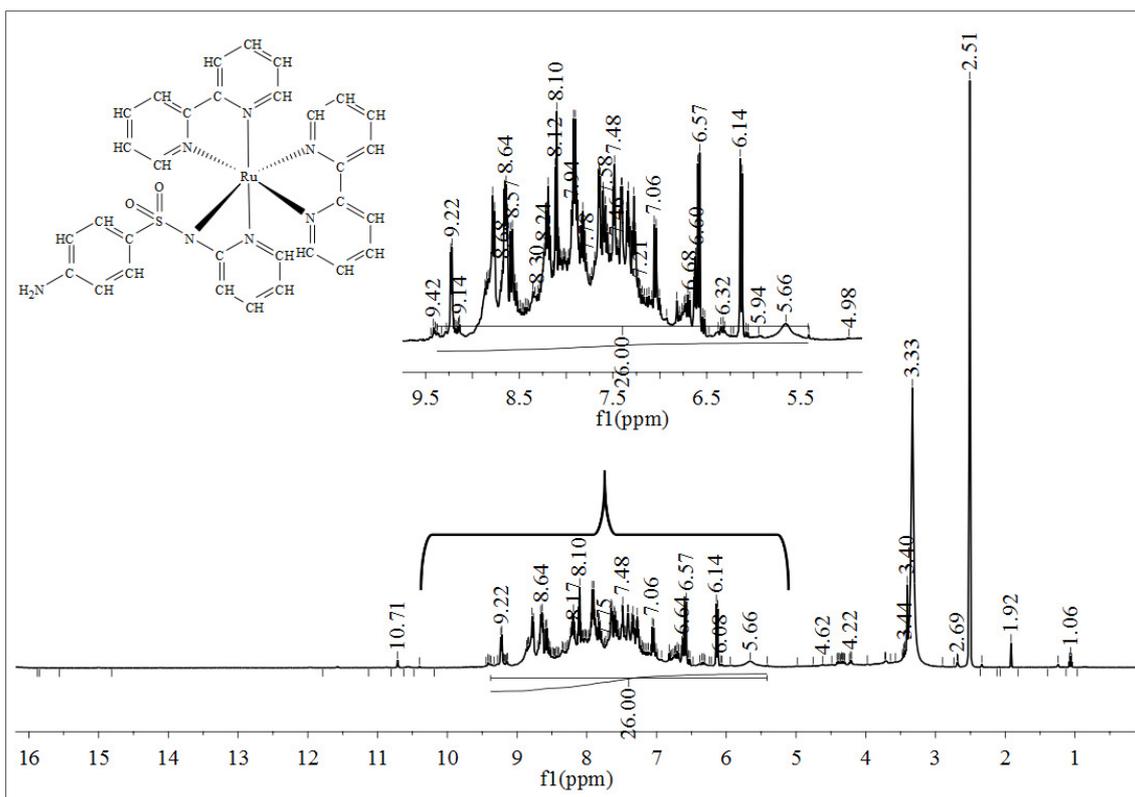
1284

1285 **Figura 4.53** Espectro de RMN de ^1H do complexo **3**, em dms0-d_6 a 298K, 400 MHz.



1286

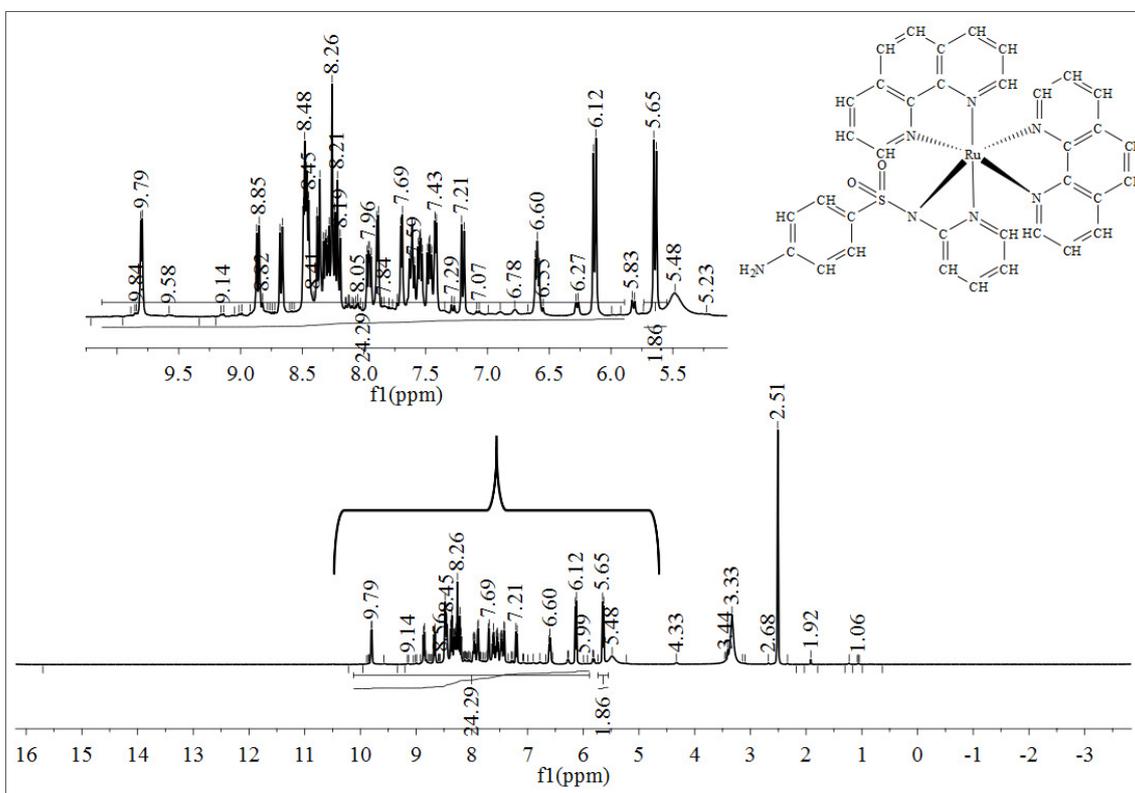
1287 **Figura 4.54** Espectro de RMN de ^1H do complexo **4**, em dms0-d_6 a 298K, 400 MHz.



1288

1289 **Figura 4.55** Espectro de RMN de ^1H do complexo **5**, em dms0-d_6 a 298K, 400 MHz.

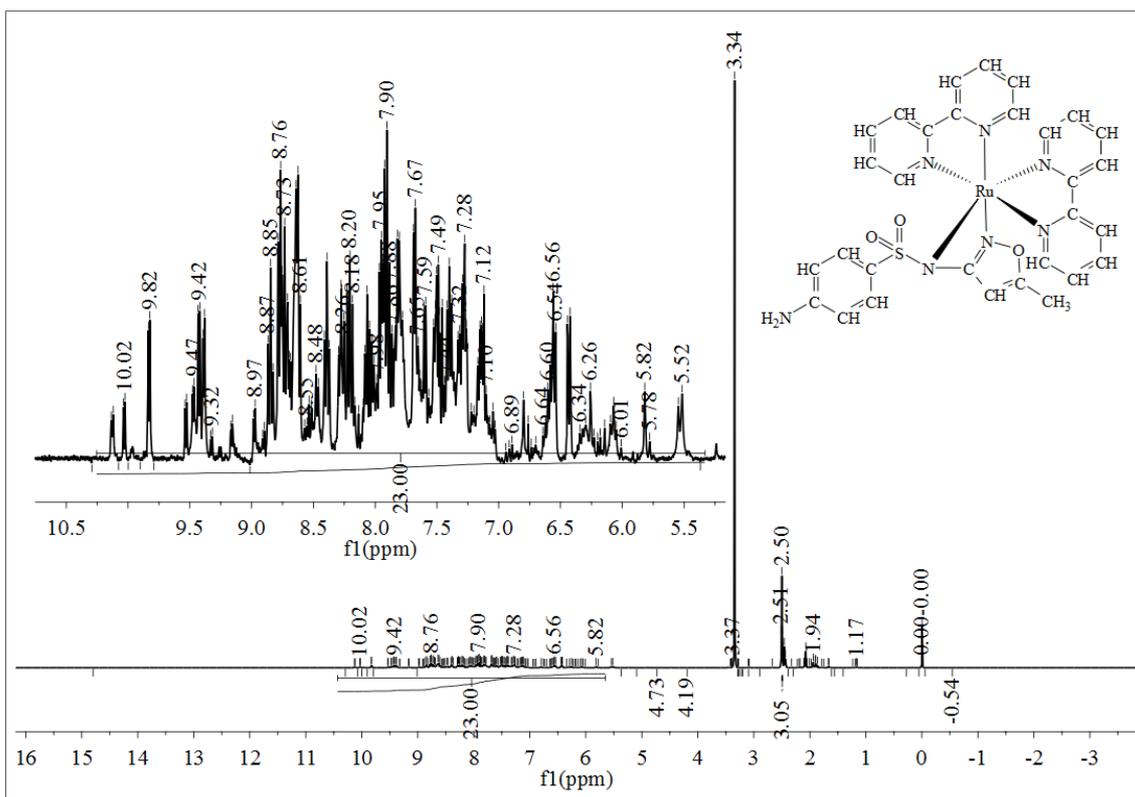
1290



1291

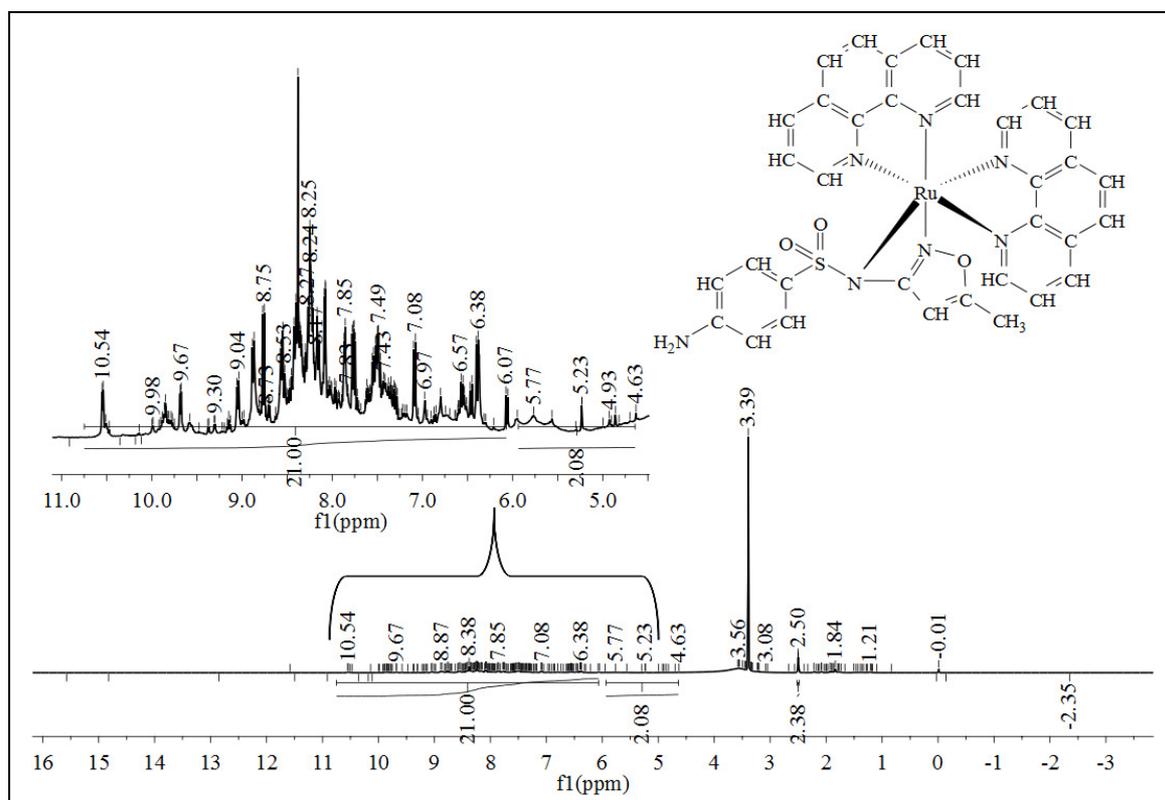
1292 **Figura 4.56** Espectro de RMN de ^1H do complexo **6**, em dms0-d_6 a 298K, 400 MHz.

1293



1294
1295
1296

Figura 4.57 Espectro de RMN de ^1H do complexo **7**, em dms0-d_6 a 298K, 400 MHz.



1297

Figura 4.58 Espectro de RMN de ^1H do complexo **8**, em dms0-d_6 a 298K, 400 MHz.

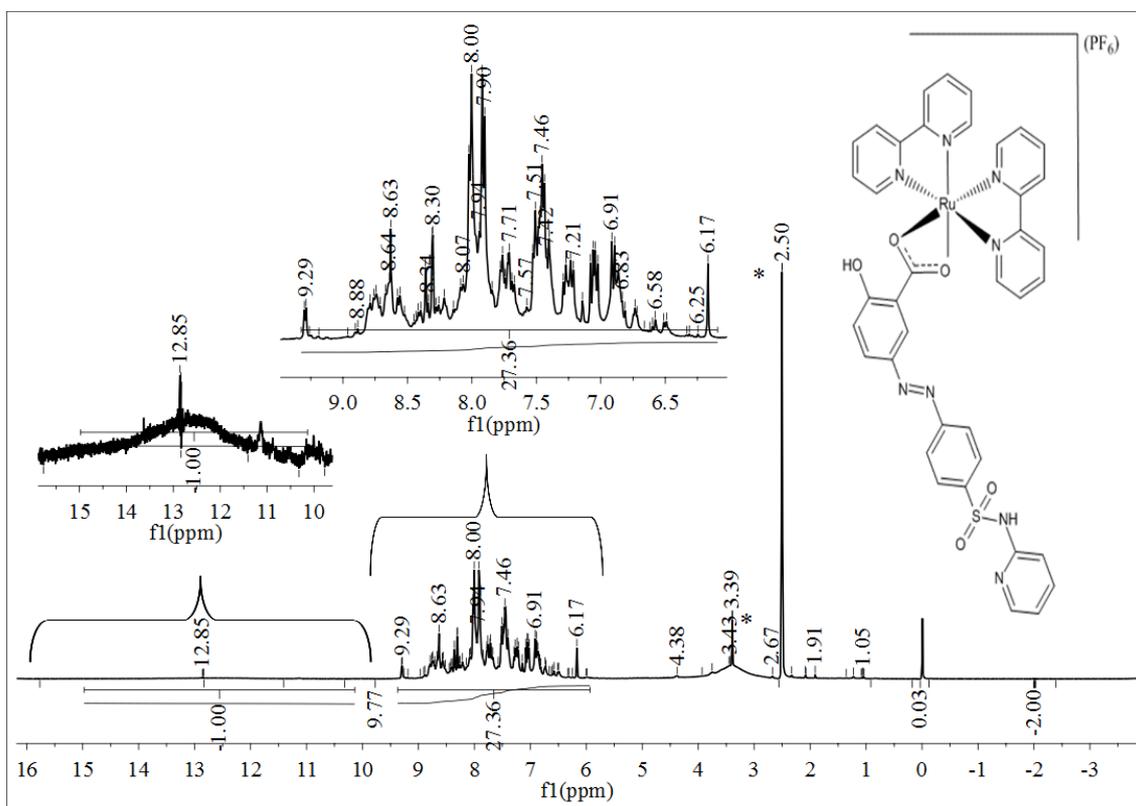
1298

Nos complexos **9** e **10** foi possível identificar a presença de 27 prótons

1299

aromáticos de cada complexo. No espectro do ligante ssz, o sinal alargado no intervalo

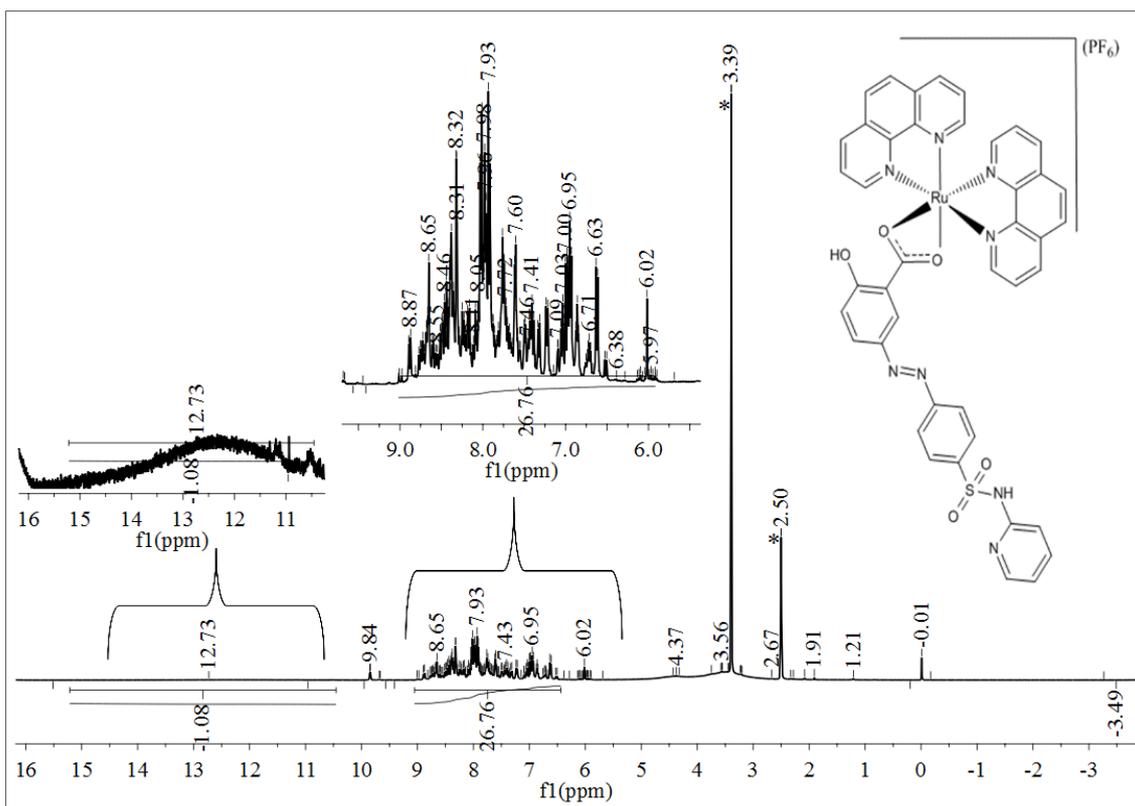
1300 de δ 10-16, que corresponde a 2 prótons, foi atribuído aos prótons lábeis dos grupos **NH**
 1301 sulfonamídico e **COOH** carboxílico. Nesta região pode-se observar a perda de um
 1302 próton no espectro dos complexos. Com base nas mudanças identificadas nos espectros
 1303 de absorção na região do infravermelho destes complexos atribuímos essa perda ao
 1304 próton do grupo carboxílico. Os espectros de RMN de ^1H dos complexos **9** e **10** estão
 1305 apresentados nas Figuras 4.59 e 4.60. A presença de um sinal intenso em δ 3,39 é
 1306 referente a presença de moléculas de água absorvidas pelo dms o - d_6 , enquanto o sinal em
 1307 δ 2,50 é referente às metilas do dms o - d_6 .
 1308



1309 **Figura 4.59** Espectro de RMN de ^1H do complexo **9**, em $\text{dmsO}-d_6$ a 298K, 400 MHz.
 1310

1311

1312



1313

1314

Figura 4.60 Espectro de RMN de ¹H do complexo **10**, em dms0-d₆ a 298K, 400 MHz.

1315

4.1.7 Difração de raios X de monocristal

1316

1317

1318

1319

1320

1321

1322

1323

Conforme já destacado na seção 3.3.2.1, cristais dos complexos **1** e **2** foram obtidos. A análise estrutural revelou que o complexo **1** cristaliza no sistema monoclinico, grupo espacial P 21/c. No complexo **1**, a célula unitária monoclinica tem 4 unidades assimétricas, e apresenta grupo pontual 2/m. O grupo espacial P 21/c apresenta simetria de Laue 2/m, e os operadores de simetria contidos neste grupo (2₁ e i) são atribuídos a um eixo de rotação-translação (2₁) na direção cristalográfica [0 1 0], e ao centro de inversão. Com a projeção da célula unitária, representada na Figura 4.61, é possível identificar estes operadores de simetria e as 4 unidades assimétricas.

1324

1325

1326

1327

1328

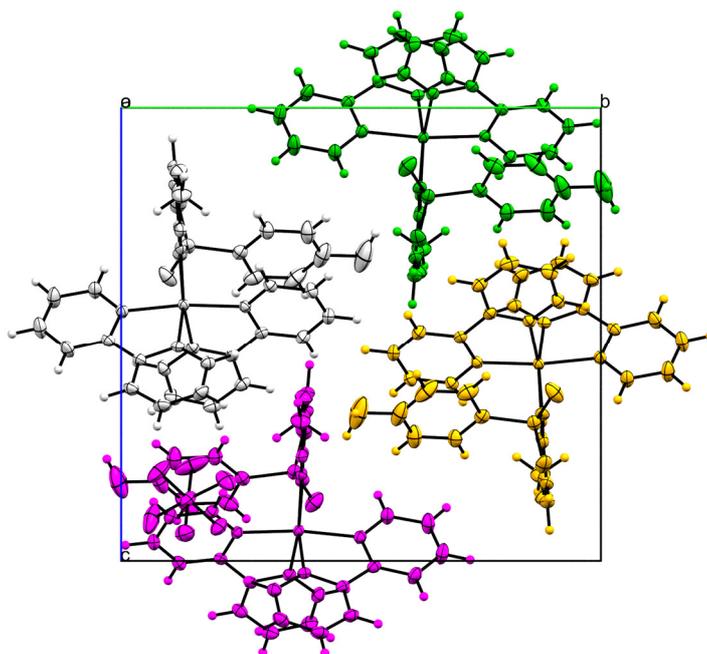
O complexo **2** cristaliza em grupo espacial distinto ao complexo **1**. O complexo **2** cristaliza no sistema triclinico e grupo espacial centrossimétrico P-1. A unidade assimétrica deste complexo é constituída por duas moléculas dos complexos, sendo que umas delas é gerada através da operação de simetria -x, -y, -z (centro de inversão), conforme destacado na Figura 4.62.

1329

1330

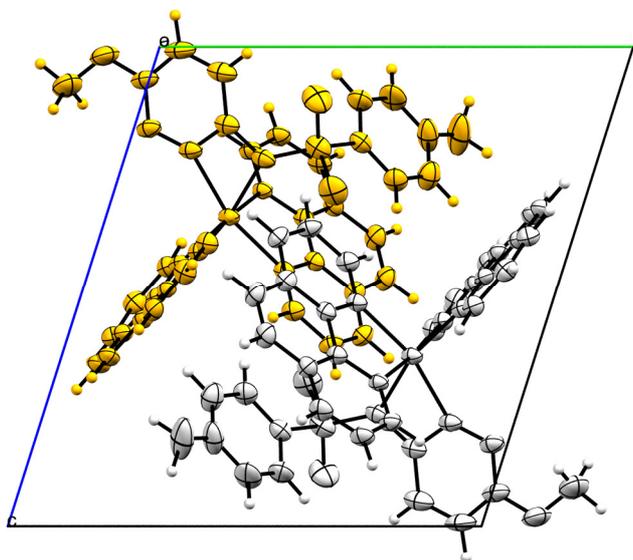
1331

A Tabela 4.10 reúne informações acerca da coleta de dados e do refinamento estrutural destes complexos.



1332

1333 **Figura 4.61** Projeção do conteúdo da célula unitária monoclinica do complexo **1** ao
 1334 longo do eixo a (cinza: x, y, z ; verde: $-x, 1/2 + y, 1/2 - z$; amarelo: $-x, -y - z$; rosa: $-x, 1/2 -$
 1335 $y, 1/2 + z$).



1336 **Figura 4.62** Projeção do conteúdo da célula unitária triclinica do complexo **2** ao longo
 1337 do eixo a (cinza: x, y, z ; amarelo: $-x, -y, -z$).

1338 **Tabela 4.10** Dados de coletas e refinamento das estruturas dos complexos **1** e **2**.

Compostos	Complexo 1	Complexo 2
Fórmula empírica	C ₃₁ H _{27,85} F ₆ N ₈ O _{3,43} P Ru S	C ₃₈ H ₃₅ F ₆ N ₈ O ₄ P Ru S
Massa molar (g/mol)	845,49	945,84
Temperatura/K	120,05	120,45
Sistema Cristalino	Monoclínico	Triclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /c	P-1
a/Å	13,2912(4)	13,0077(5)
b/Å	15,9144(3)	13,1547(5)
c/Å	15,8731(4)	14,4323(6)
α/°	90	99,262(3)
β/°	106,929(3)	111,070(4)
γ/°	90	107,141(3)
Volume/Å ³	3212,01(15)	2101,12(18)
Z	4	2
d _{calc} /cm ³	1,7483	1,5314
Coeficiente de absorção	0,689	0,539 μ/mm ⁻¹
F(000)	1702,2	985,7
Radiação	Mo Kα (λ = 0.7107)	Mo Kα (λ = 0.7107)
Faixa de 2θ usado na coleta de dados	3,7 a 58,96	3,64 a 59
Faixa de índices h, k, l	-16 ≤ h ≤ 16, -22 ≤ k ≤ 20, -21 ≤ l ≤ 20	-17 ≤ h ≤ 17, -17 ≤ k ≤ 18, -19 ≤ l ≤ 18
Reflexões coletadas	29588	45677
Reflexões independentes	7884 [R _{int} = 0.0299, R _{sigma} = 0.0285]	10566 [R _{int} = 0.0501, R _{sigma} = 0.0422]
Dados / restrições / parâmetros	7884/0/470	10566/0/570
Qualidade do ajuste sobre F ²	1,066	1,048
Índices residuais para I > 2σ(I)	R ₁ = 0,0303, wR ₂ = 0,0698	R ₁ = 0,0511, wR ₂ = 0,1309
Índices residuais para todos os dados	R ₁ = 0,0404, wR ₂ = 0,0757	R ₁ = 0,0697, wR ₂ = 0,1512
Maior diferença (pico e vale)	0,75/-0,72	1,23/-0,75

1339

1340

1341

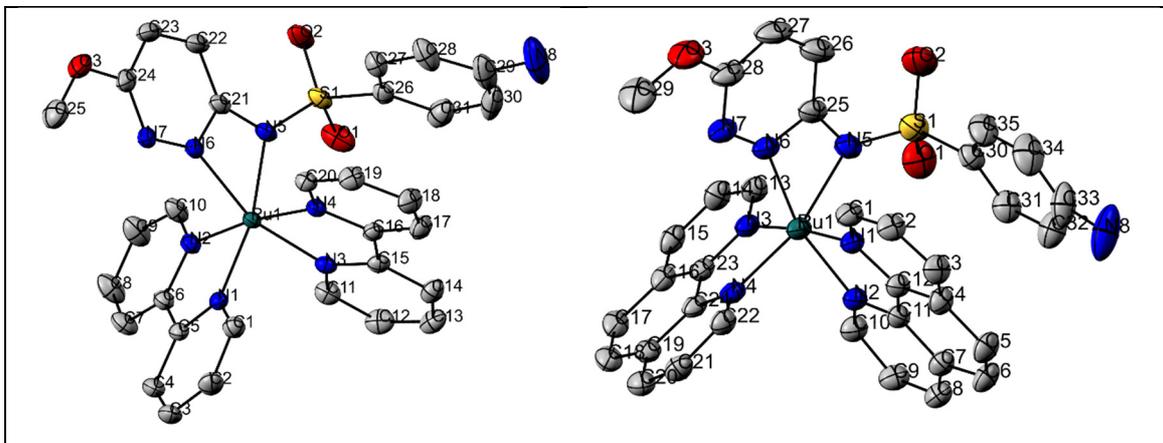
1342

1343

1344

A geometria de coordenação em torno íon Ru(II) é um octaedro bastante distorcido. A esfera de coordenação é composta por quatro átomos de nitrogênio de duas moléculas de bpy ou phen (N1, N2, N3 e N4) e dois átomos de nitrogênio {um do anel de metoxipiridina (N6) e outro do grupo sulfonamídico que está desprotonado (N5)} de uma molécula de sulfametoxipiridazina. A Figura 4.63 ilustra a projeção ortep

1345 das moléculas dos complexos **1** e **2**, com a respectiva simbologia dos átomos envolvidos
1346 na coordenação.
1347



1348 **Figura 4.63** Projeção ORTEP da estrutura molecular dos complexos **1** (esquerda) e **2**
1349 (direita), com a simbologia dos átomos. Átomos não-hidrogenóides são representados
1350 como elipsóides de probabilidade 50%, enquanto que todos os átomos de hidrogênio
1351 foram suprimidos.

1352 Na tabela 4.11 são apresentadas as distâncias de ligação de entre o Ru(II) e os
1353 nitrogênios dos ligantes α - α diiminas (bpy e phen) e smp. Os comprimentos de ligação
1354 Ru-N estão na faixa reportada em estudos anteriores sobre complexos de rutênio [23,
1355 27, 41, 87].

1356 Há diferenças significativas quando analisamos os ângulos em torno das ligações
1357 N-Ru-N para os dois complexos. Os ângulos das ligações N(1)-Ru(1)-N(2), N(3)-
1358 Ru(1)-N(4), N(5)-Ru(1)-N(6) dos complexos **1** e **2** estão listados na Tabela 4.11. Estes
1359 valores diferem do ângulo ideal para a geometria octaédrica perfeita (90°), e isso leva a
1360 geometria octaédrica distorcida. A razão mais provável para tal diferença pode estar
1361 relacionada a efeitos estéreos.

1362 Em solução, as bandas de absorção na região UV-vis, apresentadas no tópico
1363 4.1.3, estão de acordo com as estruturas determinadas no cristal. A bpy e phen possuem
1364 orbitais π^* vazios e de simetria adequada para a retrodoação, enfraquecendo, assim, as
1365 ligações Ru-N trans a elas.

1366
1367
1368

1369 **Tabela 4.11** Comprimentos e ângulos de ligações selecionados para os átomos
 1370 envolvidos na coordenação ao rutênio nos complexos **1** e **2**. Desvio padrão entre
 1371 parênteses.

Comprimentos de ligações (Å)			Ângulos de ligações (°)		
	Complexo 1	Complexo 2		Complexo 1	Complexo 2
Ru1–N1	2,04(16)	2,062(3)	N2–Ru1–N1	79,22(7)	80,18(10)
Ru1–N2	2,05(16)	2,066(3)	N4–Ru1–N3	79,23(7)	79,88(10)
Ru1–N3	2,04(18)	2,059(3)	N6–Ru1–N5	62,11(7)	62,20(12)
Ru1–N4	2,05(16)	2,044(3)			
Ru1–N5	2,11(17)	2,131(3)			
Ru1–N6	2,10(18)	2,062(3)			

1372
 1373 Outros comprimentos de ligações e ângulos relevantes na análise estrutural dos
 1374 complexos **1** e **2** estão selecionados na Tabela 4.12. Destaque especial para os ângulos
 1375 de ligação do contra-íon hexafluorofosfato (PF₆), observe que os ângulos entre as
 1376 ligações F–P–F são de aproximadamente 90° e 180°, valores condizentes com a
 1377 geometria octaédrica.

1378 Na revisão bibliográfica deste trabalho destacamos que há outras estruturas
 1379 cristalinas de complexos metálicos com a sulfa smp. No complexo [Hg(smp)₂]
 1380 reportado por Garcia-Raso e colaboradores[63] o íon Hg(II) está coordenado a dois
 1381 ligantes smp, de modo monodentado, através dos átomos de nitrogênio sulfonamídicos
 1382 desprotonados. No complexo [Ni(smp)(OH₂)₂] [61] a smp está coordenado de modo
 1383 bidentado ao íon metálico Ni(II), via nitrogênios do grupo sulfonamídico e anel
 1384 metoxipiridazina. Este último padrão de coordenação foi observado nas estruturas
 1385 cristalinas dos complexos obtidos neste trabalho.

1386 **Tabela 4.12** Comprimentos e ângulos de ligações selecionados para os complexos **1** e **2**.
 1387 Desvio padrão entre parênteses.

Comprimentos de ligações (Å)			Ângulos de ligações (°)		
	Complexo 1	Complexo 2		Complexo 1	Complexo 2
S1–O1	1,44(18)	1,436(3)	O2–S1–O1	117,35(11)	117,9(2)
S1–O2	1,44(17)	1,450(3)	N5–S1–O1	107,85(10)	107,07(17)
S1–N5	1,59(18)	1,606(3)	N5–S1–O2	109,68(10)	109,09(18)
P1–F1	1,60(16)	1,589(3)	F4–P1–F1	89,27(8)	90,74(19)
P1–F2	1,59(18)	1,590(3)	F4–P1–F2	89,22(9)	91,08(18)
P1–F3	1,59(18)	1,564(3)	F4–P1–F3	89,23(9)	90,41(17)
P1–F4	1,61(14)	1,575(3)	F5–P1–F1	89,21(9)	90,09(18)
P1–F5	1,59(16)	1,593(3)	F5–P1–F2	89,02(11)	88,10(17)
P1–F6	1,59(15)	1,583(3)	F5–P1–F4	89,89(8)	90,2(2)

1388 As Figuras 4.64 e 4.65 propiciam a visualização da rede tridimensional de
 1389 ligações de hidrogênio clássicas {O-H \cdots O, N-H \cdots O, N-H \cdots N e O-H \cdots N [119]} que
 1390 contribuem para a estabilização dos complexos **1** e **2**.

1391 As geometrias das ligações clássicas reportadas ao longo deste texto são
 1392 apresentadas na Tabela 4.13.

1393 **Tabela 4.13** Geometrias das ligações de hidrogênio clássicas presentes nas estruturas
 1394 dos complexos **1** e **2**.

D—H \cdots R ^a	D—H(Å)	H \cdots R(Å)	D \cdots R(Å)	D—H \cdots R(A)
Complexo 1				
N8—H8A \cdots O4 ^b	0,928	1,878	2,760	157,96°
N8—H8B \cdots O2 ^c	0,916	2,324	3,045	135,24°
Complexo 2				
N8—H8B \cdots O2 ^d	0,931	3,000	3,848	152,21°
N8—H8B \cdots O4 ^e	0,931	2,226	3,037	145,09°
O4—H4 \cdots O2 ^f	0,840	2,768	2,768	154,57°

1395 a D: doador; R: receptor. Operador de simetria: ^b x, y, z; ^c 2 - x, -1/2 + y, 1/2 - z; ^e x, y, -1 + z; ^d 1 - x, 1 -
 1396 y, 2 - z; ^f 1 - x, 1 - y, 1 - z .

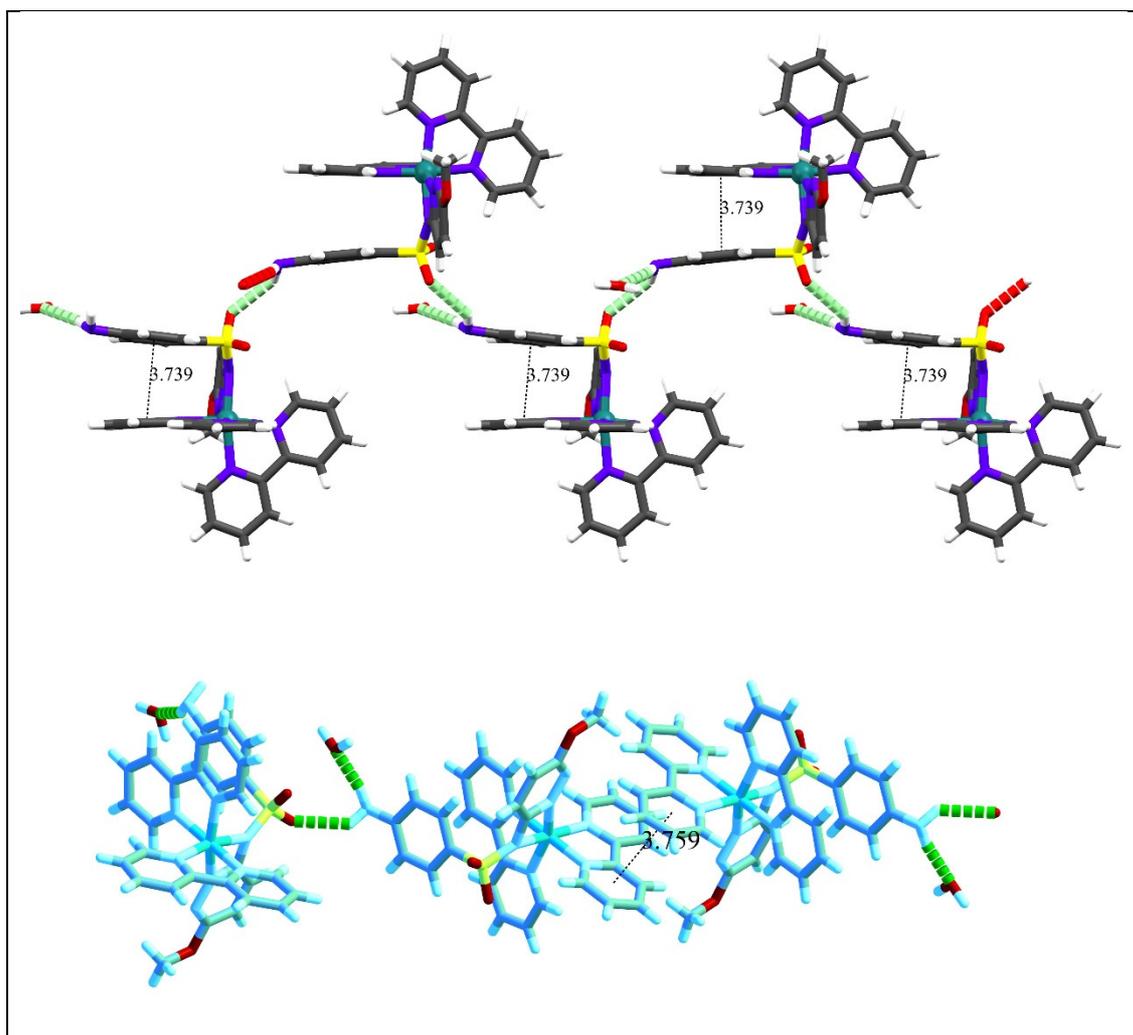
1397
 1398 Estima-se que a água, presente na estrutura cristalina, está envolvida em
 1399 ligações de hidrogênio intramolecular com os ligantes bpy e smp (com N do anel
 1400 bipyridínico e N do grupo sulfonamídico). A molécula de água presente na estrutura
 1401 cristalina está disposta de modo alternado entre as unidades assimétricas do complexo
 1402 na rede cristalina. A distância entre os anéis da bpy e da smp é calculada em 3,739 Å. A
 1403 separação destes centroides permite inferir a presença de interações π - π . Este complexo
 1404 apresenta outra importante interação π - π face a face eclipsada. Esta ocorre devido as
 1405 interações intermoleculares existentes entre distintos anéis de bpy, conforme destacado
 1406 na parte inferior da Figura 4.64. A distância entre os centroides de bpy e bpy do
 1407 composto **1** é calculada em 3,759 Å.

1408 No complexo **2** a molécula de álcool isopropílico está envolvida nas ligações de
 1409 hidrogênio. Assim como, no complexo **1**, também identificamos interações π - π face a
 1410 face deslocada, que ocorrem entre o anel da phen e o anel da smp (Figura 4.65,
 1411 superior). Porém, neste complexo identificamos interações π - π face a face em
 1412 decorrência das interações intermoleculares existentes entre distintos anéis de phen,
 1413 conforme destacado na parte inferior da Figura 4.65. A distância entre os centroides de
 1414 smp e phen do composto **2** é calculada em 3,657 Å, um valor maior que a distância
 1415 entre os centroides das moléculas de phen cujo valor é de cerca de 3,392 Å. Com base
 1416 nestas distâncias, a ocorrência destas interações são suportadas devido a pequena
 1417 distância entre os centroides calculados através dos anéis phen e smp ou phen e phen
 1418 relacionadas por simetria translacional.

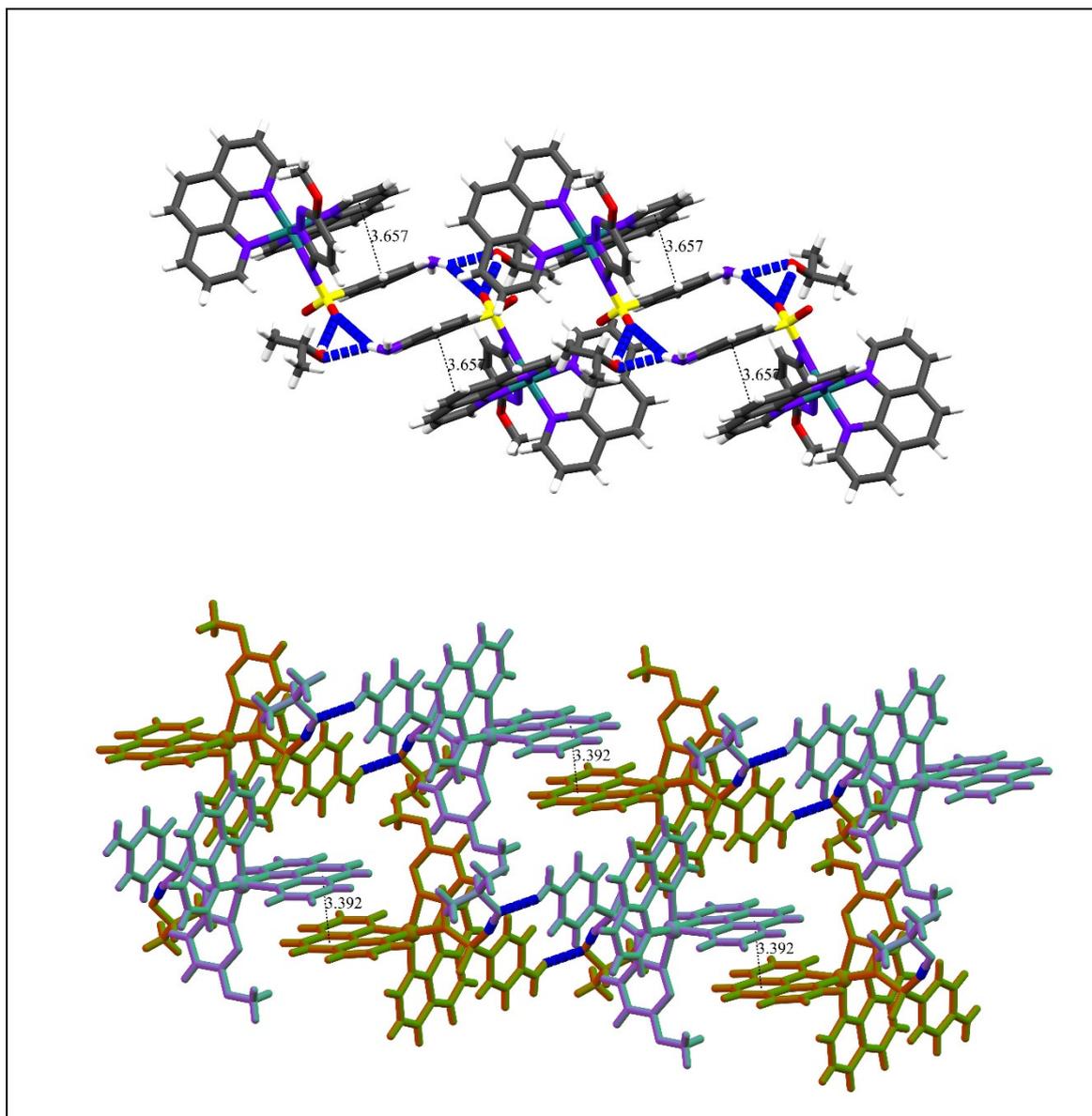
1419 É oportuno destacar que as interações π - π aromáticas podem ocorrer por três
1420 maneiras: face a face ou face a face eclipsada; face a face deslocada, e face a lado [120],
1421 neste trabalho identificamos interações π - π face a face e face a face eclipsada.

1422 As temperaturas de decomposição dos complexos **1** e **2** foram similares, mas não
1423 iguais. A diferença entre estas temperaturas pode estar correlacionada com as energias
1424 das redes cristalinas das fases sólidas em questão. Em termos termodinâmicos, o
1425 complexo **2** possui maior energia de rede, o que pode ser entendido como um resultado
1426 da estabilização tridimensional da estrutura.

1427



1428 **Figura 4.64** Esquema representativo das interações intermoleculares do complexo **1**, ao
1429 longo de z-90. As interações de hidrogênio clássicas entre complexo **1** e molécula de
1430 água são esquematizadas pela linha verde tracejada. As distâncias entre os centros dos
1431 anéis de bpy e smp foram calculados e são exibidos através das linhas pretas tracejadas.



1432 **Figura 4.65** Esquema representativo das interações intermoleculares (superior) e
 1433 intramoleculares (inferior) do complexo **2**, ao longo de $z+90$. As interações de
 1434 hidrogênio clássicas entre complexo **2** e molécula de álcool isopropílico são
 1435 esquematizadas pela linha azul. As distâncias entre os centros dos anéis de phen e smp,
 1436 e phen e phen, foram calculados e são exibidos através das linhas pretas tracejadas.

1437 **4.1.8 Atividade citotóxica e fotocitotóxica em células tumorais (Determinação da** 1438 **CI₅₀)**

1439 A sensibilidade de células de leucemia mielóide crônica, linhagem K562, aos
 1440 ligantes e aos complexos foi avaliada e a CI₅₀ determinada. Na Tabela 4.14 estão
 1441 disponíveis os valores de CI₅₀ dos ligantes bpy, phen, smp, smz, spd, smx e ssz e dos
 1442 complexos **1** a **10**. Foi possível identificar através das curvas dose-resposta dos
 1443 compostos que a inibição do crescimento das células tumorais é dependente da
 1444 concentração. Essa dependência foi observada para os ligantes e complexos.

1445 **Tabela 4.14** Valores de CI_{50} para os ligantes bpy, phen, smp, smx e aos complexos de **1**
 1446 a **10** com tempo de incubação de 72 horas.

Composto	CI_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
bpy	29,9
phen	3,17
smp	32,13
smz	>100
spd	>100
smx	>100
ssz	21,10
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bpy) ₂]	88,00
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (phen) ₂]	>100
complexo 1	3,80
complexo 2	2,00
complexo 3	7,99
complexo 4	3,99
complexo 5	6,23
complexo 6	4,05
complexo 7	21,61
complexo 8	3,90
complexo 9	9,71
complexo 10	6,46

1447

1448 Todos os complexos foram mais ativos que as sulfonamidas empregadas em seu
 1449 preparo. Dentre os complexos sintetizados a partir do precursor *cis*-[RuCl₂(phen)₂],
 1450 apenas o complexo **2** foi mais ativo que o ligante livre phen. Embora os valores de CI_{50}
 1451 dos complexos **4**, **6**, **8** e **10** não sejam menores do que o da phen, estes complexos se
 1452 apresentam como promissores agentes para tratamento do câncer uma vez que a phen
 1453 livre é muito tóxica.

1454 Todos os complexos sintetizados a partir do precursor *cis*-[RuCl₂(bpy)₂] foram
 1455 mais ativos que o ligante livre bpy. Os complexos de **2**, **4**, **6**, **8** e **10** mostraram-se mais
 1456 ativos que os complexos **1**, **3**, **5**, **7** e **9**. A substituição da bpy pela phen aprimora a
 1457 atividade citotóxica do complexo. A phen possui maior extensão π , o que a torna melhor
 1458 intercalante entre os pares de base do ADN, além de os complexos formados com esse
 1459 ligante serem mais lipofílicos.

1460 Ademais, dentre os complexos com as diferentes sulfas utilizadas, os complexos
 1461 com a smp (complexo **1** e **2**) são os mais ativos.

1462 A CI_{50} da cisplatina nas mesmas condições experimentais é de 1,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$
 1463 [121]. É possível observar que apenas o complexo **2** apresenta atividade citotóxica
 1464 próxima à da cisplatina, os demais são significativamente menos ativos. Nas mesmas
 1465 condições experimentais, os valores de CI_{50} de complexos de Bi(III) e Ga(III) com a ssz

1466 são 21,1 e 18,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ [79]. Comparativamente, complexos de Ru(II) com o mesmo
 1467 ligante (**9** e **10**) são mais ativos na linhagem K562.

1468 O efeito da exposição à luz UV-A na atividade citotóxica dos complexos **1**, **2**, **3**,
 1469 **4**, **9** e **10** foi investigado. Na Tabela 4.16, são apresentados os valores de CI_{50} obtidos no
 1470 escuro e após exposição a luz UV-A. A irradiação com luz UV-A por 5 minutos induz
 1471 um aumento significativo na atividade citotóxica destes complexos, o que é evidenciado
 1472 pelos altos índices de fotocitotoxicidade, que chega a 100 para o complexo **2**.

1473 Os complexos **1**, **2**, **3**, **4**, **9** e **10** são mais fotoativos que os complexos
 1474 $[\text{Ru}(\text{phen})(\text{L})\text{dmsocI}]\text{PF}_6$ (L= N'-(6-oxo-1,10-fenantrolina-5(6H)-ilideno)tiofeno-2-
 1475 carbohidrazida ou N'-(6-oxo-1,10-fenantrolina-5(6H)-ilideno)furano-2-carbohidrazida),
 1476 sintetizados no grupo da professora Elene Cristina Pereira Maia, que possuem CI_{50} de
 1477 18,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$, após irradiação nas mesmas condições experimentais [122].

1478 Estes resultados colocam os complexos **1**, **2**, **3**, **4**, **9** e **10** como candidatos ao uso
 1479 em terapia fotodinâmica.

1480 **Tabela 4.15** Valores de CI_{50} para complexos **1**, **2**, **3**, **4**, **9** e **10** com e sem irradiação UV-
 1481 A por 5 minutos, tempo de incubação de 4 horas.

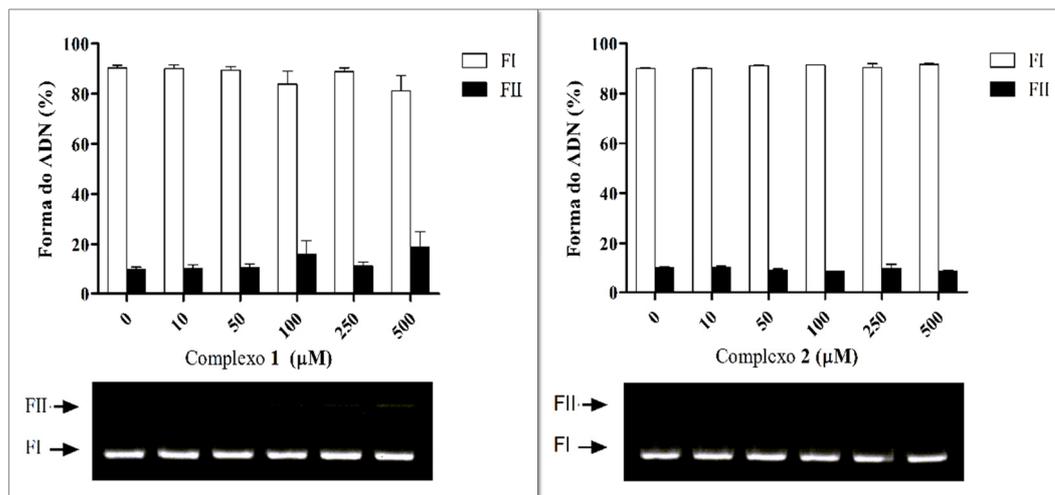
Complexo	CI_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) escuro	CI_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) irradiado	Índices de fotocitotoxicidade
			$\text{CI}_{50\text{escuro}} / \text{CI}_{50\text{irradiado}}$
1	3.00 ± 0.19	0.23 ± 0.01	17
2	2.00 ± 0.10	0.02 ± 0.001	100
3	3.00 ± 0.19	0.30 ± 0.01	10.0
4	2.60 ± 0.10	0.25 ± 0.01	10.4
9	24.72 ± 0.30	8.90 ± 0.16	2.78
10	8.90 ± 0.20	0.92 ± 0.01	9.67

1482 **4.1.9 Clivagem e fotoclivagem do ADN plasmidial**

1483 Uma vez que complexos metálicos podem clivar a fita de ADN foram realizados
 1484 testes de clivagem do ADN plasmidial após exposição à luz UV-A por 5, 10 e 15
 1485 minutos para complexos **1** e **2**. Estes testes foram executados no grupo de pesquisa do
 1486 professor Hernán Terenzi da UFSC pelo estudante Philippe Gabriel. As condições do

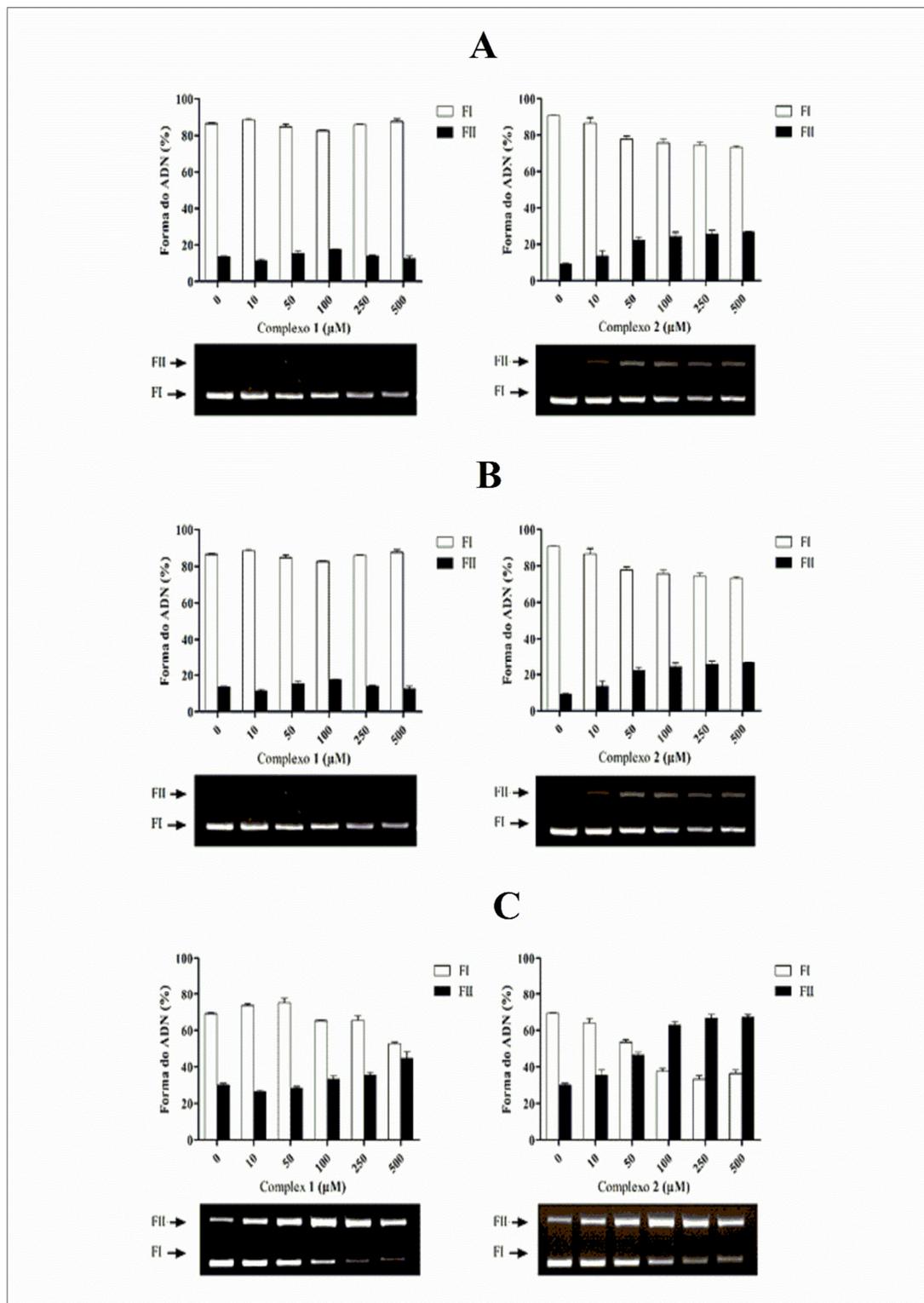
1487 meio reacional estão indicadas na legenda de cada Figura. Todos os ensaios foram
1488 realizados em triplicata e nas Figuras estão expostas a média destes resultados.

1489 Os resultados desses estudos mostraram que no escuro não ocorre clivagem da
1490 fita de ADN para complexos **1** e **2** (Figura 4.66). Porém, os resultados foram
1491 promissores revelando um aumento considerável na fotoclivagem do ADN plasmidial
1492 após exposição de luz UV-A em diferentes intervalos de tempo 5, 10 e 15 minutos
1493 (Figura 4.67).



1494 **Figura 4.66** Clivagem do DNA plasmidial pBSK-II pelos complexos **1** (à esquerda) e **2**
1495 (à direita) na ausência de luz UV. Condições reacionais: [DNA] = 330 ng, ~ 25 μM;
1496 [Tampão] = Hepes (10 mM, pH 7,0); [complexos] = 0 a 500 μM; Temperatura = 37 °C;
1497 Tempo = 16 horas ao abrigo de luz. Eletroforese em gel de agarose. Resultados
1498 expressos como média ± desvio padrão de três experimentos independentes.

1499 A fotoclivagem de ADN é dependente da concentração dos complexos **1** e **2**. A
1500 exposição de luz UV-A por 5 minutos não causou clivagem muito significativa,
1501 conforme representado na Figura 4.67 A. Porém, após 10 min de radiação (Figura 4.67
1502 B), o complexo **1** na concentração de 50 μM converte cerca de 25% da forma super-
1503 enovelada (FI) à forma circular aberta (FII). O complexo **2** é mais ativo, convertendo
1504 aproximadamente 45% de ADN super-enovelado para a forma circular aberta nas
1505 mesmas condições. A ausência da forma linear (FIII) significa que os complexos apenas
1506 induzem a cisão de uma cadeia simples na molécula de ADN. A partir de 100 μM, os
1507 eventos de clivagem atingem a saturação. Após 15 minutos (Figura 4.67 C) de
1508 exposição à luz UV-A o complexo **1** provoca cerca de 45% de clivagem de ADN
1509 enquanto que o complexo **2** cerca de 70% de clivagem de ADN. Os percentuais de
1510 clivagem de ADN pelos complexos **1** e **2**, a 100 μM, na ausência de luz e após 5, 10 e
1511 15 minutos de exposição à luz UV, são apresentados na Figura 4.68.



1513

1514

1515 **Figura 4.67** Fotoclivagem do DNA plasmidial pBSK-II pelos complexos 1 (à esquerda)

1516 e 2 (à direita). Condições reacionais: [ADN] = 330 ng, ~ 25 μM; [Tampão] = HEPES (10

1517 mM, pH 7,0); [complexo] = 0 a 500 μM; Tempo = 5 minutos (A), 10 minutos (B), 15

1518 minutos (C) sob luz UV. Eletroforese em gel de agarose. Resultados expressos como

1519 média ± desvio padrão de três experimentos independentes.

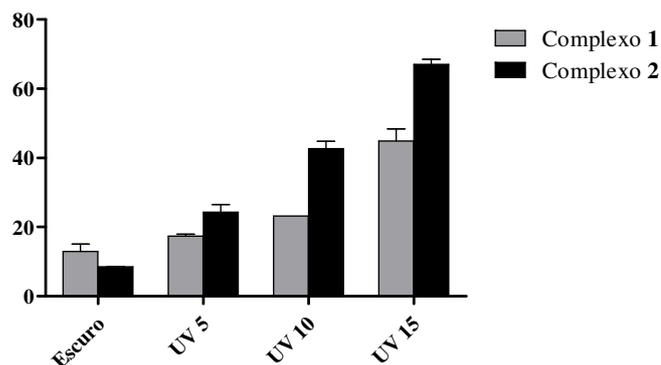


Figura 4.68 Comparação da atividade de clivagem de ADN nos complexos 1 e 2 a 100 μ M (em ausência de luz durante 16 h e após diferentes tempos de exposição à luz UV).

Assim, foi possível observar que esses complexos apresentaram atividade de clivagem ao ADN plasmidial convertendo a forma F1 em F2, sem adição de qualquer agente redutor ou oxidante.

1520 **4.1.10 Estudo de interação dos complexos 3 e 4 com CT-ADN: análise por**
 1521 **espectroscopia eletrônica no ultravioleta visível (UV-Vis)**

1522 A fim de verificar a interação dos complexos 3 e 4 com o ADN fizemos
 1523 titulações espectrofotométrica desses complexos com o CT-ADN conforme protocolo
 1524 descrito no capítulo 3 tópico 3.2.5.2. Buscou-se ainda compreender a natureza e a
 1525 intensidade destas interações.

1526 Com o propósito de comparar as forças de ligações entre estes complexos, a
 1527 constante de ligação, K_b , foi calculada de acordo com a equação:

1528
$$[ADN] / (\epsilon_a - \epsilon_f) = [ADN] / (\epsilon_0 - \epsilon_f) + 1/K(\epsilon_0 - \epsilon_f), \text{ onde,}$$

1529 $[ADN]$ é a concentração do par de bases do DNA,

1530 ϵ_a = é a relação entre a absorvância medida e a concentração de composto em estudo
 1531 ($A_{obs}/[composto]$);

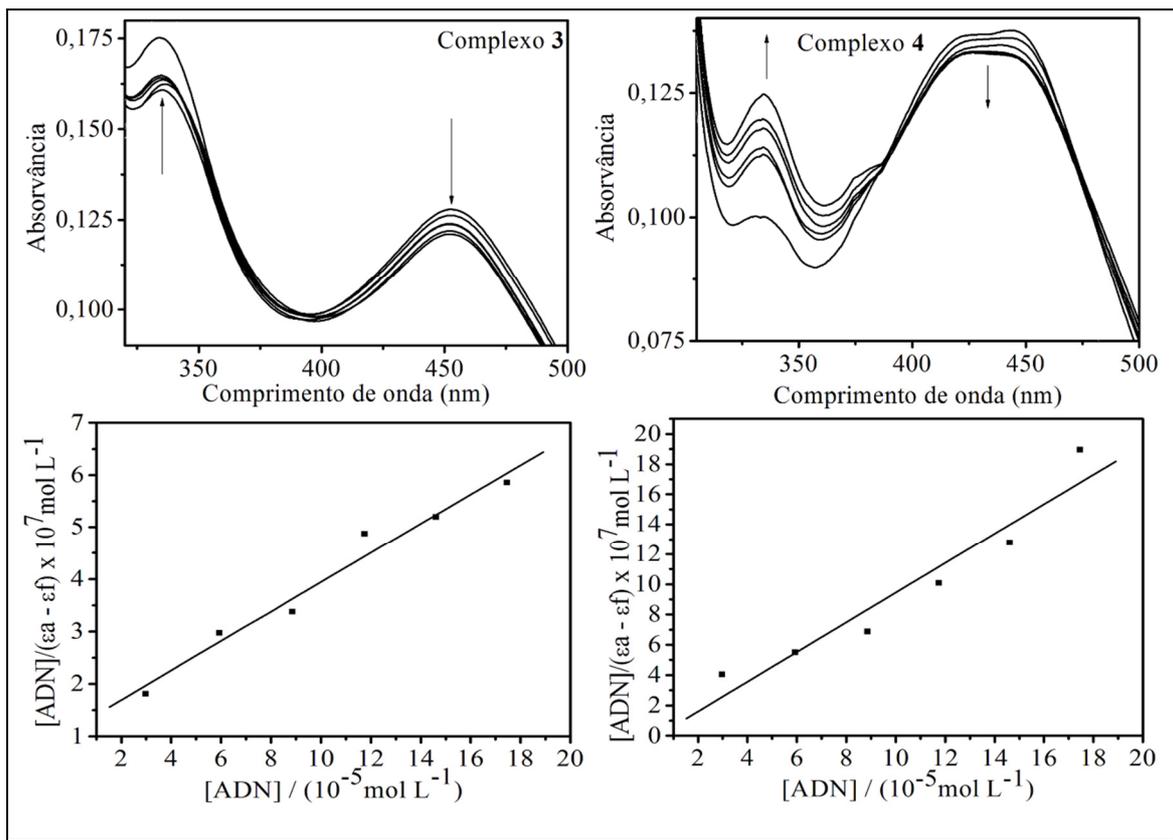
1532 ϵ_b = coeficiente de extinção do composto ligado ao ADN;

1533 ϵ_f = coeficiente de extinção do composto livre em solução (na ausência de ADN). A
 1534 constante de ligação (K_b) pode ser obtida pela razão da inclinação pela interseção da
 1535 reta $[ADN]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ em função da $[ADN]$ [123].

1536 Segundo Firdaus e colaboradores (2008) alterações observadas nos espectros de
1537 UV-vis de CT-ADN podem fornecer evidências de interações e da natureza das mesmas
1538 [124].

1539 Os gráficos das titulações espectrofotométricas dos complexos **3** e **4** com CT-
1540 ADN são mostrados na Figura 4.69. Observa-se que a adição de CT-ADN induz efeito
1541 hipocrômico ($\lambda=454$ nm para o complexo **3** e $\lambda=449$ nm para o complexo **4**) nos
1542 espectros dos compostos. Podem ser observados dois pontos isobésticos em 355 e 476
1543 nm para complexo **3** e em 387 e 456 nm para complexo **4**. Para cálculo das constantes
1544 de ligação consideraram-se as variações nas absorvâncias em $\lambda=454$ nm no complexo **3**
1545 e $\lambda=449$ nm no complexo **4**.

1546 As constantes de afinidade pelo ADN são: $2,8 \times 10^4$ mol L⁻¹ para o complexo **3** e
1547 $2,5 \times 10^5$ mol L⁻¹ para complexo **4**. Observe que a substituição da bpy pela phen causa
1548 um aumento na afinidade pelo ADN de 10 vezes. Cabe destacar, que estes valores são
1549 menores do que os reportados para intercaladores clássicos e metalintercaladores [125],
1550 tais como complexos polipiridínicos de rutênio [Ru(phen)₂(dppz)]²⁺, cujas constantes de
1551 ligação são da ordem de 10^6 e 10^7 M⁻¹ [36]. Isso reflete a existência de interação
1552 intermediária entre esta biomolécula e o complexo de Ru(II).



1553 **Figura 4.69** Espectros de soluções contendo os complexos **3** (superior) e **4** ($3,0 \times 10^{-5}$
 1554 mol L^{-1}) e crescentes concentrações de ADN de 0 a $6,2 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ em tampão TRIS
 1555 pH 7,2. Inferior: plotagem de $[\text{ADN}]/(\epsilon a - \epsilon f)$ versus $[\text{ADN}]$, $\lambda=334\text{nm}$.

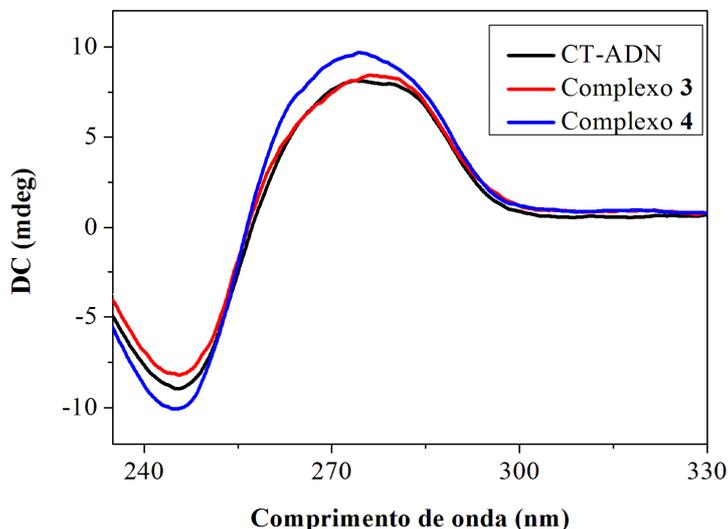
1556

1557 **4.1.11 Estudo de interação dos complexos 3 e 4 com ADN: análise por**
 1558 **espectroscopia de dicroísmo circular (CD)**

1559 A espectroscopia de dicroísmo circular (CD) é uma técnica útil para diagnosticar
 1560 alterações na morfologia do ADN durante as interações fármaco-ADN, já que os sinais
 1561 de CD são bastante sensíveis ao modo de interação do DNA com pequenas moléculas
 1562 [123, 126, 127].

1563 Os complexos estudados não apresentaram espectros de CD, pois são aquirais. O
 1564 espectro de CD do ADN livre é composto por uma banda positiva em 275 nm, devido
 1565 ao empilhamento de bases, e uma negativa em 245 nm, devido à helicidade direita do B-
 1566 ADN. A adição do complexo **4** modificou o espectro de CD do ADN, ocorrendo um
 1567 ligeiro aumento na banda positiva e diminuição na banda negativa (Figura 4.70). As
 1568 mudanças induzidas pelo composto **4** são mais significativas, o que é compatível com
 1569 os valores de constantes de afinidade determinadas a partir de dados UV-Vis.
 1570 Alterações na banda positiva estão relacionadas a interação do tipo π - π existentes entre
 1571 os intercalantes e as bases nitrogenadas do ADN, e a alteração na banda negativa são

1572 decorrentes de mudança na elipsicidade da forma B do ADN [126]. Chen e
1573 colaboradores destacam que a intercalação de um complexo entre as fitas do ADN
1574 geralmente resulta em hipocromismo e batocromismo no espectro CD [127].



1575 **Figura 4.70** Espectro de dicroísmo circular de CT-DNA ($1,5 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹) em $2,5 \times 10^{-3}$
1576 mol L⁻¹ de tampão Tris pH 7,2 na ausência e presença dos complexos **3** e **4** ($3,9 \times 10^{-5}$
1577 mol L⁻¹).

1578 **4.1.12 Estudo de interação de complexos de Ru(II) com albumina sérica bovina**

1579

1580 No processo de planejamento de um novo medicamento uma etapa inicial
1581 envolve o estudo de interação dos fármacos com proteínas, como por exemplo a
1582 albumina. A albumina, no organismo humano, é responsável por armazenar, transportar,
1583 metabolizar e excretar ampla gama de ligantes exógenos e endógenos através da
1584 formação de adutos. Entre albuminas disponíveis no mercado, a do soro bovino (BSA)
1585 tem sido muito empregada em estudos biomiméticos, devido à sua estabilidade,
1586 disponibilidade, baixo custo e semelhança estrutural com a albumina humana (HSA)
1587 [128]. A estabilidade da ligação de um composto à albumina sérica é importante para
1588 estimar a sua utilidade como agente terapêutico. Os níveis de dose eficazes para um
1589 fármaco devem basear-se no nível de fármaco não ligado na circulação porque a ligação
1590 à albumina sérica impede a ligação ao seu receptor.

1591 Em solução, a BSA exibe forte sinal fluorescente, devido aos dois resíduos de
1592 triptofano, Trp134 e Trp212, com máximo em 340 nm, quando excitada em 280 nm. A
1593 adição de complexos provoca uma extinção nesta banda, indicando que os complexos
1594 interagem com a proteína [19, 27, 128]. Deste modo, a interação dos complexos **1** a **10**

1595 com a BSA foi investigada por espectroscopia de fluorescência. Cabe destacar que os
1596 complexos **1** a **10** não são fluorescentes na mesma região que a BSA. As mudanças
1597 espectrais nas titulações de BSA com os complexos **1** a **10** podem ser observadas nas
1598 Figuras 4.71 e 4.72.

1599 A partir destes resultados foi possível determinar a constante de ligação dos
1600 complexos **1** a **10** com BSA. A intensidade de fluorescência relativa é diretamente
1601 proporcional à concentração do quencher (complexos **1** a **10**). Os dados de fluorescência
1602 foram analisados com a ajuda da equação de Stern-Volmer, $F_0 / F = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 +$
1603 K_{sv} . Em que F_0 e F são as intensidades relativas de fluorescência da BSA na ausência e
1604 presença do supressor, respectivamente. k_q é a constante de velocidade bimolecular de
1605 quenching, τ_0 é o tempo de vida médio do fluoróforo na ausência de quenching (10^{-8} s),
1606 $[Q]$ é a concentração do quenching, e o produto $k_q \tau_0$ é conhecido como constante de
1607 Stern-Volmer (K_{sv}). Assim, usando a equação de *Stern-Volmer* foi possível obter as retas
1608 apresentadas nas Figuras 4.72 e 4.73, sendo que o coeficiente angular de cada reta
1609 representa a constante de associação composto-BSA (K_{sv}) [19, 128].

1610

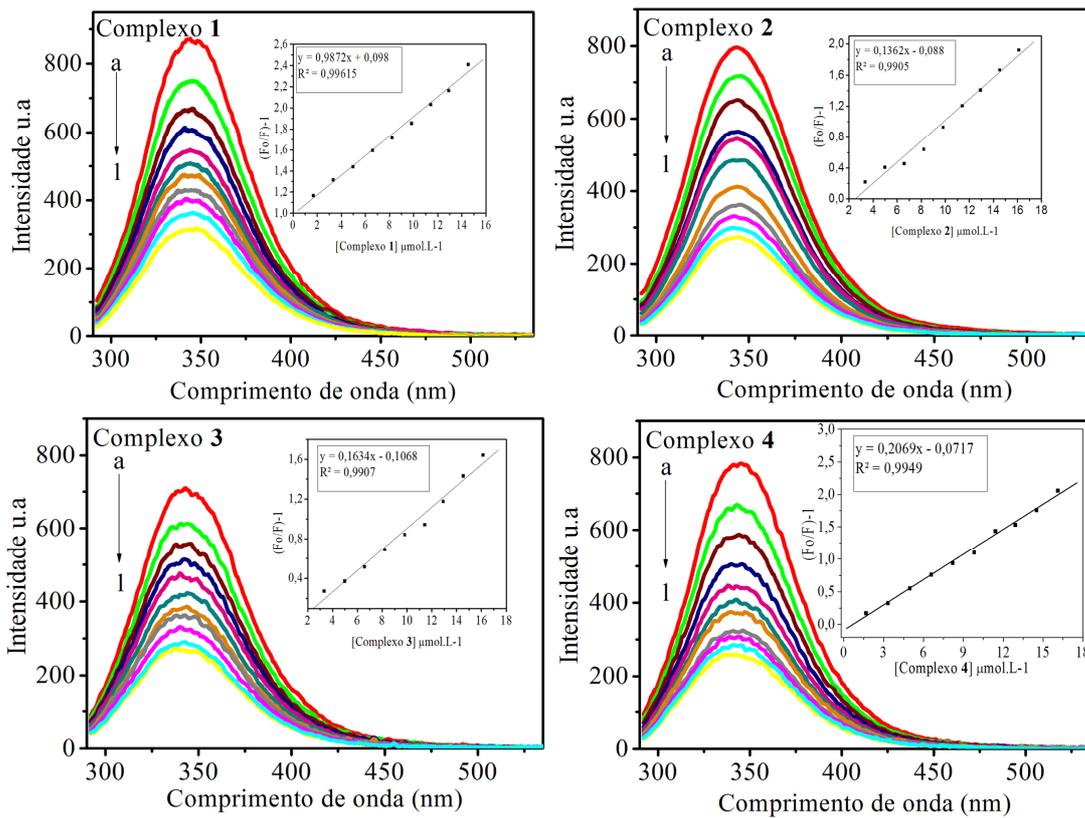


Figura 4.71 Interações dos complexos 1, 2, 3 e 4 com albumina sérica bovina. Espectros de emissão de fluorescência da BSA ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $\lambda_{\text{excitação}} = 280 \text{ nm}$) na presença de concentrações crescentes dos complexos. Relação molar complexo-BSA variando de (a= 0, b=1,66, c=1,65, d=4,95, e=6,57, f=8,19, g=9,8, h=11,4, i= 12,9, j=14, 5, l=16,1). Retra inserida: plotagem de $[(F_0-F)-1]$ vs $[\text{complexo}]$.

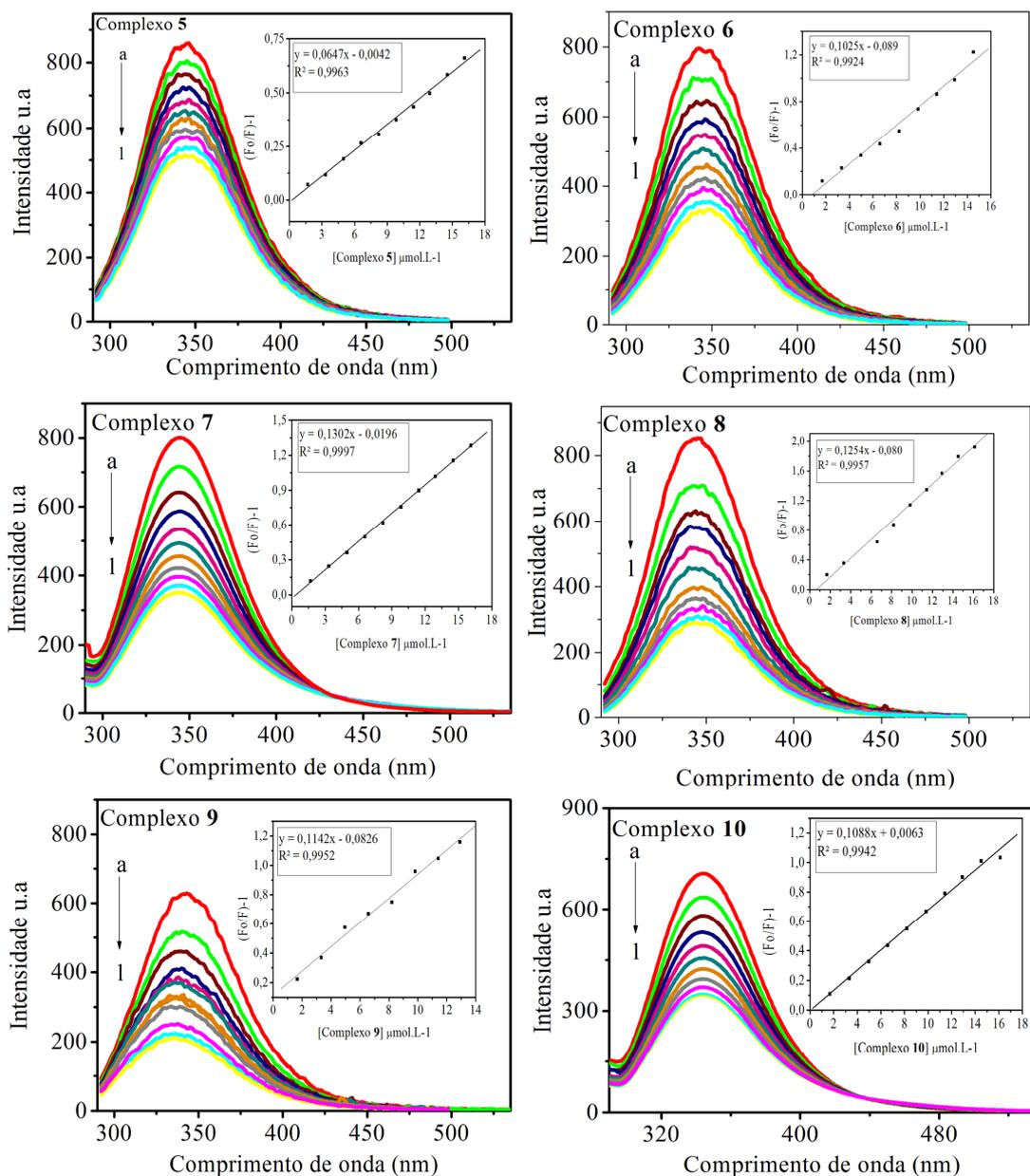


Figura 4.72 Interações dos complexos **5**, **6**, **7**, **8**, **9** e **10** com albumina sérica bovina. Espectros de emissão de fluorescência da BSA ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $\lambda_{\text{excitação}} = 280 \text{ nm}$) na presença de concentrações crescentes dos complexos. Relação molar complexo-BSA variando de (a= 0, b=1,66, c=1,65, d=4,95, e=6,57, f=8,19, g=9,8, h=11,4, i= 12,9, j=14,5, l=16,1). Reta inserida: plotagem de $[(F_0 - F)/F]$ vs [complexo].

1612 Conforme apresentado anteriormente, a afinidade de compostos pela BSA é um
 1613 parâmetro muito relevante para o design de novos fármacos. Este parâmetro pode ser
 1614 obtido pela equação $\log\{(F_0 - F)/F\} = \log K_s + n \log [Q]$, na qual K_s é a constante de
 1615 associação, n é o número de sítios de ligação e $[Q]$ é a concentração do complexo de
 1616 rutênio [128]. A partir dessa equação, foram construídos os gráficos de $\log\{(F_0 - F)/F\}$ em

1617 função do logaritmo da concentração do complexo, conforme representados nas Figuras
1618 4.73 a 4.77.

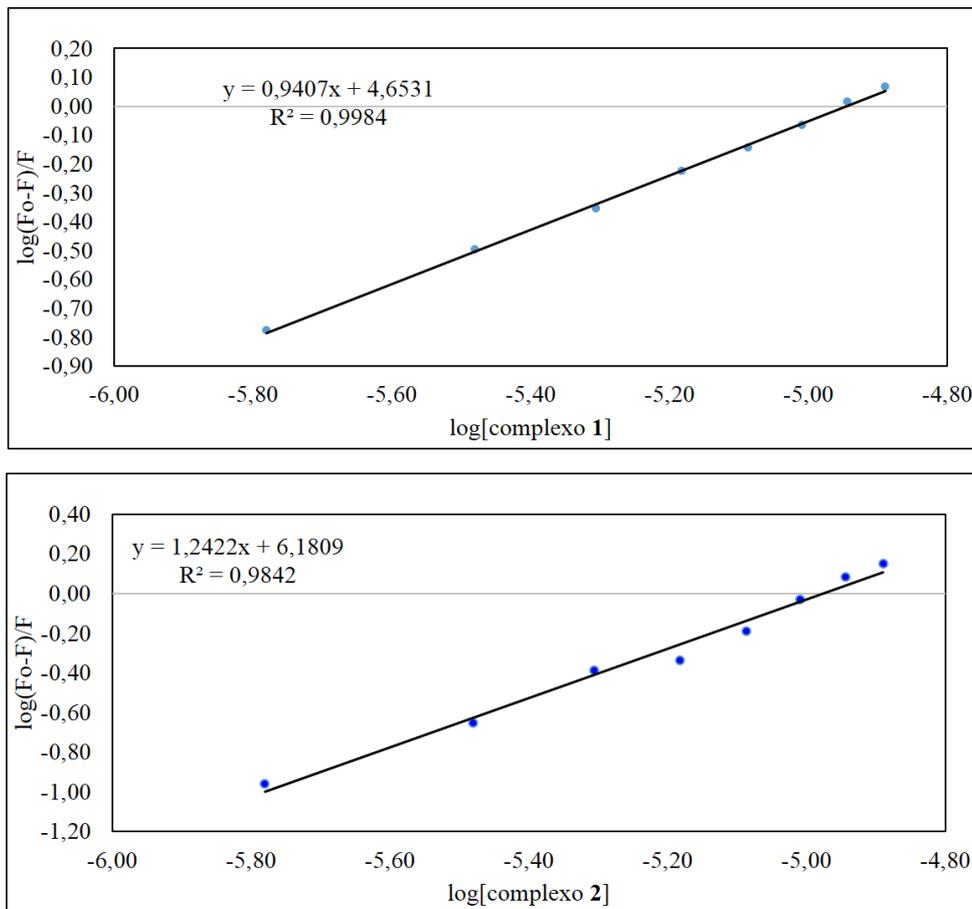


Figura 4.73 Gráficos de $\log\{(F_o-F)/F\}$ versus $\log[Q]$, para os complexos **1** (esquerda), e **2** (direita).

1619

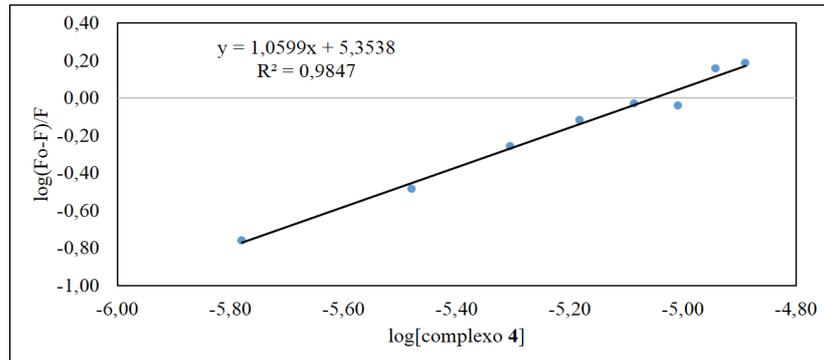
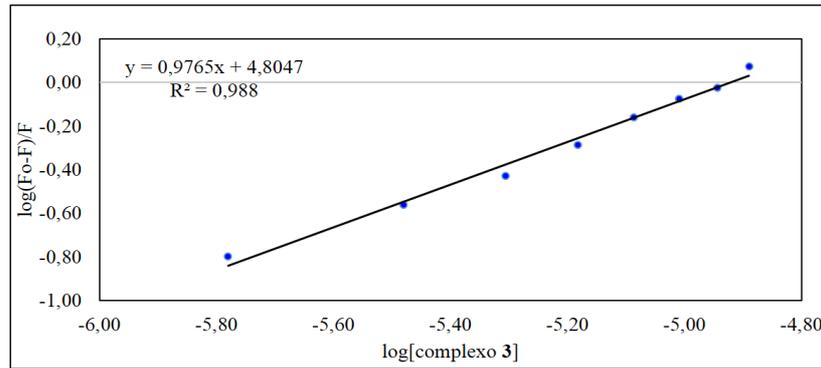
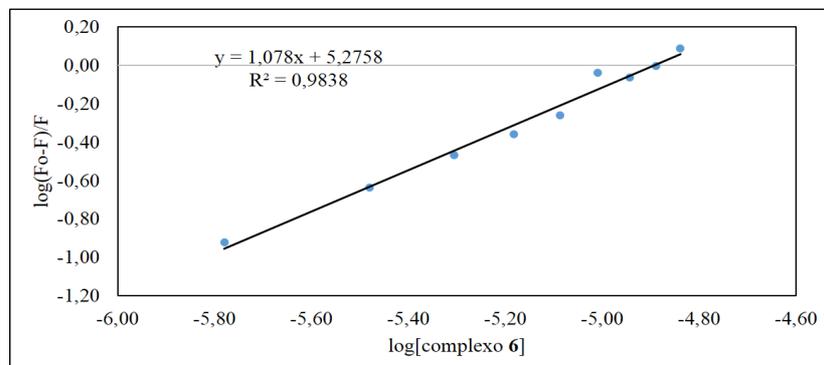
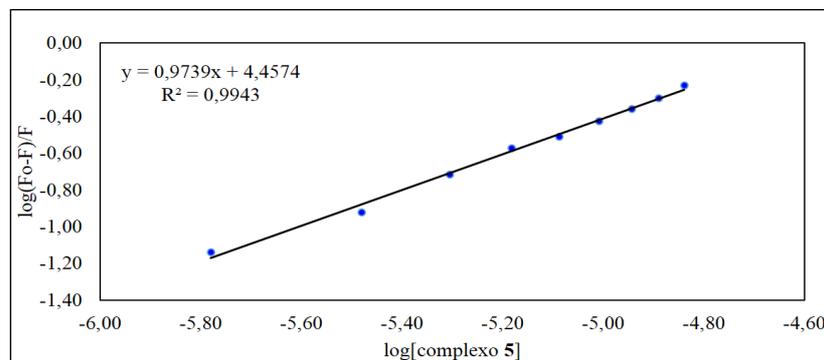


Figura 4.74 Gráficos de $\log\{(F_0-F)/F\}$ versus $\log[Q]$, para os complexos **3** (esquerda), e **4** (direita).



1620
1621 **Figura 4.75** Gráficos de $\log\{(F_0-F)/F\}$ versus $\log[Q]$, para os complexos **5** (esquerda), e
1622 **6** (direita).

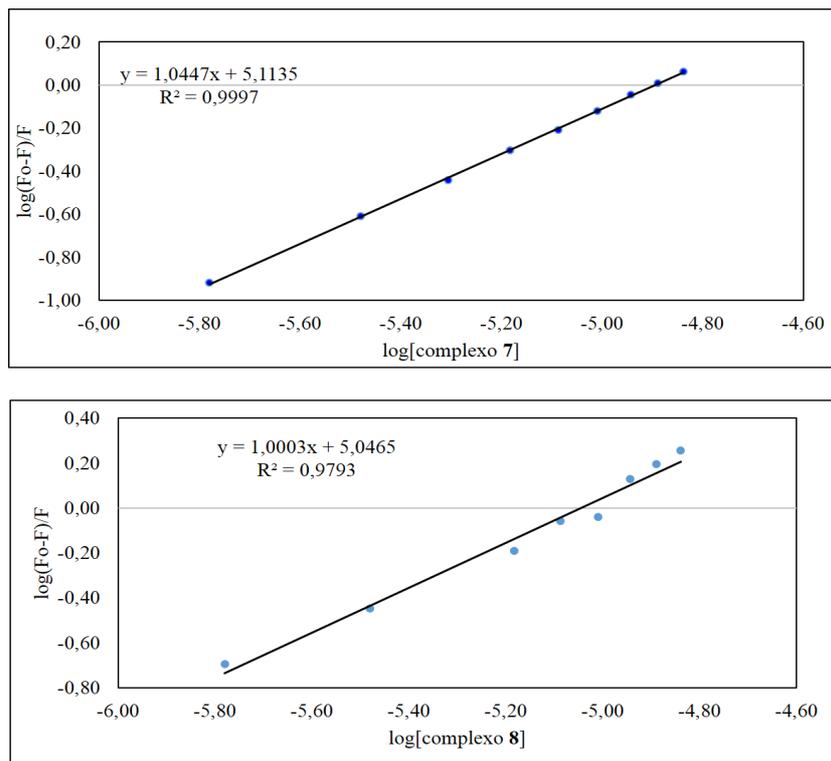
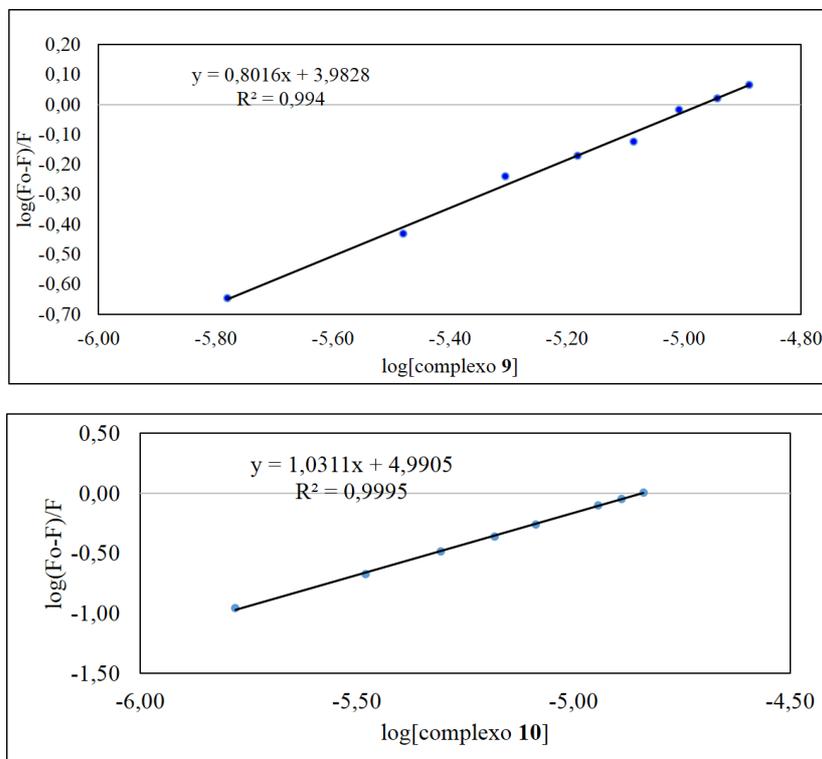


Figura 4.76 Gráficos de $\log\{(F_o-F)/F\}$ versus $\log[Q]$, para os complexos **7** (esquerda), e **8** (direita).



1623
1624
1625

Figura 4.77 Gráficos de $\log\{(F_o-F)/F\}$ versus $\log[Q]$, para os complexos **9** (esquerda), e **10** (direita).

1626 Os valores de constante de velocidade bimolecular de *quenching* (k_q), Stern-
 1627 Volmer (K_{sv}), as constantes de ligação (K_b) e o número de sítios de ligação obtidos para
 1628 os complexos **1** a **10** estão listados na Tabela 4.16. Para a extinção dinâmica, a constante
 1629 de extinção de colisão de dispersão máxima de vários quenching (k_q), é $2,0 \times 10^{10}$ L
 1630 $\text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$ [129]. Como os valores de k_q calculados são muito maiores do que isso, a
 1631 extinção da fluorescência de BSA pelos complexos **1** a **10** é provavelmente devido a um
 1632 mecanismo de extinção estática.

1633 Estudos de interação da BSA e complexos de rutênio com ligantes N-
 1634 heterocíclicos já foram relatados [19, 27, 128, 130, 131, 132, 133, 134]. Estes estudos
 1635 reportaram que as constantes de Stern-Volmer (K_{sv}) e as constantes de ligação (K_b) são
 1636 da ordem de 10^4 e 10^5 L mol^{-1} . Portanto, os valores das constantes de interação BSA-
 1637 complexos, obtidos no presente trabalho, são comparáveis a outros valores descritos na
 1638 literatura para complexos de rutênio.

1639 As constantes de ligação obtidas (K_b), apresentadas na Tabela 4.16, mostraram
 1640 que o complexo **2** tem uma maior afinidade para BSA. Para todos os compostos, o
 1641 número de sítio ligante é aproximadamente 1, evidenciando, assim, que apenas uma
 1642 molécula do complexo de rutênio está inserida nos arcabouços proteicos (Tabela 4.16).

1643 A constante de ligação de um composto à albumina sérica bovina deve ser
 1644 suficientemente elevada para garantir o seu transporte e distribuição mas
 1645 suficientemente baixa para assegurar que o composto será liberado para atingir o seu
 1646 alvo farmacológico [135]. As constantes de ligação dos complexos **1** a **10** estão entre
 1647 $8,19 \times 10^4$ e $2,47 \times 10^6$ L mol^{-1} .

1648 **Tabela 4.16** Constantes de Stern-Volmer (K_{sv}), constante de velocidade bimolecular de
 1649 supressão (k_q), constante de ligação (K_b), número de sítios de ligação (n) e coeficientes
 1650 de determinação da regressão linear (R^2) para a interação dos complexos de rutênio(II)
 1651 de ligantes mistos.

compostos	K_{sv} (L mol^{-1})	k_q (L $\text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$)	K_b (L mol^{-1})	n	R^2
complexo 1	$1,02 \times 10^5$	$1,02 \times 10^{13}$	$4,50 \times 10^4$	0,99	0,9733
complexo 2	$1,28 \times 10^5$	$1,28 \times 10^{13}$	$1,52 \times 10^6$	0,99	0,9793
complexo 3	$1,63 \times 10^5$	$1,63 \times 10^{13}$	$6,38 \times 10^5$	1,00	0,9816
complexo 4	$2,07 \times 10^5$	$2,07 \times 10^{13}$	$2,26 \times 10^5$	1,00	0,9949
complexo 5	$4,20 \times 10^4$	$4,20 \times 10^{12}$	$2,87 \times 10^4$	0,98	0,9963
complexo 6	$1,43 \times 10^5$	$1,43 \times 10^{12}$	$1,89 \times 10^5$	1,00	0,9822
complexo 7	$1,30 \times 10^5$	$1,30 \times 10^{13}$	$1,30 \times 10^5$	1,00	0,9997
complexo 8	$2,14 \times 10^5$	$2,14 \times 10^{13}$	$1,11 \times 10^5$	1,00	0,9578
complexo 9	$1,69 \times 10^5$	$1,63 \times 10^{13}$	$9,61 \times 10^3$	0,89	0,9588
complexo 10	$1,09 \times 10^5$	$1,09 \times 10^{13}$	$9,78 \times 10^4$	1,00	0,9942

1652

1653 Com relação à terapia fotodinâmica, a irradiação de um agente fotoativador na
1654 presença de oxigênio gera espécies reativas de oxigênio (como o ânion radical
1655 superóxido ($O_2 \bullet^-$), o dióxigênio singleto (1O_2), o radical hidroxil ($HO\bullet$) e o peróxido
1656 de hidrogênio (H_2O_2), que degradam macromoléculas biológicas, causando a morte
1657 celular [6,18]. Visando avaliar a possibilidade do envolvimento de proteínas no
1658 mecanismo da fotocitotoxicidade dos complexos, a BSA foi usada como proteína
1659 modelo. Foram registrados espectros de emissão de fluorescência de soluções de BSA
1660 na ausência e presença dos complexos **3**, **4**, **9** e **10**, no escuro e após 30 minutos de
1661 irradiação com luz UV-A, Figuras 4.78 e 4.79. Pode-se observar que, nas condições
1662 experimentais utilizadas, a albumina livre não é significativamente danificada nem pela
1663 irradiação. Foi verificado ainda que, na concentração de $1 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, a adição dos
1664 complexos não altera a emissão de fluorescência da BSA na ausência de irradiação.

1665 Após exposição por 30 min à luz UV-A, a albumina é danificada pelos
1666 compostos de rutênio. A concentração de BSA danificada foi determinada por: $[BSA \text{ danificada}] = (F_0 - F/F_0) \times [BSA]_0$, onde F_0 é intensidade de fluorescência de BSA sem
1667 adição dos complexos **3**, **4**, **9** e **10**, F é a intensidade de fluorescência após adição dos
1668 complexos e $[BSA]_0$ é a concentração inicial de BSA ($1,0 \times 10^{-6} \text{ M}$). Os valores de
1669 concentração de BSA fotodanificada pelos complexos **3**, **4**, **9** e **10** foram $2,24 \times 10^{-7}$,
1670 $4,09 \times 10^{-7}$, $5,23 \times 10^{-8}$ e $3,79 \times 10^{-7} \text{ M}$, respectivamente. Pode-se observar na Figura
1671 4.80 que o efeito fotodanificador do complexo **4** é o mais pronunciado causando uma
1672 quebra de 41 % da albumina.
1673

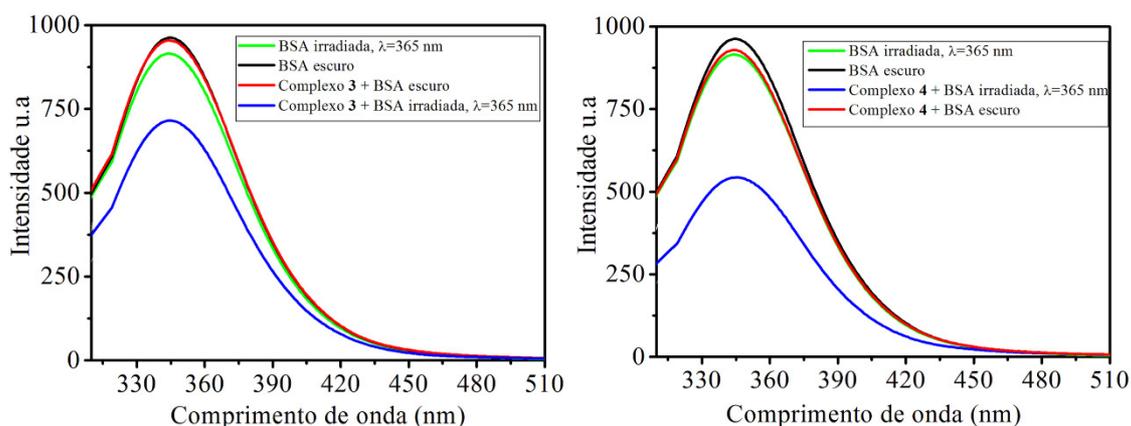


Figura 4.78 Efeito da irradiação na fluorescência da BSA e dos complexos **3** e **4**. A solução de amostra contendo $1,0 \times 10^{-6} \text{ M}$ dos complexos **3** e **4** e $1,0 \times 10^{-6} \text{ M}$ BSA em tampão Tris (pH 7,2) foi irradiada durante 30 min, $\lambda_{\text{excitação}} = 365 \text{ nm}$.

1674

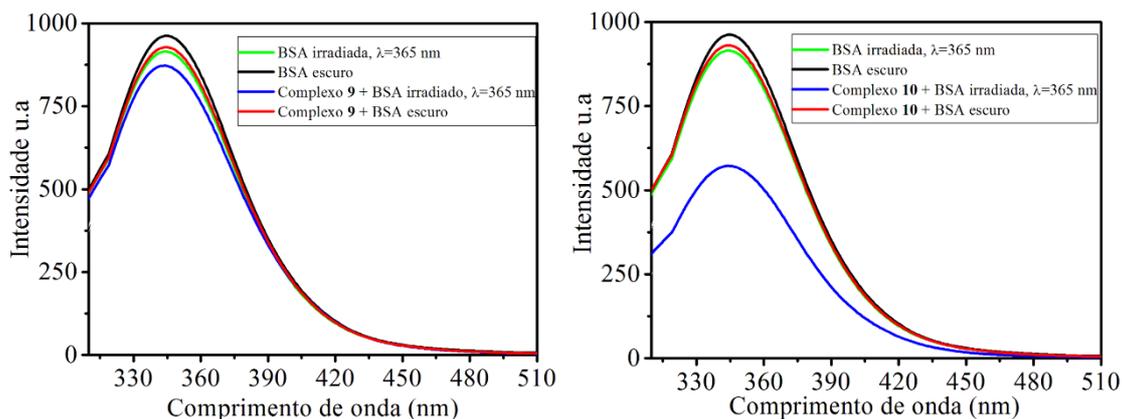
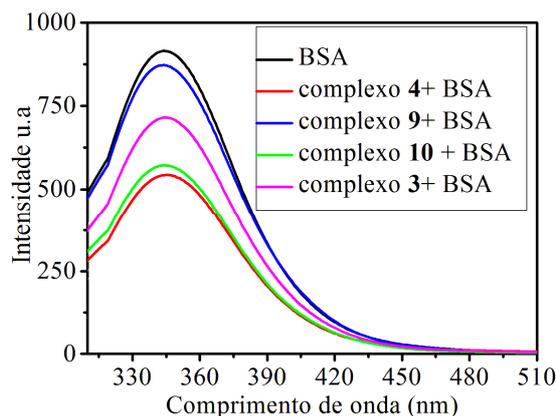


Figura 4.79 Efeito da irradiação na fluorescência da BSA e dos complexos **9** e **10**. A solução de amostra contendo $1,0 \times 10^{-6}$ M de complexos **9** e **10** e $1,0 \times 10^{-6}$ M BSA em tampão Tris (pH 7,2) foi irradiada durante 30 min, $\lambda_{\text{excitação}} = 365$ nm.

1675



1676 **Figura 4.80** Fotodegradação da BSA pelos complexos de rutênio(II). [complexo] =
 1677 [BSA] = $1,0 \times 10^{-6}$ M (pH 7,2). Tempo de irradiação = 30 min, $\lambda_{\text{excitação}} = 365$ nm.

1678 **4.1.13 Estudo de interação dos complexos 1, 2, 3, 4, 9 e 10 com domínio Abl-SH3:**
 1679 **análise por espectroscopia de fluorescência**

1680

1681 Uma vez que a ação biológica de um fármaco envolve a interação do mesmo a
 1682 uma macromolécula (receptor biológico), tipicamente uma proteína de alguma via
 1683 bioquímica associada a uma condição da doença ou disfunção em humanos, é
 1684 necessário ampliar o estudo da afinidade de um candidato a fármaco com proteínas. Na
 1685 leucemia mielóide crônica (LMC), uma alteração genética conduz à fusão dos genes
 1686 BCR e abl, que em conjunto codificam para uma forma desregulada de Abl tirosina
 1687 quinase, que é responsável pelo desenvolvimento de LMC. A atividade da quinase Abl é

1688 regulada negativamente pelos domínios de homologia Src 2 e 3, SH2 e SH3,
1689 bloqueando a proteína em um estado inativo [136]. Conforme relata Buschbeck e
1690 colaboradores a proteína Abl opera como um regulador negativo do crescimento celular
1691 e se associa a genes supressores tumorais [136].

1692 Como já mencionado no capítulo 2, complexos metálicos de Ru(II) foram
1693 sintetizados com propósito de serem ativos contra células de leucemia mielóide crônica,
1694 linhagem K562. Nesse sentido, a interação dos complexos **1**, **2**, **3**, **4**, **9** e **10** com a
1695 proteína Abl-SH3 foi investigada por espectroscopia de fluorescência. As mudanças
1696 espectrais nas titulações de Abl-SH3 com estes compostos são apresentadas na Figura
1697 4.81. A adição dos complexos provoca uma diminuição na intensidade da emissão de
1698 fluorescência centrada em 350 nm, quando excitada em 280 nm, indicando que os
1699 complexos interagem com a proteína Abl-SH3. Cabe destacar que, para os complexos **1**,
1700 **2**, **3**, **4**, **9** e **10**, não foram registradas bandas na região onde a Abl-SH3 exibe forte sinal
1701 fluorescente.

1702 Para determinar a constante de associação entre complexos e proteína Abl-SH3
1703 usou-se a equação $\log\{(F_0 - F)/F\} = \log K_b + n \log[Q]$. A constante de associação dos
1704 complexos **1**, **2**, **3**, **4**, **9** e **10**, são $1,50 \times 10^5$, $2,50 \times 10^5$, $9,78 \times 10^3$, $7,99 \times 10^6$, $4,16 \times$
1705 10^4 e $4,02 \times 10^5$ L mol⁻¹, respectivamente.

1706 Cabe destacar que este estudo foi realizado pela primeira vez, deste modo não é
1707 possível correlacionar as constantes de associação dos complexos de Ru(II) a dados da
1708 literatura.

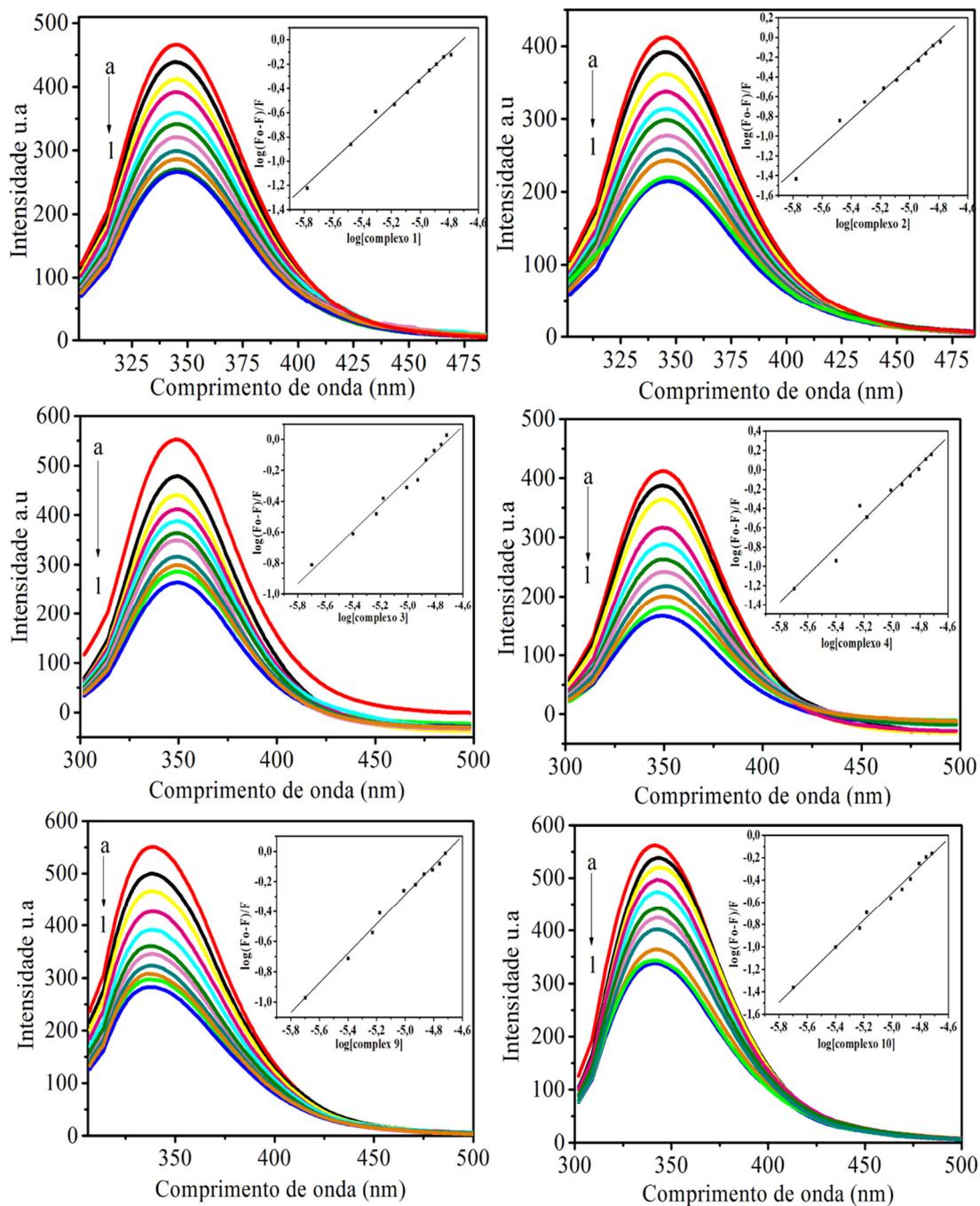


Figura 4.81 Interações dos complexos **1**, **2**, **3**, **4**, **9** e **10** com a proteína Abl-SH3. Espectros de emissão de fluorescência da Abl-SH3 ($1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹; $\lambda_{\text{excitação}} = 280$ nm) na presença de concentrações crescentes dos complexos. Relação molar complexo- Abl-SH3 variando de (a= 0, b=2,00, c=3,96, d=5,92, e=7,87, f=9,80, g=11,7, h=13,61, i= 15,5, j=17,37, l=19,2). Retra inserida: plotagem de $\log\{(F_0-F)/F\}$ versus $\log[\text{complexo}]$.

1709

1710

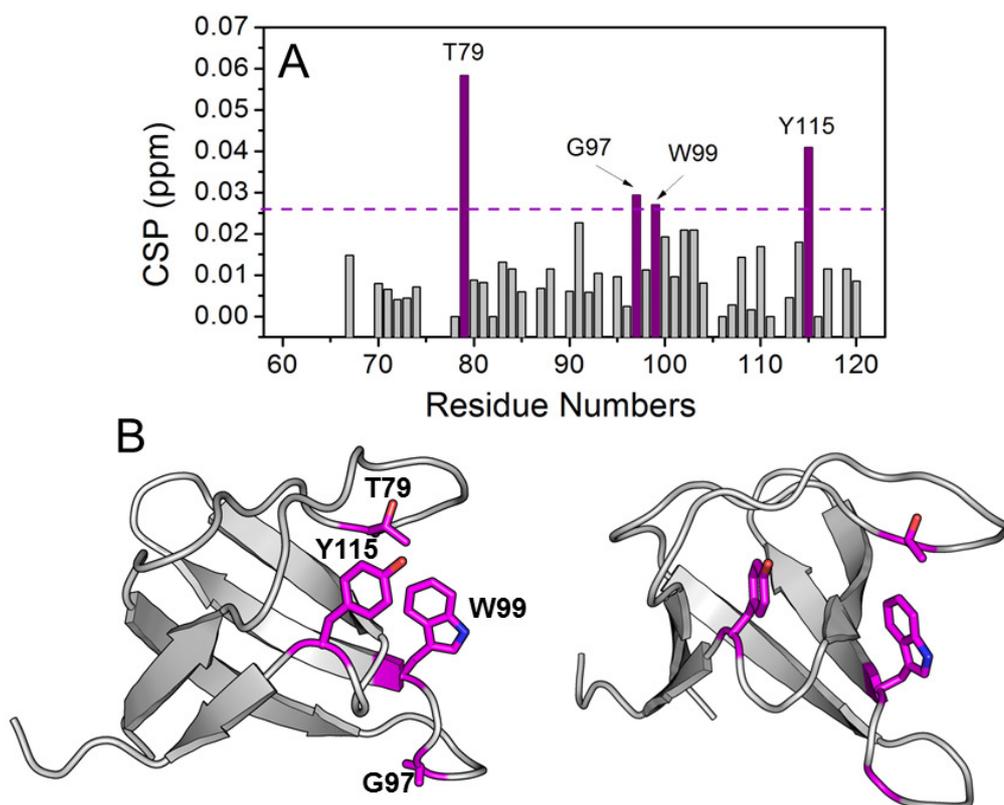
1711 **4.1.14 Estudo da interação do domínio Abl-SH3 via RMN de ¹H**

1712 A estrutura da proteína c-Abl é constituída pelos domínios regulatórios SH3 e
1713 SH2, o domínio catalítico com atividade tirosina kinase (SH1), o domínio de ligação ao
1714 ADN, as sequências ricas em prolina (PxxP) e o domínio de ligação a F-actina [137].

1715 Foram realizados ensaios de interação do complexo **2** com o domínio Abl-SH3
1716 (Figura 4.83). A interação foi mapeada utilizando-se a perturbação de desvio químico
1717 (CSP) observada no espectro de correlação heteronuclear ¹H-¹⁵N de Abl-SH3 marcado
1718 com ¹⁵N. Quatro resíduos apresentaram CSP maior que a média mais o desvio padrão de
1719 todos os CSP's: T79, G97, W99 e Y115. Esses resíduos estão destacados em magenta na
1720 Figura 4.82.

1721 O domínio SFK-SH3 é um alvo em potencial para o desenvolvimento de
1722 inibidores seletivos. Entretanto, os inibidores seletivos de desenvolvimento de SH3 são
1723 dificultados pela conservação de sequências primárias elevadas entre domínios SH3 de
1724 diferentes SFK. Deste modo, muitos esforços centralizados na descoberta de novos
1725 fármacos altamente específicos interagindo com o domínio SH3 estão sendo feitos.
1726 Recentemente, Vohidov, F e colaboradores mostraram que conjugados de ródio(II),
1727 aumentam consideravelmente a inibição do domínio SH3 da família Lyn, Lkc e Abl Src
1728 via peptídeos específicos formulados a partir de diferentes parceiros protéicos [138].
1729 Estes autores demonstraram ainda que a adição do centro conjugado de ródio(II) dobrou
1730 a afinidade dos peptídeos para SH3. Especificamente, para Abl-SH3 o metalopeptídeo
1731 produzido a partir de peptídeo P40 com a adição de um centro de ródio(II) diminui a
1732 constante de dissociação, K_d, de 0,40 μm para 22 nm [139].

1733 Nossos resultados representam o primeiro estudo focando a interação de Abl-
1734 SH3 com um complexo de rutênio(II), que pode ser combinado com outros compostos,
1735 como peptídeos e peptóides para formular inibidores de Abl-SH3 mais eficientes.



1736

1737 **Figura 4.82** (A) Coeficiente de perturbação do deslocamento químico (CSP, sigla em
 1738 inglês) em função da sequência primária ABL-SH3. Os valores de CSP foram
 1739 calculados a partir da diferença dos valores de desvio químico ^1H e ^{15}N nos espectros
 1740 HSQC ^1H - ^{15}N de ABL-SH3 marcado com ^{15}N em solução com o Complexo 2. A linha
 1741 de corte, cor magenta, é a soma do valor médio e o desvio padrão, ambos calculados
 1742 utilizando todos os valores de CSP. (B) Os resíduos com CSP superior ao valor de corte
 1743 foram coloridos em magenta na estrutura cristalina de ABL-SH3 (PDB ID: 4JJC). As
 1744 cadeias laterais desses resíduos também são destacadas.

1745

1746

1747

1748

1749

1750

1751

1752

1753

1754

1755

1756

1757

1758

1759

CAPÍTULO 5

1760 RESULTADOS E DISCUSSÃO: COMPLEXO DE RUTÊNIO(II) COM A 1761 SHYD E BYP

1762

1763

1764

1765

1766

1767

1768

1769

Neste capítulo, será descrita a síntese, caracterização e atividade antitumoral (CI₅₀) de um complexo inédito de Ru(II). As seguintes técnicas foram usadas na caracterização deste complexo: análise elementar, temperatura de decomposição, medida de condutividade, espectroscopia de absorção na região do infravermelho, espectroscopia eletrônica no ultravioleta visível (UV-Vis), espectroscopia de fluorescência, espectroscopia de massa e espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ¹H.

1770

5.1 Complexo com a hidrazida do ácido tiofenocarboxílico

1771

Complexo 11- [Ru(bpy)₂(shyd)](PF₆)₂, [Ru(C₁₀H₈N₂)₂(C₅H₆N₂OS)](PF₆)₂

1772

5.1.1 Análise elementar, condutimetria e temperatura de decomposição

1773

1774

1775

Os dados referentes aos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio, a condutividade [$\Lambda_M(\mu\text{S}/\text{cm})$] e temperatura de decomposição do complexo **11** estão listados na Tabela 5.1.

1776

1777

1778

1779

1780

1781

1782

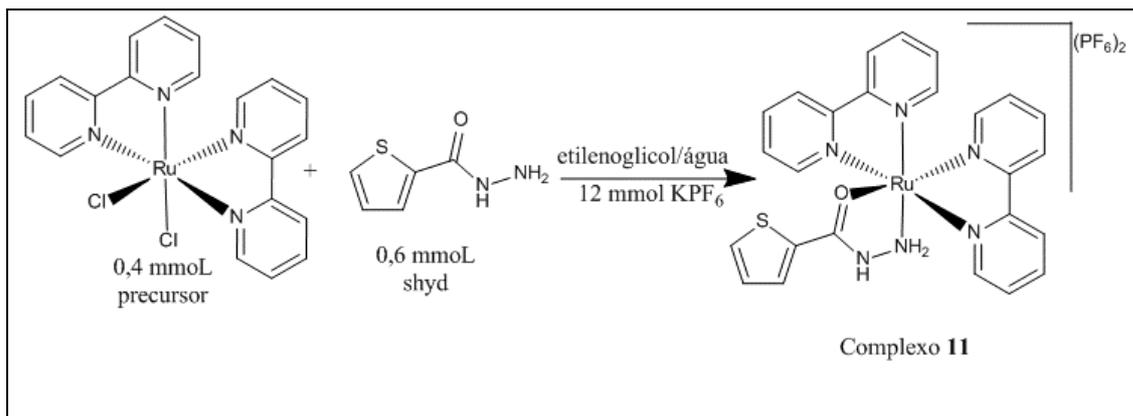
A condutividade do complexo **11** em solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em nitrometano foi de $177,06 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$. Este valor está de acordo com a faixa de referência para eletrólitos 2:1 ($150\text{-}180 \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$) [96]. O resultado da análise elementar desse complexo está em correspondência com a fórmula molecular proposta. Esses dados são coerentes com a substituição de dois ligantes cloretos do complexo precursor ([RuCl₂(bpy)₂] $\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) pelo ligante shyd, de acordo com a equação genérica representada na Figura 5.1.

1783

1784

Tabela 5.1 Dados das análises elementares, medidas de condutividade e temperatura de decomposição do complexo **11**.

Complexos	%C	%H	%N	$\Lambda_M \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$	Decomposição
[Ru(C ₁₀ H ₈ N ₂) ₂ (C ₅ H ₆ N ₂ OS)](PF ₆) ₂ (11) MM=845,05 g mol ⁻¹					
experimental	35,53	2,62	9,60	177,06	235-237
calculado	35,50	2,61	9,93		

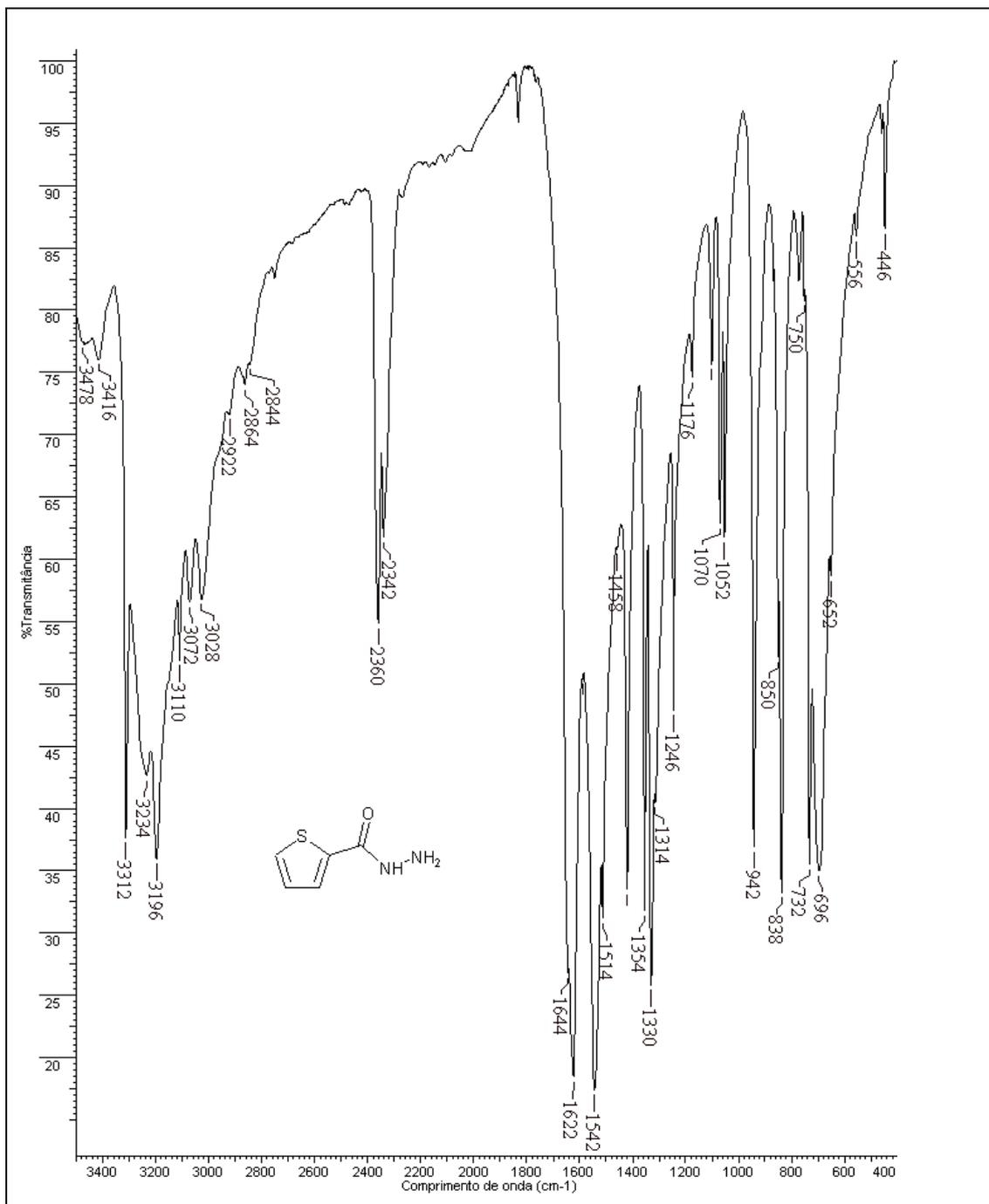


1785 **Figura 5.1** Esquema representativo da equação genérica para obter complexo **11**

1786 **5.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho**

1787 A espectroscopia vibracional também foi empregada para auxiliar na atribuição
1788 dos sítios de coordenação dos ligantes shyd e bpy ao íon metálico rutênio(II).

1789 As atribuições do ligante shyd foram feitas com base em trabalhos anteriores
1790 [83, 86-87]. O espectro de absorção da shyd (Figura 5.2) apresenta absorção
1791 característica na região 3478 e 3416 cm⁻¹ atribuída aos estiramentos assimétrico e
1792 simétrico ν(NH₂). As bandas 3110 a 3028 cm⁻¹ correspondem ao estiramento νC-H.
1793 Ainda neste espectro é observada absorção atribuída a νNN na região 942 cm⁻¹. A banda
1794 em 1622 cm⁻¹ é atribuída a vibrações de estiramento νC=O do grupo carbonila. A banda
1795 atribuída ao estiramento νC=O da carbonila é de fundamental importância, uma vez que
1796 uma alteração em relação ao deslocamento para menor comprimento de onda no
1797 complexo é indicativo de coordenação do oxigênio carbonílico ao íon metálico.



1798 **Figura 5.2** Espectro de absorção na região do infravermelho da shyd.

1799

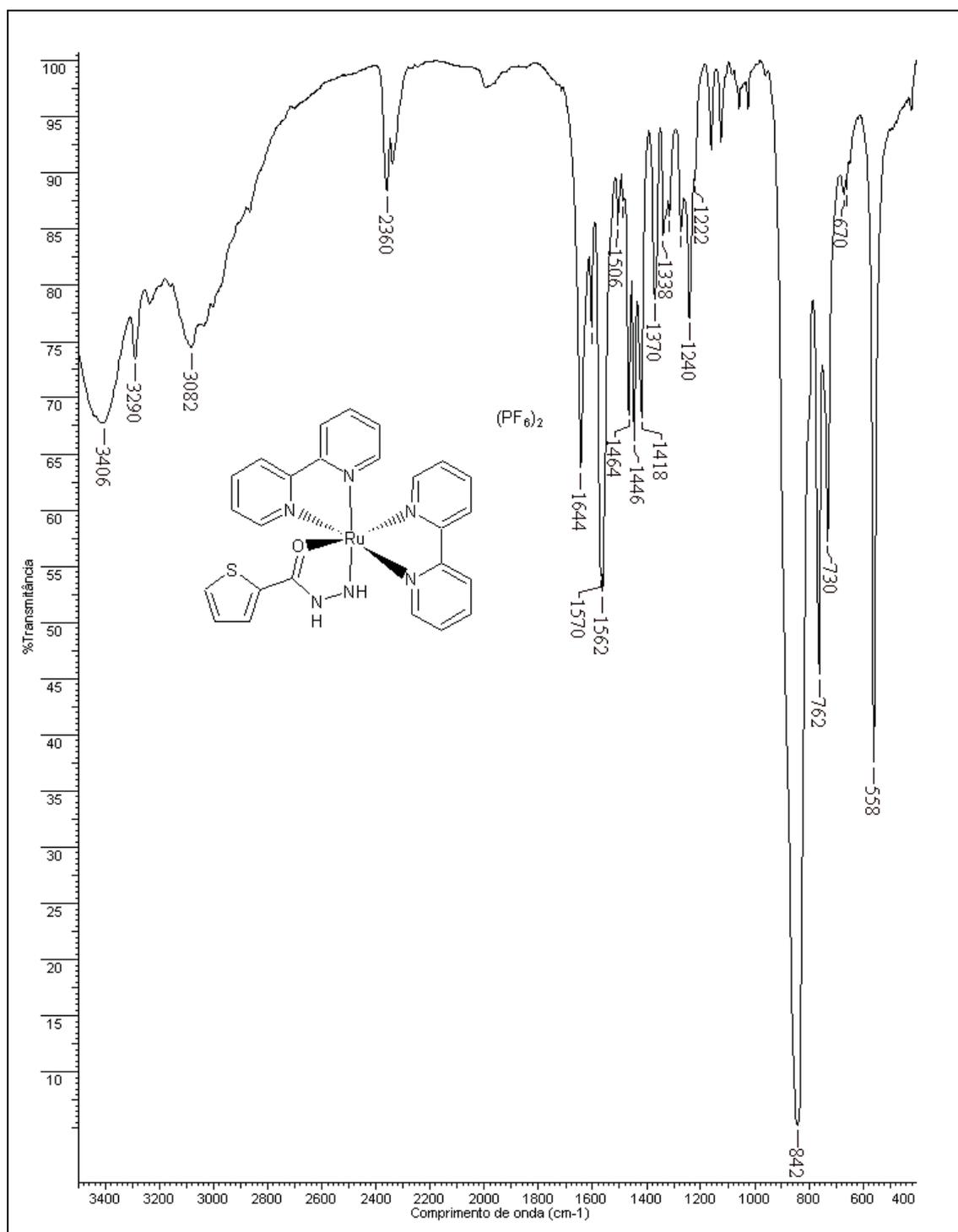
1800 Na Figura 5.3, está representado o espectro de absorção na região do
 1801 infravermelho do complexo **11**. A banda característica do $\nu_{C=O}$ da carbonila deslocou-
 1802 se de 1622 cm^{-1} no ligante livre para 1644 cm^{-1} no complexo **11**. Observou-se também
 1803 um deslocamento das bandas características dos estiramentos assimétrico e simétrico
 1804 $\nu(\text{NH}_2)$. No ligante livre as bandas $\nu_{as}\text{NH}_2$ e $\nu_s\text{NH}_2$ estão em 3478 a 3416 cm^{-1} , enquanto
 1805 que no complexo **11** tais bandas estão em 3438 e 3406 cm^{-1} . Estes resultados indicaram

1806 o envolvimento do oxigênio da carbonila e do nitrogênio amínico na coordenação ao íon
1807 metálico.

1808 No entanto, o íon metálico também está coordenado a dois ligantes bpy. Os
1809 modos vibracionais 1578 a 1414 característicos dos estiramentos $\nu_{C=C}$ e $\nu_{C=N}$ do
1810 ligante bpy são representados no complexo **11** através das quatro bandas intensas entre
1811 1644 a 1446 cm^{-1} .

1812 Conforme mencionando no capítulo 4, o íon PF_6^- livre tem simetria O_h e as
1813 vibrações ν_3 e ν_4 (F_{1u}) são ativas no infravermelho [110]. O modo de estiramento ν_3
1814 (F_{1u}) aparece como uma banda forte em 842 cm^{-1} e o modo ν_4 (F_{1u}) é observado 558 cm^{-1}
1815 ¹ indicando a presença de um íon PF_6^- no complexo **11**.

1816 Desta maneira, propõe-se que o Ru(II) se liga a uma molécula de shyd, que atua
1817 como ligante bidentado, através de dois átomos de nitrogênio e a duas moléculas de bpy
1818 através dos nitrogênios azometinos.



1819 **Figura 5.3** Espectro de absorção na região do infravermelho para o complexo **11**.

1820 **5.3 Espectroscopia eletrônica no ultravioleta visível (UV-Vis)**

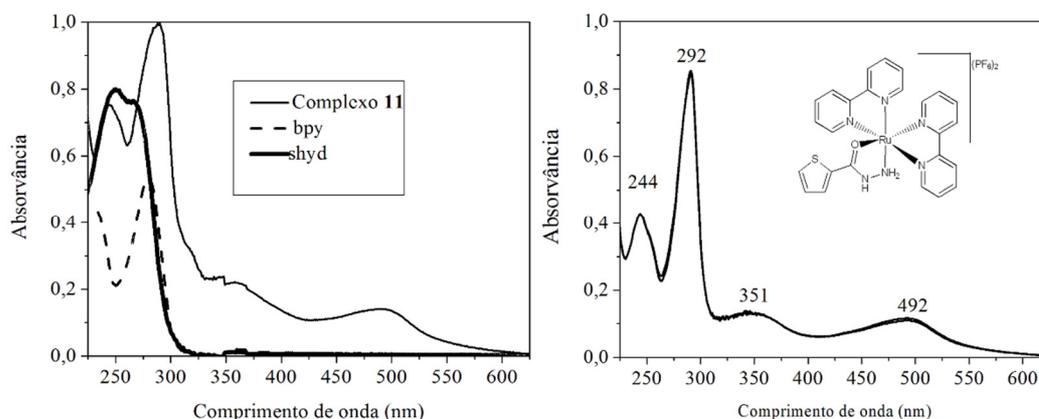
1821 O espectro de absorção na região UV-vis do complexo **11** com seus respectivos
 1822 ligantes estão representados na Figura 5.4.

1823 O ligante shyd apresenta uma banda em 246 nm com um ombro em
 1824 aproximadamente 267 devida às transições π - π^* do anel tiofeno. Sobre o espectro

1825 eletrônico do ligante bpy pode-se observar uma banda em 280 nm característica de
1826 transições π - π^* [122].

1827 O complexo **11** apresenta três importantes bandas em 243 nm, 291nm e 491 nm.
1828 As duas primeiras são referentes às transições π - π^* dos ligantes shyd e bpy e a banda
1829 em 351 é devido às transições n- π^* da shyd. A absorção em 492 nm pode ser atribuída a
1830 uma transição de transferência de carga do metal para o ligante (TCML, d- π^*). O valor
1831 de $\lambda_{\text{máx}}$ do complexo **11**, em 492 nm, indica que a substituição dos cloretos por shyd
1832 resulta no deslocamento da banda TCML, uma vez que o precursor (*cis*-
1833 $[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ apresenta banda centrada em 556 nm. O valor obtido para a banda
1834 de absorção, atribuída a TCML no complexo **11**, está concordante com os valores
1835 obtidos para os complexos de **1** a **10** e para outros [113, 114, 115, 116] complexos de
1836 rutênio.

1837 A estabilidade do complexo em solução aquosa foi estudada por
1838 espectrofotometria na região UV-Vis. Espectros eletrônicos do complexo **11** (Figura
1839 5.4) ao longo dos tempos de 1, 5 e 24 horas, mostram que não foram observadas
1840 mudanças significativas. Isto reflete a estabilidade do complexo **11** em solução aquosa.

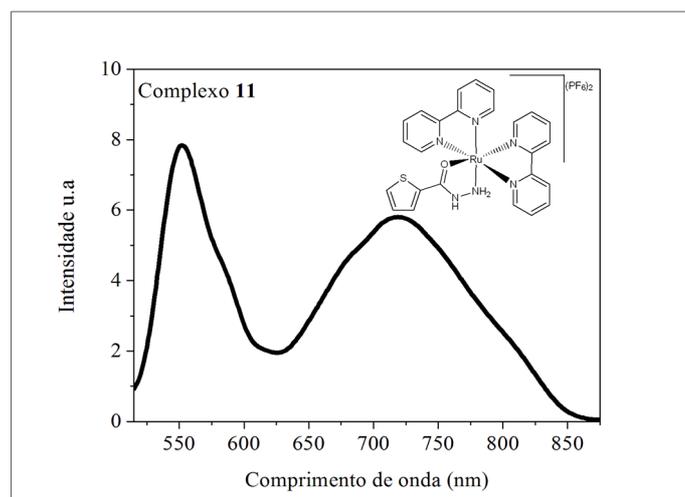


1841 **Figura 5.4** A esquerda, espectro eletrônico de soluções $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ dos ligantes
1842 bpy e shyd e complexo **11** em tampão Hepes pH 7,2, e a direita, espectro eletrônico de
1843 soluções $3,0 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ do complexo **11** em tampão Hepes pH 7,2 com variação de
1844 tempo em 1, 5 e 24 horas.

1845 5.4 Espectroscopia de fluorescência

1846 No espectro de emissão de fluorescência do complexo **11** foram registradas duas
1847 bandas em 550 e 712 nm, quando excitado no comprimento de onda referente à TCML
1848 em temperatura ambiente (Figura 5.5).

1849 A intensidade da banda de emissão de fluorescência do complexo **11** é similar
1850 àquela observada no complexo **1**.



1851 **Figura 5.5** Espectro de fluorescência do complexo **11** ($5,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, $\lambda_{\text{excitação}} =$
 1852 492 nm) em tampão hepes pH 7,2 a temperatura ambiente.

1853

1854 A interação do complexo **11** com albumina sérica bovina (BSA) foi investigada
 1855 por espectroscopia de fluorescência.

1856 As mudanças espectrais na titulação da BSA, em pH 7,4, com o complexo **11**
 1857 estão ilustradas na Figura 5.6. Similarmente aos complexos **1** a **10**, foi possível
 1858 identificar a supressão do sinal fluorescente dos triptofanos, indicando que o complexo
 1859 **11** interage com a proteína. Além disso, o complexo não apresenta banda de emissão em
 1860 340 nm, quando excitado em 280 nm.

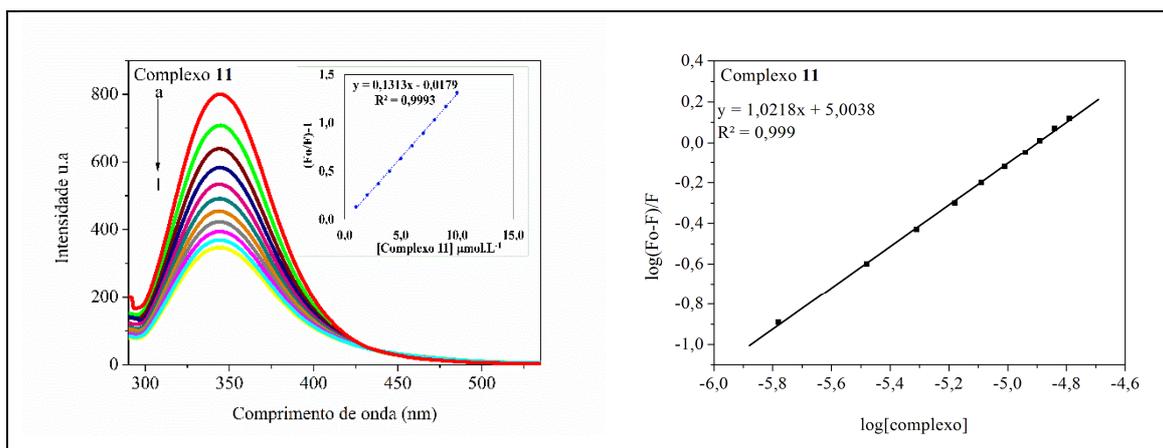
1861 Empregando-se a equação de *Stern-Volmer* ($F/F_0 = 1 + K_{sv} [Q]$) foi possível obter a
 1862 reta apresentada na Figura 5.6 (à esquerda), sendo que o coeficiente angular desta reta
 1863 representa a constante de associação composto-BSA (K_{sv}) [128]. Para o sistema BSA-
 1864 complexo **11** o valor de K_{sv} é $1,31 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$.

1865 A afinidade deste composto com a BSA foi estimada pelos valores da constante
 1866 de associação e pelo número de sítios ocupados pelo composto na estrutura proteica.
 1867 Esses parâmetros podem ser obtidos pela equação $\log\{(F_0 - F)/F\} = \log K_b + n \log [Q]$
 1868 [128]. A partir dessa equação, construiu-se o gráfico de $\log\{(F_0 - F)/F\}$ em função do
 1869 logaritmo da concentração do complexo, conforme representados nas Figuras 5.6 (à
 1870 direita). Os resultados da supressão da fluorescência permitiram estimar a constante de
 1871 ligação (K_b) deste complexo, cuja a ordem de grandeza é $1,01 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$. O número
 1872 de sítio ligante é aproximadamente 1, evidenciando, assim, que apenas uma molécula do
 1873 complexo **11** está inserida nos arcabouços proteicos.

1874 Como o valor de k_q calculado ($1,31 \times 10^{13} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$) é muito maior que $2,0 \times$
1875 $10^{10} \text{ L mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ [129], a extinção da fluorescência de BSA pelo complexo **11** ocorre
1876 através de um mecanismo de extinção estática [128].

1877 O valor da constante de interação BSA-complexo, obtido para o complexo **11**, é
1878 comparável com os valores descritos para os complexos de **1** a **10**, e para outros
1879 complexos de rutênio com ligantes mistos descritos na literatura [19, 27, 128, 130, 131,
1880 132, 133, 134].

1881

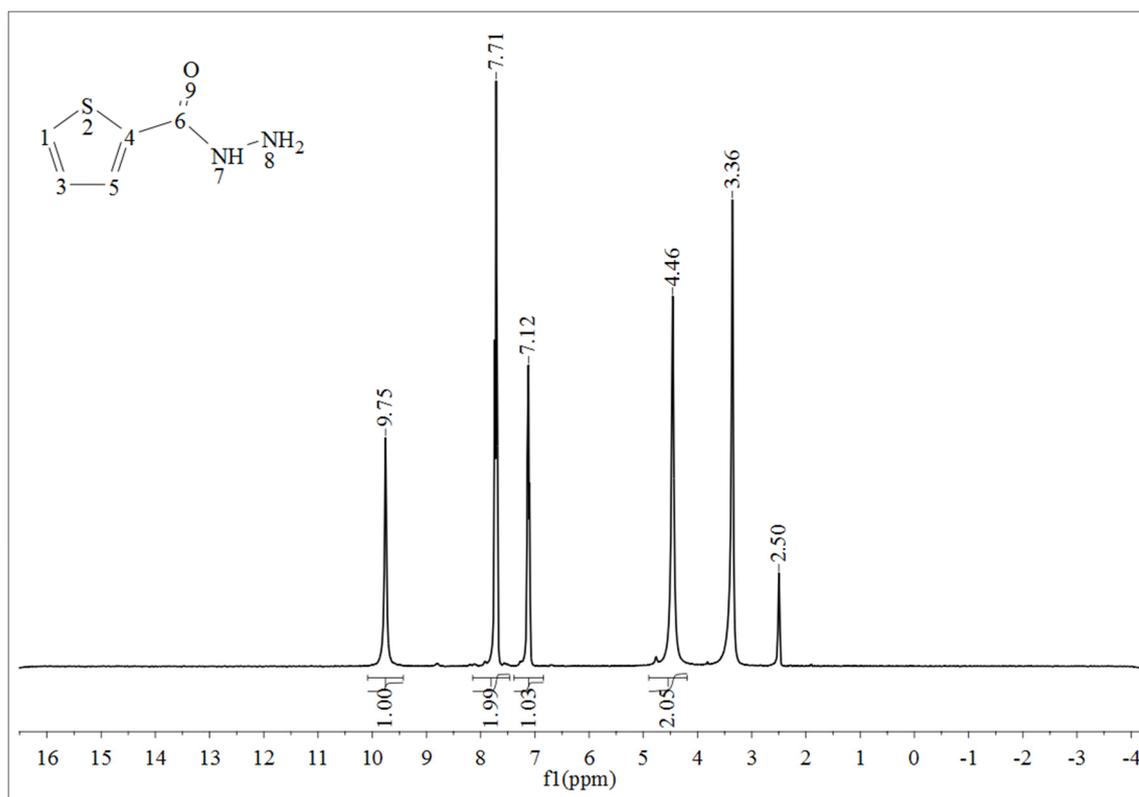


1882 **Figura 5.6** Interação do complexo **11** com albumina sérica bovina. Espectros de
1883 emissão de fluorescência da BSA ($1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$; $\lambda_{\text{excitação}} = 280 \text{ nm}$) na presença
1884 de concentrações crescentes do complexo. Relação molar complexo-BSA variando de
1885 (a= 0, b=1,66, c=1,65, d=4,95, e=6,57, f=8,19, g=9,8, h=11,4, i= 12,9, j=14, 5, l=16,1).
1886 Retra inserida: plotagem de $[(F_0-F)-1]$ vs $[\text{complexo}]$. Gráficos de $\log\{(F_0-F)/F\}$ versus
1887 $\log[Q]$ (à direita).

1888 5.5 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio RMN de ^1H

1889 Foram registrados espectros de RMN de ^1H do complexo **11** em dmsO-d_6 a fim
1890 de auxiliar na proposição do sítio de coordenação dos ligantes bpy e shyd ao rutênio(II).
1891 O espectro de RMN de ^1H da shyd também foi obtido em dmsO-d_6 .

1892 As atribuições dos sinais de RMN de ^1H da shyd foram feitas com base no
1893 trabalho de Viswanathan e colaboradores [87]. Os sinais correspondentes aos
1894 hidrogênios H8, H7, H3 e H5 e H1 estão em δ 4,46 (NH_2), 9,75 (NH), 7,71 (H3 e H5) e
1895 7,12 (H1) (Figura 5.7).



1896

1897 **Figura 5.7** Espectro de RMN de ^1H do ligante shyd, ($\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_2\text{OS}$), em dms0-d_6 a 298K,
 1898 400 MHz.

1899

1900

1901 As características dos espectros de RMN de ^1H do complexo **11** são consistentes
 1902 com a proposta de coordenação do centro metálico Ru(II) ao ligantes shyd e bpy.
 1903 Embora a atribuição de todos os sinais dos espectros de RMN de ^1H do complexo **11**
 1904 seja muito difícil devido a sobreposição de sinais na região de prótons pertencentes a
 1905 sistemas aromáticos, foi possível a partir desses espectros obter algumas informações
 1906 importantes a respeito dos sítios de coordenação.

1906

1907

1908

1909

1910

1911

1912

1913

1914

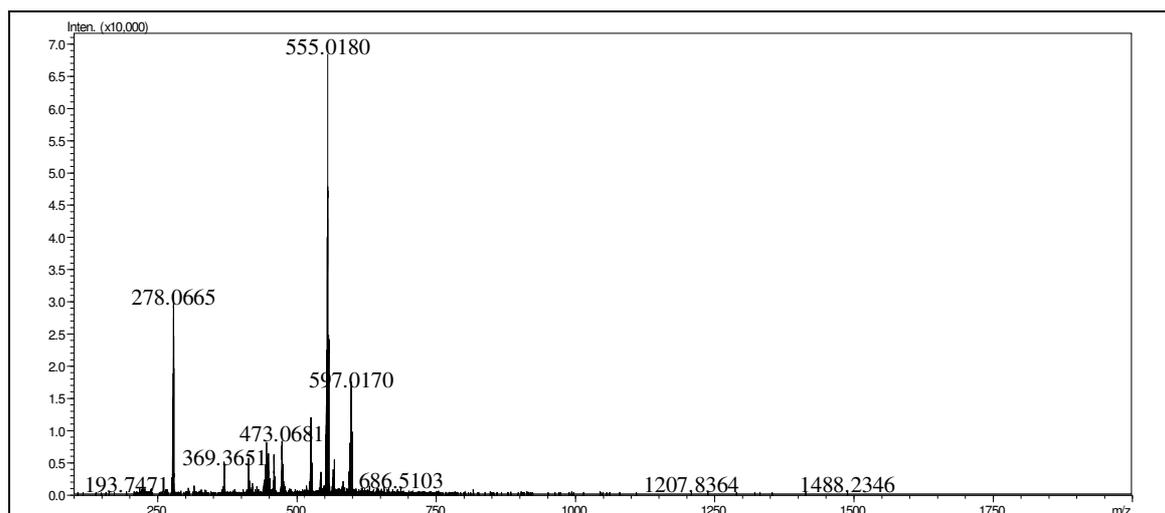
1915

No espectro de RMN de ^1H do complexo **11** foi possível identificar os 22
 prótons para a estrutura proposta $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_2\text{OS})](\text{PF}_6)_2$, os 16 prótons dos
 dois ligantes bpy, os 3 prótons do anel de tiofeno, 1 próton do grupo NH e os 2 prótons
 do grupo NH_2 da hidrazida (Figura 5.8 e Tabela 5.2). É possível observar que o sinal em
 δ 4,46 dos prótons do grupo NH_2 na hidrazida livre sofreu um importante deslocamento
 no complexo **11**. Outro indicativo que reforça a coordenação do íon metálico a hidrazida
 é a presença do sinal em δ 12,35 referente ao próton do grupo NH da shyd. Este sinal
 sofreu considerável deslocamento em relação ao ligante livre shyd. Ainda neste espectro
 ocorre a presença de um sinal intenso de moléculas de água absorvidas pelo dms0-d_6 em
 δ 3,36.

1925 Na Figura 5.9 está representado o espectro de massas ESI-MS no modo positivo
1926 correspondente a espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_2\text{OS})]^+$, complexo **11**. Pela expansão do
1927 espectro de ESI-MS do complexo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{shyd})]^+$ foi possível identificar um pico
1928 principal em m/z 555,0177 atribuído a espécie $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_2\text{OS})]^+$, cujo valor
1929 calculado corresponde a 555,0541. A distribuição isotópica experimental (Figura 5.10)
1930 está em boa concordância com a distribuição isotópica calculada (Figura 5.10).

1931 Além do pico base foi observado o pico iônico (Figura 5.11) com m/z =
1932 278,0147 correspondente ao complexo $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_2\text{OS})]^{+2}$ ($\text{MM}=555,63$). Os
1933 valores de abundância relativa indicam que o complexo **11** está disponível em maior
1934 quantidade em solução de acetonitrila:acetona (1:1) na forma monovalente. Na Figura
1935 5.11 está representada a distribuição isotópica calculada para o pico iônico. Um
1936 comparativo entre as distribuições isotópicas, experimental e calculada (Figura 5.11),
1937 mostra correspondência entre os valores experimental e calculado.

1938



1939 **Figura 5.9** Espectro ESI-MS em solução acetonitrila:acetona (1:1) do complexo **11**.

1940

1941

1942

1943

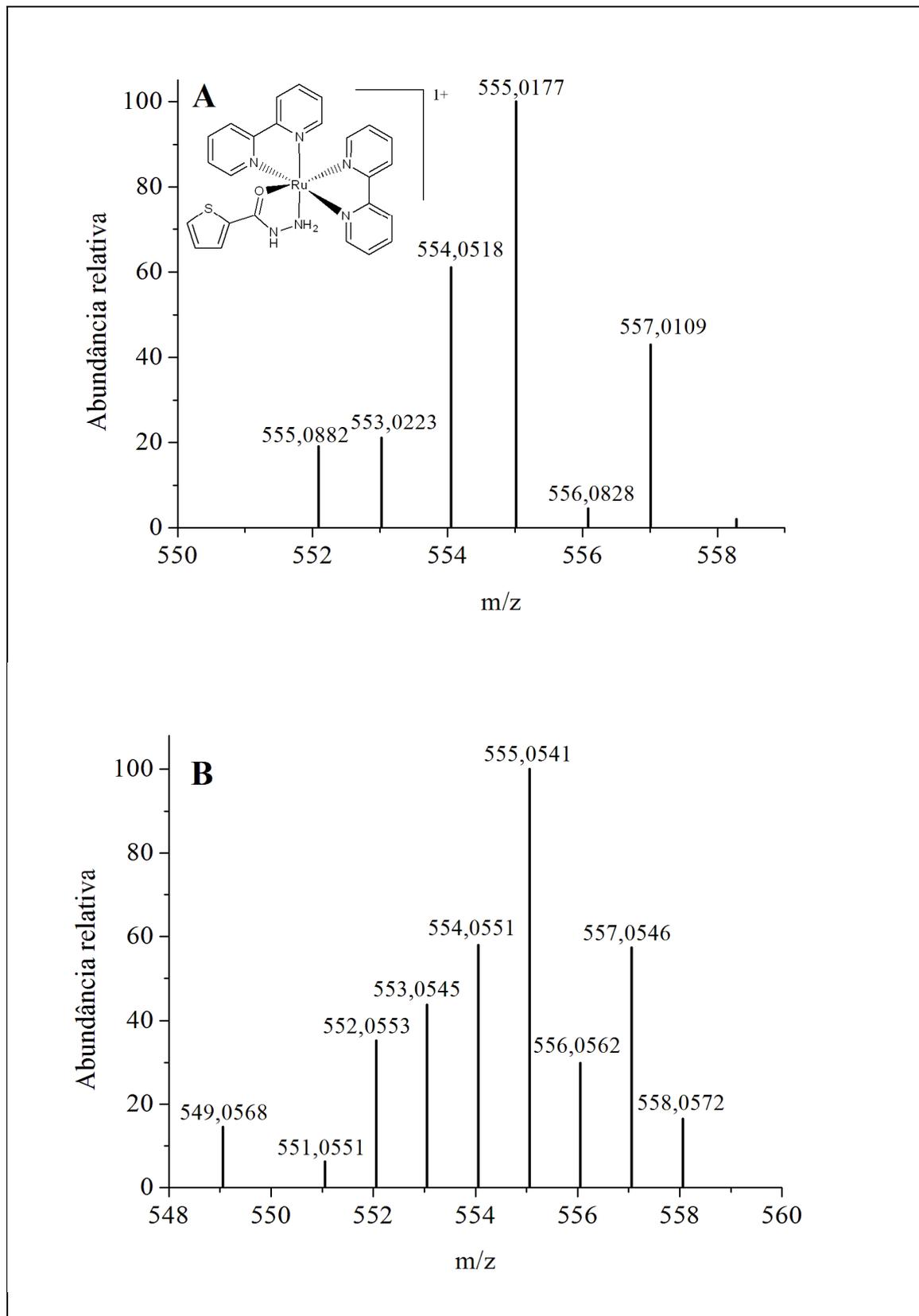
1944

1945

1946

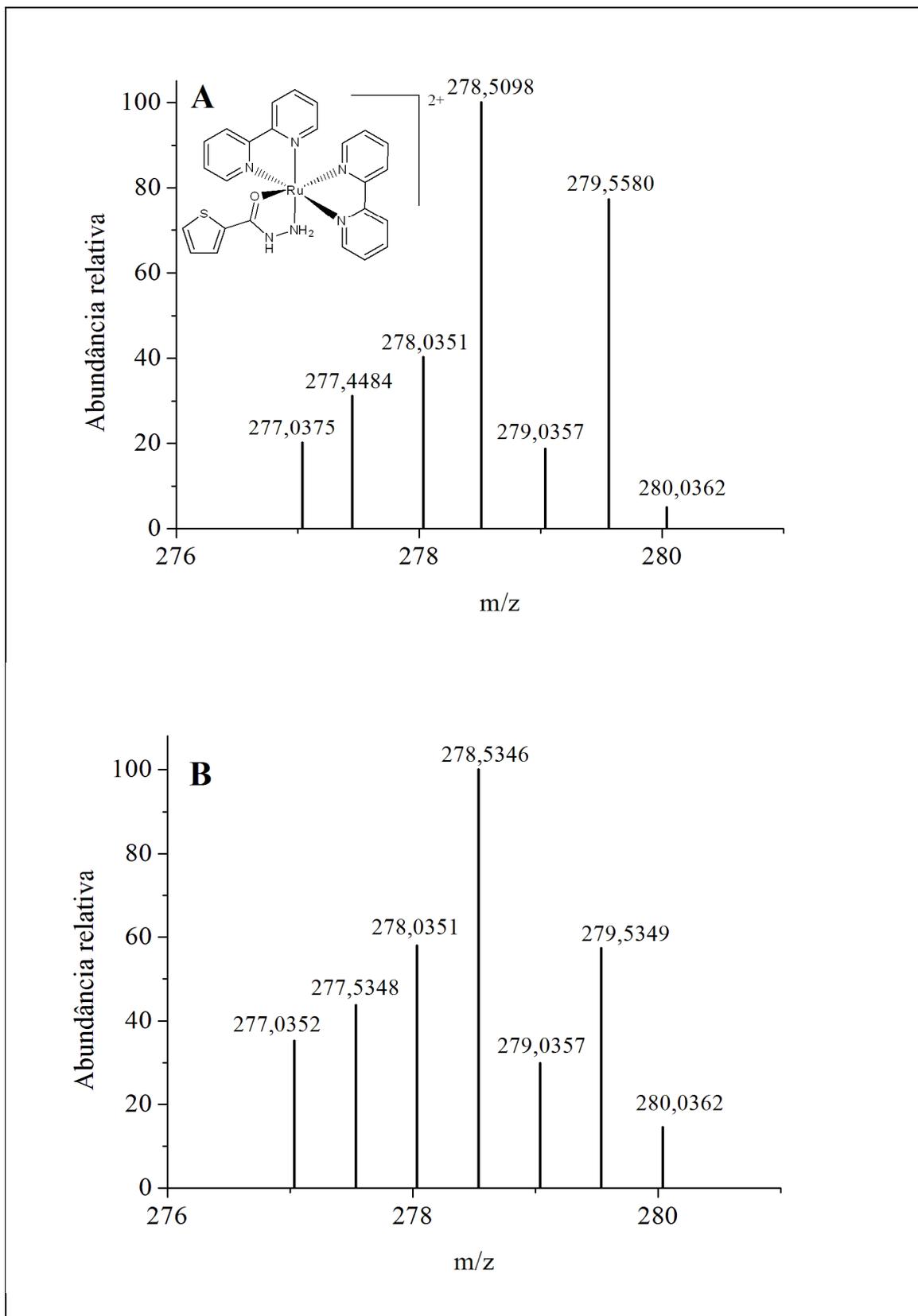
1947

1948



1950 **Figura 5.10** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
 1951 $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_2\text{OS})]^+$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).

1952



1953 **Figura 5.11** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
 1954 $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_2\text{OS})]^{2+}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).

1955

1956

1957 **5.7 Atividade citotóxica em células tumorais (Determinação da CI_{50})**

1958 O efeito do complexo **11** no crescimento de células tumorais foi estudado. O
1959 composto inibiu o crescimento das células de leucemia mielóide crônica com um valor
1960 de $CI_{50}=12,94 \mu\text{mol L}^{-1}$, enquanto que os ligantes bpy e shyd apresentaram
1961 respectivamente valor de $CI_{50}=29,9 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $CI_{50} >200 \mu\text{mol L}^{-1}$. Deste modo, o
1962 complexo **11** é mais ativo que os ligantes livres, porém menos ativo que os complexos
1963 de rutênio coordenados às sulfas (**1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9 e 10**) apresentadas no capítulo 4.

1964

1965

1966

1967

1968

1969

1970

1971

1972

1973

1974

1975

1976

1977

CONCLUSÃO

1978 Ru(II) forma complexos do tipo $[\text{Ru}(\alpha\text{-}\alpha\text{ diiminas})_2\text{L}](\text{PF}_6)$ com os seguintes
1979 antibióticos L: hidrazida do ácido 2-tiofenocarboxílico, sulfametoxipiridazina,
1980 sulfametoxazol, sulfametizol, sulfassalazina e sulfapiridina. Em todos os complexos, a
1981 relação metal : quimioterápico antimicrobiano é de 1:1. Os complexos que apresentam
1982 sulfas em sua estrutura são eletrólitos 1:1, enquanto que aquele coordenado à shyd é
1983 eletrólito 2:1. A esfera de coordenação em torno do íon metálico é octaédrica distorcida
1984 em todos os complexos. A caracterização estrutural, via difração de raios X de
1985 monocristal, dos complexos $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{smp}](\text{PF}_6)$ e $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{smp}](\text{PF}_6)$ possibilitou a
1986 previsão dos sítios de ligação e geometria de coordenação nos complexos de **3** a **8**.
1987 Essas proposições foram feitas baseadas também no estudo de espectroscopia
1988 vibracional na região do infravermelho e RMN de ^1H . Estudos por espectrometria de
1989 massas mostraram que os complexos estão presentes em solução. Assim foi possível
1990 estabelecer que nos complexos de **1** a **8** o Ru(II) está coordenado às sulfas através do
1991 nitrogênio sulfonamídico desprotonado e do nitrogênio do anel heterocíclico. Nos
1992 complexos de spd, smz, smx e smp, o Ru(II) está coordenado às sulfas através do
1993 nitrogênio sulfonamídico desprotonado e do nitrogênio do anel heterocíclico; nos
1994 complexos de ssz o rutênio está coordenado aos oxigênios do carboxilato bidentado; e
1995 no complexo da shyd, ao oxigênio da amida e ao nitrogênio da amina. Além disso, em
1996 todos complexos, o íon Ru(II) coordena-se a duas moléculas de α,α -diiminas pelos
1997 nitrogênios azometinos.

1998 Titulações espectrofotométricas entre ADN e complexos **3** e **4**, usando
1999 espectroscopia eletrônica no ultravioleta visível e espectroscopia de dicroísmo circular,
2000 evidenciaram a ligação do complexo ao ADN por interação eletrostática ou via
2001 intercalação.

2002 Todos complexos ligam-se à albumina de soro bovino com uma afinidade de
2003 ligação moderada.

2004 Todos os onze complexos inibem o crescimento de células de leucemia mielóide
2005 crônica, linhagem K562, de modo dependente da concentração. A coordenação do
2006 rutênio (II) aos antibióticos aumentou a atividade citotóxica pois os complexos são mais
2007 ativos que as sulfonamidas e hidrazida livres. Os complexos que foram sintetizados a
2008 partir do precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{phen})_2]$ revelaram-se mais ativos do que os sintetizados a
2009 partir do precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$ o que mostra que a substituição da bpy pela phen

2010 leva a um aumento na atividade citotóxica. Dentre estes complexos, o **1** e **2** foram os
2011 mais ativos. A exposição à luz UV-A causa um aumento na atividade citotóxica, sendo
2012 este aumento muito significativo para o complexo **2**, de cerca cem vezes. Os complexos
2013 **1** e **2** foram incapazes de clivar o ADN em condições escuras, mas sob luz ultravioleta
2014 atingiu-se até 70% de clivagem. Além disto, os complexos **3**, **4**, **9** e **10** fotodegradam a
2015 albumina sérica bovina. Isso indica que esses complexos são potenciais candidatos a
2016 serem usados na terapia fotodinâmica.

2017 Por último, os complexos **1**, **2**, **3**, **4**, **9** e **10** interagem com o domínio SH3 da
2018 proteína tirosina cinase de Abl. O desenvolvimento de inibidores desta tirosino cinase é
2019 muito importante para o tratamento da leucemia mielóide crônica. Nossos resultados
2020 permitem propor um novo alvo para complexos de Ru(II).

2021

2022 **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 2023 ¹ ABBAS, A. K; KUMAR, V and MITCHELL, R. N; Fundamentos de Patologia - 8^a
2024 Ed. **2012**, ELSEVIER.
- 2025 ² http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=101 acesso em **01/07/2016**
- 2026 ³ KATZUNG, B. C; Farmacologia Básica e Clínica, Guanabara Koogan: Rio de Janeiro,
2027 **1994**.
- 2028 ⁴ PUCKETT, C. A; ERNST, R. J; BARTON, J. K; Dalton Trans., **2010**, 39(5), 1159-
2029 1170.
- 2030 ⁵ JAKUPEC, M. A; GALANSKI. M; ARION. V, B; HARTINGER. C, G and
2031 KEPLER. B, K; Dalton Trans., **2008**, 14(2),183-94.
- 2032 ⁶ CLARKE. M, J; Coordination Chemistry Reviews, **2002**, 232(1):69
- 2033 ⁷ BERGAMO. A and SAVA. G; Chem. Soc. Rev., **2015**, 44, 8818-8835.
- 2034 ⁸ HARTINGER. C, G; ZORBAS-SEIFRIED. S; JAKUPEC. M, A; KYNAST. B.;
2035 ZORBAS. H and KEPLER. B, K; J Inorg Biochem., **2006**, 100(5-6), 891-904.
- 2036 ⁹ BURRIS, H. A; BAKEWELL, S; BENDELL, J. C; INFANTE, J. JONES, S. F;
2037 SPIGEL, D. R; WEISS, G. J. RAMANATHAN, R. K; OGDEN, A and VON HOFF, D.
2038 ESMO Open **2016**.
2039
- 2040 ¹⁰ LEIJEN, S; BURGERS; S. A; BAAS, P; PLUIM, D; TIBBEN, M; VAN,
2041 WERKHOVEN, E; ALESSIO, E; SAVA, G; BEIJNEN J. H and SCHELLENS J. H.
2042 Invest New Drugs. **2015**, 33(1):201-14.
- 2043 ¹¹ FARIAS. R, F; Química de coordenação fundamentos e atualidades. Editora Átomo.
2044 **2005**, 313.
- 2045 ¹² JAMIESON. E, R and LIPPARD. S, J; Chem Rev., **1999**, 8;99(9), 2467-98.
- 2046 ¹³ BERGAMO. A and SAVA. G; Dalton Trans., **2011**, 40, 7817–7823.
- 2047 ¹⁴ MOTSWAINYANA, W. M and AJIBADE, P. A. Advances in Chemistry, **2015**
2048 (2015), Article ID 859730, 21 pages
- 2049 ¹⁵ KRATZ, F; HARTMANN, M; KEPLER, B and MESSORI, L; J. Biol. Chem.,
2050 **1994**, 269, 2581–2588.
- 2051 ¹⁶ REISNER, E; ARION, V. B; KEPPER, B. K and POMPEIRO, A. J. L; Inorganica
2052 Chimica Acta., **2008**, 361 (6): 1569.
- 2053 ¹⁷ JUNGWIRTH, U; KOWOL, C. R; KEPLER, B. K; HARTINGER, C. G; BERGER,
2054 W and HEFFETER, P. Antioxid Redox Signal., **2011**, 15, 1085-1127.
- 2055 ¹⁸ CLARKE, M. J; Coordination Chemistry Reviews, **2003**, 209-233.
- 2056 ¹⁹ ZEGLIS, B. M; PIERRE, V. C and BARTOM, J. K; Chemistry Communications,
2057 **2007**, 4565-4579.

- 2058 ²⁰ BERGAMO, A and SAVA, G; Dalton Trans., **2007**, 7(13):1267-72.
- 2059 ²¹ GOPAL, Y. N. V; KONURU E KONDAPI, A. K; Archives of Biochemistry and
2060 Biophysics, **2002**, 401:53.
- 2061 ²² SI-HONG LIU; HUI-HUA XU; JIAN-WEI ZHU; YAN WANG; YA-MIN LIU;
2062 JUN-BO LIANG; GUI-QIANG ZHANG; DI-HUA CAO; YANG-YANG LIN; QI-
2063 FENG GUO; YONG WU; Polyhedron, **2016**, 105, 12–17.
- 2064 ²³ LORD, R. M; ALLISON, S. J; RAFFERTY, K; GHANDHI, L; PASKA, C. M; and
2065 MCGOWAN, P. C; Dalton Trans., **2016**, 45, 13196–13203.
- 2066 ²⁴ HUANG, H; ZHANG, P; CHEN, Y; QIU, K; JIN, C; JI, L and CHAO, H; Dalton
2067 Trans., **2016**, 45, 13135–13145.
- 2068 ²⁵ JIN-CAN CHEN; GUO-DONG LI; FA PENG; XIN-MING JIE; GUANG-ZHI
2069 DONGYE; YU ZHONG; RUI-BING FENG; BAO-JUN LI; JIAO-YUE QU; YAN
2070 DING and LAN-MEI CHEN; Inorganic Chemistry Communications, **2016**, 69, 35–39.
- 2071 ²⁶ JUN DU; YAN KANG; YAO ZHAO; WEI ZHENG; YANG ZHANG; YU LIN;
2072 ZHAOYING WANG; YUANYUAN WANG; QUN LUO; KUI WU and FUYI
2073 WANG; Inorg. Chem., **2016**, 55, 4595–4605.
- 2074 ²⁷ CORREA, R. S; DE OLIVEIRA, K. M; DELOLO, F. G; ALVAREZ, A; MOCELO,
2075 R; PLUTIN, A. M; COMINETTI, M, R; CASTELLANO, E, E; BATISTA, A, A;
2076 Journal of Inorganic Biochemistry, **2015**, 150, 63-71.
- 2077 ²⁸ LEE, W. Y; Mikrochim. Acta, **1997**, 127, 19-39.
- 2078 ²⁹ CHEN, T; LIU, Y; ZHENG, W; LIU, J and WONG, Y, Inorganic Chemistry, **2010**,
2079 49(14), 6366-6368.
- 2080 ³⁰ WANG, J; ZHANG, P; J and CHAO, H; Journal of Inorganic Biochemistry, **2015**,
2081 146, 89-96.
- 2082 ³¹ SRISHAILAM, A; GABRA, N. M; KUMAR, Y. P; REDDY, K. L; DEVI, C. S;
2083 ANIL K. D; SINGH, S. S and SATYANARAYANA, S; Journal of Photochemistry and
2084 Photobiology, B: Biology, **2014**, 141, 47-58.
- 2085 ³² JIANG, G; XIE, Y; LIN, G; HUANG, H; LIANG, Z and LIU, Y, Journal of
2086 Photochemistry and Photobiology, B: Biology, **2013**, 129, 48-56.
- 2087 ³³ YADAV, A; JANARATNE, T; KRISHNAN, A; SINGHAL, S. S; YADAV, S;
2088 DAYOUB, A. S; HAWKINS, D. L; AWASTHI, S and MACDONNELL, F. M;
2089 Molecular Cancer Therapeutics, **2013**, 12(5), 643-653.
- 2090 ³⁴ CHEN, T; MEI, W; WONG, Y; LIU, J; LIU, Y; XIE, H and ZHENG, W.
2091 MedChemComm., **2010**, 1(1), 73-75.
- 2092 ³⁵ NOVÁKOVÁ, O; KAŠPÁRKOVÁ, J; VRÁNA, O; VAN VLIET, P.M; REEDIJK,
2093 J; and BRABEC, V, Biochemistry, **1995**, 12369-12378.
- 2094 ³⁶ ERKKILA, K. E; ODOM, D. T and BARTON, J. K; Chem. Rev., **1999**, 99, 2777–
2095 2796.

- 2096 ³⁷ BARTON, J. K; OLMON, E. D and SONTZ, P. A; *Coord. Chem. Rev.*, **2011**, 255,
2097 619–634.
- 2098 ³⁸ FRIEDMAN, A. E; CHAMBRON, J. C; SAUVAGE, J. P; TURRO, N. J and
2099 BARTON, J. K; *Journal Am. Chem. Soc.*, **1990**, 112, 4960–4962.
- 2100 ³⁹ JENKINS, Y; FRIEDMAN, A. E; TURRO, N. J and BARTON, J. K. *Biochemistry*,
2101 **1992**, 31, 10809–10816.
- 2102 ⁴⁰ ZHOU, L; GAN, H and YANG, X. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical*
2103 *Analysis*, **2007**, 330-334.
- 2104 ⁴¹ NEIDLE, S. J. *Med. Chem.*, **2016**, 59(13), 5987–6011.
- 2105 ⁴² LU, X; SHI, S; YAO, J; GAO, X; HUANG, H and YAO, T; *Journal of Inorganic*
2106 *Biochemistry*, **2014**, 140 64–71.
- 2107 ⁴³ SALMONM, S. E; *Em Farmacologia Básica & Clínica*, KATZUNG, B.G., ed.;
2108 Guanabara Koogan S.A.: Rio de Janeiro, **1998**, p. 629-655
- 2109 ⁴⁴ DI MARCO, A. *Drugs under Experimental and Clinical Research*, **1983**, 9(11), 751-
2110 65.
- 2111 ⁴⁵ STRAUSS, D. G; *Folia Microbiologica Prague*, **1978**, 23(2),152-61.
- 2112 ⁴⁶ LAMB, R; OZSVARI, B; HOWELL, A; SOTGIA, F; LISANTI, M. P; LAMB, R;
2113 OZSVARI, B; HOWELL, A; SOTGIA, F and LISANTI, M. P; *Oncotarget*,
2114 **2015**,6(7),4569-84.
- 2115 ⁴⁷ GUERRA, WENDELL; SILVA-CALDEIRA, PRISCILA P.; TERENZI, HERNAN;
2116 PEREIRA-MAIA, ELENE C. *Coordination Chemistry Reviews*, **2016**, 327-328, 188-
2117 199
- 2118 ⁴⁸ YU, M; LI, R and ZHANG, J; *Biochemical and Biophysical Research*
2119 *Communications*, **2016**,471(4),639-645.
- 2120 ⁴⁹ CHAMBERS, H. F and SANDE, M. A; *Antimicrobial AgentsThe Farmacological*
2121 *Basis of Therapeutics in: Goodman and Gilmar*, 6^a ed., McGraw-Hill., Mexico, **1996**.
- 2122 ⁵⁰ DOMAGK, G. J; *Ein Beitrag zur Chemotherapie der bakteriellen infektionen. Dtsch.*
2123 *med. Wochenschr*, **1935**, 61: 250-253.
- 2124 ⁵¹ PELCZAR, M. J; CHAN, E. C. S and KRIEG, N. R; *Microbiologia: Conceitos e*
2125 *Aplicações*, 2^a ed.- São Paulo:Makron Book, **1996**.
- 2126 ⁵² OZAWA, Y; SUGI, NH; NAGASU, T; OWA, T; WATANABE, T; KOYANAGI,
2127 N; YOSHINO, H; KITO, K and YOSHIMATSU, K. *Eur J Cancer.*, **2001**,
2128 37(17):2275-82.
- 2129 ⁵³ SCOZZAFAVA, A; OWA, T; MASTROLORENZO, A and SUPURAN, C. T;
2130 *Current Medicinal Chemistry*, **2003**, 29, 925-953.
- 2131 ⁵⁴ RIZZOTTO, M. A; *Search for Antibacterial Agents*, 2010, 73-88

- 2132 ⁵⁵ HARDMAN, J. G; LIMBIRD, L. E; GILMAN, A. G; GOODMAN and GILMAN'S
2133 The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10^a ed. New York: McGraw-Hill, **2001**
- 2134 ⁵⁶ E. R. BARNHART; Physician's Desk Reference, PDR, 43rd ed., Medical Economics,
2135 New York, **1989**.
- 2136 ⁵⁷ BULT. A; Pharmaceutisch Weekblad, **1981**, 3, 213-223.
- 2137 ⁵⁸ GARG, S; PATEL, V. S and GUPTA, S. Journal of the Indian Chemical Society,
2138 **1983**, 60(3), 289-90.
- 2139 ⁵⁹ BORRÁS, E; ALZUET, G; BORRÁS, J; SERVER-CARRIO, J; CASTINEIRAS, A;
2140 LIU-GONZA LEZ, M; and SANZ-RUIZ, F; Polyhedron, **2000**, 19, 1859–1866.
- 2141 ⁶⁰ HANS G; GRIEBLE, M. D and JACKSON, G. G. M. D; The New England Journal
2142 of Medicine, **1958**, 258: 1-7.
- 2143 ⁶¹ MIMINOSHVILI, É. B; BERIDZE, L. A and ZAZASHVILI, S. R; Journal of
2144 Structural Chemistry, **2011**, 52, 4, 820-823.
- 2145 ⁶² KREMER, E; FACCHIN, G; ESTEVEZ, E; ALBORE'S, P; BARAN, E. J;
2146 ELLENA, J and TORRE, M. H; Journal of Inorganic Biochemistry, **2006**, 100 1167–
2147 1175.
- 2148 ⁶³ GARCIA-RASO, A; FIOL, J. J; RIGO, S; LOPEZ-LOPEZ, A; MOLINS, E;
2149 ESPINOSA, E; BORRAS, E; ALZUET, G BORRAS, J and CASTINEIRAS, A,
2150 Polyhedron, **2000**, 19, 991–1004.
- 2151 ⁶⁴ EL, G. N. M; SALMAN, A. A and SHARABY, C; Journal of Pharmaceutical
2152 Sciences, **1989**, 30(1-4): 23-28
- 2153 ⁶⁵ BULT, A and KLASSEN, H. B; Archiv der Pharmazie Weinheim, Germany, **1978**,
2154 311(10), 855-61.
- 2155 ⁶⁶ MIL'GROM, A. E; CHEGOLYA, A. S; ANDRIANOVA, L. N; PESNYA, O. I;
2156 BOREKO, E. I and ZAPOROZHETS, L. K; Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal,
2157 **1984**, 18(2), 175-8.
- 2158 ⁶⁷ MARQUES, L. L; OLIVEIRA, G. M; LANG, E. S; CAMPOS, M. M. A and GRIS,
2159 L. R. S; Inorganic Chemistry Communications, **2007**, 10(9), 1083-1087.
- 2160 ⁶⁸ SILVA, P. Farmacologia 7^a ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, **2006**.
- 2161 ⁶⁹ BAMIGBOYE, M. O; OBALEYE, J. A and ABDULMOLIB, S; International Jour.
2162 Chem., **2012**, 22, 105-108
- 2163 ⁷⁰ BORMIO, N. J. H; RAPHAEL, E. F; CUIN, A; LUSTRI, W. R and CORBI, P. P;
2164 Polyhedron, **2015**, 34, 437-444.
- 2165 ⁷¹ REFAT, MOAMEN. S; SHARSHAR, T; ELSABAWY, KHALED. M; EL-SAYED,
2166 MOHAMED. Y; ADAM, A. M. A; Journal of Molecular Liquids, **2016**, 222, 334-349.
- 2167 ⁷² FOGEL, M; New York State Journal of Medicine, **1941**, 41, 122-5.
- 2168 ⁷³ BROWN, G. M; Journal of Biological Chemistry, **1962**, 237,536-40.

- 2169 ⁷⁴ MARZANO, I. M; FRANCO, M. S; SILVA, P. P; AUGUSTI, R; SANTOS, G,
2170 C; FERNANDES. N, G; BUCCIARELLI-RODRIGUEZ, M; CHARTONE-SOUZA.
2171 E; PEREIRA-MAIA, E. C; *Molecules* (Basel. Online), **2013**, 18, 1464-1476.
- 2172 ⁷⁵ MONDELLI, M; BRUNÉ, V; BORTHAGARAY, G; ELLENA, J; NASCIMENTO,
2173 O. R; LEITE, C. Q; BATISTA, A. A and TORRE, M. H; *J. Inorg. Biochem.*, **2008**, 102,
2174 285–292.
- 2175 ⁷⁶ DONAHUE, K. E; GARTLEHNER, G; JONAS, D. E; LUX, L. J; THIEDA, P;
2176 JONAS, B. L; HANSEN, R. A; MORGAN, L. C and LOHR, K. N; Systematic review:
2177 *Annals of Internal Medicine*, **2008**, 148 (2):124-134.
- 2178 ⁷⁷ ROBE, P.A; BENTIRES-ALJ, M; BONIF, M; ROGISTER, B; DEPREZ,
2179 M; HADDADA, H; KHAC, M. T; JOLOIS, O; ERKMEN, K; MERVILLE, M.
2180 P; BLACK, P. M and BOURS, V; *Clinical Cancer Research*, **2004**, 10(16), 5595-5603.
- 2181 ⁷⁸ REFAT, M. S and MOHAMED, S. F; *Spectrochimica Acta Part A*, **2011**, 82, 108-
2182 117.
- 2183 ⁷⁹ MARZANO, I. M; Síntese, caracterização e estudo da atividade antitumoral e
2184 antibacteriana de alguns complexos metálicos de bismuto(III) e gálio(III) Tese de
2185 Doutorado, UFMG ICEX-(**2013**)- Prof.^a E.C.P. Maia, Prof.^a C. P. Demicheli.177.
- 2186 ⁸⁰ ABD EL-WAHED, M. G; ELMEGHARBEL, S; EL-SAYED, M. Y and REFAT, M.
2187 S; *Bulgarian Chemical Communications*, **2015**, 47, 3, 895 – 903.
- 2188 ⁸¹ FUHRHOP, J and PENZLIN, G; *Organic Synthesis - VCH Verlagsgesellschaft*, **1994**.
- 2189 ⁸² GUERRA, W; SILVA, H; FONTES, A. S and ALMEIDA, M. V; *Química Nova*,
2190 **2007**, 30, 56-58.
- 2191 ⁸³ SILVA, P. P; GUERRA, W; DOS SANTOS, G. C; FERNANDES, N. G; SILVEIRA,
2192 J. N; DA COSTA F, A. M; BORTOLOTO, T; TERENCE, H; BORTOLUZZI, A J;
2193 NEVES, A; PEREIRA-MAIA, E. C; *Journal of Inorganic Biochemistry*, **2014**, 132, 67-
2194 76.
- 2195 ⁸⁴ REDA F. M. E.; CHRISTOPH, J. Z. *Naturforsch.* **2011**, 66b, 1202 – 1208
- 2196 ⁸⁵ YALE, H. L; JOSEPH, K. L; HOLSING, M. M; PERRY, F. M e BERNSTEIN J. J.
2197 *Am. Chem. Soc.*, **1953**, 75 (8), 1933–1942.
- 2198 ⁸⁶ ABDUL-GHANY M. AL- DAHER e IBRAHEEM A. AL-QASSAR. *Raf. J. Sci.*
2199 **2011**, 22, 3, 108- 118.
- 2200 ⁸⁷ VISWANATHAN, M; NATARAJ, C; MATTHIAS, Z; KARUPPANNAN, N.
2201 *Polyhedron*, **2009**, 28(8), 1532-1540.
- 2202 ⁸⁸ THOTA, S; VALLALA, S; YERRA, R; RODRIGUES, D. A; RAGHAVENDRA, N.
2203 M; BARREIRO, E. J; *Int J Biol Macromol.*, **2016**, 82, 663-70.
- 2204 ⁸⁹ MILUTINOVIC, M. M; RILAK, A; BRATSOS, I; KLISURIC, O; VRANES, M;
2205 GLIGORIJEVIC, N; RADULOVIC, S and BUGARCIC, Z. D; *Journal of Inorganic*
2206 *Biochemistry*, **2017**, 169, 1-12.
2207

- 2208 ⁹⁰ NUNEZ, M. E; SPAIN, E. M and Ly, E; Abstracts of Papers, 228th ACS National
2209 Meeting, **2004**, 22-26,
- 2210 ⁹¹ CARDOSO, C. R; Complexos de metais de transição para o desenvolvimento de
2211 novas drogas neuroativas. **2010**. 107 p. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica)
2212 – Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, Brasil, 2010.
2213
- 2214 ⁹² FRANCISCATO, D. S and SOUZA, V. R; Monatsh Chem, **2016**, 147:1315–1321
- 2215 ⁹³ SHANG-HAI, LAI; WEI, LI; XIU-ZHEN, WANG; CHENG, ZHANG; CHUAN-
2216 CHUAN, ZENG; BING, TANG; DAN, WAN and YUN-JUN LIU; RSC Advances,
2217 2016, 6, (68), 63143-63155.
- 2218 ⁹⁴ ESTEGHAMAT-PANAH, R; HADADZADEH, H; FARROKHPOUR, H;
2219 MORTAZAVI, M; AMIRGHOFRA, Z; Inorganica Chimica Acta, **2017**, 454, 184-
2220 196.
2221
- 2222 ⁹⁵ SULLIVAN, B. P; SALMON, D. J; MEYER, T; Inorganic Chemistry, **1978**, 17,
2223 3335-3341.
- 2224
- 2225 ⁹⁶ GEARY, W; J. Coord. Chem. Rev, **1971**, 7 81-122.
- 2226 ⁹⁷ BORTOLOTTI, T; SILVA, P. P; NEVES, A; PEREIRA-MAIA, E. C; TEREZI, H.
2227 Inorg. Chem, **2011**, 50, 10519–10521
- 2228 ⁹⁸ SCHANDA, P and BRUTSCHER, B. J. Am. Chem. Soc., **2005**, 127 (22), 8014–8015
- 2229 ⁹⁹ OLIVEIRA, G. A. P; DE PEREIRA, E. G; FERRETTI, G. D. S; VALENTE, A. P.
2230 CORDEIRO, Y and SILVA, J. L. The Journal of Biological Chemistry, **2013**, 288,
2231 28331.
- 2232 ¹⁰⁰ BRUNO, I, J; COLE, J. C; EDINGTON, P, R; KESSLER, M; MACRAE, C, F;
2233 MCCABE, P; PEARSON, J and TAYLOR, R; Acta Crystallographica Section, B-
2234 structural Science, England, **2002**, 58, 389-397.
- 2235 ¹⁰¹ FARRUGIA, L. J; Journal of Applied Crystallography, England, **2012**, 45, 849-854.
- 2236 ¹⁰² SHELDRICK, G. M., *Acta Cryst.*, 2008, **A64**, 112-122.
- 2237 ¹⁰³ HOSNY, W. M; Synth. React. Inorg. Met.Org.Chem., **1997**, 27, 189-197.
- 2238 ¹⁰⁴ <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01015>. **Data de acesso 08-12-2016.**
- 2239 ¹⁰⁵ BRENDA, S; REVA, I. D; LAPINSKI, L; NOWAK, M. J and FAUSTO, R; Journal of
2240 Molecular Structure, **2006**, 786, 3, 193–206.
- 2241 ¹⁰⁶ WANDAS, M; PUSZKO, A; Chemistry of Heterocyclic Compounds, July **2000**, 36,
2242 7, 796–800.
- 2243 ¹⁰⁷ MARQUES, L de L. Síntese, estrutura e avaliação da atividade antimicrobiana de
2244 complexos metálicos com sulfametoxazol Tese de Doutorado, UFSM-CCNE-(**2007**)
2245 Prof. E. S. Lang.

- 2246 ¹⁰⁸ NAKAMOTO, K. Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination
2247 Compounds, Wiley, New York, **1986**, p-243.
- 2248 ¹⁰⁹ HANSEN, P.W and JENSEN, P. W; Spectrochim, Acta, **1994**, 50,169-183.
- 2249 ¹¹⁰ HEYNS, A. M; Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy, **1977**, 33,
2250 315–322
- 2251 ¹¹¹ BARBOSA, L. C. A; Espectroscopia no infravermelho na caracterização de
2252 compostos orgânicos. Viçosa - MG: Editora UFV, **2007**, 1, 189.
- 2253 ¹¹² LEVER, A. B. P; Inorganic electronic spectroscopy. Nova York, 2. Ed. Elsevier,
2254 **1984**.
- 2255 ^{113.} MARI, C; PIERROZ, V; RUBBIANI, R; PATRA M; HESS, J; SPINGLER,
2256 B; OEHNINGER, L; SCHUR, J; OTT, I; SALASSA, L; FERRARI, S and GASSER G.
2257 Chemistry. **2014**, 27;20(44):14421-36.
- 2258 ^{114.} SUN, Q; MOSQUERA-VAZQUEZ, S; SUFFREN, Y; HANKACHE, J;
2259 AMSTUTZ, N; DAKU, L. M. L; VAUTHEY, E; HAUSER, A. Coord. Chem. Rev.
2260 **2015**, 282–283, 87–99.
- 2261 ^{115.} KNOLL, J. D and TURRO, C. Coord. Chem. Rev. **2015**, 282–283, 110–126.
- 2262 ^{116.} ALBANI, B. A; PEÑA, B; LEED, N. A; DE PAULA, N. A. B. G; PAVANI, C;
2263 BAPTISTA, M. S; DUNBAR, K. R; TURRO, C. J. Am. Chem. Soc. **2014**, 136,
2264 17095–17101.
- 2265 ¹¹⁷ PAVIA, D. L; LAMPMAN, G. M; KRIZ, G. S and VYVYAN, J. R; Introdução a
2266 espectroscopia. 4^a ed Editora Cengage, **2010**.
- 2267 ¹¹⁸ WEI-ZHENG SHEN; GABRIELE TRÖTSCHER-KAUS and BERNHARD
2268 LIPPERT. Dalton Transactions, **2009**, 8203–8214
- 2269 ¹¹⁹ SUNIL, S. L; NAYAK, S. K; HTHWAR, V. R; CHOPRA, D and ROW, T. N. G;
2270 Role of Fluorine in Weak Intereactions in Co-Crystal. In: WOUTERS, J; QUERE, L.
2271 (Org). Pharmaceutical Salts and Co-Crystal. Cambridge: RSC Publising, **2011**. p. 29-
2272 39.
- 2273 ¹²⁰ SCHPECTOR, J. Z and TIEKINK, E. R. T. The Importance of Pi-Interactions in
2274 Crystal Engineering: Frontiers in Crystal Engineering. 1^a.ed. New Delhi: Library of
2275 Congress Cataloging in Publication Data, **2012**, p. 377.
- 2276 ¹²¹ ALMEIDA, J. C; MARZANO I. M; PAULA, F. C. S; PIVATTO, M; LOPES, N.
2277 P; SOUZA, P. C; PAVAN, F. R; FORMIGA, A. L. B; PEREIRA-MAIA, E. C
2278 and GUERRA, W; Journal of Molecular Structure, **2014**, 1075, 370-376.
- 2279 ¹²² SILVA, P. P. Síntese, caracterização físico-química e estudo da atividade
2280 antitumoral de complexos ternários de Cu(II) com antibióticos e uma α - α diamina e de
2281 Ru(II) com α - α diamina. Tese de Doutorado, UFMG ICEX-(2013)- Prof.^a E.C.P. Maia.
- 2282 ¹²³ SILVA, PRISCILA P; PAULA, F. C. S. DE; GUERRA, W; SILVEIRA, J. N;
2283 BOTELHO, F. V; VIEIRA, L. Q; BORTOLOTO, T; FISCHER, F. L; BUSSI,

- 2284 G; TERENZI, H and PEREIRA-MAIA, E. C; Journal of the Brazilian Chemical
2285 Society, **2010**, 21, 1237-1246.
- 2286 ¹²⁴ FIRDAUS, F; FATMA, K; AZAM, M; KHAN, S. N; KHAN, A. U AND SHAKIR,
2287 M; Transition Met Chem., **2008**, 33:467–473.
2288
- 2289 ¹²⁵ ANDREZALOV, PLSÍKOVA, L. J; JANOCKOVA, J; KONARIKOV, K;
2290 ZITNANOV, I; KOHÚTOV, M and KOZURKOVA, M; Journal of Organometallic
2291 Chemistry, 2017, **827**, 67-77.
- 2292 ¹²⁶ CHEN, L. M; LIU, J; CHEN, J. C; SHI, S; TAN, C. P; ZHENG, K. C and JI, L. N; J.
2293 Mol. Struct., **2008**, 881, 156-166.
- 2294 ¹²⁷ CHEN, Z; WANG, X; LI, Y and GUO, Z; Inorg. Chem. Comm., **2008**, 11,1392-
2295 1396.
- 2296 ¹²⁸ MOREIRA, M. B; FRANCISCATO, D. S; TOLEDO, K. C. F; SOUZA, J. R. B. DE;
2297 NAKATANI, H. S and SOUZA, V. R. DE. Química Nova, **2014**, 38, 227-232.
- 2298 ¹²⁹ SURYAWANSHI, V. D; WALEKAR, L. S; GORE, A. H; ANBHULE P. V and
2299 KOLEKAR, G. B; Journal of Pharmaceutical Analysis, **2016**, 6, 56.
- 2300 ¹³⁰ VIJAYAN, P; VISWANATHAMURTHI, P; SILAMBARASAN, V;
2301 VELMURUGAN, D; VELMURUGAN, K; NANDHAKUMAR, R; BUTCHER, R. J.
2302 SILAMBARASAN, T and DHANDAPANI, R; Journal of Organometallic Chemistry,
2303 **2014**, 768, 163-177.
- 2304 ¹³¹ YUAN, F; CHEN X; LIU Y; ZHANG T and SUN D; Chirality, **2012**, 24(2),174-80.
- 2305 ¹³² LIU, M; LIM, Z. J; GWEE, Y. Y; LEVINA, A; LAY, P. A, Angew Chem Int Ed
2306 Engl., **2010**, 22;49(9):1661-1664.
- 2307 ¹³³ RAMADEVI, P; SINGH, R; JANA, S. S; DEVKAR, R; CHAKRABORTY, D, J
2308 PHOTOCHEM Photobiol A Chem., **2015**, 305:1–10
- 2309 ¹³⁴ DE GRANDIS, R. A; DE CAMARGO, M. S; DA SILVA, M. M; LOPES, É.
2310 O; PADILHA, E. C; RESENDE, F.A; PECCININI, R. G; PAVAN, F. R; DESIDERI,
2311 A; BATISTA, A. A; VARANDA, E. A, Biometals., **2017**, 30(3):321-334.
- 2312 ¹³⁵ TARUSHI, A; TOTTA, X; PAPADOPOULOS, A; KLJUN, J; TUREL, I;
2313 KESSISSOGLU, D. P and PSOMAS, G. Eur J Med Chem., **2014**, 74,187.
- 2314 ¹³⁶ BUSCHBECK, M; HOFBAUER, S; DI CROCE, L; KERI, G and ULLRICH,
2315 A; EMBO Rep., **2005**, 6, 63.
- 2316 ¹³⁷ OLIVEIRA, G. A. P; Aplicações em biologia estrutural para a compreensão de
2317 sistemas biológicos. Rio de Janeiro: UFRJ / IBqM, Orientação: Jerson Lima da Silva
2318 Tese (doutorado em Química biológica) – Universidade Federal do Rio de Janeiro,
2319 Instituto de Bioquímica Médica, Programa de Pós-Graduação em Química Biológica,
2320 **2013**.
- 2321 ¹³⁸ VOHIDOV, F; KNUDSEN, S. E; LEONARD, P. G; OHATA, J; WHEADON,
2322 M. J; POPP, B. V; LADBURY, J. E and BALL, Z. T; Chem. Sci., **2015**, 6, 4778.

2323 ¹³⁹ KRISHNAMURTY, R; BRIGHAM J. L; LEONARD, S. E; RANJITKAR,
2324 P; LARSON, E. T; DALE, E. J; MERRITT, E. A and MALY, D. J; Nat. Chem. Biol.,
2325 **2013**, 9, 43-50.

2326

2327

2328

2329

2330

2331

2332

2333

2334

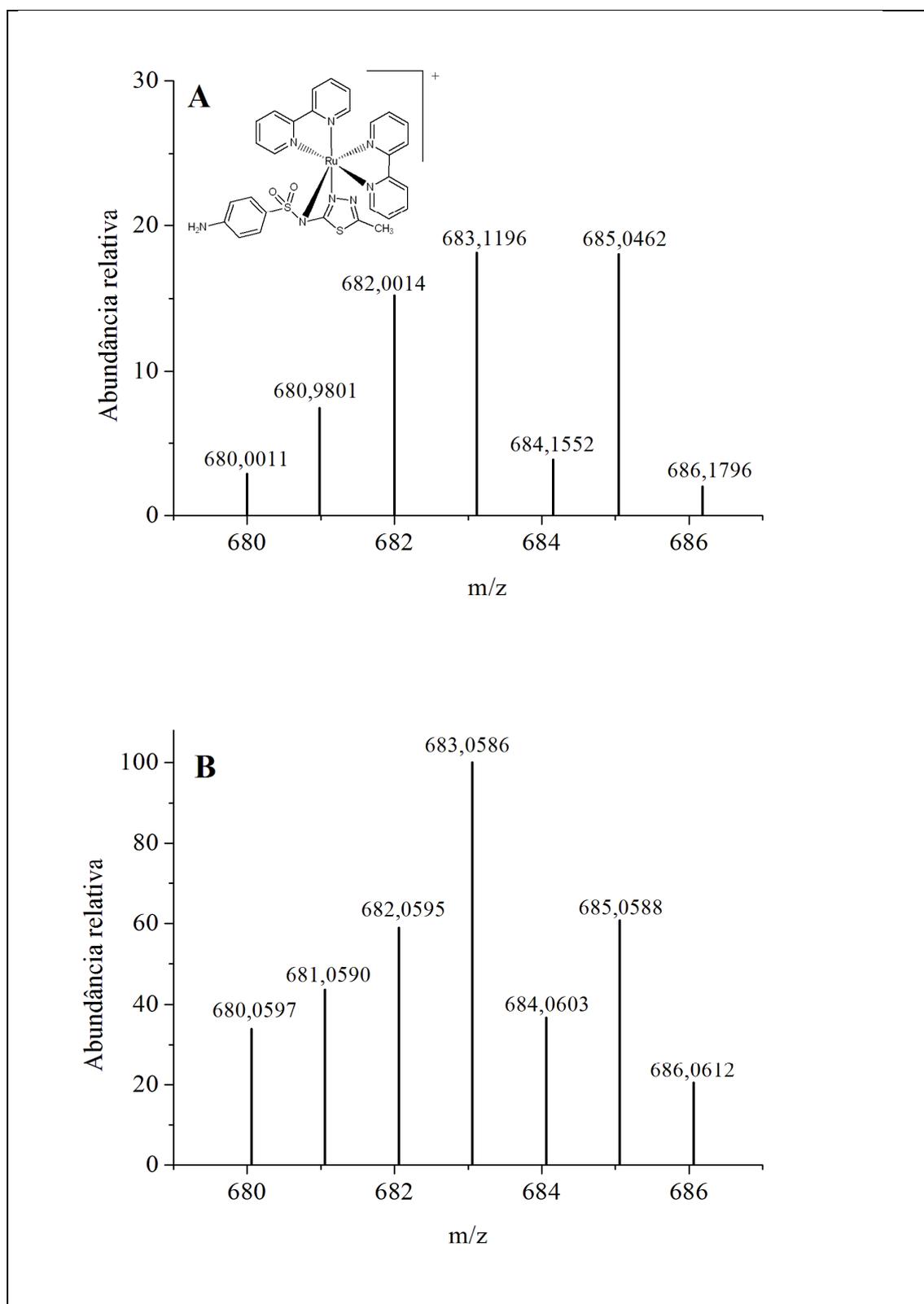
2335

2336

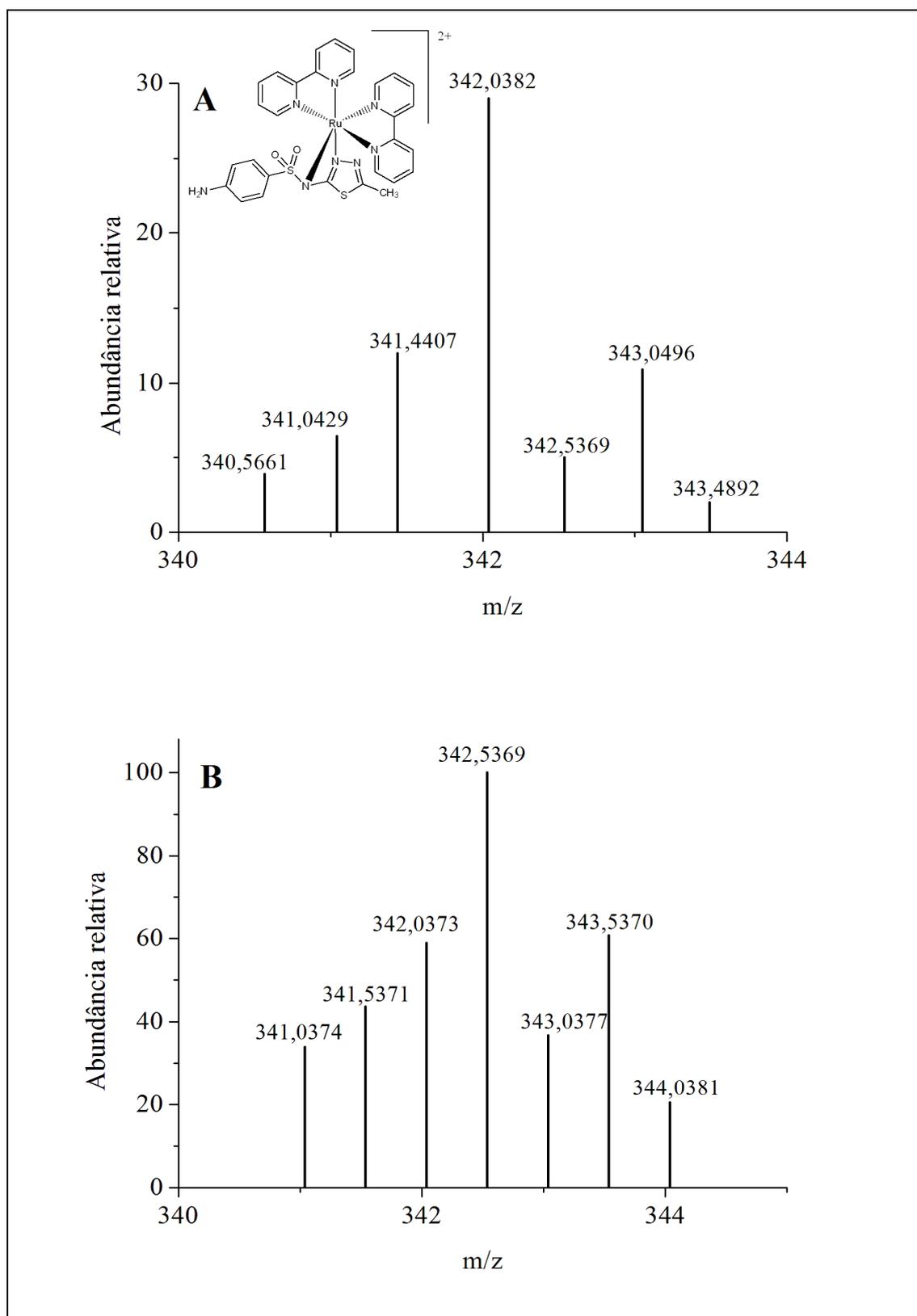
2337

2338 ANEXO 1

2339 DISTRIBUIÇÃO EXPERIMENTAL E TEÓRICA PARA OS
2340 COMPLEXOS 3 A 10

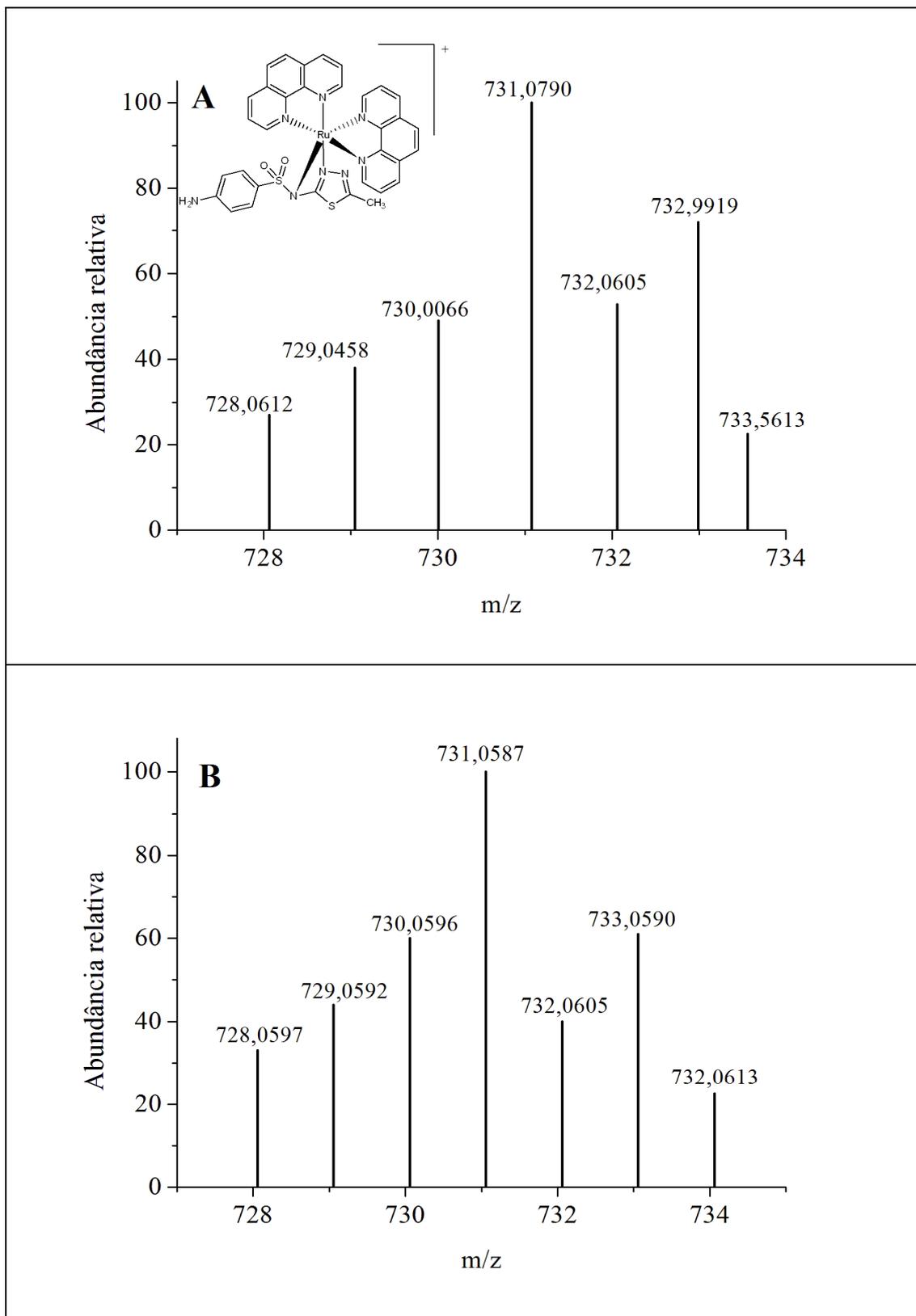


2341 **Figura S1** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
2342 $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2)]^{+1}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).



2343 **Figura S2** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
 2344 $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2)]^{2+}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).

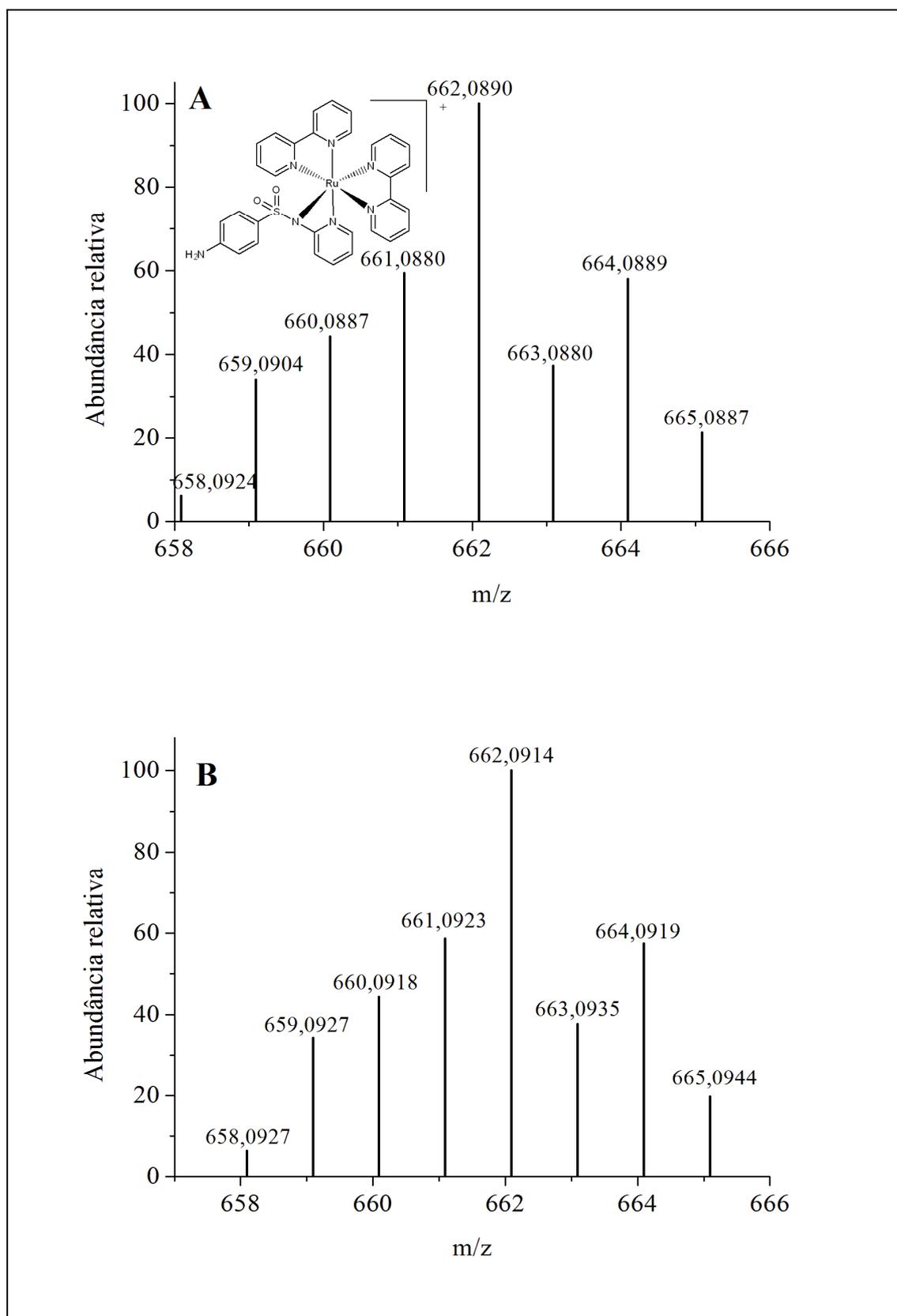
2345



2346 **Figura S3** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
 2347 $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2)]^{+1}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).

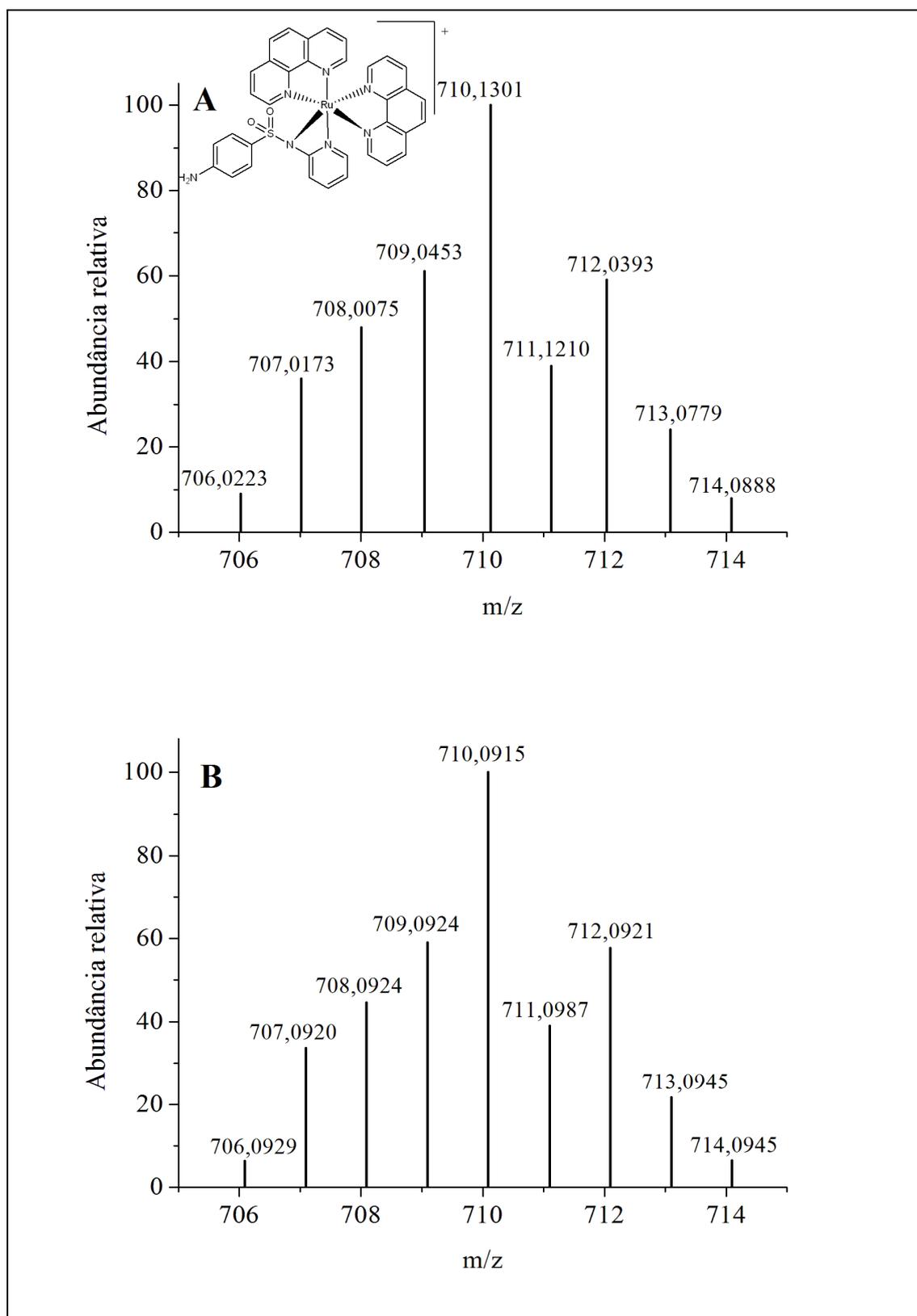
2348

2349



2350 **Figura S4** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
 2351 $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2\text{S})]^+$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).

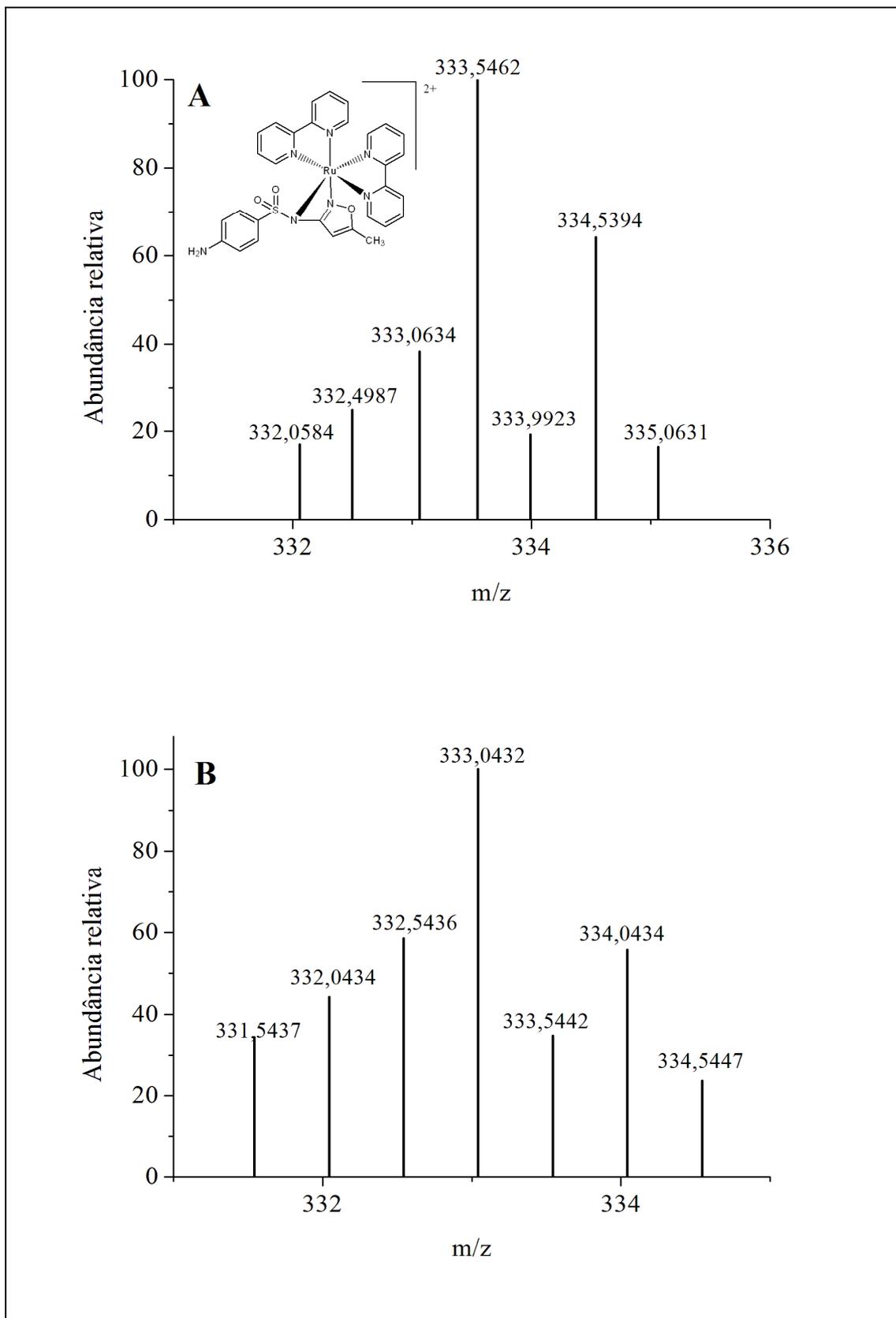
2352



2353 **Figura S5** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
 2354 $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_2\text{S})]^{+2}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).

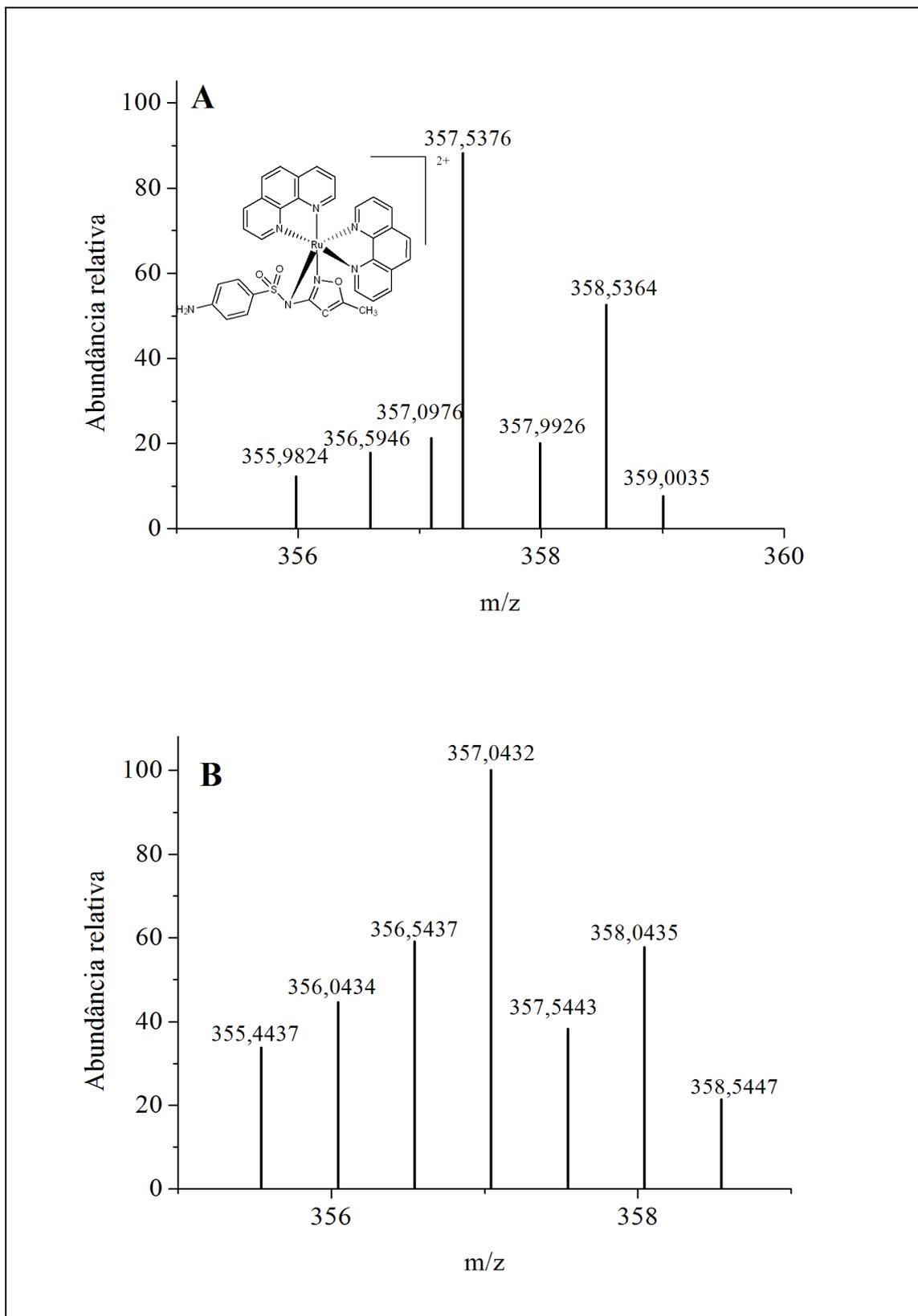
2355

2356



2357 **Figura S6** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
 2358 $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{S})]^{2+}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).

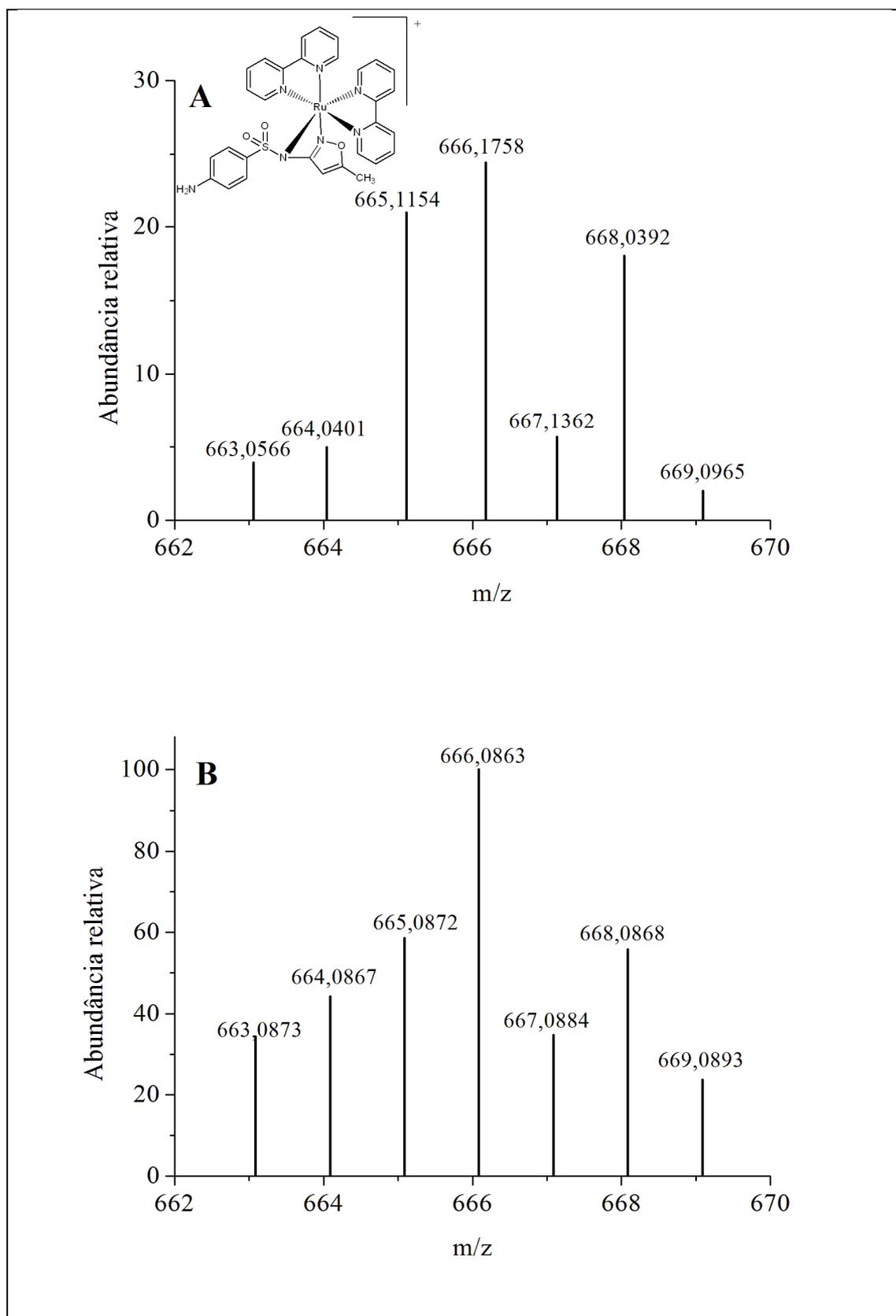
2359



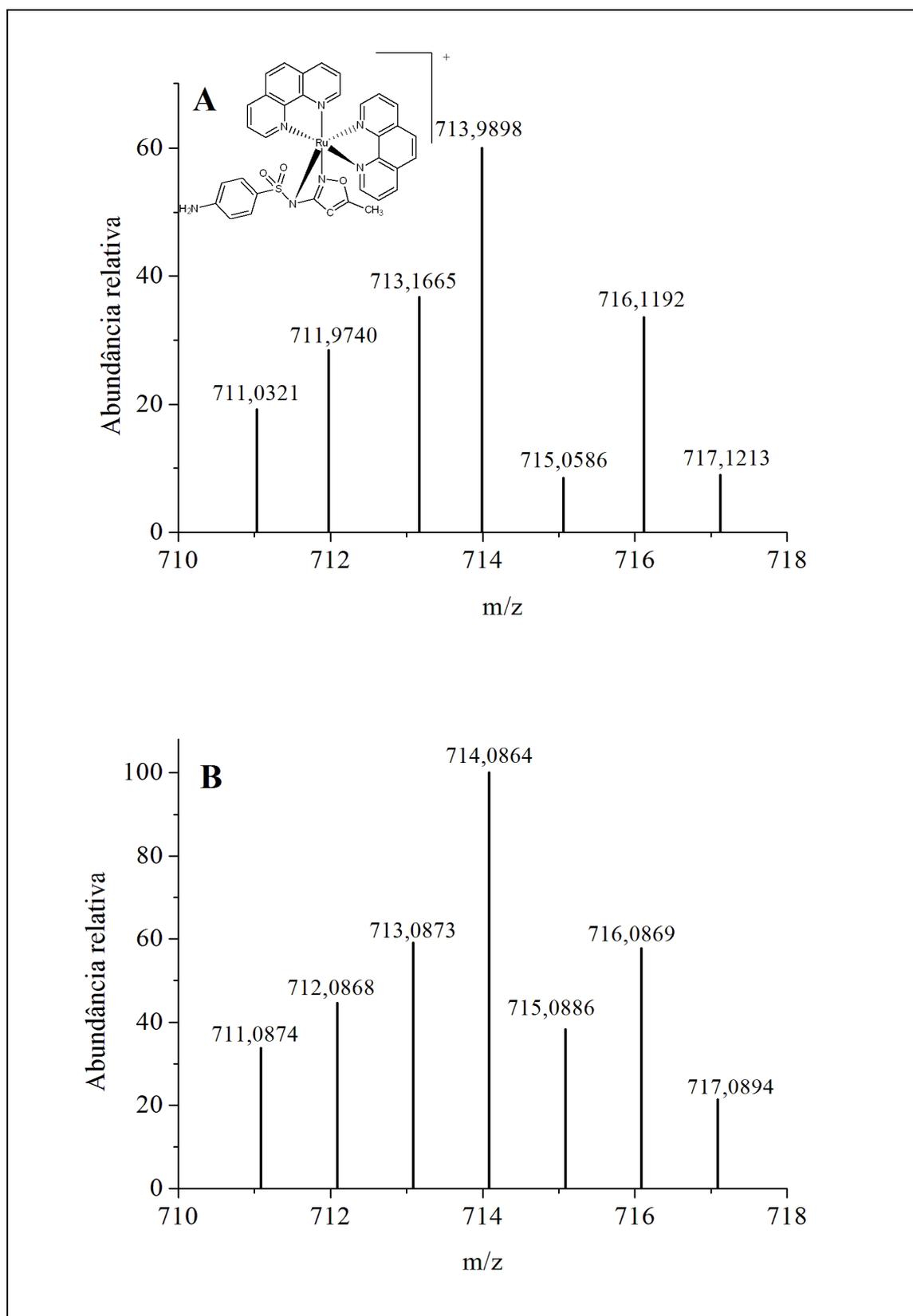
2360 **Figura S7** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
 2361 $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{S})]^{2+}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).

2362

2363

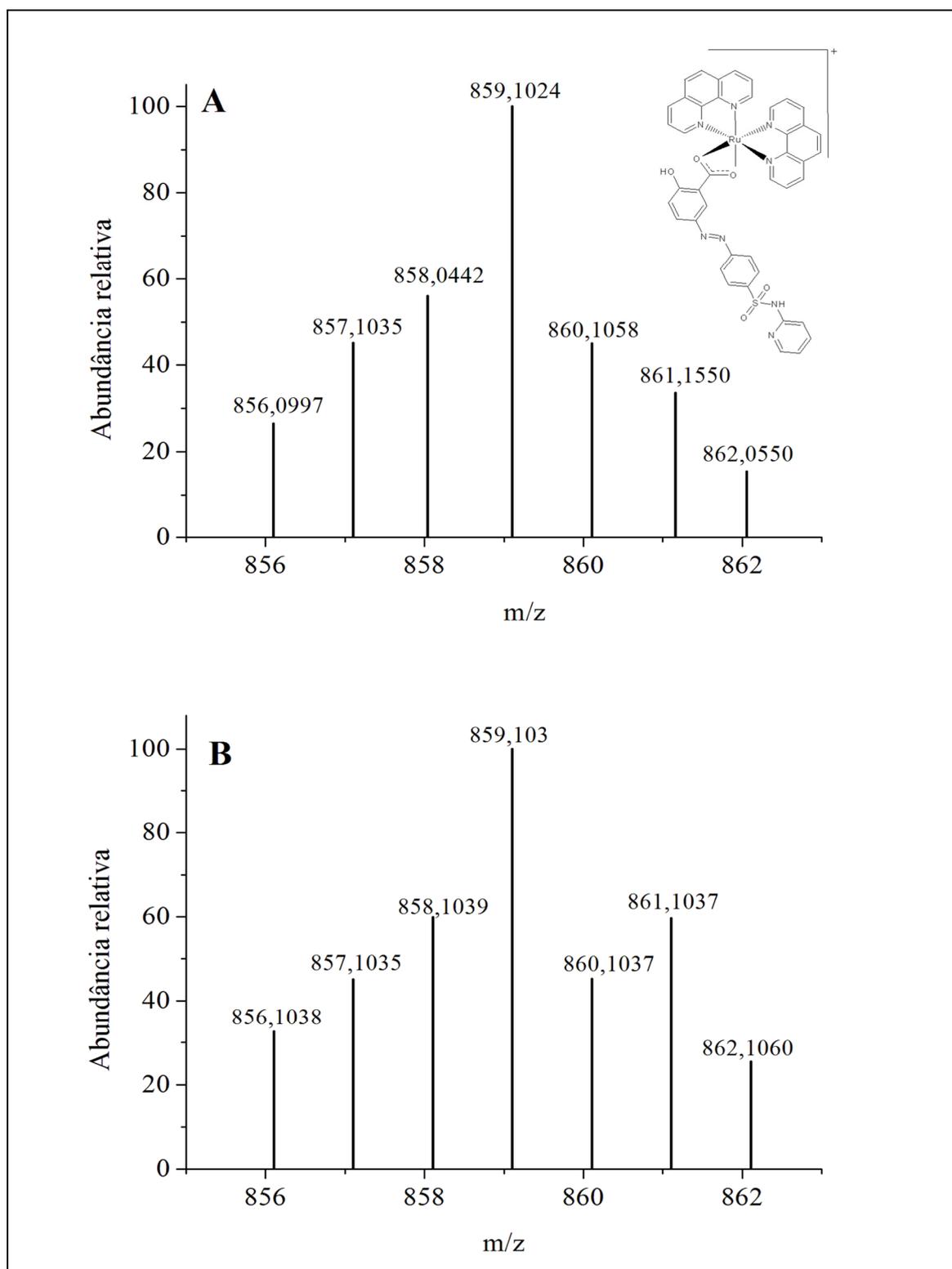


2365 **Figura S8** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
 2366 $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{S})]^+$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).



2367 **Figura S9** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
 2368 $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_3\text{S})]^+$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).

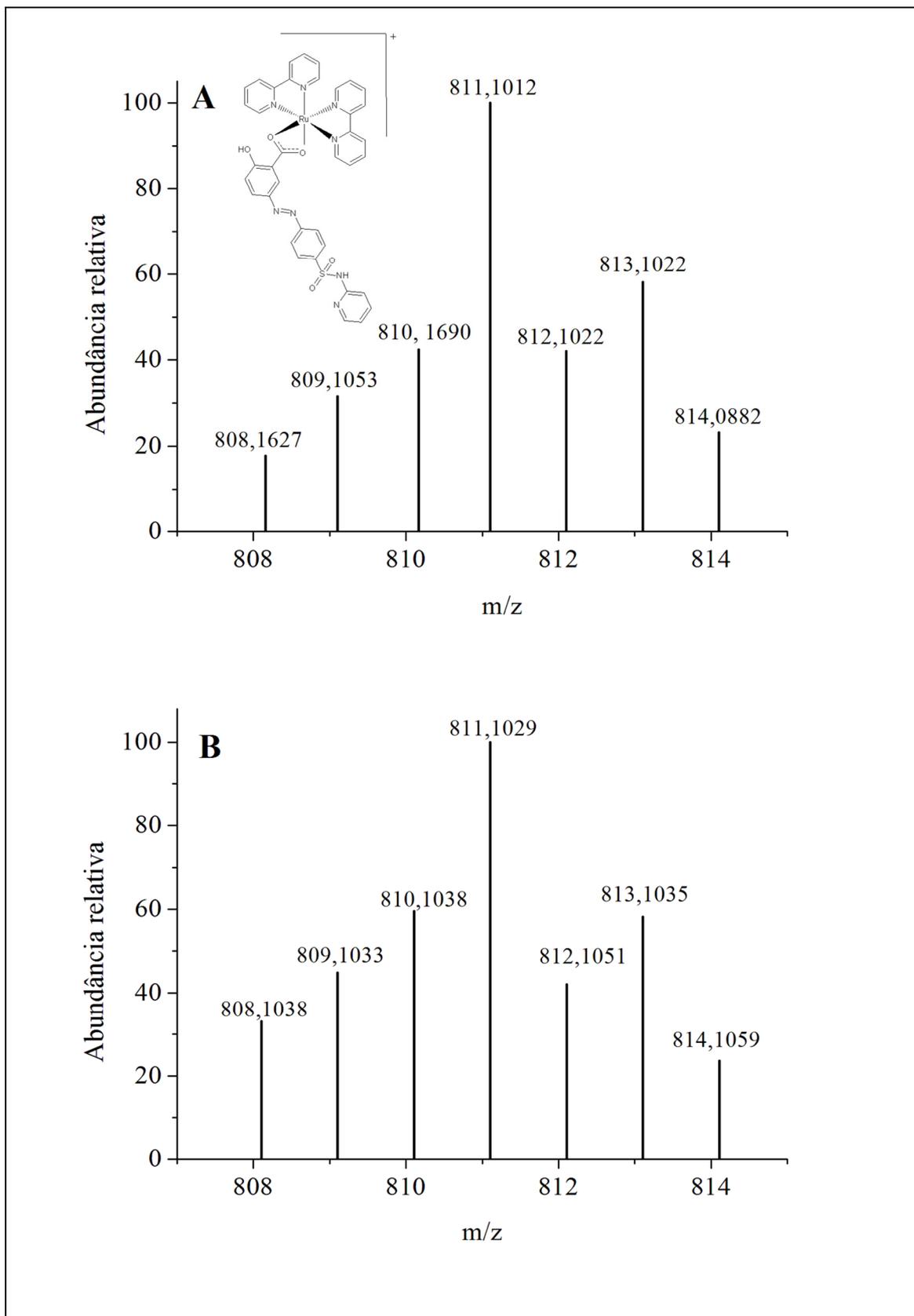
2369



2370 **Figura S10** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
 2371 $[\text{Ru}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_5\text{S})]^+$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).

2372

2373



2374 **Figura S11** Distribuição isotópica experimental (A) e calculada (B) para espécie
 2375 $[\text{Ru}(\text{C}_{10}\text{H}_8\text{N}_2)_2(\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{N}_4\text{O}_5\text{S})]^{+1}$ em solução acetonitrila:acetona (1:1).

2376

2377 **CARACTERIZAÇÃO DE PRECURSORES EMPREGADOS NO**
2378 **PREPARO DO COMPLEXOS DE RU(II) COM LIGANTES MISTOS**

2379

2380 O precursor foi modificado com a finalidade de amplificar as propriedades
2381 biológicas desejáveis, e eliminar ou reduzir propriedades indesejáveis. Porém, para
2382 modificar a estrutura destes precursores foi necessário caracterizar os mesmos. As
2383 seguintes técnicas foram usadas nas caracterizações dos precursores: análise elementar,
2384 ponto de decomposição, medida de condutividade, espectroscopia de absorção na região
2385 do infravermelho e espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H .

2386 **1 Análise elementar, condutimetria e ponto de decomposição.**

2387 Os dados referentes aos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio e as
2388 condutividades em solução $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ [$\Lambda_M(\mu\text{S/cm})$] dos precursores estão
2389 listados na Tabela 1.

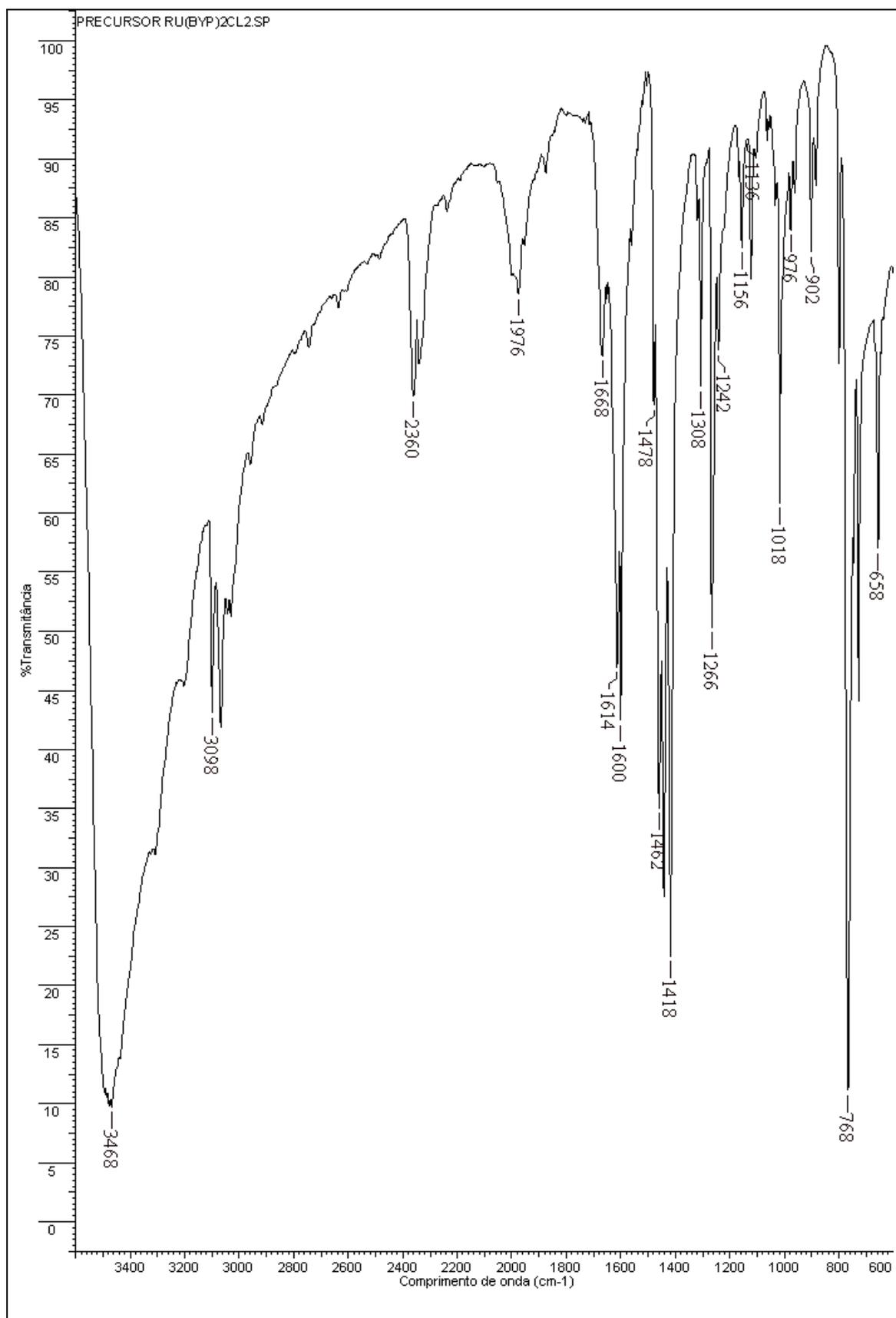
2390 Os resultados das análises elementares desses precursores estão em
2391 correspondência com as fórmulas moleculares propostas. As condutividade em
2392 nitrometano revelam que os precursores, *cis*-[RuCl₂(bpy)₂].2H₂O e *cis*-[RuCl₂(phen)₂]
2393 não são eletrólitos.

2394 **Tabela 1.** Dados das análises elementares, medidas de condutividade e ponto de
2395 decomposição dos precursores.

Complexos	%C	%H	%N	$\Lambda_M \text{ ohm}^{-1} \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$	Ponto de decomposição
[RuCl ₂ (C ₁₀ H ₈ N ₂) ₂].2H ₂ O (precursor bpy) MM= 520,37 g mol ⁻¹					300
experimental	46,70	3,45	10,83	1,40	
calculado	46,16	3,87	10,77		
[RuCl ₂ (C ₁₂ H ₈ N ₂) ₂] (precursor phen) MM= 532,29 g mol ⁻¹					312
experimental	54,11	3,08	10,66	1,42	
calculado	54,14	3,03	10,52		

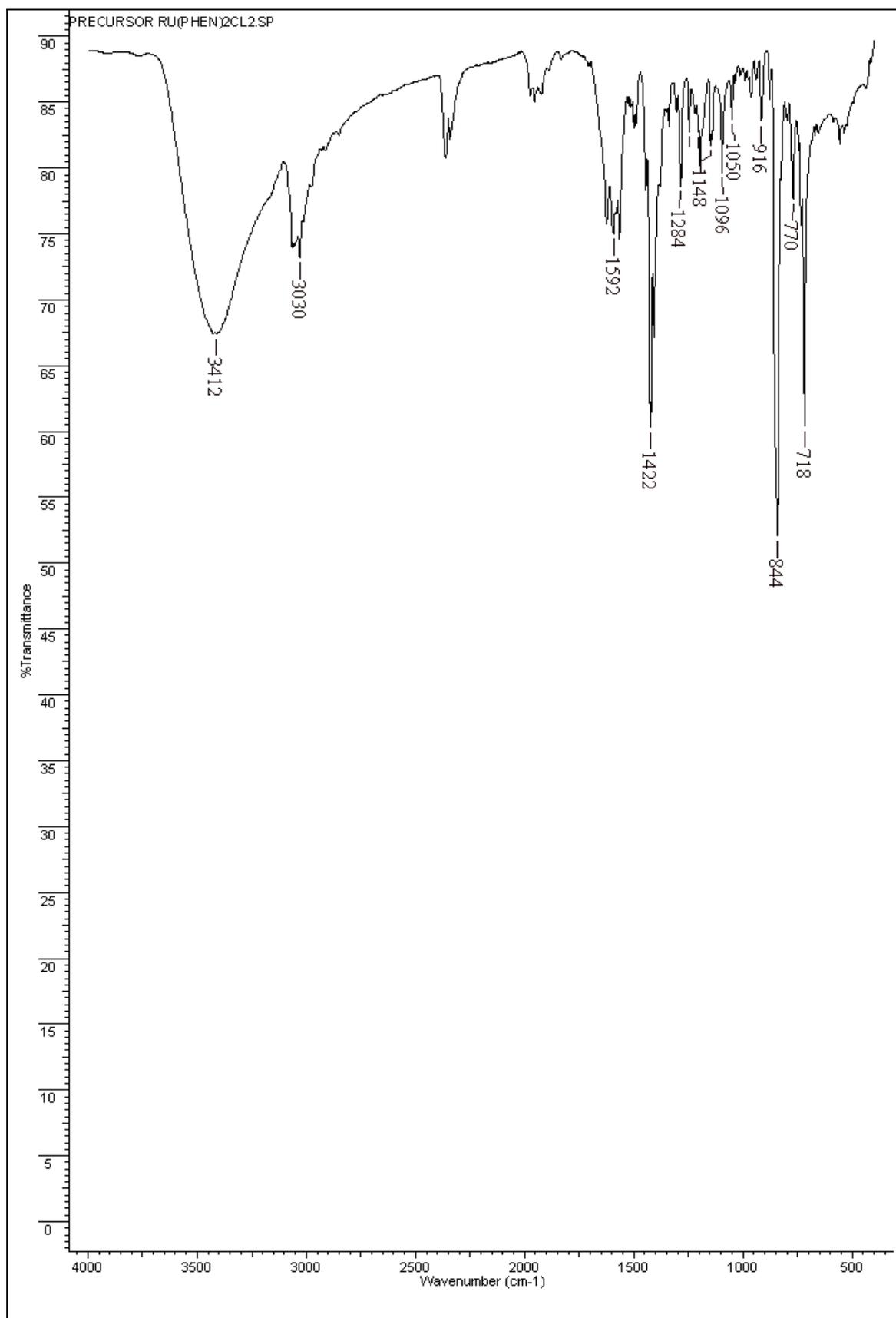
2396 **2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho**

2397 O espectro de absorção na região do infravermelho do precursor *cis*-[RuCl₂
2398 (bpy)₂].2H₂O mostra a presença de quatro importantes estiramentos (Figura S12). Os
2399 estiramentos $\nu_{\text{as}}(\text{N-H})$, $\nu_{\text{C-H}}$ (aromático), $\delta_{\text{C=C}}$ e C=N (do anel da bpy) e $\delta_{\text{C-H}}$
2400 aromático foram observados respectivamente em 3438, 3098 a 3068, 1614 a 1418 e 768
2401 cm^{-1} .



2402 **Figura S12** Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor $\text{cis}[\text{RuCl}_2$
 2403 $(\text{bpy})_2] \cdot \text{H}_2\text{O}$.

2404 Para o precursor *cis*-[RuCl₂(phen)₂].2H₂O (Figura S13) os estiramentos ν C=C e
2405 C=N e ν C-H aromático foram observados respectivamente nas regiões 1500 a 1422 e
2406 734 cm⁻¹.



2407 **Figura S13** Espectro de absorção na região do infravermelho do precursor *cis*-
2408 [Ru(phen)₂Cl₂].

2409

2410 **3 Ressonância magnética nuclear de hidrogênio RMN de ¹H**

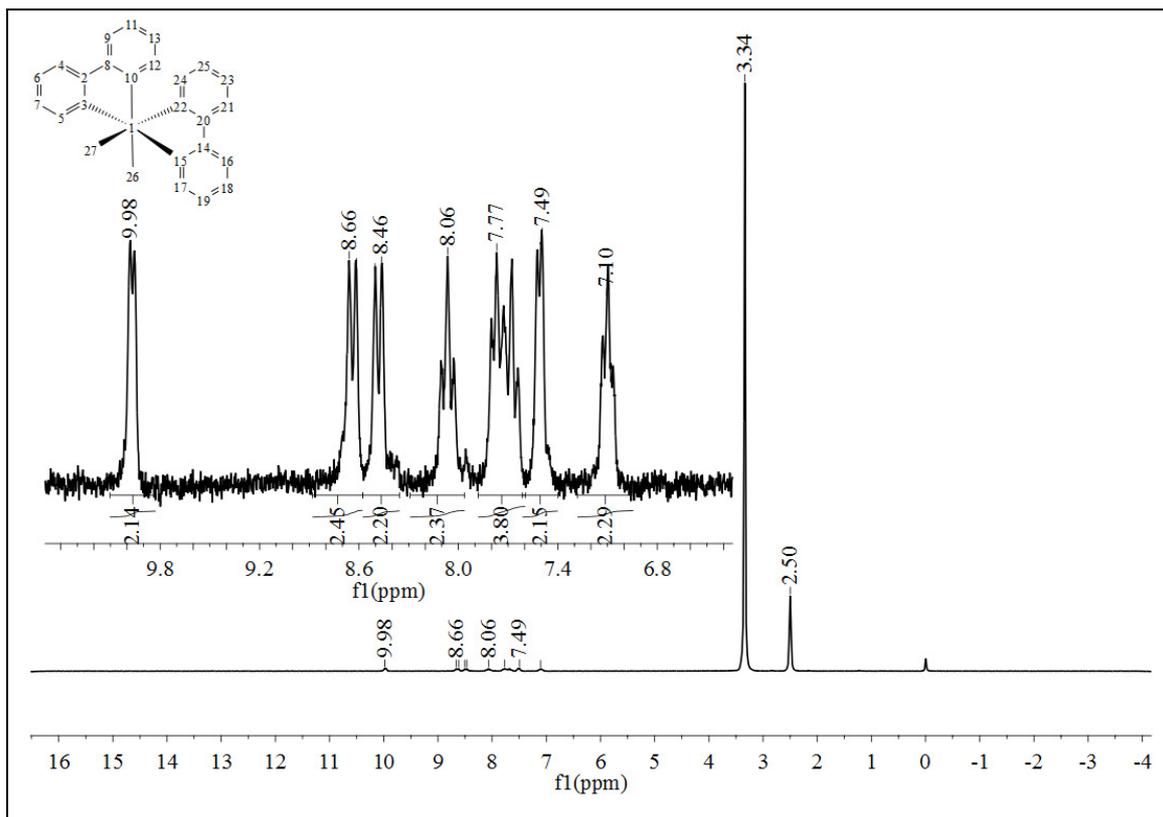
2411 No espectro de RMN de ¹H do precursor *cis*-[RuCl₂(bpy)₂] foi possível
 2412 identificar os 16 prótons dos anéis da bpy (Figura S14). O espectro de RMN de ¹H
 2413 comprovou a formação do precursor e que o mesmo foi obtido com certo grau de
 2414 pureza, devido à ausência de sinais de possíveis contaminantes. As atribuições dos
 2415 deslocamentos químicos para deste precursor estão disponíveis na Tabela 2.

2416

2417 **Tabela 2-** Atribuições dos sinais de RMN de ¹H do precursor *cis*-[RuCl₂(bpy)₂] em
 2418 dms_o-d₆ a 298K, 400 MHz.

Atribuição integral	precursor (ppm)	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (bpy) ₂]	Número de H.
H5 e H2	9,98		2
H24 e H17	8,66		2
H11 e H7	8,46		2
H25 e H19	8,06		2
H6, H18, H23 e H13	7,77		4
H4 e H9	7,49		2
H21 e H16	7,10		2

2419

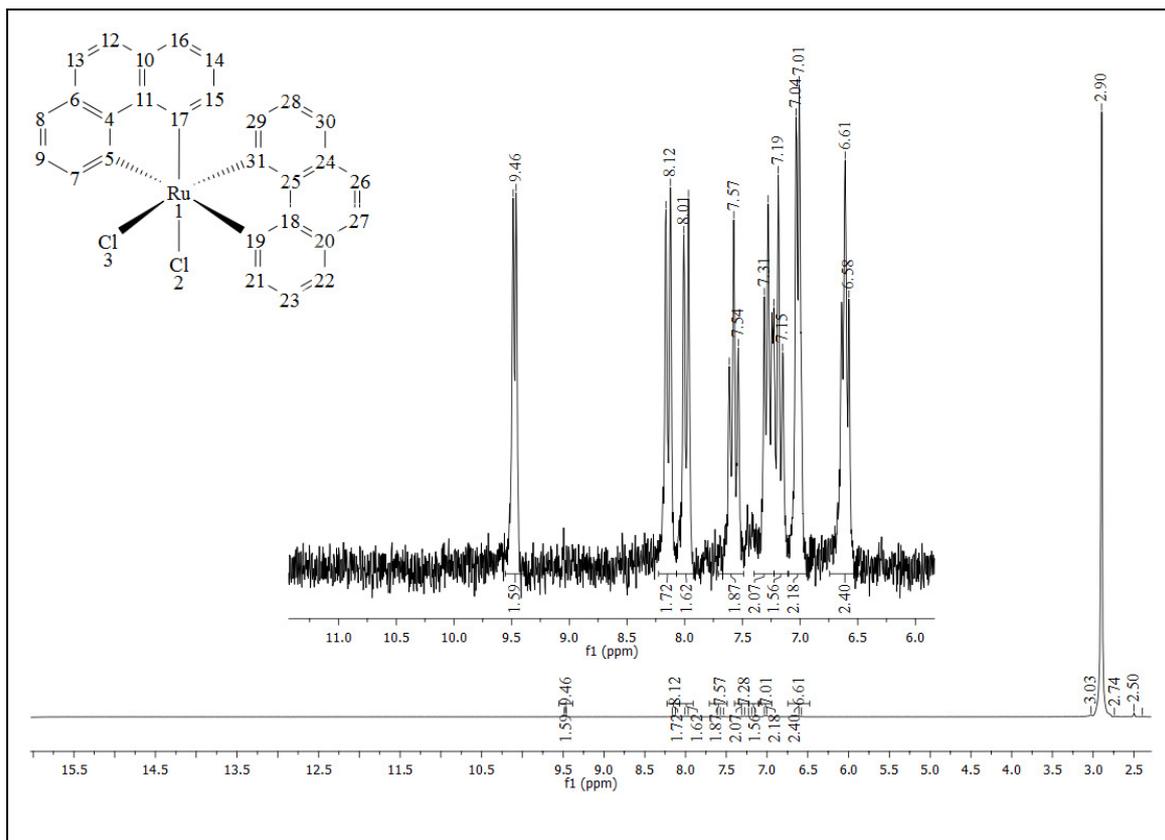


2420 **Figura S14** Espectro de RMN de ¹H do precursor *cis*-[RuCl₂(bpy)₂], em dms0-d₆ a
 2421 298K, 400 MHz

2422 O espectro de RMN de ¹H do precursor *cis*-[RuCl₂(phen)₂] está representado na
 2423 Figura S15. O precursor *cis*-[Ru(C₁₂H₈N₂)₂Cl₂] possui 16 hidrogênios, sendo oito
 2424 hidrogênios equivalentes. Em consequência a isso, espera-se que o espectro de RMN de
 2425 ¹H desse precursor apresente apenas oito sinais referentes aos hidrogênios inseridos em
 2426 ambientes químicos distintos. Um tripleto em δ 6,61 corresponde aos hidrogênios mais
 2427 protegidos, H12 e H13. O sinal seguinte em δ 7,01 corresponde a um duplete duplo
 2428 atribuído aos hidrogênios H26 e H27. Os sinais seguintes em δ 7,11 e 7,31
 2429 correspondem a dupletos duplos atribuídos aos hidrogênios H8 e H16 e H30 e H32. O
 2430 tripleto em δ 7,57 e o duplete em δ 7,97 correspondem aos hidrogênios H9 e H14 e H23
 2431 e H28. E por último, os dois últimos dupletos correspondem H21 e H29 e H7 e H15,
 2432 que pertencem a carbonos que estão ligados diretamente ligados a nitrogênios.

2433 As caracterizações descritas acima permitiram o uso destes dois precursores na
 2434 síntese dos complexos de rutênio com ligantes mistos.

2435



2436 **Figura S15** Espectro de RMN de ¹H do precursor *cis*-[RuCl₂(phen)₂], em dms0-d₆ a
 2437 298K, 400 MHz.

2438

2439

2440

2441

2442

2443

2444

2445

2446