

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

HENRIQUE VIEIRA REIS SILVA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE COMPLEXOS
FOSFÍNICOS DE RUTÊNIO (II) COM LIGANTES CO, NO⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, PIRIDINA
E 4-PICOLINA**

Alfenas/MG

2016

HENRIQUE VIEIRA REIS SILVA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE COMPLEXOS
FOSFÍNICOS DE RUTÊNIO (II) COM LIGANTES CO, NO⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, PIRIDINA
E 4-PICOLINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas.
Área de concentração: Química Inorgânica
Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Doriguetto
Coorientadora: Dr^a. Marília Imaculada Frazão Barbosa

Alfenas/MG

2016

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal de Alfenas

Silva, Henrique Vieira Reis

Síntese, caracterização e atividade biológica de complexos fosfínicos de rutênio (II) com ligantes CO, NO⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, piridina e 4-picolina. / Henrique Vieira Reis Silva. -- Alfenas/MG, 2016.
131 f.

Orientador: Antônio Carlos Doriguetto.
Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, 2016.
Bibliografia.

1. Rutênio. 2. Câncer. 3. Óxido Nítrico. 4. Monóxido de Carbono. I. Doriguetto, Antônio Carlos. II. Título.

CDD-546

HENRIQUE VIEIRA REIS SILVA

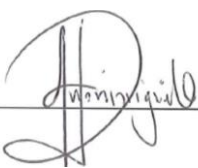
“Síntese, caracterização e atividade biológica de complexos fosfínicos de rutênio (II) com ligantes CO, NO⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, piridina e 4-picolina”

A Banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Inorgânica.

Aprovado em: 01/11/2016


Prof. Dr. Antônio Carlos Doriguetto (Orientador).

Instituição: Instituto de Química, UNIFAL-MG Assinatura:



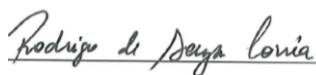
Prof.^a Dr.^a Maria Vanda Marinho

Instituição Instituto de Química, UNIFAL-MG Assinatura:



Prof. Dr. Rodrigo de Souza Corrêa

Instituição: Instituto de Química, UFOP-MG Assinatura:



**Dedico a minha família, namorada
e a todos que me apoiaram durante este percurso.**

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Maria Bernadete da Silva e Nivaldo Raimundo da Silva, por todo amor, carinho e dedicação que me estimularam a percorrer os mais variados e difíceis caminhos até chegar ao momento presente.

A minha namorada Ana Flávia pelo amor, carinho, conselhos, paciência e apoio incondicional em todos os momentos mais difíceis.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Doriguetto, pela orientação, confiança, conhecimentos transmitidos e conselhos.

A Dr.^a. Marília Imaculada Frazão Barbosa, pela coorientação, amizade, ensinamentos e dedicação inabalável na realização de qualquer atividade desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista por disponibilizar seu laboratório para as sínteses e caracterizações.

Aos amigos do Laboratório Interdisciplinar de Química (LabiQ) da Universidade Federal de Alfenas, pelas conversas ao longo desta jornada.

Aos alunos do Laboratório de Síntese e Reatividade de Compostos Inorgânicos (LERCI) do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos, agradeço pelo auxílio nas sínteses e caracterizações dos compostos.

À professora Dr.^a Marisa Ionta, a M.^a Legna Colina e ao aluno Guilherme Álvaro Ferreira da Silva pela realização dos testes biológicos.

Ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Alfenas pela oportunidade oferecida.

Aos técnicos do Instituto de Química da Universidade Federal de Alfenas pelo suporte no desenvolvimento deste trabalho.

À CAPES, CNPq e FAPEMIG pelo auxílio financeiro.

RESUMO

Uma série de complexos de rutênio de fórmula geral $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})](\text{PF}_6)_n$ onde (dppb = 1,4-bis(difenilfosfina butano), 4,4'-Mebipy = 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina e L = CO, NO, NO_2^- , NO_3^- , piridina e 4-picolina, foi preparada e caracterizada por IR, UV-Vis, RMN de ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, análise elementar, em alguns casos difração de raios X de policristal e voltametria cíclica. Além disso, a estrutura do complexo $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ foi elucidada pela difração de raios-X de monocristal. A atividade anticancer *in vitro* na linhagem HepG2 (carcinoma hepatocelular), interação com albumina humana (HSA) e DNA foram avaliadas. As constantes de ligação da albumina de soro humano e os parâmetros termodinâmicos sugerem interações espontâneas dos complexos com a proteína HSA, através de interações de Van der Waals e ligação de hidrogênio. O estudo de titulação espectroscópica indicou que o DNA-CT interage com os complexos por meio de interações não-covalentes. Além disso, para todos os compostos os índices de seletividade estão próximos de 1, indicando uma boa seletividade dos compostos obtidos.

Palavras chave: Rutênio. Câncer. NO. CO. NO_2^- . NO_3^- . Piridina. 4-Picolina. DNA. e HSA.

ABSTRACT

A series of ruthenium phosphine/diimine complexes were prepared and characterized as $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ (dppb = 1,4-bis(diphenylphosphino)butane, 4,4'-Mebipy = 4,4'-dimethyl-2,2'-bipyridine and $\text{L} = \text{CO}, \text{NO}^+, \text{NO}_2^-, \text{NO}_3^-, \text{pyridine}$ and 4- picoline), by IR, UV-Vis, ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ and $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR spectroscopies, elemental analysis, X-ray Powder Diffraction and cyclic voltammetry. In addition, the crystal structure of $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ was elucidated by single crystal X-ray diffraction analysis. Also, the preliminary *in vitro* anticancer activity, on hepatocellular carcinoma (HepG2), HSA and DNA binding experiments were evaluated. Human serum albumin binding constants and thermodynamic parameters suggest spontaneous interactions of the complexes with this protein, by van der Waals forces and hydrogen bonding. Spectroscopic titration study indicated that the ctDNA interacts with the complexes are primarily through non-covalent interactions. Additionally, for all compounds their SI are close to 1, indicating a good selectivity.

Keywords: Ruthenium. Cancer. NO. CO. NO_2^- . NO_3^- . Pyridine. 4-Picoline. DNA. and HSA.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Formação do aduto de DNA e cisplatina.	15
Figura 2 -	Estruturas propostas para os compostos de rutênio (A) NAMI-A e (B) KP1019.	17
Figura 3 -	Esquema da produção endógena catalisado pela heme oxigenase	20
Figura 4 -	Representação química dos complexos CORM-3 e Cr(CO) ₄ (N-[(2-piridil)metilideno]-6-coumarina).	21
Figura 5 -	Esquema químico (A) e representação Ortep (B) do complexo Co ₂ (CO) ₆ (C ₁₃ H ₈ O ₃).	21
Figura 6 -	Esquema da síntese endógena de óxido nítrico.	22
Figura 7 -	Modos de coordenação do NO: (i) nitrosil, (ii) isonitrosil, (iii) bidentado.	23
Figura 8 -	Representação ORTEP do complexo [RuCl ₂ NO(BPA)] (BPA= 2-hydroxybenzyl(2-methylpyridyl)amine) com elipsoids de 30%.	24
Figura 9 -	Representação estrutural (A) do complexo o cis-[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5,5'-mebipy)] e sua representação ORTEP (B) com elipsoids com 30% de probabilidade.	25
Figura 10 -	Representação Estrutural do [RuCl ₂ (p-cym)(2-pic)].	26
Figura 11 -	Sistema de secagem de argônio.	28
Figura 12 -	Reação de desidratação do ácido fórmico com ácido sulfúrico.	32
Figura 13 -	Esquema do sistema de geração de monóxido de carbono utilizado.	32
Figura 14 -	Reação de interconversão dos complexos de rutênio com ligante nitro e nitrosilo.	34
Figura 15 -	Fluxograma com a rota sintética utilizada	36
Figura 16 -	Estruturas propostas para os complexos sintetizados.	44
Figura 17 -	Espectro de RMN de ³¹ P{ ¹ H} do complexo (1), em CH ₂ Cl ₂	45
Figura 18 -	Espectro de RMN de ³¹ P{ ¹ H} do complexo (6), em CH ₂ Cl ₂	46
Figura 19 -	Espectro de RMN de ³¹ P{ ¹ H} do complexo (6), em CH ₃ (CO)CH ₃	48
Figura 20 -	Espectro de RMN de ³¹ P{ ¹ H} do complexo (4), em CH ₂ Cl ₂	49
Figura 21 -	RMN de ³¹ P{ ¹ H} do complexo (1): tempo: 0 min, 24 h e 48 h, em CH ₂ Cl ₂ / DMSO.	50

Figura 22 -	RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (2): tempo: 0 min, 24 h e 48 h, em $\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{DMSO}$	50
Figura 23 -	Resposta amperiométrica do complexo $[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppp})(5,5'\text{-mebipy})](\text{PF}_6)_2$, após adição de piridina, em acetona.....	51
Figura 24 -	Numeração proposta e espectro de ^1H para o complexo (1), CDCl_3	52
Figura 25 -	Numeração proposta para atribuição do RMN de ^{13}C e espectro do composto (1), em CDCl_3	54
Figura 26 -	Espectro vibracional de infravermelho do precursor <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]$, em KBr.....	56
Figura 27 -	Espectro vibracional de infravermelho ampliado (região 1000 a 250 cm^{-1}) do complexo precursor <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]$, em KBr.....	57
Figura 28 -	Espectro vibracional de infravermelho do precursor e do complexo (1), em KBr.....	58
Figura 29 -	Espectro de infravermelho do complexo (2), em KBr.....	59
Figura 30 -	Espectro de infravermelho do complexo (3), em KBr.....	60
Figura 31 -	Formas de coordenação do íon NO_2^-	60
Figura 32 -	Espectro de infravermelho do complexo (4), em KBr.....	61
Figura 33 -	Espectro de infravermelho do complexo (5), em KBr.....	62
Figura 34 -	Curvas TG/DTA simultâneas do precursor <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]$	65
Figura 35 -	Difratogramas do precursor aquecido (azul) e de dióxido de rutênio (IV) obtido da literatura (preto).....	65
Figura 36 -	Termogramas dos complexos sintetizados (A) (1), (B) (2), (C) (3), (D) (4), (E) (5) e (F) (6).....	66
Figura 37 -	Espectro de UV-vis do precursor <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]$ em $\text{CHCl}_3 / 3,8 \times 10^{-5} \text{ mol x L}^{-1}$	68
Figura 38 -	Espectro de UV-vis do complexo (1), em $\text{CHCl}_3 / 4,4 \times 10^{-5} \text{ mol x L}^{-1}$	69
Figura 39 -	Espectro de UV-vis do complexo (2) em $\text{CHCl}_3 / 4,5 \times 10^{-5} \text{ mol x L}^{-1}$	70
Figura 40 -	Espectro de UV-vis do complexo (3), em $\text{CHCl}_3 / 6,86 \times 10^{-5} \text{ mol x L}^{-1}$	71
Figura 41 -	Espectro de UV-vis do complexo (4), em $\text{CHCl}_3 / 3,12 \times 10^{-5} \text{ mol x L}^{-1}$	71
Figura 42 -	Espectro de UV-vis do complexo (5), em $\text{CHCl}_3 / 5,7 \times 10^{-5} \text{ mol x L}^{-1}$	72

Figura 43 -	Voltametria cíclica do complexo (1), eletrólito PTBA 0,1 mol·L ⁻¹ em CH ₃ CN vs Ag/AgCl.....	75
Figura 44 -	Voltametria cíclica do complexo (2), eletrólito PTBA 0,1 mol·L ⁻¹ em CH ₃ CN vs Ag/AgCl.....	76
Figura 45 -	Voltametria cíclica do complexo (3) a) faixa -0,2 à 1,6 mV e b) -1,6 à 0,2 mV - eletrólito PTBA 0,1 mol·L ⁻¹ em CH ₃ CN vs Ag/AgCl.....	77
Figura 46 -	Representação da equação demonstrando a obtenção de nitrito e nitrosilo complexos.....	78
Figura 47 -	Voltametria do complexo (4) eletrólito PTBA 0,1 mol·L ⁻¹ em CH ₃ CN vs Ag/AgCl.....	78
Figura 48 -	Voltametria do complexo (6), eletrólito PTBA 0,1 mol·L ⁻¹ em CH ₃ CN vs Ag/AgCl.....	79
Figura 49 -	Método de Lenta Evaporação do Solvente.....	80
Figura 50 -	Representação da estrutura cristalina do complexo (1).....	81
Figura 51 -	Representação de complexos de rutênio análogos contendo cloreto/fosfina/diimina e como ligante monodentado (a) CO cis a cloreto (1), (b) e (c) CO trans a cloreto (códigos CCDC: BUZXUQ e BUZYAX), (d) piridina (código CCDC: BUZYIF), (e) 4-metilpiridina (código CCDC : QISXUM), (f) 4-amio-piridina (código CCDC: BUZYOL), (g) 4-vinilpiridina (código CCDC : FOCDEI) e (h) 4-fenilpiridina (código CCDC: LUNVIA), (i) sobreposição geométrica dos compostos.....	84
Figura 52 -	Difratogramas experimentais para o precursor e para os complexos (1) e (3).....	85
Figura 53 -	Difratogramas dos complexos (A) 2, (B) 4, (C) 5 e (D) 6.....	86
Figura 54 -	Espectros das titulações espectroscópicas dos complexos: (A) = (2), (B) = (3), (C) = (4), (D) = (1), (E) = (5).....	89
Figura 55 -	Estrutura da albumina de soro humano (HSA).....	91
Figura 56 -	Espectros de emissão da HSA em concentrações crescentes dos compostos (A) = (1), (B) = (2), (C) = (3), (D) = (4) e (E) = (5), $\lambda_{excitação}$ = 270 nm, pH = 7,4 e T = 310 K.....	92

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Valores de IC ₅₀ ($\mu\text{mol L}^{-1}$) de alguns complexos de rutênio contra a linhagem tumoral MDA-MB-231.....	19
Tabela 2 -	Valores de IC ₅₀ para o complexo [RuCl ₂ NO(BPA)] nas linhagens HeLa, Tm5 e CHO obtidos em soluções de DMSO	24
Tabela 3 -	Valores de IC ₅₀ e EC ₅₀ para o complexo cis-[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5,5'-mebipy)] frente as linhagens de tripanossoma Epimastigotas e Tripomastigota.....	25
Tabela 4 -	Principais solventes utilizados.....	29
Tabela 5 -	Principais reagentes utilizados	29
Tabela 6 -	Ligantes utilizados.....	30
Tabela 7 -	Deslocamentos químicos e constantes de acoplamento dos complexos (1-6).....	46
Tabela 8 -	Valores de deslocamento químicos de RMN de ¹ H para os complexos (1-6).....	53
Tabela 9 -	Valores de deslocamentos químicos δ (ppm) de RMN de ¹³ C para os complexos 1-6.....	55
Tabela 10 -	Principais bandas de IV (cm ⁻¹) atribuídas ao precursor e aos complexos sintetizados.....	63
Tabela 11 -	Transições características e coeficientes de absorvidade molar dos complexos.....	73
Tabela 12 -	Condutividade molar dos compostos sintetizados	74
Tabela 13 -	Composição centesimal dos complexos sintetizados	79
Tabela 14 -	Dados Cristalográficos e refinamento estrutural do complexo (1).....	82
Tabela 15 -	Comprimento das ligações do complexo (1)	83
Tabela 16 -	Índices de seletividade (IS) e valores de IC ₅₀ para as linhagens de hepatocarcinoma humano (Hep G2) e fibroblasto normal (CCD-1029Sk).	87
Tabela 17 -	Valores de constante de ligação (kb) e porcentagem de hipocromismo (%H) dos compostos sintetizados	90
Tabela 18 -	Valores obtidos para as constantes: de Stern-Volmer (Ksv), ligação (Kb), ligação biomolecular (Kq) e número de sítios de ligação (n) em	

$\lambda_{\text{excitação}} = 270 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{emissão}} = 305 \text{ nm}$, nas temperaturas de 298 e 310 K.....93

Tabela 19 - Parâmetros termodinâmicos para os compostos estudados: energia livre de Gibbs (ΔG°), variação de entalpia (ΔH°) e variação de entropia (ΔS°).....94

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

4,4'-Mebipy -	4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina
d -	dubleto
CORM -	CO-release molecules
DNA -	ácido desoxirribonucléico
DNA-ct -	DNA de timo de vitelo (bezerro) “ <i>Calf Thymus DNA</i> ”
dppb -	1,4-bis(difenilfosfina)butano
DRXM -	difração de raios X por monocristal
DRXP -	difração de raios X por policristal
DTA -	Análise térmica diferencial
E_{ox} -	potencial de oxidação ou anódico
E_{red} -	potencial de redução ou catódico
HSA -	albumina de soro humano
IV -	espectroscopia de absorção na região do infravermelho
J -	constante de acoplamento
TCLM -	transição de carga ligante-metal
TCML -	transição de carga metal-ligante
PPh₃ -	trifenilfosfina
PTBA -	perclorato de tetrabutilamônio
RMN - ¹³C -	ressonância magnética nuclear de carbono
RMN- ¹H -	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN - ³¹P{¹H} -	ressonância magnética nuclear de fósforo desacoplado do hidrogênio
Ru^{III} -	rutênio com estado de oxidação III
Ru^{II} -	rutênio com estado de oxidação II
S -	singleto
TGA -	Análise termogravimétrica
UV-vis -	espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível
VC -	voltametria cíclica

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	Complexos de rutênio com atividade antitumoral	18
2.2	Monóxido de carbono	19
2.3	Óxido nítrico (NO) e dióxido de nitrogênio (NO ₂)	22
2.4	Ligantes piridínicos	25
3	OBJETIVOS	27
3.1	Objetivos Específicos	27
4	METODOLOGIA	28
4.1	Obtenção da Atmosfera Inerte: Argônio.....	28
4.2	Solventes, reagentes e ligantes.....	29
4.3	Síntese dos Complexos Precursores.	30
4.3.1	[RuCl₂(PPh₃)₃]	31
4.3.2	[Ru₂Cl₄(m-dppb)₃], onde dppb = 1,4-bis(difenilfosfina)butano	31
4.3.3	<i>cis</i>-[RuCl₂(dppb)(4,4'-Mebipy)], onde 4,4'-Mebipy = 4,4'- dimetil-2,2'- bipiridina	31
4.3.4	Monóxido de carbono (CO)	32
4.4	Síntese dos Complexos	33
4.4.1	[RuCl(CO)(dppb)(4,4'-Mebipy)] PF₆	33
4.4.2	RuCl(NO₂)(dppb)(4,4'-Mebipy)	33
4.4.3	[RuCl(NO)(dppb)(4,4'-Mebipy)] (PF₆)₂	34
4.4.4	[Ru(NO₃)(dppb)(4,4'-Mebipy)]PF₆	34
4.4.5	[Ru(Cl)(L)(dppb)(4,4'-Mebipy)]PF₆, onde L= piridina (Py) e 4-picolina (4Pic)	35
4.5	Instrumentação.....	36
4.5.1	Análise Elementar	37
4.5.2	Difração de raios X por monocristal	37
4.5.3	Difração de raios X por policristal	37
4.5.4	Análise termogravimétrica	38
4.5.5	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho	38
4.5.6	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	38

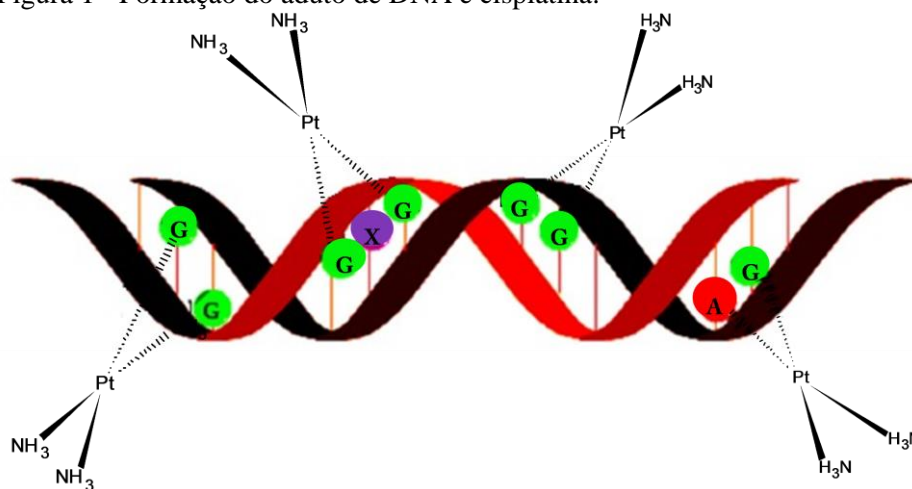
4.5.7	Condutividade	39
4.5.8	Medidas Eletroquímicas.....	39
4.5.9	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível	40
4.5.10	Estudo de interação com DNA por espectroscopia UV-vis.....	40
4.5.11	Estudo da interação com albumina de soro humano (HSA).....	41
4.6	Ensaio citotóxico e antiproliferativo	42
4.6.1	Esquema de tratamento	42
4.6.2	Viabilidade Celular.....	42
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	44
5.1	Ressonância Magnética Nuclear de ^{31}P { ^1H } (RMN).	44
5.2	Estabilidade dos complexos por RMN de ^{31}P { ^1H } (RMN).....	49
5.3	Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C { ^1H }.....	51
5.4	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV).....	56
5.5	Análise Termogravimétrica	64
5.6	Espectroscopia de absorção na região do UV-vis.....	67
5.7	Medidas de Condutividade	73
5.8	Voltametria cíclica.....	74
5.9	Análise Elementar.....	79
5.10	Difração de Raios X por Monocristal.....	80
5.11	Difração de Raios X por Policristal(DRXP).....	84
5.12	Estudos de citotoxicidade	86
5.13	Estudo de interação com DNA por espectroscopia UV-vis.....	88
5.14	Estudos de interação com albumina de soro humano (HSA)	91
6	CONCLUSÃO.....	95
	REFERÊNCIAS.....	97
	APÊNDICE A - Espectros de ressonância magnética nuclear de ^{31}P{^1H}, ^{13}C e ^1H, Espectroscopia de absorção na região do UV-vis e IV, do precursor e dos complexos sintetizados.....	107

1 INTRODUÇÃO

Medicamentos a base metais de transição tem sido aplicados desde o início da civilização, onde o uso de sais de ouro e cobre para esterificação da água foram empregados (FRICKER, 2007). Mesmo com estes relatos, o primeiro metalofármaco constituído por arsênio e utilizado no tratamento da sífilis foi sintetizado somente em 1912 por Paul Ehrlich (MJOS, 2014). Entretanto, o que possibilitou o grande desenvolvimento da Química Inorgânica Medicinal foi a descoberta acidental das propriedades antitumorais da cisplatina $[PtCl_2(NH_3)_2]$ por Barnett Rosenberg em 1965 (MJOS, 2014). Tal atividade permite que esse composto inorgânico seja empregado no tratamento de vários tipos de cânceres, sendo, depois das doenças cardiovasculares, a maior causa de morte em países industrializados, onde uma em cada quatro pessoas desenvolve a doença, e uma em cada cinco é levada a óbito (INCA, 2014; VIJAYAN, 2014).

O mecanismo de ação da cisplatina, e seus análogos, vêm sendo investigado e há evidências de que está relacionado com interações por ligação covalente com sítios específicos do DNA, ocasionando a formação de diferentes adutos (Figura 1) que levam a mudanças conformacionais, inibição da transcrição do DNA e por consequência, morte celular das células cancerosas, por apoptose (ZAKI, 2016).

Figura 1 - Formação do aduto de DNA e cisplatina.



Fonte: ZAKI, 2016. Adaptada

Apesar da eficácia destes fármacos eles não são seletivos contra as células neoplásicas e agredem também células normais, especialmente aquelas com grande capacidade de renovação, como as da medula óssea e mucosa gastrointestinal. Por isso, uma série de efeitos colaterais pode ser associada a esse tipo de tratamento, podendo-se destacar a nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, neurotoxicidade e alopecia, entre outros. Além disso, com o passar dos anos alguns tumores desenvolveram resistência ao complexo levando a necessidade da busca por novos agentes quimioterapêuticos com maior espectro de atuação e menores efeitos colaterais (GROZAV, 2016).

Por essas razões, cientistas vêm estudando exaustivamente novos complexos de metais de transição que apresentam potencial atividade antitumoral. Nesse contexto os complexos de rutênio destacam-se já que apresentam propriedades antitumorais, antibacteriana e antimetastáticas (KOSTOVA, 2006; SHOHAYEB, 2016).

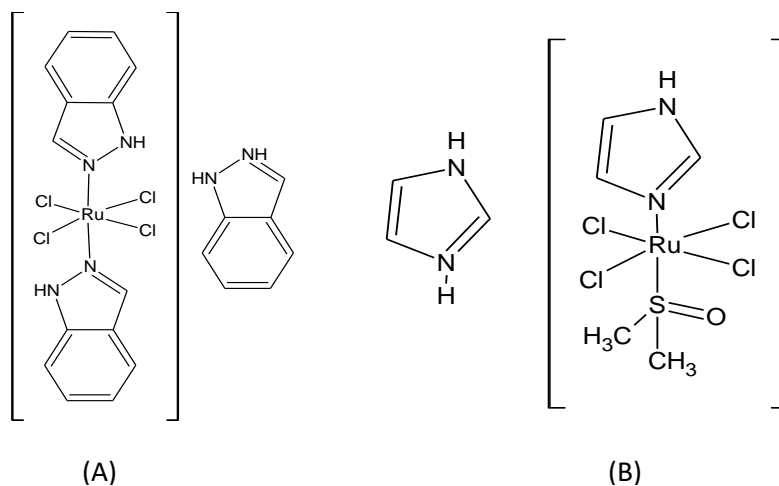
Tais compostos, quando comparados aos fármacos com platina, possuem vantagens que incluem a capacidade de adotar diferentes estados de oxidação em condições fisiológicas e capacidade do átomo de rutênio mimetizar o de ferro em ligações com determinadas moléculas biológicas (albumina, transferrina e lactoferrina) (NAIK, 2014).

Nas últimas duas décadas ocorreu um crescimento exponencial na síntese de compostos de rutênio, vislumbrando um potencial fármaco. Nesse sentido complexos de rutênio com ligantes carbonílicos, nitro, óxido nítrico, piridina e 4-picolina têm sido largamente estudados, visto que tais ligantes desempenham papéis importantes em muitos processos biológicos podendo se tornar potenciais metalofármacos (CARNIZELLO, 2016; SIPKA, 2010; TFOUNI, 2012).

Atualmente dois complexos de rutênio NAMI-A($[trans-RuCl_4(1H-imidazol)(DMSO-S)]$); KP1019 ($[trans-RuCl_4(1H-indazol)_2]$) (Figura 2) encontram-se na fase II de ensaios clínicos sobre os efeitos biológicos de potenciais agentes terapêuticos (VIJAYAN, 2014). Apesar da semelhança estrutural, esses compostos apresentam atividades antitumorais distintas, o NAMI-A demonstra efeitos inibitórios contra a formação de metástases em uma variedade de células tumorais, porém com baixo efeito citotóxico, enquanto o KP1019 mostrou uma atividade antitumoral direta contra uma grande variedade de tumores humanos primários por indução de apoptose (ANTONARAKIS, 2010).

O mecanismo de ação de complexos de rutênio ainda não foi determinado com clareza, entretanto estudos têm apontado que estes atuam sobre uma grande quantidade de moléculas alvo dentre elas DNA, membranas e proteínas (KOMOR, 2013).

Figura 2 - Estruturas propostas para os compostos de rutênio (A) NAMI-A e (B) KP1019.



Fonte: Do autor.

Em suma, diante de tais propriedades e dados relatados acima o presente trabalho fundamenta-se na síntese, caracterização, avaliação da atividade citotóxica e investigação do mecanismo de ação de complexos de rutênio (II) com ligantes CO, NO⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, piridina e 4-picolina uma vez que esses apresentam interessantes propriedades terapêuticas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A Revisão bibliográfica relata sobre os complexos de rutênio com atividade tumoral, os ligantes carbonílicos, óxido nítrico, dióxido de nitrogênio e piridínicos abordando a sua importância no organismo e os trabalhos promissores já desenvolvidos.

2.1. Complexos de rutênio com atividade antitumoral

O desenvolvimento de novos complexos com atividade antitumoral é um desafio para os Químicos Inorgânicos, pois está vinculado à necessidade de buscar novos fármacos mais efetivos e com menor toxicidade que os atuais. Diante disto vários grupos de pesquisa têm buscado obter complexos que apresentem atividade antitumoral, procurando obter vantagens em relação aos fármacos à base da platina (CHATTERJEE, 2008).

Os mais promissores tem sido os de rutênio, pois têm demonstrado uma maior especificidade e seletividade para células tumorais (CHATTERJEE, 2008; FINK, 2010). Além disso, os complexos de rutênio apresentam características que os tornam adequados para a aplicação medicinal: possibilidade de apresentar vários estados de oxidação, podendo assim favorecer uma ação por meio de mecanismos redox, versatilidade na troca de ligantes, além da geometria de coordenação octaédrica, ou seja, maior número de sítios de coordenação com biomoléculas, se comparado aos compostos de platina (BERGAMO, 2012; BRABEC, 2006).

Atualmente, complexos de rutênio com ligantes de interesse biológico veem sendo avaliados e vários relatos podem ser encontrados na literatura. A Tabela 1 ilustra alguns resultados bastante satisfatórios frente a linhagens tumorais, pode-se destacar o complexo ct -[RuCl(CO)(dppb)(bipy)]PF₆ que apresenta um valor de IC₅₀ de 6,56 que é inferior ao da cisplatina (76,19), indicando que é necessária uma concentração de composto inferior ao da cisplatina para eliminar 50% das células tumorais na linhagem de MCF-7. Tais resultados evidenciam que o emprego de ligantes carbonílico e nitrosilo podem potencializar a atividade antitumoral.

Tabela 1 - Valores de IC₅₀ (μmol L⁻¹) de alguns complexos de rutênio contra a linhagem tumoral MDA-MB-231.

Linagem de células	Complexo*	IC ₅₀	Referência**
MCF-7	<i>ct</i> -[RuCl(CO)(dppb)(bipy)]PF ₆	6,56	CARNIZELLO, et al., 2016.
MDA-MB-231	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (NO)(dppp)(py)]PF ₆	19,0	GOLFETO, et al., 2010
MDA-MB-231	<i>cis</i> -[RuCl ₂ (NO)(dppp)(4-Mepy)]PF ₆	7,4	GOLFETO, et al., 2010
Hep-G2	[RuH(HL)(PPh ₃) ₂ (CO)]	22,1	KAMATCHI, et al., 2013
MDA-MB-231	Cisplatina	63,0	GOLFETO, et al., 2010
Hep-G2	Cisplatina	16,2	KAMATCHI, et al., 2013
MCF-7	Cisplatina	76,19	CARNIZELLO, et al., 2016.

Fonte: Do autor. Adaptada

*Onde: bipy = 2,2'-bipiridina, dppb = 1,4-*bis*(difenilfosfina)butano, py = piridina e HL = 2,2'-bipiridina-5,5'-dicarboxílico.

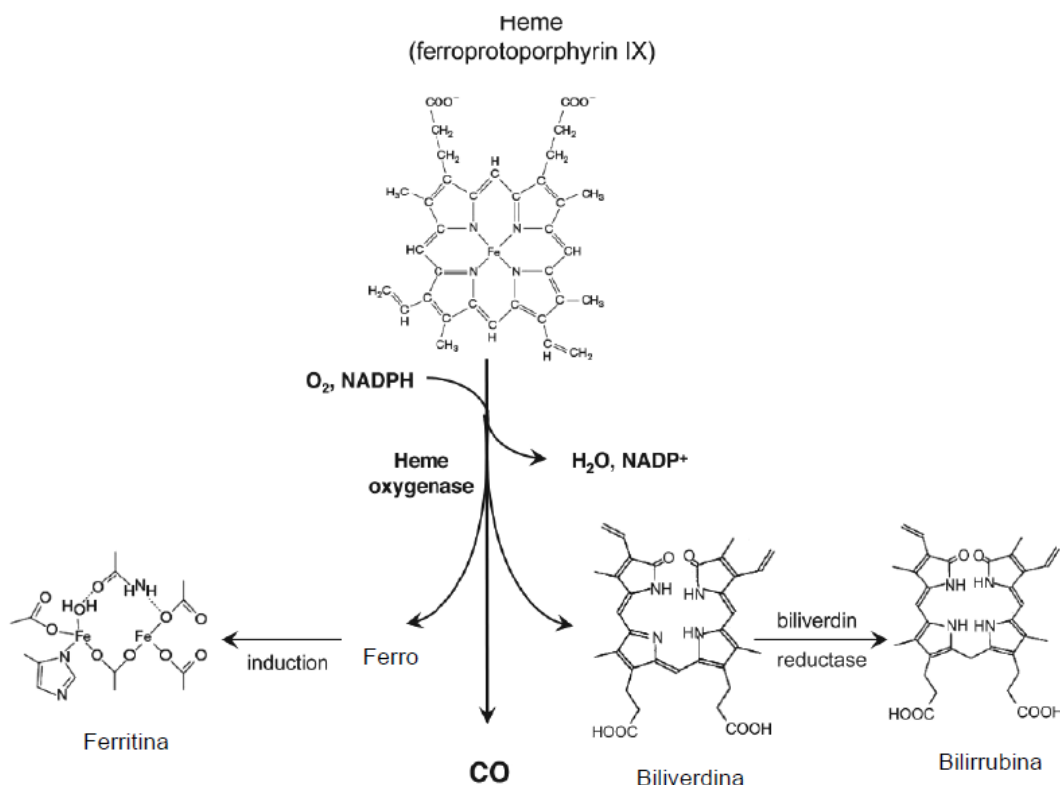
**Utilizando os autores descritos

2.2 Monóxido de carbono

O monóxido de carbono (CO) é um gás incolor, inodoro, quase insolúvel em água, pouco reativo devido a sua entalpia de ligação (1,074kJ/mol) e de elevada toxicidade (SHRIVER, 2006).

O CO pode ser produzido a partir de todos os tipos de combustão incompleta de matéria orgânica, entretanto estudos apontam sua produção de maneira endógena juntamente com os íons ferro e biliverdina. Em mamíferos o monóxido de carbono é gerado durante a degradação do grupo heme pelas enzimas heme oxigenase (HO-2) e induzida (HO-1) de acordo com a Figura 3. A degradação se dá pela oxidação na posição α do anel da ferroprotoporfirina e a presença de oxigênio é necessária para a atuação da heme oxigenase (RODERIQUE, 2015). A biliverdina produzida sofre a ação da enzima biliverdina redutase formando a bilirrubina que constitui um poderoso antioxidante endógeno (OWENS, 2010).

Figura 3 - Esquema da produção endógena catalisado pela heme oxigenase



Fonte: WU, 2005

Após a descoberta da produção endógena de CO, vários estudos foram realizados e mostram suas aplicações terapêuticas como sinalizador ou mediador de diversos processos fisiológicos (ÜSTUN, et al., 2016).

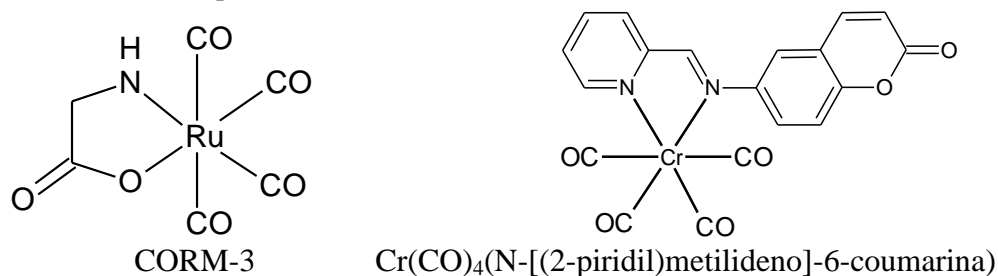
O monóxido de carbono pode reagir de maneira seletiva com proteínas funcionais e estruturas que contém receptores específicos e gerar determinada resposta no organismo (FOREST, et al., 2004). Dessa maneira complexos carbonílicos de metais de transição vêm sendo estudados como uma ferramenta biológica para imitar a bioatividade da geração de CO endógeno e potencializar suas aplicações terapêuticas (ÜSTUN, et al., 2016).

Os primeiros complexos sintetizados submetidos a testes de liberação de CO no organismo foram o $Mn_2(CO)_{10}$ (CORM-1) e $[RuCl_2(CO)_3]_2$ (CORM-2). Apesar de serem solúveis somente em solventes orgânicos, mostraram boa liberação em ambientes biológicos e demonstraram atividade vasodilatadora (STRINITZ, et al., 2015).

A partir de então diferentes tipos de complexos contendo CO como ligante (CORM- CO-release molecules) tem sido sintetizados e vem demonstrando atividade vasodilatadora, anti-inflamatória e anti-esquêmica (LONG, et al., 2014). Os compostos mostrados na Figura 4 apresentam os resultados mais promissores. O CORM-3 é um

complexo que libera monóxido de carbono rapidamente em condições fisiológicas (meia vida menor que 1 min em 37°C e pH= 7,4) além de demonstrar potencial terapêutico para o tratamento de doenças cardíacas e renais (CLARCK, et al., 2003). Já o $\text{Cr}(\text{CO})_4(\text{N}-[(2\text{-piridil})\text{metilideno}]-6\text{-coumarina})$ demonstrou uma elevada atividade antioxidante (DATTA, et al., 2011).

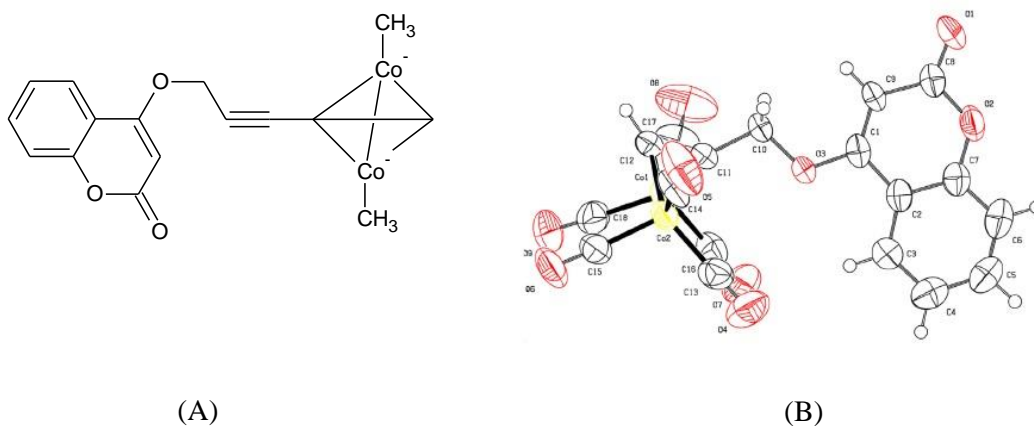
Figura 4 - Representação química dos complexos CORM-3 e $\text{Cr}(\text{CO})_4(\text{N}-[(2\text{-piridil})\text{metilideno}]-6\text{-coumarina})$.



Fonte: CLARCK, et al., 2003; DATTA, et al., 2011. Adaptada.

Atualmente pesquisas indicam que complexos carbonílicos também apresentam atividade antitumoral, um exemplo é o complexo $\text{Co}_2(\text{CO})_6(\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_3)$ (Figura 5) que apresenta IC_{50} de 40,61 μM , enquanto que o fármaco de referencia 5-FU, IC_{50} de 114,19 μM na linhagem HeLa (carcinoma cervical humano). Estudos apontam também a baixa toxicidade deste composto, mostrando dessa forma o seu potencial farmacológico (GONG, et al., 2016).

Figura 5 - Esquema químico (A) e representação Ortep (B) do complexo $\text{Co}_2(\text{CO})_6(\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_3)$.



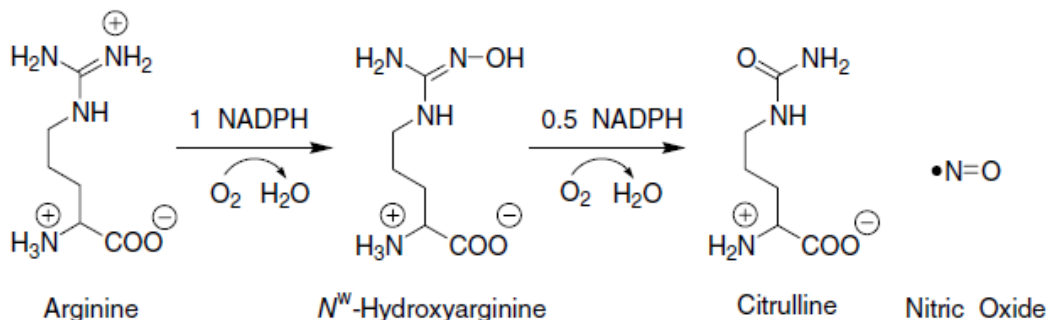
Fonte: GONG, et al., 2016. Adaptada.

2.3 Óxido nítrico (NO) e dióxido de nitrogênio (NO₂)

O óxido nítrico é uma espécie radical que possui configuração eletrônica de camada de valência $(\sigma 2s)^2 (\sigma 2s^*)^2 (\sigma 2p_z)^2 (\pi 2p)^4 (\pi 2p^*)^1$. Apesar de ser uma molécula paramagnética, ela não pode ser detectada por ressonância paramagnética já que no estado líquido ou sólido ocorre à formação de dímeros.

Trata-se de um dos compostos químicos mais simples que é continuamente formado, em mamíferos, a partir da oxidação de um dos grupos amino presentes no resíduo de guanidina do aminoácido L-arginina. Essa reação é catalisada pela enzima NO sintetase (NOS), que utiliza oxigênio e NADPH (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato) como co-substratos e converte L-arginina em L-citrulina conforme a Figura 6. (GAO, 2010; TENNYSON, 2011.).

Figura 6 - Esquema da síntese endógena de óxido nítrico.



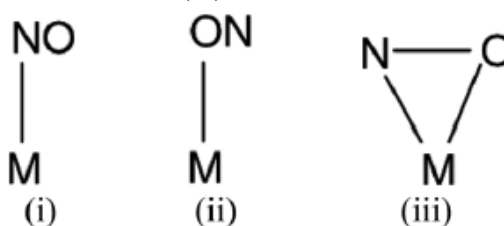
Fonte: WANG; CAI; TANIGUCHI, 2005.

Em tecidos hipóxicos (baixa concentração de oxigênio) pesquisadores observaram que o nitrito (NO₂⁻) considerado um subproduto do metabolismo do óxido nítrico é reduzido rapidamente em NO. Tecidos em hipóxia se tornam dependentes energeticamente de glicose e geram grande quantidade de ácido láctico, explicando a redução já que quimicamente, esta reação necessita de um catalisador ácido (PIKNOVA, et al., 2016).

O NO participa de diversos processos fisiológicos nos mamíferos, incluindo vasodilatação, controle de pressão sanguínea, controle de sono, controle de apetite, sistema imunológico, apoptose, atua como mensageiro secundário no cérebro e sistema nervoso periférico, função plaquetária dentre outros (CARAMORI, et al., 2015; HIRST; ROBSON, 2011).

A sua vasta atuação biológica aliada à facilidade de coordenação com vários centros metálicos com diferentes geometrias, números de coordenação e propriedades eletrônicas vem estimulando pesquisadores a buscar novos sistemas incluindo complexos nitrosilo (M–NO) e nitro (M–NO₂) de metais de transição (ANDRIANI, et al., 2014). Formalmente, o óxido nítrico pode assumir três estados de oxidação, NO⁺, NO e NO⁻, dependendo da natureza do metal (estados de oxidação) este pode se coordenar de 3 maneiras diferentes, conforme mostra a Figura 7 (RAYNOR, 1972).

Figura 7 - Modos de coordenação do NO: (i) nitrosil, (ii) isonitrosil, (iii) bidentado.

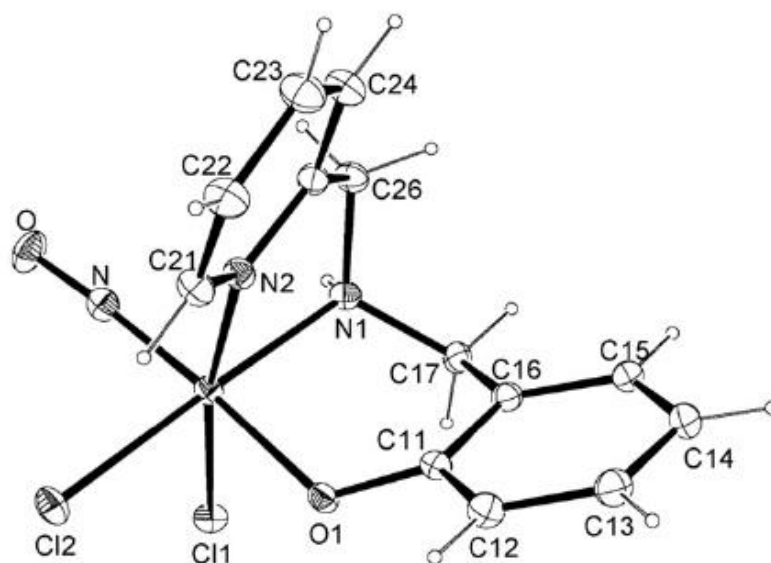


Fonte: (ANDRIANI, et al., 2014)

Estudos têm demonstrado que nitrosilo e nitro complexos apresentam atividade antitumoral apreciável, já que a liberação citotóxica de NO pode ocorrer dentro de células tumorais e levar a morte celular da mesma (SERLI, et al., 2003).

Como o NO possui alta afinidade com rutênio, complexos Ru-NO vem se destacando nas últimas décadas, um exemplo, é o complexo [RuCl₂NO(BPA)], onde BPA= 2-hydroxybenzyl(2-methylpyridyl)amine, representado na Figura 8 foi avaliado frente a linhagens de células tumorais HeLa (carcinoma cervical humano), Tm5 (melanoma murino) e CHO (ovário de hamster chinês), apresentando resultados de IC₅₀ inferiores ao da cisplatina para as linhagens HeLa e Tm5, indicando o seu potencial farmacológico (HEINRICH, et al., 2011; SERLI, et al., 2003). Os resultados podem ser observados na Tabela 2.

Figura 8 - Representação ORTEP do complexo $[\text{RuCl}_2\text{NO}(\text{BPA})]$ (BPA= 2-hydroxybenzyl(2-methylpyridyl)amine) com elipsoids de 30%.



Fonte: HEINRICH, et al., 2011

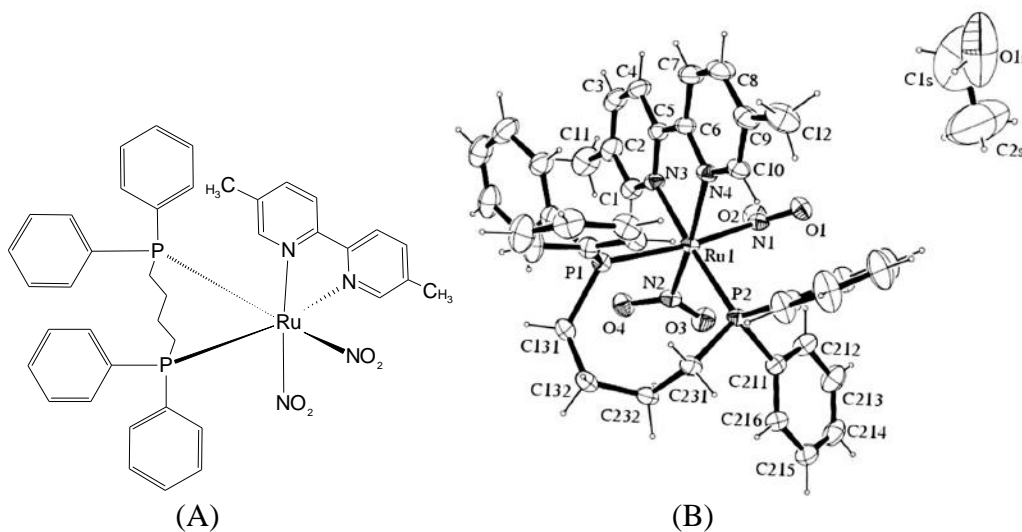
Tabela 2 - Valores de IC_{50} para o complexo $[\text{RuCl}_2\text{NO}(\text{BPA})]$ nas linhagens HeLa, Tm5 e CHO obtidos em soluções de DMSO.

Linhagem Celular	$\text{IC}_{50} \mu\text{M}$	
	$[\text{RuCl}_2\text{NO}(\text{BPA})]$	Cisplatina
HeLa	10,83	15,54
Tm5	17,75	15,04
CHO	54,73	42,42

Fonte: HEINRICH, et al., 2011. Adaptada

Nitro complexos de rutênio com fórmula *cis*- $[\text{Ru}(\text{NO}_2)_2(\text{dppb})(5,5'\text{-mebipy})]$, onde 5,5'-mebipy= 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina e dppb= 1,4-bis(difenilfosfina)butano (Figura 9) demonstraram atividade antiparasitária promissora em parasitas nas formas epimastigotas e tripomastigotas, transmissores da Doença de Chagas. Os resultados podem ser vistos na Tabela 3 (BASTOS, et al., 2014).

Figura 9 - Representação estrutural (A) do complexo o cis-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5,5'-mebipy)] e sua representação ORTEP (B) com elipsoids com 30% de propabilidade.



Fonte: BASTOS, et al., 2014.

Tabela 3 - Valores de IC₅₀ e EC₅₀ para o complexo cis-[Ru(NO₂)₂(dppb)(5,5'-mebipy)] frente as linhagens de tripanossoma Epimastigotas e Tripomastigotas.

T. cruzi	IC ₅₀ μM	
	cis-[Ru(NO ₂) ₂ (dppb)(5,5'-mebipy)]	BDZ
Epimastigotas	16,6	2,9
Tripomastigotas	10,7	11,4

Fonte: BASTOS, et al., 2014.

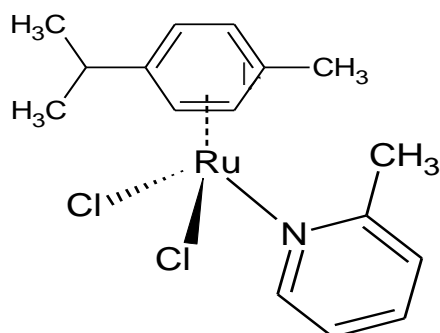
2.4 Ligantes piridínicos

Os ligantes piridínicos são compostos por um heterociclo aromático que apresenta maciez modulável por substituintes presentes no anel. São compostos amplamente empregados na química de coordenação devido a sua afinidade com metais de transição moles e intermediários, como o Ru⁺². Tais características justificam sua utilização para diversas aplicações, incluindo catalise de reações de hidrogenação (RODRIGUES, et al., 2016), células solares sensibilizadas por corante e separação de íons metálicos (ROBERTS; HALCROW, 2016).

Atualmente tem se descoberto promissora atividade antitumoral em complexos piridínicos, dentre eles podemos citar o [RuCl₂(p-cym)(2-pic)] mostrado na Figura 10,

que demonstrou efeitos inibitórios contra células de câncer de cólon ($IC_{50} = 78 \mu M$) (GRAU, et al., 2012).

Figura 10 - Representação Estrutural do $[RuCl_2(p-cym)(2-pic)]$.



Fonte: (GRAU, et al., 2012). Adaptada.

Como descrito, resultados muito significativos têm sido encontrados na literatura, onde diferentes classes de complexos de rutênio têm apresentado promissores resultados *in vitro* e *in vivo*, como antitumorais. Neste sentido, este trabalho foi realizado buscando novas opções terapêuticas, para os diferentes tipos de câncer relatados, os quais são um desafio da atualidade, pelos casos de resistência e efeitos colaterais dos fármacos existentes, sendo responsáveis por problemas clínicos que limitam a eficácia do tratamento.

3 OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo geral a síntese e caracterização de complexos de rutênio de fórmula geral $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{L})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$, onde dppb = 1,4-bisdifenilfosfina butano, 4,4'-Mebipy = 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina e L = CO, NO, NO_2^- , NO_3^- , piridina e 4-picolina.

Avaliação da citotoxicidade em células cancerígenas e normais, além de estudar a interação dos complexos sintetizados com DNA e albumina de soro humana (HSA), a fim de estudar um dos possíveis alvos biológicos.

3.1 Objetivos Específicos

- (a) Síntese do complexo precursor *cis*- $[\text{Ru}(\text{Cl})_2(4,4'\text{-Mebipy})(\text{dppb})]$;
- (b) Síntese de complexos de fórmula $[\text{Ru}(\text{Cl})_n(\text{L})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})](\text{PF}_6)_n$, onde L = CO, NO^+ , NO_2^- , NO_3^- , piridina e 4-picolina;
- (c) Caracterização dos complexos obtidos por: análise elementar, espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, ^{13}C , voltametria cíclica, espectroscopia de absorção na região do ultravioleta/visível, análise termogravimétrica, espectroscopia de absorção na região do infravermelho, condutividade, difração de raios X por policristal e monocristal, quando possível;
- (d) Avaliação da citotoxicidade dos complexos nas linhagens de células câncer de fígado (Hep G2) e fibroblasto normal (CCD-1029Sk);
- (e) Estudo da interação dos complexos com HSA;
- (f) Estudo da interação dos complexos com DNA;
- (g) Estudo da estabilidade em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMSO}$ por 48 horas.

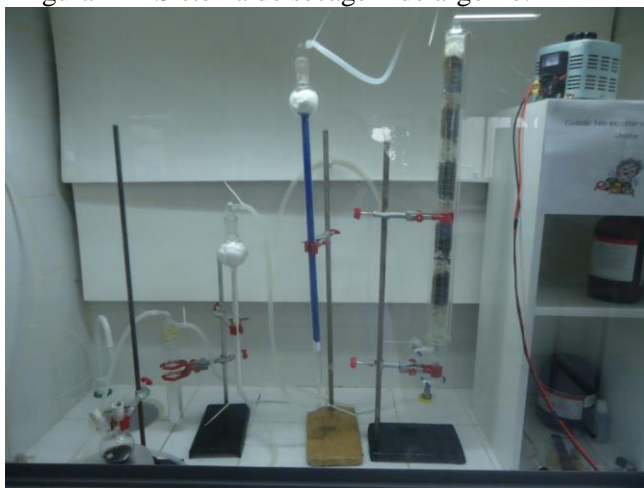
4 METODOLOGIA

A seguir são relatados as condições utilizadas, metodologia, solventes e reagentes utilizados para a síntese de complexos de Ru(II) com os ligantes CO, NO⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, piridina e 4-picolina.

4.1 Obtenção da Atmosfera Inerte: Argônio

Os complexos foram sintetizados sob atmosfera inerte e em condições anidras, através de um sistema de secagem de gás argônio montado no Laboratório Interdisciplinar de Química (LabIQ) da Unifal-MG (Figura 11) e também no Laboratório de Síntese e Reatividade de Compostos Inorgânicos (LERCI) na Universidade Federal de São Carlos. A atmosfera inerte foi obtida através da passagem de fluxo de argônio por uma coluna de purificação composta de camadas alternadas de anéis de vidro (0,5 cm de diâmetro x 0,5 cm de altura) e catalisador do tipo BTS - R - 3 - 11 (Fluka Chemika), mantida à 60°C para que o catalisador permaneça ativado, seguindo então para colunas contendo sílica gel e cloreto de cálcio, respectivamente. A coluna contendo o catalisador foi reativada periodicamente com H₂ à 120°C, durante pelo menos 24 horas. Estes procedimentos foram necessários para desoxigenar e secar o gás comercial.

Figura 11 - Sistema de secagem de argônio.



Fonte: Do autor.

4.2 Solventes, reagentes e ligantes.

Os principais solventes utilizados encontram-se listados na Tabela 4, onde todos passaram por processo de purificação a partir de métodos bem difundidos na literatura (PERRIN; ARMAREGO, 1980). Os reagentes utilizados nas sínteses (Tabelas 5 e 6) possuem pureza analítica e tem procedência Sigma-Aldrich, Proquímios e Dinâmica Química contemporânea Ltda.

Tabela 4 - Principais solventes utilizados

Solventes	Procedência
Diclorometano	Sigma Aldrich
Éter etílico	Proquímios
Metanol	Sigma Aldrich
Etanol	Sigma Aldrich
Hexano	Dinâmica Química contemporânea Ltda

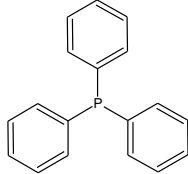
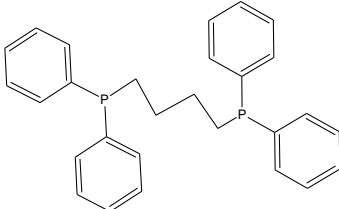
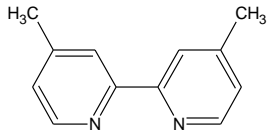
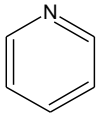
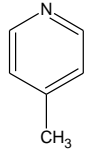
Fonte: Do autor

Tabela 5 - Principais reagentes utilizados.

Reagentes	Procedência
Tricloreto de rutênio hidratado	Sigma-Aldrich
Trietilamina	Sigma- Aldrich
Hexafluorofosfato de Amônio	Sigma-Aldrich
Ácido Fórmico	Sigma-Aldrich
Ácido Sulfúrico	Sigma-Aldrich

Fonte: Do autor

Tabela 6 - Ligantes utilizados

Ligante	Fórmula Estrutural
Trifenilfosfina (PPh ₃)	
1,4'-bis(difenilfosfina)butano (dppb)	
4,4'- dimetil-2,2'-bipiridina (4,4'-Mebipy)	
Nitrato de Sódio	NaNO ₃
Nitrito de Sódio	NaNO ₂
Piridina (Py)	
4-metilpiridina (Pic)	

Fonte: Do autor

4.3 Síntese dos Complexos Precusores.

A seguir a síntese do complexo precursor que ocorre em três etapas e a obtenção da atmosfera de monóxido de carbono.

4.3.1 [RuCl₂(PPh₃)₃]

O precursor [RuCl₂(PPh₃)₃], foi obtido a partir da redução do tricloreto de rutênio com trifetilfosfina, utilizando modificações do procedimento descrito na literatura por Stephenson (1966), onde 1,00 g de RuCl₃.3H₂O (4,80 mmol) foi dissolvido em 200 mL de metanol previamente desaerado e mantido sob refluxo e atmosfera inerte, por cerca de 15 minutos. Posteriormente, adicionou-se 5,80 g de PPh₃ (22,1 mmol). A solução permaneceu sob refluxo e atmosfera inerte por três horas. O precipitado marrom escuro formado foi filtrado, com um funil de placa porosa, lavado com metanol e hexano desaerados, para a retirada de excesso de fosfina livre (PPh₃), e seco à vácuo. Rendimento: 87,66% (4,05 g).

4.3.2 [Ru₂Cl₄(μ-dppb)₃], onde dppb = 1,4-bis(difenilfosfina)butano

O complexo de partida [Ru₂Cl₄(μ-dppb)₃] foi preparado segundo procedimento descrito por Bressan e Rigo (1975). Adicionou-se (1,0 g; 1,043 mmol) do precursor [RuCl₂(PPh₃)₃] e (0,53 g; 1,24 mmol) da 1,4- bis(difenilfosfina)butano (dppb) em 50 mL de hexano previamente deaerado. A mistura foi mantida em refluxo por 6 horas. Em seguida o precipitado verde formado foi filtrado e lavado com metanol para retirada da bifosfina livre e posteriormente lavado com hexano, logo depois seco sob vácuo. Rendimento 76,92% (1,30 g).

4.3.3 *cis*-[RuCl₂(dppb)(4,4'-Mebipy)], onde 4'4'-Mebipy = 4,4'- dimetil-2,2'-bipiridina

O complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(bipy)], foi sintetizado como descrito por Queiroz (1998), onde (1 g; 0,62 mmol) de [Ru₂Cl₄(μ-dppb)₃] foram dissolvidos em 40 mL de CH₂Cl₂ previamente desaerado. Logo em seguida adicionou-se o ligante N-heterocíclico 4,4'- dimetil-2,2'-bipiridina (0,285 g; 1,55 mmol) na proporção de 1: 2,5

(precursor/ligante). Fez-se vácuo no schlenk fechado e a mistura reacional permaneceu sob refluxo em atmosfera inerte por 48 horas. A solução foi rota-evaporada até o volume de aproximadamente 1 mL, e adicionou-se 30 mL de éter-etílico previamente desaerado. Em seguida o precipitado vermelho formado foi filtrado, utilizando-se um funil de placa porosa, lavado com éter-etílico e seco a vácuo. Rendimento 83,0 % (0,400 g).

4.3.4 Monóxido de carbono (CO)

O monóxido de carbono foi gerado em um kitassato a partir da reação de desidratação do ácido fórmico catalisada pelo ácido sulfúrico, conforme a Figura 12.

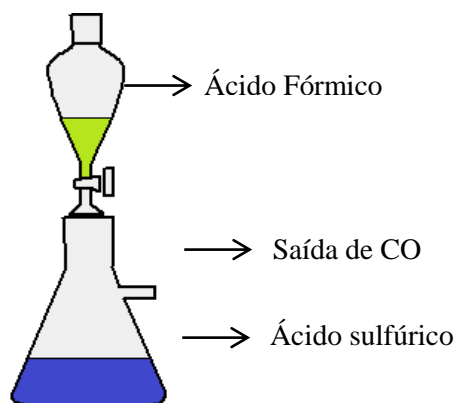
Figura 12 - Reação de desidratação do ácido fórmico com ácido sulfúrico.



Fonte: SCHIERZ, 1922. Adaptada

O aparato reacional utilizado é mostrado na Figura 13, vale ressaltar que o monóxido de carbono gerado, foi passado através de uma solução de KOH 4 mol/L e uma coluna de CaCl₂ anidro, visando eliminar as impurezas ácidas e a umidade eventualmente presentes no mesmo. A aparelhagem e as soluções empregadas foram previamente desareadas.

Figura 13 - Esquema do sistema de geração de monóxido de carbono utilizado.



Fonte: Do autor

4.4 Síntese dos Complexos

A seguir a síntese de todos os complexos inéditos sintetizados neste trabalho.

4.4.1 [RuCl(CO)(dppb)(4,4'-Mebipy)] PF₆.

Em um frasco tipo Schlenk adicionou-se 0,050g (0,0639 mmol) do complexo precursor [RuCl₂(dppb)(4,4'-Mebipy)] em 10 mL de diclorometano previamente desaerado. O Schlenk foi adaptado na saída do sistema gerador de CO, fazendo vácuo e atmosfera de CO várias vezes com agitação magnética até observar a mudança de coloração de vermelho para amarelo. Posteriormente adicionou-se 0,021g (0,128 mmol) de hexafluorofosfato de amônio (NH₄PF₆), na proporção de 1:2 precursor/contra íon dissolvido em metanol desaerado. A solução foi rotaevaporada após 15 minutos até o volume de aproximadamente 3 mL, em seguida precipitou-se o complexo com éter etílico desaerado formando um sólido amarelo que foi filtrado em um filtro de placa porosa e lavado várias vezes com água destilada desaerada para a remoção do excesso de NH₄PF₆ e com éter. Rendimento 85,27% (0,050 g).

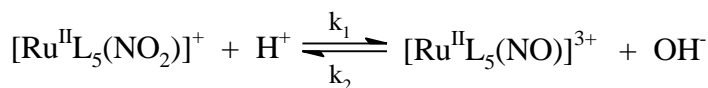
4.4.2 RuCl(NO₂)(dppb)(4,4'-Mebipy)

O complexo foi sintetizado a partir da adição de 0,050 g (0,0639 mmol) do precursor [RuCl₂(dppb)(4,4'-Mebipy)] em 15 mL de metanol previamente desaerado em um balão de 50 mL. Posteriormente adicionou-se 0,013g (0,192 mmol) do ligante nitrito de sódio (NaNO₂) na proporção 1:3 precursor/ligante a fim de se garantir o excesso. Após 1 hora de reação sob agitação magnética e atmosfera inerte observou-se a formação de um precipitado laranja, que foi filtrado e lavado com metanol e água destilada desaerados para remoção do excesso de nitrito e posteriormente com éter. Rendimento 82,88% (0,045 g).

4.4.3 [RuCl(NO)(dppb)(4,4'-Mebipy)](PF₆)₂

O complexo [RuCl(NO)(dppb)(4,4'-Mebipy)](PF₆)₂ foi preparado de maneira semelhante ao complexo contendo o ligante nitro, para tal 0,050 g (0,0639 mmol) do complexo precursor [RuCl₂(dppb)(4,4'-Mebipy)] foi dissolvido em 15 mL de uma mistura de solventes metanol e etanol (1:3) previamente desaerado. Na sequência adicionou-se 0,013 g (0,193 mmol) do ligante nitrito de sódio na proporção 1:3 precursor/ligante. Após 1 hora sob agitação em atmosfera inerte observou-se a formação de um precipitado laranja referente ao complexo [RuCl(NO₂)(dppb)(4,4'- dimetil-2,2'-bipiridina)], nesse instante inseriu-se 0,5 mL (5,65 mmol) de uma solução 55% em massa de ácido hexafluorofosfórico (HPF₆) em excesso de modo a garantir que o equilíbrio da reação (Figura 14) seja deslocado para a formação do complexo [RuCl(NO)(dppb)(4,4'-Mebipy)](PF₆)₂ (GODWIN.; MEYER, 1971).

Figura 14 - Reação de interconversão dos complexos de rutênio com ligante nitro e nitrosilo.



Fonte: GODWIN; MEYER, 1971. Adaptada

O meio reacional ficou em agitação magnética e atmosfera inerte por mais 30 minutos e posteriormente a solução foi rota-evaporada até o volume aproximado de 1 mL e a adição de água destilada desaerada conduziu a precipitação de um sólido bege que foi filtrado em filtro de placa porosa e lavado sucessivas vezes com água para a remoção do excesso de nitrito de sódio e de HPF₆. Rendimento: 91,73% (0,0625 g).

4.4.4 [Ru(NO₃)(dppb)(4,4'-Mebipy)]PF₆

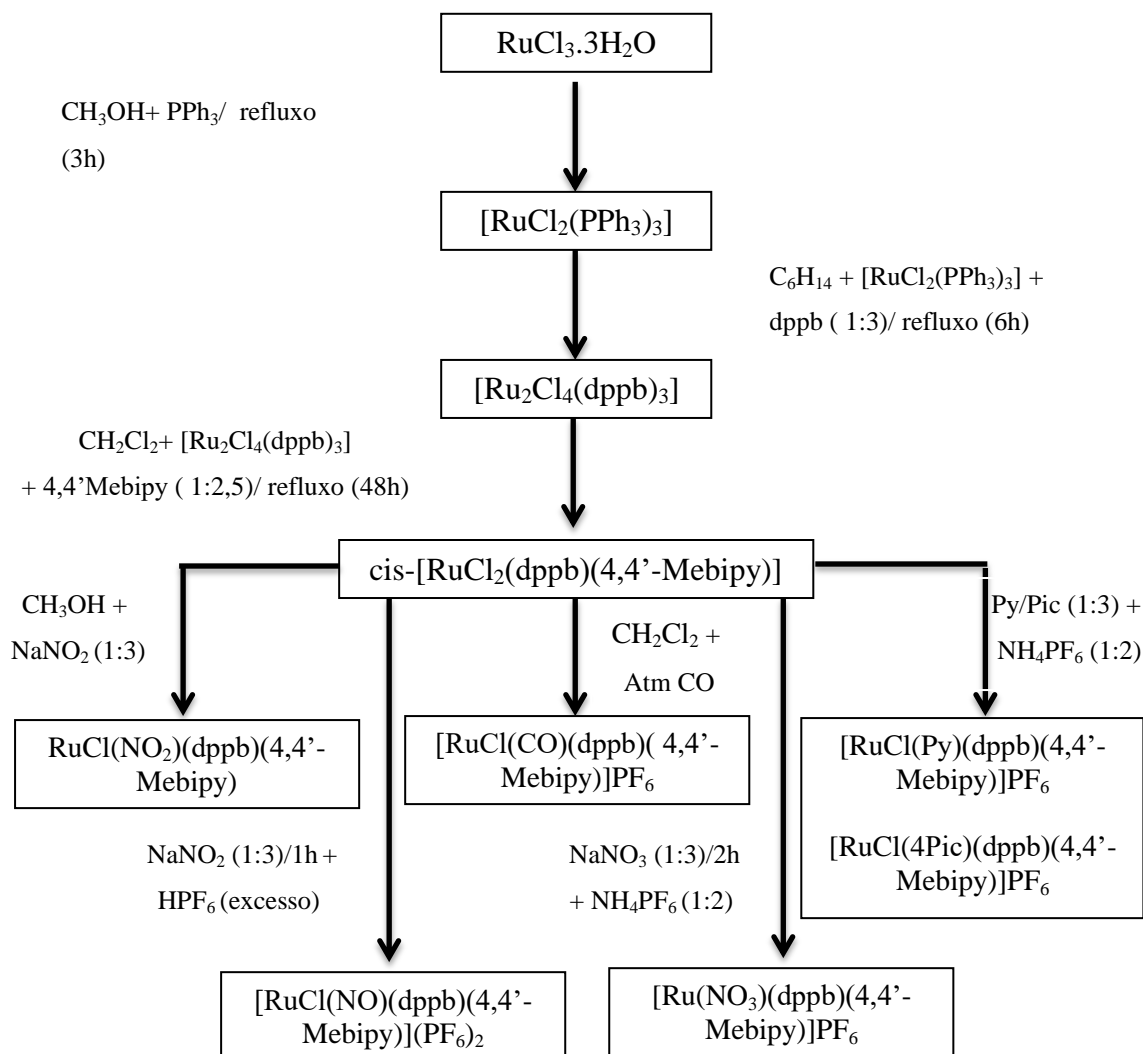
Em 5 mL de metanol previamente desaerado adicionou-se 0,050 g (0,0639 mmol) do complexo precursor [RuCl₂(dppb)(4,4'-Mebipy)]. Posteriormente na proporção 1:2 precursor/ligante foi adicionado 0,011 g (0,1288 mmol) de nitrato de sódio (NaNO₃). Após 2 horas de reação sob agitação magnética e atmosfera inerte

inseriu-se 0,021 g (0,1282 mmol) de NH_4PF_6 na proporção 1:2 precursor/contra íon. A solução foi mantida sob agitação por mais 15 minutos e o volume foi reduzido até cerca de 2 mL onde a adição de água destilada desaerada permitiu a precipitação de um sólido de coloração amarelo claro. Rendimento: 88,23 % (0,052 g).

4.4.5 $[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{L})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$, onde L= piridina (Py) e 4-picolina (4Pic).

Em um balão adicionou-se 0,050 g (0,0639 mmol) do precursor $\text{Ru}(\text{Cl})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})$ em 20 mL de diclorometano desaerado. Na sequência, adicionou-se 15,60/18,70 μL do ligante piridina/4-picolina, na proporção 1:3 (precursor/ligante) e hexafluorofosfato de amônio (NH_4PF_6), na proporção de 1:2 (precursor/contra íon) dissolvido em metanol desaerado. Manteve-se o sistema em agitação e atmosfera inerte por duas horas. Em seguida a solução foi rotaevaporada até 2 mL e precipitou-se o composto com éter-etílico. Posteriormente filtrou-se o sólido laranja em um funil de placa sinterizada, lavou-se o precipitado com água destilada desaerada para a retirada de NH_4PF_6 e em seguida com hexano. Rendimento: 66,45 e 69,64%, respectivamente (0,041/0,044g).

Figura 15- Fluxograma com a rota sintética utilizada



Fonte: Do autor.

4.5 INSTRUMENTAÇÃO

A caracterização dos complexos de Ru(II) foram feitas com as técnicas citadas abaixo.

4.5.1 Análise Elementar

As medidas foram realizadas em triplicata em um analisador CHN modelo EA 1108 da FISONs no laboratório de microanálise do Departamento de Química da UFSCar. A técnica foi utilizada para determinar os teores de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio presentes nos complexos sintetizados.

4.5.2 Difração de raios X por monocristal

As medidas de difração de raios X por monocristal (DRXM) foram realizadas em um difratômetro automático da marca Agilent Technologies, Modelo SuperNova, instalado no Departamento de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora. Os dados foram coletados a 293 K e com radiação $\text{MoK}\alpha$ ($\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$). As estruturas foram resolvidas com o software Sir2014 desenvolvido pela Cristina e colaboradores (2014) e refinadas com o software SHELXL2013 (SHELDRICK, 2013; SHELDRICK, 2008). Todos os átomos, exceto os de hidrogênio, foram claramente identificados e refinados por mínimos quadrados de matriz completa em F^2 com os parâmetros térmicos anisotrópicos.

As tabelas cristalográficas foram geradas pelo WinGX e os softwares Mercury e ORTEP foram usados para gerar as representações gráficas dos dados cristalinos (FARRUGIA, 1997; FARRUGIA, 2012; MACRAE, 2008).

4.5.3 Difração de raios X por policristal

As medidas de DRXP foram realizadas no difratômetro automático de pó da marca Rigaku modelo ULTIMA IV do Laboratório de Cristalografia na UNIFAL-MG. Durante os experimentos foi empregado a radiação $\text{CuK}\alpha$ (tubo selado) usando ótica instrumental de feixe paralelo. A varredura foi no modo contínuo com velocidade de

0,5° 2 θ /min, entre 3 a 50° 2 θ , gravando-se a contagem a cada 0,05° 2 θ . Foi usado uma voltagem de 40 kV e corrente de 30 mA.

4.5.4 Análise termogravimétrica

As curvas termogravimétricas foram obtidas utilizando-se o equipamento TA Instruments, modelo Q600 disponível no Laboratório Interdisciplinar de Química (LabIQ) da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG). Cada amostra com massa de aproximadamente 8-10 mg foi analisada em cadinho de alumina e submetida a um aquecimento controlado desde a temperatura ambiente, por volta de 27°C até 1100°C, com razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹, sob atmosfera de ar sintético com fluxo contínuo de 100 mL.min⁻¹.

4.5.5 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Para a obtenção dos espectros de absorção na região do infravermelho foi empregado o espectrofotômetro BOMEM MICHELSON FT MB-102 pertencente ao Laboratório de Síntese e Reatividade de Compostos Inorgânicos (LERCI) da Universidade Federal de São Carlos. Os espectros foram registrados no modo transmitância (%) na região compreendida entre 4000 e 200 cm⁻¹. As amostras sólidas foram diluídas em KBr, o qual foi mantido em estufa à 120⁰ C e previamente triturado antes da utilização.

4.5.6 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ³¹P{¹H} foram feitos no espectrômetro BRUKER DRX 400 MHz, localizado na Universidade Federal de São Carlos e os de ¹H, ¹³C{¹H} foram realizados no espectrômetro BRUKER modelo AC-

300, operando para ^1H a 300 MHz e para ^{13}C em 75 MHz, na Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG). Para os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foi utilizado o solvente deuterado $\text{CDCl}_3\text{-d}$. Já as amostras de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ foram solubilizadas em diclorometano e um capilar contendo D_2O foi adicionado ao tubo de RMN, de modo a ser a referência externa para a frequência do deutério.

4.5.7 Condutividade

As medidas de condutividade foram feitas em um condutivímetro MICRONAL modelo B-330, equipado com cela de platina com constante igual a $0,089\text{ cm}^{-1}$ do Laboratório de Síntese e Reatividade de Compostos Inorgânicos (LERCI) da Universidade Federal de São Carlos. Utilizou-se concentrações da ordem de $1,0 \times 10^{-3}\text{ mol.L}^{-1}$ dissolvidos em acetona.

4.5.8 Medidas Eletroquímicas

Todos os experimentos foram realizados em um potenciostato da Electrochemical Analyzer BAS-100B do laboratório de Síntese e Reatividade de Compostos Inorgânicos (LERCI) da Universidade Federal de São Carlos. Empregou-se nas medidas uma célula eletroquímica de vidro, com capacidade de 10 mL. Utilizaram-se 3 eletrodos: um de referência Ag/AgCl em solução $0,1\text{ mol.L}^{-1}$ de PTBA (perclorato de tetrabutilamônio) em diclorometano, mantido no interior de um capilar de Luggin-Haber; e os eletrodos de trabalho e auxiliar, de platina. Prepararam-se as soluções eletrolíticas (PTBA - $0,1\text{ mol.L}^{-1}$) de modo a se obter concentrações dos complexos a serem analisados da ordem de $1,0 \times 10^{-3}\text{ mol.L}^{-1}$. Os potenciais anódicos (E_{pa}) e catódicos (E_{pc}) foram determinados diretamente nos voltamogramas.

4.5.9 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível

Os espectros de absorção na região do ultravioleta-visível (UV/vis) foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro HEWLETT PACKARD DIODE ARRAY – 8452 A pertencente ao Laboratório de Síntese e Reatividade de Compostos Inorgânicos (LERCI) da Universidade Federal de São Carlos. Os compostos foram dissolvidos em clorofórmio de modo a obter soluções de concentrações na ordem de $1 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ e posteriormente foram diluídas em concentrações desejadas para se obter um melhor espectro. As medidas foram realizadas utilizando-se cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm na região compreendida entre 200 a 800 nm.

4.5.10 Estudo de interação com DNA por espectroscopia UV-vis

A avaliação da interação dos compostos sintetizados com o DNA foi realizada por meio de titulação espectroscópica em temperatura ambiente utilizando o espectrofotômetro Hewlett Packard 8452A na Universidade Federal de São Carlos. Inicialmente preparou-se uma solução de tampão Trizma (5 mM Trizma HCl e 50 mM NaCl) com $\text{pH}=7,4$. Em seguida a solução de DNA foi preparada a partir da dissolução de 40 mg de DNA-ct em 20 mL da solução tampão Trizma.

A concentração de DNA por nucleotídeo foi determinada por espectroscopia de UV-vis, usando um coeficiente de absorção molar de $6.600 \text{ mol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{cm}^{-1}$ em 260 nm e aplicando-se na Lei de Lambert-Beer mostrada na equação 1 abaixo (MARMUR, 1961).

Equação 1 $A_{260} = \epsilon_{260} \cdot b \cdot c$

Na equação, A (u.a.) refere-se à absorbância do cromóforo, neste caso o DNA, ϵ ($\text{mol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{cm}^{-1}$) é a absorvidade molar, b (cm) é o caminho óptico e c ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) é a concentração molar da solução.

As titulações espectroscópicas foram realizadas em triplicatas adicionando-se em uma cubeta de quartzo 1800 μL de tampão trizma, (60, 80, 90 ou 100) μL da solução do

complexo a ser estudado em DMSO na concentração de 1×10^{-3} mol. L⁻¹ e (140, 120, 110 ou 100) μ L de DMSO. Na cubeta de referencia adicionou-se 1800 μ L de tampão trizma e 200 μ L de DMSO com o objetivo de subtrair as absorvâncias entre o espectro do complexo analisado e o desta solução.

A cada cubeta foi adicionado 15 μ L de solução de DNA-ct, em seguida foram homogeneizadas pelo tempo de 2 minutos e os espectro foram registrados na região espectral de 200 a 800 nm. Tal procedimento se repetiu por várias vezes até o volume de 315 μ L de solução DNA-ct adicionada, onde não se pode notar grandes alterações na absorvidade molar da solução do complexo.

A constante de ligação de equilíbrio intrínseca (K_b) dos complexos com o DNA foi obtida monitorando as alterações na intensidade de absorção com o aumento da concentração de DNA-ct através da análise de regressão. O DNA-ct, a solução tampão Trizma e o solvente DMSO foram obtidos comercialmente pela Sigma-Aldrich.

4.5.11 Estudo da interação com albumina de soro humano (HSA)

A análise das interações dos compostos sintetizados com a albumina de soro humano (HSA) foi realizada a partir da medida de supressão de fluorescência dos resíduos de triptofano e tirosina presentes na albumina HSA ($2,5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) em tampão Trizma com pH=7,4. O comprimento de onda de excitação foi fixado em 270 nm e soluções dos complexos foram preparadas em diferentes concentrações e atuaram como supressores de fluorescência.

Todas as análises foram realizadas em um fluorímetro Spectra MaxM3 em triplicata utilizando-se uma placa para ensaios de fluorescência de 96 poços. A concentração de albumina HSA foi mantida constante ($900 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) para todas as amostras, enquanto para os complexos foi aumentada de 0,78-100 μ M. Como referência, em 3 poços foram adicionados solução padrão preparada com 180 μ L de albumina e 20 μ L de DMSO. Todas as medidas de supressão de fluorescência foram acompanhadas em duas temperatura de incubação (298 e 310K). Todos os reagentes utilizados foram obtidos comercialmente pela Sigma-Aldrich.

4.6 Ensaio citotóxico e antiproliferativo

A avaliação da atividade citotóxica e antiproliferativa dos complexos sintetizados foi realizada no Laboratório de Biologia Animal Integrativa (LABAInt), Departamento de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL) sobre a supervisão da Professora Doutora Marisa Ionta e colaboração do discente de mestrado Guilherme Álvaro Ferreira da Silva.

Os testes foram realizados nas linhagens celulares hepatocarcinoma humano (Hep G2) e fibroblasto normal (CCD-1029Sk) adquiridas junto ao Banco de Células do Rio de Janeiro. As células foram cultivadas em DMEM (Meio Mínimo de Eagle modificado por Dulbecco, Sigma, CA, USA) suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS, Cultilab, SP, Brasil) e mantidas em estufa a 37°C com atmosfera controlada (95 % de ar e 5 % de CO₂).

4.6.1 Esquema de tratamento

As células foram semeadas em placas de 96 poços na densidade de 1×10^4 (Hep G2) e CCD-1029Sk). Após aderência (24h), as células foram tratadas por 48 h com os complexos sintetizados. Curvas dose-resposta foram realizadas utilizando diferentes concentrações. Os complexos foram solubilizados em DMSO para a obtenção da solução-estoque (20 mM). A partir dessa solução, novas diluições foram realizadas em meio de cultura pelo método de diluições seriadas. A concentração final de DMSO não ultrapassou 0,5 % (v/v).

4.6.2 Viabilidade Celular

A viabilidade celular foi avaliada pelo ensaio colorimétrico MTS (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2H-tetrazólio) utilizando o Kit CellTiter 96TM da Promega®. Esse ensaio baseia-se na conversão do sal brometo

de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil-2H-tetrazólio] (MTS) (amarelo) em formazan (marrom-acastanhado), via enzimas desidrogenases presentes na mitocôndria das células viáveis.

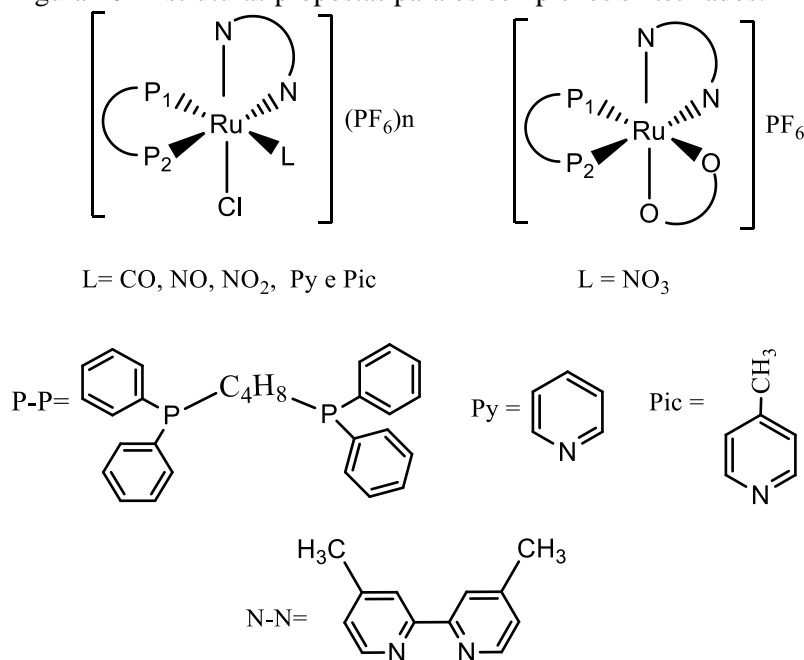
A quantidade produzida de formazan, um composto solúvel em meio de cultura que absorve luz a 490 nm, é diretamente proporcional ao número de células vivas (CORY, et al., 1991). A viabilidade foi determinada comparando-se os valores de absorbância entre amostras tratadas com os valores de absorbância obtidos nas amostras controles. Os experimentos foram realizados em triplicata, repetidos duas vezes e, os dados estão apresentados como média \pm desvio padrão e mediante ao cálculo do IC₅₀ (concentração capaz de inibir o crescimento celular em 50%).

$$\text{Equação 2} \quad \%Viabilidade\ celular = \frac{(Abs_{amostra} \times 100)}{Abs_{controle}}$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste trabalho foram sintetizados 6 complexos inéditos de fórmula $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ (**1**), $[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})](\text{PF}_6)_2$ (**2**), $[\text{RuCl}(\text{NO}_2)(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]$ (**3**), $[\text{Ru}(\text{NO}_3)(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ (**4**), $[\text{RuCl}(\text{Py})(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ (**5**) e $[\text{RuCl}(4\text{Pic})(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ (**6**) (Figura 16). Estes foram caracterizados por ressonância magnética nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e ^1H , espectroscopia na região do infravermelho e UV-Vis, análise termogravimétrica, condutividade molar, voltametria cíclica e de pulso diferencial, microanálise, difração de raios X por policristal (DRXP) e difração de raios X por monocristal (DRXM) para o complexo (**1**).

Figura 16 - Estruturas propostas para os complexos sintetizados.



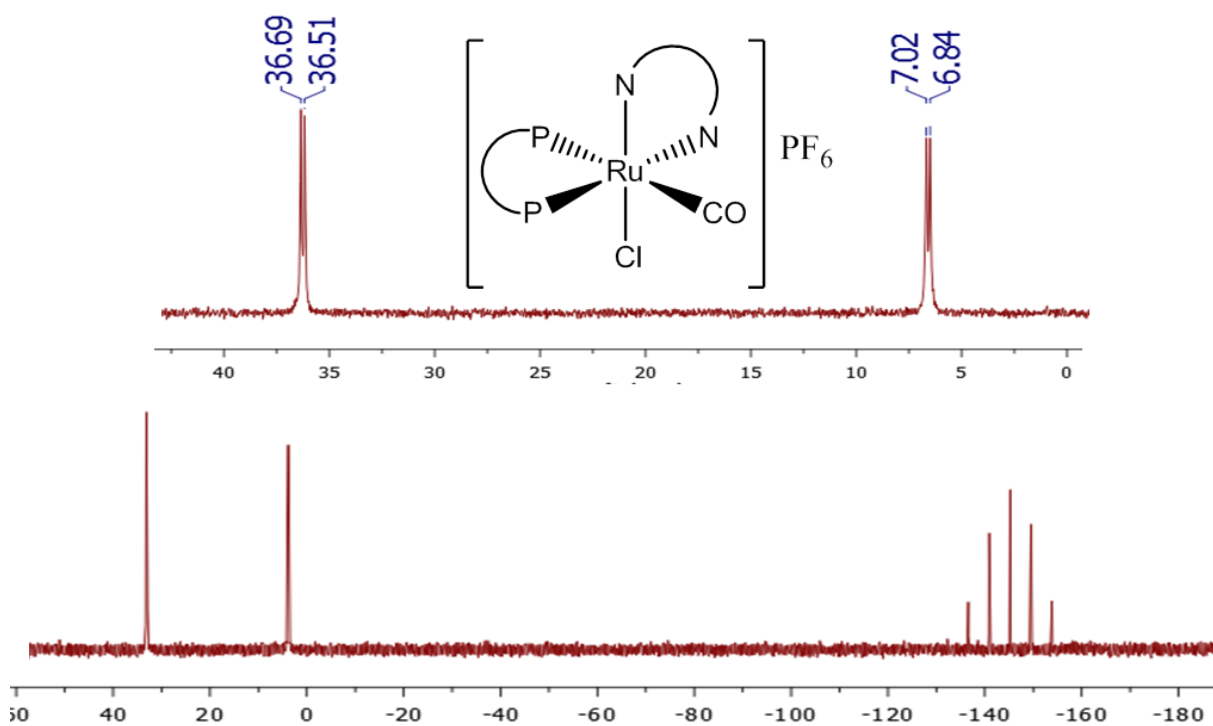
Fonte: Do autor

5.1 Ressonância Magnética Nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (RMN).

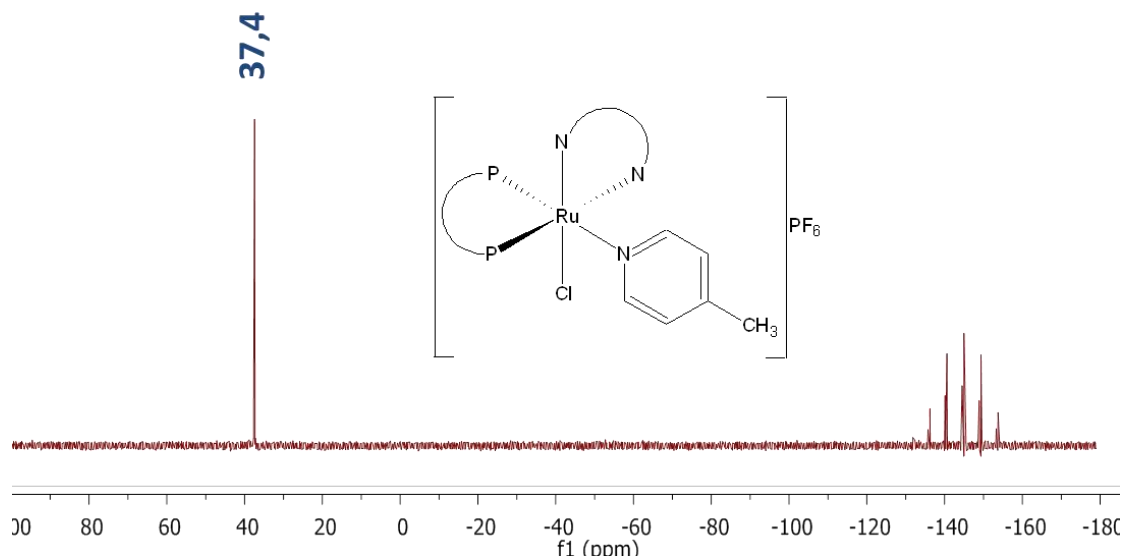
Todos os compostos foram analisados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e os espectros dos complexos (**1-6**) apresentaram dois

dubletos, sendo que os complexos (5) e (6) apresentam sinais coalescidos devido à similaridade química dos átomos de nitrogênio da bipyridina e piridina ou 4-picolina *trans* a fósforo. Cabe ainda ressaltar que este comportamento é reportado na literatura, onde para RMN de fósforo, o desdobramento dos sinais pode ser observado em função da variação do solvente e temperatura (VALE, et al. 2008). Dois espectros representativos para esta série de complexos sintetizados estão dispostos nas Figuras 17 e 18. Os demais espectros são encontrados no apêndice A, nas Figuras 57A - 63A. Os espectros dos complexos, exceto para o complexo 3, apresentaram o sinal do contra-íon PF_6^- com deslocamento químico, próximo de -144 ppm. A Tabela 7 mostra os valores de deslocamentos químicos e as constantes de acoplamento para os complexos em questão.

Figura 17 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (1), em CH_2Cl_2



Fonte: Do autor.

Figura 18 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (6), em CH_2Cl_2 

Fonte: Do autor.

Tabela 7 - Deslocamentos químicos e constantes de acoplamento dos complexos (1-6).

Complexos	δ (ppm)	$^2J_{\text{P-P}}$ (Hz)	Solvente
$[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]$	43,6 e 30,3	36,2	diclorometano
$[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ (1)	36,6 e 6,9	28,9	diclorometano
$[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})](\text{PF}_6)_2$ (2)	24,6 e 15,5	34,6	diclorometano
$[\text{RuCl}(\text{NO}_2)(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]$ (3)	35,3 e 31,2	24,9	diclorometano
$[\text{Ru}(\text{NO}_3)(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ (4)	50,9 e 42,8	50,7	diclorometano
$[\text{RuCl}(\text{Py})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ (5)	37,6	-----	diclorometano
$[\text{RuCl}(4\text{Pic})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ (6)	37,4	-----	diclorometano
$[\text{RuCl}(4\text{Pic})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ (6)	38,9 e 38,5	35,4	acetona

Fonte: Do autor.

A troca do ligante cloreto do precursor $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]$ por CO, NO, NO_2^- , NO_3^- , 4Pic e Py (Tabela 7), faz com que o deslocamento do átomo de fósforo *trans* a estes, seja observado em campo mais alto ou mais baixo, dependendo do ligante empregado. No complexo (1), onde o CO encontra-se *trans* à fosforo P_1 (Figuras 16 e 17) dois dubletos em δ 36,6 e δ 6,9 ppm, com constante de acoplamento de 28,9 Hz, são observados. O deslocamento em δ 6,9 ppm é referente ao átomo de fósforo *trans* ao CO, enquanto o átomo de fósforo *trans* ao nitrogênio da bipyridina apresenta deslocamento

em δ 36,6 ppm. É importante ressaltar que o precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(4,4-Mebipy)] apresenta dois dubletos, em 43,6 e 30,3 ppm.

Neste caso a explicação mais plausível para justificar o deslocamento químico do átomo de fósforo para campo mais alto é considerar o fato do efeito competitivo entre dois fortes receptores π (fósforo e CO), deixando assim o fósforo *trans* ao CO blindado (rico em densidade eletrônica), com deslocamento químico em campo alto, ou seja, em 6,9 ppm, bem distante do valor de deslocamento químico encontrado para fósforo *trans* a cloro do precursor (δ 30,3 ppm) (BARBOSA, et al., 2010).

Comportamento semelhante foi observado para o complexo (2) (Tabela 7), onde a troca do cloreto do precursor pelo NO, faz com que o deslocamento do átomo de fósforo *trans* a NO, seja observado em campo mais alto, em relação ao precursor.

O deslocamento para regiões de campo mais elevado do complexo (1) em comparação com o precursor e o complexo (2) se deve ao fato do ligante CO apresentar caráter π receptor e σ doador mais acentuado em comparação com ligantes Cl⁻ e NO⁺.

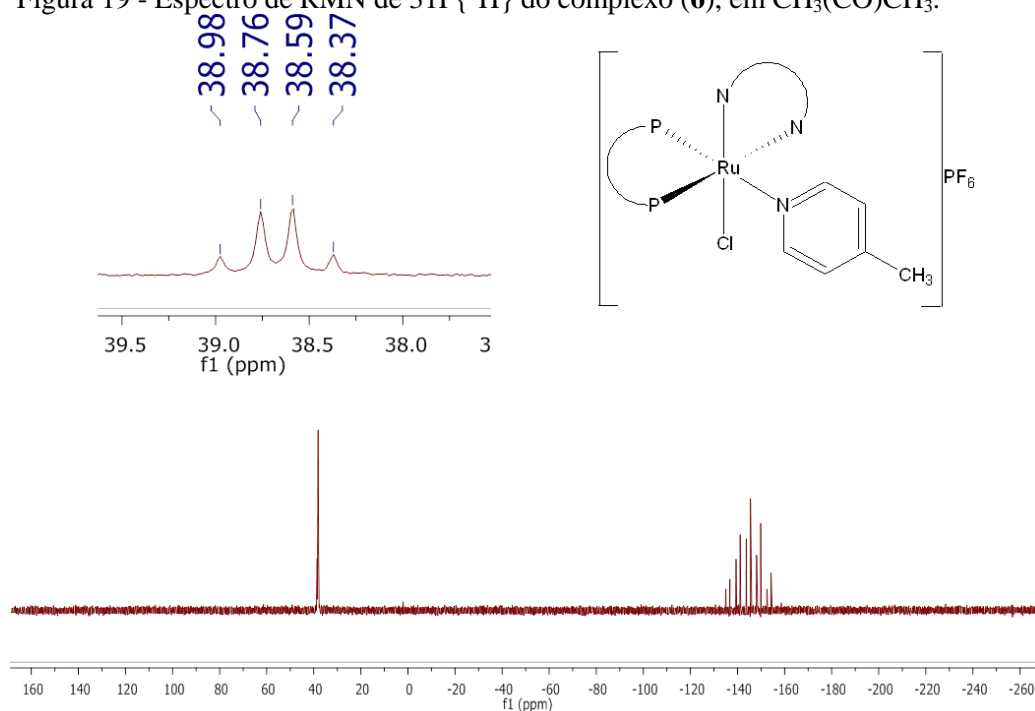
Para o nitro complexo dois dubletos foram observados, em δ 35,3 e 31,2 ppm. Quando comparados ao precursor dubletos em campo mais alto são observados, fornecendo um indício da coordenação do grupo NO₂, já que este é um ligante com caráter π receptor/ σ doador mais fraco que os ligantes CO e NO. Tal comportamento foi observado para complexos do tipo [Ru(Cl)(NO)(dppb)(5,5'-Mebipy)](PF₆)₂ (BASTOS et al., 2014).

Ao analisarmos o complexo (5) (Tabela 7) um singlete coalescido foi observado em δ 37,6 ppm. Como esperado, os dois átomos de fósforo estão *trans* posicionados a dois nitrogênios, um da bipyridina e o outro da piridina, fazendo com que eles apresentem ambientes químicos muito semelhantes, levando a coalescência dos sinais de fósforo no espectro (Apêndice A- Figura 62A).

A coalescência neste caso é conhecida da literatura, onde Valle e seus colaboradores (2009) reportaram a influencia do solvente e temperatura no tempo de relaxação de spin de compostos de fósforo que podem ser fortemente dependentes do solvente e da temperatura.

Neste sentido o complexo (6) apresentou um singlete em δ 37,4 ppm (Figura 18), em decorrência da semelhança dos ligantes. Quando o RMN de ³¹P{¹H} do complexo (6) foi realizado em acetona notou-se a formação de dois dubletos próximos em δ 38,9 ppm e 38,5 ppm conforme esperado (Figura 19).

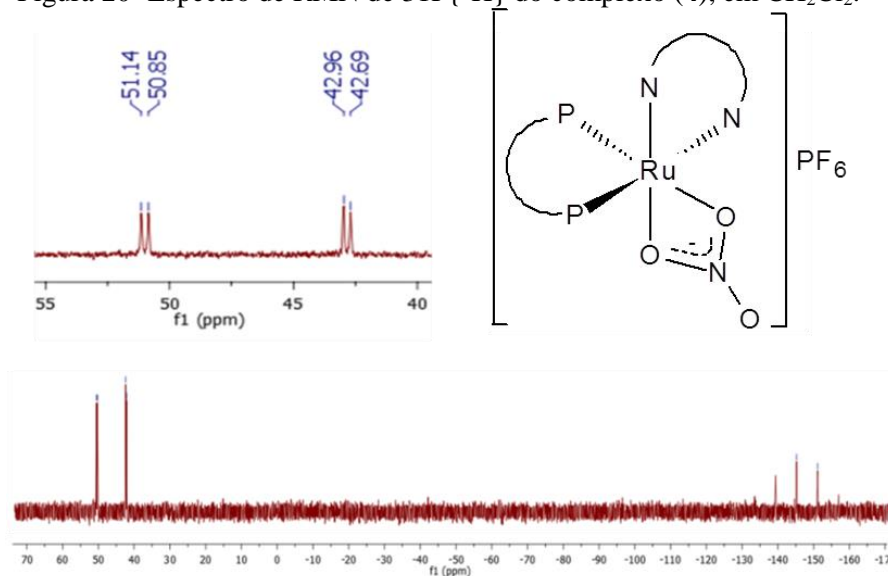
Figura 19 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (**6**), em $\text{CH}_3(\text{CO})\text{CH}_3$.



Fonte: Do autor.

Em contrapartida o complexo (**4**) apresentou no RMN de fósforo dois dubletos (δ 50,9 ppm e 42,8 ppm) na região de mais baixa frequência quando comparado aos demais complexos e o precursor. Esta desblindagem pode ocorrer em função da substituição de dois cloretos e coordenação do íon nitrato de modo bidentado, como ilustrado na Figura 20. Comportamento semelhante foi observado para compostos do tipo $[\text{Ru}(6\text{-OHnic})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$, no qual o ligante 6-hidroxicotínico coordenou-se ao centro metálico pelo carboxilato (O-O) (BARBOSA, et al., 2015).

Figura 20- Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (4), em CH_2Cl_2 .



Fonte: Do autor.

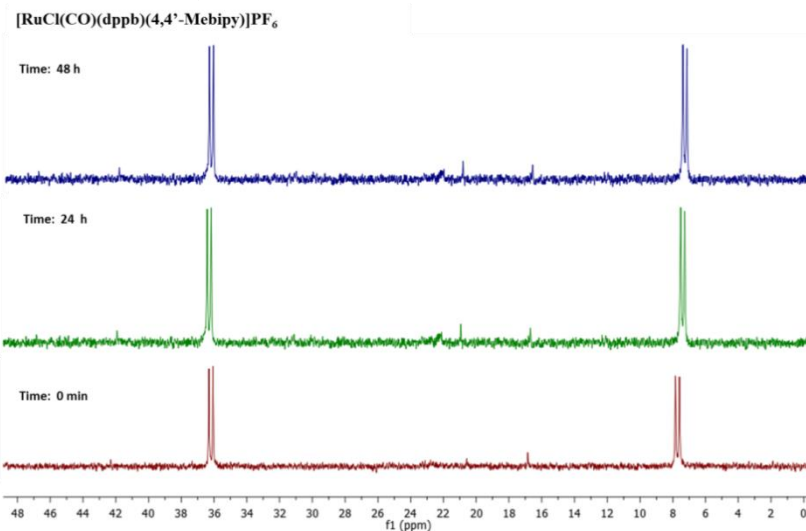
5.2 Estabilidade dos complexos por RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (RMN).

Os compostos foram avaliados quanto à estabilidade frente ao solvente dimetilsulfóxido (DMSO), uma vez que os experimentos biológicos são realizados neste meio. Assim, os compostos foram solubilizados em dimetilsulfóxido e diclorometano (1:9) e o acompanhamento das soluções foram realizados pela ressonância magnética nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ nos tempos 0, 24 e 48 min. Os compostos avaliados, com exceção do complexo (2), mostraram-se estáveis nas condições e tempos avaliados. Nas Figuras 21 e 22, são demonstrados os espectros dos compostos (1) e (2), respectivamente. Os espectros dos complexos (3-6) estão dispostos no Apêndice A (Figuras 64A – 65A; 67A – 70A).

Como pode ser observado na Figura 22, o complexo (2) apresenta um conjunto de sinais referente à saída do NO e coordenação do dimetilsulfóxido. Comportamento semelhante foi observado na literatura para o composto de fórmula $[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppp})(5,5'\text{-mebipy})](\text{PF}_6)_2$ (BARBOSA, 2012). Ademais, foi reportado que compostos deste tipo liberam o óxido nítrico, na forma de NO^0 , após adição de piridina em uma solução contendo acetona, conforme mostra a Figura 23 e Figura 66A do Apêndice A encontradas na literatura (BARBOSA, 2012). Esta análise foi realizada

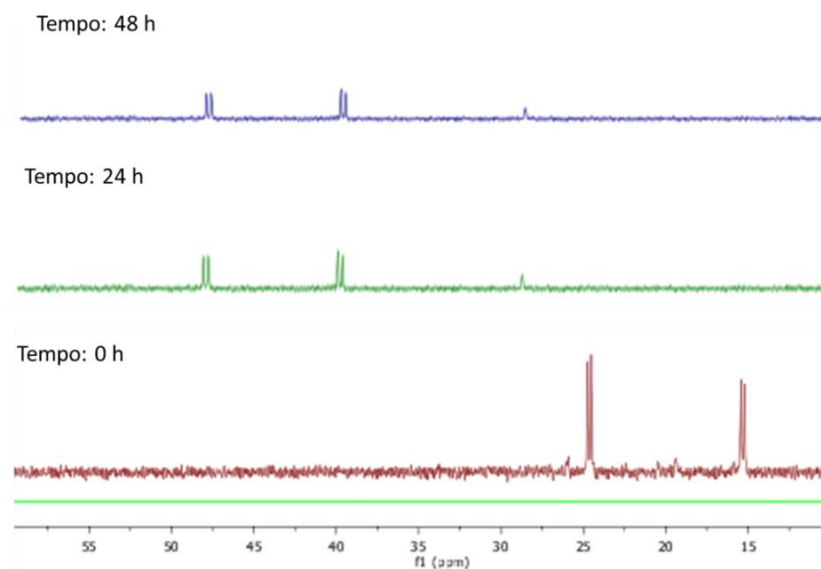
utilizando um eletrodo seletivo para detecção de NO^0 . Neste sentido infere-se que o óxido nítrico liberado do complexo (**2**) apresenta-se na forma de NO^0 .

Figura 21- RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (**1**): tempo: 0 min, 24 h e 48 h, em CH_2Cl_2 / DMSO.



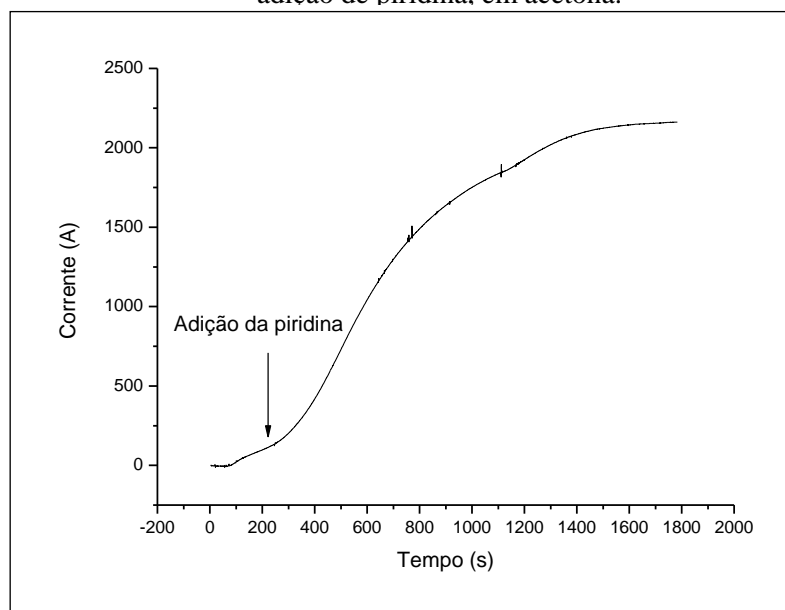
Fonte: Do Autor

Figura 22 - RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (**2**): tempo: 0 min, 24 h e 48 h, em CH_2Cl_2 / DMSO.



Fonte: Do Autor

Figura 23 - Resposta amperiométrica do complexo $[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppp})(5,5'\text{-mebipy})](\text{PF}_6)_2$, após adição de piridina, em acetona.



Fonte: BARBOSA, 2012. Adaptada.

5.3 Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$

Os espectros de RMN de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do precursor e dos compostos **(1-6)** foram atribuídos em função da presença dos ligantes fosfínicos e bipyridínicos, e a variação dos deslocamentos químicos em função dos ligantes empregados. Os experimentos foram feitos utilizando CDCl_3 como solvente. A atribuição dos espectros de ^1H foi realizada a partir da numeração apresentada na Figura 24 e na Tabela 8. Todos os demais espectros podem ser observados nas Figuras 71A – 76A localizadas no Apêndice A. Por meio das integrais foi possível confirmar a presença de 26 hidrogênios aromáticos da 4,4'-Mebipy e bifosfina, 8 hidrogênios dos carbonos alifáticos da bifosfina e 6 hidrogênios do grupo metila da 4,4'-Mebipy. O experimento de RMN de ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo **(2)** não foi realizado em função da sua baixa solubilidade e estabilidade. A solubilidade inviabilizou a realização do experimento em acetona deuterada. Tanto em DMSO, DMF e Acetonitrila ocorre a troca do ligante NO, nas primeiras horas após a solubilização formando os solvatos complexos, assunto este que será abordado na discussão à frente.

Figura 24 - Numeração proposta e espectro de ^1H para o complexo (1), CDCl_3 .

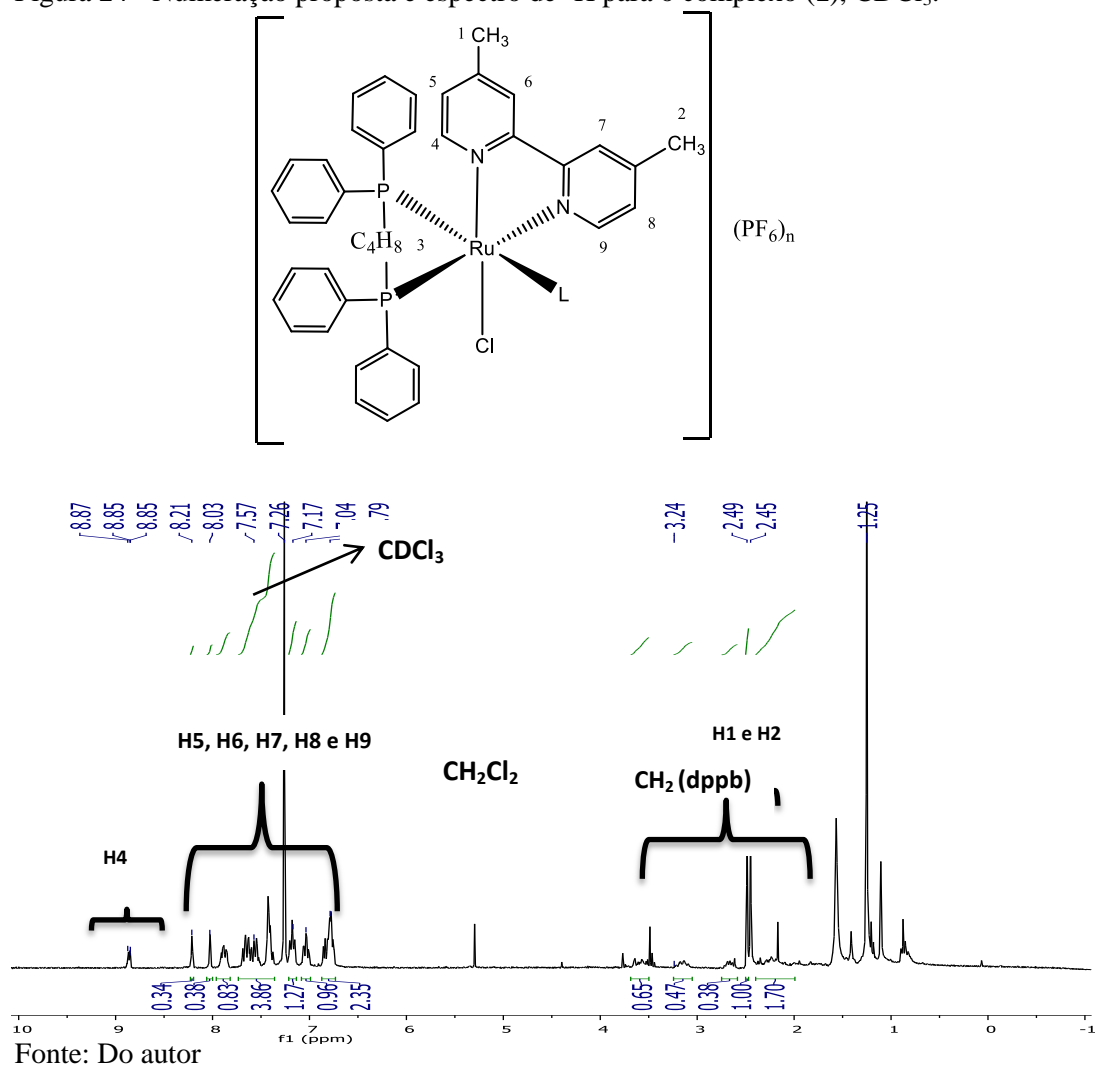


Tabela 8 - Valores de deslocamentos químicos de RMN de ^1H para os complexos (1-6).

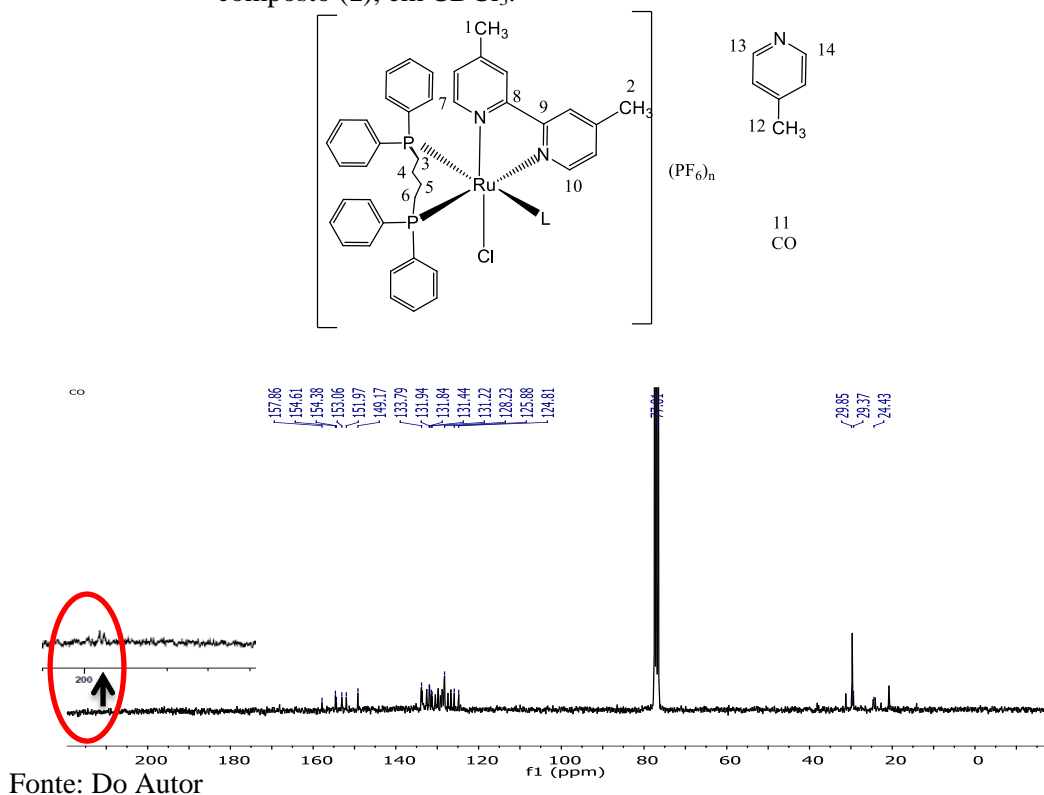
cis-[Ru(Cl)₂(4,4'-Mebipy)(dppb)]	
	δ ^1H (ppm) / (multiplicidade)
H1 (3 hidrogênios)	2,21 (s)
H2 (3 hidrogênios)	2,24 (s)
H3 (8 hidrogênios)	4,00 a 1,18 (m)
H4	9,48 (m)
H5, H6, H7 e H8	8,44 a 6,28 (m)
[Ru(Cl)CO(4,4'-Mebipy)(dppb)]PF₆	
H1 (3 hidrogênios)	2,45 (s)
H2 (3 hidrogênios)	2,49 (s)
H3 (8 hidrogênios)	3,50 a 0,80 (m)
H4	8,86 (m)
H5, H6, H7 e H8	8,90 a 6,75 (m)
[RuCl(NO₂)(dppb)(4,4-Mebipy)]	
H1 (3 hidrogênios)	2,10 (s)
H2 (3 hidrogênios)	2,10 (s)
H3 (8 hidrogênios)	3,89 a 0,78 (m)
H4	9,53 (m)
H5, H6, H7 e H8	7,92 a 6,27 (m)
[Ru(NO₃)(dppb)(4,4-Mebipy)]PF₆	
H1 (3 hidrogênios)	2,44 (s)
H2 (3 hidrogênios)	2,54 (s)
H3 (8 hidrogênios)	3,21 a 1,62 (m)
H4	8,26 (m)
H5, H6, H7 e H8	8,01 a 6,03 (m)
[RuCl(py)(dppb)(4,4-Mebipy)]PF₆	
H1 (3 hidrogênios)	2,24 (s)
H2 (3 hidrogênios)	2,26 (s)
H3 (8 hidrogênios)	4,12 a 3,15 (m)
H4	9,47 (m)
H5, H6, H7 e H8	8,83 a 6,30 (m)
[RuCl(pic)(dppb)(4,4-Mebipy)]PF₆	
H1 (3 hidrogênios)	2,23 (s)
H2 (3 hidrogênios)	2,25 (s)
H3 (8 hidrogênios)	4,15 a 3,10 (m)
H4	9,46 (m)
H5, H6, H7 e H8	8,40 a 6,30 (m)

Fonte: Do Autor

Os deslocamentos químicos para o RMN de ^1H evidenciaram a influência dos ligantes empregados, uma vez que mudanças significativas são observadas quando os deslocamentos químicos do precursor e dos complexos (**1-6**) são comparados, mostrando a influencia destes no centro metálico, refletindo assim nos deslocamentos dos átomos de hidrogênio para campo baixo ou alto, como pode ser observado na Tabela 8. Como exemplo, o hidrogênio H4 da 4,4-Mebipy para o complexo (**1**), foi observado em campo alto em relação ao precursor, δ 8,86 (m) e 9,48 (m) ppm, 4,4-Mebipy e precursor, respectivamente, evidenciando o forte caráter π acceptor do CO em relação ao Cl^- do precursor. Em contrapartida o ligante NO_2^- promoveu como esperado uma pequena mudança no deslocamento químico do hidrogênio H4 do composto (**3**) para campo mais baixo quando comparado com o composto (**1**) e precursor, já que o ligante nitro apresentar caráter π acceptor mais fraco em relação ao Cl^- e CO, Tabela 8.

Já para os espectros de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ a atribuição foi realizada a partir da representação estrutural mostrada na Figura 25 e Tabela 9. Todos os espectros podem ser observados nas Figuras 77A – 82A do Apêndice A. A atribuição dos carbonos referente às metilas (C1e C2) foi realizada com auxílio do DEPT-135 do precursor cis-[$\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})$] (Figura 83A - Apêndice A).

Figura 25 - Numeração proposta para atribuição do RMN de ^{13}C e espectro do composto (**1**), em CDCl_3 .



Fonte: Do Autor

Tabela 9 - Valores de deslocamentos químicos δ (ppm) de RMN de ^{13}C para os complexos **1-6**.

C.	Precursor	1	$\Delta\delta$	3	$\Delta\delta$	4	$\Delta\delta$	5	$\Delta\delta$	6	$\Delta\delta$
C1	20,74	20,81	0,07	20,83	0,09	21,28	0,54	20,42	0,32	20,42	0,32
C2	20,96	20,89	0,07	20,92	0,04	21,04	0,15	20,62	0,34	20,60	0,36
C3	29,69	24,43	5,26	26,62	3,07	26,06	3,63	23,89	5,80	23,89	5,80
C4	27,88	24,61	3,27	26,94	0,94	27,44	0,44	28,29	0,41	28,30	0,42
C5	26,63	24,12	2,51	26,16	0,47	26,66	0,03	20,95	5,68	20,95	5,68
C6	28,25	22,69	5,56	26,16	2,09	24,57	3,68	26,59	1,66	26,59	1,66
C7	159,52	154,61	4,91	151,01	8,51	159,33	0,19	156,79	2,73	156,80	2,72
C8	155,03	154,38	0,65	147,71	7,32	155,56	0,53	154,44	0,59	154,44	0,59
C9	150,82	151,97	1,15	147,53	3,29	151,47	0,65	155,07	4,25	155,08	4,26
C10	156,60	153,06	3,54	156,35	0,25	158,37	1,77	159,24	2,64	159,24	2,64
C11	-	δ 196,2 (d, $^2J_{CP}$ 19,2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20,75	-
C13	-	-	-	-	-	-	-	150,54	-	150,52	-
C14	-	-	-	-	-	-	-	150,79	-	150,77	-

Fonte: Do Autor

Na Tabela 9, é possível observar a variação dos deslocamentos químicos de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ dos complexos obtidos em relação ao precursor, evidenciando a formação dos compostos propostos. No complexo (**1**) os carbonos C3 e C6 apresentaram maior variação de deslocamento químico quando comparados com o precursor com $\Delta\delta$ 5,26 e 5,56. Esta blindagem, quando comparamos aos deslocamentos químicos do precursor e complexo (**1**), acontece devido à presença do CO na esfera de coordenação, entretanto o C3 é mais desblindando em relação a C6 no composto (**1**), uma vez que o forte efeito competitivo do CO deixa o P^I (Figura 25) blindado, logo este é observado em campo mais baixo que o C6.

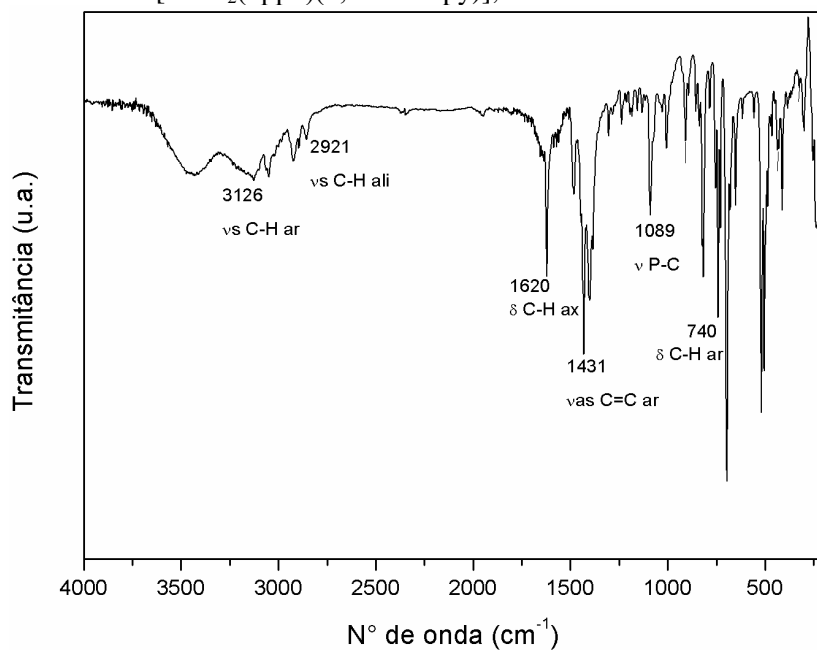
O composto (**1**) apresentou um dubleto referente ao C11 do grupo carbonil δ 196,2 ppm (d, $^2J_{CP}$ 19,2 CO), na região de δ 195,94 e 196,51 δ (ppm). Pode-se sugerir que o átomo de fósforo esta acoplado com o C11, desta forma duplicando-o. Cabe ressaltar que as constantes de acoplamento observadas na literatura para $^2J_{CP}$ são da ordem de 9,8 a 19,8 Hz, e a observada para o complexo (**1**) é 8,1 Hz (KUHL, 2008).

5.4 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)

Os espectros vibracionais na região do IV dos complexos sintetizados apresentaram modos vibracionais consistentes com as estruturas propostas e foram obtidos na região entre $4000 - 250 \text{ cm}^{-1}$. As atribuições foram feitas em comparação com os espectros do precursor, dos ligantes e dos dados da literatura.

O espectro vibracional do precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(4,4'-Mebipy)] em KBr é demonstrado na Figura 26 e as principais bandas estão atribuídas na Tabela 10 assim como para os demais complexos.

Figura 26 - Espectro vibracional de infravermelho do precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(4,4'-Mebipy)], em KBr.



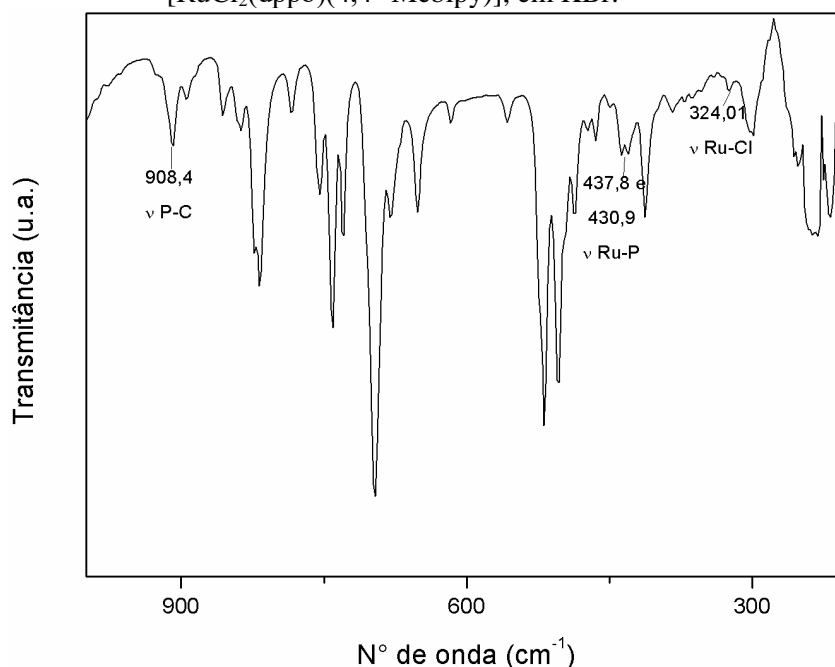
Fonte: Do autor.

Tanto a banda referente à deformação da ligação C=C dos anéis piridínicos quanto às deformações assimétrica e simétrica do grupo CH₃ da 4,4'-mebipy encontram-se na região de $1630-1400 \text{ cm}^{-1}$ e puderam ser identificadas na Figura 26 evidenciando a formação do precursor (SILVERSTEIN, 1987). O estiramento relativo à ligação C=C da 4,4'-mebipy e bifosfina é observado em 1431 cm^{-1} . As fosfinas, apresentam na região de 740 cm^{-1} uma banda de média intensidade que se refere a deformação angular da ligação C-H (SILVERSTEIN, 1987). Aproximadamente em

1100 cm^{-1} , observa-se uma banda de média intensidade referente ao estiramento P-C (SILVERSTEIN, 1987).

Ampliando o espectro de 1000-250 cm^{-1} (Figura 27) nota-se mais facilmente a formação de bandas referentes ao estiramento das ligações Ru-Cl e Ru-P (437; 430 e 324 respectivamente) o que pode corroborar para a formação do complexo precursor. Outro bom indício é a formação da banda em 908 e 472 referentes aos estiramentos das ligações P-C e Ru-N.

Figura 27 - Espectro vibracional de infravermelho ampliado (região 1000 a 250 cm^{-1}) do complexo precursor cis-[RuCl₂(dppb)(4,4'-Mebipy)], em KBr.



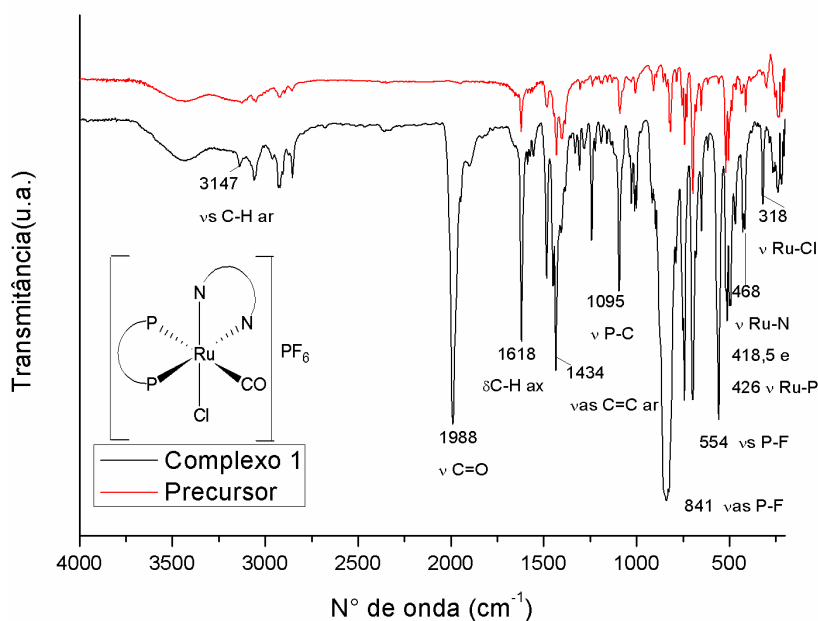
Fonte: Do autor.

O espectro do complexo (1) (Figura 28) fornece fortes indícios da complexação do ligante CO ao rutênio, já que a banda relativa ao estiramento da ligação C=O (1988 cm^{-1}) está presente diferentemente do espectro do precursor. É reportado na literatura que as bandas de estiramento do CO ocorrem em geral, no intervalo de 2100 a 1700 cm^{-1} , uma região que geralmente fica livre das bandas dos ligantes orgânicos (NAKAMOTO, 1997). A existência de apenas uma frequência de estiramento nesta região sugere a presença de apenas uma molécula de CO coordenada ao centro metálico. Tal especulação foi confirmada através dos dados de difração de raios X de monocristal. Outros indícios é a formação de bandas referentes aos estiramentos das ligações Ru-Cl,

Ru-N e Ru-P que podem ser observadas em 318, 468 e 418/426 cm^{-1} , respectivamente (Figura 28).

As bandas referentes à deformação axial C-H e C=C dos anéis piridínicos das fosfinas e da bipyridina foram observadas em 1618 e 1434 cm^{-1} . Em 841 e 554 cm^{-1} encontram-se o estiramento $\nu_{\text{as}}(\text{P-F})$ e $\nu_{\text{s}}(\text{P-F})$ do contra íon PF_6^- .

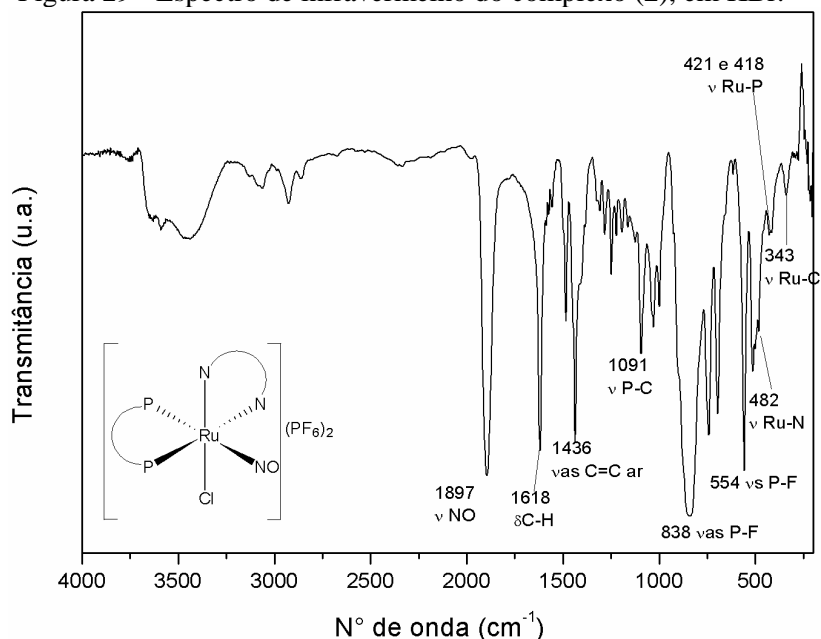
Figura 28 - Espectro vibracional de infravermelho do precursor e do complexo (1), em KBr.



Fonte: Do autor.

A técnica de absorção na região do infravermelho pode ser empregada para verificar a coordenação do íon NO^+ ao íon metálico rutênio (II) (GODWIN, 1971). O espectro do complexo deve apresentar uma banda intensa no intervalo de 1950 cm^{-1} à 1450 cm^{-1} . Analisando o espectro para o complexo (2) (Figura 29) observa-se a formação de uma banda intensa em ν 1897 cm^{-1} que é referente ao estiramento da ligação NO. Nas regiões abaixo de 600 cm^{-1} , observam-se as bandas referentes aos estiramentos Ru-P (421 e 418 cm^{-1}), Ru-N (482 cm^{-1}) e Ru-Cl (343 cm^{-1}) fornecendo indícios da formação do composto proposto. Vale ressaltar ainda a presença de duas bandas intensas em 554 e 838 cm^{-1} que segundo Barbosa (2010) são referentes aos estiramentos simétrico e assimétrico da ligação P-F, indicando a presença de contra-íon, fato que foi confirmado através de medidas de condutividade.

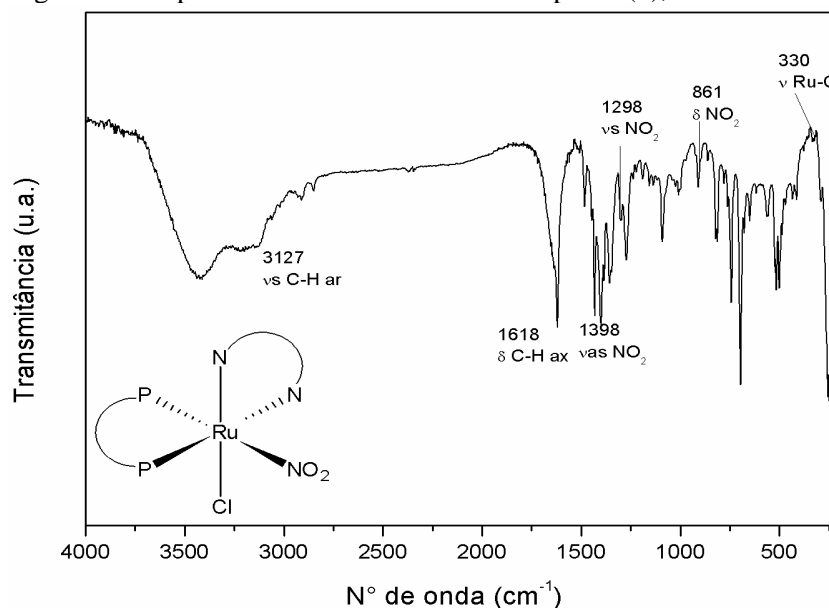
Figura 29 - Espectro de infravermelho do complexo (2), em KBr.



Fonte: Do autor.

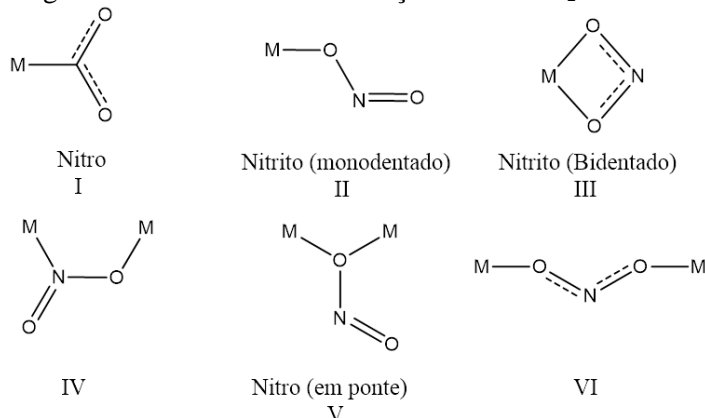
Já para o composto **3** nota-se (Figura 30) a formação de 3 bandas de fraca e moderada intensidade em 861, 1298 e 1398 cm^{-1} que são referentes a deformação angular e estiramentos simétrico e assimétrico da ligação NO_2 respectivamente. Tais bandas juntamente com a banda de fraca intensidade em 330 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação Ru-Cl sugerem a substituição de um único cloreto na esfera de coordenação pelo ligante nitro (NO_2^-) (BARBOSA, et al., 2010). Nota-se também a ausência da banda referente ao estiramento da ligação P-F que ocorre geralmente na faixa de 830-845 cm^{-1} indicando a ausência deste contra-íon, fato também confirmado pelas medidas de condutividade.

Figura 30 - Espectro de infravermelho do complexo (3), em KBr.



Fonte: Do autor.

O íon NO_2^- pode se coordenar ao metal de diferentes modos, de acordo com a Figura 31. Se o íon NO_2^- estiver coordenado ao metal por apenas um oxigênio este denomina-se nitrito complexo, mas se estiver ligado pelo nitrogênio, este denomina-se nitro complexo (NAKAMOTO, 1997).

Figura 31 - Formas de coordenação do íon NO_2^- 

Fonte: NAKAMOTO, 1997. Adapdata.

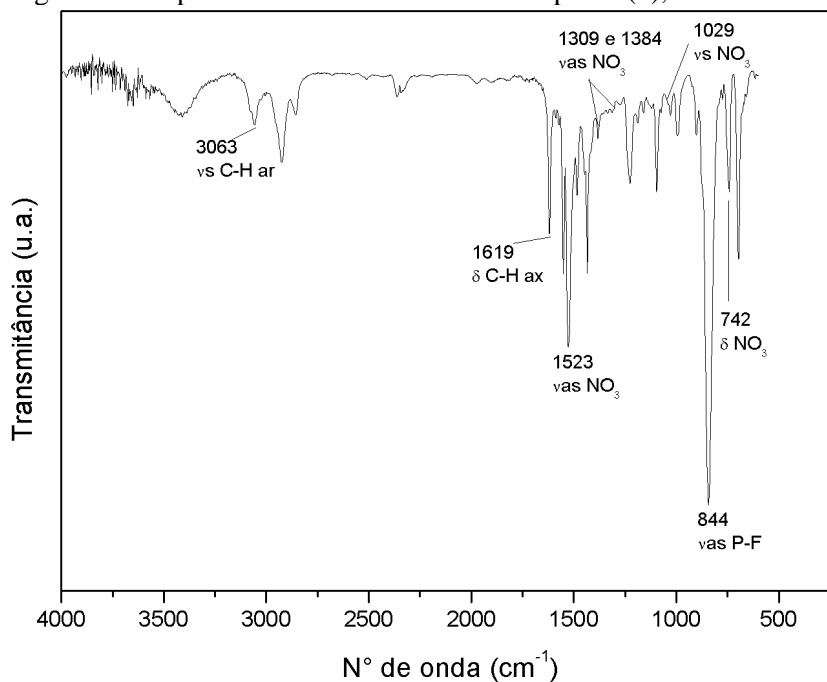
As frequências de estiramentos ($\nu_{\text{as}} \text{NO}_2$ e $\nu_{\text{s}} \text{NO}_2$) nos nitrito complexos são encontradas em $\nu 1485\text{-}1400$ e $1110\text{-}1050 \text{ cm}^{-1}$, respectivamente. Nos nitro complexos, os estiramentos $\nu_{\text{as}} \text{NO}_2$ e $\nu_{\text{s}} \text{NO}_2$ são encontrados na faixa de $\nu 1470\text{-}1370$ e $1340\text{-}1320 \text{ cm}^{-1}$, respectivamente. O estiramento M-O em nitritos complexos é encontrado na faixa de 360 a 340 cm^{-1} (NAKAMOTO, 1997).

Outro bom indício da coordenação ao metal pelo nitrogênio é a presença de bandas $\delta_w(\text{NO}_2)$ entre 560 e 610 cm^{-1} , que são inexistentes quando a coordenação ocorre pelo oxigênio (NAKAMOTO, 1997).

No espectro do complexo 3, foi possível confirmar que o grupo NO_2 coordenou-se ao centro metálico pelo nitrogênio, formando um nitro complexo. As bandas referentes aos estiramentos $\nu_{\text{as}} \text{NO}_2$ e $\nu_{\text{s}} \text{NO}_2$ foram observadas em 1398 e 1298 cm^{-1} , respectivamente. Em 861 cm^{-1} também foi observada a deformação no plano da ligação NO_2 . (GODWIN, 1971; SILVERSTEIN, 1987). Desta forma pelos dados de infravermelho, concluímos que obtivemos um nitro-complexo.

No composto 4 (Figura 32) pode-se observar a presença de 5 bandas de intensidade fraca a moderada que são referentes aos estiramentos assimétrico (1309 , 1384 e 1523 cm^{-1}), simétrico (1029 cm^{-1}) e deformação angular (742 cm^{-1}) da ligação do grupo NO_3^- fornecendo indicações da coordenação do grupo NO_3^- de maneira bidentada (DUTTA, 2016 ; KNYAZEVA, 2016). Além do mais a presença da banda em $844,5\text{ cm}^{-1}$ indica a presença de um contra-íon e reforça a ligação ao centro metálico de modo bidentado.

Figura 32 - Espectro de infravermelho do complexo (4), em KBr.

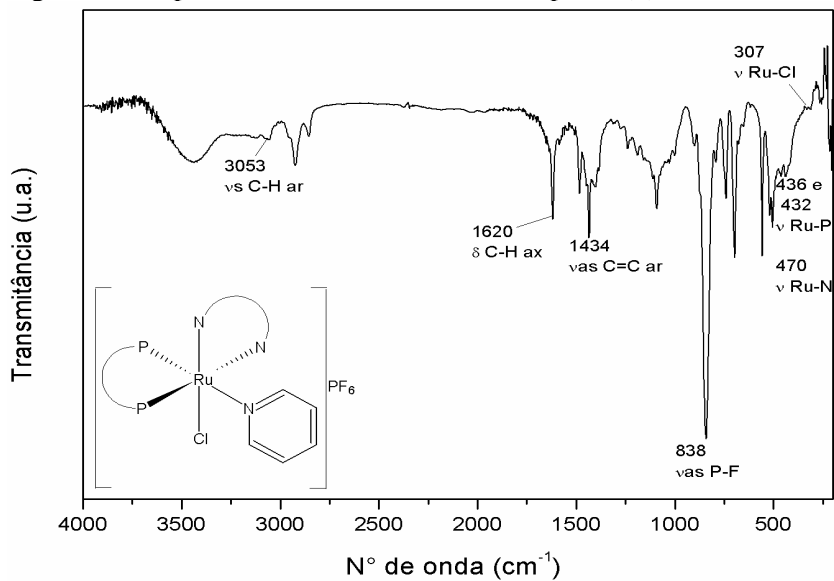


Fonte: Do autor

Como os compostos piridínicos (5 e 6) apresentam semelhanças estruturais entre si e com o precursor, seus espectros se mostraram muito semelhantes ao da Figura 33.

Como a coordenação ao metal é feita pelo nitrogênio pirimidínico não é possível identificar bandas que indicam a formação do composto já que o precursor também se liga a partir do nitrogênio dos seus ligantes. Entretanto pode-se perceber a formação de uma banda em 838 cm^{-1} referente ao estiramento do contra-íon PF_6^- (BARBOSA, et al., 2010). O espectro para o composto 6 encontra-se na Figura 84A do Apêndice A.

Figura 33 - Espectro de infravermelho do complexo (5), em KBr.



Fonte: Do autor.

Tabela 10 - Principais bandas de IV (cm^{-1}) atribuídas ao precursor e aos complexos sintetizados.

Atribuições (cm^{-1})	(C1)	(C2)	(C3)	(C4)	(C5)	(C6)	(Precursor)
$\nu_s\text{C-H}_{\text{arom}}$ (f)	3137	3062	3127	3063	3053	3122	3126
$\nu_s\text{C-H}_{\text{alif}}$ (f)	2900	2925	2902	2925	2921	2925	2921
$\delta\text{C-H}_{\text{arom}}$ (m)	742	742	743	741	741	740	740
$\delta\text{C-H}_{\text{axial}}$ (F)	1618	1618	1618	1619	1620	1618	1620
$\delta\text{C-H}$ (M)	691	691	698	696	696	696	696
$\nu_{\text{as}}\text{C}=\text{C}_{\text{arom}}$ (m)	1434	1436	1431	1433	1434	1432	1431
$\nu_s\text{C-O}$ (F)	1988	-	-	-	-	-	-
νNO (F)	-	1897	-	-	-	-	-
$\nu_{\text{as}}\text{NO}_2$ (F)	-	-	1398	-	-	-	-
$\nu_s\text{NO}_2$ (m)	-	-	1298	-	-	-	-
δNO_2 (f)	-	-	861	-	-	-	-
$\nu_{\text{as}}\text{NO}_3$	-	-	-	1523	-	-	-
	-	-	-	1384	-	-	-
	-	-	-	1309	-	-	-
$\nu_s\text{NO}_3$	-	-	-	1029	-	-	-
δNO_3	-	-	-	742	-	-	-
$\nu\text{P-C}$ (f)	916	928	909	901	902	902	908
$\nu\text{P-C}$ (m)	1095	1091	1093	1096	1098	1093	1089
$\nu_{\text{as}}\text{P-F}$ (mF)	841	838	-	844	838	839	-
$\nu\text{Ru-P}$ (f)	426	421	434	-	436	437	437
	418	419	430		432	435	437
$\nu\text{Ru-Cl}$ (f)	318	343	330	-	307	327	324
$\nu\text{Ru-N}$ (f)	468	482	470	-	470	495	472

Fonte: Do autor.

F = muito forte; **m** = média; **f** = fraca.

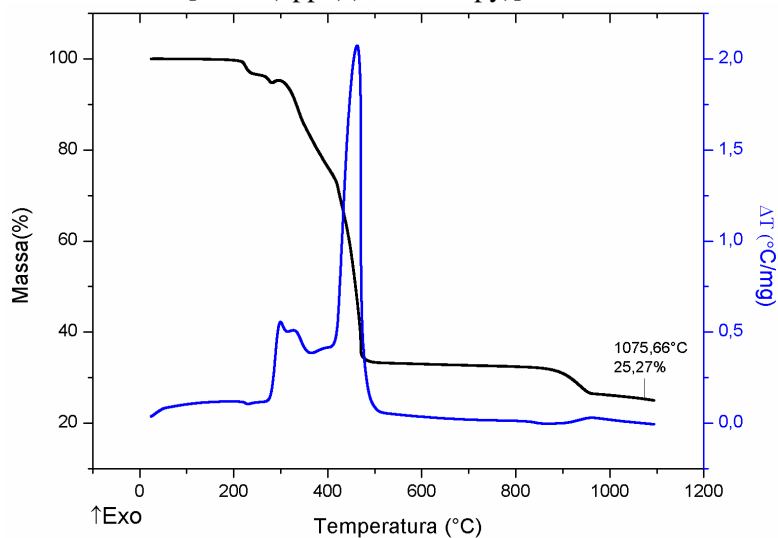
5.5 Análise Termogravimétrica

Os complexos sintetizados bem como o precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(4,4'-Mebipy)] foram submetidos a análise termogravimétrica a fim de se estudar a estabilidade térmica e obter informações quanto a formulação destes.

As curvas termogravimétricas (TG-DTA) foram realizadas em atmosfera de ar sintético. O termograma obtido para o precursor encontra-se na Figura 34 e percebe-se a estabilidade térmica até a temperatura aproximada de 145°C o que indica a ausência de água no composto.

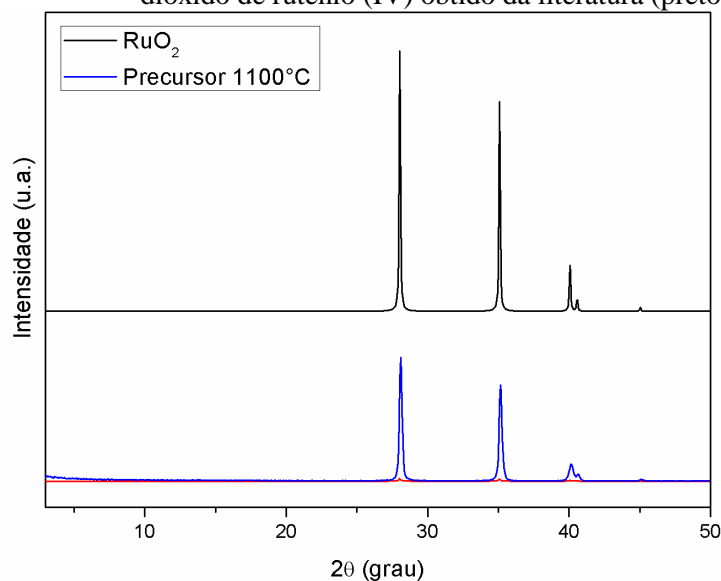
A decomposição térmica ocorreu até a temperatura de 1075,66°C gerando um resíduo de 25,27% que provavelmente se deve a formação de dióxido de rutênio (IV), já que dados da literatura mostraram que o rutênio a elevadas temperaturas oxida e atinge velocidade máxima de oxidação por volta de 800°C (GARISTO, 1988). A fim de se confirmar tal afirmação foi realizado um experimento que envolveu a queima de 0,400 g do precursor em um forno com atmosfera e temperatura controladas de maneira a se aproximar o máximo possível do procedimento realizado na Análise Térmica. Após aquecer essa amostra até 1100°C, o sólido preto formado foi submetido à Difração de raios X por policristal onde se obteve o difratograma em azul na Figura 35. A identificação da fase na sequência foi realizada pelo software Match – *Phase Identification from Powder Diffraction*, onde se percebeu que se tratava da fase rutilo do dióxido de rutênio (IV) como pode ser observada no difratograma em preto da Figura 34, mostrando uma boa semelhança entre os dois espectros.

Figura 34 - Curvas TG/DTA simultâneas do precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]$.



Fonte: Do autor

Figura 35 - Difratogramas do precursor aquecido (azul) e de dióxido de rutênio (IV) obtido da literatura (preto).

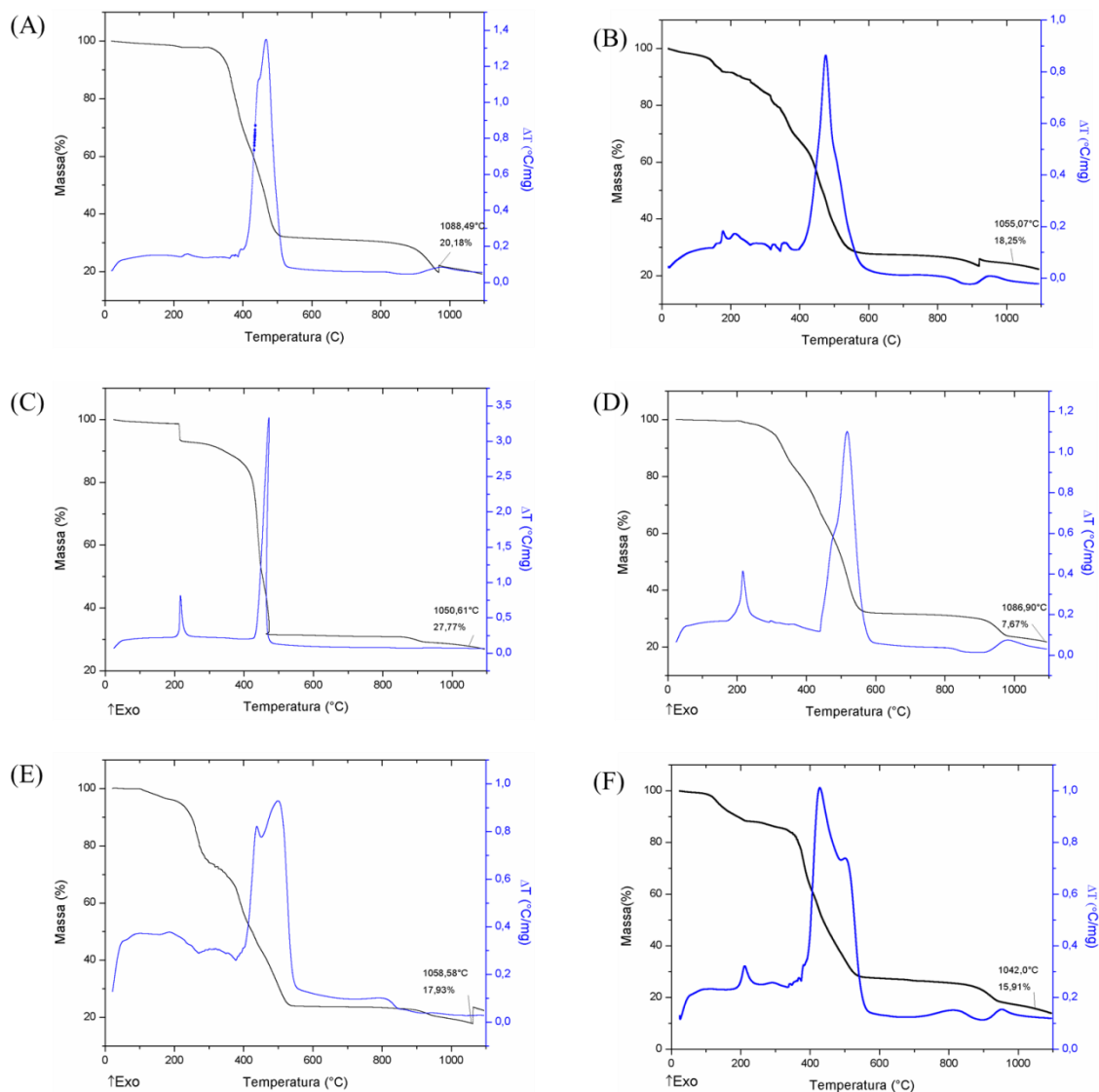


Fonte: Do autor.

As atribuições da decomposição térmica tanto do precursor quanto dos complexos sintetizados devido à escassez de informações na literatura e da complexidade ainda estão em fase de determinação e pretende-se escrever um artigo somente destes resultados. Os termogramas dos complexos estão dispostos na Figura 36 e podemos observar que cada complexo apresentou estabilidade térmica diferente entre eles e entre o precursor indicando que os compostos apresentam peculiaridades entre si.

Vale ressaltar que cada resíduo obtido assim como para o precursor se deve a formação de óxido de rutênio e a partir daí pretende-se determinar as demais perdas.

Figura 36 - Termogramas dos complexos sintetizados (A) (1), (B) (2), (C) (3), (D) (4), (E) (5) e (F) (6).



Fonte: Do autor.

A fim de se determinar as etapas de decomposição pretende-se realizar aquecimento da amostra em cada etapa e na sequência fazer Espectroscopia vibracional na região do infravermelho.

5.6 Espectroscopia de absorção na região do UV-vis

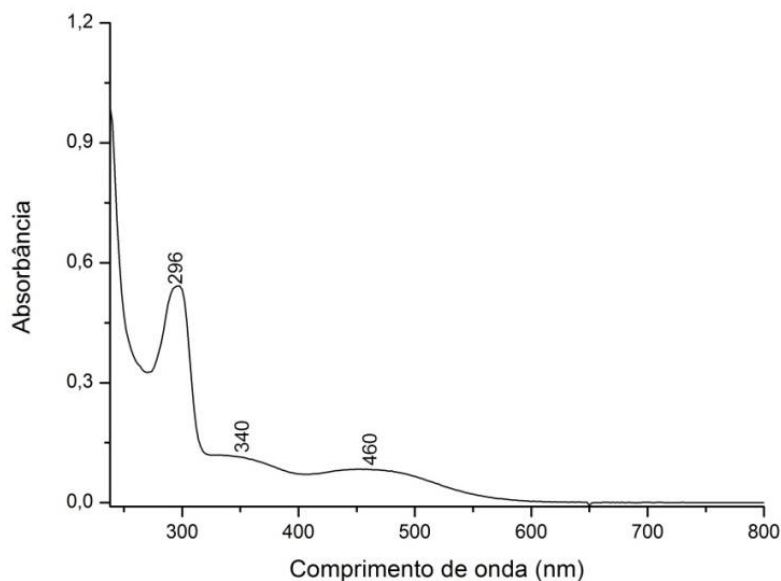
O estudo da espectroscopia eletrônica é essencial para compreensão da estrutura eletrônica de complexos. Para complexos de metais de transição as bandas de absorção nas regiões do infravermelho próximo e visível geralmente estão associadas com transições envolvendo principalmente o íon metálico mais precisamente, acontecendo entre orbitais d (*transições $d-d$*) ou envolvendo transições entre orbitais moleculares do metal para o ligante e/ou do ligante para o metal (bandas de transferência de carga).

Em geral, para cada novo complexo sintetizado, modificações no perfil espectral são esperadas, já que novas ligações químicas são formadas e conseqüentemente as diferenças de energia entre orbitais moleculares são modificadas, implicando em energias diferentes necessárias para promover as transições eletrônicas (BARBOSA, 2007).

Os ligantes aromáticos N-heterocíclicos apresentam normalmente, na região do ultra-violeta, bandas atribuídas às transições intra-ligantes ($\pi \rightarrow \pi^*$). As bandas de maior energia localizam-se entre 226 e 256 nm, enquanto as de menor energia variam de 276 a 308 nm. As fosfinas também apresentam bandas características com comprimento de onda em aproximadamente 250 nm. Estas bandas são atribuídas às transições eletrônicas internas do ligante bifosfínico, provenientes das transições $\pi \rightarrow \pi^*$ nos grupos aromáticos (KETLE, 1998).

O espectro de UV-Vis do precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(4,4'- dimetil-2,2'-bipiridina)] é demonstrado na Figura 37, além da banda característica de transição intra-ligante $\pi \rightarrow \pi^*$ da 4,4'-Mebipy, duas bandas em 340 e 460 nm, atribuídas a transferência de carga metal-ligante (TCML) são observadas, TCML $d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(4,4\text{-Mebipy})$ e TCLM $\pi(\text{Cl}) \rightarrow d\pi^*(\text{Ru}^{\text{II}})$, respectivamente.

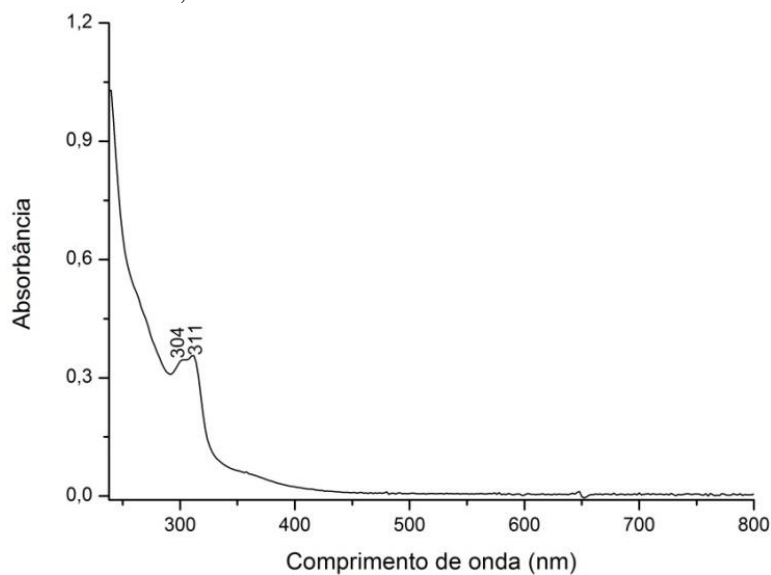
Figura 37 - Espectro de UV-vis do precursor cis- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4'\text{Mebipy})]$ em CHCl_3 / $3,8 \times 10^{-5} \text{ mol x L}^{-1}$.



Fonte: Do autor.

No espectro eletrônico do complexo **(1)** (Figura 38) é observada uma banda em 311 nm e um ombro em 304 nm, que são característicos de transições intra-ligantes do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ (bipy) e $\pi \rightarrow \pi^*$ (fosfina), respectivamente. Comparando-se o espectro da Figura 37 referente ao precursor e o da Figura 38 do complexo **(1)** as bandas TCML $d\pi(\text{Ru}) \rightarrow \pi^*(4,4\text{-Mebipy})$ e TCLM $\pi(\text{Cl}) \rightarrow d\pi^*(\text{Ru}^{\text{II}})$ não são mais observadas em função da acidez π do ligante CO, que desloca as transições eletrônicas para maior energia em relação ao precursor. Os valores dos coeficientes de absorvidade molar (ϵ) e as transições características para este e os demais complexos sintetizados encontram-se na Tabela 11. Vale ressaltar que tais bandas foram atribuídas a partir dos valores de ϵ e também com base em complexos semelhantes encontrados na literatura.

Figura 38 - Espectro de UV-vis do complexo (1), em CHCl_3 / $4,4 \times 10^{-5} \text{ mol x L}^{-1}$.

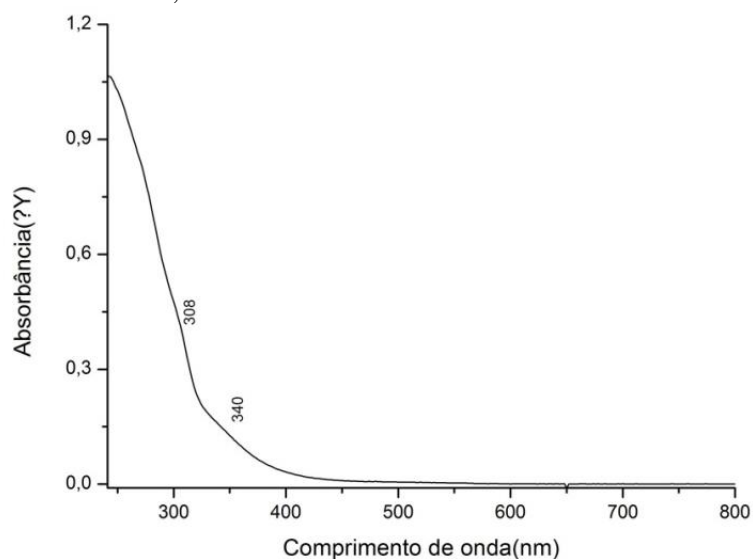


Fonte: Do autor.

Ao substituir o ligante cloreto que é um ligante σ e π doador, por um ligante π receptor como o NO não observamos mais as transições na região do visível (Figura 39). Isto é observado para a maioria dos nitrosilo complexos, devido a forte retrodoação do metal para o ligante NO, que estabiliza os orbitais moleculares característicos do metal. Com isso, as bandas de transferência de carga metal ligante (TCML) do rutênio para ligantes insaturados ocorrem numa região de mais alta energia, na faixa de 350 nm a 400 nm (SAUAIA, 2005).

Analisando o espectro da Figura 39 correspondente ao complexo (2), pode-se notar uma banda em 340 nm e 308 nm que são referentes à transferência de carga metal ligante do grupo nitrosilo e a transição intraligante $\pi \rightarrow \pi^*$ do ligante bipyridínico, em acordo com outros complexos nitrosilo (SAUAIA, 2005). Além disso, é possível observar que as bandas de absorção para este complexo ocorreram em regiões de menor comprimento de onda, sendo todas encontradas na região do ultravioleta. Isto se deve ao fato de NO retirar a densidade eletrônica do centro metálico e assim modificar as transições eletrônicas (SERLI, et al., 2003).

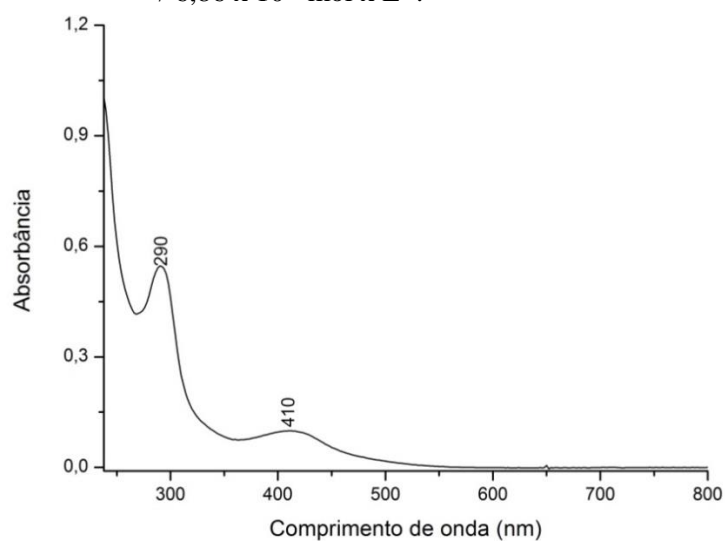
Figura 39 - Espectro de UV-vis do complexo (2) em CHCl_3 / $4,5 \times 10^{-5} \text{ mol x L}^{-1}$.



Fonte: Do autor.

O espectro de absorção na região do UV-visível para o complexo (3) é demonstrado na Figura 40. A banda em 290 nm é característica de transições intra-ligantes $\pi \rightarrow \pi^*$. Em comparação com o espectro eletrônico do precursor, nota-se um deslocamento da última banda para 410 nm (região mais energética) o que sugere a substituição de um cloro na esfera de coordenação por um ligante π acceptor (NO_2^-), diminuindo a densidade eletrônica do centro metálico e deslocando a banda para regiões de menor comprimento de onda (PAVAN, et al., 2012). Como o ligante nitro tem característica π acceptora mais fraca que os ligantes CO e NO a observação da banda de transferência de carga metal ligante para o complexo (3) em 410 nm pode ser observada em comprimentos de onda mais altos por este motivo.

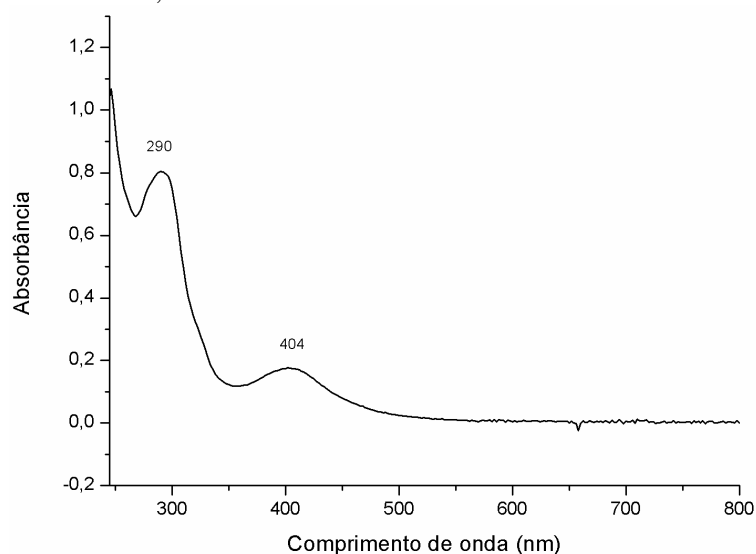
Figura 40 - Espectro de UV-vis do complexo (3), em CHCl_3 / $6,86 \times 10^{-5} \text{ mol x L}^{-1}$.



Fonte: Do autor.

No espectro eletrônico do complexo (4) (Figura 41) observou-se uma banda em 290 nm característica de transições intra-ligantes $\pi \rightarrow \pi^*$ (4,4'-Mebipy) e em 404 nm a qual pode ser atribuída a transferência de carga metal-ligante de $d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{NO}_3)$. Comparando este espectro com o complexo (1) pode-se observar a formação da banda em 404 nm que não ocorre no composto 1, isso se deve ao fato do ligante nitrato não possuir caráter π acceptor como o ligante carbonilo, o que fornece um indício da formação do composto.

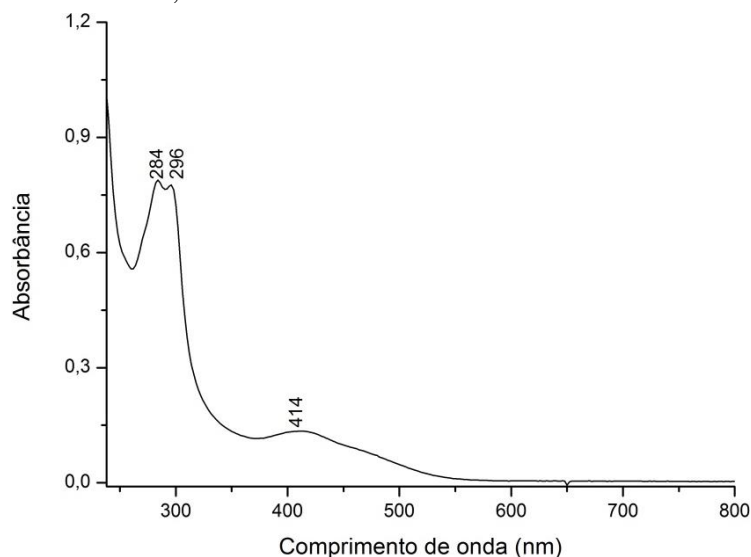
Figura 41 - Espectro de UV-vis do complexo (4), em CHCl_3 / $3,12 \times 10^{-5} \text{ mol x L}^{-1}$.



Fonte: Do autor.

Para os complexos (5) e (6) um espectro representativo é demonstrado na Figura 42, devido à similaridade química dos mesmos.

Figura 42 - Espectro de UV-vis do complexo (5), em CHCl_3 / $5,7 \times 10^{-5} \text{ mol x L}^{-1}$



Fonte: Do autor.

No espectro do complexo (5) pode-se observar a presença de uma banda em 284 nm e um ombro em 296 nm que são características das transições intra-ligante $\pi \rightarrow \pi^*$ envolvendo os ligantes 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina e a fosfina respectivamente. A transição de carga metal ligante (TCML) foi observada em 414 nm e ocorre em comprimento de onda maior que no complexo (3) e (4), pois o ligante piridina e 4-picolina são π aceptores fracos. O espectro eletrônico do composto (6) encontra-se na Figura 85A no Apêndice A

Tabela 11 - Transições características e coeficientes de absorvidade molar dos complexos.

Compostos	Transições	λ (nm) (Absorbância) / ϵ (L mol ⁻¹ cm ⁻¹)
Precursor	(IL) $\pi \rightarrow \pi^*$ (4,4'-Mebipy)	296 (0,542) / 14.338
	(TCML) $d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*$ (4,4'-Mebipy)	340 (0,117) / 3.095
	TCLM $\pi(\text{Cl}) \rightarrow d\pi^*(\text{Ru}^{\text{II}})$	460 (0,083) / 2.195
1	(IL) $\pi \rightarrow \pi^*$ (fosfina)	304 (0,34) / 7.727
2	(IL) $\pi \rightarrow \pi^*$ (4,4'-Mebipy)	311 (0,36) / 8.181
	(TCML) $d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*$ (NO)	340 (0,132) / 2.933
3	(IL) $\pi \rightarrow \pi^*$ (4,4'-Mebipy)	308 (0,387) / 8.600
	(IL) $\pi \rightarrow \pi^*$ (4,4'-Mebipy)	290 (0,555)/8.090
	(TCML) $d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*$ (NO ₂)	410 (0,098)/1.428
4	(IL) $\pi \rightarrow \pi^*$ (4,4'-Me-bipy)	290 (0,804)/25.759
	(TCML) $d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*$ (NO ₃)	404 (0,176)/5.628
5	(IL) $\pi \rightarrow \pi^*$ (4,4'-Me-bipy)	284 (0,789) / 13.842
	(IL) $\pi \rightarrow \pi^*$ (fosfina)	296 (0,776) / 13.614
	(TCML) $d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*$ (Py)	414 (0,135) / 2.368
6	(IL) $\pi \rightarrow \pi^*$ (4,4'-Me-bipy)	284 (0,874) / 14.813
	(IL) $\pi \rightarrow \pi^*$ (fosfina)	296 (0,811) / 13.746
	(TCML) $d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*$ (4-Pic)	414 (0,143) / 2.424

Fonte: Do autor.

5.7 Medidas de Condutividade

As medidas de condutividade molar foram realizadas a fim de confirmar as formulações propostas. Utilizou-se como solventes acetona e diclorometano. Todas as soluções foram preparadas na concentração de $1,0 \times 10^{-3}$ mol. L⁻¹.

Os valores de condutividade obtidos encontram-se na Tabela 12 e a partir destes tudo nos leva a crer que os compostos sintetizados possuem os ligantes CO, NO⁻, NO₂⁻, NO₃⁻, piridina e 4-picolina em suas estruturas, uma vez que os complexos (1), (4), (5) e (6) apresentaram valores entre 110-140 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (acetona) e 35-45 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (diclorometano) que são referentes à proporção ânion/cátion de 1:1. A faixa aceita para eletrólitos 1:1 é

de 100-140 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (acetona). O complexo (3) apresentou valores muito baixos em ambos solventes levando sendo considerado neutro, conforme o esperado. Já o complexo (2) apresentou valores mais elevados (154 $\mu\text{S}/\text{cm}$ e 70,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$) referentes segundo a literatura à proporção 2:1, possuindo, portanto 2 contra-íons, confirmando a presença do fragmento Ru-NO^+ . Dessa maneira as medidas de condutividade permitiram confirmar as formulações propostas. A faixa aceita para os eletrólitos encontrados neste trabalho são apresentados na literatura por Geary (1971).

Tabela 12 - Condutividade molar dos compostos sintetizados.

Complexos	Condutividade $\mu\text{S}/\text{cm}$ ($T^{\circ}\text{C}$)	
	Acetona	Diclorometano
(1)	140,0 (22,5)	40,7 (22,5)
(2)	154,0 (21,5)	70,3 (21,5)
(3)	5,0 (24,3)	3,0 (24,3)
(4)	140,9 (20,2)	45,7 (20,2)
(5)	110,0 (22,5)	35,3 (22,5)
(6)	116,0 (23,7)	37,4 (23,7)

Fonte: Do autor

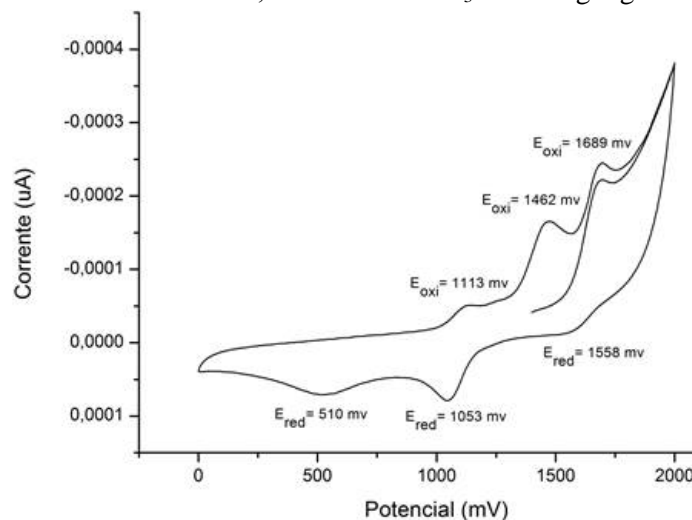
5.8 Voltametria cíclica.

O comportamento eletroquímico dos compostos sintetizados foi estudado pelo uso da técnica de voltametria cíclica. As medidas foram realizadas utilizando o método de arranjo convencional contendo três eletrodos, consistindo de um eletrodo de platina como eletrodo de trabalho, um auxiliar de platina e um de referência, de Ag/AgCl . Os voltamogramas foram obtidos em solução de MeCN , utilizando PTBA ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) como eletrólito suporte e velocidade de varredura igual a 100 mV.s^{-1} .

O complexo (1) apresentou na voltametria cíclica um processo irreversível em aproximadamente 1689 mV atribuído a oxidação do Ru^{II} a Ru^{III} (Figura 43). O elevado potencial anódico observado deve-se ao forte caráter π acceptor do ligante monóxido de carbono, que por meio da retrodoação diminui a densidade eletrônica do íon rutênio no

complexo tornando mais difícil sua oxidação, refletindo em um potencial de oxidação mais elevado que o observado para o precursor 630 mV.

Figura 43 - Voltametria cíclica do complexo (1), eletrólito PTBA 0,1 mol·L⁻¹ em CH₃CN vs Ag/AgCl.



Fonte: Do autor

O processo observado na voltametria cíclica em torno de 1113 mV foi atribuído à formação do complexo de fórmula $[\text{RuCl}(\text{MeCN})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$, pois quando o rutênio no complexo (1) é oxidado, este passa da configuração d^6 para d^5 , perdendo sua capacidade de fazer retrodoação. Portanto, a carbonila é labilizada e substituída pelo solvente CH_3CN . Dessa maneira o processo em torno de 1113 mV pode ser atribuído ao complexo $ct\text{-}[\text{RuCl}(\text{CH}_3\text{CN})(\text{dppb})(4,4'\text{-Me-bipy})]\text{PF}_6$. Quanto ao processo em 1462 mV, o qual é gerado na segunda varredura, pode-se atribuir a isomerização do complexo contendo a acetonitrila coordenada, (JÚNIOR, 2010).

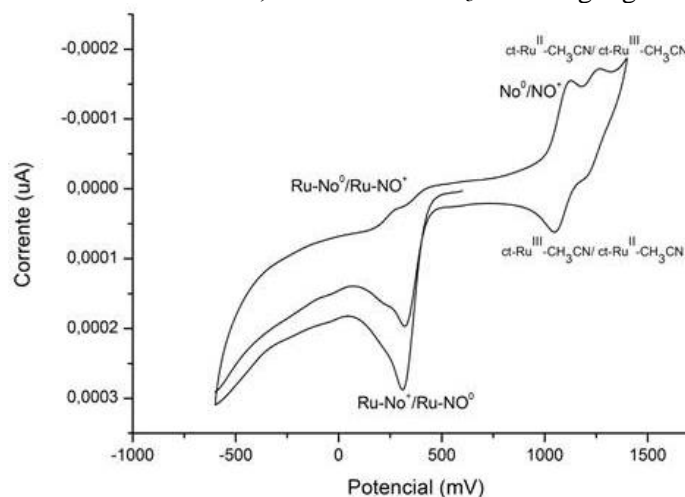
O complexo (2) apresenta os processos eletroquímicos centrados no ligante nitrosilo, devido à presença do fragmento Ru-NO^+ . Não foi observado no complexo (2) à oxidação do metal, no solvente utilizado. Tem sido sugerido por alguns autores que o rutênio, em nitrosilos complexos, só é eletroativo em potenciais superiores a +1,4 V. Esse potencial alto é justificado pelo domínio que a acidez π do NO (forte π receptor) impõe em seus complexos, que pela retrodoação leva à diminuição da densidade eletrônica sobre o metal, conseqüentemente estabilizando-o (SAUAIA, 2005).

A voltametria cíclica do complexo (2) (Figura 44), ilustra um processo em aproximadamente 360 mV que é atribuído à redução do $\text{Ru-NO}^+ \rightarrow \text{Ru-NO}^0$. Ao invertermos o sentido da corrente, foram observados três novos processos decorrentes

da saída do óxido nítrico. A irreversibilidade do processo de redução $\text{Ru-NO}^+/\text{Ru-NO}^0$ é visível no voltamograma cíclico, indicando que quando o nitrosilo coordenado é reduzido a NO^0 , este é liberado (LOPES, 1997).

Em 1252 /1052 mV, o par redox atribuído a oxidação do $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$ do solvato complexo foi observado. Ao longo do tempo a espécie formada pela substituição do NO por CH_3CN , (*ct* = acetonitrila *trans* a fósforo) sofre isomerização para *cc*- $[\text{RuCl}(\text{CH}_3\text{CN})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ (*cc* = acetonitrila *trans* a nitrogênio) (JÚNIOR, 2010). O voltamograma apresentado na Figura 47 (a) mostra a existência dos processos dos dois isômeros, enquanto as Figuras 47 (b) e (c) mostram a dependência da formação do isômero *ct* da redução do NO coordenado.

Figura 44 - Voltametria cíclica do complexo (2), eletrólito PTBA $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ em CH_3CN vs Ag/AgCl.

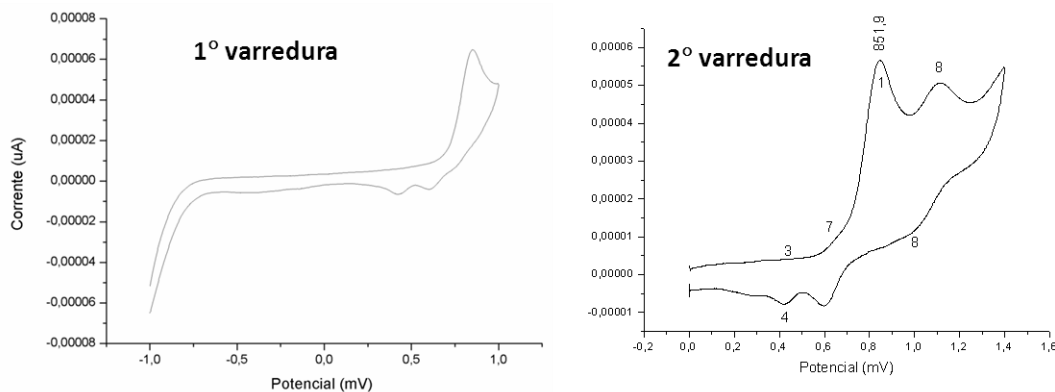


Fonte: Do autor

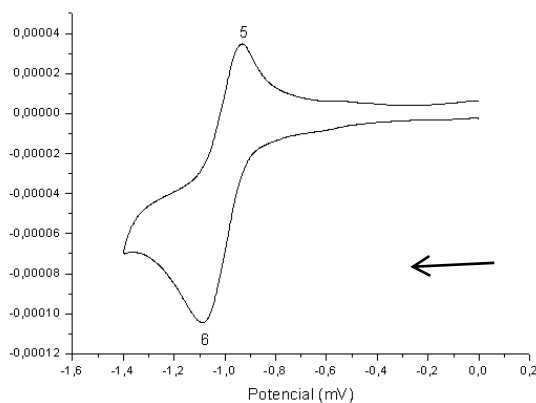
No voltamograma cíclico do composto (3) Figura 45 (a), um processo irreversível em 851,9 mV (1) foi observado na primeira varredura, o qual foi atribuído ao par redox $\text{Ru}^{\text{II}}\text{-NO}_2$ à $\text{Ru}^{\text{III}}\text{-NO}_2$ (SAUAIA, 2005).

Figura 45 - Voltametria cíclica do complexo (3) a) faixa -0,2 à 1,6 mV e b) -1,6 à 0,2 mV - eletrólito PTBA 0,1 mol·L⁻¹ em CH₃CN vs Ag/AgCl.

a)



b)

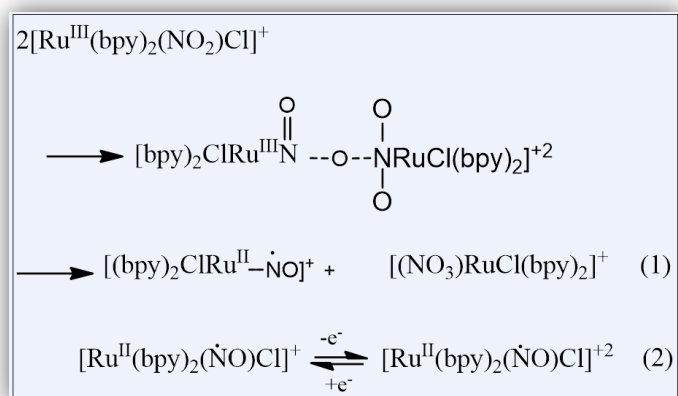


Fonte: Do autor.

Após a oxidação, o complexo obtido com fórmula $cis-[Ru^{III}Cl(NO)(4,4'-Mebipy)_2]^{n+}$ apresenta estabilidade limitada devido à fácil reação de desproporcionamento intermolecular, como demonstrado na Figura 46. Na reação de desproporção, duas reduções ocorrem, sendo estas no centro metálico ($Ru^{III} \rightarrow Ru^{II}$) e no fragmento ($Ru-NO^+ \rightarrow Ru-NO^0$), fato responsável pelo aparecimento de processos centrados no grupo NO (3,4) / (5,6) Figura 45 (a) segunda varredura.

Desta forma como mencionado, o complexo $cis-[Ru^{III}(Cl)(NO_2)(4,4'-Mebipy)_2]^{2+}$ dá origem a novos compostos contendo os fragmentos $Ru^{II}-NO^+ \rightarrow Ru^{II}-NO^0$ (3,4) e o par redox ($Ru^{II}-NO^0 \rightarrow Ru^{II}-NO^-$) Figura 45 (b), além do processo em aproximadamente 630 mV característico de $Ru^{II}-NO_3$ (7) (BARBOSA, 2012; NAGAO, et al., 1994;). Os processos (8/9) da Figura 45 (a) são decorrentes da coordenação da acetonitrila, após a saída do óxido nítrico.

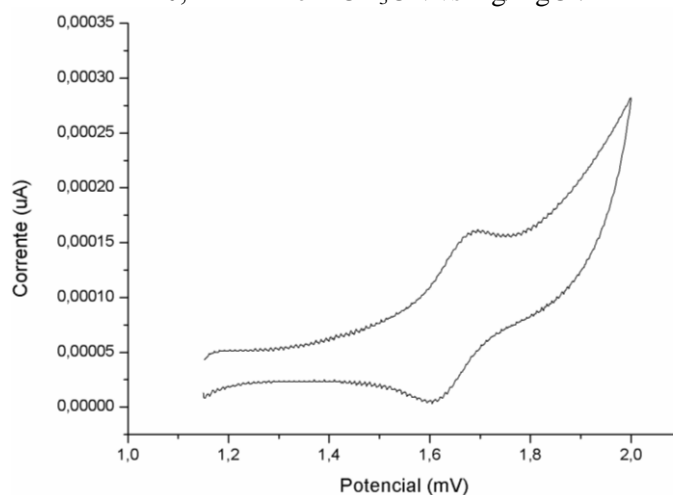
Figura 46 - Representação da equação demonstrando a obtenção de nitrito e nitrosilo complexos.



Fonte: NAGAO, 1994. Adaptada

Em contrapartida, o complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_3)(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$, voltamograma cíclico ilustrado na Figura 47, apresentou um processo quasi-reversível ($i_{pa}/i_{pc} = 1,04$), com valores de E_{pa} e E_{pc} de 1670 e 1610 mV, respectivamente. Este processo pode ser atribuído ao par redox $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$.

Figura 47 - Voltametria do complexo (4) eletrólito PTBA $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ em CH_3CN vs Ag/AgCl .

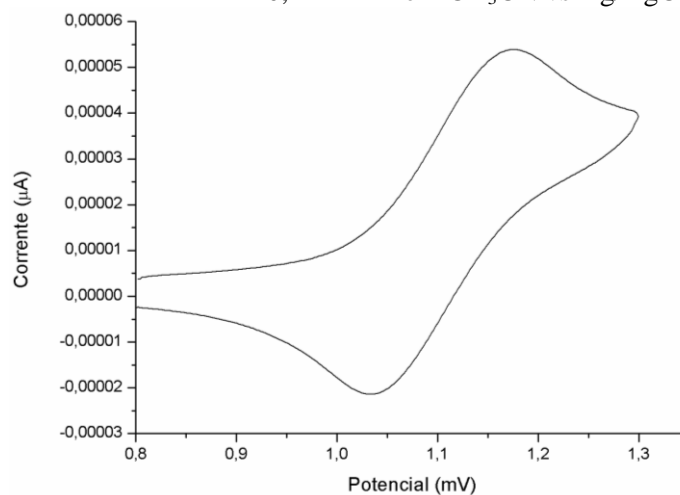


Fonte: Do Autor

Os compostos (5 e 6) apresentam comportamento eletroquímico muito semelhante e um voltamograma representativo é disposto na Figura 48. O aumento de potencial de oxidação para os compostos sintetizados em relação ao precursor deve-se a troca do átomo de cloro, que é um ligante σ/π doador, por um ligante π receptor (piridina ou 4-picolina). Essa substituição faz com que ocorra uma diminuição da

densidade eletrônica do centro metálico, logo um maior potencial é requerido para promover a oxidação do mesmo.

Figura 48 - Voltametria do complexo (6), eletrólito PTBA 0,1 mol·L⁻¹ em CH₃CN vs Ag/AgCl.



Fonte: Do autor.

5.9 Análise Elementar

O teor de carbono, hidrogênio e nitrogênio dos complexos sintetizados foram determinados e encontram-se expostos na Tabela 13, os quais confirmam as formulações propostas.

Tabela 13 - Composição centesimal dos complexos sintetizados

Complexos		Composição Centesimal		
		%C	%H	%N
C ₄₁ H ₄₀ ClF ₆ N ₂ OP ₃ Ru	(1)	53,10/(53,40)	4,41/(4,59)	2,95/(3,04)
C ₄₀ H ₄₀ ClF ₁₂ N ₃ OP ₄ Ru	(2)	44,81/(44,93)	4,02/(3,96)	3,86/(3,93)
C ₄₀ H ₄₀ ClN ₃ O ₂ P ₂ Ru	(3)	60,29/(60,41)	5,40/(5,32)	5,17/(5,28)
C ₄₀ H ₄₀ F ₆ N ₃ O ₃ P ₃ Ru	(4)	52,29/(52,18)	4,55/(4,60)	4,49/(4,56)
C ₄₅ H ₄₅ ClF ₆ N ₃ P ₃ Ru	(5)	54,95/(55,53)	5,05/(4,87)	4,30/(4,32)
C ₄₆ H ₄₇ ClF ₆ N ₃ P ₃ Ru	(6)	55,65/(55,96)	5,12/(5,00)	4,75/(4,26)

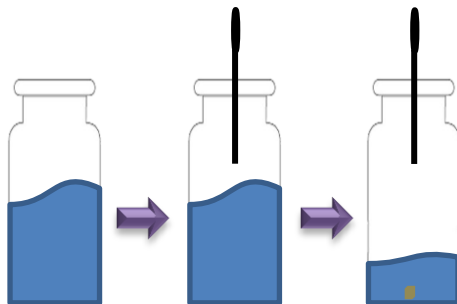
Fonte: Do Autor

*Entre parênteses são os dados teóricos

5.10 Difração de Raios X por Monocristal

A fim de se obter monocristais com tamanho e morfologia adequados para o experimento de DRXM diversas técnicas de recristalização foram utilizadas, dentre elas destaca-se a evaporação lenta de solvente que consiste em solubilizar completamente o composto em uma quantidade mínima de solvente (neste trabalho diclorometano/metanol) a fim de se formar uma solução supersaturada. Na sequência lacra-se o recipiente, seguido de um pequeno furo de modo a deixar o solvente evaporar lentamente conforme mostrado na Figura 49 (CUNHA, 2008).

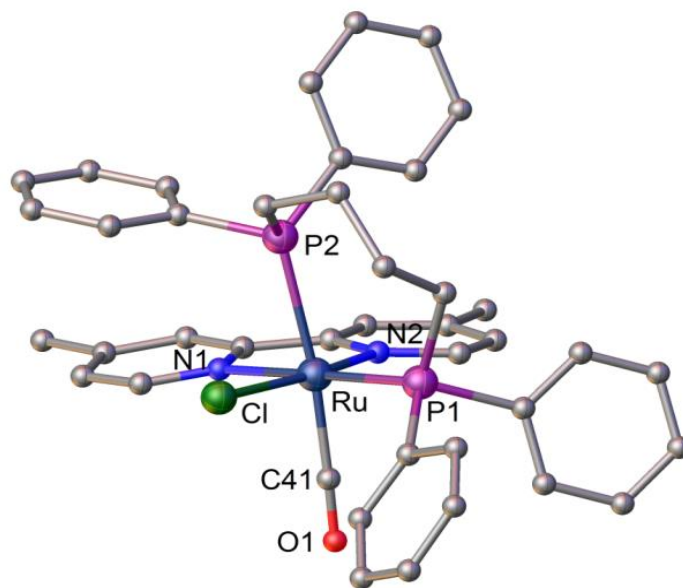
Figura 49 - Método de Lenta Evaporação do Solvente.



Fonte: CUNHA, 2008.

Esta técnica permitiu a obtenção de monocristais adequados para o complexo (1), que foram submetidos a experimentos de DRXM. Os dados cristalográficos e a representação estrutural realizada no software MERCURY estão dispostos nas Tabelas 14, 15 e Figura 50.

Figura 50 - Representação da estrutura cristalina do complexo (**1**).



Fonte: Do autor

A Figura 50 confirma que (**1**) é um complexo octaédrico com número de coordenação 6 contendo um cátion rutênio ligado aos átomos de fósforo P1 e P2 da dppb, do nitrogênio N1 e N2 da 4,4'-Mebipy, de um cloro Cl e a um átomo de carbono C41 do monóxido de carbono. Observa-se também que o grupo CO está em posição *cis* em relação ao átomo de cloro coordenado e em uma posição *trans* ao átomo de fósforo P2 da dppb. Portanto, como seria de se esperar considerando o precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(4,4-Mebipy)], confirmou-se que o CO substituiu o cloreto *trans* ao átomo de fósforo da dppb.

Tabela 14 - Dados Cristalográficos e refinamento estrutural do complexo (1)

Complexo	[RuCl(CO)(dppb)(4,4-Mebipy)]PF ₆
Fórmula Molecular	C ₄₁ H ₄₀ ClF ₆ N ₂ O ₁ P ₃ Ru ₁
Peso Molecular (g/mol)	920,18
Temperatura (k)	298(2)
Comprimento de onda (Å)	0,71073
Sistema Cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P 2 ₁ /c
Parâmetros de cela (Å)	a = 15,8945(6) b = 9,7551(3) c = 26,4444(9)
Volume (Å ³)	100,373(3) ^o 4033,3(2)
Z	4
Densidade (Mg/m ³)	1,515
Coefficiente de absorção (mm ⁻¹)	0,637
F(000)	1872
Intervalo θ da coleta de dados (°)	3,237 a 29,747 ^o
Limite de índices	-21<=h<=18, -11<=k<=13, -32<=l<=36
Reflexões coletadas	41365
Reflexões independentes	10158 [R(int) = 0,0444]
Completeza de θ (%)	99,8
Método de Refinamento	Mínimos quadrados de matriz completa
Dados / restrições / parâmetros	10158 / 34 / 477
Qualidade do ajuste	1,037
Índices R final [I>2sigma(I)]	R1 = 0,0667, wR2 = 0,1836
Índices R índices (todos os dados)	R1 = 0,0889, wR2 = 0,2010
Coefficiente de extinção	0,0000(4)
Maior diferença de pico (e.Å ⁻³)	1,475 and -1,211

Fonte: Do autor

Tabela 15 - Comprimento das ligações do complexo (**1**).

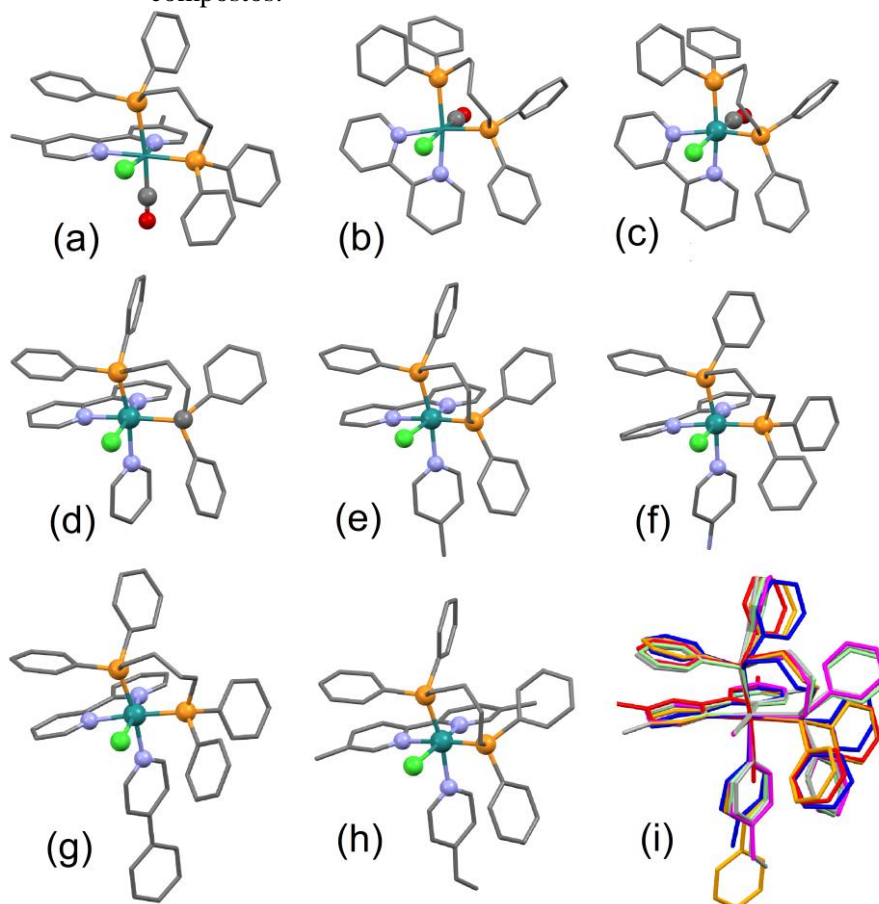
Comprimentos das ligações (Å)			
C41-Ru1	1,877(5)	N2-Ru1-N1	77,0(1)
N1-Ru1	2,145(4)	C41-Ru1-P1	90,0(2)
N2-Ru1	2,115(4)	N2-Ru1-P1	103,1(1)
P1-Ru1	2,358(1)	C41-Ru1-Cl1	94,4(2)
P2-Ru1	2,516(1)	N1-Ru1-Cl1	91,5(1)
Cl1-Ru1	2,407(1)	P1-Ru1-Cl1	88,42(4)
O1-C41-Ru1	175,6(4)	N1-Ru1-P2	86,1(1)
C41-Ru1-N2	86,3(2)	P1-Ru1-P2	94,71(4)
C41-Ru1-N1	89,2(2)	Cl1-Ru1-P2	81,95(4)
N2-Ru1-P2	96,3(1)		

Fonte: Do autor.

Observando os comprimentos das ligações na Tabela 15, nota-se que ao compararmos a distância das ligações P1-Ru1(2,358) e P2-Ru1 (2,516) ocorre uma diferença, que pode ser explicado pela ação do efeito Jahn-Teller na estrutura do complexo causando assim uma distorção no eixo z.

É interessante perceber que a orientação *cis-trans* do ligante CO na esfera de coordenação do complexo (**1**) (Figura 51-(a)) é igual à observada em estruturas análogas encontradas na literatura (Figura 51- (d)-(h)) contendo como ligante bidentado a 2,2'-bipiridina ou 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina e como ligante monodentado a piridina ou 4-metilpiridina ou 4-amino-piridina ou 4-vinilpiridina ou 4-fenilpiridina ao invés do CO (BARBOSA, et al., 2010; FERREIRA, et al., 2014; PAVAN, et al., 2012; ROMUALDO, et al., 2008). Além disso, a geometria de todos os compostos de fórmula geral [RuCl(L)(dppb)(diamina)] contendo L *cis* em relação ao cloreto e *trans* em relação ao fósforo da dppb, são muito similares, isso se torna mais evidente quando observa-se a Figura 51 (i) que mostra a sobreposição do o átomo de Ru e os 6 átomos coordenados a ele. A geometria de (**1**) também pode ser comparada com seus análogos reportados na literatura que contém como ligantes a 2,2'-bipyridina e CO (Figura 54(b) e 54(c)) (BARBOSA, et al., 2010).

Figura 51 - Representação de complexos de rutênio análogos contendo cloreto/fosfina/diimina e como ligante monodentado (a) CO cis a cloreto (1), (b) e (c) CO trans a cloreto (códigos CCDC: BUZXUQ e BUZYAX), (d) piridina (código CCDC: BUZYIF), (e) 4-metilpiridina (código CCDC : QISXUM), (f) 4-amio-piridina (código CCDC: BUZYOL), (g) 4-vinilpiridina (código CCDC : FOCDEI) e (h) 4-fenilpiridina (código CCDC: LUNVIA), (i) sobreposição geométrica dos compostos.



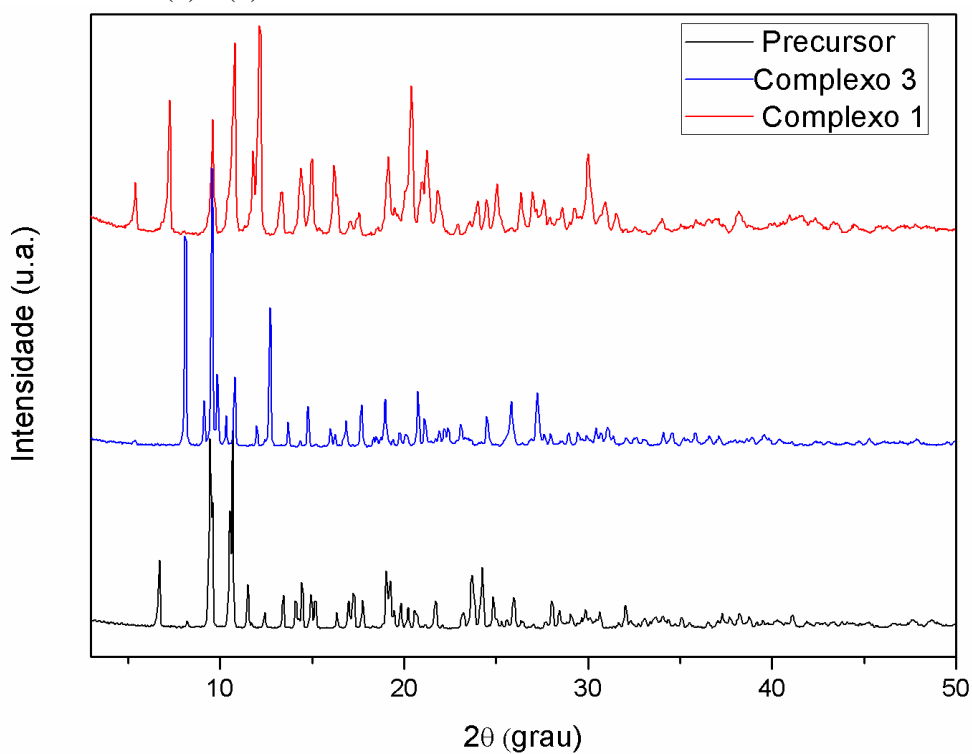
Fonte: (BARBOSA, et al., 2010; FERREIRA, et al., 2014; PAVAN, et al., 2012; ROMUALDO, et al., 2008), adaptada.

5.11 Difração de Raios X por Policristal(DRXP)

A técnica de DRXP foi utilizada nesse trabalho a fim de verificar a cristalinidade dos compostos obtidos bem como obter informações da pureza cristalográfica dos mesmos. Observando a Figura 52 verifica-se que o precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(4,4'-Mebipy)] e os complexos (1 e 3) apresentaram picos de difração bem definidos e sem presença de halos amorfos, fato que caracteriza a formação de um

sólido cristalino. Além disso, podemos notar que os difratogramas dos complexos **1** e **3** possuem picos que não são comuns ao difratograma do precursor o que fornece um indício da formação dos compostos.

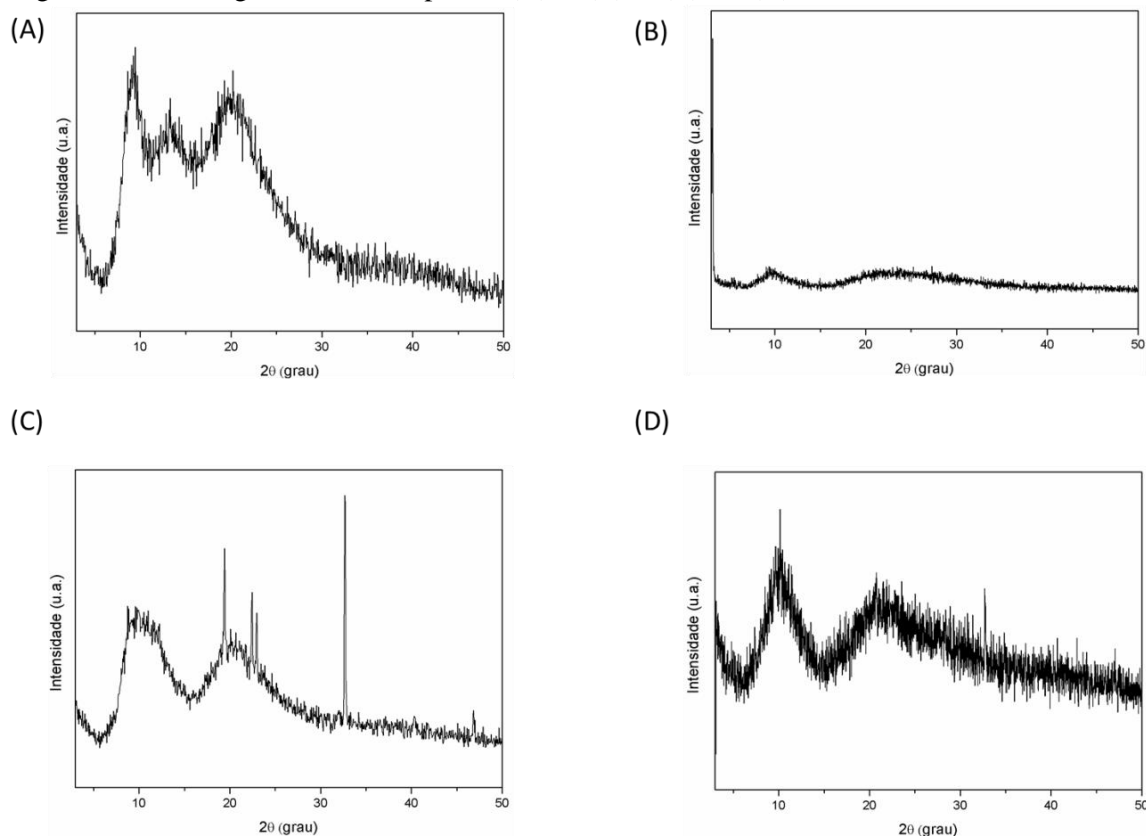
Figura 52 - Difratogramas experimentais para o precursor e para os complexos **(1)** e **(3)**.



Fonte: Do autor

Para os demais complexos sintetizados foram obtidos difratogramas (Figura 53 (A)-(D)) com picos alargados característicos de materiais amorfos. Tais resultados sugerem a falta de ordenação dos átomos a curto alcance, o que explicaria a dificuldade de obtenção de cristais para os demais compostos e impossibilitando qualquer afirmação sobre a pureza cristalográfica dos mesmos.

Figura 53 - Difratomogramas dos complexos (A) 2, (B) 4, (C) 5 e (D) 6



Fonte: Do autor

5.12 Estudos de citotoxicidade

A avaliação da citotoxicidade foi realizada para o precursor e todos os complexos sintetizados na linhagem de HepG2 (hepatocarcinoma humano) e CCD-1029Sk (fibroblasto normal). Os valores de IC_{50} entram-se na Tabela 16 e foram obtidos a partir de curvas de dose-sobrevivência realizadas após 48h de tratamento com os compostos por meio de ensaios de viabilidade do tipo MTS.

Tabela 16 - Índices de seletividade (IS) e valores de IC₅₀ para as linhagens de hepatocarcinoma humano (Hep G2) e fibroblasto normal (CCD-1029Sk).

Compostos	CCD-1029Sk	Hep G2	IS*
Precursor	-	92,66 ± 1,71	-
(1)	< 5,00	3,55 ± 0,55	1,4
(2)	43,50 ± 1,38	38,41 ± 1,56	1,14
(3)	111,9 ± 3,19	83,82 ± 2,14	1,33
(4)	63,70 ± 2,09	49,35 ± 0,61	1,29
(5)	27,18 ± 1,65	29,69 ± 2,81	0,93
(6)	7,55 ± 0,85	40,30 ± 2,85	0,18
Cisplatina	77,41 ± 2,09	38,5 ± 1,5	2,01

Fonte: Do autor.

Define-se IC₅₀ como a quantidade de princípio ativo necessária para eliminar 50% das linhagens analisadas, nesse caso linhagens de hepatocarcinoma humano (SILVA, 2015). Sabe-se que quanto menor o valor de IC₅₀ de determinado composto, maior é a atividade antitumoral deste frente à linhagem celular avaliada, valores inferiores ao composto de referência (normalmente a cisplatina) geralmente são selecionados para testes *in vivo* (SILVA, 2015).

Dessa forma observa-se que todos os complexos sintetizados (Tabela 23) apresentaram IC₅₀ inferiores ao precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(4,4'-Mebipy)] (92,66 µM), indicando que a troca de ligantes promoveu uma melhora significativa na atividade antitumoral, impulsionando-nos à avaliação destes frente à biomoléculas como o DNA e Albumina de soro humana – HSA.

Vale ressaltar que os compostos (1 e 2) que contém CO e NO⁻ como ligantes, apresentaram valores IC₅₀ frente à células Hep G2 inferiores ao observado para o cisplatina, demonstrando atividades muito promissoras.

Para estudar a citotoxicidade dos complexos em células saudáveis e calcular o Índice de Seletividade (IS) os compostos foram avaliados frente à linhagem CCD-1029Sk (fibroblasto normal).

O índice de seletividade (IS) é determinado pela relação dos valores obtidos de IC₅₀ para as linhagens celulares não tumorais e tumoral, indicando a seletividade dos complexos estudados e o seu potencial uso para os testes pré-clínicos *in vivo* e clínicos. O IS foi determinado para todos os complexos de rutênio (II) testados e para a cisplatina

a partir da seguinte fórmula: $IS = IC_{50}$ da célula não tumoral (CCD-1029Sk)/ IC_{50} da célula tumoral (Hep G2).

O IC_{50} do complexo (1), na linhagem Hep G2 é de $3,55 \pm 0,55 \mu\text{M}$, e o seu índice de seletividade próximo de 1, o que indica uma moderada seletividade. O composto (2) apresentou atividade semelhante à da cisplatina em células HepG2 e citotoxicidade moderada contra células CCD-1029Sk.

O complexo precursor $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]$ e o composto (4) apresentaram menor atividade que os demais contra células HepG2 e células CCD-1029Sk. Estes dados sugerem que a troca do ligante Cl^- do precursor pelos ligantes CO, NO, NO_3^- , piridina e 4-picolina tornaram o fragmento $[\text{RuCl}(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]^n$ mais citotóxico do que o composto neutro (3) e precursor, provavelmente devido à diferença de lipofilicidade que ainda será testada e consequente entrada nas células, promovido pelos novos compostos catiônicos.

5.13 Estudo de interação com DNA por espectroscopia UV-vis

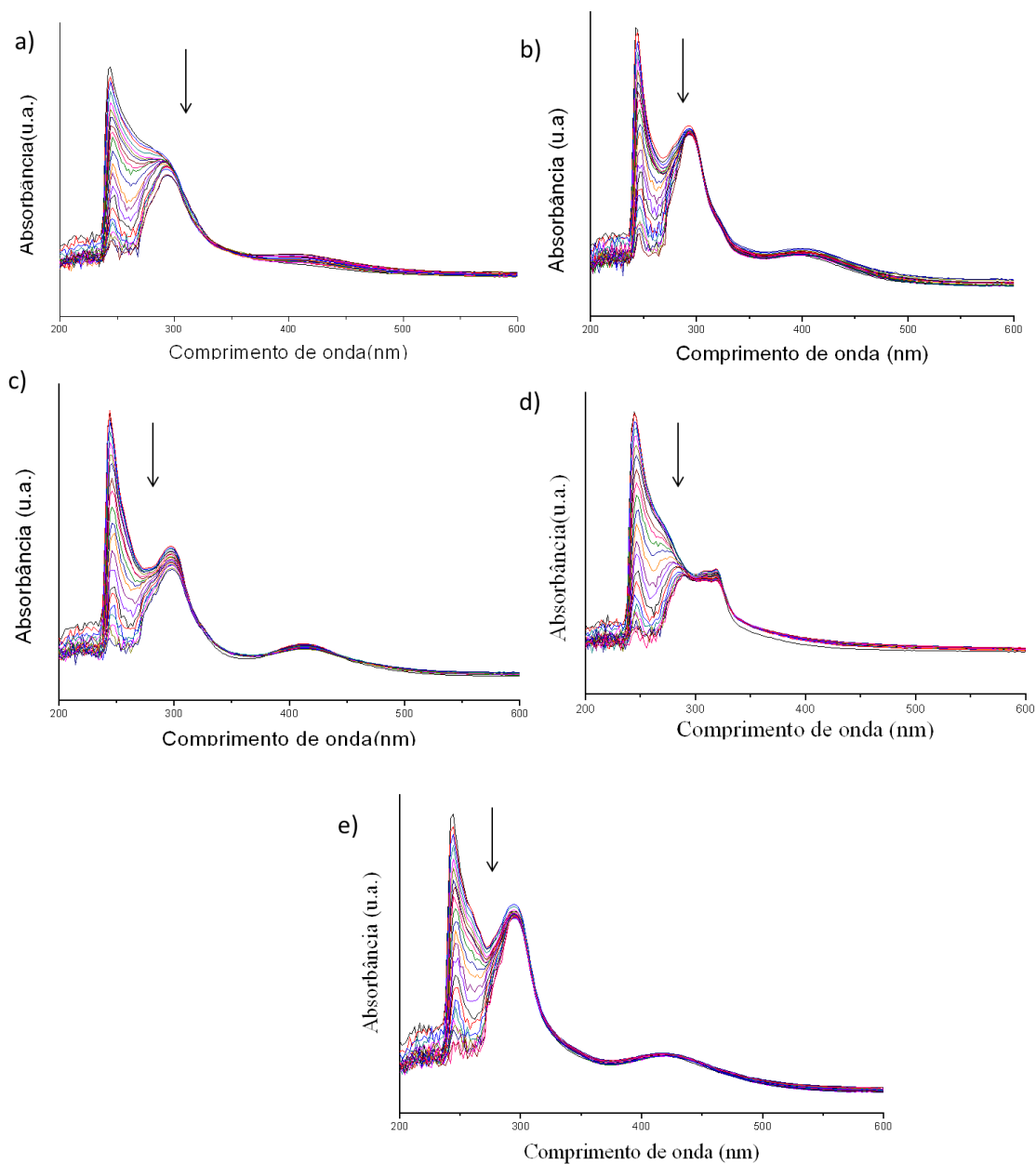
O DNA é uma das principais biomoléculas responsáveis pelas propriedades antitumorais de candidatos a fármacos. Alguns complexos de metais de transição possuem a capacidade de se ligar a molécula de DNA e dessa forma inibir o crescimento de células tumorais. Dessa forma com a finalidade de estudar a interação dos compostos sintetizados com o DNA foi realizado o experimento de titulação espectroscópica.

Esta técnica permite avaliar se os compostos sintetizados podem interagir com o DNA a partir do cálculo da constante de ligação K_b . Essa constante foi determinada empregando-se o modelo teórico de “*Exclusão dos vizinhos*” descrita pela equação 3, onde ϵ_a é o coeficiente de extinção aparente, que corresponde à razão entre a absorbância medida e a concentração do composto ($A/[\text{Composto}]$), ϵ_f é a absorvidade molar do composto livre (sem adição de DNA); ϵ_b é a absorvidade molar do composto ligado ao DNA e K_b é a constante de ligação (GOUVEIA, et al., 2012).

<p>Equação 3</p> $\frac{[DNA]}{\epsilon_a - \epsilon_f} = \frac{[DNA]}{\epsilon_b - \epsilon_f} + \frac{1}{[K_b(\epsilon_b - \epsilon_f)]}$
--

Para todos os compostos analisados pode-se notar a diminuição da absorvância (hipocromismo) após adições sucessivas de DNA-ct nas soluções, conforme observado na Figura 54. Este fenômeno ocorre devido à intercalação do complexo ao DNA, onde o orbital π^* do composto intercalado pode acoplar ao orbital π dos pares de bases do DNA sendo dessa forma parcialmente preenchido por elétrons, gerando dessa maneira uma diminuição da energia de transição $\pi \longrightarrow \pi^*$ resultando no hipocromismo.

Figura 54 - Espectros das titulações espectroscópicas dos complexos: (A) = (2), (B) = (3), (C) = (4), (D) = (1), (E) = (5).



Fonte: Do Autor

A partir dos espectros eletrônicos obtidos e utilizando-se a equação derivada do modelo de “Exclusão dos vizinhos” calculou-se a constante de ligação K_b pela razão do coeficiente angular e coeficiente linear de um gráfico de $[DNA]/\epsilon a - \epsilon b$ versus $[DNA]$ (GOUVEIA, et al., 2012). Os valores obtidos e a porcentagem de hipocromismo para cada composto encontram-se resumidos na Tabela 17. Em virtude da região de transparência do solvente DMSO no comprimento de onda em torno de 244 nm que apresenta absorção comum a todos os complexos sintetizados e para não ocorrer interferências no experimento a constante de ligação (K_b) foi calculada para as demais bandas observadas em 294 e 400 nm.

Tabela 17 - Valores de constante de ligação (k_b) e porcentagem de hipocromismo (%H) dos compostos sintetizados.

244				
Complexos	K_b ($10^4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	% H	% H DNA	% H*
NO	1,00	7,39	82,65	75,26
NO_2	1,83	9,87	79,37	69,50
NO_3	1,92	13,36	85,77	72,41
CO	1,67	11,05	91,72	80,67
Piridina	1,32	14,35	81,08	66,73
294				
NO	$1,09 \times 10^4$	9,85	8,95	0,90
NO_2	$1,61 \times 10^4$	11,35	5,52	5,83
NO_3	$2,67 \times 10^4$	9,98	18,66	8,68
Piridina	$1,32 \times 10^4$	8,61	7,42	1,19
400				
NO	$5,83 \times 10^4$	7,15	39,47	32,32
NO_2	$4,22 \times 10^4$	10,51	18,28	7,77
NO_3	$5,84 \times 10^4$	11,55	15,64	4,09
Piridina	$5,88 \times 10^4$	11,66	11,12	0,54

Fonte: Do Autor

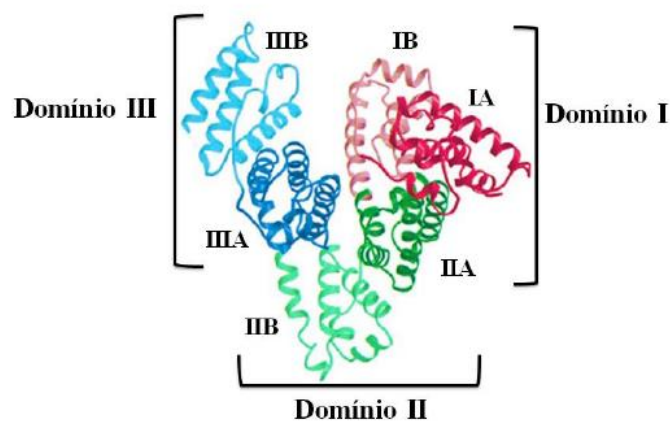
Analisando os valores de K_b obtidos nota-se que todos os valores são na ordem de $10^4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ e quando comparados ao K_b do brometo de etídio ($K_b = 10^6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$), uma

clássica molécula intercaladora com CT-DNA pode-se afirmar que a interação dos complexos ao DNA é intermediária.

5.14 Estudos de interação com albumina de soro humano (HSA)

A albumina de soro humano (HSA) é uma proteína monomérica globular composta por 585 aminoácidos (Figura 55) que possui como principal função a manutenção da pressão osmótica, pH sanguíneo e transporte de drogas e nutrientes pelo organismo, além de ser a proteína mais abundante no plasma sanguíneo (CHEN, et al., 2015).

Figura 55 - Estrutura da albumina de soro humano (HSA)

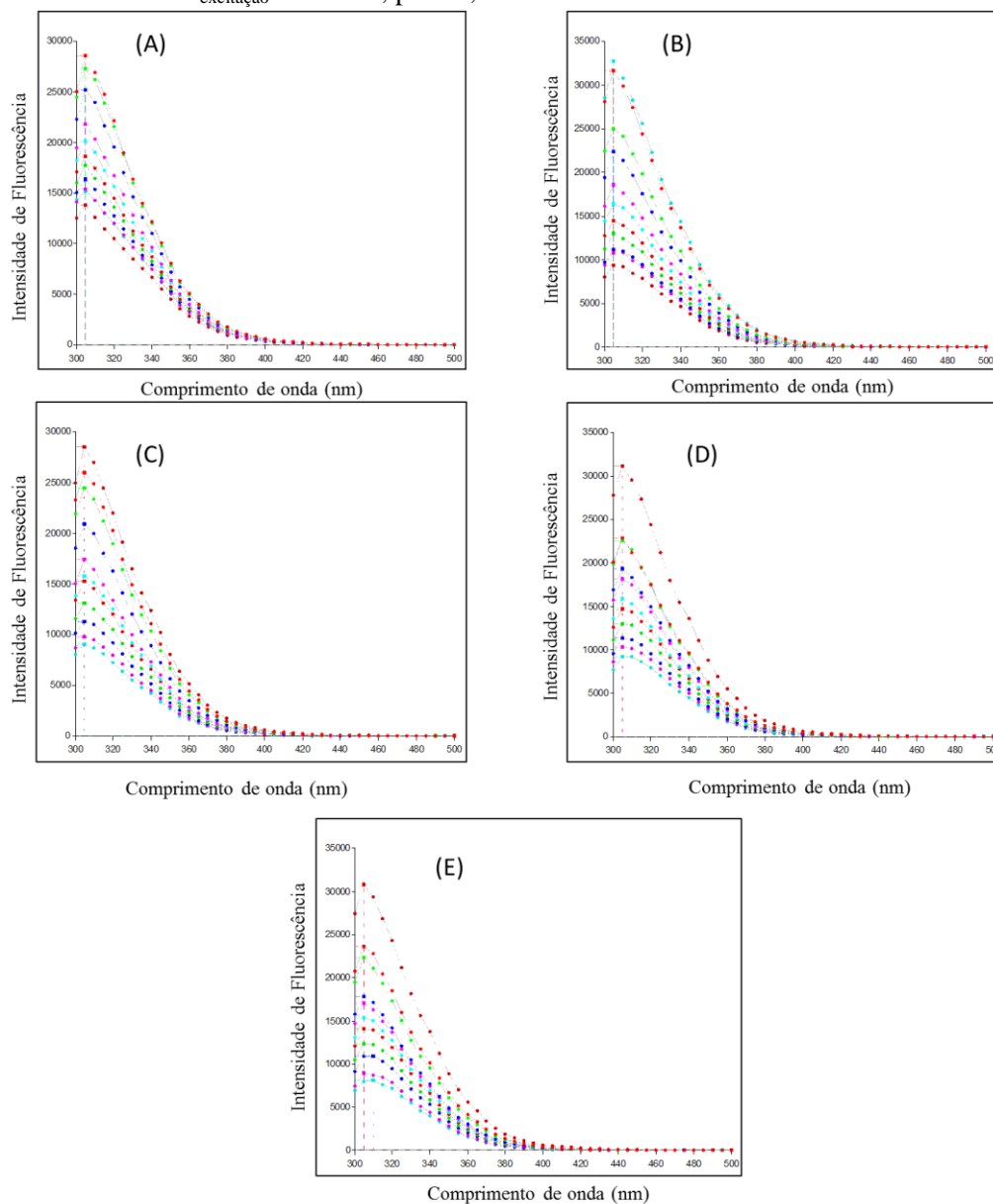


Fonte: BHATTACHARYA, 2000.

Sabe-se que certos compostos podem se ligar a esta proteína e resultar na redução ou melhoria das suas propriedades biológicas. Desta forma foram feitos estudos de interação dos compostos sintetizados com a albumina de soro humana a partir de do experimento de redução da fluorescência, já que soluções de HSA possuem uma forte emissão de fluorescência devido à presença de um resíduo de triptofano o Trp-214 (MORIYAMA, et al., 1996).

Os experimentos foram realizados por adições crescentes (0-50 μM) de soluções de compostos em soluções de HSA de concentração fixa (2,5 μM) nas temperaturas de 295 e 310 K, permitindo observar a redução da intensidade de fluorescência, conforme Figura 56.

Figura 56 - Espectros de emissão da HSA em concentrações crescentes dos compostos (A) = (1), (B) = (2), (C) = (3), (D) = (4) e (E) = (5), $\lambda_{\text{excitação}} = 270 \text{ nm}$, $\text{pH} = 7,4$ e $T = 310 \text{ K}$.



Fonte: Do autor

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram obtidos usando a equação de Stern-Volmer (Equação 4), onde F e F_0 são as fluorescências na presença e na ausência de supressor que em sistemas biológicos são compostos que causam a redução da intensidade de fluorescência em determinada espécie, $[Q]$ é a concentração do supressor e K_{sv} é a constante de supressão molecular de Stern-Volmer que é definida de acordo com a Equação 5, onde K_q é a constante de velocidade de supressão biomolecular e τ_0 é o tempo de vida médio de fluorescência na ausência de supressão que equivale a $6,2 \times 10^{-9} \text{ s}$.

$$\text{Equação 4} \quad \frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv} \cdot [Q]$$

$$\text{Equação 5} \quad K_q = \frac{K_{sv}}{\tau_0}$$

A supressão de fluorescência que um composto pode causar se deve a diferentes reações (rearranjo, supressão estática ou dinâmica). A supressão estática é caracterizada pela formação de um complexo entre o composto e o fluoróforo (molécula responsável pela fluorescência) que gera a redução do número de moléculas fluorescentes. Já a supressão dinâmica não gera nenhuma reação fotoquímica entre o supressor e o fluoróforo (LAKOWICZ, 2006).

Na Tabela 18 encontram-se os valores da constante de supressão molecular de Stern-Volmer (K_{sv}) dos compostos sintetizados, nela podemos observar que para todos os compostos ocorre um decréscimo do valor de K_{sv} com o aumento da temperatura, fornecendo um indício de mecanismo de supressão estático.

Tabela 18 - Valores obtidos para as constantes: de Stern-Volmer (K_{sv}), ligação (K_b), ligação biomolecular (K_q) e número de sítios de ligação (n) em $\lambda_{\text{excitação}} = 270 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{emissão}} = 305 \text{ nm}$, nas temperaturas de 298 e 310 K.

Complexos	Temperatura (K)	K_{sv} ($10^4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	K_q ($10^{13} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	K_b ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	n
NO	298	6,74	6,74	$2,70 \times 10^6$	1,37
	310	5,14	5,13	$9,37 \times 10^5$	1,30
NO ₂	298	5,28	5,28	$6,37 \times 10^5$	1,26
	310	4,50	4,50	$2,23 \times 10^6$	1,40
NO ₃	298	6,33	6,33	$6,12 \times 10^5$	1,24
	310	4,90	4,90	$1,44 \times 10^5$	1,12
CO	298	3,18	3,18	$1,34 \times 10^5$	1,19
	310	2,25	2,25	$8,51 \times 10^4$	1,13
Piridina	298	6,17	6,17	$3,41 \times 10^6$	1,39
	310	4,32	4,32	$2,11 \times 10^5$	1,15

Fonte: Do autor

Nesse experimento também foi possível obter os valores da constante de ligação (K_b) que em conjunto com a equação de van't Hoff (Equação 6) permitiu-se calcular os parâmetros termodinâmicos energia livre de Gibbs (ΔG°), variação de entalpia (ΔH°) e

variação de entropia (ΔS°). Tais parâmetros são primordiais para determinar o modo de ligação entre a albumina HSA e os complexos estudados, onde do ponto de vista termodinâmico, $\Delta H^\circ > 0$ e $\Delta S^\circ > 0$ sugerem uma interação hidrofóbica; $\Delta H^\circ < 0$ e $\Delta S^\circ < 0$ indicam forças de van der Waals atuantes ou formação de ligação de hidrogênio; e $\Delta H^\circ \approx 0$ e $\Delta S^\circ > 0$ reflete forças eletrostáticas (ROSS, 1981).

$$\text{Equação 6} \quad \ln K_b = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R}$$

Dessa maneira observando os resultados obtidos na Tabela 19, pode-se afirmar que a interação de todos os compostos analisados com a albumina HSA ocorre de maneira espontânea, já que o valor da energia livre de Gibbs é negativa ($\Delta G^\circ < 0$). Avaliando os valores de ΔH° e ΔS° notamos que os compostos (2), (4) e (5) apresentaram $\Delta H^\circ < 0$ e $\Delta S^\circ < 0$ indicando predominância de interações de van der Waals ou ligação de hidrogênio; já o composto (3) apresenta interações hidrofóbicas com a HSA ($\Delta H^\circ > 0$ e $\Delta S^\circ > 0$); curiosamente o complexo (1) exibe $\Delta H^\circ < 0$ e $\Delta S^\circ > 0$ o que pode indicar a formação de interação eletrostática.

Tabela 19 – Parâmetros termodinâmicos para os compostos estudados: energia livre de Gibbs (ΔG°), variação de entalpia (ΔH°) e variação de entropia (ΔS°).

Complexos	Temperatura (K)	ΔG° (KJmol ⁻¹)	ΔH° (KJmol ⁻¹)	ΔS° (Jmol ⁻¹)
(2)	298	-36,69	-67,67	-103,97
	310	-35,44		
(3)	298	-33,11	80,30	380,59
	310	-37,68		
(4)	298	-33,01	-92,64	-200,11
	310	-30,61		
(1)	298	-29,25	-29,01	0,80
	310	-29,26		
(5)	298	-37,27	-178,28	-473,2
	310	-31,59		

Fonte: Do autor.

6 CONCLUSÃO

Até o presente momento seis novos compostos supracitados de fórmula $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ (**1**), $[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})](\text{PF}_6)_2$ (**2**), $[\text{RuCl}(\text{NO}_2)(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]$ (**3**), $[\text{Ru}(\text{NO}_3)(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ (**4**), $[\text{RuCl}(\text{Py})(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ (**5**) e $[\text{RuCl}(4\text{Pic})(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ (**6**) foram sintetizados e caracterizados pelas técnicas usuais de caracterização de compostos inorgânicos. O composto (**1**) teve sua estrutura determinado pela técnica de difração de raios X por monocristal.

Os dados de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ foram importantes para a determinação estrutural assim como para determinação da estabilidade nas condições avaliadas. Os compostos com exceção do nitrosilo complexo, mostraram-se estáveis em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{DMSO}$ por 48 horas.

Os dados de condutividade molar, análise elementar e espectroscopia vibracional na região do infravermelho confirmam a formação de complexos neutros (**3**), eletrólito do tipo 1:1 (**1**, **4**, **5** e **6**) e do tipo 1:2 (**2**) confirmando a formulação dos complexos propostos.

Os dados de voltametria cíclica demonstram a liberação do CO e NO quando estes complexos são oxidados, formando solvato complexos. Além do mais no voltamograma do composto (**3**) foi possível observar os processos referentes ao fragmento Ru-NO^+ .

O complexo (**1**) apresentou valor de IC_{50} , na linhagem HepG2, de $3,55 \pm 0,55$ μM , e o seu índice de seletividade próximo de 1, o que indica uma moderada seletividade. O composto (**2**) apresentou atividade semelhante à da cisplatina em células HepG2 e citotoxicidade moderada contra células CCD-1029Sk.

O complexo precursor $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]$ e o composto (**4**) apresentaram menor atividade que os demais contra células HepG2 e células CCD-1029Sk. Estes dados sugerem que a troca do ligante Cl^- do precursor pelos ligantes CO, NO, NO_3^- , piridina e 4-picolina tornaram o fragmento $[\text{RuCl}(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]^n$ mais citotóxico do que os compostos neutros (**3**) e precursor, provavelmente devido à diferença de lipofilicidade e conseqüente entrada nas células, promovido pelos novos compostos catiônicos.

Na interação com o CT-DNA, analisando os valores de K_b nota-se que todos os valores são na ordem de 10^4 mol.L^{-1} e quando comparados ao K_b do brometo de etídio ($K_b = 10^6 \text{ mol.L}^{-1}$), uma clássica molécula intercaladora com CT-DNA pode-se afirmar que a interação dos complexos ao DNA é intermediária.

Pode-se afirmar que a interação de todos os compostos analisados com a albumina HSA ocorre de maneira espontânea, com afinidade moderada por meio de um mecanismo de quântico estático e os seus parâmetros termodinâmicos revelaram a predominância de interações hidrofóbicas com a proteína.

A não correlação da atividade antitumoral com os resultados obtidos com os estudos de interação com CT-DNA por titulação espectroscópica é indicio de que o DNA não seja o principal alvo biológico responsável pelas atividades apresentadas.

A interação dos complexos com a proteína HSA de um modo geral é intermediária, logo pode-se sugerir que os complexos podem apresentar uma distribuição *in vivo* para que sejam liberados.

Como etapas futuras pretende-se estudar com mais precisão os termogramas obtidos a fim de se determinar propostas mais plausíveis visto que é escasso tal assunto na literatura. Pretende-se utilizar mais técnicas de recristalizações a fim de se obter cristais adequados para os demais compostos, além de realizar mais estudos biológicos com os compostos mais promissores para aprimorar o artigo produzido.

REFERÊNCIAS

- ANDRIANI, K. F. et al. Ru–NO and Ru–NO₂ bonding linkage isomerism in *cis*-[Ru(NO)(NO)(bpy)₂]^{2+/+} complexes – a theoretical insight. **Dalton transactions**, Cambridge, v. 43, n. 23 p. 8792 – 8804, 2014.
- ANTONARAKIS, E. S.; EMADI, A. Ruthenium-based chemotherapeutics: are they ready for prime time. **Cancer Chemother Pharmacol**, Berlin, v. 48, n. 66, p. 1–9, 2010.
- BARBOSA, M. I. F. **Busca por Novos Metalofármacos Contra Doenças Negligenciadas (Malária, Doença de Chagas e Leishmaniose)**. 2012. 98f. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2012.
- BARBOSA, M. I. F. **Complexos carbonílicos de rutênio. De um gás tóxico a uma droga com potencial agente citotóxico**. 2007. 129f. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.
- BARBOSA, M. I. F. et al. On the synthesis and structures of the complexes [RuCl(L)(dppb)(N–N)]PF₆ (L = CO, py or 4-NH₂py; dppb = 1,4-bis(diphenylphosphino)butane; N–N = 2,20-bipyridine or 1,10-phenanthroline) and [(dppb)(CO)Cl₂-Ru-pz-RuCl₂(CO)(dppb)](pz = pyrazine). **Polyhedron**, Universidade da Florida, v. 29, n. 11, p. 2297–2303, 2010.
- BARBOSA, M. I. F. et al. Ruthenium(II) complexes with hydroxypyridinecarboxylates: Screening potential metallodrugs against Mycobacterium tuberculosis. **Polyhedron**, Universidade da Florida, v.84, n. 8, p. 376–382, 2015.
- BARLTROP, J. A. et al. 5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4,5-dimethylthiazolyl)-3-(4-sulfophenyl)tetrazolium, inner salt (MTS) and related analogs of 3-(4,5-dimethylthiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reducing to purple water-soluble formazans As cell-viability indicators. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Londres, v. 1, n. 11, p. 611–614.
- BASTOS, T.M. et al. Nitro/Nitrosyl-Ruthenium Complexes Are Potent and Selective Anti-Trypanosoma cruzi Agents Causing Autophagy and Necrotic parasite Death. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 58, n. 10, p. 6044-6055, 2014.

BERGAMO, A. et al. Approaching tumour therapy beyond platinum drugs Status of the art and perspectives of ruthenium drug candidates. **Journal of Inorganic Biochemistry**, Universidade da Carolina do Sul v.106, n. 1, p. 90-99, 2012.

BHATTACHARYA, A. A.; CURRY, S.; FRANKS, N. P. Binding of the general anesthetics propofol and halothane to human sérum albumin. **Journal of Biological Chemistry**, Maryland, v. 275, n. 49, p. 38731-38738, 2000.

BRABEC, V.; NOVAKOVA, O. DNA binding mode of ruthenium complexes and relationship to tumor cell toxicity. **Drug Resistance Updates**, Alemanha, v. 9, n. 3, p. 111-122, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer - INCA. **O que é o câncer?** 2014. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322>. Acesso em: 10 fev. 2016.

BRESSAN, M; RIGO, P. Five-coordinate complex of ruthenium (II) with di(tertiary phosphines). **Inorganic Chemistry**, Washington, v. 14, n. 9, p. 2286-2288, 1976.

CARAMORI, G. F. et al. Ruthenium nitrosyl complexes containing pyridine-functionalized carbenes - A theoretical insight. **Journal of Organometallic Chemistry**, Universidade de Yale, v. 799, n. 15, p. 54-60, 2015.

CARNIZELLO, A. P. et al. *Invitro* and *in vivo* antitumor activity of a novel carbonyl ruthenium compound, the ct -[RuCl(CO)(dppb)(bipy)]PF₆-[dppb = 1,4-bis(diphenylphosphine)butane and bipy = 2,2'-bipyridine]. **Journal of Inorganic Biochemistry**, Maryland, v.164, n. 1, p. 42-48, 2016.

CHATTERJEE, S. et al. The ruthenium(II)-arene compound RAPTA-C induces apoptosis in EAC cells through mitochondrial and p53-JNK pathways. **Journal of Inorganic Biochemistry**, Maryland, v. 13, n. 7, p.1149-1155, 2008.

CHEN, T. et al. Interaction between Z-ligustilide from Radix Angelica sinensis and human serum albumin. **Food Chemistry**, Universidade de Reading v. 186, n. 1, p. 292-297, 2015.

CLARK, J. E. et al. Cardioprotective Actions by a Water-Soluble Carbon Monoxide-Releasing Molecule. **Circulation Research**, Universidade de Luisiana, v. 93, n. 2, p. 1-7, 2003.

CRYALIS CCD and CrysAlis Red, Version 171.32.6, Oxford Diffraction **Poland, Wrocław**, Poland, 2006.

CUNHA, S. Métodos simples de formação de monocristais de substâncias orgânicas para estudo estrutural por difração de raio-X. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 906-909, 2008

DATTA, P. et al. Structure, photophysics, electrochemistry, DFT calculation, and in-vitro antioxidante activity of coumarin Schiff base complexes of Group 6 metal carbonyls. **Journal of Inorganic Biochemistry**, Maryland, v. 105, n. 4, p. 577-588, 2011.

DEB, B. et al. Synthesis, characterisation and thermal studies of ruthenium(II) carbonyl complexes of functionalised tripodal phosphine chalcogen donor ligands, $[\text{CH}_3\text{C}(\text{CH}_2\text{P}(\text{X})\text{Ph}_2)_3]$, where X = Se, S, O. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, Inglaterra, v. 72, n. 2, p. 339-342, 2009.

DUTTA, A.K. et al. Iron (III) complexes of 2-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)phenol and acetate or nitrate as catalysts for epoxidation of olefins with hydrogen peroxide. **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam v. 1115, n. 1, p. 207-213, 2016.

FARRUGIA, L. J. ORTEP-3 for Windows- a version of ORTEP- III with a Graphical User Interface (GUI). **Journal Applied Crystallography**, Copenhagen, v. 30, n. 1, p. 565-568, 1997.

FARRUGIA, L. J. WinGX and ORTEP for Windows: an update. **Journal Applied Crystallography**, Copenhagen, v. 45, n. 3, p. 849-854, 2012.

FERREIRA, V.F. et al. Influence of gold nanoparticles applied to catalytic hydrogenation of acetophenone with cationic complexes containing ruthenium. **Polyhedron**, Universidade da Florida, v. 78, n. 58-62, p. 46, 2014.

FINK, G. S. Arene ruthenium complexes as anticancer agents. **Dalton Transactions**, Cambridge, v. 39, n. 7, p. 1673-1688, 2010.

FORESTI, R. et al. Vaso active properties of CORM-3, a novel water-soluble carbon monoxide-releasing molecule. **Journal of Pharmacology**, Amsterdam, v. 142, n. 3 p. 453-460, 2004.

FRICKER, S. P. Metal based drugs: from serendipity to design. **Dalton transactions**, Cambridge, v.48, n. 43, p. 4903–4917, 2007.

FU, X. B. et al. A new ternary copper(II) complex derived from 2-(2'-pyridyl)benzimidazole and glycylglycine: Synthesis, characterization, DNA binding and cleavage, antioxidation and HSA interaction. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, Inglaterra, v. 122, n. 1, p. 22–23, 2014.

GAO, Y. The multiple actions of NO. **European Journal of Physiology**, Berlin, v.459, n. 6, p. 829-839, 2010.

GARISTO, F. Thermodynamic behaviour of Ruthenium at high temperatures. [s.l: s.n.].

GEARY, W. J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v.7, n. 1, p.81-122, 1971.

GICHUMBI, J. M.; FRIEDRICH, H. B.; OMONDI, B. Synthesis and characterization of piano-stool ruthenium complexes with N,N' -pyridine imine bidentate ligands and their application in styrene oxidation. **Journal of Organometallic Chemistry**, Suíça, v. 808, n. 5, p.87-96, 2016.

GODWIN, J. B.; MEYER, T. J. The preparation of ruthenium nitrosyl complexes containing 2,2' – bipyridine and 1,10-phenanthroline. **Inorganic Chemistry**, Washington, v.10, n. 3, p.471-174, 1971.

GOLFETO, C. C. et al. Synthesis, characterization and cytotoxic activities of the [RuCl₂(NO)(dppp)(L)]PF₆ complexes. **Journal Inorganic Biochemistry**, Maryland, v. 104, n. 5, p. 489-495, 2010.

GONG, Y. et al. Toxicity, bio-distribution and metabolism of CO-releasing molecules based on cobalto. **Free Radical Biology and Medicine**, Nova York, v. 97, n. 1, p. 362-374, 2016.

GOUVEA, L. R. et al. Atypical fluoroquinolone gold (II) chelates as potencial anticâncer agentes: relevance of DNA and protein interactions for their mechanism of action. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 55, n. 1, p 67-73, 2012.

GRAU, J. et al. New π -arene ruthenium (II) piano-stool complexes with nitrogen ligands. **Journal of Inorganic Biochemistry**, Maryland, v. 109, n. 1, p. 72 – 81, 2012.

GROZAV, A. et al. Acute toxicity evaluation of a thiazolo arene ruthenium (II) complex in rats. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, Nova York, v. 80, n. 1, p. 233-240, 2016.

HEINRICH, T. A. et. al. A new nitrosyl ruthenium complex: Synthesis, chemical characterization, in vitro and in vivo antitumor activities and probable mechanism of action. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 46, n. 9, p. 3616-3622, 2011.

HIRST, D.G.; ROBSON, T., Nitric Oxide Physiology and Pathology. **Nitric Oxide**, Orlando, v. 704, n. 1, p. 1-13, 2011.

JÚNIOR, J. W. C. **Complexos Fosfínicos de Rutênio Contendo os Ligantes Nitro, Nitrosilo ou Piridinas, com Atividades Antitumorais e Antituberculose**. 2010. 130f. Dissertação (Mestrado em Química Inorgânica) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.

KAMATCHI, T. S. et al. Ruthenium(II) complexes of 2,2'-bipyridine-5,5'-dicarboxylic acid: Synthesis, structure, DNA binding, cytotoxicity and antioxidant activity. **Inorganica Chimica Acta**, Lausanne, v. 404, n. 1, p. 58-67, 2013.

KARIDI, K. et al. Syntheses characterization, in vitro antitumor activity, DNA-binding properties and electronic structure and electronicstructure (DFT) of the new complex cis-(Cl,Cl)[RuII(Cl₂(NO⁺)(terpy)]Cl. **Dalton Transactions**, Cambridge, v. 7, n.1, p. 1176-1185, 2005.

KETLE, S. F. A. **Physical Inorganic Chemistry – A Coordination Chemistry Approach**. 1. Ed. Oxford University Press: New edition, 1996.

KNYAZEV, A. V. et al. Synthesis, thermal analysis, IR spectrum and crystal structure of K₂Th₂(NO₃)₁₀.15H₂O. Structural evolution of thorium nitrate complexes. **Polyhedron**, Universidade da Florida, v. 117, n. 1, p. 600 – 603, 2016.

KOMOR, A. C.; BARTON, J. K. The path for metal complexes to a DNA target. **Chemical communications**, Universidade de Oxford, v. 49, n. 35, p. 3617–3630, 2013.

KOSTOVA, I. Ruthenium complexes as anticancer agents. **Current medicinal chemistry**, Países Baixos, v. 13, n. 9, p. 1085–1107, 2006.

KUHL, O. Phosphorus – **31 NMR Spectroscopy: A Concise Introduction for the Synthetic Organic and Organometallic Chemist**. 1 ed. Alemanha: Springer, 2008.

LAKOWICZ, J. R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. 3 ed. Singapore: Springer, 2006.

MACRAE, C. F. et al. Mercury CSD 2.0 - New Features for the Visualization and Investigation of Crystal Structures. **Journal of Applied Crystallography**, Copenhagen, v. 41, n. 3, p. 466-470, 2008.

MJOS, K. D.; ORVIG, C. Metallo drugs in medicinal inorganic chemistry. **Chemical reviews**, Estados Unidos, v. 114, n. 8, p. 4540–63, 2014.

MARMUR, J. Isolating DNA. **Journal of Molecular Biology**, v. 3, n. 36, p. 11–17, 1961.

MORIYAMA, Y. et al. Fluorescence behavior of tryptophan residues of bovine and human serum albumins in ionic surfactant solutions: a comparative study of the two and one tryptophan(s) of bovine and human albumins. **Journal Protein Chemistry**, Nova York, v. 15, n. 3, p. 265–272, 1996.

NAGAO, N. et al. Ligand nature of coordinated NO_2^- in the oxidation reaction of Ru(II) complexes, $[\text{Ru}(\text{NO}_2)(\text{OH}_2)(\text{py})_{4-2n}(\text{bpy})_n]^+$ ($n = 0, 1, 2$), and their related complexes. **Inorganica Chimica Acta**, Lausanne, v. 225, n. 2, p. 111 – 121, 1994.

NAIK, K. H.; ASHOK, N. RUTHENIUM METAL COMPLEXES AND THEIR BIOLOGICAL APPROACH-A SHORT REVIEW. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, Amsterdam, v. 5, n. 3, p. 758–773, 2014.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds: Parte B**. 5. ed., New York: Wiley-Interscience, 1997.

NASCIMENTO, F. B. **Estudos cinéticos e fotoquímicos de compostos de Ru(II) com ligantes bipyridínicos e bifosfínicos de fórmula geral cis-[RuCl₂(P-P)(N-N)] (P-P = bifosfinas e N-N = N-heterocíclicos bidentados)**. 2013. 191f. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2013.

OWENS, E. O. Endogenous carbon monoxide production in disease. **Clinical Biochemistry**, Estados Unidos, v. 43, n. 15, p. 1183-1188, 2010.

PANKEY, G., SABATH, L. Clinical Relevance of Bacteriostatic versus Bactericidal Mechanisms of Action in the Treatment of Gram- Positive Bacterial Infections. **Infectious Diseases Society of America**, Oxford, v. 38 n. 6, p. 846-870, 2004.

PAVAN, F. R. et al. Ruthenium(II) phosphine/diimine/picolinate complexes: Inorganic compounds as agents against tuberculosis. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v.46, n. 10, p. 5099-5177, 2012.

PERRIN, D. D et al. Purification of Laboratory Chemicals. 2 ed. New York: Pergamon Press, 1980.

PIKNOVA, B. et al. Nitrate as a source of nitrite and nitric oxide during exercise hyperemia in rat skeletal muscle. **Nitric Oxide**, Orlando, v. 55, n. 1, p.54- 61, 2016.

QUEIROZ, S. L. et al. The reactivity of five-coordinate Ru(II) (1,4-bis(diphenylphosphino)butane) complexes with the N-donor ligands: ammonia, pyridine, 4-substituted pyridines, 2,2'-bipyridine, bis(o-pyridyl)amine, 1,10-phenanthroline, 4,7- diphenylphenanthroline and ethylenediamine. **Inorganic Chemical Acta**, Suíça, v. 267, n. 2, p. 209- 215, 1998.

RAYNOR, J. B. On the formalism of treating the linear nitric oxide ligand as NO⁺ **Inorganica Chimica Acta**, Suíça, v. 6, n. 1, p. 347-348, 1972.

RODERIQUE, J. D. et al. A modern literature review of carbon monoxide poisoning theories, therapies, and potential targets for therapy advancement. **Toxicology**, Amsterdam v. 334, n. 1, p. 45-58, 2015.

RODRIGUES, C. et al. Ruthenium(III)/phosphine/pyridine complexes applied in the hydrogenation reactions of polar and apolar double bonds. **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v.1111, n. 1, p. 84–89.

ROMÃO, C.C. et al. Developing drug molecules for therapy with carbon monoxide. **Chemical Society Reviews**, Londres, v. 41, n. 9, p. 3571, 2012.

ROMUALDO, L. L. et al. Novel manganese (III) porphyrin containing peripheral “[RuCl(dppb)(X-bipy)]⁺” cations [dppb = 1,4-bis(diphenylphosphino)butane and X = –CH₃, –OMe, –Cl]. X-ray structure of the cis-[RuCl(dppb)(bipy)(4-Mepy)]PF₆ complex. **Polyhedron**, Universidade da Flórida, v. 27, n. 1, p. 53 – 58, 2008.

ROSS PD, S. S. Thermodynamics of protein association reactions: forces contributing to stability. **Biochemistry**, Estados Unidos, v. 26, n. 11, p. 3096–3102, 1981.

SAUAIA, G. S. **Liberação de óxido nítrico a partir de complexos mono e binucleares de rutênio: aspectos químicos e fotoquímicos**. 2005. 190f. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) – Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2005.

SCHIERZ, E. R. The decomposition of formic acid by sulfuric acid. **Journal of the American Chemical Society**, Estados Unidos, v. 55, n. 12, p. 4761-4764, 1933.

SERLI, B. et al. Coordination and release of NO by ruthenium-dimethylsulfoxide complexes – implications for antimetastases activity. **Coordination Chemistry Review**, Amsterdam, v. 245, n. 1, p. 73- 83, 2003.

SHELDRIK, G. M. A short history of SHELX. **Acta Crystallographica Section A: Foundations of Crystallography**, Inglaterra, v. 64, n. 1, p.112-122, 2008.

SHOHAYEB, S. M. et al. Synthesis, spectroscopic, DFT calculations and biological activity studies of ruthenium carbonyl complexes with 2-picolinic acid and a secondary ligand. **Journal of Molecular Structure**, Amsterdam, v. 1119, n. 1, p. 442-450, 2016.

SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W.; LANGFORD, C. H. **Inorganic Chemistry**. 3^oed. Guanabara: Koogan, 2008.

SILVA, A. K. **Complexos Heteroléticos de Ouro (III) como Potenciais Antitumorais e Anti – Trypanosoma cruzi**. 2015. 113f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica e inorgânica) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2015.

SILVERSTEIN, R. M; BASSLER, G. C; MORRIL, T. C. **Identificação Espectroscópica de Compostos Orgânicos**. 3. ed. Guanabara: Rio de Janeiro, 1987.

SIPKA, S. G. et. al. Ruthenium(II)–arene complexes with functionalized pyridines: Synthesis, characterization and cytotoxic activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v.45, n. 3, p. 1051-1058, 2010.

STEPHENSON, T.A; WILKINSON, G. New complexes of ruthenium (II) and (III) with triphenylphosphine triphenylarsine trichlorostannate pyridine and other ligands. **Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry**, Londres, v. 28, n. 4, p. 945-956, 1966.

STRINITZ, F. et al. Synthesis and characterization of heteroscorpionate-based manganese carbonyl complexes as CO-releasing molecules. **Tetrahedrom**, Inglaterra, v. 71, n. 19, p.2951-2954, 2015.

SUFFNESS, M., PEZZUTO, J. M. **Assays related to cancer drug discovery. In Methods in Plant Biochemistry**. 1. ed. Londres: Academic Press, 1991.

TENNYSON, A. G.; LIPPARD, S.J. Generation, translocation, and action of nitric oxide in living systems, **Chemistry and Biology**, Londres, v.18, n.10, p.1211-1220, 2011.

TFOUNI, E. et al. Biological activity of ruthenium nitrosyl complexes. **Nitric Oxide**, Orlando, v. 26, n.1, p. 38-53, 2012.

VALLE, E. M. A. et al. Driving forces in substitution reactions of octahedral complexes: the influence of the competitive effect. **Polyhedrom**, Universidade da Flórida, v. 28, n. 16, p.3473-3478, 2009.

VALLE, E. M. A. et al. On an accidental degeneracy in the $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR chemical shifts in ruthenium diphosphine complexes. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 807–812, 2008.

VIJAYAN, P. et al. Dissymmetric thiosemicarbazone ligands containing substituted aldehyde arm and their ruthenium(II) carbonyl complexes with $\text{PPh}_3/\text{AsPh}_3$ as ancillary ligands: Synthesis, structural characterization, DNA/BSA interaction and in vitro anticancer activity. **Journal of Organometallic Chemistry**, Suiça, v. 768, n. 1, p. 163-177, 2014.

WANG, R. Resurgence of carbon monoxide: an endogenous gaseous vasorelaxing factor. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, Canadá, v. 76, n. 1, p. 1-15, 1998.

WANG, P. G.; CAI, T. B.; TANIGUCHI, N. **Nitric Oxide Donors for Pharmaceutical and Biological Applications**. 1. ed. Estados Unidos: Wiley-vch, 2005.

WU, L.; WANG, R. Carbon Monoxide: Endogenous production, physiological functions and pharmacological applications. **Pharmacological Reviews**, Estados Unidos, v. 57, n. 4, p. 585-630, 2005.

ZAKI, M.; ARJMAND, F.; TABASSUM, S. Current and future potential of metallo drugs: Revisiting DNA-binding of metal containing molecules and their diverse mechanism of action. **Inorganica Chimica Acta**, Suíça v. 444, n. 1, p. 1-22.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Espectros de ressonância magnética nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, ^{13}C e ^1H , Espectroscopia de absorção na região do UV-vis e IV, do precursor e dos complexos sintetizados.

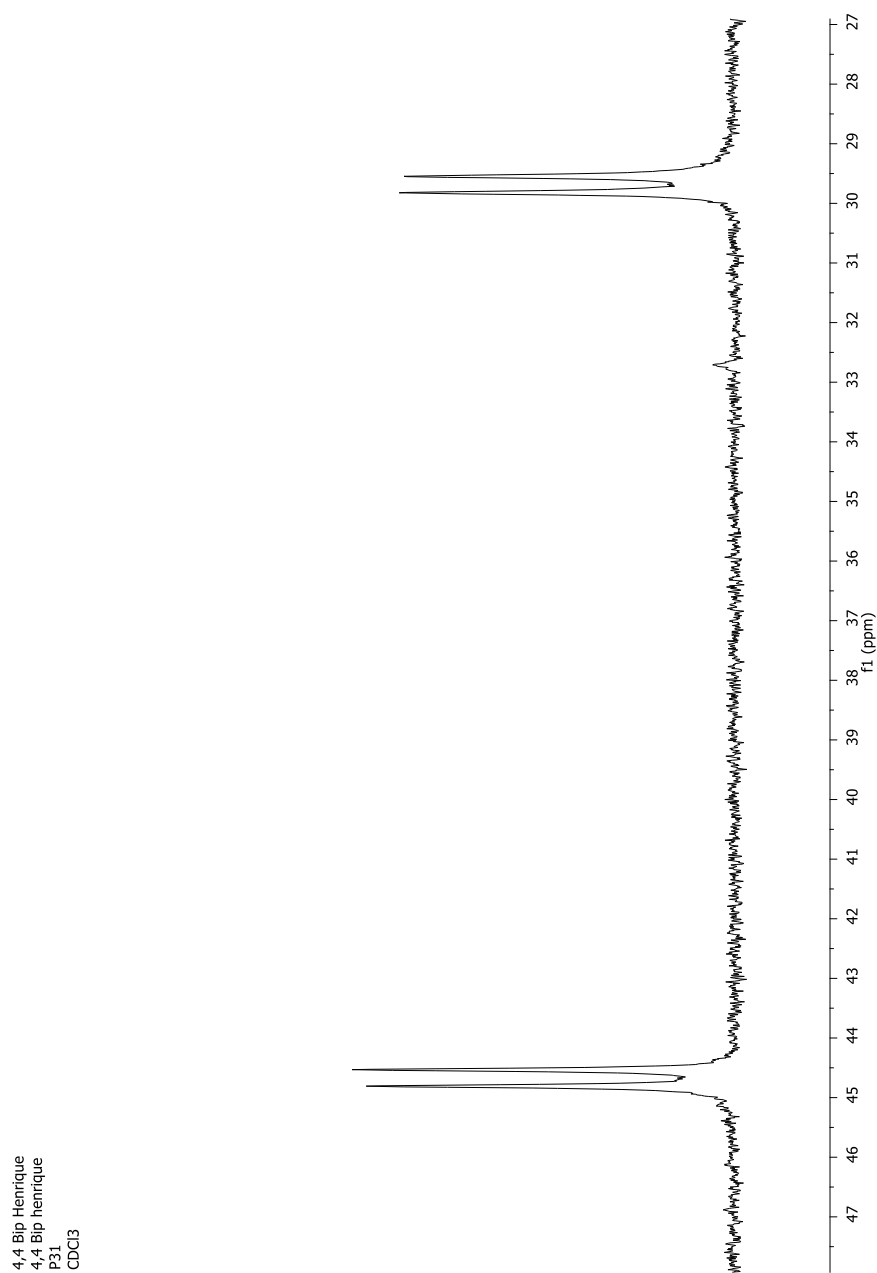


Figura 57A - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do precursor $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]$, em diclorometano.

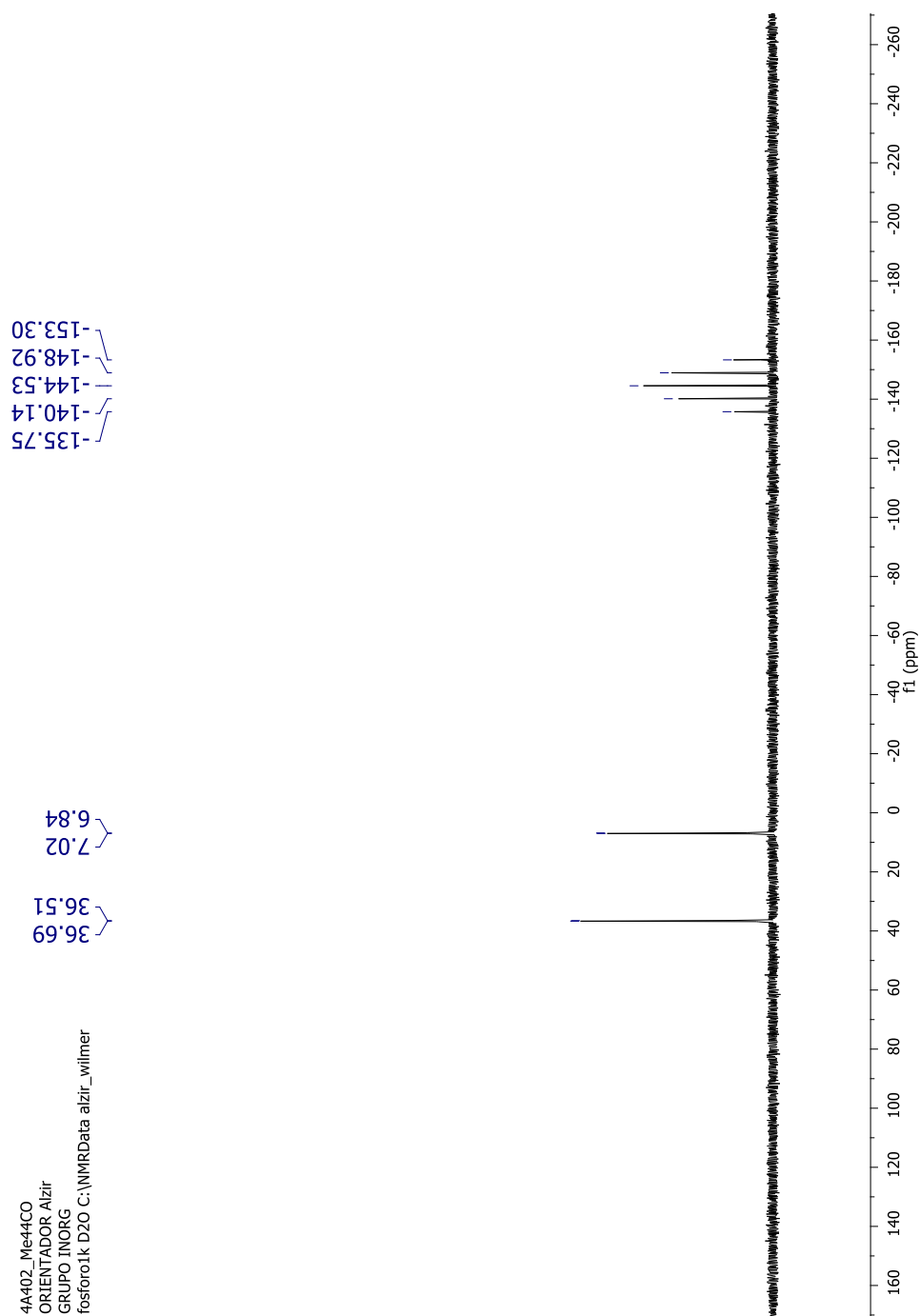


Figura 58A - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$, em diclorometano.

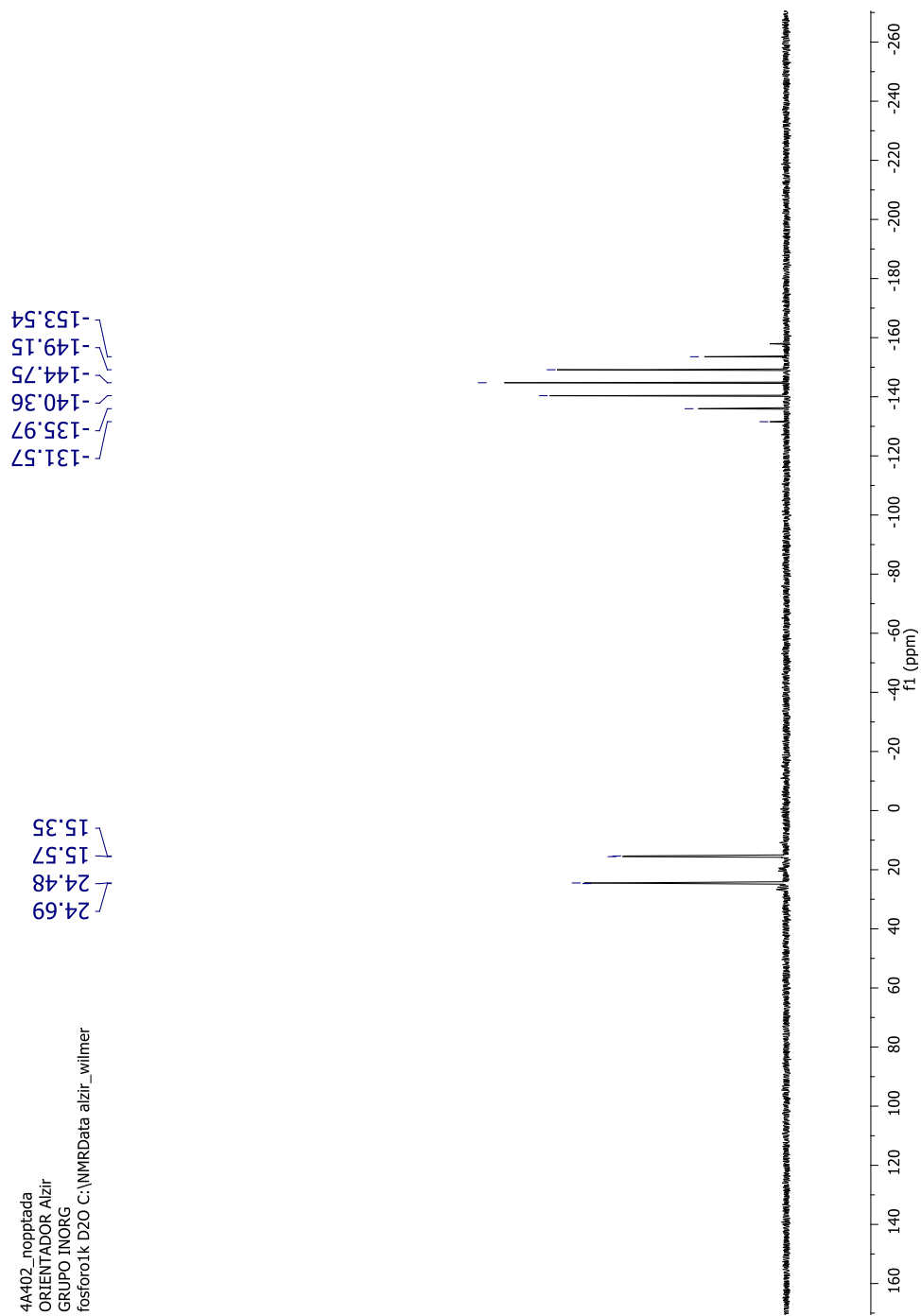


Figura 59A - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{RuCl}(\text{NO})(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})](\text{PF}_6)_2$, em diclorometano.

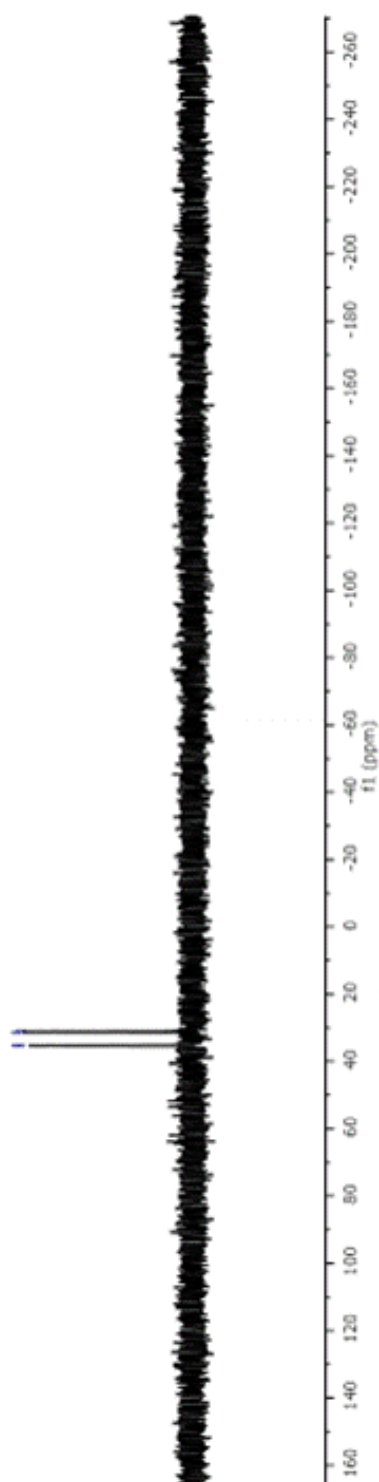


Figura 60A - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{RuCl}(\text{NO})_2(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]$, em diclorometano.

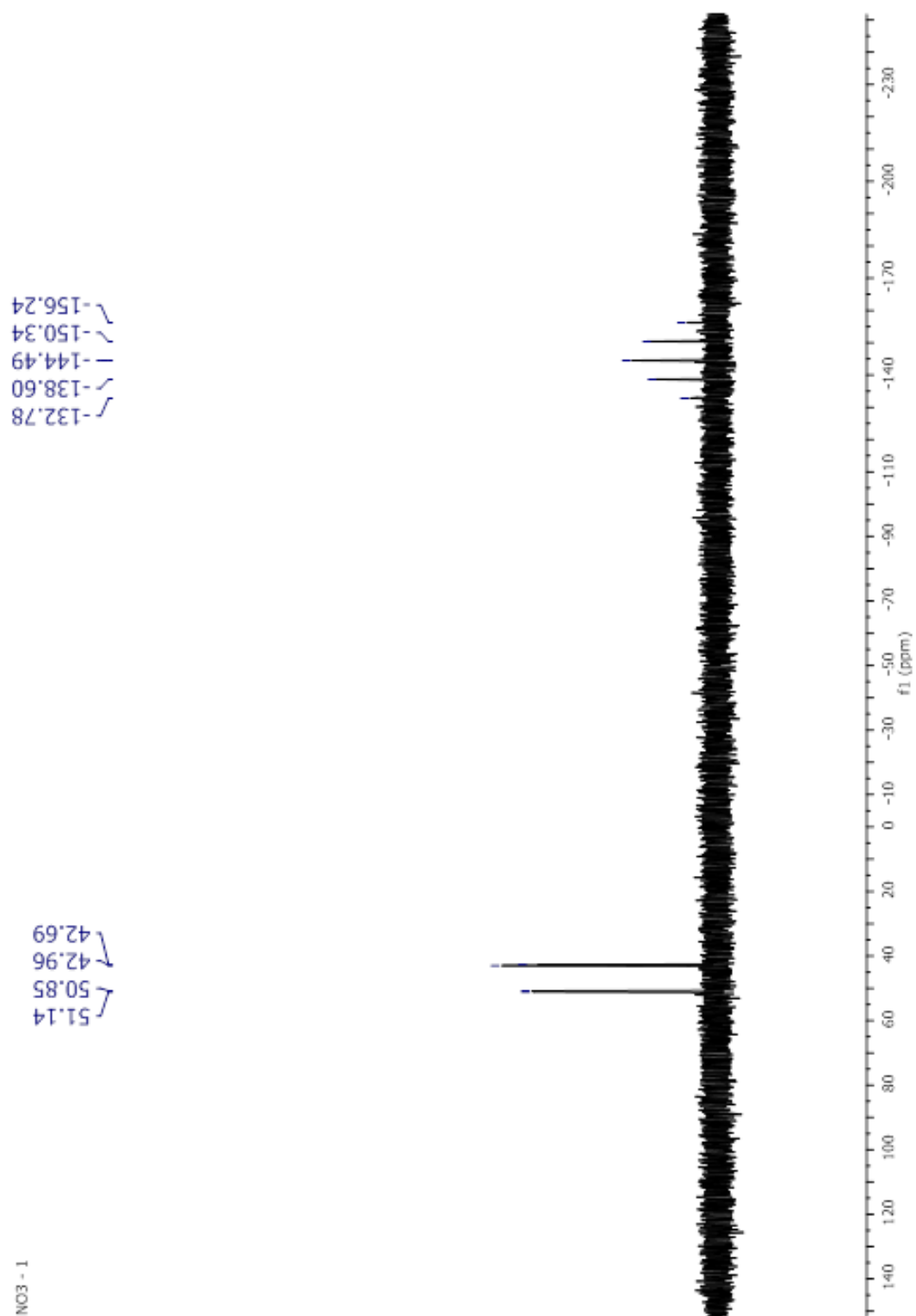


Figura 61A - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_3)(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$, em diclorometano.

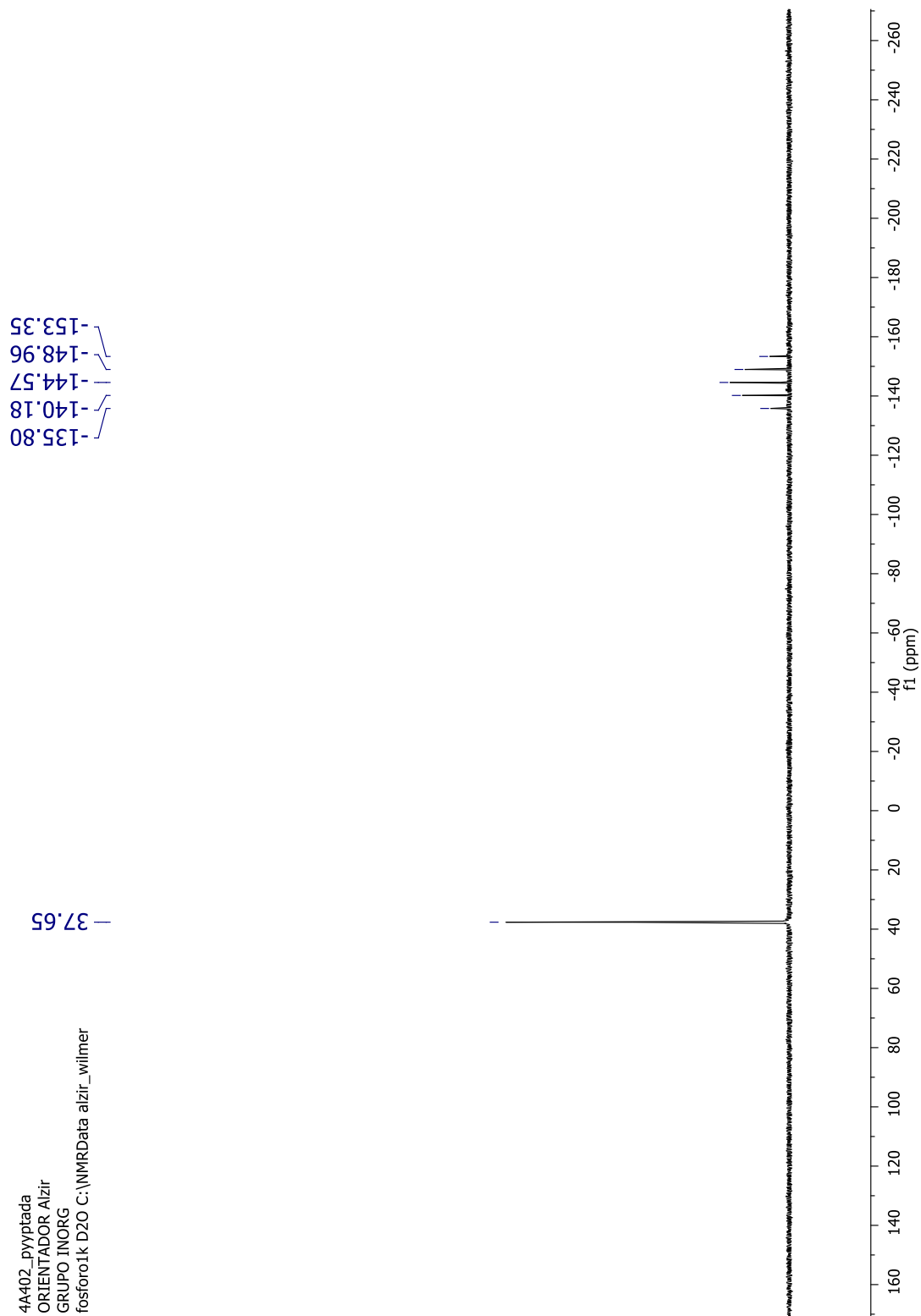


Figura 62A - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{RuCl}(\text{Py})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$, em diclorometano.

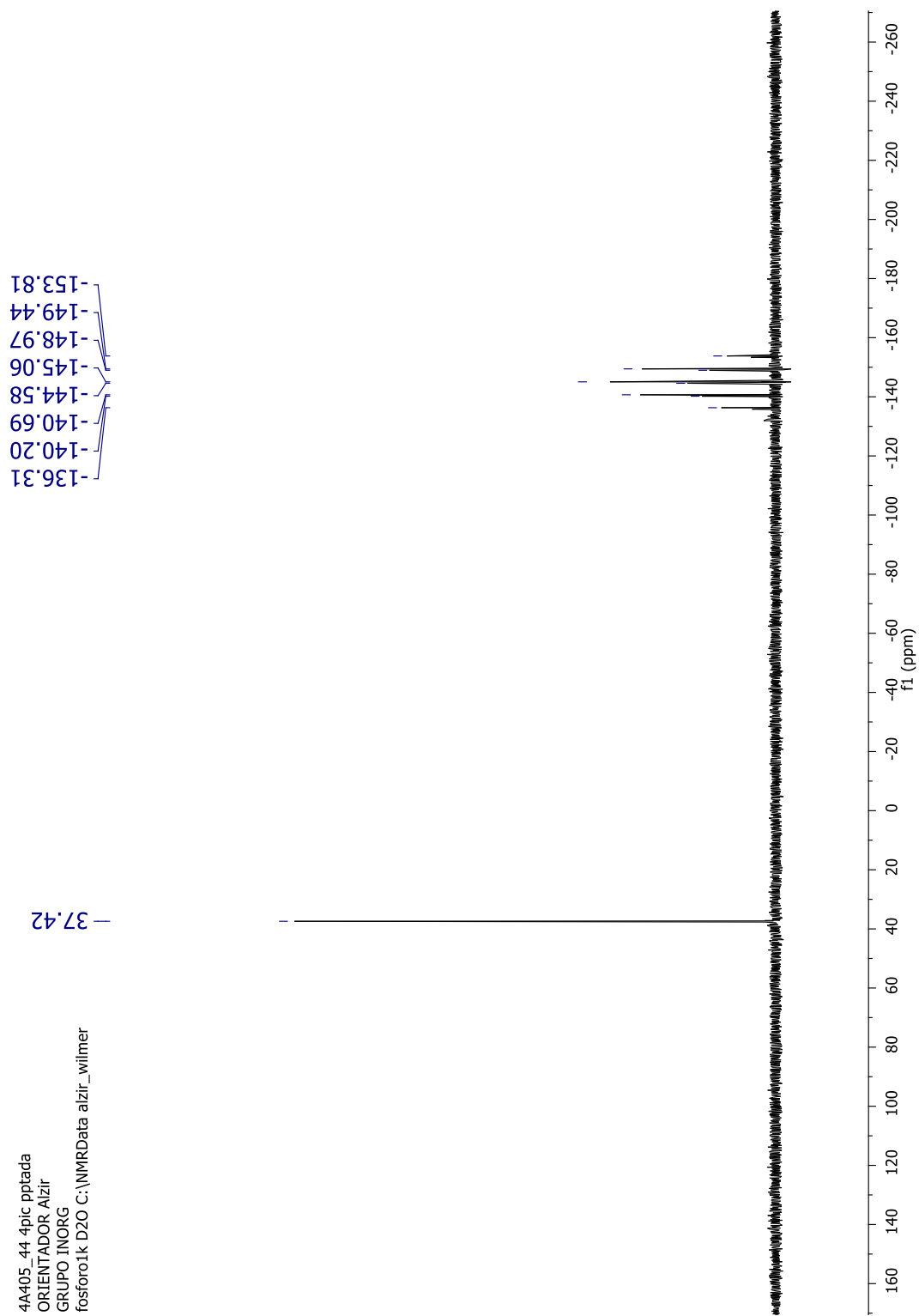


Figura 63A - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{RuCl}(\text{Pic})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$, em diclorometano.

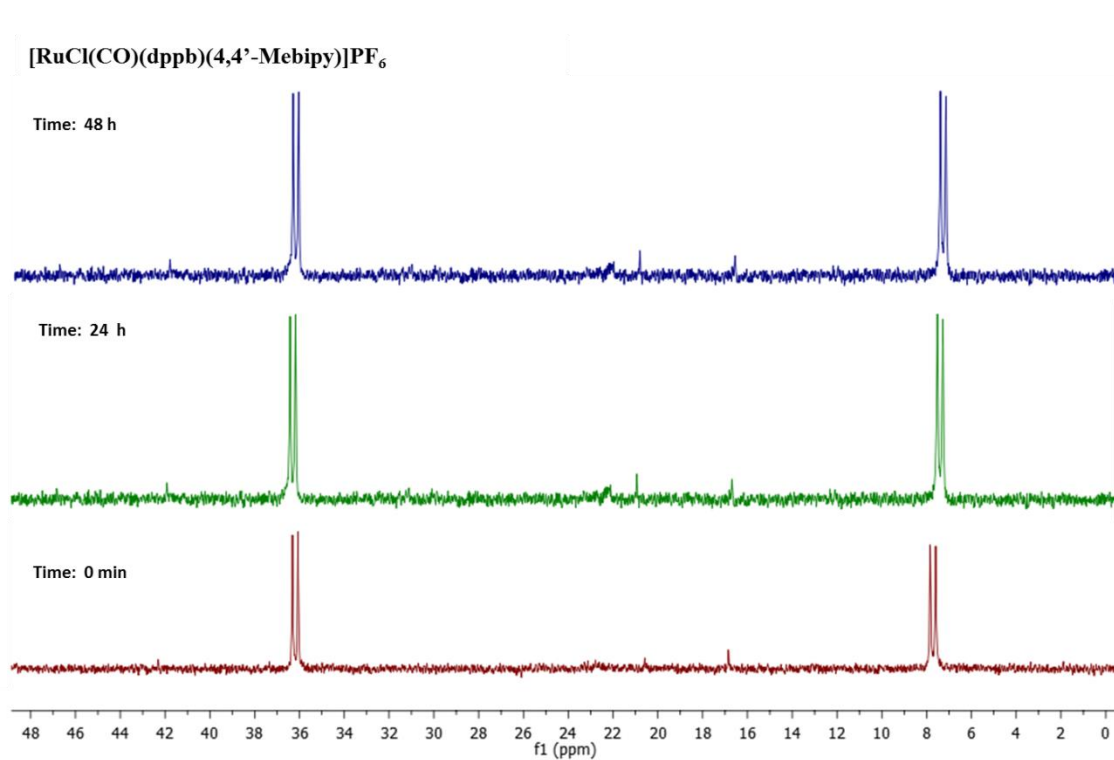


Figura 64A - RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (1) nos tempos : 0 min., 24 h e 48 h, em CH_2Cl_2 / DMSO.

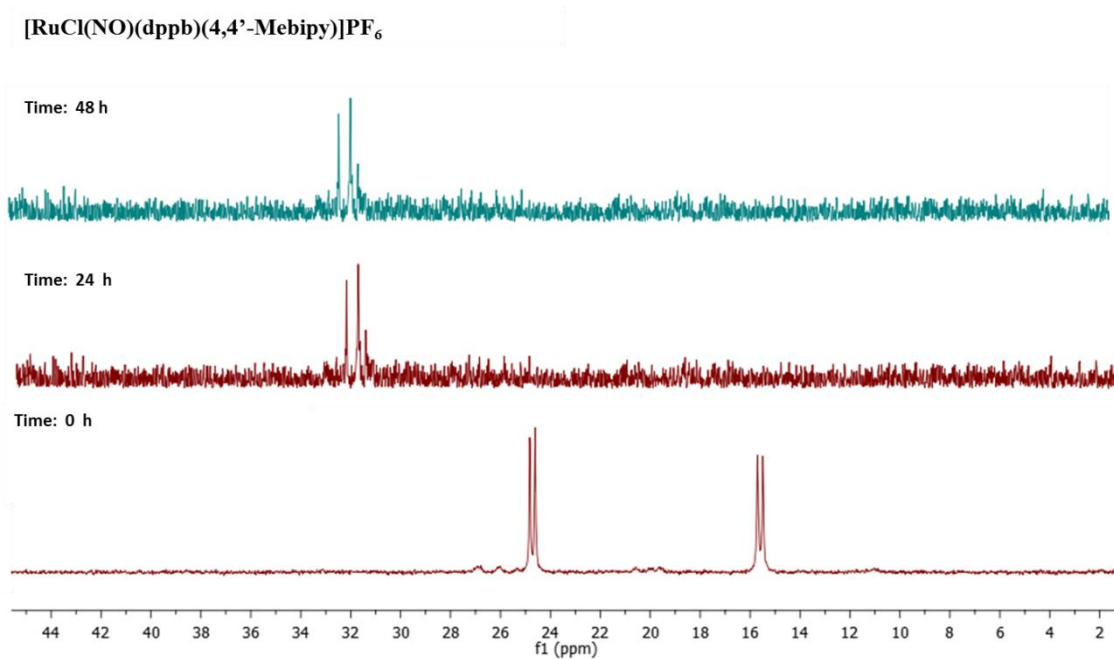


Figura 65A - RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (2) nos tempos : 0 min., 24 h e 48 h, em CH_2Cl_2 / DMSO.

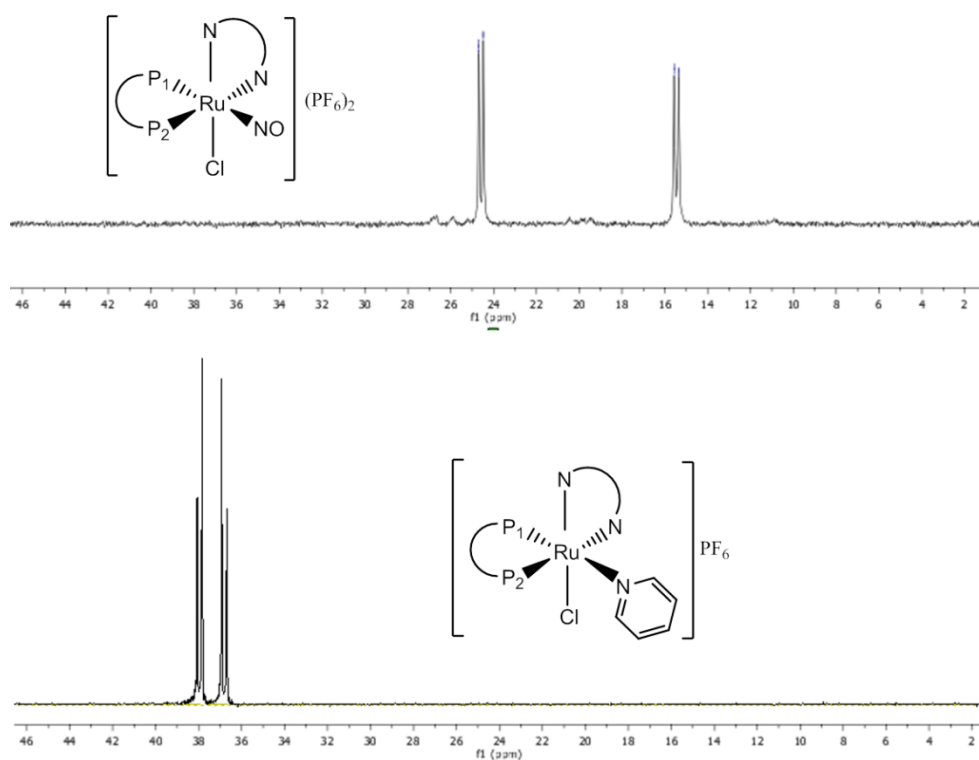


Figura 66A - RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (2) no tempo de 24 h, em CH_2Cl_2 com adição de piridina.

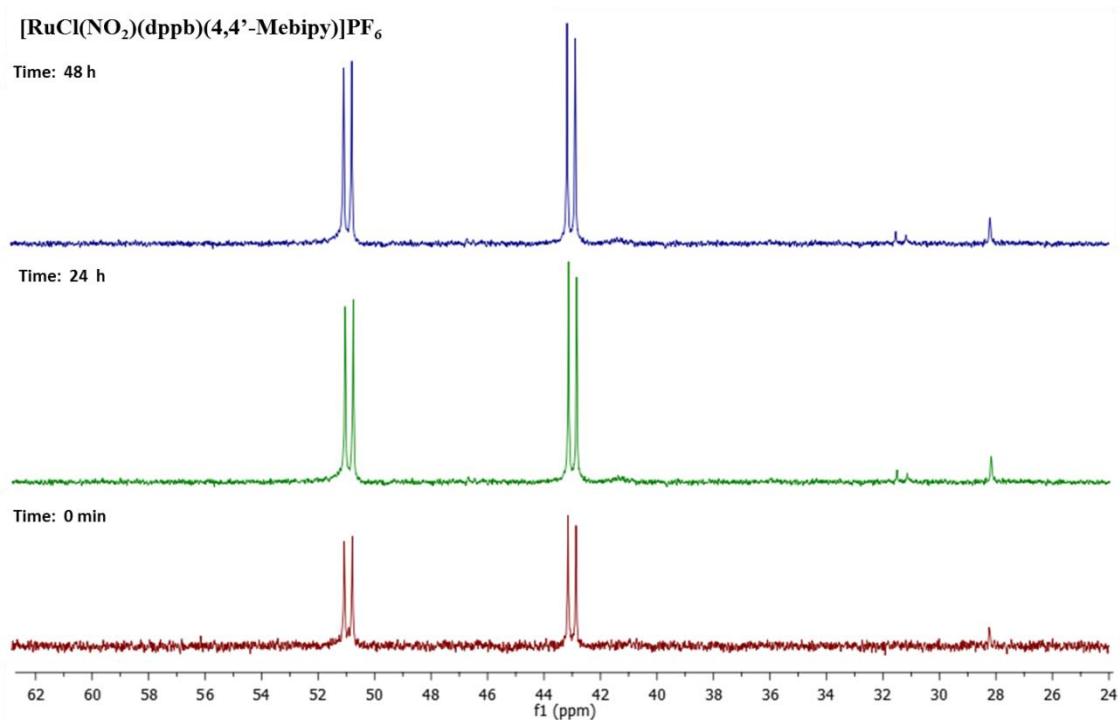


Figura 67A - RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (3) nos tempos : 0 min., 24 h e 48 h, em CH_2Cl_2 / DMSO.

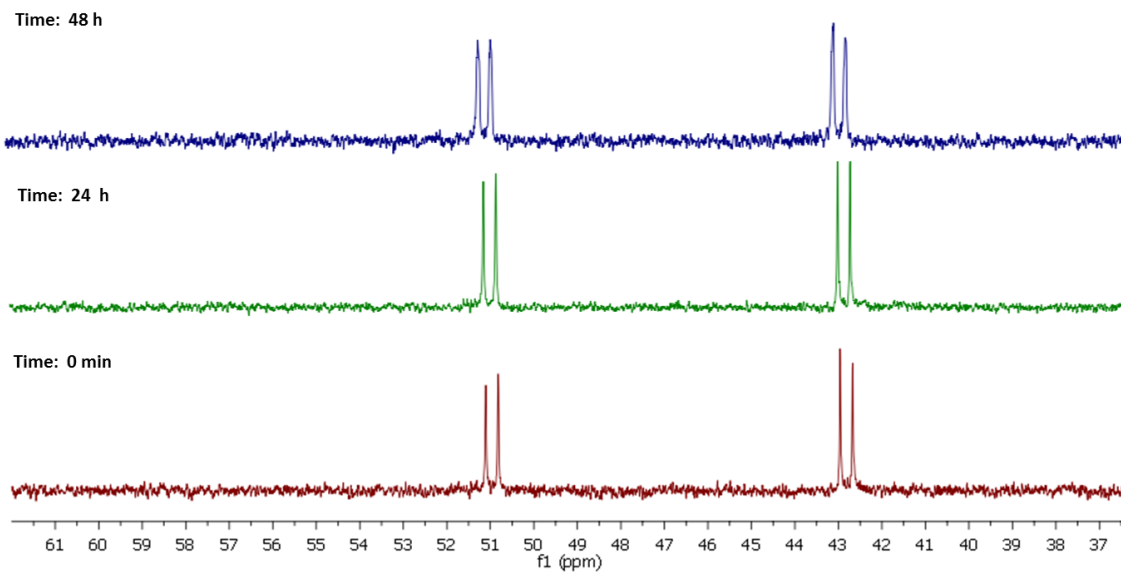
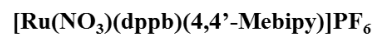


Figura 68A - RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (4) nos tempos : 0 min., 24 h e 48 h, em CH_2Cl_2 / DMSO.

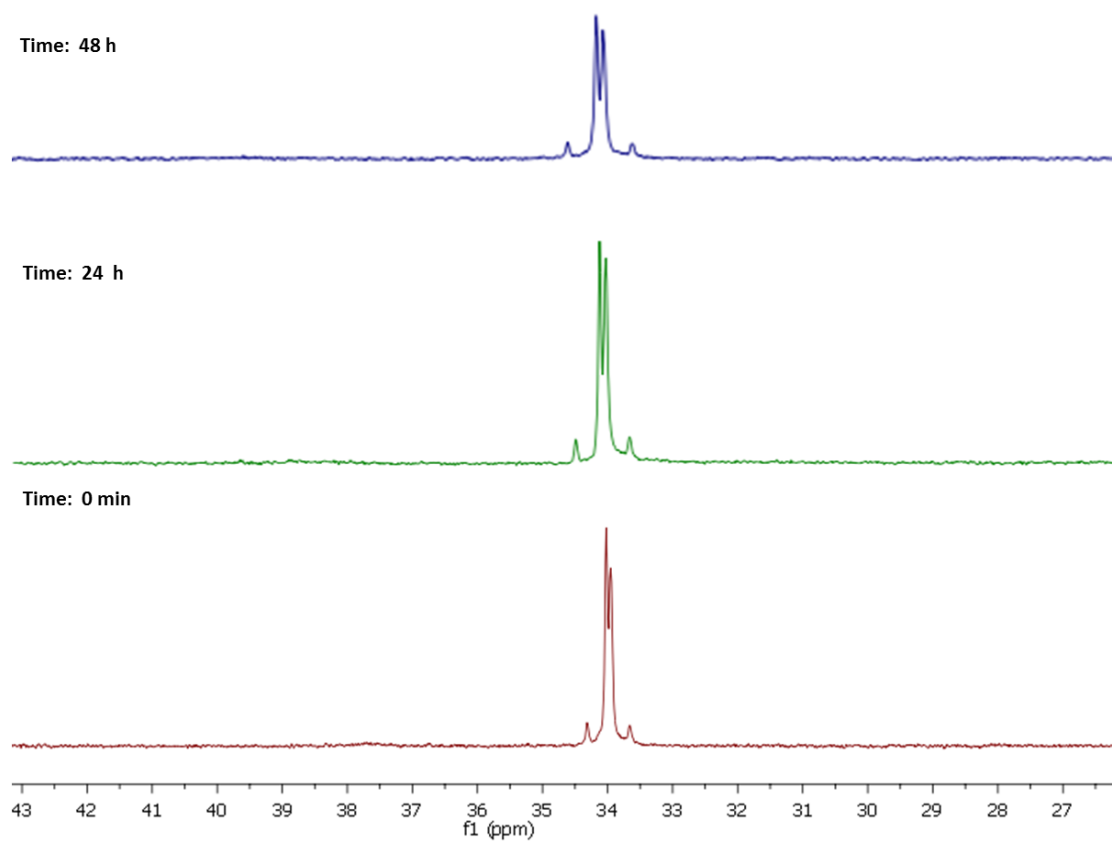
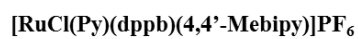


Figura 69A - RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (5) nos tempos : 0 min., 24 h e 48 h, em CH_2Cl_2 / DMSO.

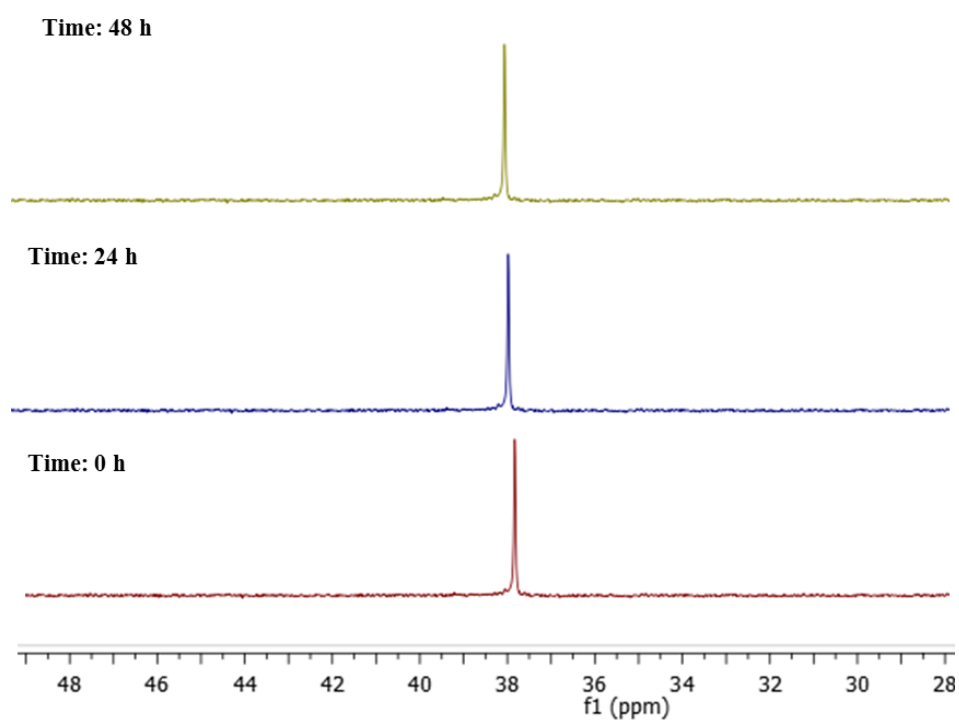
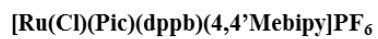


Figura 70A - RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (5) nos tempos : 0 min., 24 h e 48 h, em CH_2Cl_2 / DMSO.

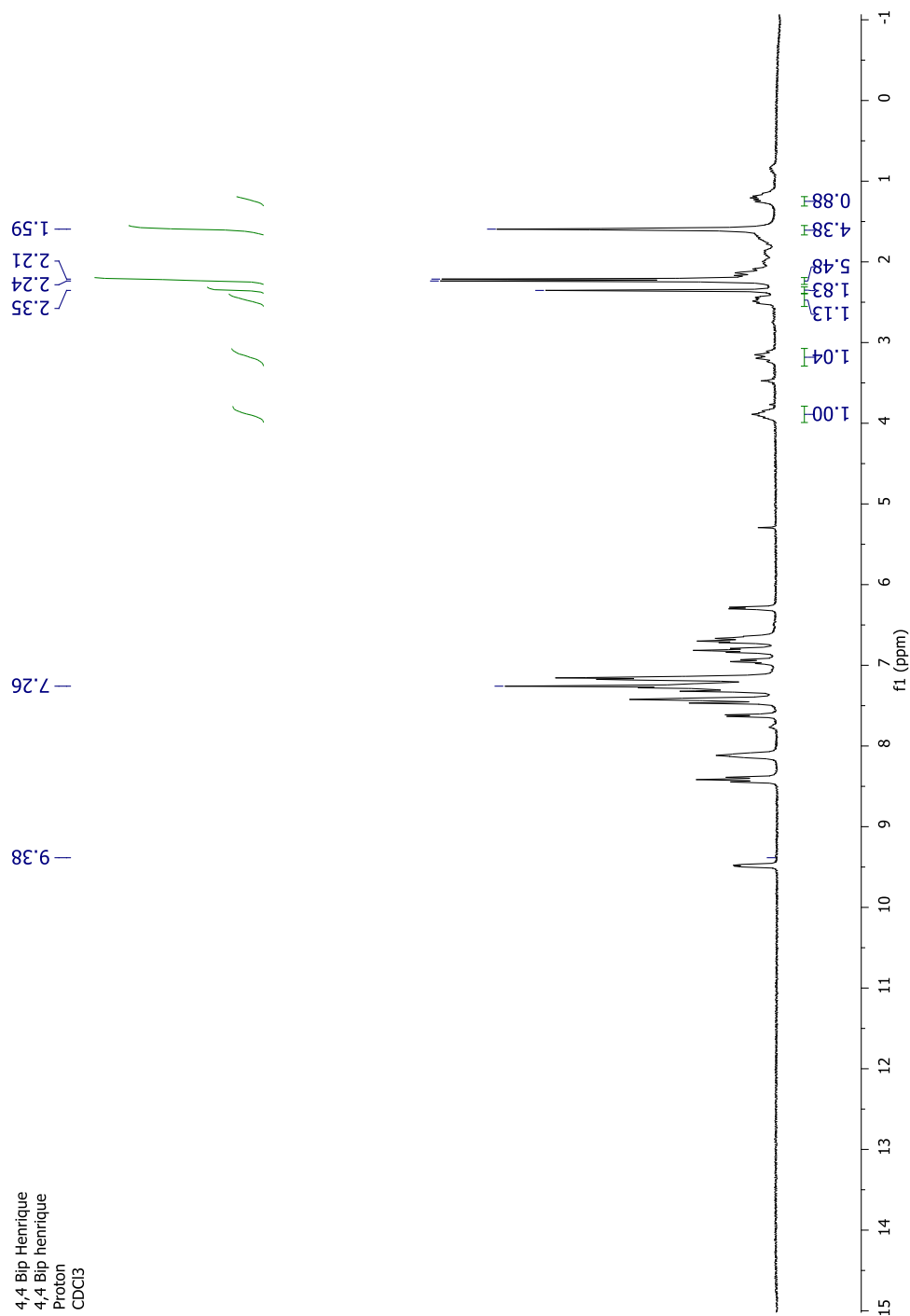
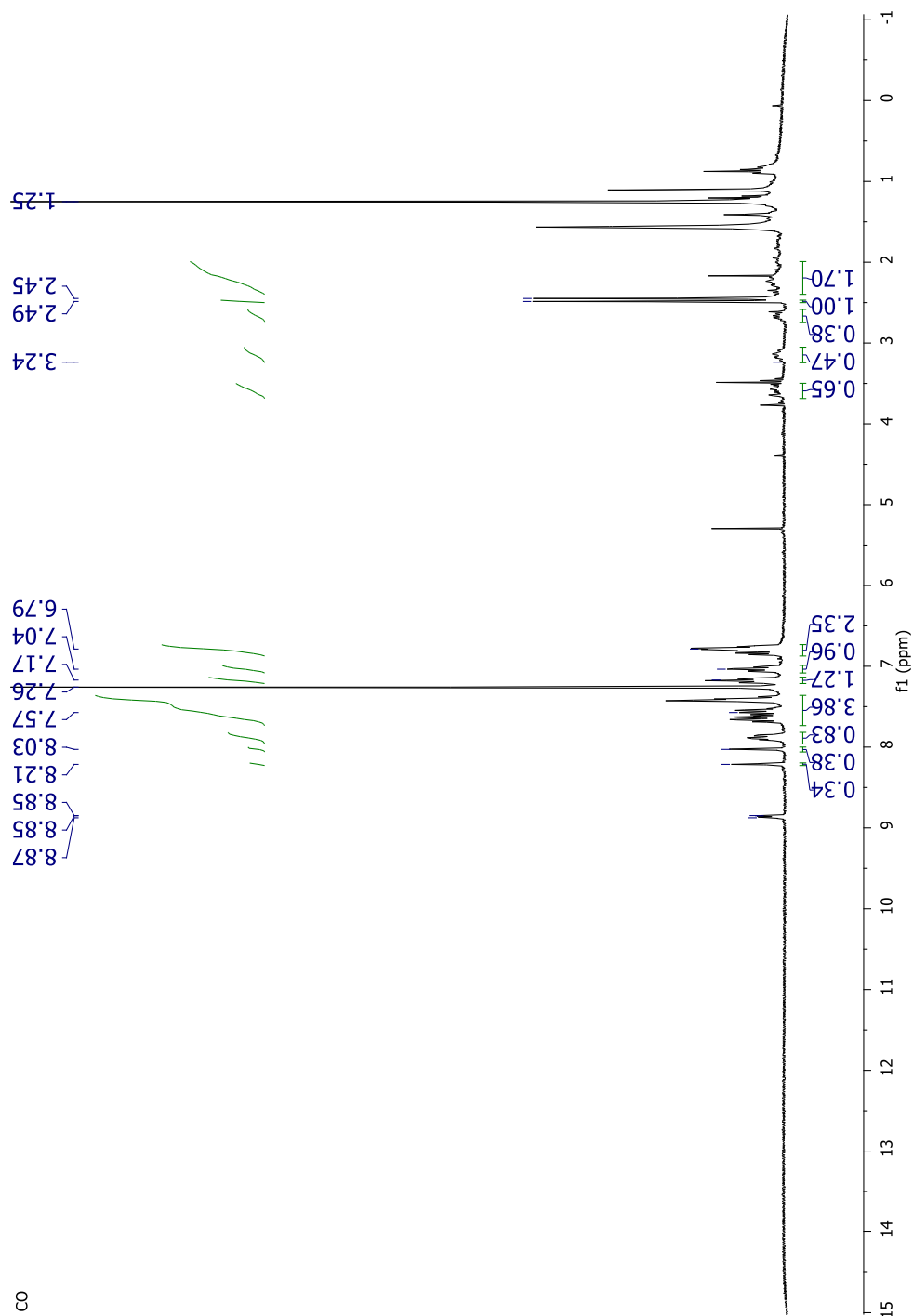


Figura 71A - Espectro de ^1H para o complexo precursor $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]$, em clorofórmio deuterado.



8
Figura 72A - Espectro de ^1H para o complexo $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$, em clorofórmio deuterado.

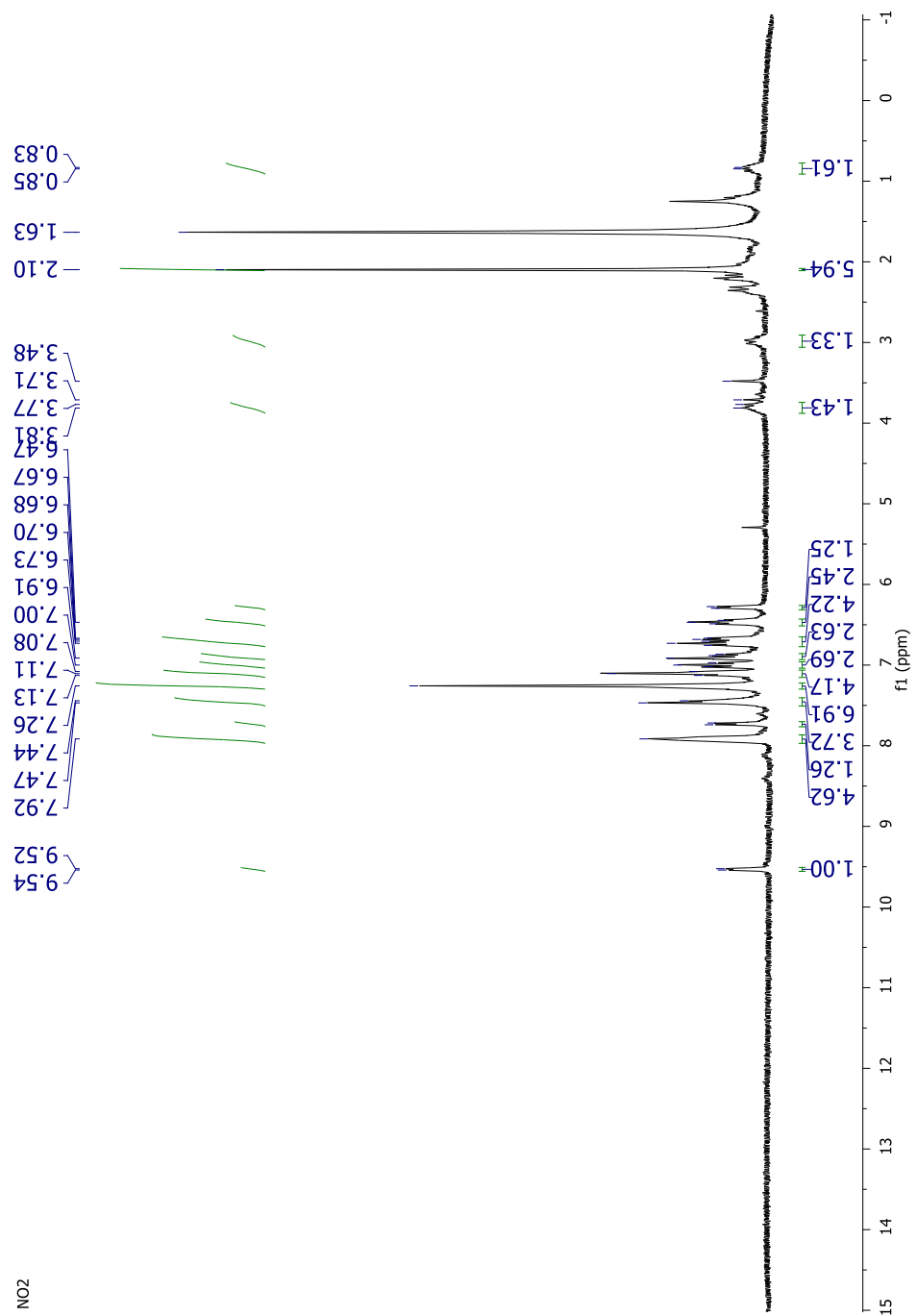
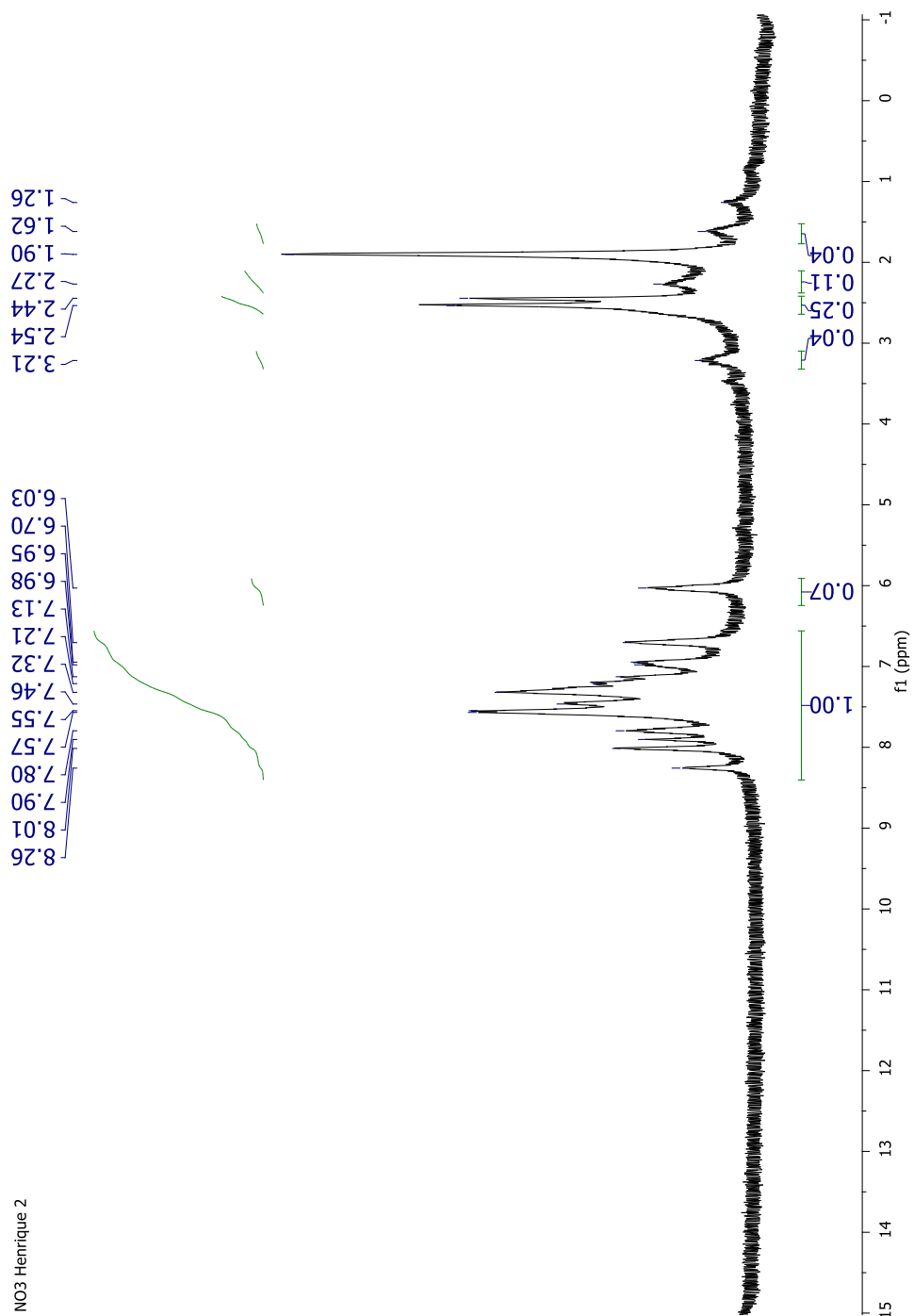


Figura 73A - Espectro de ^1H para o complexo $[\text{RuCl}(\text{NO}_2)(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]$, em clorofórmio deuterado.



NO3 Henrique 2

Figura 74A - Espectro de ^1H para o complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_3)(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$, em clorofórmio deuterado.

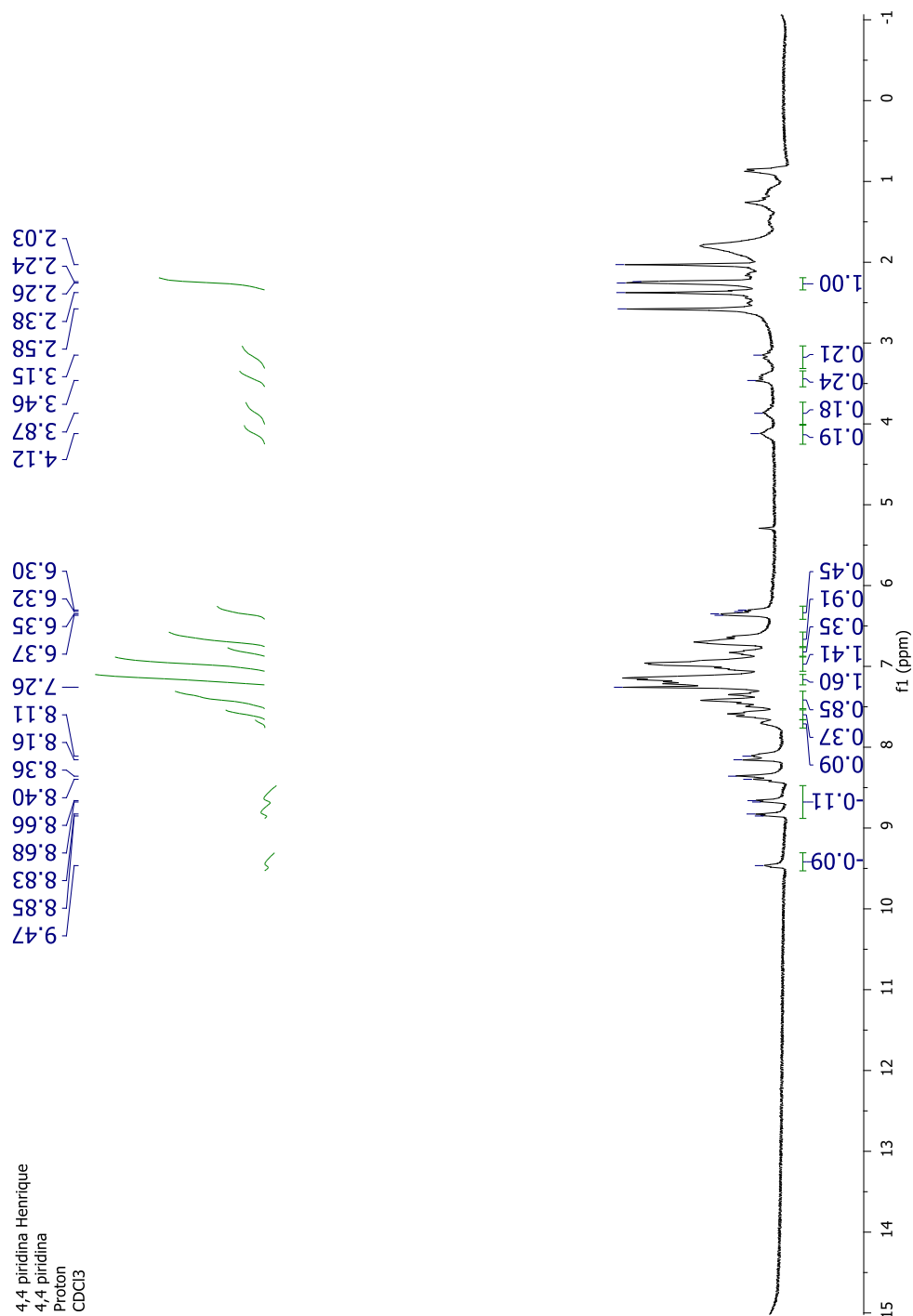


Figura 75A - Espectro de ^1H para o complexo $[\text{RuCl}(\text{Py})(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$, em clorofórmio deuterado.

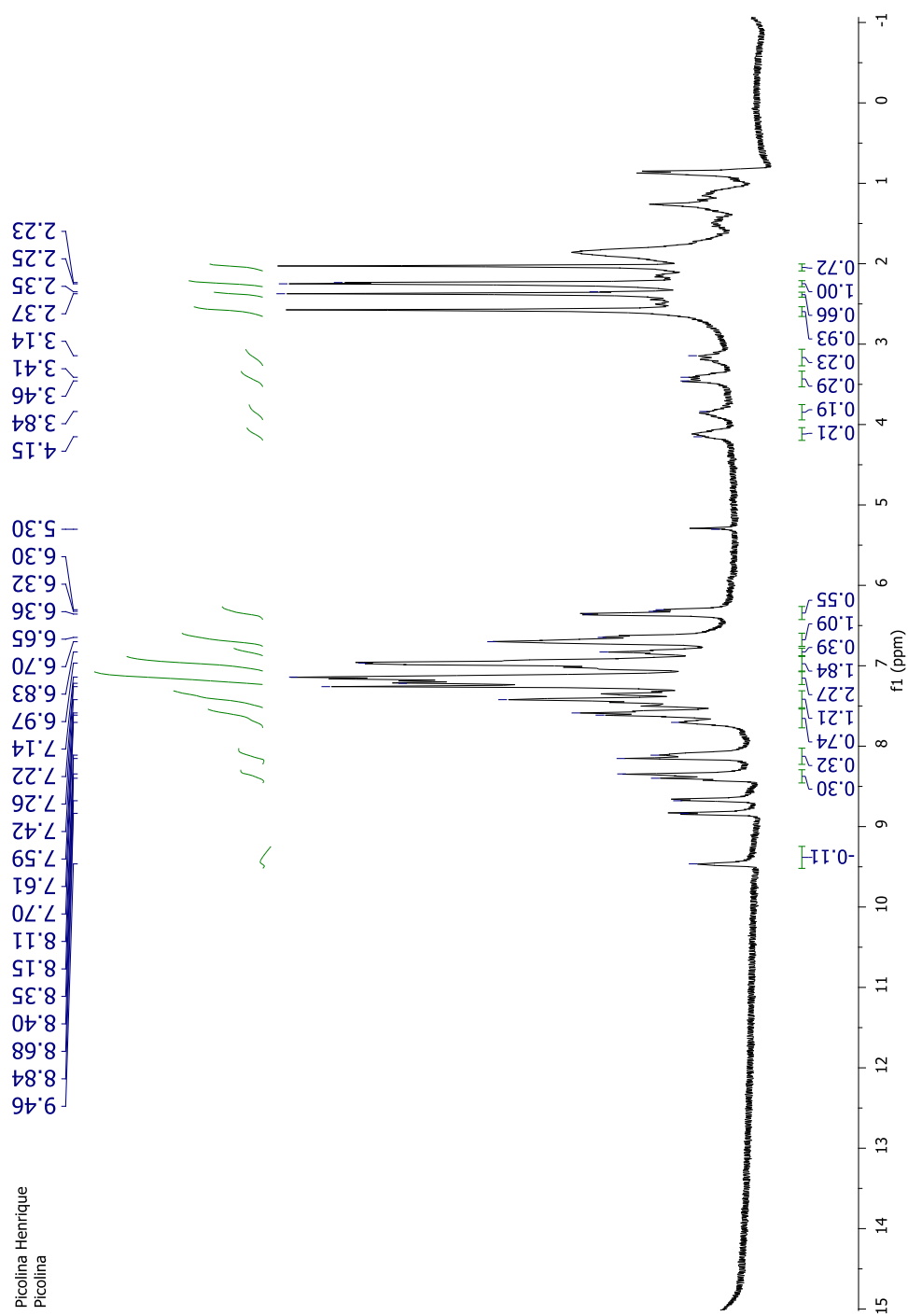


Figura 76A - Espectro de ^1H para o complexo $[\text{RuCl}(\text{Pic})(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$, em clorofórmio deuterado.

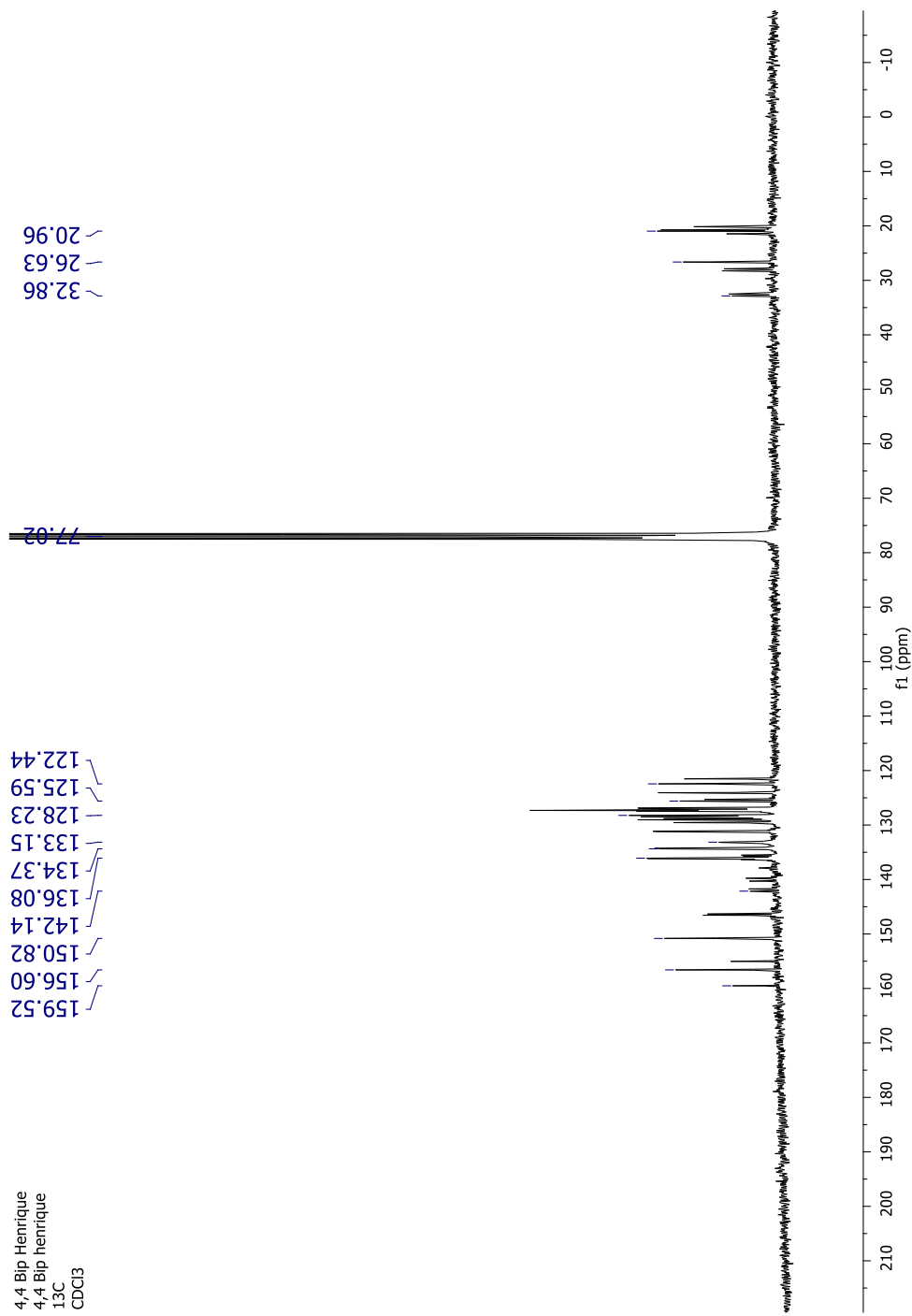
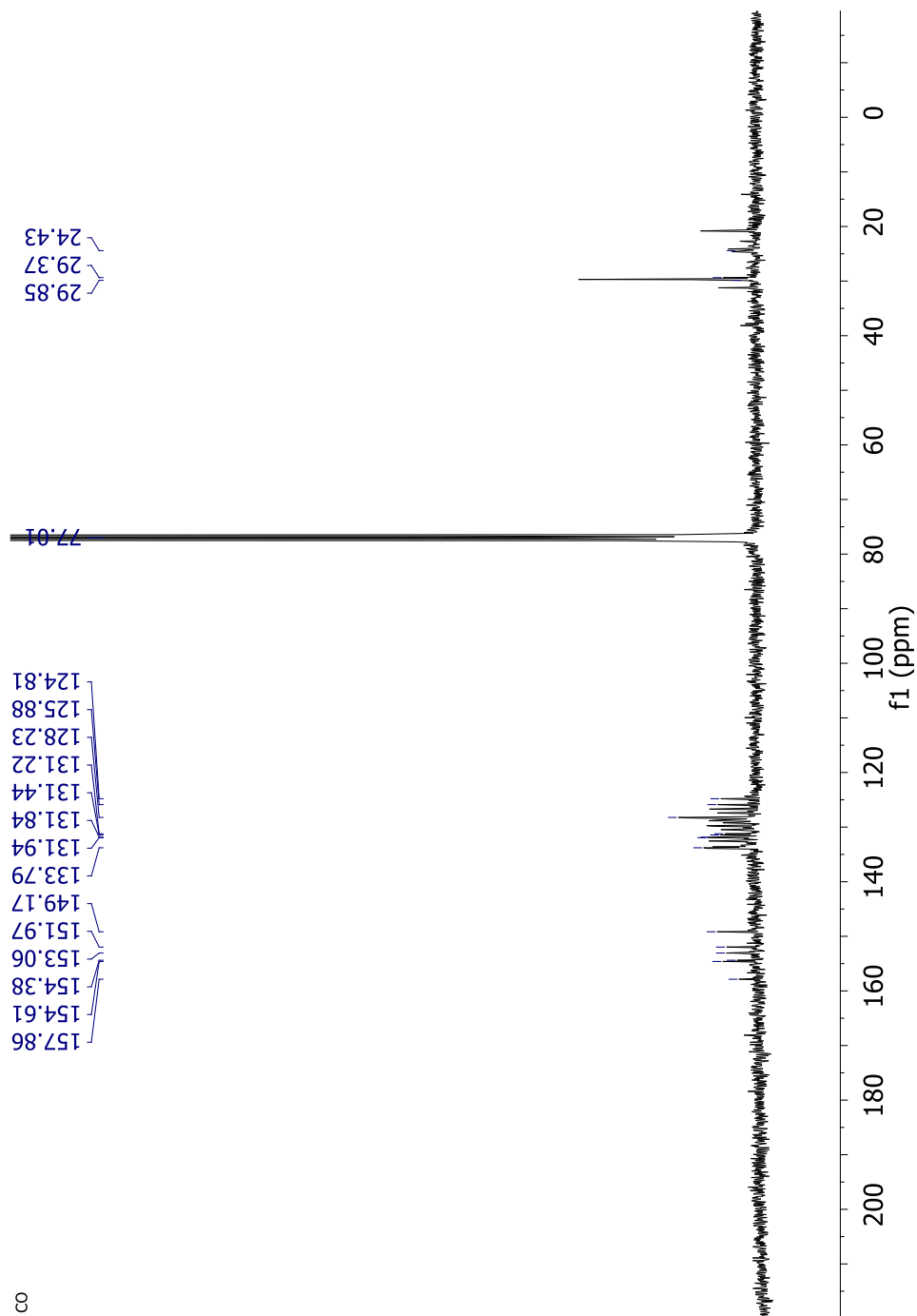


Figura 77A - Espectro de ^{13}C para o complexo precursor $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})]$, em clorofórmio deuterado.



8

Figura 78A - Espectro de ^{13}C para o complexo $\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(4,4'\text{-Mebipy})\text{PF}_6$, em clorofórmio deuterado.

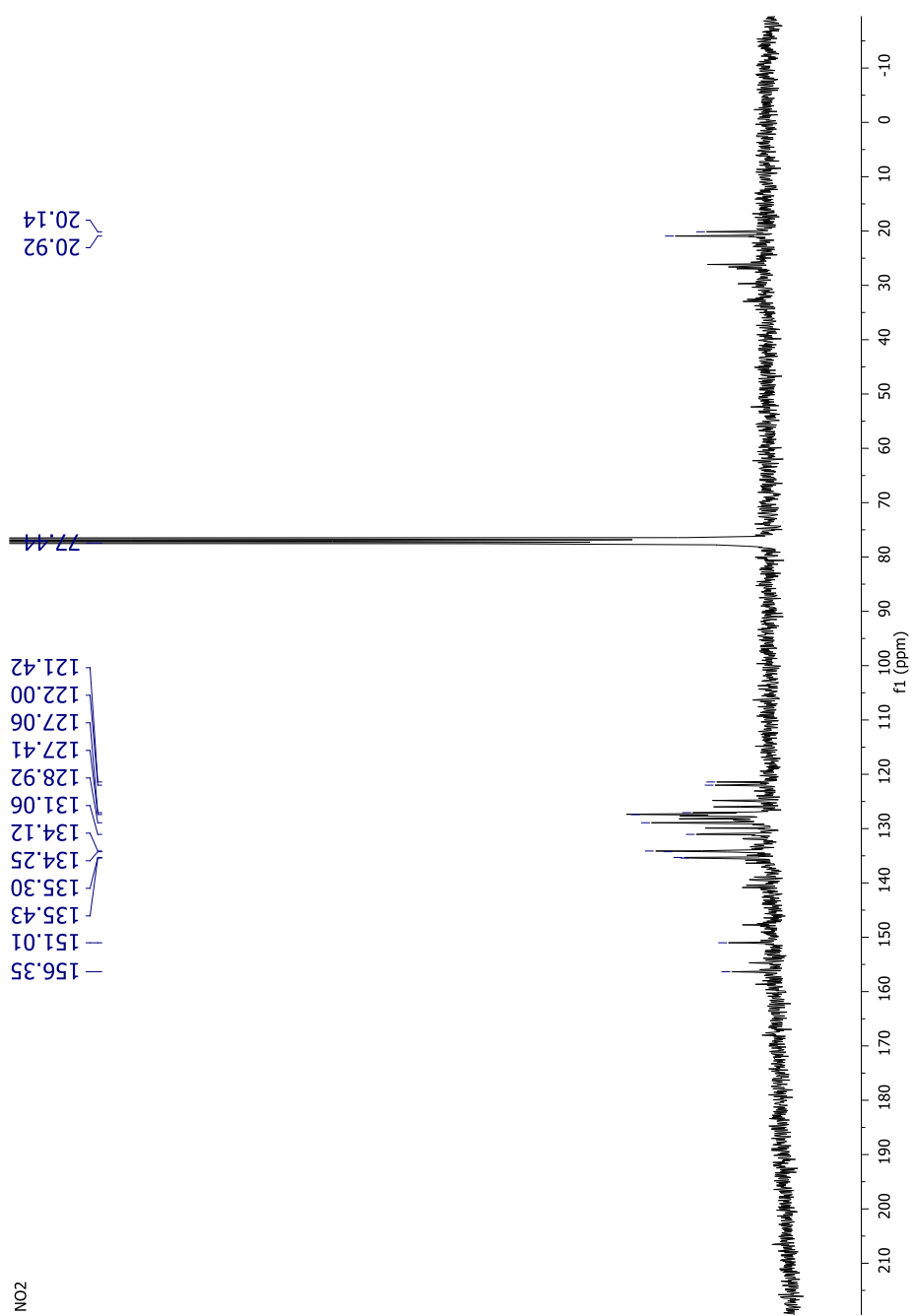


Figura 79A - Espectro de ^{13}C para o complexo $[\text{RuCl}(\text{NO}_2)(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]$, em clorofórmio deuterado.

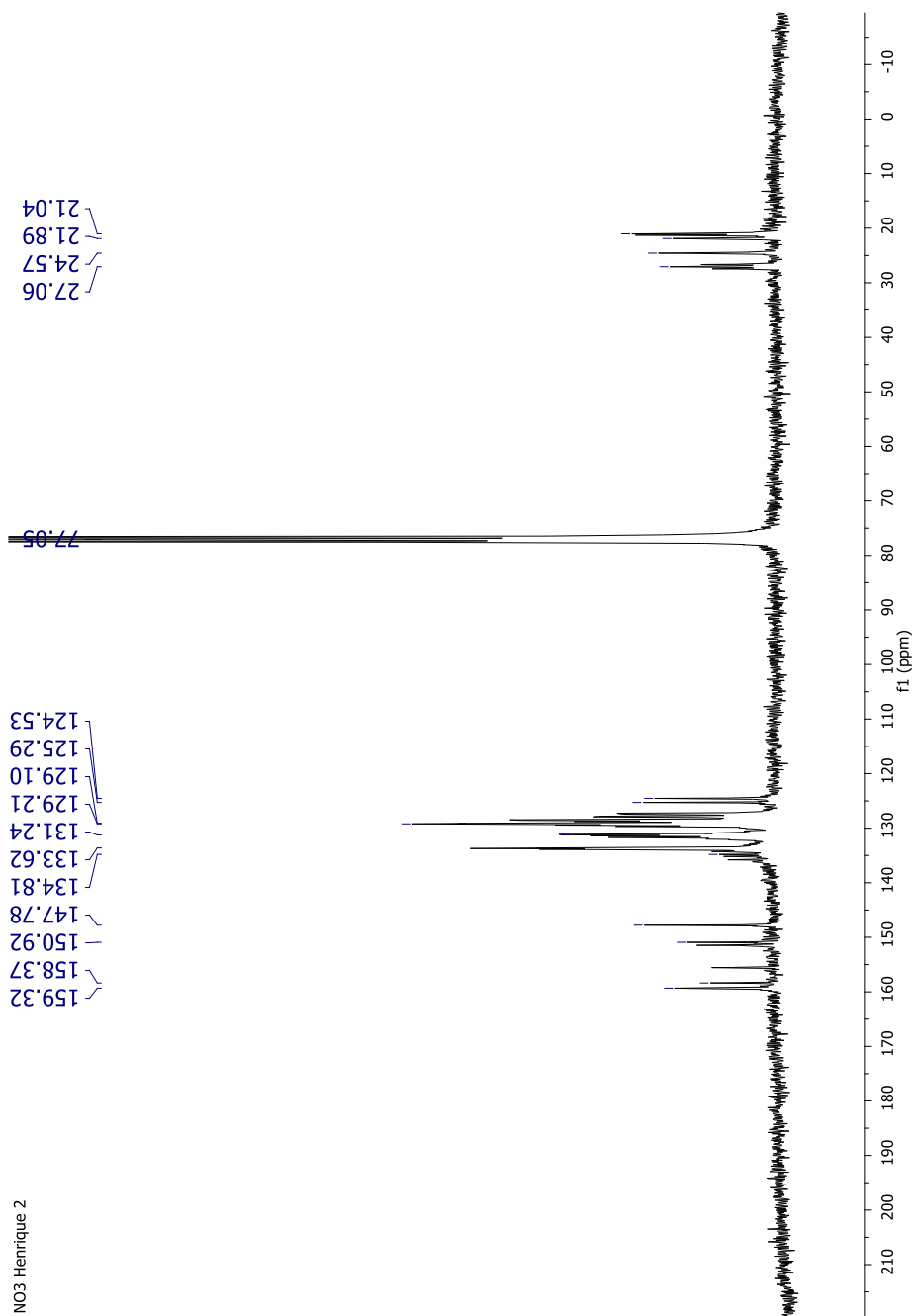


Figura 80A - Espectro de ^{13}C para o complexo $[\text{Ru}(\text{NO}_3)(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$, em clorofórmio deuterado.

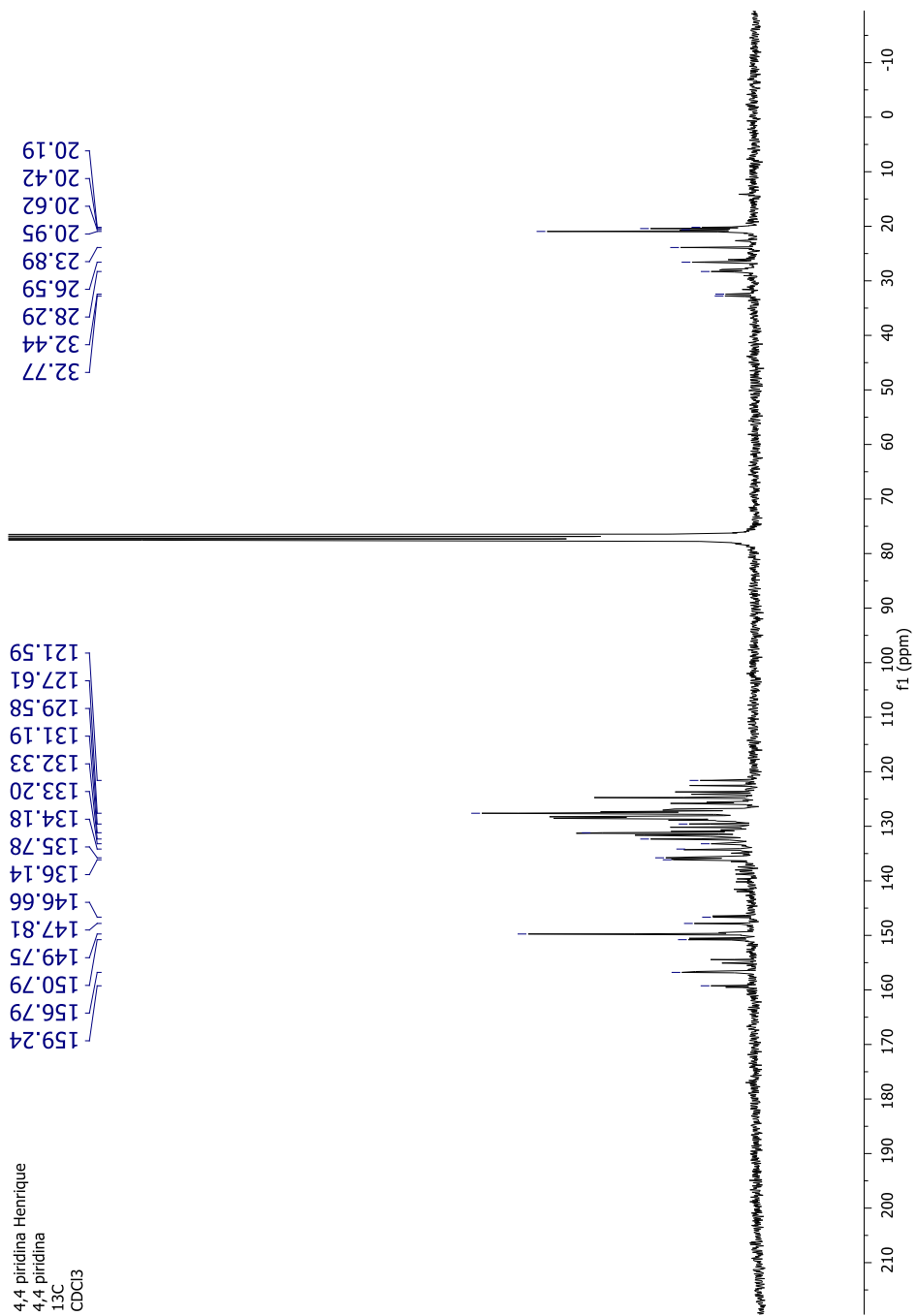


Figura 81A - Espectro de ^{13}C para o complexo $[\text{RuCl}(\text{Py})(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$, em clorofórmio deuterado.

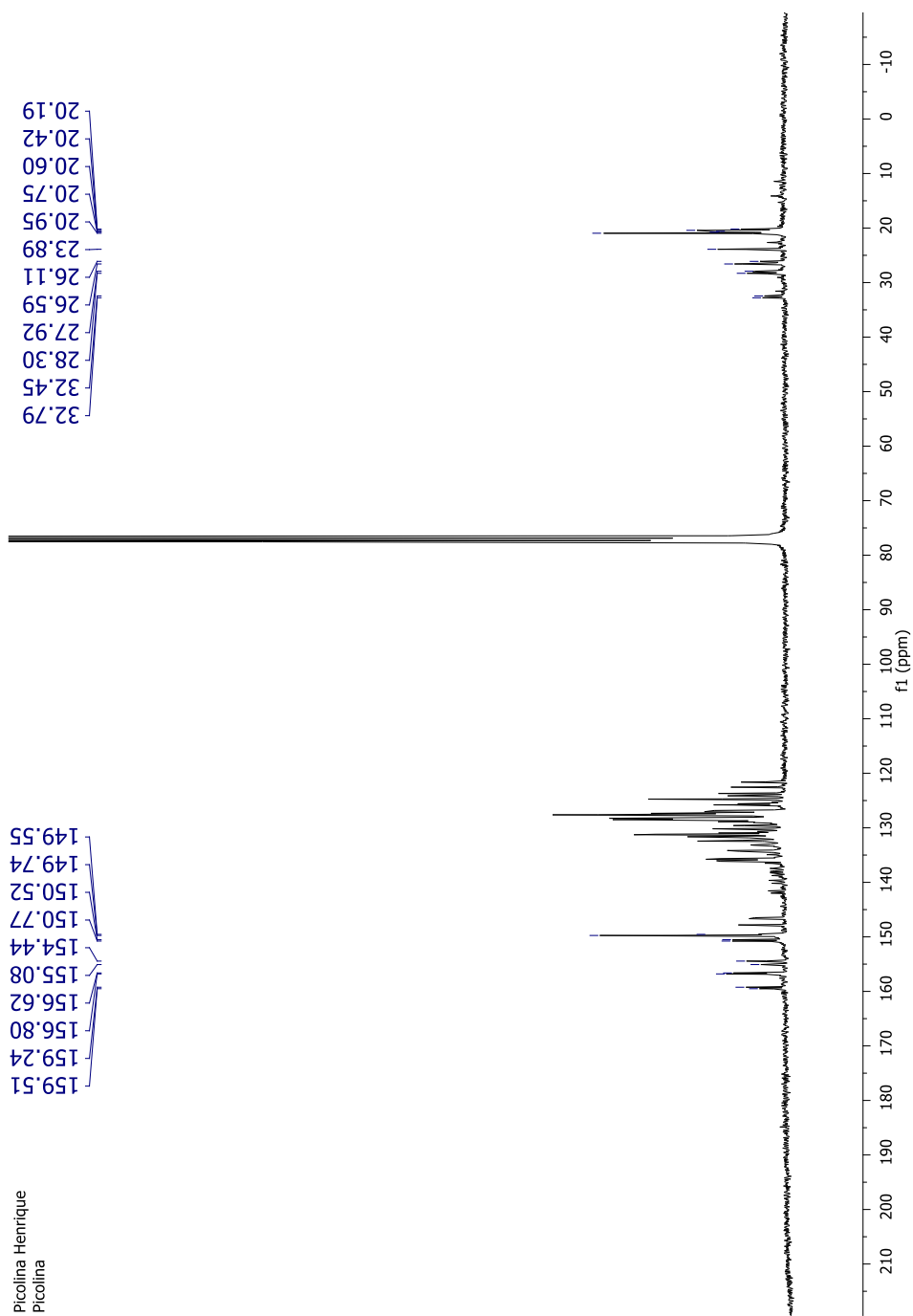


Figura 82A - Espectro de ^{13}C para o complexo $[\text{RuCl}(\text{Pic})(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$, em clorofórmio deuterado.

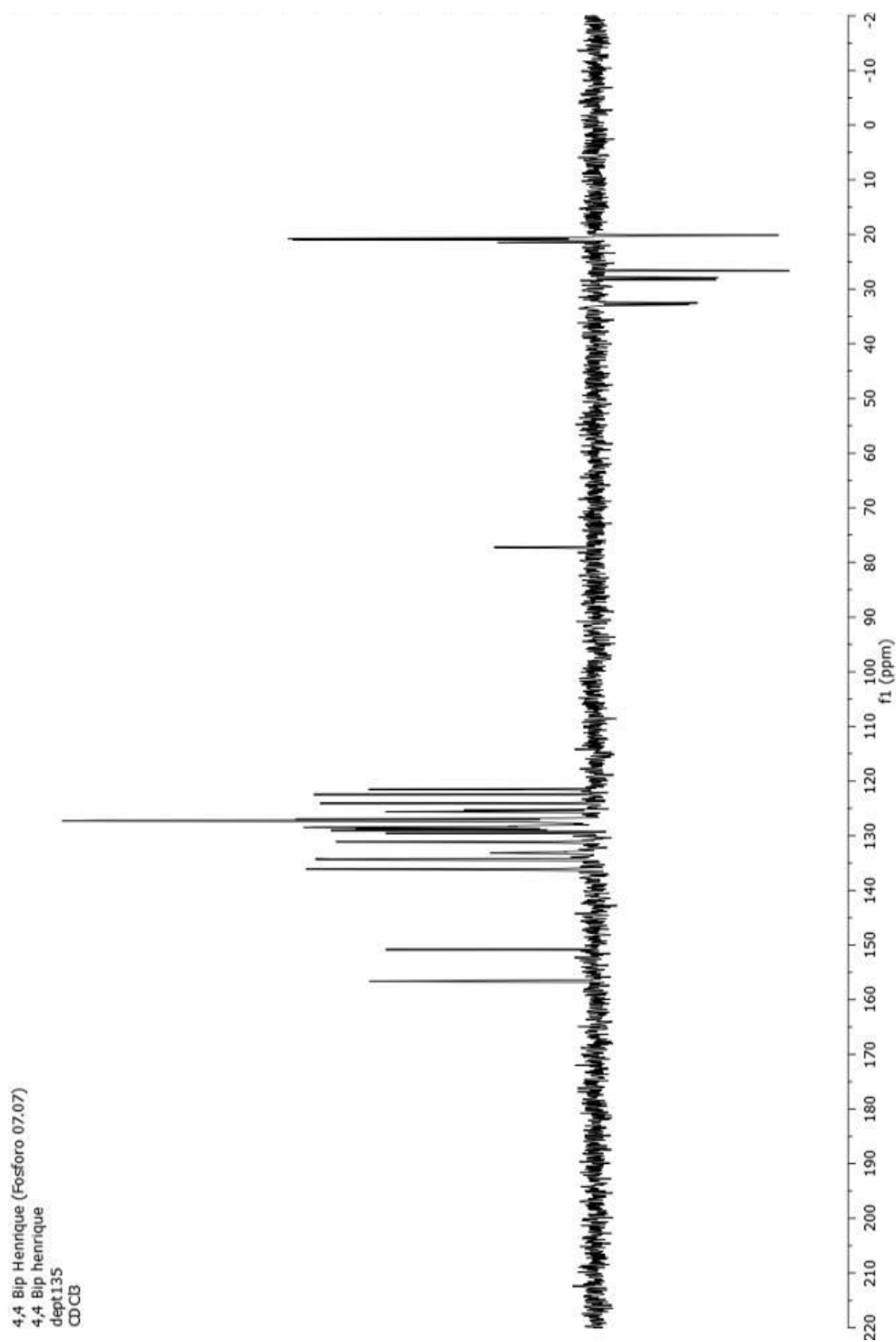


Figura 83A - Dept 135 para o complexo precursor $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(4,4\text{-Mebipy})]$, em clorofórmio deuterado.

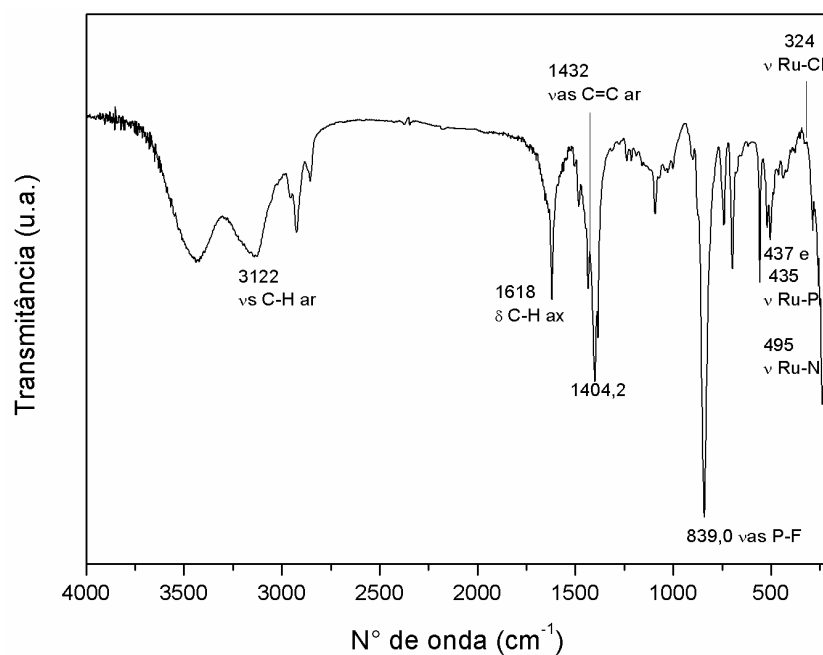


Figura 84A - Espectro de infravermelho do complexo $[\text{RuCl}(\text{Pic})(\text{dppb})(4,4'$ - dimetil-2,2'-bipiridina)] PF_6 .

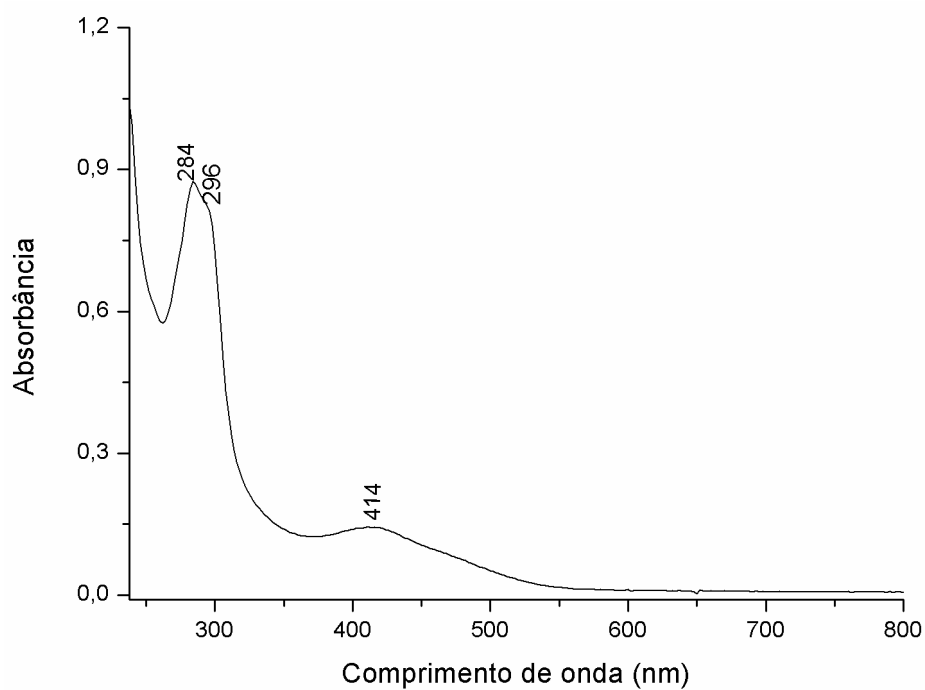


Figura 85A - Espectro de UV-vis do complexo $[\text{RuCl}(\text{Pic})(\text{dppb})(4,4'$ - dimetil-2,2'-bipiridina)] PF_6 em CHCl_3 $2,8 \times 10^{-4} \text{ mol} \times \text{L}^{-1}$