

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
ANALÍTICA

INVESTIGAÇÃO DE ATIVIDADE CITOTÓXICA DE
COMPLEXOS DE RUTÊNIO (II) E SUAS INTERAÇÕES COM
BSA

Vanessa Niely Soares Campos

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
MESTRE EM QUÍMICA ANALÍTICA

Orientador: Prof. Dr. Márcio Aurélio Pinheiro Almeida

SÃO LUÍS - MA
2018

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a)
autor(a).

Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Campos, Vanessa Niely Soares.

INVESTIGAÇÃO DE ATIVIDADE CITOTÓXICA DE COMPLEXOS DE
RUTÊNIO II E SUAS INTERAÇÕES COM BSA / Vanessa Niely Soares Campos.
2018.

120 p.

Orientador(a): Márcio Aurélio Pinheiro Almeida. Dissertação (Mestrado) -
Programa de Pós-graduação em
Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São Luís - MA, 2018.

1. Aminoácidos. 2. Bifosfinas. 3. Câncer. 4. Complexos
de rutênio (II). I. Almeida, Márcio Aurélio Pinheiro. II.
Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
ANALÍTICA
Curso de Mestrado

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou o exame de dissertação de mestrado da candidata **Vanessa Niely Soares Campos** realizado em 31 de agosto de 2018:

Prof. Dr. Márcio Aurélio Pinheiro Almeida
Coordenação Ciência e Tecnologia /UFMA

Prof. Dr. Fillipe Vieira Rocha
Departamento de Química /UFSCar

Prof. Dr. Cícero Wellington Brito Bezerra
Departamento de Química / UFMA

*Dedico a minha mãe-vó Enilde Ramos, o
meu pai-vô João da Silva e meu tio
Genilson Soares (in memoriam) por todo
carinho e incentivo.*

*Se eu vi mais longe, foi por estar
sobre ombros de gigantes.*
(Isaac Newton)

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por sempre estar ao meu lado, em especial nessa jornada, me guiando, me sustentando. Visto que, todas as vezes que pensava em desistir, me segurava pelas mãos e me protegia com seu **amor infinito**, mostrando que **Ele é o Pai Todo Poderoso**.

À **minha família maravilhosa**, por ser minha base, ouvindo minhas labutas e afirmando que sou mais que vencedora em Cristo Jesus. Por me acolher e mostrar que a **jornada era Nossa**. Aos meus avós, mãe, irmãs, sobrinho, tios, tias, primos, primas, muito obrigada por aceitarem participar desse desafio junto comigo. Amo incondicionalmente vocês.

Ao **Prof. Márcio – NCCA/UFMA**, pela oportunidade em trabalhar em outra universidade de grande porte.

Ao **Prof. Alzir Azevedo Batista – LERCI/UFSCar**, pelo **carinho, paciência**, por me ter **acolhido no seu laboratório** e sempre me tratar como sua aluna. Me ouvindo, me **instruindo no caminho que deveria andar**, me auxiliando em tudo que precisava. Obrigada do fundo meu coração, por cada momento que passei no seu laboratório e em especial com senhor. **E o principal, mostrando que sou capaz de realizar meus sonhos, mesmo de diante dos obstáculos**. Agradeço, pelas recepções na sua casa (em especial a **profa. Salete Queiroz**, por me receber tão bem) por ser um grande Pai acadêmico.

À **profa. Caterina Gruenwaldt – LabMeeB/UFSCar**, pelos conselhos em relação aprimoramento dos meus resultados. Pelos abraços calorosos e consolos quando chorava (kkk), obrigada. E exemplificar que seu doutorado foi difícil, mas, permaneceu firme e forte, porque somente nós podemos realizar nossos sonhos.

Ao **prof. Victor Deflon – USP/São Carlos** e ao **aluno de doutorado João – LERCI/UFSCar**, pelas resoluções das estruturas cristalográficas dos compostos. Pelos papos sobre difração de raios-X. E paciência que vocês tiveram comigo.

Muito obrigada aos professores **Thiago Venâncio e Giba, e a técnica Luciana do laboratório de RMN/UFSCar**, por me auxiliarem, por sentarem comigo e explicarem como compreender meus espectros, pelos momentos de descontração e mostrarem como a química é brilhante.

Agradeço aos **professores Filipe Vieira e Jean Marcel/UFSCar**, que ministraram as disciplinas métodos físicos em compostos inorgânicos / Inorgânica avançada, respectivamente. Tive o prazer de assistir aulas que mudaram muito meu ponto de vista sobre a inorgânica. E compreender vários tópicos.

Aos demais professores do **DQ/UFSCar** que contribuíram de forma direta ou indireta com meu trabalho: Edson Leite, Romeu Cardoso, Joaquim Nobrega. Agradeço as **secretárias Ariane e Cristina - UFSCar**, por me ajudarem quanto à mobilidade acadêmica.

Agradeço ao **Prof. Cicero Bezerra /UFMA**, por ser meu representante durante a minha qualificação, por sempre me ouvir, dar bons conselhos, carismático e compreender o aluno. Obrigada por ser um exemplo de prof. Magnífico, tanto profissional quanto pessoal.

Aos **professores Adeilton Pereira, Gilza Prazeres e Cáritas do NCCA – UFMA**, que me acolheram logo no início do mestrado e mostraram como deveria caminhar nessa longa jornada. Vocês são especiais na minha vida. Obrigada por me aceitarem no laboratório, pela paciência, por me ouvirem e o principal incentivarem meus sonhos. Apesar do pouco tempo que passamos juntos, sei do profissionalismo e dedicação de cada um.

Aos demais **professores Rita de Cássia, Flávio Santos, Jaldyr Varela, Claudia Quintino, Roberto Lima, Sirlane Santana, Auro Tanaka do PPGQuim/UFMA**, meus sinceros agradecimentos. Vocês são professores fascinantes, que merecem realmente o lugar onde estão.

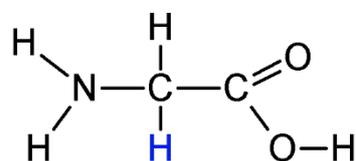
Dizem que a maior riqueza é aquela que nos traz Felicidade... E durante minha estadia em São Carlos, descobri como adquirir essa riqueza, através de **amigos e colegas que fiz...** Em especial ao **grupo LERCI/UFSCar, os doutorandos (Celis, Gabriel, Letícia, Adriana, Gregory, Kátia, Rafael, Tamires, Beatriz, João, Analu, Raul), pós-docs (Legna, Wilmer, Monize)**, muito obrigada por tudo, por atuarem como meus orientadores, pela paciência, carinho, por sempre tirarem um tempinho para me explicar como deveria fazer, por me mostrarem a riqueza que a vida acadêmica pode nos propor. Vocês são mais que especiais na minha vida, me ensinaram tanto na vida acadêmica quanto pessoal. Pelos momentos de descontração com churrascos, cinemas...

À família maranhense em Sanca – Luciano, Clayane, Alexandre,

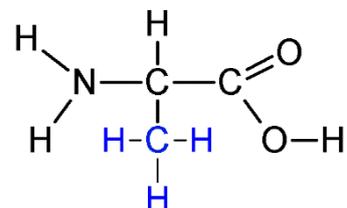
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E ESTRUTURAS

Abreviatura	Nome
A549	Carcinoma de pulmão humano
BSA	Albumina do Soro Bovino
<i>Cis</i>	Isômero de posição cis de um composto inorgânico ou orgânico
COSY ³¹P	Correlação Espectroscópica de Fósforo
DMEM	Meio de Eagle Modificado por Dulbecco (Dulbecco's)
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO-d₆	Dimetilsulfóxido deuterado
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FDA	Food and Drug Administration
Hz	Hertz
IC₅₀	Concentração que inibe 50 % do crescimento celular
INCA	Instituto Nacional do Câncer
²J_{P-P}	Constante de acoplamento fósforo-fósforo a duas ligações
MDA-MB-231	Adenocarcinoma de mama metastático
MRC-5	Fibroblasto de pulmão humano
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5 – difeniltetrazólio
OMS	Organização Mundial de Saúde
Ppm	Partes por milhão
PTBA	Perclorato de tetrabutilamônio
³¹P{¹H}	Ressonância Magnética Nuclear de Fósforo Desacoplado de Hidrogênio
RMN	Ressonância Magnética de Nuclear
RNA	Ácido Ribonucléico

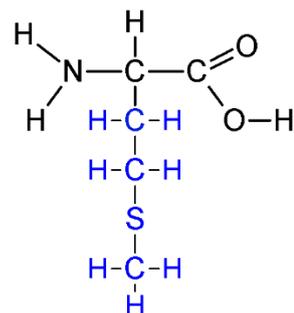
TCML	Transferência de carga do metal para o ligante
Trans	Isômero de posição trans de um composto inorgânico ou orgânico
UV/Vis	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e do visível
E	Absortividade molar
V	Frequência de estiramento
Δ	Deslocamento químico nos espectros de RMN
A	Carbono alfa
Π	Ligação pi
Σ	Ligação sigma
Gly	Glicina



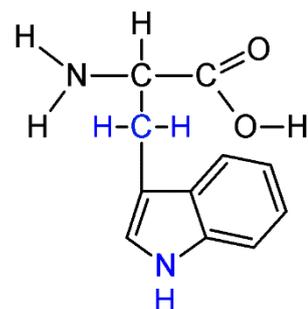
L-Ala L-Alanina



L-Met L-Metionina

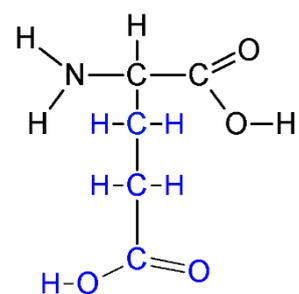


L-Trp L-Triptofano



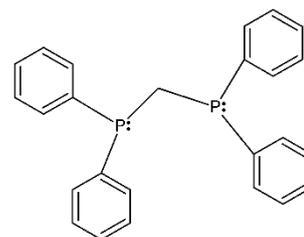
L-Glu

L- Ácido Glutâmico



Dppm

1,1-bis(difenilfosfina)metano.....



LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Constantes de acoplamentos do $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ obtido pelo espectro de RMN ^{31}P {H}.....	57
Tabela 2: Tentativa de atribuições das frequências vibracionais (cm^{-1}) nos espectros de absorção na região do infravermelho dos novos compostos	67
Tabela 3: Dados de espectroscopia de absorção UV/Vis para os compostos, em DMSO	71
Tabela 4: Dados eletroquímicos dos compostos	75
Tabela 5: Comprimentos (Å) e ângulos ($^\circ$) de ligação selecionados da estrutura dos compostos (1), (2) e (3)	79
Tabela 6: Dados de K_{sv} e K_{q} obtidos para os compostos	81
Tabela 7: Resultados obtidos para as constantes K_{b} e n para os compostos sintetizados	83
Tabela 8: Resultados obtidos para ΔG , ΔH , ΔS dos compostos obtidos.....	84
Tabela 9: Atividade citotóxica in vitro (IC_{50}) e índice de seletividade para os compostos nas linhagens celulares A549, MDA-MB-231 e MRC5, depois de 48 h	89

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação da formação do câncer a partir da célula normal.....	21
Figura 2: Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes, estimados para 2018, por sexo no Brasil	22
Figura 3: Representação das principais técnicas utilizadas para o tratamento do câncer	25
Figura 4: Metalofármaco arsfenamina conhecido como <i>Salvarsan</i>	27
Figura 5: Estrutura do fármaco inorgânico conhecido como cisplatina.....	28
Figura 6: Compostos de platina (II) com uso clínico: (a) carboplatina; (b) oxaliplatina; (c) nedaplatina; (d) lobaplatina e (e) heptaplatina	29
Figura 7: Compostos de rutênio (III) que se entram em ensaios clínicos: (a) NAMI-A; (b) KP1019; (c) NKP-1339	34
Figura 8: Compostos de rutênio (II) em fase de otimização: (a) RAPTA-C e (b) RAPTA-T	36
Figura 9: Estrutura geral dos aminoácidos, representando os grupos ácido carboxílico, amino e o hidrogênio do carbono	37
Figura 10: Representação das configurações L e D da rotação ótica do aminoácido ...	38
Figura 11: Representação das ligações σ e π (retrodoação) entre metal-ligante.....	40
Figura 12: Estrutura da bifosfina dppm.....	41
Figura 13: Representação esquemática de possíveis modos de interação compostos-DNA	43
Figura 14: Representação dos arcabouços proteicos das albuminas do soro bovino (BSA) e humano (HSA), destacando a localização dos resíduos de triptofano	44
Figura 15: Esquema do modelo reacional para obtenção dos novos compostos	45
Figura 16: Representação do teste de citotoxicidade	52
Figura 17: Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do precursor <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$ em D_2O ..	54
Figura 18: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, em DMSO-d_6	55
Figura 19: Espectro ampliado de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do $\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ do átomo de fósforo P_A , determinando as constantes de acoplamento a partir do diagrama de separação (árvore) em DMSO-d_6	56

Figura 20: Espectro ampliado de RMN ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ do $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ do átomo de fósforo P_B , determinando as constantes de acoplamento a partir do diagrama de separação (arvore) em $\text{DMSO}-d_6$	57
Figura 21: Espectro COSY ($^{31}\text{P}-^{31}\text{P}$) do composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$	58
Figura 22: Espectro de RMN ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ do $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ que apresenta dois centros assimétricos em $\text{DMSO}-d_6$	58
Figura 23: Espectro de RMN ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ dos compostos (2), (3) e (4) que apresentam dois centros assimétricos em $\text{DMSO}-d_6$	60
Figura 24: Espectro de RMN ^1H do composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em $\text{DMSO}-d_6$...	61
Figura 25: Espectro de COSY ($^1\text{H}-^1\text{H}$) do composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em $\text{DMSO}-d$	62
Figura 26: Espectros ^{13}C e DEPT-135 do $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, em $\text{DMSO}-d_6$	62
Figura 27: Espectro de RMN ^1H do composto $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em $\text{DMSO}-d_6$ 63	63
Figura 28: Espectro de COSY ($^1\text{H}-^1\text{H}$) do $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, em $\text{DMSO}d_6$	64
Figura 29: Espectros ^{13}C e DEPT-135 do $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em $\text{DMSO}-d_6$	65
Figura 30: Espectro de absorção na região do infravermelho, do precursor e dos compostos obtidos, de formula geral $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, em KBr	66
Figura 31: Espectro de absorção de infravermelho do $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, em KBr	68
Figura 32: Espectro de absorção de infravermelho do $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, em KBr	69
Figura 33: Espectros de absorção na região ultravioleta e visível do (1) precursor e do (2) - composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em DMSO	70
Figura 34: Voltamograma cíclico e de onda quadrada, do precursor em CH_2Cl_2 (1 mol L^{-1} de PTBA) com eletrodo de trabalho carbono vítreo, o eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl e o eletrodo auxiliar de platina	72
Figura 35: Voltamograma (a) cíclico e (b) onda quadrada do composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em CH_2Cl_2 (1 mol L^{-1} de PTBA) com eletrodo de trabalho carbono vítreo, o eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl e o eletrodo auxiliar de platina	73
Figura 36: Voltamograma (a) cíclico e (b) onda quadrada do composto $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em CH_2Cl_2 (1 mol L^{-1} de PTBA) com eletrodo de trabalho carbono vítreo, o eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl e o eletrodo auxiliar de platina.....	73

Figura 37: Voltamograma de onda quadrada do triptofano, típico dos aminoácidos, em solução Tampão Trizma (1 mol L^{-1}) com eletrodo de trabalho carbono vítreo, o eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl e o eletrodo auxiliar de platina.	74
Figura 38: Estrutura cristalina do precursor cis-[RuCl ₂ (dppm) ₂], compostos (1), (2a), (2b) e (3) e os deslocamentos da elipsoide são estimados com nível de 30%.....	76
Figura 39: Espectro de supressão de fluorescência do - [Ru(Gly)(dppm) ₂]PF ₆ em 280 nm nas temperaturas 25 °C e 37 °C	80
Figura 40: Curvas de Stern-Volmer para BSA na presença de diferentes concentrações do [Ru(Gly)(dppm) ₂]PF ₆ , excitação = 280 nm, [BSA] = $1,6 \times 10^{-5} \text{ mol}$	82
Figura 41: Gráficos de IC ₅₀ dos novos compostos (1)- [Ru(Gly)(dppm) ₂]PF ₆ , (2)- [Ru(L-Ala)(dppm) ₂]PF ₆ , (3)- [Ru(L-Met)(dppm) ₂]PF ₆ , (4)- [Ru(L-Trp)(dppm) ₂]PF ₆ e (5)- [Ru(Gly)(dppm) ₂]PF ₆ , na linhagem tumoral A549	85
Figura 42: Gráficos de IC ₅₀ dos novos compostos (1)- [Ru(Gly)(dppm) ₂]PF ₆ , (2)- [Ru(L-Ala)(dppm) ₂]PF ₆ , (3)- [Ru(L-Met)(dppm) ₂]PF ₆ , (4)- [Ru(L-Trp)(dppm) ₂]PF ₆ e (5)- [Ru(Gly)(dppm) ₂]PF ₆ , na linhagem tumoral MDA-MB-231	86
Figura 43: Gráficos de IC ₅₀ dos novos compostos (1)- [Ru(Gly)(dppm) ₂]PF ₆ , (2)- [Ru(L-Ala)(dppm) ₂]PF ₆ , (3)- [Ru(L-Met)(dppm) ₂]PF ₆ , (4)- [Ru(L-Trp)(dppm) ₂]PF ₆ e (5)- [Ru(Gly)(dppm) ₂]PF ₆ , na linhagem tumoral MRC-5	87

RESUMO**INVESTIGAÇÃO DE ATIVIDADE CITOTÓXICA DE
COMPLEXOS DE RUTÊNIO (II) E SUA INTERAÇÃO COM
BSA**

O trabalho centra-se na síntese e caracterização de cinco novos compostos de rutênio (II) contendo aminoácidos quirais (L-Alanina, L-Metionina, L-Triptofano e L-Ácido Glutâmico) e não-quiral (Glicina) e bifosfinas, devido aos interesses biológicos. Os novos compostos apresentam formula geral $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, onde AA refere-se aos ligantes aminoácidos, dppm corresponde a 1,1-bis(difenilfosfina)metano. Todos os compostos sintetizados foram caracterizados por espectroscopia de ressonância magnética nuclear $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e suas correlações bidimensionais, espectroscopia de absorção na região do infravermelho e na região do Uv-visível, voltametria cíclica e onda quadrada, condutividade molar, análise elementar e difração de raios X por monocristal. Os compostos foram avaliados quanto à atividade citotóxica na linhagem tumoral A549 (carcinoma de pulmão), MDA-MB-231 (adenocarcinoma de mama metastático) e na linhagem normal MRC-5 (fibroblasto de pulmão humano), apresentaram resultados promissores. Para fins de compreensão do mecanismo de ação dos compostos, foi realizado estudo de interação com a albumina soro bovina (BSA).

ABSTRACT**INVESTIGATION OF CYTOTOXIC ACTIVITY OF
RUTHENIUM (II) COMPLEXES AND ITS INTERACTION
WITH BSA**

The work focuses on the synthesis and characterization of new ruthenium (II) compounds containing foreign amino acids (L-Alanine, L-Methionine, L-Tryptophan and L-Acid Glutamic) and non-chiral (Glycine) and bisphosphines, interests. The new compounds have the general formula $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, where AA refers to the linking amino acids, dppm corresponds to 1,1-bis(diphenylphosphino) methane. All components performed were characterized by nuclear magnetic resonance spectroscopy, $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ and their two-dimensional correlations, infrared and Uv-visible region absorption spectroscopy, cyclic and square wave voltammetry, molar conductivity, elemental analysis and X-ray diffraction by single crystal. They were analyzed for cytotoxic activity in the A549 (lung carcinoma), MDA-MB-231 (metastatic breast adenocarcinoma) and normal MRC-5 (human lung fibroblasts) lineage, as well as promising. The interaction mechanism of the prototypes was involved in the study of the interaction with bovine serum albumin (BSA).

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	21
1.1. CÂNCER.....	21
1.1.1. Principais tipos de câncer	22
1.1.2. Principais formas de tratamento do câncer.....	25
1.2. A QUÍMICA INORGÂNICA MEDICINAL E O PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS	27
1.2.1. Compostos de coordenação como potenciais agentes quimioterápicos	30
1.2.2. Compostos de rutênio como potenciais agentes quimioterápicos	32
1.3. AMINOÁCIDOS	36
1.4. LIGANTES FOSFÍNICOS	39
1.5. INTERAÇÕES DOS COMPOSTOS DE RUTÊNIO (II) COM BIOMOLÉCULAS	42
1.5.1. Ácido desoxirribonucleico (DNA)	42
1.5.2. Albumina do soro bovino (BSA).....	43
2. OBJETIVOS	46
2.1. OBJETIVO GERAL	46
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	46
3. METODOLOGIA.....	47
3.1. REAGENTES E SOLVENTES	47
3.2. SÍNTESES DOS PRECURSORES.....	47
3.2.1. Síntese do complexo <i>trans</i> -[RuCl ₂ (dppm) ₂] (CHATT; HAYTER, 1961) ..	47
3.2.2. Síntese do complexo <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppm) ₂] (adaptada) (SULLIVAN; CALVERT; MEYER, 1980; SULLIVAN; MEYER, 1982).....	48
3.3. SÍNTESES DOS COMPOSTOS.....	48
3.4. TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO	48
3.4.1. Análise elementar	49
3.4.2. Condutância molar.....	49
3.4.3. Medidas eletroquímicas	49
3.4.4. Difração de raios X.....	49
3.4.5. Espectroscopia de absorção na região UV/Vis.....	50
3.4.6. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.....	50

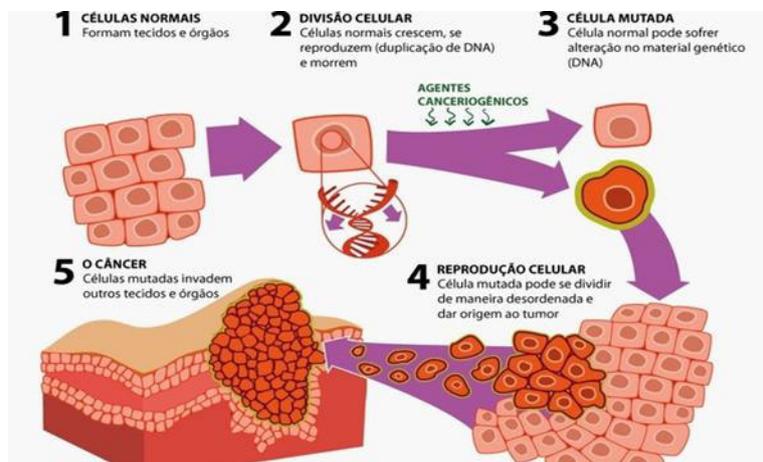
3.4.7.	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear	50
3.4.8.	Estudo de interação com BSA por espectroscopia de emissão de fluorescência.....	50
3.4.9.	Ensaio de viabilidade celular (método MTT)	51
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
4.1.	CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS	53
4.1.1.	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e suas correlações bidimensionais: COSY ($^{31}\text{P} - ^{31}\text{P}$)	53
4.1.2.	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear ^1H e ^{13}C e sua correlação bidimensional: COSY ($^{31}\text{P} - ^{31}\text{P}$) e DEPT-135	60
4.1.3.	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.....	66
4.1.4.	Espectroscopia de absorção na região do UV/Vis.....	69
4.1.5.	Medidas eletroquímicas	72
4.1.6.	Difração de raios X por monocristal.....	75
4.1.7.	Estudo de interação dos compostos com BSA	80
4.1.8.	Ensaio de citotoxicidade dos compostos.....	84
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	90
6.	REFERÊNCIAS	92
7.	APÊNDICE.....	113

1. INTRODUÇÃO

1.1. CÂNCER

O câncer é o nome geral dado a um conjunto de mais de 100 doenças, que têm em comum o crescimento desordenado de células, que tendem a invadir tecidos e órgãos vizinho (INCA, 2017c). O câncer é, atualmente, uma das maiores causas de morbimortalidade no mundo e por isto é cada vez maior a necessidade da prevenção desta enfermidade (INCA, 2012, 2017a, 2017c). A taxa de mortalidade por câncer nos últimos anos vem aumentando em função do crescimento populacional, processo de industrialização e mudanças nos hábitos de vida (GEBRIM, 2016). E assim, é o câncer, considerado um problema de saúde pública e esforços devem ser mobilizados para sua prevenção e cura (INCA, 2016). A Figura 1, ilustra o processo de formação do câncer.

Figura 1: Representação da formação do câncer a partir da célula normal



Fonte: www.tuasaude.com

Como pode ser observado na Figura 1, o câncer surge a partir de um erro que ocorre na divisão das células do corpo, originando as células anormais (BERNDSSEN et al., 2017a). Geralmente as células normais do organismo humano, vivem, dividem-se e morrem, porém, as células cancerosas, que são aquelas que estão alteradas, e que provocam o câncer, dividem-se de forma descontrolada, dando origem a neoplasia (INCA, 2014, 2017b, 2018a). As neoplasias (câncer in situ e câncer invasivo)

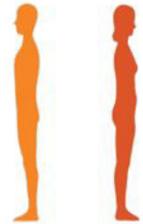
correspondem à forma não controlada de crescimento celular e, na prática, são denominados tumores. As neoplasias benignas ou tumores benignos têm seu crescimento de forma organizada, geralmente lento, expansivo e apresentam limites bem nítidos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

As neoplasias malignas ou os tumores malignos manifestam um elevado grau de autonomia e são capazes de invadir tecidos vizinhos e provocar metástases, podendo ser resistentes ao tratamento e causar a morte ao hospedeiro (SAÚDE, 2017). O câncer não invasivo ou (carcinoma in situ) é o primeiro estágio em que o câncer pode ser classificado (essa classificação não se aplica aos cânceres do sistema sanguíneo) (INCA, 2017b). A maioria dos cânceres in situ é curável se for tratada antes de progredir para a fase de câncer invasivo (INCA/MS, 2002). Portanto, o câncer invasivo ocorre a partir da capacidade de invasão e disseminação que os tumores malignos apresentam produzindo outros tumores em outras partes do corpo originando-se a metástase (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

1.1.1. Principais tipos de câncer

O câncer pode surgir em qualquer parte do corpo. Entretanto, alguns órgãos são mais afetados do que outros, e cada órgão, por sua vez, pode ser acometido por tipos diferenciados de tumor (FONTES, ANA PAULA SOARES; CÉSAR, ELOI TEIXEIRA E BERARDO, 2005; OLIVEIRA, 2011). Os vários tipos de câncer são classificados de acordo com a localização primária do tumor (ARAGÃO et al., 1994; OLIVEIRA, 2011). Na Figura 2, é mostrada a estimativa para o ano de 2018 em relação ao número de casos novos de câncer, e porcentagem de incidência, por sexo.

Figura 2: Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes, estimados para 2018, por sexo no Brasil

Localização primária	Casos	%			Localização primária	Casos	%
Próstata	68.220	31,7%			Mama Feminina	59.700	29,5%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	18.740	8,7%			Cólon e Reto	18.980	9,4%
Cólon e Reto	17.380	8,1%			Colo do Útero	16.370	8,1%
Estômago	13.540	6,3%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.530	6,2%
Cavidade Oral	11.200	5,2%			Glândula Tireoide	8.040	4,0%
Esôfago	8.240	3,8%			Estômago	7.750	3,8%
Bexiga	6.690	3,1%			Corpo do Útero	6.600	3,3%
Laringe	6.390	3,0%			Ovário	6.150	3,0%
Leucemias	5.940	2,8%			Sistema Nervoso Central	5.510	2,7%
Sistema Nervoso Central	5.810	2,7%			Leucemias	4.860	2,4%

Fonte: www.inca.gov.br/estimativa/2018/casos

Segundo (INCA, 2018a), a estimativa para o Brasil em relação à ocorrência dos casos novos de câncer será de 600 mil para o biênio 2018-2019. Essas avaliações refletem o perfil de um país que possui os cânceres de próstata, mama feminina e cólon e reto, entre os mais incidentes, entretanto ainda apresenta altas taxas para os cânceres do colo do útero, estômago e esôfago (INCA, 2016, 2017a).

O câncer de mama é considerado o tipo mais frequente no mundo, e no Brasil, sendo decorrente de uma série de fatores de risco, como menarca precoce, predisposição genética hereditária, idade avançada, menopausa tardia, obesidade, sedentarismo, tabagismo (ALVARENGA et al., 2014; SANTOS, 2013). Como pode ser observado, não existe uma causa única para o câncer de mama, que é mais comum em mulheres (apenas 1% dos casos diagnosticados em homens) e tem na idade um dos mais importantes fatores de risco para a doença (INCA, 2012).

Cerca de quatro em cada cinco casos ocorrem após os 50 anos. O câncer de mama de caráter genético/hereditário corresponde a apenas 5% a 10 % do total dos casos da doença, visto que quando detectado em fases iniciais, o que ocorre em grande parte dos casos, aumenta as chances de tratamento (INCA, 2017b). A detecção pode ser feita pela mamografia, mas quando realizada em mulheres sem sinais e sintomas da doença, há um balanço entre benefícios e riscos dessa prática (mamografia de rastreamento) (GEBRIM, 2016; INCA, 2017c).

No Brasil, o câncer de próstata é o segundo mais comum entre os homens (INCA, 2018b). A taxa de incidência deste tipo de câncer é maior nos países desenvolvidos, em comparação aos países em desenvolvimento, sendo considerado um câncer da terceira idade, já que cerca de três quartos dos casos no mundo ocorrem a partir dos 65 anos (INCA, 2002; JÚNIOR et al., 2015). O aumento da ocorrência do câncer, observado nas taxas de incidências no Brasil, pode ser parcialmente justificado pela evolução dos métodos diagnósticos (exames), pela melhoria na qualidade dos sistemas de informação do país e pelo aumento na expectativa de vida. Alguns desses tumores podem crescer de forma rápida, espalhando-se para outros órgãos e podendo levar à morte. A grande maioria, porém, cresce de forma lenta, que não chega a ameaçar a saúde do homem (INCA, 2002; JÚNIOR et al., 2015).

De acordo com (CUNHA, 2012), a decisão do uso do rastreamento do câncer de próstata por meio da realização de exames de rotina em homens, sem sinais e

sintomas sugestivos de câncer de próstata, como estratégia de saúde pública, deve se basear em evidências científicas de qualidade sobre possíveis benefícios e danos associados à essa intervenção.

O câncer de pulmão é um tumor caracterizado pela quebra dos mecanismos celulares naturais do pulmão, a partir de estímulos carcinogênicos ao longo dos anos, levando ao crescimento desorganizado de células malignas (INCA, 2017c; SANTORO, 1998). Este tumor maligno, que pode pegar desde a traqueia até a periferia do pulmão, é uma das principais causas de morte entre as neoplasias no Brasil (ALGRANTI; BUSCHINELLI; CAPITANI, 2010; ISMAEL et al., 2010). O tipo de câncer de pulmão que pode ser determinado a partir de uma amostra da lesão analisada é o carcinoma de pulmão, indiferenciado de grandes células, que geralmente cresce e se espalha lentamente do que o câncer de pequenas células, e que se caracteriza por ser encontrado em qualquer lugar do pulmão, o que pode torna-lo mais difícil de ser tratado. Este tipo de câncer é responsável por 10% a 15 % dentre os vários tipos de cânceres do pulmão (FERREIRA et al., 2016; INCA, 2012; ISMAEL et al., 2010).

Atualmente dentre os subtipos mais frequentes de câncer de pulmão o adenocarcinoma é responsável por cerca de 40% dos cânceres deste órgão (INCA, 2018a). É também o subtipo mais comum de câncer de pulmão entre os não-fumantes e inicia-se nas células que produzem o muco e outras substâncias e costuma progredir mais lentamente do que os outros tipos (ALGRANTI; BUSCHINELLI; CAPITANI, 2010; FERREIRA et al., 2016). Entretanto, o carcinoma epidermoide começa nas células que revestem as vias aéreas no interior dos pulmões e são, geralmente, encontrados no centro do órgão, ao lado dos brônquios. Quase todos os casos de câncer de pulmão ocorrem em consequência do tabagismo (HENDGES; STOLL; MORESCHI, 2013; INCA, 2017b).

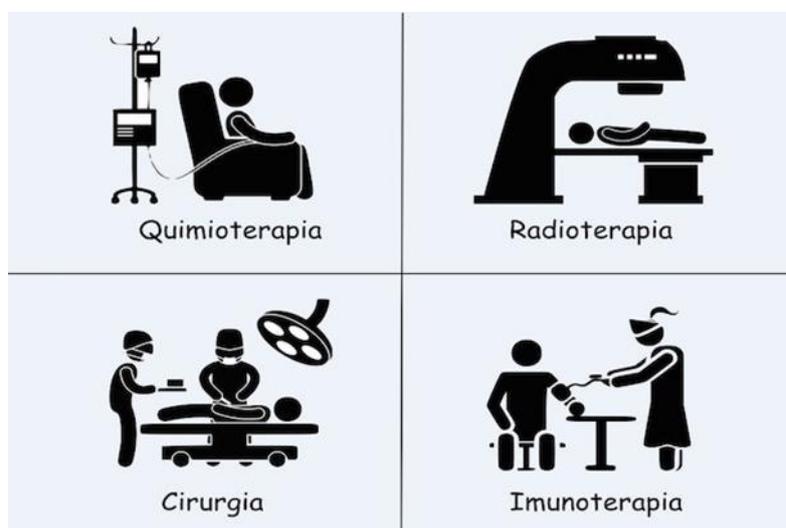
As linhagens de interesse de estudo foram **A549** (carcinoma de pulmão) por se tratar de um tipo de câncer de pulmão de células não pequenas e a forma mais comum de câncer de pulmão. Esta linhagem foi iniciada em 1972 por explante de pulmão de um homem caucasiano de 58 anos. **MDA-MB-231** (adenocarcinoma de mama metastático) trata-se de células epitelial de câncer de mama humano estabelecido a partir de um derrame pleural de uma mulher caucasiana de 51 anos de idade com um adenocarcinoma mamário metastático e é uma das células de câncer de mama mais comum usadas em laboratório de pesquisa. É uma linhagem triplo-negativa, altamente

agressiva, invasiva e pouco diferenciada, pois não possui expressão de receptor de estrogênio e receptor de progesterona. **MRC-5** (fibroblasto de pulmão humano) essa linhagem de culturas de células humanas compostas de fibroblastos de derivados de tecido pulmonar de feto masculino. São usadas para produzir várias vacinas, como varicela, poliomielite. As células MRC-5 infectadas secretam o vírus e podem ser cultivadas em grandes volumes adequados para produção comercial (CRUZ et al., 1992; CRUZ, 2017; II; BODIES; RNA, 2012)

1.1.2. Principais formas de tratamento do câncer

Um tratamento de sucesso depende da localização, tipo, tamanho da área de disseminação e a proporção do crescimento de câncer (INCA, 2017b; ONCOGUIA, 2018). Geralmente, o câncer é tratado com uma combinação de cirurgia, quimioterapia, radiação, e outras formas. Diferenciando-se de acordo com o paciente e o tipo de câncer (ALVARENGA et al., 2014; ARAÚJO *et al.*, 2007). A Figura 3, apresenta as principais formas de tratamento utilizados nos pacientes com câncer.

Figura 3: Representação das principais técnicas utilizadas para o tratamento do câncer



Fonte: Tua Saúde

A radioterapia é a modalidade terapêutica que usa as radiações ionizantes para destruir ou inibir o crescimento de células anormais que formam um tumor. Existem vários tipos de radiações, porém as mais utilizadas são as eletromagnéticas (Raios X, Raios γ) (ALVARENGA *et al.*, 2014; FONTES, ANA PAULA SOARES; CÉSAR,

ELOI TEIXEIRA E BERVALDO, 2005). A radioterapia pode ser usada em combinação com a quimioterapia ou outros recursos usados no tratamento dos tumores. Vale ressaltar que, as células normais também podem ser danificadas pela radioterapia. Entretanto, elas se repararam, o que não acontece com as células cancerígenas (GOMES, 2012; OLIVEIRA, 2011; PAULA; FONTES, 2005).

A cirurgia é a forma mais antiga de terapia contra o câncer. É o principal tratamento utilizado para vários tipos de câncer e pode ser curativa quando a doença é diagnosticada em estágio inicial. Também pode ser usada com objetivo de diagnóstico, como a biópsia, e em alguns casos é usada para a remoção de metástases, dependendo do câncer e o paciente (ALVARENGA *et al.*, 2014). A cirurgia é realizada especialmente se a doença parece estar contida em uma área específica, e é realizada para retirar o tumor junto com qualquer tecido nas proximidades que possa conter células cancerosas. A cirurgia é mais bem-sucedida quando o tumor ainda não se disseminou para outras áreas. Após a cirurgia o médico pode indicar ainda algumas sessões de radioterapia para eliminar células tumorais que podem não ter sido retiradas, especialmente nos casos de câncer de mama primário de alto risco, ou câncer de mama avançado (FONTES, ANA PAULA SOARES; CÉSAR, ELOI TEIXEIRA E BERVALDO, 2005; MATOS, 2001).

A quimioterapia antineoplásica consiste no emprego de substâncias químicas, isoladas ou em combinação, com objetivo de tratar as neoplasias malignas (FONTES, ANA PAULA SOARES; CÉSAR, ELOI TEIXEIRA E BERVALDO, 2005; FONTES; DE ALMEIDA; DE ANDRADE NADER, 1997; OLIVEIRA, 2011). É uma forma de tratamento muito utilizada contra o câncer, e consiste na administração de fármacos, quer sejam metalofármacos, ou compostos orgânicos, usualmente administrados por via intravenosa, embora também possam ser administrados por via oral (INCA, 2017b). O tratamento com quimioterapia é feito com o uso combinado de vários medicamentos indicados pelo oncologista e é comum o surgimento de efeitos colaterais como náuseas, vômito, dor de cabeça, falta de apetite e queda de cabelos. Algumas vezes certos fármacos podem causar uma sensação de desconforto, queimação na veia ou placas avermelhadas na pele, como urticária (ALVARENGA *et al.*, 2014; ARAÚJO *et al.*, 2007; MANUEL; CHAVES, 2015).

Formas recentes de tratamento contra o câncer são a hormonioterapia e imunoterapia, modalidades terapêuticas que tem com o objetivo de impedir a ação dos

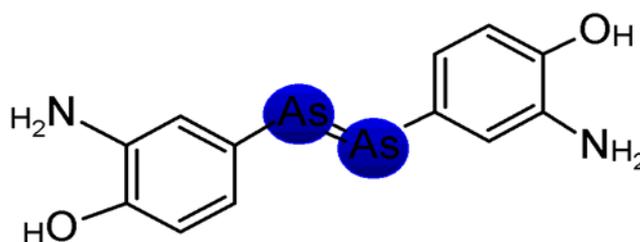
hormônios em células sensíveis e potencializar o sistema imunológico, utilizando anticorpos produzidos pelo próprio paciente ou em laboratório, respectivamente (ALVARENGA et al., 2014; INCA, 2017c).

1.2. A QUÍMICA INORGÂNICA MEDICINAL E O PLANEJAMENTO DE FÁRMACOS

A química medicinal continua a ser uma ciência desafiadora (MONTANARI, 2000; SILVA, 2013). Os químicos participam dos fundamentos da prevenção, terapia e compreensão das doenças e assim, contribuem para uma vida mais saudável, apresentando caráter interdisciplinar nas áreas de ciências biológicas, médicas, farmacêuticas, químicas e outras (FONTES, ANA PAULA SOARES; CÉSAR, ELOI TEIXEIRA E BERARDO, 2005; MANUEL; CHAVES, 2015). Neste sentido, destina-se a descoberta, desenho, identificação de compostos biologicamente ativos, estudo do seu metabolismo a nível molecular e o estudo de relações estrutura-atividade. A química orgânica tem feito inúmeras contribuições para a medicina, através da descoberta de princípios ativos, do planejamento e da síntese de fármacos (HASSAN *et al.*, 2014; SCOLARO *et al.*, 2007). A química inorgânica tem o papel semelhante e relevante, tanto na clínica quanto na pesquisa e no desenvolvimento de novos medicamentos (ARAGÃO et al., 1994; CARLOS LIMA; RODRIGUEZ, 2011; MONTANARI, 2000).

A química inorgânica medicinal teve seu impulso através de Paul Ehrlich, pai da quimioterapia e autor do conceito “bala mágica”, usando compostos para atacar um organismo invasor, sem ataque ao hospedeiro, introduzindo as primeiras ideias sobre relação estrutura-atividade (BERARDO, 2005; SÁ, 2011). A Figura 4 representa, a estrutura proposta por Paul Ehrlich para o metalofármaco desenvolvido a base do metal arsênio conhecido como arsfenamina (Salvarsan), utilizado para tratamento da Sífilis.

Figura 4: Metalofármaco arsfenamina conhecido como *Salvarsan*

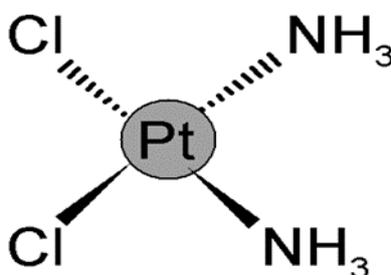


Fonte: Autora

Dentre as descobertas dos compostos a base de íons metálicos com propriedades medicinais, destaca-se o $\text{cis-[PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$ que apresentou propriedades antitumorais, observadas por Barnett Rosenberg e colaboradores (CHABNER, 2010; DASARI; BERNARD TCHOUNWOU, 2014; FONTES; DE ALMEIDA; DE ANDRADE NADER, 1997; TUNDO *et al.*, 2015). A Figura 5, representa o composto cisplatina que teve autorização pela FDA (Food Drug Administration), para o tratamento de diversos tipos de câncer, acarretando no sucesso do agente antineoplásico.

O composto $\text{cis-[PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$, apresenta mecanismo de ação por meio de ligações covalentes com bases nitrogenadas do DNA (FONTES; DE ALMEIDA; DE ANDRADE NADER, 1997; NEVES; VARGAS, 2011). Os estudos apontam que, o cisplatina, ao entrar na célula, sofre sucessivas reações de hidrólise para formar as espécies ativas, $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}(\text{OH}_2)]^+$ e $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{OH}_2)_2]^{2+}$ e se liga ao DNA, assim interferem nos processos de transcrição e replicação celular, levando à apoptose (FONTES, ANA PAULA SOARES; CÉSAR, ELOI TEIXEIRA E BERARDO, 2005; FONTES; DE ALMEIDA; DE ANDRADE NADER, 1997). Vale ressaltar que, alguns efeitos colaterais persistiram durante ao uso do cisplatina, tais como: resistência pelo organismo, neurotoxicidade, nefrotoxicidade, vômitos, fadiga e diarreia (BARREIRO; FRAGA, 2015; DASARI; BERNARD TCHOUNWOU, 2014; TUNDO *et al.*, 2015). Diante dos problemas ocorridos durante o tratamento do câncer, usando $\text{cis-[PtCl}_2(\text{NH}_3)_2]$, a busca por outros complexos metálicos com potenciais aplicações farmacológicas e menores efeitos colaterais, tem sido alvo de muita pesquisa em química inorgânica objetivando aplicações medicinais (AMIR *et al.*, 2014; DASARI; BERNARD TCHOUNWOU, 2014; KATHIRESAN *et al.*, 2016).

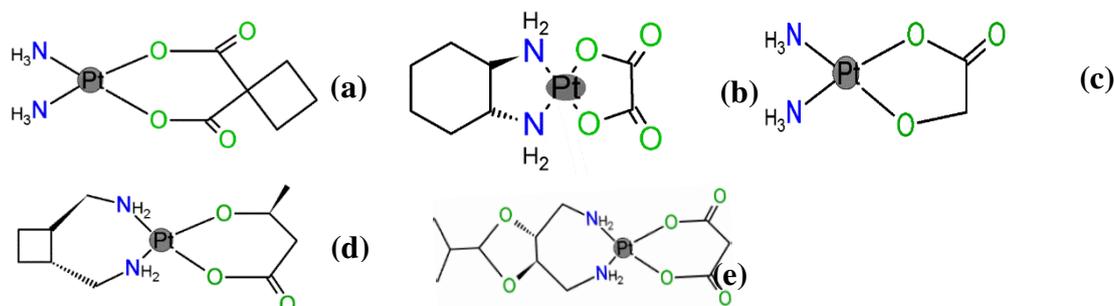
Figura 5: Estrutura do fármaco inorgânico conhecido como cisplatina



Fonte: Autora

Pesquisas nesta área buscaram por drogas da segunda e terceira gerações de platina que foram obtidas e submetidas a testes biológicos e chegaram as fases de ensaios clínicos (ALMOTAIRY *et al.*, 2017; BIRSACK; SCHOBERT, 2009; NOTARO; GASSER, 2017; WANG *et al.*, 2018). E após, autorizadas para comercialização pela FDA (Food and Drug Administration), foram a carboplatina e a oxaloplatina. Entretanto, as drogas nedaplatina, lobaplatina e heptaplatina foram aprovadas para usos clínicos com comercialização restrita ao Japão, China e Coreia, respectivamente (NEVES; VARGAS, 2011; TRUDU *et al.*, 2015; VAN RIJT; SADLER, 2009; ZHE LIU, 2014). Na Figura 6, são representadas as drogas (a) carboplatina, (b) oxaloplatina, (c) nedaplatina, (d) lobaplatina e (e) heptaplatina.

Figura 6: Compostos de platina (II) com uso clínico: (a) carboplatina; (b) oxaliplatina; (c) nedaplatina; (d) lobaplatina e (e) heptaplatina



Fonte: Autora

A carboplatina [*cis*-diamino(2-ciclobutanodicarboxilato)] platina (II) possui uma estrutura diferente do cisplatina em relação a presença de ligantes do tipo carboxilato no lugar dos ligantes cloretos lábeis (FONTES; DE ALMEIDA; DE ANDRADE NADER, 1997; NEVES; VARGAS, 2011). O carboxilato confere maior solubilidade em água, comparado à cisplatina, apresenta uma menor reatividade, quando comparado com o composto cisplatina, ligando-se em menor extensão às proteínas do plasma, além de ser mais facilmente excretado pela urina. Porém, este fármaco é menos ativo que a droga cisplatina contra alguns tipos de cânceres, como os de cabeça, pescoço e bexiga, mas possui eficácia similar à da cisplatina em carcinoma de pulmão (FARNAZ *et al.*, 2018; IMRAN *et al.*, 2018; ZHAO *et al.*, 2018).

A oxaliplatina [*trans*-1R, 2R-diaminociclohexano (DACH)-oxalatoplatina (II)], difere do cisplatina pela presença do grupo lábeis oxalato e do ligante carreador DACH (diaminociclohexano) (FARNAZ *et al.*, 2018; NEVES; VARGAS, 2011). Os adutos de

platina formados neste caso não são reconhecidos pelo sistema de reparo do DNA, fazendo com que este fármaco seja ativo em linhagens de células resistentes ao cisplatina. Além disso, seus metabólitos ativos se acumulam pouco no plasma, implicando em ausência de nefrotoxicidade (DALIAN *et al.*, 2013; NEVES; VARGAS, 2011; PIRPOUR TAZEHKAND *et al.*, 2018).

1.2.1. Compostos de coordenação como potenciais agentes quimioterápicos

Os compostos de coordenação têm sido usados ao longo da história da medicina humana para tratar várias doenças (REIS, 2014; SILVA, 2013). Esses metais como platina, ouro, cobre, gálio e rutênio, têm atraído atenção, devido às suas propriedades biológicas promissoras, especialmente atividade antitumoral (KOSTOVA, 2006; MAVROIDI *et al.*, 2016). Os complexos de ouro têm apresentado boas perspectivas para o problema da resistência à cisplatina (BERALDO, 2005). Os complexos de ouro (III) tornam-se alvos de pesquisas contra o câncer e possuem grande potencial para entrar em ensaios clínicos, já que alguns deles são altamente citotóxicos para tumores sólidos *in vitro*, enquanto causam toxicidade mínima (LUM *et al.*, 2014; RAMACHANDRAN *et al.*, 2017). Ao contrário da cisplatina, os principais alvos biológicos dos complexos de ouro (III) e os mecanismos de ação da citotoxicidade induzida pelo ouro ainda são desconhecidos (TIEKINK, 2002).

Os complexos de ouro (III) foram sintetizados para assemelhar-se com a estrutura da cisplatina. Estudos *in vitro* com compostos de ouro (III) mostraram fracas interações com DNA, além de serem menos estáveis sob condições fisiológicas devido ao seu alto potencial de redução e rápida hidrólise (ALTAF *et al.*, 2017; MILACIC; DOU, 2009). Portanto, a seletividade adequada de ligantes para aumentar a estabilidade dos compostos é um grande desafio no desenho reacional de complexos de ouro (III). Neste intuito, (LAZAREVIĆ; RILAK; BUGARČIĆ, 2017a), sintetizaram uma série de complexos de ouro (III) com ligantes quelatos como $[\text{Au}(\text{en})\text{Cl}_2][\text{Cl}]$ (en=1,2 etilenodiamino, $[\text{Au}(\text{dien})\text{Cl}][\text{Cl}_2]$ (dien=dietilenotriamina), $[\text{Au}(\text{ciclám})\text{ClO}_4]$ (ciclám=1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano) e $[\text{Au}(\text{phen})(\text{Cl}_2)][\text{Cl}]$ (Phen = fenantrolina / terpiridina), a fim de aumentar a estabilidade do centro metálico (ouro). As suas propriedades citotóxicas foram testadas em células de tumor de ovário humano

(A2780), resistente à cisplatina. Na maioria dos casos os compostos investigados mostraram propriedades citotóxicas relevantes com valores de IC50 entre 0,2 e 10 μM (LAZAREVIĆ; RILAK; BUGARČIĆ, 2017b).

O cobre é um elemento essencial, associado às vias biológicas, pois atua como um cofator na maioria dos organismos aeróbicos (HORDYJEWSKA; POPIOŁEK; KOCOT, 2014; WANG et al., 2010). Os complexos de cobre são esperados serem menos tóxicos, por ser um metal endógeno e apresentar atividades antiproliferativas. Embora, o nível de cobre no organismo humano seja controlado, altos níveis séricos e teciduais de cobre foram encontrados em muitos tipos de cânceres humanos (mama, linfoma, próstata, cólon, pulmão) (BLOCKHUYS; WITTUNG-STAFSHEDE, 2017; FESTA; THIELE, 2011). Esses fenômenos estão relacionados à importante função do cobre na angiogênese, essencial para o crescimento, invasão e metástase. Em vista disso, confirmou-se que os compostos de cobre com ligantes quelantes podem ter um alto valor terapêutico atuando como moléculas antiangiogênicas. Estudos mostram que alguns complexos de cobre podem atuar como agentes anticancerígenos em sistemas *in vitro* e *in vivo* (ARNESANO; NARDELLA; NATILE, 2018; BLOCKHUYS; WITTUNG-STAFSHEDE, 2017; FESTA; THIELE, 2011).

Os complexos de cobre (II) coordenados às isoflavonas mostraram citotoxicidade moderada contra cinco linhagens celulares de câncer humano, com valores de IC50 na faixa de 10-50 μM (PETERSON et al., 1998; SANTINI et al., 2014). Os complexos mostraram efeitos inibitórios mais fortes que as isoflavonas livres ou o íon metálico. Além disso, complexos de cobre (II) com hesperedina e apigenina mostraram inibição do crescimento das linhagens celulares SGC-7901 e Hep-G2, em comparação com os ligantes livres (SANTINI et al., 2014). Em um estudo recente, foi demonstrado que um complexo de cobre (II) com quercetina pode clivar o DNA, gerando quebras simples e duplas do DNA, aumentando o nível de espécies reativas de oxigênio que produzem dano oxidativo ao DNA e acaba induzindo apoptose (SANTINI et al., 2014).

Estudos mostraram que os compostos à base de gálio têm potencial atividade terapêutica contra certos tipos de câncer (CHITAMBAR et al., 2018; CHITAMBAR; SAX, 1992; PADILHA et al., 2017). Possuindo característica como mimético de ferro, o gálio perturba os processos de proliferação dependentes de ferro nas células tumorais. A ação do gálio na homeostase do ferro leva à ruptura da rebonucleótideo redutase, da

função mitocondrial e da regulação do receptor da transferrina e da ferritina (CHITAMBAR; ANTHOLINE, 2013; CHITAMBAR; SAX, 1992; WU et al., 2015). Além disso, o nitrato de gálio (primeiro composto de gálio que foi investigado em ensaios de fases I e II como agentes anticancerígenos) estimula um aumento nas espécies de oxigênio reativo mitocondrial nas células, o que desencadeia a regulação positiva da metalotioneína e da hemoxigenase-1. Ensaios clínicos mais recentes com esse composto de gálio, mostram que a citotoxicidade ainda precisa ser elucidada (ABRAMS; MURRER, 1993; CHITAMBAR, 2010).

Segundo (QI et al., 2018), uma série de complexos de gálio (III) com ligantes tiossemicarbazonas apresentam atividade antiproliferativas significativas. Os resultados da relação estrutura-atividade mostraram que a modificação do grupo lipofílico do ligante melhora sua atividade antiproliferativa, e a atividade biológica aumentam ainda mais após a coordenação de tiossemicarbazonas com o gálio. Estudos sobre mecanismo de apoptose demonstraram que os ligantes tiossemicarbazonas e os complexos gálio (III) promovem a apoptose de MCF-7 através da via apoptótica mitocondrial de uma maneira dependente da dose (QI *et al.*, 2018). A detecção de mecanismos anticancerígenos mostrou que a citotoxicidade dos complexos gálio (III) aumentou na capacidade de promover a apoptose em células MCF-7, mas também no ciclo celular (QI *et al.*, 2018).

1.2.2. Compostos de rutênio como potenciais agentes quimioterápicos

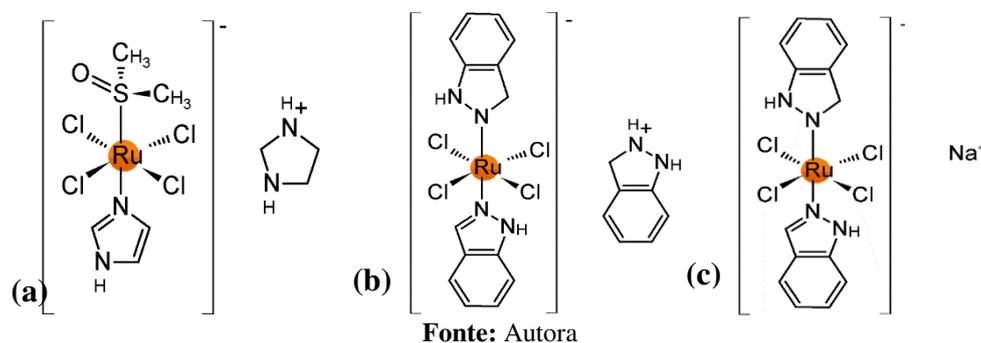
Diante de vários compostos de coordenação testados, os de rutênio têm se destacado como agentes antitumorais (ARAGÃO *et al.*, 1994; KOSTOVA, 2006; LI; COLLINS; KEENE, 2015). Nos últimos anos, vários complexos de rutênio surgiram na literatura, principalmente projetados para substituir a droga cisplatina, devido as várias vantagens que eles apresentam, tais como: propriedade antimetastática, toxicidade reduzida e atuarem em diversas linhagens celulares resistentes às drogas baseadas em platina (CLARKE, 2002; STEVENS et al., 2013; VAN RIJT; SADLER, 2009). Desde então, tem desenvolvido inúmeros complexos de rutênio, alguns dos quais com resultados bastante promissores, que atuam por mecanismos distintos dos complexos de platina. Recentemente, têm também sido estudadas as interações dos compostos de rutênio com prováveis biomoléculas e proteínas (DNA, BSA, HSA, transferrina)

(BARBOSA et al., 2014; CUNHA et al., 2018; MASSONI et al., 2017; VAN RIJT; SADLER, 2009).

O rutênio tem um conjunto de características que o torna um metal promissor para desenho de metalofármacos (ALLARDYCE; DYSON, 2001; CUNHA et al., 2016; DAVID et al., 2012). Destaca-se, entre os metais de coordenação, pela sua capacidade de formar complexos com uma variedade de estado de oxidação, principalmente (+2) e (+3) (BARBOSA et al., 2014; BERGAMO; SAVA, 2007; LI; COLLINS; KEENE, 2015). Por exemplo, complexos de rutênio (III) são desenhados para atuarem como pró-fármacos, circulando pelo organismo, de forma inertes (via proteínas transportadoras), até chegarem ao tumor (BARBOSA et al., 2014; TRONDL et al., 2014). Então, o ambiente em hipóxia induziria a redução do Ru (III) a Ru (II), podendo ser uma característica que o torna citotóxico levando à apoptose nas células tumorais (FARRELL, 1989; VAN RIJT; SADLER, 2009). Desse ponto de vista, o rutênio apresenta boa aplicação clínica, devido à baixa toxicidade que pode estar relacionada em “mimetizar” o ferro na ligação a várias biomoléculas incluindo a transferrina e albumina, uma vez que ambos se encontram localizados no mesmo grupo da tabela periódica (GAMBINO; OTERO, 2012; KOSTOVA, 2006; ZHE LIU, 2014).

Como as células cancerosas têm uma elevada divisão celular e necessitam assim de uma quantidade maior de ferro, os receptores transferrina estão nestas células em maior quantidade que uma célula saudável, e assim a ligação dos fármacos de rutênio possibilita uma distribuição mais eficiente nas células cancerosas (ALESSIO, 2017a; VAN RIJT; SADLER, 2009). Nessa perspectiva, três agentes antineoplásicos de rutênio (III) obtiveram destaque, conforme são representados na Figura 7, (a) o NAMI-A [trans - imidazol dimetilsulfóxido tetracloro rutenato (III) de imidazólio], (b) KP1019 [trans – tetraclorobis (1H – indazole) rutenato (III) de indazólio] e (c) NKP-1339 [trans – tetraclorobis (1H – indazole) rutenato (III) de sodium] (DWYER *et al.*, 2018; STEVENS *et al.*, 2016; TRONDL *et al.*, 2014), respectivamente.

Figura 7: Compostos de rutênio (III) que se entram em ensaios clínicos: (a) NAMI-A; (b) KP1019; (c) NKP-1339



O NAMI-A foi o primeiro complexo de rutênio (III) a dar entrada em estudos clínicos. Mostrou-se muito eficaz no tratamento de metástases (ALESSIO, 2017a; ALESSIO *et al.*, 1991). Em comparação com cisplatina apresenta uma atividade mais significativa em relação a metástases de câncer pulmonar (ALESSIO, 2017b; GABBIANI *et al.*, 2010; MESSORI *et al.*, 2000). Entretanto, testes *in vivo* (camundongos) evidenciaram as principais falhas deste metalofármaco: o NAMI-A tende a concentrar em tecidos ricos em colágeno, o que significa que apesar da especificidade deste complexo para metástases de certos tipos de câncer, acaba afetando os tecidos saudáveis dos rins e do fígado, assim mostrando toxicidade (BRATSOS *et al.*, 2007; GROESSL *et al.*, 2007). Então, foi recentemente retirado das fases de ensaios clínicos devido à sua baixa eficácia em relação aos ensaios (ALESSIO, 2017a).

O KP1019 foi desenvolvido por Keppler *et al.*, apresenta citotoxicidade contra tumores primários (DEPENBROCK *et al.*, 1997; KAPITZA *et al.*, 2005). A sua atividade foi testada *in vivo* em tumores primários (em tumores colorretais de ratos), tendo-se mostrado eficiente na redução da massa do tumor, enquanto que a cisplatina se mostrou inativa (LOPES *et al.*, 2015; STEVENS *et al.*, 2016). O KP1019 liga-se muito rapidamente à albumina e é muito eficientemente transportado por esta proteína (DEPENBROCK *et al.*, 1997; SINGH *et al.*, 2014a). Também é considerado um ativador da morte celular devido à provável interação com moléculas responsáveis pela sobrevivência da célula. Sabe-se que ele promove apoptose mitocondrial (DWYER *et al.*, 2018; SINGH *et al.*, 2014a; STEVENS *et al.*, 2016). Estudos sobre a interação do KP1019 com o DNA mostraram que seu modo de ação é similar a droga cisplatina, entretanto, com intensidade de aproximadamente 15 vezes menor no que se referem às ligações cruzadas DNA-DNA e DNA-proteína (JAKUPEC *et al.*, 2008; STEVENS *et al.*

al., 2016). O seu mecanismo exato ainda não foi elucidado (Dwyer et al., 2018; Singh et al., 2014b, 2014a).

Atualmente, o composto em destaque é o NKP-1339, que recentemente mostrou novos resultados promissores em ensaios clínicos de fase I, com baixos efeitos colaterais, relatados por Keppler, et. al. O NKP-1339 é o primeiro complexo antineoplásico baseado em rutênio em fase clínica contra câncer sólido (Flocke et al., 2016). O NKP-1339 apresenta atividade antitumoral baseada na ativação no meio redutor, e nas fortes interações com as proteínas séricas, tais como albumina e transferrina (Blazevic et al., 2017). A atividade redox do complexo representa um importante modo de ação, levando a perturbação do equilíbrio redox celular (Büchel et al., 2017). Estas perturbações no equilíbrio celular provocam à indução da paragem do ciclo celular na transição entre a fase G2 e mitose (G2/M), o bloqueio da síntese do DNA e a indução da apoptose através da via mitocondrial (Trondl et al., 2015).

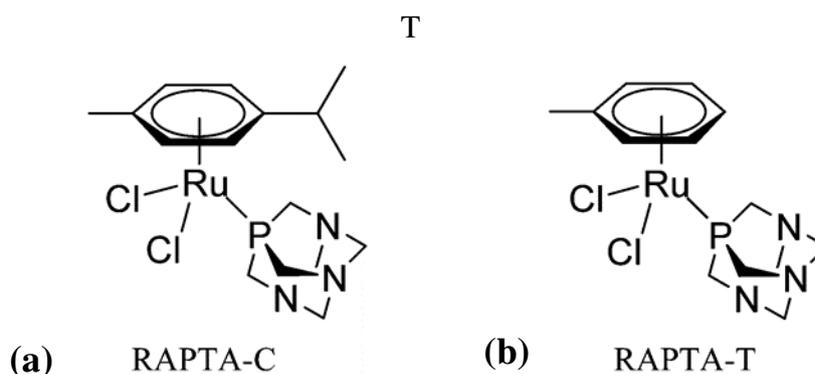
Recentemente o interesse por novos complexos de rutênio (II) bioativos como agentes antineoplásicos tem aumentado, por exibirem atividades promissoras, tanto em estudos *in vitro* e *in vivo* (Costa et al., 2017; Van Rijt; Sadler, 2009). Um grande número de complexos de rutênio (II) com diferentes tipos de ligantes têm sido estudados e os resultados destes complexos em relação aos vários tipos de linhagens tumorais ou normais dependem do tipo de ligantes coordenados ao metal (Oliveira et al., 2017a, 2017b). Então, iniciou-se uma busca por complexos de rutênio (II) que tivessem ligantes contribuíssem para atividade anticancerígena (Allardyce; Dyson, 2001; Van Rijt; Sadler, 2009).

Os compostos de rutênio (II) da classe de organometálicos com ligantes arenos conhecidos como pseudo-octáedricos, no qual o areno estabiliza o rutênio no estado de oxidação (+2) (Ang et al., 2011; Fricker, 2011; Wang et al., 2005). Possuem arcabouços do tipo “banco de piano” meio sanduíche, oferecendo muito espaço e potencial para modificações no areno e seus substituintes (R) (Ang et al., 2009; Cunha et al., 2016; Zheng et al., 2016). Os complexos organometálicos de rutênio (II) foram sintetizados tendo em vista o DNA como o principal alvo biológico (Allardyce; Dyson, 2001; Costa et al., 2017). Assim, foram estudados complexos conhecidos como RAPTA, de compostos de rutênio (II) organometálicos como o ligante PTA (PTA = 1,3,5 – triaza – 7 – fosfoadamanteno) (Allardyce; Dyson, 2001; Ang et al., 2011; Chatterjee et al., 2008). A família RAPTA, são

caracterizados pela presença de um ligante monodentado PTA altamente solúvel em água ao complexo, e pela presença do ligante η^6 – areno, ligeiramente hidrofóbico (BERNDSSEN et al., 2017b; CHATTERJEE et al., 2008). Além disso, demonstram ser agentes tumorais de toxicidade baixa e elevada seletividade às células cancerosa (ANG et al., 2011; SCOLARO et al., 2005, 2008).

Na Figura 8 (a), é representado a estrutura do composto $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{Ru}(\text{PTA})\text{Cl}_2]$, conhecido como RAPTA – C, que apresenta um papel central na avaliação biológica sendo o composto de referência a partir do qual os outros compostos RAPTA são desenvolvidos. Um estudo demonstrou que complexos RAPTA, com ligantes arenos modificados, são ligeiramente tóxicos contra linhagens celulares tumorais e uma baixa toxicidade contra linhagens celulares não tumorais, apresentando assim uma seletividade para células tumorais (BERNDSSEN et al., 2017b; CHATTERJEE et al., 2008; MURRAY et al., 2016). Na Figura 8 (b), é mostrado o exemplo do RAPTA -T, $[(\eta^6\text{-tolueno})\text{Ru}^{\text{II}}(\text{PTA})\text{Cl}_2]$, que demonstrou inibir seletivamente o desenvolvimento e o crescimento de metástases do pulmão, observando-se que se ligam preferencialmente às proteínas-chaves envolvidas no ciclo celular, levando eventualmente à morte celular (LEE et al., 2017; MURRAY et al., 2016).

Figura 8: Compostos de rutênio (II) em fase de otimização: (a) RAPTA-C e (b) RAPTA-



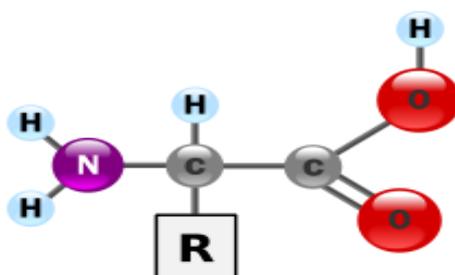
Fonte: Adaptado da virência

1.3. AMINOÁCIDOS

Os aminoácidos também chamados de mono-peptídeos, apresentam atividades importantes na parte biológica e são encontrados em peptídeos e proteínas (ALMEIDA

et al., 2014a; MELLO-ANDRADE et al., 2017). Consistem de um grupo funcional ácido carboxílico (-COOH), um grupo amino (-NH₂) e um hidrogênio (-H) ligados ao átomo de carbono α (SANTOS et al., 2016, 2018). Também possuem grupo R (cadeia lateral) distintos, associados ao carbono α , e este possui arranjo tetraédrico ou assimétrico (exceto a glicina onde o grupo R é o hidrogênio) (NAKAMOTO, 2006; RICCI, 2008). Assim, cada aminoácido possui a sua identidade e natureza diferente, assegurando diversas classificações como polaridade, acidez e basicidade, por exemplo, podem ser alifáticos, aromáticos, ácidos e básicos (RAMOS, 2006; RICCI, 2008). Na Figura 9, representa a estrutura geral dos aminoácidos.

Figura 9: Estrutura geral dos aminoácidos, representando os grupos ácido carboxílico, amino e o hidrogênio do carbono



Fonte: site:brasilecola.uol.com.br

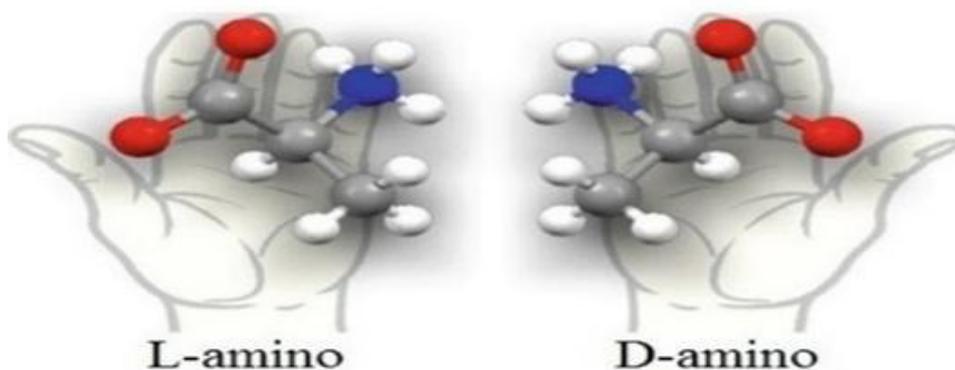
Os aminoácidos podem ser essenciais ou não-essenciais (RICCI, 2008; SANTOS et al., 2016). Os essenciais são aqueles que não são sintetizados pelo organismo e precisam estar presentes na dieta. E os não-essenciais são aqueles que são sintetizados pelo corpo (JUNIOR; FRANCISCO, 2006; RICCI, 2008). Todos os seres vivos utilizam desses aminoácidos para sintetizar suas proteínas, combinando de variadas formas possíveis de acordo com a expressão gênica contida no DNA, sendo algumas espécies capazes de fabricá-los integralmente, ou seja, todos os tipos, enquanto outras necessitam adquiri-los através dos alimentos (RICCI, 2008; SANTOS et al., 2018).

Segundo (NAKAMOTO, 2006), os aminoácidos são conhecidos por formarem quelatos estáveis de cinco membros com diversos íons metálicos através dos grupos ácidos carboxílicos, aminos e caso contenha enxofre, tornando-se sítios de coordenação. Dessa forma, os grupos ligados ao carbono α tem atraído a atenção da química de coordenação e organometálica, como ligantes versáteis. As espécies de aminoácidos

diferem conseqüentemente sua capacidade de se coordenarem ao íon metálico (ALMEIDA, 2009; GURD; WILCOX, 1956; MAVROIDI et al., 2016).

Vale ressaltar que, com exceção da glicina, os aminoácidos apresentam pelo menos um carbono quiral em sua estrutura (ALMEIDA et al., 2014a; POPOLIN et al., 2017). Existem duas formas ópticas ativas, denominadas D-aminoácido e L-aminoácido. Essas configurações, D (dextrógiro) e L (levógiro), referem-se ao carbono quiral com um sentido da rotação óptica dos aminoácidos (enantiômeros) diferindo-se quando coordenados ao metal tornando uma configuração espacial λ (Lambda) com rotação no sentido anti-horário da hélice e Δ (Delta) com rotação no sentido horário da hélice para o composto que apresenta enantiômeros do tipo diastereoisômeros (ALMEIDA et al., 2014a; PORTO et al., 2015; SANTOS et al., 2018). Na Figura 10, é mostrada a configuração da rotação óptica dos aminoácidos.

Figura 10: Representação das configurações L e D da rotação óptica do aminoácido



Fonte: site:brasilescola.uol.com.br

De acordo com Almeida et al. (2014), novos compostos de rutênio (II) com fórmula geral $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(\text{bipy})]\text{PF}_6$ onde AA = aminoácido desprotonado, dppb = 1,4 bis (difenilfosfina) butano, bipy = 2,2 - bipyridina, mostraram em in vitro, boas atividades citotóxicas nas linhagens de células tumorais de mama (MDA-MB-231) e próstata (DU 145). Tais atividades são atribuídas às estruturas dos complexos como um todo, sendo que a bifosfina (dppb), quanto os aminoácidos, contribuem para a estabilização das estruturas dos complexos.

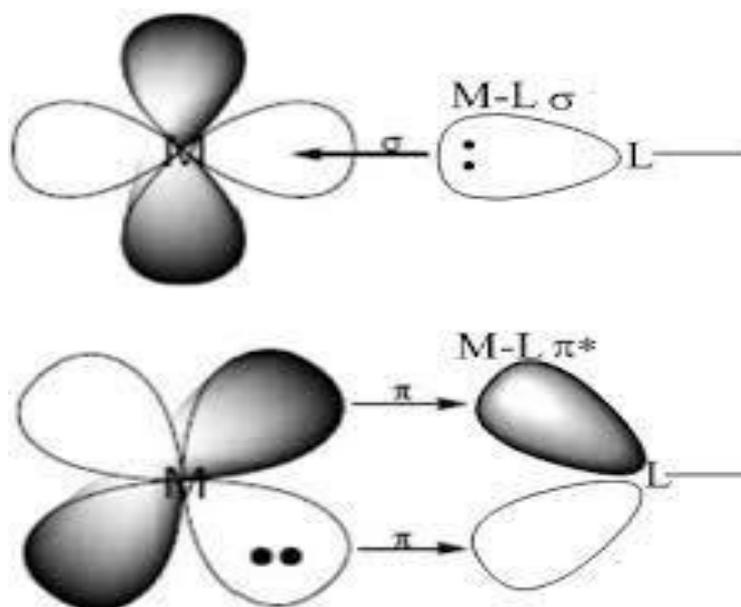
Recentemente novos compostos de rutênio com aminoácido, foram sintetizados com a fórmula geral $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppb})(4\text{-mebipy})]\text{PF}_6$, onde mebipy = 4,4'-dimetil-2,2'-bipyridina. Os novos complexos exibem valores de IC_{50} contra células de tumor da

mama (MDA-MB-231) comparáveis com a cisplatina. Além disso, o complexo à base de Ru (II) com triptofano inibiu a adesão de células tumorais ao colágeno tipo I (SANTOS et al., 2016). Portanto, o uso de complexos de rutênio contendo aminoácidos pode ser uma ferramenta promissora para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos.

1.4. LIGANTES FOSFÍNICOS

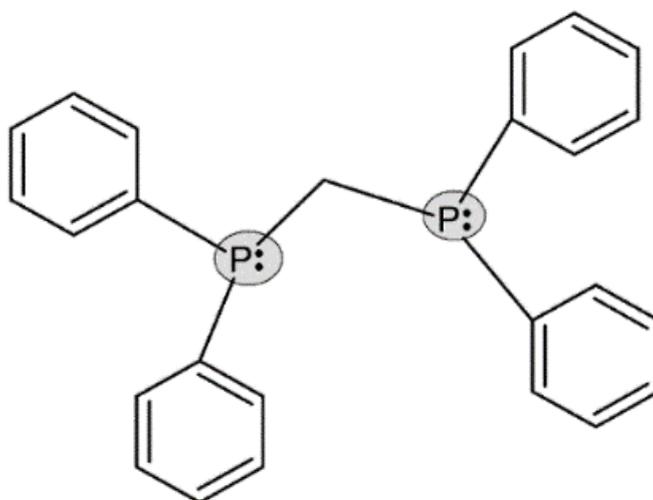
As fosfinas são ligantes neutros que apresentam um par de elétrons capaz de formar ligações (σ) estáveis e orbitais ($\sigma^*\text{d}\pi$) capazes de receber elétrons que são capazes de ocorrer à retrodoação (FRANCISCO, 2015; OLIVEIRA et al., 2017b). O rutênio (II) possui orbitais d preenchidos e pode doar estes para os orbitais vazios do ligante, que apresentam a mesma simetria (ALLEN, 2014; ASSEM, L., TAKAMIYA, 2007). Neste caso, a densidade eletrônica é compartilhada entre o ligante e o metal, estabilizando as ligações (CARLOS LIMA; RODRIGUEZ, 2011; HÉRAULT et al., 2015).

Os ligantes mono e bifosfínicos podem coordena-se fortemente a muitos metais de coordenação em vários estados de oxidação e exercer alterações fundamentais sobre a reatividade do centro metálico, tais como o efeito trans que consiste no enfraquecimento dos ligantes na direção trans relativo a outros ligantes (ALLEN, 2014; CARLOS LIMA; RODRIGUEZ, 2011; FRANCISCO, 2015). Em um efeito trans competitivo, os ligantes π aceitadores (por exemplo, fosfina) competem com outros ligantes π aceitadores trans – relacionados (por exemplo, nitrogenados que apresentam retrodoação) pelos elétrons do centro metálico, retirando densidade eletrônica do metal e, conseqüentemente a preferência dos ligantes em se posicionar na forma cis em relação a outra (KOEDEL, 1974; VALLE et al., 2008). Na Figura 11, está representada a retrodoação entre metal-ligante.

Figura 11: Representação das ligações σ e π (retrodoação) entre metal-ligante

Fonte: Rocha, 2016 (adaptada)

Os complexos fosfínicos têm despertado interesse na área de catálise e na avaliação da atividade antitumoral (OLIVEIRA et al., 2017b; QUEIROZ, SALETE LINHARES; BATISTA, 1998). Um exemplo de complexo contendo fosfina é o composto auronofina, um fármaco de uso clínico como agente antiartrítico e também apresenta capacidade de destruir células tumorais (ALESSIO; GUO, 2017; WANG et al., 2005). Outro exemplo é o complexo $[Au(dppe)_2]Cl$, que apresenta atividade antitumoral contra linhagens de leucemia (P377 e L1210). Complexos de rutênio contendo ligantes fosfínicos no seu arcabouço são amplamente usados no estudo de compostos biologicamente ativos (QUEIROZ; BATISTA, 1996; VALLE et al., 2008). A inserção de fosfinas terciárias na estrutura molecular do complexo, aumenta sua lipofilicidade e, conseqüentemente, pode auxiliar a sua permeabilidade através da membrana celular (ALLEN, 2014; CHATT; HAYTER, 1961). Na Figura 12, é mostrado a bifosfina utilizada no trabalho como ligante, a 1,1-bis(difenilfosfina)metano conhecida como dpmm podendo estabilizar a estrutura do novo complexo e auxiliar na capacidade da lipofilicidade.

Figura 12: Estrutura da bifosfina dppm

Fonte: Autora

Investigações mostram que as bifosfinas apresentam atividades citotóxicas e quando coordenadas aumentam essas atividades. Segundo Lopes, et.al. (2015), dois novos complexos de rutênio (II) contendo dppm e os ânions as drogas anti-inflamatórias diclofenaco e ibuprofeno com fórmula $[\text{Ru}(\text{diCl}(\text{dppm})_2)\text{PF}_6]$ e $[\text{Ru}(\text{ibu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, foram sintetizados e caracterizados por várias técnicas, além do mais, foi feito ensaios de interação com DNA e testes in vitro de atividades citotóxicas contra um painel de linhagens de células humanas.

Os ensaios de atividade de citotoxicidade in vitro dos complexos $[\text{Ru}(\text{diCl}(\text{dppm})_2)\text{PF}_6]$ e $[\text{Ru}(\text{ibu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ indicam uma alta atividade contra três linhagens de células tumorais humanas. Na verdade, um dos complexos foi mais ativo do que a cisplatina contra duas células tumorais, sendo interessante observar a troca de ligantes de cloretos do cis- $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$ pelo diclofenaco e ibuprofeno (LOPES et al., 2015). Resultou em maior atividade citotóxica, provavelmente devido às diferenças na lipofilicidade sobre a complexação, influenciando a quantidade de composto que fica dentro das células. Mais estudos são necessários para verificar os alvos biológicos dessa classe de complexos de rutênio (II). Embora esses complexos apresentem baixa seletividade, eles apresentam potencial para o tratamento de adenocarcinoma de mama e glioblastoma, uma vez que apresentam um valor de SI semelhante ao da cisplatina, mas uma atividade maior, podendo ser usados em concentrações mais baixas (LOPES et al., 2015).

1.5. INTERAÇÕES DOS COMPOSTOS DE RUTÊNIO (II) COM BIOMOLÉCULAS

Todo fármaco, ao entrar no organismo é transportado pelo sangue, independente da via de administração oral, intravenosa ou intramuscular e antes de atingir o seu alvo encontra uma diversidade imensa de substâncias presentes no sangue (SILVA, 2013; SILVEIRA, 2008). A maioria das biomoléculas, como as proteínas e os ácidos nucleicos, possuem em suas estruturas átomos de nitrogênio e de enxofre, os quais são doadores de elétrons, sendo assim, adequados para fazerem ligações com metais, no sangue (LOUDA, 2012; SILVEIRA, 2008). Um aspecto importante no desenvolvimento de drogas com atividade citotóxica, é coordenar ligantes que possuam a capacidade de interagir com biomoléculas (LOUDA, 2012; MOREIRA et al., 2015a).

O estudo de interação dos fármacos com biomoléculas é um passo importante para o entendimento do mecanismo de ação, no entanto, esta é uma tarefa bastante complexa, uma vez que não se sabe como estes irão se comportar no organismo (BARREIRO; FRAGA, 2015; CALDAS et al., 2011; MOREIRA et al., 2015a). Reporta-se na literatura, as principais biomoléculas: DNA, albuminas, transferrina e proteínas enzimáticas como topoisomerase, dedo de zinco com compostos de rutênio e outros metais (COLINA-VEGAS et al., 2015; DE GRANDIS et al., 2017; PIEWAK; BRINDELL, 2015).

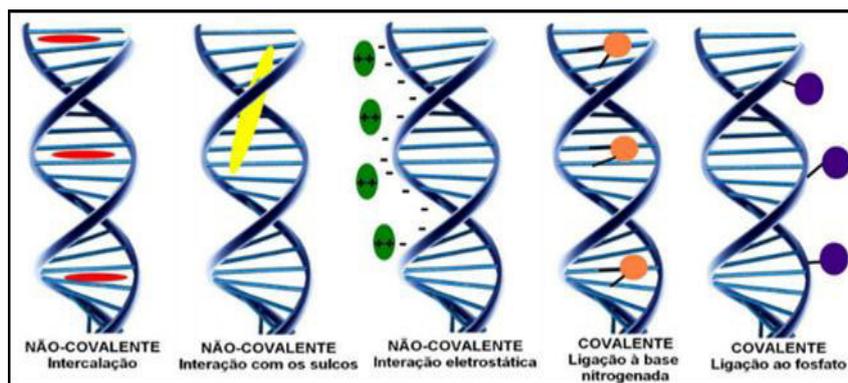
1.5.1. Ácido desoxirribonucleico (DNA)

São polímeros lineares de nucleotídeos unidos por ligações fosfodiéster. A cadeia de açúcar-fosfato aniônica é hidrofílica e permanece em contato com a solução aquosa do meio intracelular, enquanto as bases nitrogenadas, que são planares e mais hidrofóbicas, orientam-se para o interior (DE GRANDIS et al., 2017; ISMAIL et al., 2017; SILVA, 2013). Possui uma estrutura supramolecular da hélice dupla que é mantida por várias forças não-covalentes, tais como, interações π - π entre os anéis aromáticos; ligações de hidrogênio entre as bases; atração eletrostática entre as cadeias açúcar-fosfato (negativas) e os cátions em solução (BANDEIRA; MENEZES; HÉLCIO, 2018; BARRA; NETTO, 2015).

O DNA se torna um dos principais alvos biológicos para os agentes

antineoplásicos, devido ao centro metálico ser carregado positivamente fazendo com que os compostos de coordenação geralmente sejam capazes de ligar-se a biomoléculas negativamente carregadas, permitindo que proteínas e ácidos nucleicos sejam excelentes alvos para os metalofármacos (AMIR et al., 2016; BARRA; NETTO, 2015). Na Figura 13, é representado os possíveis modos de interação dos compostos com DNA.

Figura 13: Representação esquemática de possíveis modos de interação compostos-DNA



Fonte: Barra e Netto, 2015

A interação de forma covalente, através da ligação direta do composto ao DNA por suas bases nitrogenadas ou pelo grupo fosfato. A forma não-covalente através de interações eletrostáticas, interações hidrofóbicas no sulco menor do DNA ou por meio da intercalação (BARRA; NETTO, 2015; CAO et al., 2017; DE GRANDIS et al., 2017).

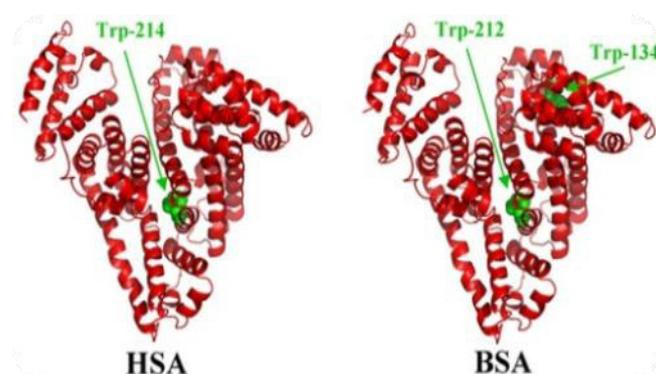
1.5.2. Albumina do soro bovino (BSA)

Ressalta-se que, a etapa inicial para o desenvolvimento de novos fármacos seja o estudo de interação dos compostos com proteínas, como a albumina, visto que albuminas séricas são claramente moléculas de proteína globular extraordinária de múltiplas funções biológicas e farmacocinéticas. As albuminas têm ações de armazenar, transportar, metabolizar e excretar ampla gama de compostos exógenos e endógenos através da formação de adutos (COLINA-VEGAS et al., 2016; DE GRANDIS et al., 2017; MOREIRA et al., 2015a).

Albuminas disponíveis no mercado, como a do soro bovino (BSA), tem sido muito utilizada em estudos biomiméticos, devido à sua estabilidade, disponibilidade,

baixo custo e semelhança estrutural com a estrutura primária da albumina humana (HSA) (FARNAZ et al., 2018; LOUDA, 2012; MOREIRA et al., 2015a). Comparativamente há uma sequência homóloga de 76% entre as albuminas bovina e humana diferenciando apenas em: a) quantidade de resíduos de triptofano (Trp), a BSA contém dois resíduos denominados Trp-134 e Trp-212, localizados nos subdomínios IB e IIA, respectivamente, enquanto a HSA contém apenas um resíduo, o Trp-214, situado no subdomínio IIA; b) sequência de sítios N-terminais: a BSA apresenta a tríade Asp-Thr-His, e a HSA tem a tríade terminal Asp-Ala-His (LOUDA, 2012; MOREIRA et al., 2015a; ZHANG et al., 2016). Na Figura 14, é mostrado os arcabouços proteicos das albuminas BSA e HSA.

Figura 14: Representação dos arcabouços proteicos das albuminas do soro bovino (BSA) e humano (HSA), destacando a localização dos resíduos de triptofano



Fonte: Moreira, 2015 adaptada

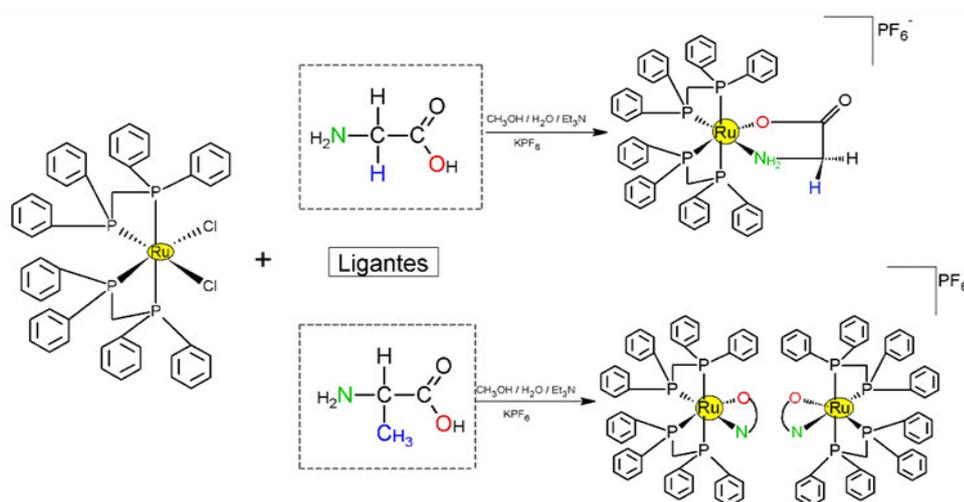
A interação entre os fármacos e a BSA é geralmente reversível e, ocorre em locais específicos (MOREIRA et al., 2015a; NAVEENRAJ; ANANDAN, 2013). A força de ligação com estas proteínas de transporte é um dos fatores determinantes na biodisponibilidade dos compostos, uma vez que afeta diretamente a farmacocinética e farmacodinâmica dos medicamentos, podendo levar a um aumento da solubilidade de fármacos lipofílicos, permitindo-lhes assim atingir o seu local de ação (DE GRANDIS et al., 2017; LOUDA, 2012).

Entretanto, somente os fármacos não ligados a essa proteína podem ser distribuídos para os tecidos podendo exercer assim sua atividade biológica. E valores dos parâmetros termodinâmicos com os diferentes tipos de forças intermoleculares que estão envolvidos na interação de compostos no arcabouço proteico (MOREIRA et al., 2015a; ROSS; SUBRAMANIAN, 1981). Uma maneira de monitorar as interações

existentes entre o centro metálico e a cavidade proteica e, conseqüentemente, obter parâmetros físico-químicos é por meio do acompanhamento da supressão de fluorescência da albumina em presença dos compostos de rutênio (II) (COLINA-VEGAS et al., 2015; MOREIRA et al., 2015a).

Diante do exposto, optamos trabalhar com compostos de rutênio (II) coordenados a ligantes bifosfínicos e aminoácidos, por que já apresentavam uma atividade biológica (ALMEIDA, 2009; SANTOS et al., 2016). E assim, estudar uma possível relação estrutura-atividade devido as modificações estruturais que irão ocorrer nos compostos por meio da interação com a proteína BSA e ensaios de citotoxicidade. Na Figura 15, é mostrado o modelo reacional para esse estudo.

Figura 15: Esquema do modelo reacional para obtenção dos novos compostos



Fonte: Autora

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

❖ Sintetizar compostos de rutênio (II) com aminoácidos, avaliando a citotoxicidade em células tumorais e sua interação com alvos biológicos.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

❖ Obter complexos de rutênio (II) de fórmula $[Ru(AA)(dppm)_2]PF_6$, onde AA = Glicina (Gly), L- Alanina (L-Ala), L-Metionina (L-Met), L-Triptofano (L-Trp) e L-Ácido Glutâmico (L-Glu); dppm = 1,1 - bis - (difenilfosfina) metano;

❖ Avaliar a interação dos complexos com BSA por espectroscopia de emissão de fluorescência;

❖ Investigar a citotoxicidade dos complexos de rutênio (II) em diferentes linhagens: linhagens celulares A549 (Carcinoma de pulmão humano), MDA-MB-231 (adenocarcinoma de mama metastático) e MRC-5 (linhagem normal de pulmão humano).

3. METODOLOGIA

3.1. REAGENTES E SOLVENTES

Os reagentes utilizados foram de pureza analítica: $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, 1,1 – bis (difenilfosfina) metano - (dppm), hexafluorofosfato de potássio (KPF_6), aminoácidos: glicina (gly), L - alanina (L- ala), L- metionina (L- met), L- triptofano (L-trp), L- ácido glutâmico (L-glu), albumina do soro bovino (BSA), 3,(4,5 – brometo de dimetiltiazol – 2 – il) – 2,5 – difeniltetrazólio (MTT), sais usados para preparação do tampão (Trizma HCl e Trizma NaOH).

Todos os reagentes utilizados foram de procedência Sigma – Aldrich com pureza de 98%. Os principais solventes utilizados foram submetidos a purificação prévia, segundo métodos usuais da literatura. Os solventes são: dimetilsulfóxido (DMSO) $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$, diclorometano (CH_2Cl_2) , tolueno (C_7H_8) , metanol (CH_3OH) , hexano $(\text{C}_6\text{H}_{14})$, etanol $(\text{C}_2\text{H}_6\text{O})$, acetona $(\text{C}_3\text{H}_6\text{O})$. O solvente deuterado dimetilsulfóxido (DMSO) $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ (Aldrich), utilizado na técnica de espectroscopia de RMN.

3.2. SÍNTESES DOS PRECURSORES

3.2.1. Síntese do complexo *trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$ (CHATT; HAYTER, 1961)

Em 30 mL de metanol, previamente desaerado, foram adicionados 0,50 g de $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (1,75 mmol) e 1,61 g (4,20 mmol) de 1,1 – bis (difenilfosfina) metano (dppm). A mistura reacional foi mantida em refluxo em atmosfera inerte de argônio por 3 horas observando à formação de um precipitado amarelo, separado por filtração e lavado com metanol e éter etílico e secado à vácuo. Rendimento 1,15 g (70 %).

3.2.2. Síntese do complexo *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] (adaptada) (SULLIVAN; CALVERT; MEYER, 1980; SULLIVAN; MEYER, 1982)

A síntese do *cis* – [RuCl₂(dppm)₂] é feita por isomerização térmica do *trans* - [RuCl₂(dppm)₂], como descrita a seguir: Em 30 mL de 1,2 – tolueno, previamente desaerado, foram adicionados 0,50 g de *trans*-[RuCl₂(dppm)₂]. O sistema foi mantido em refluxo (~120°C) por 24 horas, observando à formação de um precipitado amarelo, separado por filtração e lavado com hexano e tolueno à quente (~110°C) e secado à vácuo. Rendimento 0,42 g (85%).

3.3. SÍNTESES DOS COMPOSTOS

As sínteses dos complexos com os aminoácidos (Gly, L – Ala, L– Met, L – Trp, L – Glu), ocorreram todas de forma análoga. Em 10 mL de metanol, previamente desaerado, foram dissolvidos o ligante aminoácido 0,37 mmol (27 mg) e trietilamina 0,37 mmol (51 mL). O sistema foi mantido sob refluxo, em atmosfera de argônio, até solubilizar por completo o ligante (~ 30 min). Após, desligou-se o aquecimento e ao atingir a temperatura ambiente adicionou-se o precursor *cis*- [RuCl₂(dppm)₂] 0,11 mmol (100 mg) e agitou-se por 3 horas. A solução resultante foi filtrada e seu volume reduzido à 5 mL seguido da adição do contra-íon KPF₆ 0,37 mmol (68 mg). Em seguida, adicionou-se 10 mL água destilada e deixou-se na geladeira por 5 minutos, observando-se a formação de um precipitado de coloração amarela que foi separado por filtração à vácuo, lavado com água destilada e secado à vácuo. O rendimento para os complexos [Ru(AA)(dppm)₂]PF₆ foram de 80 – 85 %.

3.4. TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

As técnicas de caracterização foram realizadas na Universidade Federal de São Carlos -UFSCar, nos laboratórios: Estruturas e Reatividades de Compostos Inorgânicos, Análise Elementar, Ressonância Magnética Nuclear e o Instituto de Química e Física – USP de São Carlos.

3.4.1. Análise elementar

A análise elementar do teor de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre, para todos os compostos sintetizados foram feitas usando um analisador CHNS modelo EA 1108 FISON.

3.4.2. Condutância molar

As medidas de condutividade molar dos compostos sintetizados foram obtidas usando um condutivímetro microral B – 330 (equipado com célula de Pt com constante igual $0,089 \text{ cm}^{-1}$). Foram preparadas soluções dos compostos na concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em CH_2Cl_2 .

3.4.3. Medidas eletroquímicas

As medidas de voltametria cíclica, voltametria de onda quadrada, (oxidação/redução) foram realizados em um potenciostato/galvanostato Electrochemical Analyzer, modelo BAS 100 B. As medidas foram realizadas em solução eletrolítica de perclorato de tetrabutilamônio (PTBA) $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ em diclorometano. Estes experimentos foram realizados em uma célula eletroquímica com Ag/AgCl como eletrodo de referência, e carbono vítreo como eletrodo de trabalho e Pt o eletrodo auxiliar. Todos os experimentos eletroquímicos foram conduzidos a temperatura ambiente.

3.4.4. Difração de raios X

As medidas de difração de raios X de monocristal foram realizadas em um difratômetro BRUKER APEX DUO, emprega radiação da linha $K\alpha$ do molibdênio ($0,71070 \text{ \AA}$), à temperatura de 298 K. Os monocristais dos compostos foram obtidos por evaporação lenta ou por difusão de metanol em diclorometano. As estruturas foram resolvidas com o programa SHELXS 97 usando métodos diretos, sucessivos mapas de Fourier – diferença que permitiram a localização dos átomos não hidrogênio. Com

exceção dos átomos de hidrogênio, todos os demais foram refinados anisotropicamente. Os refinamentos foram feitos pelo método dos mínimos quadrados através do programa SHELXL 97. Detalhes sobre coleta de dados e os parâmetros para cada complexo são fornecidos nos apêndices.

3.4.5. Espectroscopia de absorção na região UV/Vis

Os espectros na região do ultravioleta e visível foram obtidos em um espectrofotômetro de arranjo de diodo da Hewlett Packard, modelo 8452^a. Os espectros foram obtidos em várias diluições, partindo de $1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ nas cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm em DMSO (na janela de 240 – 800 nm).

3.4.6. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram realizados em pastilha de KBr (Sigma-Aldrich, P.A.), na região entre $4000 - 200 \text{ cm}^{-1}$, usando um espectrofotômetro Bomem Michelson FTMB – 102.

3.4.7. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Os experimentos de Ressonância Magnética Nuclear foram executados em um espectrômetro BRUKER DRX (com um campo de 100 MHz para ^{13}C , 400 MHz ^1H e 162 MHz para ^{31}P). Foram analisados os núcleos de ^{31}P { ^1H }, ^1H , ^{13}C , com suas correlações pelos experimentos bidimensionais de COSY ($^1\text{H} - ^1\text{H}$ e $^{31}\text{P} - ^{31}\text{P}$), HSQC ($^{13}\text{C} - ^1\text{H}$) e HMBC ($^{31}\text{P} - ^{13}\text{C}$, $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$) para a elucidação das estruturas. Utilizou-se solvente diclorometano não deuterados na presença de um tubo capilar com água deuterada (D_2O) como referência externa dos espectros de ^{31}P { ^1H }. Os demais experimentos foram realizados em dimetilsulfóxido (DMSO) (CH_3)₂SO deuterado.

3.4.8. Estudo de interação com BSA por espectroscopia de emissão de fluorescência

No estudo de interação proteína /complexo foi analisada a supressão da

fluorescência dos resíduos de triptofano de uma solução $2,5 \mu\text{mol. L}^{-1}$ de BSA (albumina do soro bovino, Sigma-Aldrich) em tampão Tris pH 7,4 ($4,5 \text{ mmol. L}^{-1}$ Tris HCl; $0,5 \text{ mmol. L}^{-1}$ NaOH; 50 mmol. L^{-1} NaCl, todos Sigma-Aldrich). A extinção da intensidade de emissão do resíduo em 315 nm (comprimento de onda de excitação 280 nm) foi monitorado empregando como supressores soluções dos compostos dissolvidos em DMSO, nas concentrações 0 - $24 \mu\text{mol. L}^{-1}$. Os espectros de fluorescência foram adquiridos por triplicata na faixa de 300 – 500 nm, usando uma placa opaca de 96 poços, nas temperaturas de 25 e 37 °C, empregando um leitor multidetecção da Biotek, modelo Synergy H1.

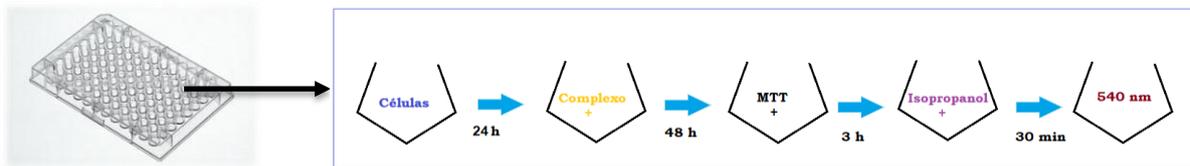
3.4.9. Ensaios de viabilidade celular (método MTT)

A determinação da viabilidade celular foi feita, sob responsabilidade do Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista, pela aluna de doutorado Celisnolia Morais Leite. As linhagens celulares empregadas nesse estudo foram MDA-MB-231 (adenocarcinoma de mama) e A549 (carcinoma de pulmão humano) e MRC-5 (linhagem normal de pulmão humano). As células foram cultivadas como cultura de monocamada aderente em meio DMEM (Meio de Eagle Modificado por Dulbecco (Dulbecco's), suplementado com soro fetal bovino (FBS) 10%. Foram mantidas a 37 °C, em atmosfera umidificada contendo 5% de CO₂. Para a realização dos ensaios de citotoxicidade, as células foram tripsinizadas para a contagem e ajuste da quantidade de células.

Em seguida, aplicou-se as células em placas de cultura de 96 poços (estéril) (densidade de células de $1,5 \times 10^4$ / poço). As placas foram armazenadas em estufa (37 °C / 5% CO₂) por 24 h para a adesão celular. Após este tempo os complexos em diferentes concentrações foram adicionados à placa e a mesma foi novamente mantida na estufa por 48 horas. Após este período, adicionou-se 50 μL de MTT (Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)2,5 – difeniltetrazólio) ($0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$). As placas foram mais uma vez deixadas em estufa por um período de 4 horas. Após esse período, retirou-se todo o meio e adicionou-se isopropanol para solubilizar os cristais formados. A densidade óptica (absorbância dos poços) foi medida em um leitor de microplacas a 540 nm. Para verificar o efeito do solvente DMSO, controles adicionais receberam 0,5% deste solvente. Os dados coletados foram tratados nos programas computacionais Excel e GraphPad Prism 5, obtendo curvas a partir das quais foram calculados os valores de

IC₅₀ (concentração inibitória de 50% das células). Na Figura 16, é mostrada o esquema do teste de citotoxicidade.

Figura 16: Representação do teste de citotoxicidade



Fonte: Autora

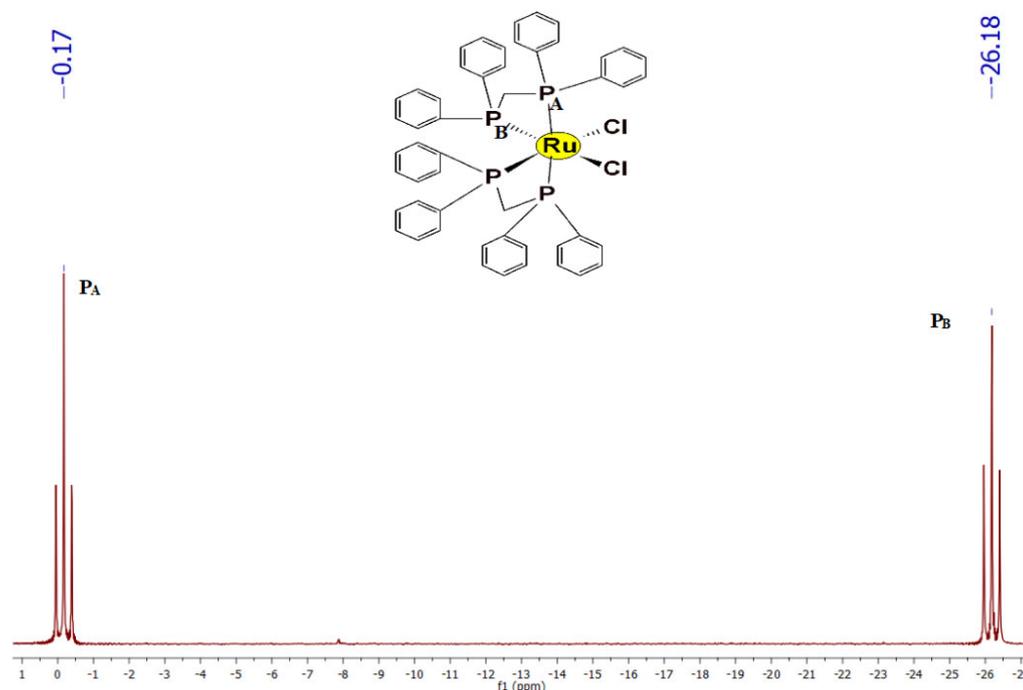
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir, é exibido a confirmação das estruturas dos cinco novos compostos por técnicas de caracterização.

4.1. CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS SINTETIZADOS

4.1.1. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e suas correlações bidimensionais: COSY ($^{31}\text{P} - ^{31}\text{P}$)

Na Figura 17, é mostrado o espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para o precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$. A estrutura do precursor apresenta dois tipos de fósforos, quimicamente e magneticamente equivalentes devido ao seu arranjo estereoquímico, mostrando P_A (*trans*) P (P_A) e P_B (*trans*) Cl. Portanto seu espectro apresenta dois sinais tripletos com deslocamentos químicos -0,17 e -26,18 ppm ($^2\text{J}_{\text{P}_\text{A}-\text{P}_\text{B}} = 36,07$ Hz), respectivamente.

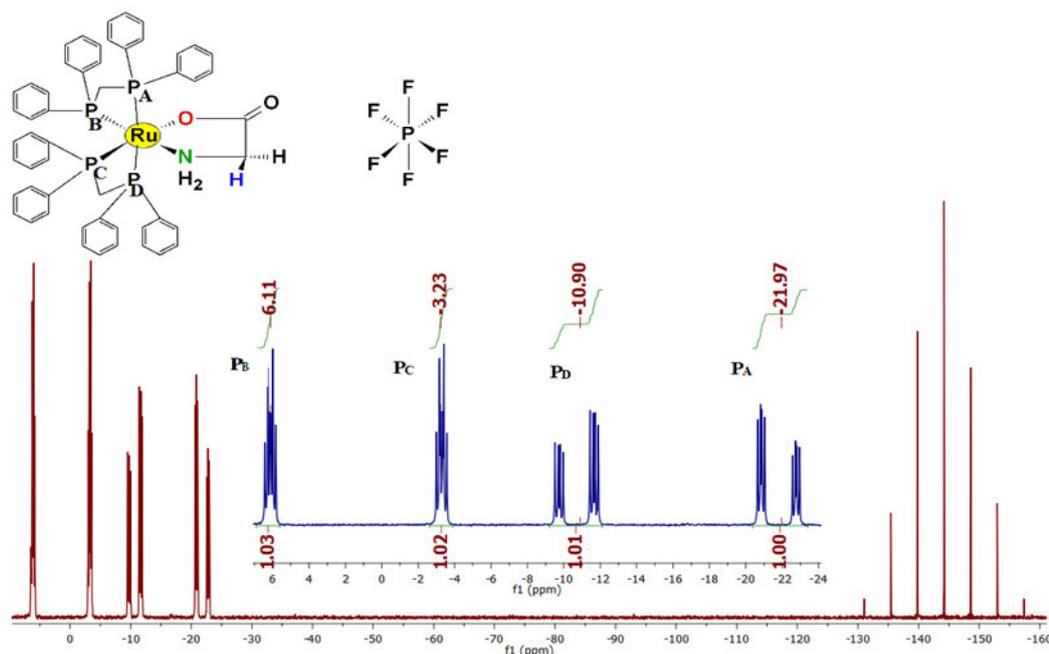
Figura 17: Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do precursor $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$ em D_2O 

Os espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos compostos contendo bifosfinas apresentam sinais típicos que podem ser associados à geometria do complexo. No caso, o precursor $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$. Os complexos com duas bifosfinas na posição *cis*, exibem multiplicidade de sinais dependendo do ambiente químico que os átomos de fósforos estão envolvidos e os outros ligantes que completam a esfera de coordenação.

A síntese dos compostos de fórmula geral $[\text{Ru}(\text{AA})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ se baseou na substituição dos ligantes cloretos do precursor $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$ pelos quelatos (N-O) dos ligantes aminoácidos (Gly, L-Ala, L-Met, L-Trp e L-Glu). Ocorrendo a diferenciação magnética dos quatro átomos de fósforos na estrutura, acoplando entre si e apresentando um sistema do tipo ABMX.

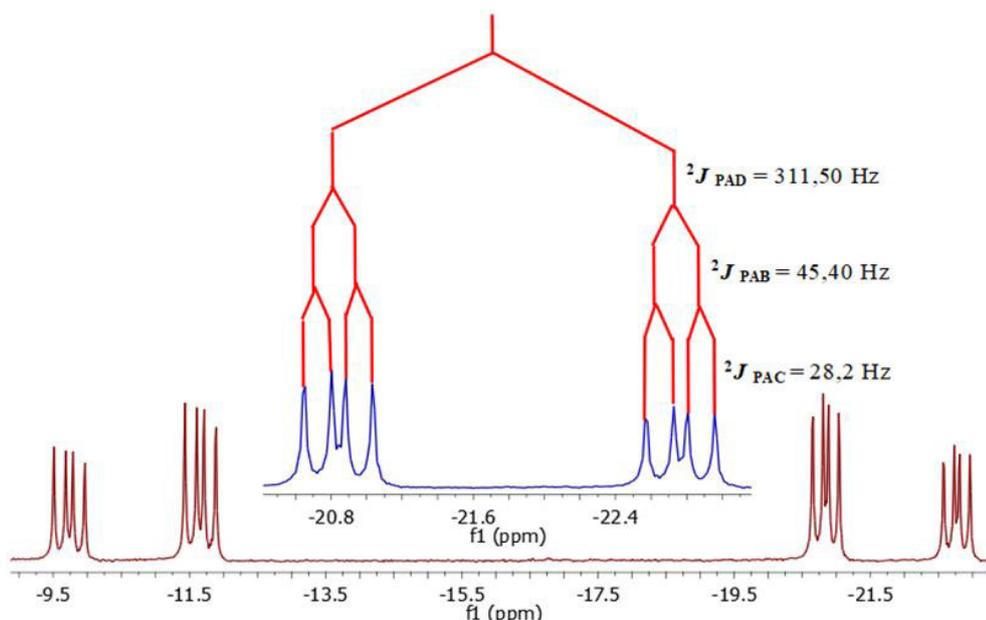
Na Figura 18, é apresentado o espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, mostrando sinais referentes às bifosfinas, que exibem quatro átomos de fósforos em ambientes químicos diferentes (P_A , P_B , P_C e P_D), com multiplicidade duplo duplo-dubletos (ddd) para os fósforos P_A *trans* ao fósforo P_D e P_D *trans* ao fósforo P_A com deslocamento químico -21,97 e -10,90 ppm, respectivamente. Entretanto, os fósforos P_B *trans* ao nitrogênio e P_C *trans* ao oxigênio apresentam multiplicidade duplos tripletos (dt), com deslocamento químico -3,23 e 6,11 ppm, respectivamente.

Figura 18: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, em DMSO-d_6



Percebe-se que, o perfil característico dos átomos de fósforos P_A e P_D condiz com o esperado pelo sistema ABMX que consta na literatura (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2010). As justificativas para essa multiplicidade podem estar relacionadas com as constantes de acoplamento (^2J , ^2J e ^2J) mostrando-se mais fortes (maiores) com três fósforos vizinhos, formando-se oito linhas, (duplo duplo-dublete, ddd) e com isso ocorre uma separação entre as linhas. No caso sugere-se um acoplamento de segunda ordem, devido aos núcleos de fósforos apresentarem deslocamentos químicos na mesma região, e outro fator são os átomos *cis* aos fósforos em estudos que são influenciados pela eletronegatividade dos quelatos (N-O) dos ligantes aminoácidos e assim, tornando-se blindado. Na Figura 19, observa-se o diagrama da separação para o átomo P_A com maiores constantes de acoplamento geminal e o desdobramento de sinal para os átomos de fósforos.

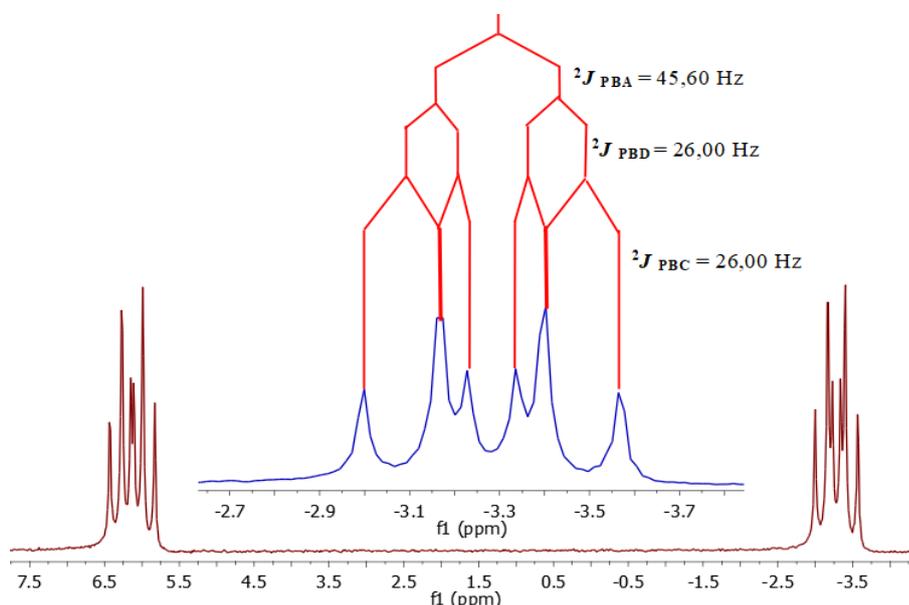
Figura 19: Espectro ampliado de RMN ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ do $\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2\text{PF}_6$ do átomo de fósforo P_A , determinando as constantes de acoplamento a partir do diagrama de separação (árvore) em $\text{DMSO}-d_6$



Analisando-se as constantes de acoplamento do átomo P_A , a partir do segundo núcleo de fósforo (P_{AB}), ocorre um desdobramento do duplo dubleto como esperado pelo sistema ABMX formando sinais duplo duplo-dubleto. De forma análoga ocorre para a constante de acoplamento do P_D . Outras explicações estão relacionadas com a consequência dos átomos P_A e P_D apresentarem um maior efeito *trans* do que os demais fósforos, a temperatura e o solvente que são capazes de modificar as múltiplas e sensíveis características físicas dos átomos de fósforos da bifosfina (dppm) como exemplo o ângulo de cone e solvatação.

Em contrapartida, os átomos de fósforos P_B e P_C apresentam multiplicidade de sinais como duplo tripleto. Uma explicação pode ser em relação ao acoplamento de primeira ordem para esses fósforos, por ocorrer uma diferença de deslocamento químico (em regiões diferentes), justificando o fato da coalescência (uma sobreposição de linhas, que ficariam 6 ou 5 linhas) na multiplicidade desses sinais. Na Figura 20, é exibido o diagrama da separação (árvore) para o átomo P_B .

Figura 20: Espectro ampliado de RMN ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ do $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ do átomo de fósforo P_B , determinando as constantes de acoplamento a partir do diagrama de separação (arvore) em DMSO - d_6



Observa-se que as constantes de acoplamentos (2J , 2J e 2J) são mais fracas com três fósforos vizinhos, formando seis linhas, (duplo triplete, dt), isto é, o segundo núcleo de fósforo (P_{BD}) desdobra o duplo dubleto do sistema ABMX em um duplo triplete, ocasionando a sobreposição de linhas e a distribuição de intensidade de sinais. A Tabela 1, apresenta as constantes de acoplamento (2J) do composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ para cada átomo de fósforo de forma individual.

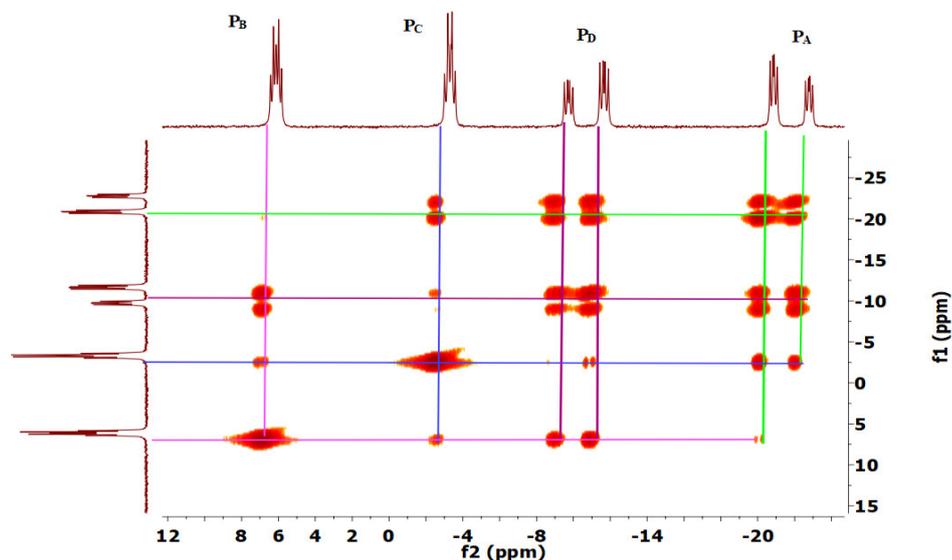
Tabela 1: Constantes de acoplamentos do $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ obtido pelo espectro de RMN ^{31}P $\{^1\text{H}\}$

$^2J_{\text{P-P}}$ (Hz)							
P_A		P_B		P_C		P_D	
$^2J_{\text{PA-PD}}$	311,5	$^2J_{\text{PB-PA}}$	45,6	$^2J_{\text{PC-PD}}$	37,3	$^2J_{\text{PD-PA}}$	311,5
$^2J_{\text{PA-PB}}$	45,4	$^2J_{\text{PB-PD}}$	26,0	$^2J_{\text{PC-PA}}$	27,4	$^2J_{\text{PD-PC}}$	37,4
$^2J_{\text{PA-PC}}$	28,2	$^2J_{\text{PB-PC}}$	26,0	$^2J_{\text{PC-PB}}$	27,4	$^2J_{\text{PD-PB}}$	24,9

Conclui-se que, ao medir constantes de acoplamento em um sistema com mais de um acoplamento, percebe-se que nenhum dos picos do multipletto está em valores de deslocamento químico adequado para determinar diretamente um valor de J intermediário. O desdobramento dos sinais se deve à interação entre spins nucleares

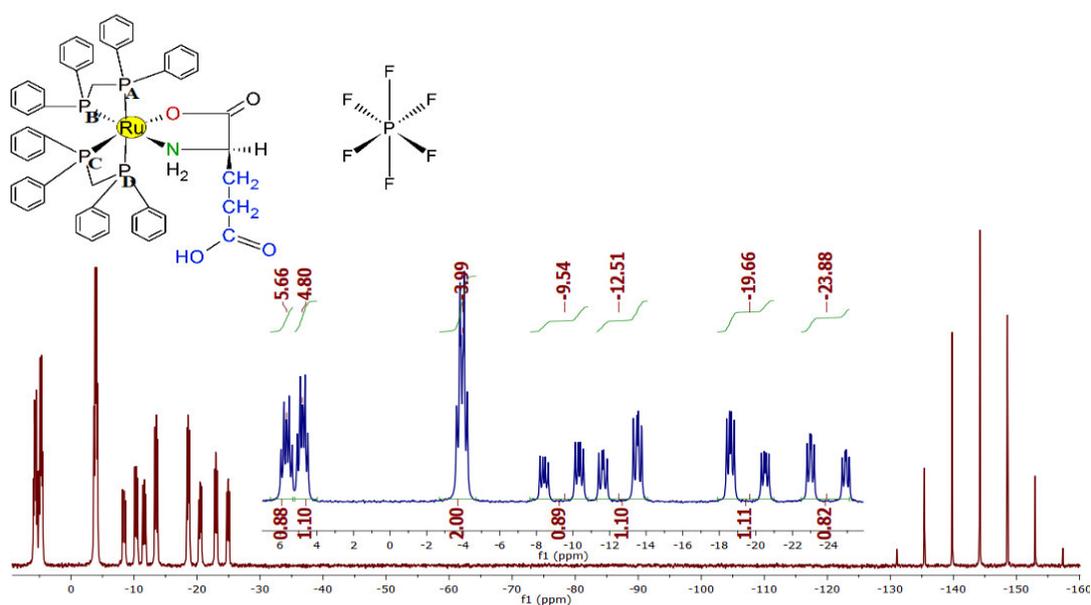
vizinhos, associados aos átomos de fósforos quimicamente e magneticamente não-equivalentes. Os acoplamentos podem ser melhor visualizados na Figura 21, espectro de rmn bidimensional COSY (^{31}P - ^{31}P).

Figura 21: Espectro COSY (^{31}P - ^{31}P) do composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$



Na Figura 22, é mostrado o espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do composto $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, onde percebe-se a presença de dois centros assimétricos (íon rutênio e do aminoácido L-ácido glutâmico) na molécula, acarretando à formação de quatro pares de isômeros diferentes, acarretando em duas formas (Delta e Lambda) chamados diastereoisômeros.

Figura 22: Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ que apresenta dois centros assimétricos em DMSO-d_6

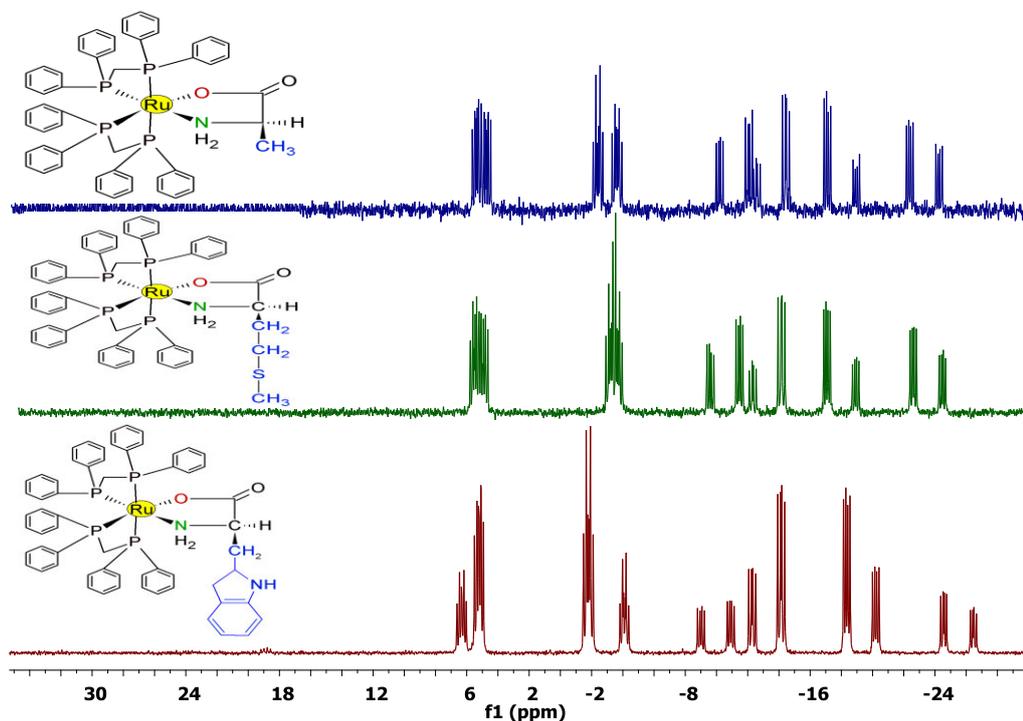


Observa-se para $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, um perfil característico de sinais é semelhante ao $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, porém com duplicação de sinais, por conta dos dois centros assimétricos. Analisando-se, têm oito átomos de fósforos exibindo o conjunto \mathbf{P}_Δ (\mathbf{P}_A , \mathbf{P}_B , \mathbf{P}_C e \mathbf{P}_D) e \mathbf{P}_Λ (\mathbf{P}_A , \mathbf{P}_B , \mathbf{P}_C e \mathbf{P}_D) quimicamente e magneticamente não equivalentes com multiplicidades duplo duplo-dubletos para par de isômeros e duplo tripleto para outro par de isômeros. Vale ressaltar que, uma explicação mais plausível seria possível após a separação dos diastereoisômeros e assim afirmar o par de isômero de cada átomo. Diante do exposto, sugere-se que o delta (Δ)- $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ tenha configuração absoluta (\mathbf{R} , \mathbf{R} , \mathbf{S} e \mathbf{S}) e apresenta um conjunto de sinal distinto do conjunto do lambda (Λ)- $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ que tenha configuração absoluta \mathbf{P}_Λ (\mathbf{R} , \mathbf{R} , \mathbf{S} e \mathbf{S}).

A análise desse estudo, encontra-se baseada no fato observado pela integral de RMN $^{31}\text{P}\{\text{H}\}$, que mostra quantidades distintas dos diastereoisômeros. Então, sugere-se os deslocamentos químicos dos fósforos \mathbf{P}_Δ (\mathbf{P}_Δ e \mathbf{P}_Λ) *trans* \mathbf{P}_D com -23,88 e -19,66 ppm, \mathbf{P}_D (\mathbf{P}_Δ e \mathbf{P}_Λ) *trans* \mathbf{P}_A com -12,51 e -9,54 ppm \mathbf{P}_C (\mathbf{P}_Δ e \mathbf{P}_Λ) *trans* Oxigênio com -3,99 ppm, encontra-se sobreposto e \mathbf{P}_B (\mathbf{P}_Δ e \mathbf{P}_Λ) *trans* Nitrogênio com 5,66 e 4,80 ppm. Não é trivial, calcular a constante de acoplamento para esses átomos de fósforos, pois não tem como distinguir o conjunto \mathbf{P}_Δ e \mathbf{P}_Λ .

Na Figura 23, são exibidos os espectros de RMN $^{31}\text{P}\{\text{H}\}$ dos compostos (2) - $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, (3)- $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ e (4)- $[\text{Ru}(\text{L-Trp})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, também apresentam diastereoisômeros. Esses compostos possuem em sua estrutura o íon metálico rutênio e aminoácidos com carbono quiral, sendo análogos ao $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ com duplicação de sinais.

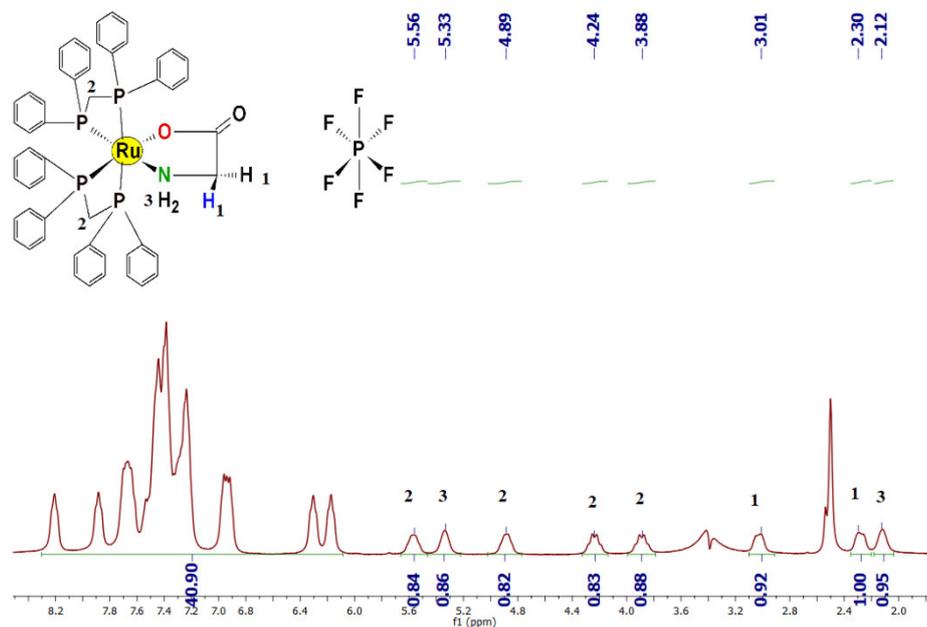
Figura 23: Espectro de RMN ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ dos compostos (2), (3) e (4) que apresentam dois centros assimétricos em DMSO-d_6



Conclui-se que, de acordo com espectro da Figura 18, o composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ com o ligante aminoácido (glicina), que não apresenta carbono quiral, não forma diastereoisômeros, mas, exibe um par de isômeros como pode ser observado nos desdobramentos de sinais e suas constantes de acoplamento e os demais compostos condizem com o esperado na literatura, por apresentarem duplicidade de sinais, confirmando assim os diastereoisômeros. Observações feitas por Almeida, M.A.P, (2009) e Santos, E. R, (2016), aos quais descrevem a formação de diastereoisômeros em compostos semelhantes.

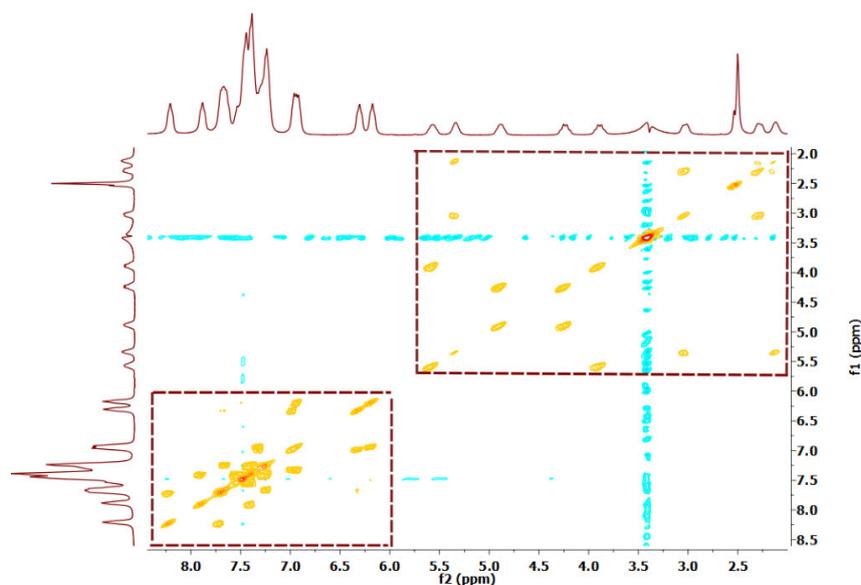
4.1.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear ^1H e ^{13}C e sua correlação bidimensional: COSY ($^{31}\text{P} - ^{31}\text{P}$) e DEPT-135

Na Figura 24, é mostrado o espectro RMN ^1H do $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ de supressão de H_2O obtido em DMSO-d_6 . É possível observar duas regiões distintas. A região alifática referente aos átomos de hidrogênios do aminoácido glicina (1), os grupos CH_2 da bifosfina (2), do grupo amino (3) e a região aromática relacionada aos hidrogênios dos anéis aromáticos da bifosfina.

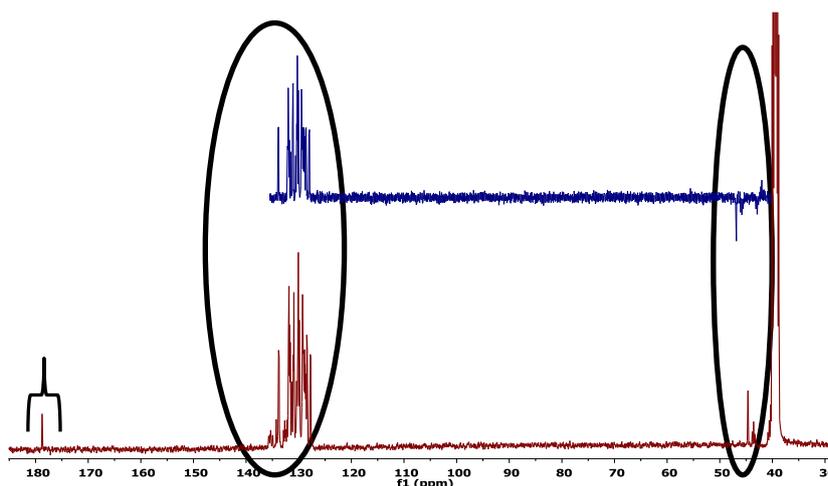
Figura 24: Espectro de RMN ^1H do composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em DMSO-d_6 

A estrutura do composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, apresenta 48 hidrogênios: 8 da região alifática e 40 da região aromática. Observa-se integrais de acordo com a estrutura proposta. Os hidrogênios alifáticos todos encontram-se na região 2,28-5,56 ppm. Foram atribuídos a partir da análise feita com auxílio dos espectros de ^{13}C e DEPT-135. E os hidrogênios aromáticos todos encontram-se na região 6,00 – 8,21 ppm. Porém, na região aromática apresenta uma sobreposição de sinais, não foi possível atribuir os sinais individuais de todos hidrogênios, devido à complexidade da estrutura do composto.

Na Figura 25, esses sinais são melhores visualizados pela sua correlação bidimensional (COSY ^1H - ^1H), por meio do acoplamento dos hidrogênios vizinhos das regiões alifáticas e aromáticas. Vale ressaltar que, não foi possível atribuir os sinais dos hidrogênios aromáticos, os valores das integrais condizem com a estrutura esperada (PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2010; VALLE et al., 2008).

Figura 25: Espectro de COSY (^1H - ^1H) do composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em DMSO-d_6 

Na Figura 26, é observado os espectros de RMN ^{13}C e o DEPT-135, do composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ que indicam grupo dos aminoácidos, das bifosfinas e a carbonila. Contribuindo para a elucidação da estrutura e comprovando a existência de diastereoisômeros para os compostos que apresentam carbono quiral.

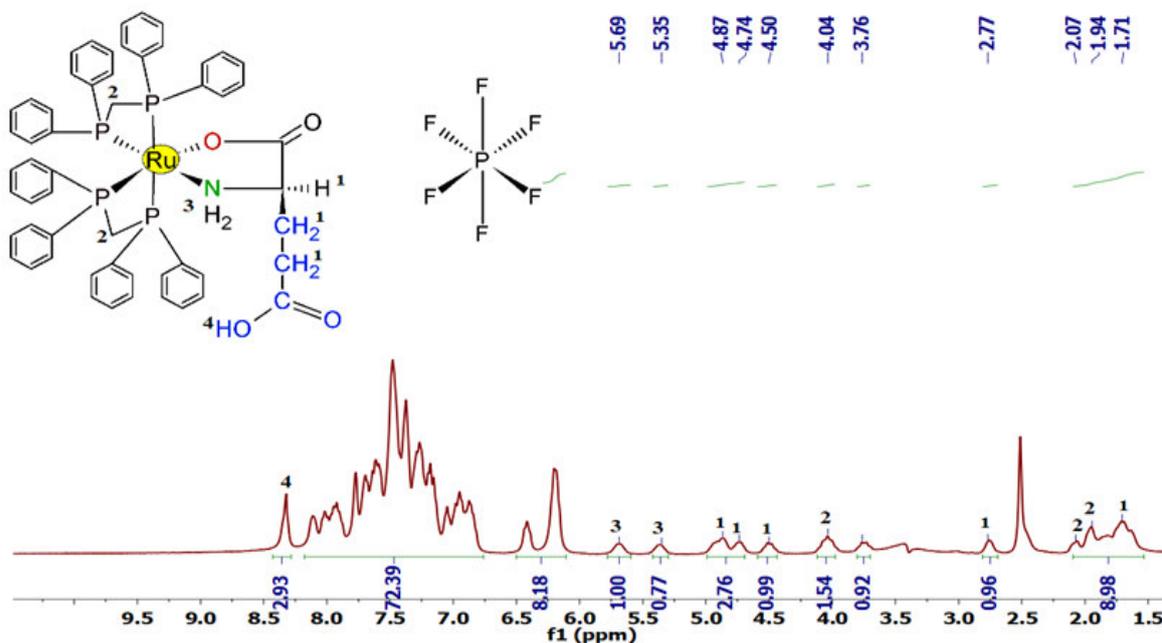
Figura 26: Espectros ^{13}C e DEPT-135 do $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, em DMSO-d_6 

O grupo entre 40 e 44 ppm, pertence aos carbonos CH_2 da bifosfina e o carbono CH_2 do aminoácido, sendo possível atribuir o sinal em 53,25 ppm ao C2 do aminoácido. Essas atribuições foram confirmadas pelo experimento DEPT-135, onde

carbonos CH₂ possuem intensidade negativa como o observado para os carbonos da bifosfina e do aminoácido possui intensidade positiva como o apresentado para o CH do aminoácido. O grupo de sinais (127 e 135 ppm) é referente aos carbonos dos anéis aromáticos das bifosfinas, sendo este constituído por carbonos quaternários e carbonos ligados a hidrogênios.

Na Figura 27, é mostrado o espectro de RMN ¹H do composto [Ru(L-Glu)(dppm)₂]PF₆ em DMSO-d₆, sua atribuição foi feita análoga ao composto [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, sendo possível observar a região alifática referente aos átomos de hidrogênios do aminoácido ácido glutâmico, os grupos CH₂ da bifosfina e a região aromática relacionada aos hidrogênios dos anéis aromáticos da bifosfina. Porém, esse composto apresenta um tipo de estereoisomerismo chamado de diastereoisômeros e atribuições dos sinais foram feitas com auxílio dos espectros de ¹³C e DEPT-135. Em relação atribuições dos sinais dos hidrogênios individuais da região aromática não é tão trivial, devido à complexidade estrutural.

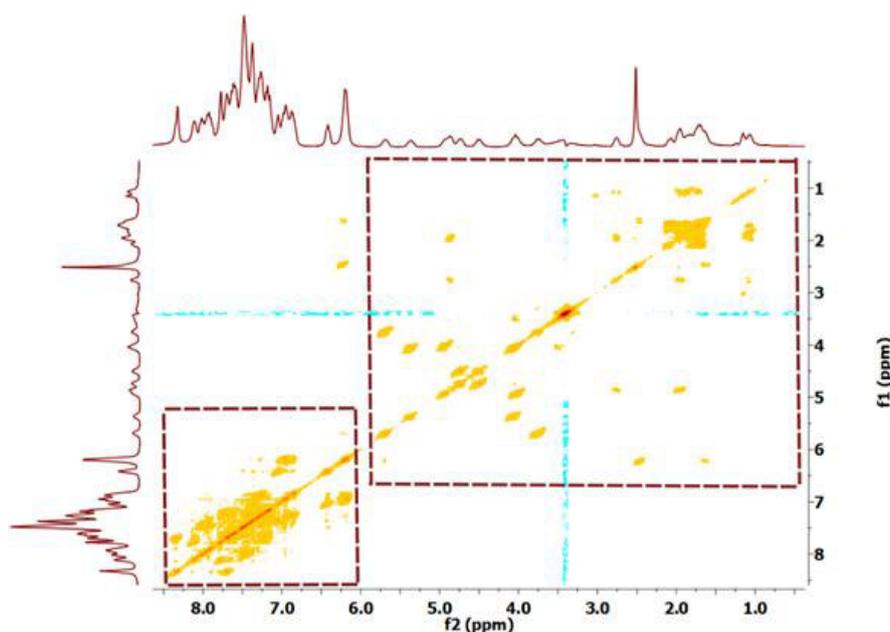
Figura 27: Espectro de RMN ¹H do composto [Ru(L-Glu)(dppm)₂]PF₆ em DMSO-d₆



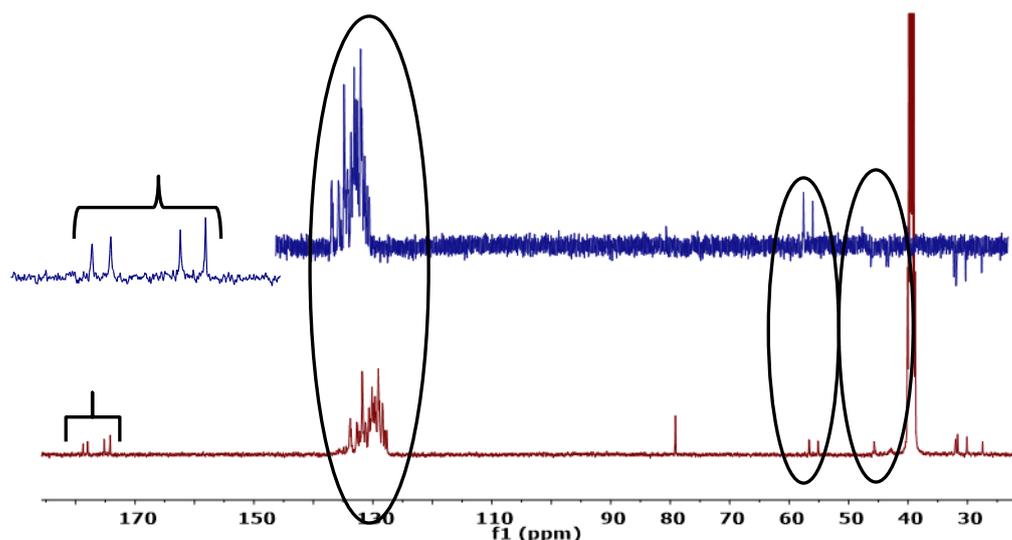
Espera-se para a estrutura do composto [Ru(L-Glu)(dppm)₂]PF₆, 104 hidrogênios devido ao diastereoisômeros (Λ, Δ) formados: 24 da região alifática e 80 da região aromática. Analisando o espectro de RMN ¹H, observa-se integrais estão de acordo com a estrutura proposta. Os hidrogênios alifáticos todos encontram-se na região

1,71-5,69. E os hidrogênios aromáticos todos encontram-se na região 6,19 – 8,11. Porém, na região aromática apresenta uma sobreposição de sinais, não sendo possível atribuir os sinais individuais de todos hidrogênios, devido à complexidade da estrutura do complexo. Entretanto, na Figura 28, esses sinais são melhores visualizados pela sua correlação bidimensional (COSY $^1\text{H} - ^1\text{H}$), por meio do acoplamento dos hidrogênios vizinhos das regiões alifáticas e aromáticas. Vale ressaltar que, mesmo não sendo possível atribuir os sinais dos hidrogênios aromáticos, os valores das integrais condizem com o esperado (a estrutura).

Figura 28: Espectro de COSY ($^1\text{H} - ^1\text{H}$) do $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, em DMSO-d_6



Os espectros de COSY ($^1\text{H} - ^1\text{H}$) dos demais compostos são apresentados no apêndice A. Na Figura 29, são observados os espectros de RMN ^{13}C e o DEPT-135, do composto $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ que indicam grupo dos aminoácidos, das bifosfinas e a duplicação da carbonila, contribuindo para a elucidação da estrutura do mesmo, e comprovando a existência de diastereoisômeros em solução.

Figura 29: Espectros ^{13}C e DEPT-135 do $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em DMSO-d_6 

O grupo entre 27,66 e 31,81 ppm, pertence aos carbonos CH_2 da bifosfina e os carbonos CH_2 do aminoácido ácido glutâmico, sendo possível atribuir os sinais em 45,46, 54,44 e 56,35 ppm aos C2 do aminoácido. Essas atribuições foram confirmadas pelo experimento DEPT-135, onde carbonos CH_2 possuem intensidade negativa como o observado para os carbonos da bifosfina e do aminoácido possui intensidade positiva como o apresentado para o CH do aminoácido.

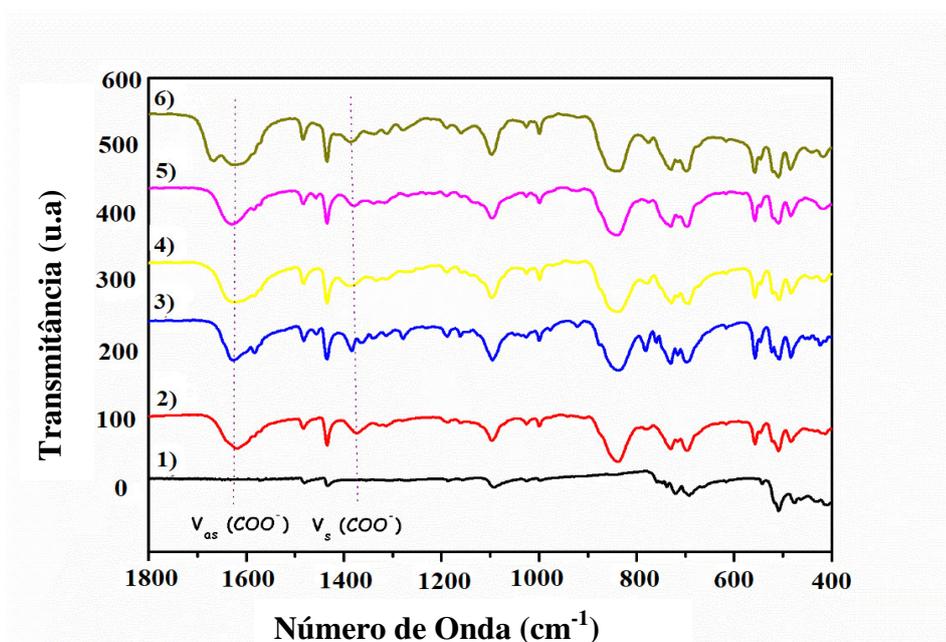
O grupo de sinais (127 e 135 ppm) é referente aos carbonos dos anéis aromáticos das bifosfinas, sendo este constituído por carbonos quaternários e carbonos ligados a hidrogênios conforme pode ser visto pela correlação direta destes sinais com os picos do espectro de hidrogênio, o que proporciona os acoplamentos C-H observados no espectro de RMN HSQC (Apêndice A). O grupo referente ao carbono quaternário do grupo carboxílico que são evidenciados pela ausência de acoplamento no espectro de HSQC e também pela ausência nos espectros de RMN DEPT-135.

Uma das principais observações realizada nos espectros de RMN ^{13}C é a duplicação dos sinais, confirmando a presença de diastereoisômeros. Isto é ainda melhor observado para o carbono do grupo carboxílico do aminoácido que se encontra em uma região mais limpa, com deslocamento em (173,83 e 178,07 ppm). Isto é justificável, uma vez que, quando o aminoácido se coordena ao metal, ocorre uma redistribuição eletrônica, onde seu núcleo ^{13}C fica mais desprotegido sentindo mais o campo magnético e, portanto, indo para maiores deslocamentos. Os espectros de RMN ^{13}C e DEPT-135 para os demais compostos são mostrados (Apêndice A).

4.1.3. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Na literatura existem vários trabalhos descrevendo espectros FTIR de complexos com aminoácidos. Tais espectros, tem como perfil característico, modos vibracionais intensos simétricos (ν_s) e assimétrico (ν_{as}) para o ânion carboxilato complexado no centro metálico e deformações dentro de fora do plano para o grupo amino ($-\text{NH}_2$). Na Figura 30, é exibido o espectro FTIR para os complexos obtidos neste trabalho, por meio do monitoramento dos deslocamentos sofridos pelos estiramentos assimétricos e simétricos do grupo. Vale ressaltar que, os cinco compostos tiveram deslocamentos em relação as bandas vibracionais do precursor *cis*-[Ru(Cl₂(dppm)₂].

Figura 30: Espectro de absorção na região do infravermelho, do precursor e dos compostos obtidos, de formula geral [Ru(AA)(dppm)₂]PF₆, em KBr



Legenda: (1) Precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂], (2) [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, (3) [Ru(L-Ala)(dppm)₂]PF₆, (4) [Ru(L-Met)(dppm)₂]PF₆, (5) [Ru(L-Trp)(dppm)₂]PF₆ e (6) [Ru(L-Glu)(dppm)₂]PF₆.

Os espectros FTIR dos complexos obtidos apresentam bandas similares, inclusive se assemelhando a complexos do mesmo tipo descrito por (ALMEIDA et al., 2014b, 2014a; SANTOS et al., 2013), com atribuições condizentes com o esperado. Estiramentos típicos do grupo carboxilato [$\nu_{as}(\text{COO}^-)$ e $\nu_s(\text{COO}^-)$] entre a região 1622 - 1630 cm^{-1} foram observados. Nakamoto, (2006), descreve esses estiramentos observados para o grupo carboxílico, caracterizando-se os mesmos como “Zwitterions”

no estado cristalino, (pH neutro) onde os grupos carboxilatos estão desprotonados, coordenando-se facilmente a íons metálicos, especialmente com os de transição.

De acordo com (PEARSON, 1963, 1968), os íons metálicos de rutênio (II) possui um caráter intermediário, segundo a classificação de ácidos duro/mole, e o grupo carboxilato tende agir como uma base dura e pode se ligar as bases com sítios (duros) quanto a sítios (moles) e além disso, a coordenação de íons carboxilato pode ocorrer de dois modos, monodentada ou bidentada (quelatos). Na Tabela 2, são mostradas mudanças na diferença entre os estiramentos assimétricos e simétricos dos complexos obtidos e dos ligantes aminoácidos livres, com os valores correspondentes valores de (Δcm^{-1}) do grupo (COO^-) e atribuições de outros modos vibracionais.

Tabela 2: Tentativa de atribuições das frequências vibracionais (cm^{-1}) nos espectros de absorção na região do infravermelho dos novos compostos

Modos vibracionais (Banda)	Número de onda (cm^{-1})				
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
$\nu_{\text{ass}} \text{NH}$	3341	3378	3410	3668	3452
$\nu_{\text{ass}} (\text{COO}^-)$ e δNH	1626	1622	1630	1625	1624
$\nu_s (\text{COO}^-)$	1378	1376	1368	1381	1384
Δcm^{-1} ligante	179	180	205	169	182
Δcm^{-1} complexo	243	246	262	244	240
$\nu (\text{C-S})$	-	-	1267	-	-
$\nu_{\text{ass}} (\text{P-F})$	834	827	836	843	838
$\nu_s (\text{P-F})$	559	557	557	556	557

Legenda: (1) - $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$; (2) - $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$; (3) - $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$; (4) - $[\text{Ru}(\text{L-Trp})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ e (5) - $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$.

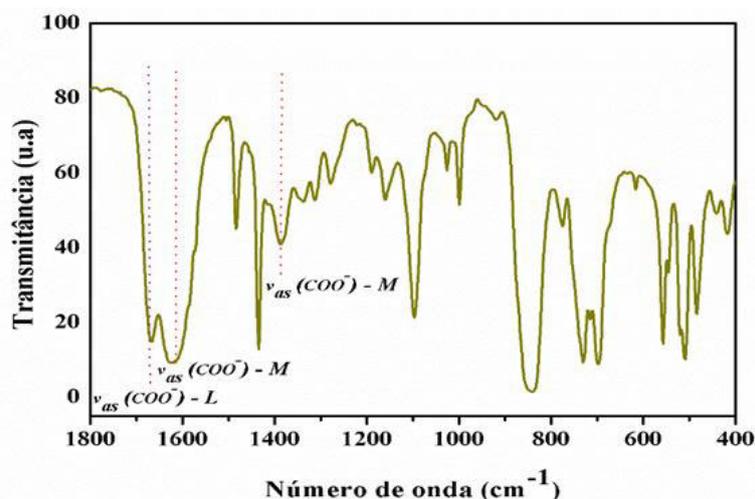
As tentativas de atribuições dos espectros FTIR para os complexos neste trabalho são coerentes com os resultados reportados na literatura (COVALEST, 1958; NAKAMOTO, 2006). O grupo carboxilato dos ligantes AA coordena-se de forma monodentada, por meio da diferença entre os estiramentos assimétricos e simétricos do grupo (COO^-) que pode ser observado na Tabela 2. Então, quando coordenado de forma monodentada apresenta (Δcm^{-1}) maior do que o grupo (COO^-) do aminoácido livre e a forma bidentada são mostrados valores significativamente menores do que (Δcm^{-1}) do grupo (COO^-) do aminoácido livre.

Nos espectros foram observadas frequências para a banda característica da vibração do grupo NH_2 aparecendo em $3341\text{-}3668\text{ cm}^{-1}$, correspondendo ao estiramento assimétrico e ao estiramento simétrico. Nos espectros dos complexos, essa banda se sobrepõe aos bem definidos e muitos estiramentos devido à ligação de hidrogênio da água de cristalização. Essas bandas são mais intensas nos espectros dos ligantes livres.

Confirma-se nos espectros FTIR, o modo vibracional próximo de 823 cm^{-1} , atribuído para a ligação P-F do contra-íon PF_6^- , mostrando que os compostos são catiônicos, e que as vibrações em relação ao íon metálico e halogênio aparecem basicamente na região de menores valores de energia.

Na Figura 31, é exibido o espectro FTIR para o composto (5). Diferente dos demais espectros, este apresenta uma banda de menos intensidade em 1667 cm^{-1} e outra em 1624 cm^{-1} . O ligante ácido glutâmico, apresenta dois grupos carboxilatos em sua estrutura, que aparece na forma “*zwitteriônica*”. Quando este aminoácido se coordena ao um centro metálico (neste caso), somente um grupo carboxilato é usado para se coordenar ao centro metálico, restando o outro grupo livre. Portanto, neste espectro o estiramento em 1667 cm^{-1} grupo (COO^-) coordenado e em 1624 cm^{-1} podem ser atribuídos para grupo (COO^-) ionizado e não-coordenado, conseqüentemente, não é trivial identificar o estiramento simétrico do grupo (COO^-) da forma ionizada, por ser pouco afetado pelo processo de complexação.

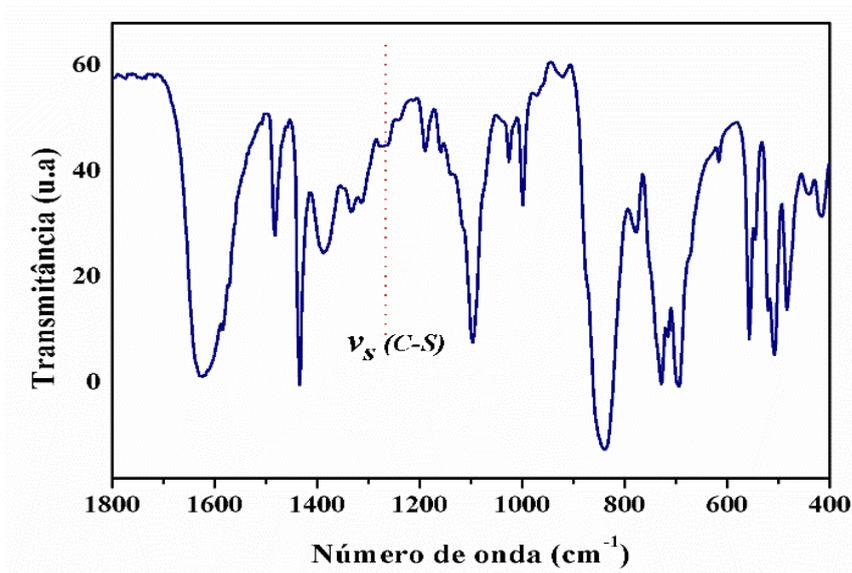
Figura 31: Espectro de absorção de infravermelho do $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, em KBr



Na Figura 32, encontra-se o espectro FTIR do $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ além dos modos vibracionais já descritos anteriormente, possui um tímido estiramento em 1267 cm^{-1} , o qual pode ser atribuído ao estiramento $\nu_s(\text{C-S})$, característica também

observado por Nakamoto, (2016).

Figura 32: Espectro de absorção de infravermelho do $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, em KBr



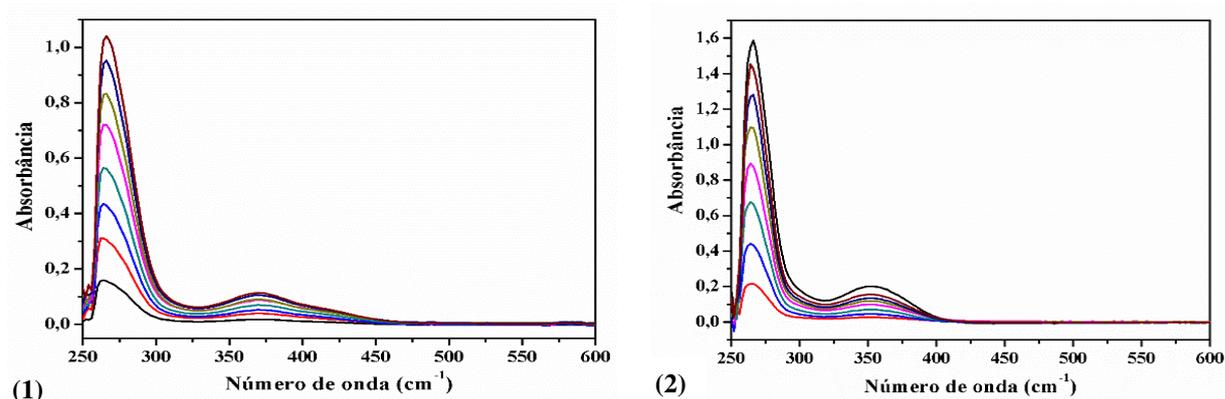
Os resultados observados nos espectros de absorção na região do infravermelho com a complexação pelos quelatos (N-O) do ligante e a presença do contra-íon PF_6 , indicando a formação de compostos catiônicos monocarregados. Confirma-se, por meio dos estudos feitos pela técnica de análise elementar, que os resultados dos compostos sintetizados condizem com as formulações sugeridas. Além do mais, foi observado a existência de solvente na esfera de coordenação dos compostos sintetizados. E a técnica de condutividade molar dos compostos, variam entre $12 - 77 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ em CH_2Cl_2 que conforme a literatura e os valores de condutividade para eletrólitos foram 1:1. Demonstrando que os compostos possuem carga (+1) e o contra-íon carga (-1), que ocorre um balanceamento de cargas e o composto se torna neutro. Os valores encontram-se numa tabela (Apêndice).

4.1.4. Espectroscopia de absorção na região do UV/Vis

Os espectros de absorção na região do ultravioleta-visível foram obtidos como uma técnica complementar a fim de conseguir maiores informações a respeito da energia associada as transições eletrônicas que envolvem o precursor e os compostos obtidos. Os processos de absorção ocorrem devido a transição de níveis eletrônicos

quando excitados de um nível mais baixo ocupado para um nível mais alto desocupado. Foram obtidos os espectros eletrônicos na região do ultravioleta e do visível para o precursor e o composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, os demais compostos encontram-se no Apêndice C, são apresentados na Figura 33.

Figura 33: Espectros de absorção na região ultravioleta e visível do (1) precursor e do (2) - composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em DMSO



Pode-se prever que, algumas transições, conforme a literatura (LAZIC et al., 2016; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2010), devem-se as bandas de absorção estão associadas as transições envolvendo principalmente o íon metálico (transições d-d), contribuindo para a cor dos compostos de coordenação. Segundo, (HOUSECROFT; SHARPE, 2001, 2011) outras bandas referem-se à transições de transferências de carga-metal ligante como esperadas para as fosfinas por ser conhecidas por suas propriedades doadora (σ) e receptora (π), possuindo orbitais d vazios em baixo estado de energia, assim, quando ligadas aos íons metálicos de baixo estado de oxidação, como o Ru (II).

Na Tabela 3, são apresentadas tentativas de atribuições das bandas (260 – 352 nm) nos espectros de absorção na região UV/Vis dos compostos, bem como os seus respectivos valores de absorvidade molar (ϵ) calculados pela Lei de Lambert-Beer.

Tabela 3: Dados de espectroscopia de absorção UV/Vis para os compostos, em DMSO

Compostos	λ (nm)	ϵ (mol ⁻¹ cm ⁻¹ L)	Transição
(1)	264	28309	($\pi \rightarrow \pi^*$)
	354	3179	d-d $d\pi_{(Ru)} \rightarrow \pi^*_{(fosfina)}$
(2)	264	32528	($\pi \rightarrow \pi^*$)
	352	7578	d-d $d\pi_{(Ru)} \rightarrow \pi^*_{(fosfina)}$
(3)	264	32496	($\pi \rightarrow \pi^*$)
	352	5533	d-d $d\pi_{(Ru)} \rightarrow \pi^*_{(fosfina)}$
(4)	264	51712	($\pi \rightarrow \pi^*$)
	356	2779	d-d $d\pi_{(Ru)} \rightarrow \pi^*_{(fosfina)}$
(5)	264	25716	($\pi \rightarrow \pi^*$)
	354	3026	d-d $d\pi_{(Ru)} \rightarrow \pi^*_{(fosfina)}$

Legenda: (1) - [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, (2) - [Ru(L-Ala)(dppm)₂]PF₆, (3)- [Ru(L-Met)(dppm)₂]PF₆, (4) - [Ru(L-Trp)(dppm)₂]PF₆, (5) - [Ru(L-Glu)(dppm)₂]PF₆

Conforme Sullivan e Meyer, (1982), o precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] utilizado neste trabalho, exibe um espectro com quatro bandas na região entre 260 e 420 nm. No precursor, foi possível observar uma transição em 264 nm, atribuída às transições ($\pi \rightarrow \pi^*$) dos anéis aromáticos da bifosfina. E outra transição em 419 nm, a qual está associada às transições de carga entre os ligantes cloretos e o íon Ru (II). Também apresentam uma banda na região de 350-370 nm, atribuída à transição de carga TCML ($d\pi \rightarrow \pi^*$) envolvendo íon Ru (II) e os átomos de fósforos.

Os compostos possuem um perfil característico de uma mistura entre as transições já apresentadas pelo precursor, exibindo-se uma banda bem definida na região de 260 nm, que também se pronuncia característica como transições ($\pi \rightarrow \pi^*$) referentes aos anéis aromáticos das bifosfinas. E outra banda em 352 nm, atribuída a transição de carga TCML ($d\pi \rightarrow \pi^*$) envolvendo íon Ru (II) e os átomos de fósforo das fosfinas. Essa transição refere-se ao deslocamento para os valores de menor

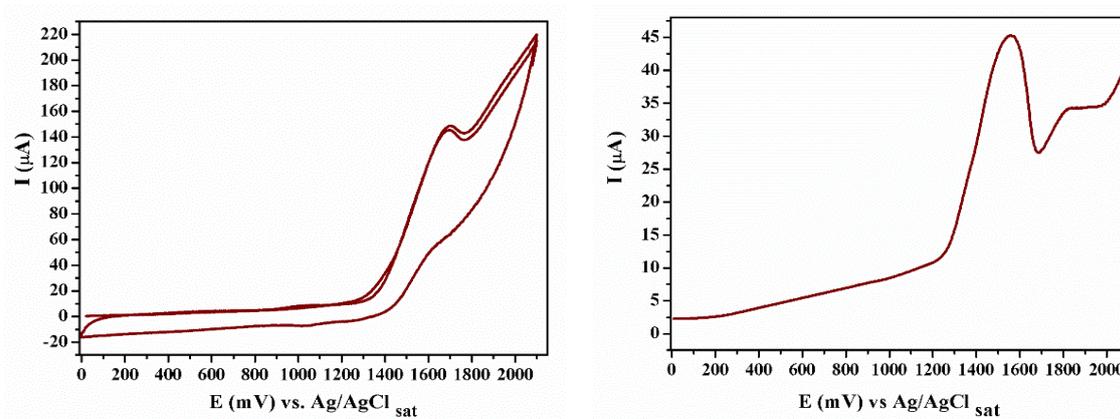
comprimento de onda, ou seja, maior energia. Logo que, os átomos de fosforos das fosfinas quando livres, apresentam transições (proibidas) com menor comprimento de onda (maior energia) e quando coordenados sofrem um deslocamento e apresentam uma maior intensidade (GARBIN SOBRINHO, 2015; PAVIA; LAMPMAN; KRIZ, 2010).

Vale destacar que, às transições (d-d) do metal devem estar encobertas pelas bandas de transferência de carga do metal para o ligante. Uma observação a ser acrescentada, é que as bandas de transição (d-d) são proibidas por Laporte, possuindo baixos valores de coeficientes de extinção molar e são facilmente encobertas por outras bandas, como bandas de TCML, TCLM e IL.

4.1.5. Medidas eletroquímicas

Os métodos eletroanalíticos possuem vantagens que se baseiam principalmente na alta sensibilidade, baixo custo. Essa técnica, permite relacionar os compostos de coordenação com a densidade eletrônica de um determinado centro metálico (característica diretamente relacionada ao potencial de oxidação). É uma ferramenta eficiente na determinação da troca de ligantes ou mudanças estereoquímicas. Neste trabalho, utilizou-se voltametria cíclica e onda quadrada. Na Figura 34, representa o voltamograma cíclico e onda quadrada do precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂].

Figura 34: Voltamograma cíclico e de onda quadrada, do precursor em CH₂Cl₂(1 mol L⁻¹ de PTBA) com eletrodo de trabalho carbono vítreo, o eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl e o eletrodo auxiliar de platina



Analisando-se o voltamograma cíclico do precursor e de acordo com Sullivan e

Meyer, (1982), percebe-se um processo de oxidação para o isômero *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] em E= 990,0 mV, com a formação de um subproduto, o *trans*-[RuCl₂(dppm)₂] em E= 526.0 mV, para o par redox Ru (III) / Ru (II), mostrando a reversibilidade do processo eletroquímico (HIGGINS, 2001). Na Figura 35 são mostrados os voltamogramas cíclicos e na Figura 36 são apresentados os voltamogramas de onda quadrada dos compostos [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, [Ru(L-Glu)(dppm)₂]PF₆, que são típicos para os demais, que encontram-se no Apêndice D.

Figura 35: Voltamograma (a) cíclico e (b) onda quadrada do composto [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆ em CH₂Cl₂ (1 mol L⁻¹ de PTBA) com eletrodo de trabalho carbono vítreo, o eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl e o eletrodo auxiliar de platina

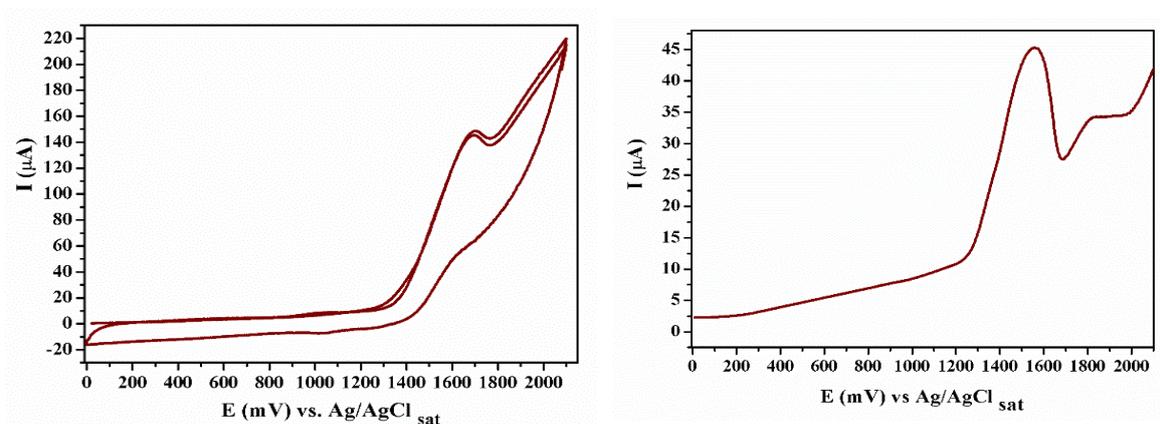
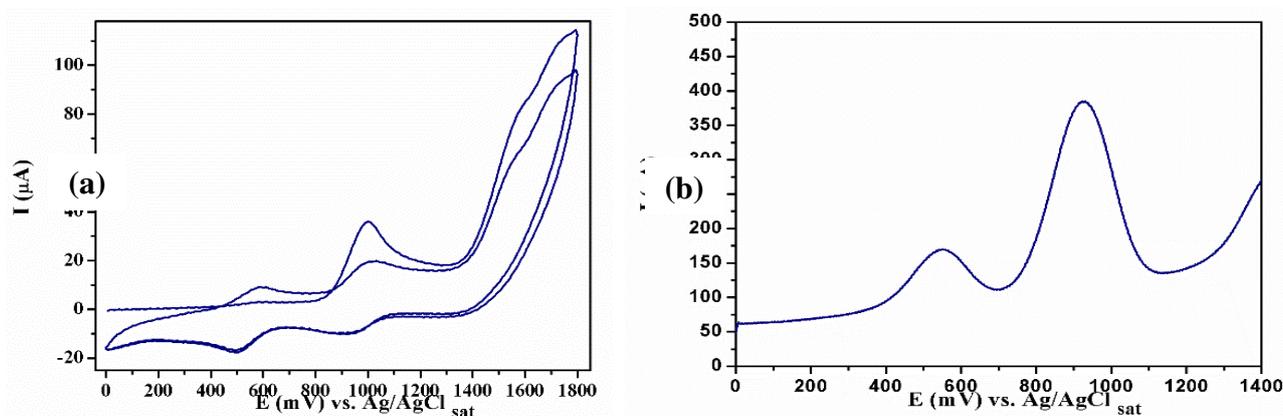


Figura 36: Voltamograma (a) cíclico e (b) onda quadrada do composto [Ru(L-Glu)(dppm)₂]PF₆ em CH₂Cl₂ (1 mol L⁻¹ de PTBA) com eletrodo de trabalho carbono vítreo, o eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl e o eletrodo auxiliar de platina

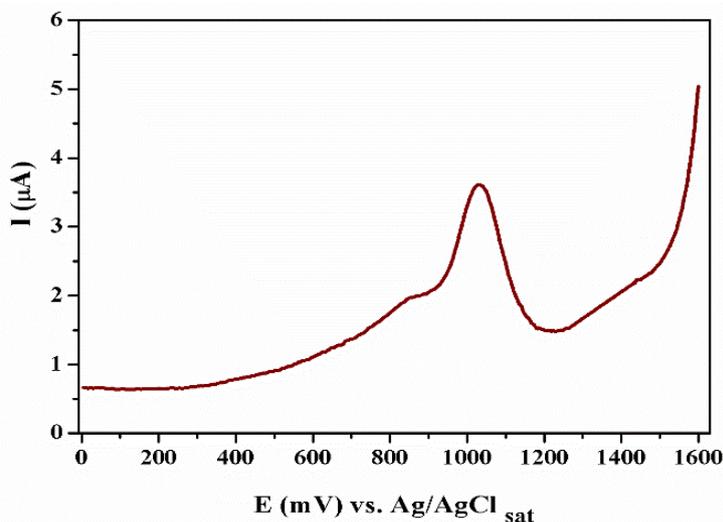


É possível observar nos voltamogramas cíclicos dos compostos, o deslocamento de potenciais de oxidação Ru (II) / Ru (III) para regiões de mais alto potencial, quando se comparando com o precursor, visto que, ocorre a substituição de dois cloretos do precursor pelos quelatos (N-O) dos ligantes AA. Os cloretos são bons doadores σ e π , enquanto os átomos de oxigênio e nitrogênio apresentam um fraco caráter doador de densidade eletrônica. Ocorrendo diminuição da densidade eletrônica do rutênio, conduzindo a um aumento do potencial de oxidação.

Vale ressaltar que, os compostos apresentam um perfil característico de irreversível. Mas, o composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, apresenta um processo de redução na região catódica, característico do aminoácido e na região encontra-se sobreposto, devido ao elevado potencial de varredura referente ao processo do íon metálico. Os demais compostos não apresentam nitidamente o processo da região de varredura catódica.

Observa-se nos voltamogramas de onda quadrada, o segundo processo de oxidação, por se trata de uma voltametria mais sensível, ao qual encontra-se sobreposto nos voltamogramas cíclicos para os compostos e assim é possível atribuir ao aminoácido livre. Visto que, para confirmar o segundo processo de oxidação referente ao aminoácido livre, obteve-se voltamogramas de onda quadrada para os aminoácidos deste trabalho. Na Figura 37, é exibido o voltamograma de onda quadrada para o aminoácido triptofano e os demais estão no Apêndice D.

Figura 37: Voltamograma de onda quadrada do triptofano, típico dos aminoácidos, em solução Tampão Trizma (1 mol L^{-1}) com eletrodo de trabalho carbono vítreo, o eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl e o eletrodo auxiliar de platina.



Observam-se potenciais de oxidação mais baixos em 850,66 mV e 1022,90 mV por não estarem coordenados. E na literatura são descritos processos de oxidação do grupo (-COO). Na Tabela 4 são apresentados os dados da voltametria cíclica referentes aos potenciais anódicos e a razão das correntes anódicas e catódicas para todos os compostos.

Tabela 4: Dados eletroquímicos dos compostos

Composto	Voltametria Cíclica				
	E _{pa} (mV)	E _{pc} (mV)	ΔE _p (mV)	ΔI (μA)	Reversibilidade
(1)	1692,14	-	-	19,80	Irreversível
(2)	1637,47	-	-	7,70	Irreversível
(3)	1729,90	-	-	17,80	Irreversível
(4)	1402,26	-	-	15,83	Irreversível
(5)	1686,85	-	-	36,99	Irreversível

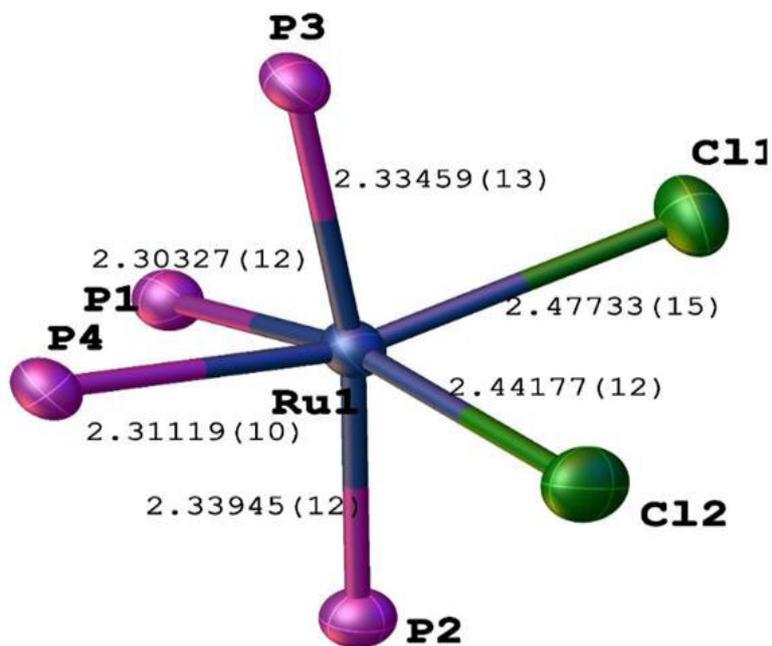
Legenda: (1) - [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, (2) - [Ru(L-Ala)(dppm)₂]PF₆, (3)- [Ru(L-Met)(dppm)₂]PF₆, (4) - [Ru(L-Trp)(dppm)₂]PF₆, (5) - [Ru(L-Glu)(dppm)₂]PF₆

Justifica-se que, por meio dos estudos eletroquímicos, a estabilidade os compostos obtidos, devido a coordenação dos aminoácidos pelos quelantes (N-O) ao rutênio, demonstram ser átomos que possuem uma capacidade menor de doação de elétrons. Os compostos estabilizam o rutênio no estado de oxidação +2.

4.1.6. Difração de raios X por monocristal

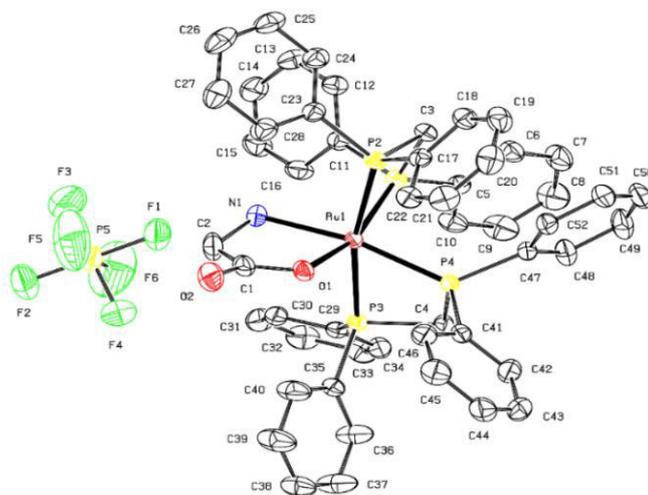
Essa técnica foi de fundamental importância para elucidação da estrutura dos compostos. Os cristais foram obtidos por meio da difusão lenta de metanol na solução dos complexos em diclorometano. Os resultados das técnicas de espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível, infravermelho, análise elementar, condutividade molar e as demais técnicas foram confirmadas mediante as estruturas de raios X dos compostos. Na Figura 38, é mostrado a estrutura cristalina do precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂], compostos (1), (2) e (3). Os refinamentos cristalográficos das estruturas encontram-se no (Apêndice F).

Figura 38: Estrutura cristalina do precursor $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$, compostos (1), (2a), (2b) e (3) e os deslocamentos da elipsoide são estimados com nível de 30%



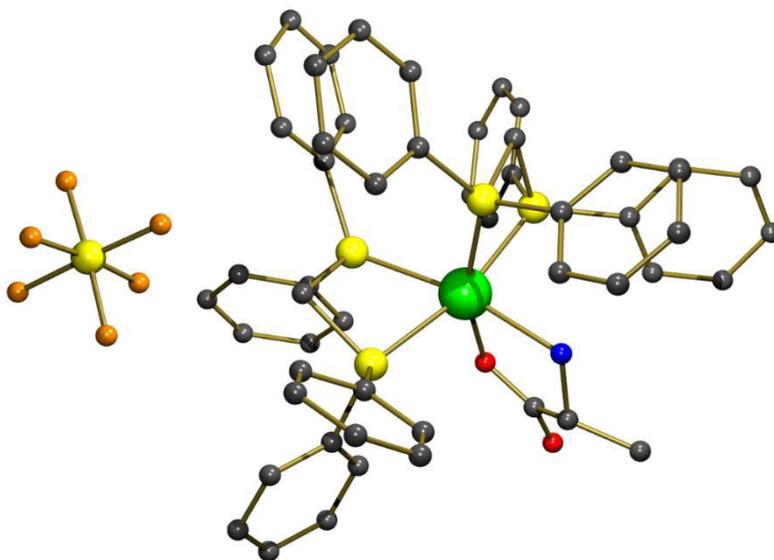
Legenda: *cis* - $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$

(1)



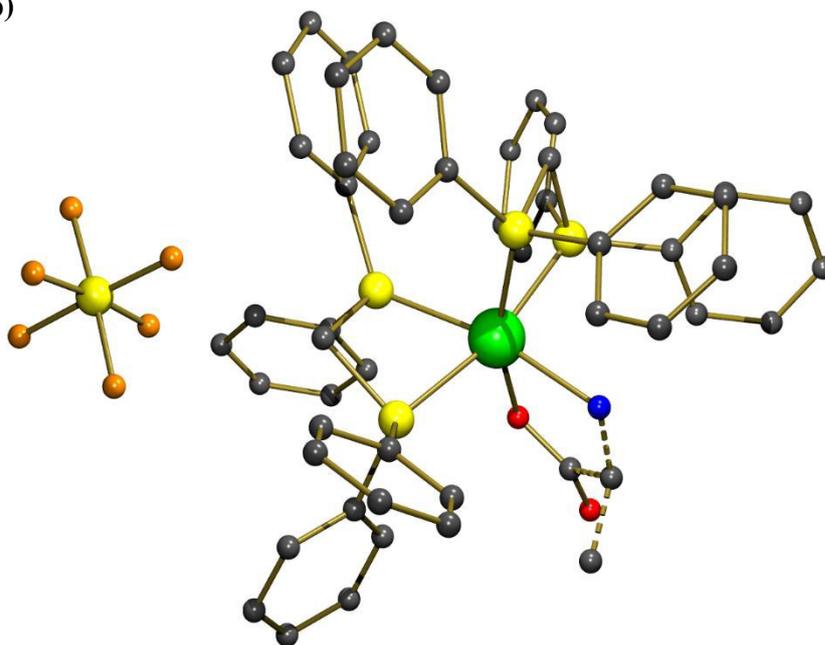
Legenda: (1) - $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$

(2a)



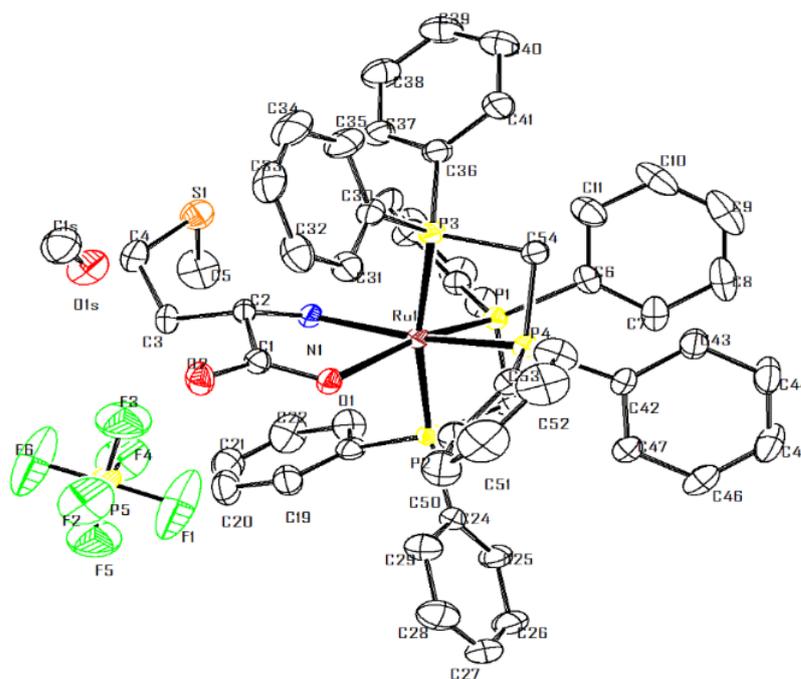
Legenda: (2a) - $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, com 1ª desordem

(2b)



Legenda: (2b) - $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, com 2ª desordem

(3)



Legenda: (3) - $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$

Os compostos $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ cristalizaram-se no sistema monoclinico com grupo espacial $P2_1/n$, $P2_1/c$ e $P2_1$, respectivamente. Apresentaram-se uma geometria octaédrica distorcida devido ao impedimento estérico dos grupos fenilas das fosfinas e ao pequeno “ângulo de mordida” do ligante que se encontra coordenado de forma bidentado pelos quelatos nitrogênio e oxigênio (N-O). Observou-se que a ligação Ru-P nos complexos com duas bifosfinas com comprimentos de ligação dos fósforos axiais são ligeiramente maiores do que os fósforos equatoriais, semelhante as ligações do precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$. Vale ressaltar que, o $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, apresentou-se na esfera de coordenação o solvente metanol.

Na Tabela 5, foi observado que a ligação Ru-P nos compostos com duas bifosfinas com comprimentos de ligação dos fósforos axiais são ligeiramente maiores do que os fósforos equatoriais. Os comprimentos de ligação Ru-P para P₂ e P₃ são 0,08 Å maiores do que os fósforos trans aos átomos nitrogênio e oxigênio. Esse fato é elucidado pelo efeito trans competitivo dos átomos de fósforos que alongam o comprimento da ligação oposta ao mesmo.

Tabela 5: Comprimentos (Å) e ângulos (°) de ligação selecionados da estrutura dos compostos (1), (2) e (3)

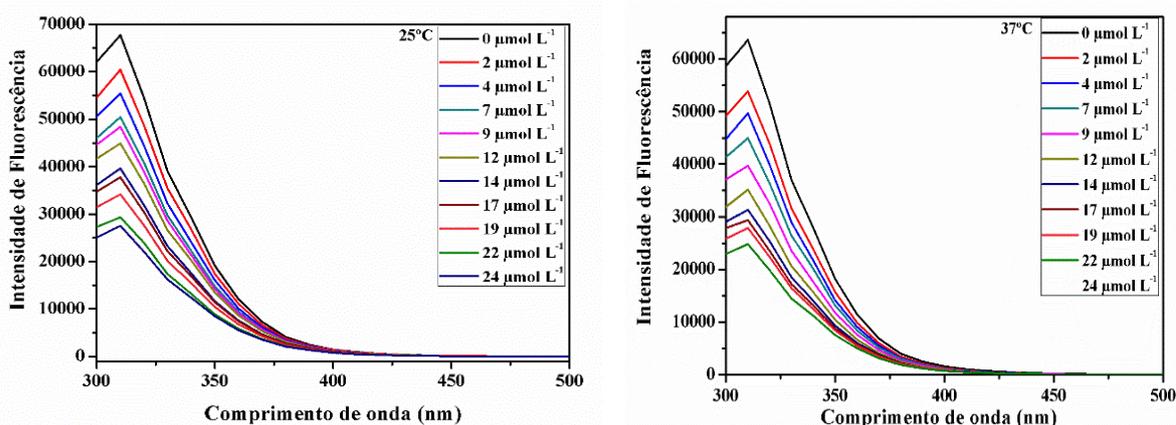
Ligações	Comprimento de ligação (Å)			Ligações		Ângulos de ligação (°)	
	(1)	(2)	(3)		(1)	(3)	(3)
				P₁-Ru-P₂	70,91	71,02	102,42
Ru-P₁ Trans O₁	2,305	2,308	2,300	P₁-Ru-P₃	102,02	98,99	71,19
Ru-P₂ Trans P₃	2,339	2,337	2,342	P₁-Ru-P₄	92,22	92,05	92,97
Ru-P₃ Trans P₂	2,419	2,417	2,375	P₂-Ru-P₃	166,46	166,89	100,21
Ru-P₄ Trans N₁	2,332	2,333	2,324	P₄-Ru-P₃	69,46	69,75	70,51
Ru- N₁ Trans P₄	2,193	2,186	2,152	P₁-Ru- N₁	94,06	94,38	97,80
Ru- O₁ Trans P₁	2,141	2,141	2,132	P₂-Ru- N₁	92,79	92,84	90,80
C₁- O₁	1,276	1,272	1,270	P₃-Ru- N₁	99,33	98,99	97,37
C₁- N₁	1,479	1,390	1,474	P₄-Ru- N₁	168,12	168,04	165,12

Legenda: (1) - [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, (2) - [Ru(L-Ala)(dppm)₂]PF₆, (3)- [Ru(L-Met)(dppm)₂]PF

4.1.7. Estudo de interação dos compostos com BSA

A técnica de supressão de fluorescência foi utilizada para investigar a interação entre moléculas e proteínas por ser sensível e rápida. A fluorescência da BSA está associada aos resíduos de triptofano situados nos sítios 134 e 212 nos subdomínios IB e IIA. Na Figura 39, são observados os espectros de fluorescência de BSA na presença do composto (1), onde é perceptível a diminuição na intensidade de fluorescência a partir da adição do composto, indicando interação com BSA nas temperaturas 25 °C e 37 °C. O espectro de fluorescência da BSA foi obtido na presença de diferentes quantidades dos compostos, numa faixa de 300 a 500 nm sobre uma excitação em 280 nm.

Figura 39: Espectro de supressão de fluorescência do - [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆ em 280 nm nas temperaturas 25 °C e 37 °C



A etapa principal para racionalização de novos fármacos é o estudo envolvendo interação com biomoléculas em especial as proteínas (albuminas). Neste trabalho o intuito principal do experimento foi interagir os novos compostos com albumina, para avaliar se podem ser possíveis candidatos à fármacos. Vale ressaltar que, é essencial este experimento, para buscar entender como será o comportamento dos complexos no organismo (BARREIRO; FRAGA, 2015; MOREIRA *et al.*, 2015a).

E o processo de supressão da fluorescência foi analisado nesse quesito, pela intensidade de fluorescência relativa (F_0/F) como uma função da concentração de [Q] em diferentes temperaturas utilizando a equação de Stern-Volmer (Equação 1) (LI *et al.*, 2014):

$$F_0/F = 1 + K_{sv}[\text{complexo}] = 1 + k_q \cdot t_0[\text{complexo}] \text{ (Equação 1)}$$

onde, F_0 e F são as intensidades de fluorescência na ausência e presença dos compostos, respectivamente, K_q , a constante de velocidade de supressão bimolecular e t_0 o tempo de meia-vida médio da BSA na ausência do supressor. Pela equação 1 pode-se observar que a constante de Stern-Volmer (K_{sv}) é igual ao produto $t_0 \cdot K_q$ e pode ser obtida pelo coeficiente angular do gráfico plotado F_0/F versus [composto]. Na Tabela 6, encontram-se os valores de K_{sv} e K_q obtidos para os complexos nas duas temperaturas de estudo. O valor de K_q foi calculado considerando que o tempo de meia-vida da BSA no estado excitado é de $6,2 \cdot 10^{-9}$ s (PEREIRA, 2016).

Tabela 6: Dados de K_{sv} e K_q obtidos para os compostos

Compostos	T(K)	K_{sv} (10^4 L mol $^{-1}$)	K_q (10^{12} L mol $^{-1}$ s $^{-1}$)	R^2
(1)	298,15	6,80	11,3	0,989
	310,15	6,02	10,4	0,970
(2)	298,15	1,57	26,3	0,973
	310,15	1,52	25,4	0,988
(3)	298,15	1,14	19,1	0,964
	310,15	1,08	10,6	0,954
(4)	298,15	1,73	28,9	0,994
	310,15	1,32	22,0	0,992
(5)	298,15	8,46	14,1	0,993
	310,15	8,03	12,6	0,988

Legenda: (1) - [Ru(Gly)(dppm) $_2$]PF $_6$, (2) - [Ru(L-Ala)(dppm) $_2$]PF $_6$, (3)- [Ru(L-Met)(dppm) $_2$]PF $_6$, (4) - [Ru(L-Trp)(dppm) $_2$]PF $_6$, (5) - [Ru(L-Glu)(dppm) $_2$]PF $_6$

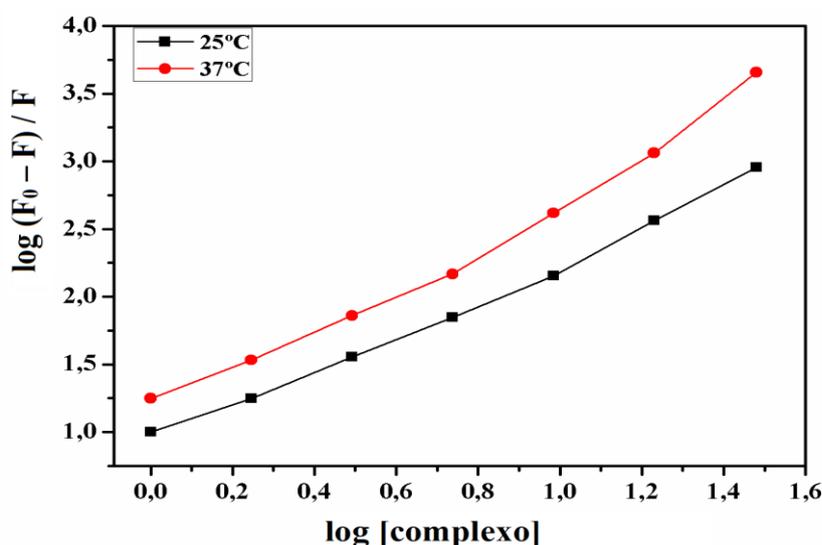
Observa-se os valores obtidos para K_{sv} e não há diferença significativa com a variação da temperatura de cada composto. Entretanto, verifica-se que os resultados obtidos para K_q estão na ordem de 10^{12} , que excedem o valor máximo permitido para o mecanismo dinâmico ($2,0 \times 10^{10}$ L mol $^{-1}$ s $^{-1}$), podendo sugerir desta forma que a supressão da fluorescência da BSA pelo complexo ocorre de forma estática. Dessa forma, a constante de ligação (K_b) pode ser obtida a partir do modelo de local de ligação que pressupõe a existência de sítios de ligação (n) para um inibidor (composto) numa

biomolécula expresso na Equação 2.

$$\text{Log } (F_0/F) = \text{Log } k_b + \text{Log}[\text{complexo}] \quad (\text{Equação 2})$$

Na Figura 40, é representado estes parâmetros que podem ser extraídos pela regressão linear do gráfico plotado de $\log (F_0 - F) / F$ versus $\log[\text{complexo}]$, onde $\log K_b$ é dado pelo coeficiente linear, o número de sítios de ligação (n) e o coeficiente angular.

Figura 40: Curvas de Stern-Volmer para BSA na presença de diferentes concentrações do $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, excitação = 280 nm, $[\text{BSA}] = 1,6 \times 10^{-5}$ mol



O valor da constante de ligação (K_b) nos dá uma ideia da força de interação BSA/complexo. Tem sido comprovado que a proteína pode ligar-se reversivelmente à uma variedade de compostos endógenos ou exógenos, tais como fármacos. Conseguir quantificar a força dessas interações é de extrema importância, uma vez que ela pode influenciar nas propriedades farmacocinéticas como a armazenagem, o transporte, evacuação, e podem ter efeitos na eficiência dos medicamentos (ROSS; SUBRAMANIAN, 1981). Os complexos apresentaram valores de K_b na ordem entre 10^4 – 10^6 , os quais estão associados às interações de moderadas a forte.

A Tabela 7, mostra os valores da interação com a albumina, que em sendo forte, pode levar a uma diminuição da biodisponibilidade do composto, uma vez que somente os fármacos livres podem se difundir através das barreiras celulares para atingir seus alvos terapêuticos.

Tabela 7: Resultados obtidos para as constantes K_b e n para os compostos sintetizados

Compostos	T(K)	K_b	N	R^2
(1)	298,15	$4,9 \times 10^4$	0,978	0,968
	310,15	$2,93 \times 10^4$	0,988	0,977
(2)	298,15	$1,44 \times 10^6$	1,210	0,993
	310,15	$1,31 \times 10^6$	1,202	0,996
(3)	298,15	$3,42 \times 10^6$	0,963	0,974
	310,15	$1,52 \times 10^4$	0,944	0,988
(4)	298,15	$5,30 \times 10^4$	1,311	0,989
	310,15	$1,89 \times 10^6$	1,246	0,994
(5)	298,15	$5,60 \times 10^6$	1,178	0,996
	310,15	$3,72 \times 10^6$	1,274	0,972

Legenda: (1) - [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, (2) - [Ru(L-Ala)(dppm)₂]PF₆, (3)- [Ru(L-Met)(dppm)₂]PF₆, (4) - [Ru(L-Trp)(dppm)₂]PF₆, (5) - [Ru(L-Glu)(dppm)₂]PF₆

As forças relacionadas a associação de um fármaco com uma biomolécula envolvem algumas interações não covalentes fracas, incluindo as forças hidrofóbicas, eletrostáticas, van der Waals e ligações de hidrogênio. A análise dos parâmetros termodinâmicos (energia livre de Gibbs - ΔG° , variação de entalpia - ΔH° e entropia - ΔS°) podem ser obtidos com base nas equações 3 e 4.

$$\ln k_{b2} / k_{b1} = (1 / T_1 - 1 / T_2) \Delta H_0 / R \text{ (Equação 3)}$$

$$\Delta G_0 = -RT \ln K = \Delta H_0 - T \Delta S_0 \text{ (Equação 4)}$$

A análise por meio destas equações, nos dar o indício de qual tipo de interação está associada, e os parâmetros termodinâmicos calculados para os compostos. Na Tabela 8, informa os dados referentes as equações (3 e 4).

Tabela 8: Resultados obtidos para ΔG , ΔH , ΔS dos compostos obtidos

Compostos	T(K)	ΔG (kJ.mol ⁻¹)	ΔH (kJ.mol ⁻¹)	ΔS (J.mol ⁻¹ .K ⁻¹)
(1)	298,15	-32,90	81,05	398,78
	310,15	-39,50		
(2)	298,15	-34,26	90,78	416,93
	310,15	-38,36		
(3)	298,15	-30,33	62,70	318,33
	310,15	-33,16		
(4)	298,15	-26,01	50,56	274,75
	310,15	-31,25		
(5)	298,15	-38,30	80,78	433,95
	310,15	-35,40		

Legenda: (1) - [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, (2) - [Ru(L-Ala)(dppm)₂]PF₆, (3)- [Ru(L-Met)(dppm)₂]PF₆, (4) - [Ru(L-Trp)(dppm)₂]PF₆, (5) - [Ru(L-Glu)(dppm)₂]PF₆

Conforme exposto os valores da energia livre de Gibbs, é possível associar todos os compostos por meio da albumina de forma espontânea, nas temperaturas de estudo. O estudo feito por (MOREIRA *et al.*, 2015b), observaram parâmetros termodinâmicos para caracterizar a interação proteína/fármaco, em vários sistemas. E foi observado valores positivos para variação de entropia e entalpia, indicando ligações de hidrogênio entre os compostos e a proteína. E as variações positivas ocorrem devido as quebras de ligações de hidrogênio e a liberação de algumas moléculas de água do sítio ativo da proteína.

4.1.8. Ensaios de citotoxicidade dos compostos

A citotoxicidade dos novos compostos se dá a partir do índice de viabilidade celular, conhecido como IC₅₀ (Concentração mínima necessária para impedir 50 % da viabilidade celular) que foi realizado por reprodutibilidade do ensaio (triplicata). As células viáveis (que apresentam atividade metabólica) são capazes de reduzir o MTT (coloração amarela) ao Formazan, que exibe uma coloração azul-púrpura, ocorrendo o processo que se torna dependente ao ciclo metabólico dos cofatores NADH e NADPH. O ensaio MTT é colorimétrico que permite determinar o número de células viáveis após exposição a um agente, determinado e de maneira indireta a citotoxicidade do mesmo, a qual é dada pelo valor do IC₅₀ (ABE; MATSUKI, 2000; ANGIUS; FLORIS, 2015; GRELA; KOZŁOWSKA; GRABOWIECKA, 2018). Na Figura 41, é mostrado gráficos

com valores obtidos de IC₅₀ dos compostos sintetizados por meios das linhagens MDA-MB-231 (adenocarcinoma de mama), A549 (carcinoma de pulmão humano) e MRC-5 (Fibroblasto de pulmão humano).

Figura 41: Gráficos de IC₅₀ dos novos compostos (1)- [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, (2)- [Ru(L-Ala)(dppm)₂]PF₆, (3)- [Ru(L-Met)(dppm)₂]PF₆, (4)- [Ru(L-Trp)(dppm)₂]PF₆ e (5)- [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, na linhagem tumoral A549

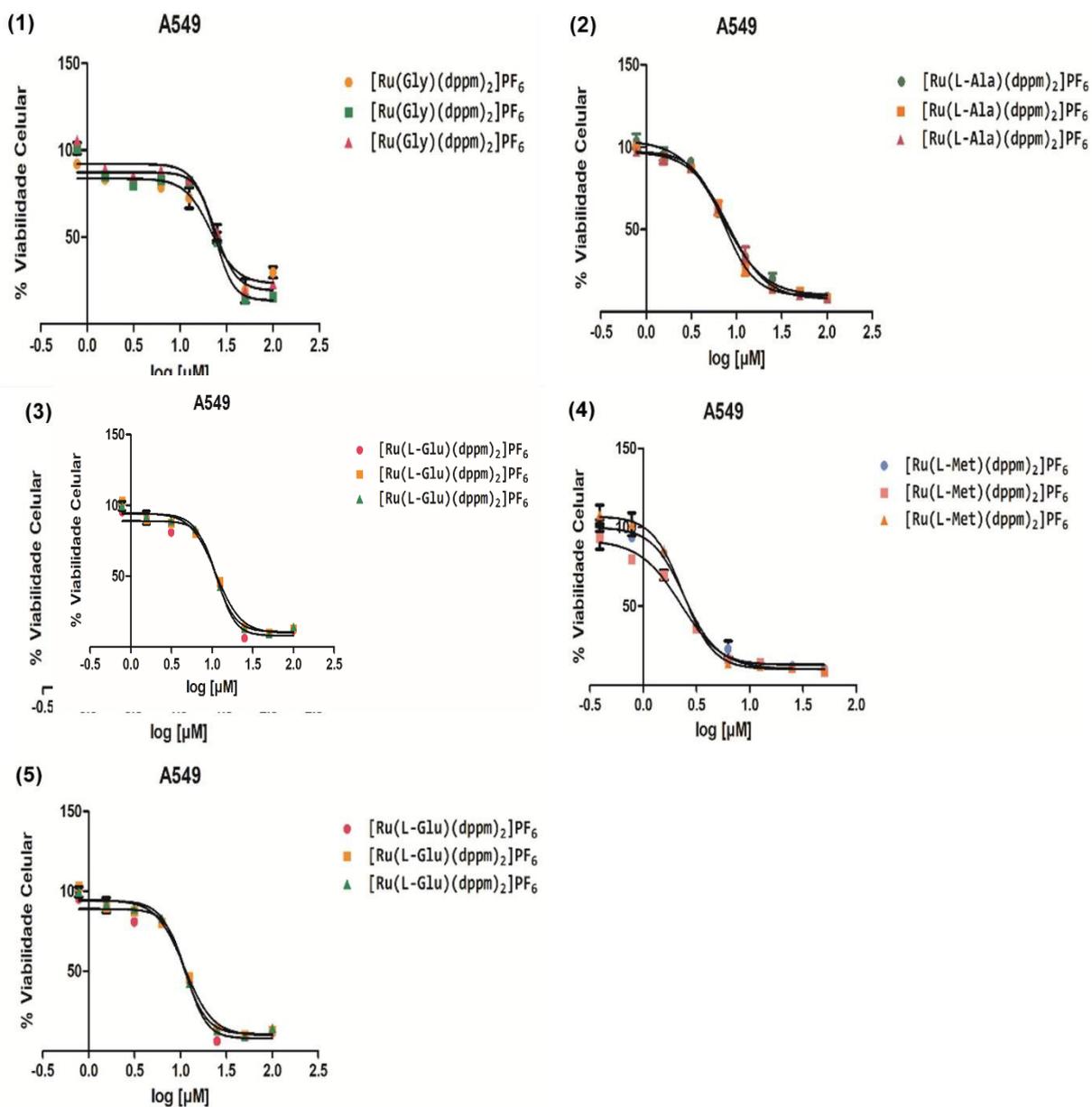


Figura 42: Gráficos de IC₅₀ dos novos compostos (1)- [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, (2)- [Ru(L-Ala)(dppm)₂]PF₆, (3)- [Ru(L-Met)(dppm)₂]PF₆, (4)- [Ru(L-Trp)(dppm)₂]PF₆ e (5)- [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, na linhagem tumoral MDA-MB-231

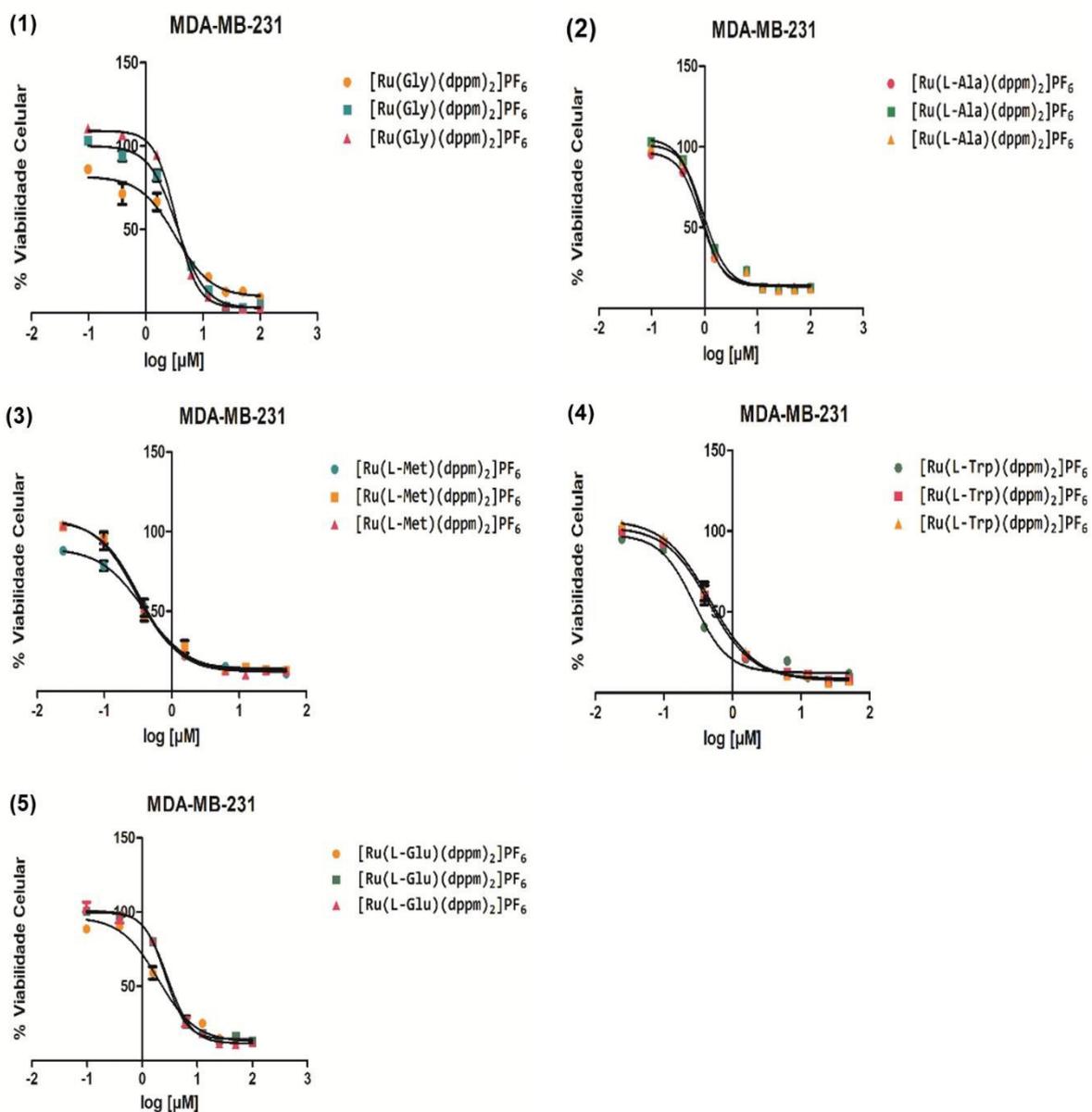
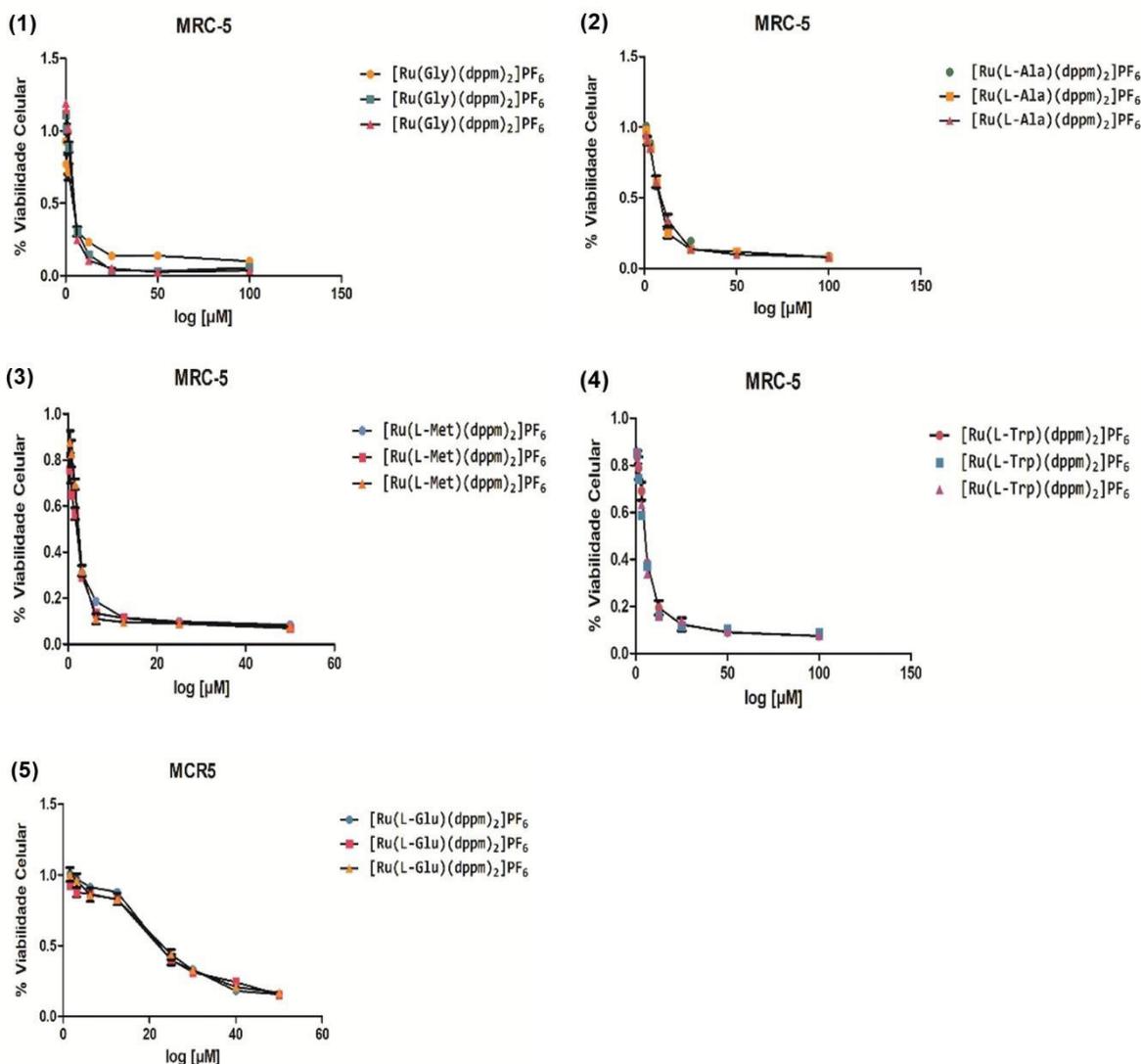


Figura 43: Gráficos de IC₅₀ dos novos compostos (1)- [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, (2)- [Ru(L-Ala)(dppm)₂]PF₆, (3)- [Ru(L-Met)(dppm)₂]PF₆, (4)- [Ru(L-Trp)(dppm)₂]PF₆ e (5)- [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, na linhagem tumoral MRC-5



A coordenação dos ligantes aminoácidos ao íon metálico proporcionou um aumento considerável da atividade citotóxica para os complexos formados desde os precursores. Os compostos obtidos, formam claramente grupos de ligantes com distintas ramificações, á exemplo os compostos [Ru(L-Met)(dppm)₂]PF₆ ($0,340 \pm 0,047 \mu\text{mol L}^{-1}$) e (4) ($0,400 \pm 0,108 \mu\text{mol L}^{-1}$), ambos apresentaram boas atividade citotóxica na linhagem MDA-MB-231 e são mais ativos quando comparado a seus precursores. Por meio de valores similares a outros compostos já descritos na literatura, decidiu-se pesquisar aminoácidos com diferentes ramificações. O composto já descrito na literatura

[Ru(L-Met)(dppb)(bipy)]PF₆ apresentou a melhor atividade citotóxica ($5,00 \pm 1,50 \mu\text{mol L}^{-1}$) na linhagem MDA-MB-231 (ALMEIDA *et al.*, 2014a).

No caso da linhagem A549 os compostos mais ativos foram [Ru(L-Met)(dppm)₂]PF₆ ($1,272 \pm 0,4818 \mu\text{mol L}^{-1}$) e [Ru(L-Trp)(dppm)₂]PF₆ ($1,67 \pm 0,112 \mu\text{mol L}^{-1}$). Vale ressaltar, que os compostos mais ativos não chegam intactos nas células. Na Tabela 9, é mostrado os valores de índice de seletividade (IS) para todos os compostos. Conclui-se que, de um modo geral os compostos são seletivos dependendo da linhagem. Os compostos [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, [Ru(L-Trp)(dppm)₂]PF₆ e [Ru(L-Glu)(dppm)₂]PF₆ são mais seletivos para a linhagem MDA-MB-231. Esta é uma característica desejada, porque compostos mais seletivos, podem causar menos danos às células sadias e conseqüentemente, menos efeitos colaterais

Tabela 9: Atividade citotóxica in vitro (IC₅₀) e índice de seletividade para os compostos nas linhagens celulares A549, MDA-MB-231 e MRC5, depois de 48 h

Compostos	IC ₅₀ (μmol.L ⁻¹)				
	A549	MDA-MB 231	MRC5	IS* / MCR5/MDA-MB-231	IS* MCR5/ A549
dppm	>100	>100	>100	-	-
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppm) ₂]	0,35 ± 0,07	1,10 ± 0,09	-		
(1)	22,88 ± 1,23	3,41 ± 0,09	46,78 ± 4,06	13,72	2,05
(2)	6,24 ± 0,25	0,89 ± 0,03	7,44 ± 0,57	8,36	1,19
(3)	1,67 ± 0,11	0,34 ± 0,10	2,34 ± 0,07	6,88	1,40
(4)	1,27 ± 0,42	0,40 ± 0,10	4,68 ± 0,61	11,70	3,68
(5)	11,33 ± 0,37	2,43 ± 0,20	21,46 ± 0,61	8,83	1,89
Cisplatina	11,84 ± 1,19	2,43 ± 0,20	29,09 ± 0,078	11,96	2,45

Legenda: (1) - [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, (2) - [Ru(L-Ala)(dppm)₂]PF₆, (3)- [Ru(L-Met)(dppm)₂]PF₆, (4) - [Ru(L-Trp)(dppm)₂]PF₆, (5) - [Ru(L-Glu)(dppm)₂]PF₆

5. CONDISERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foram sintetizados cinco compostos inéditos de rutênio (II) contendo aminoácidos quirais e não-quiral, bem como ligantes bifosfínicos e caracterizados por diversas técnicas espectroscópicas, confirmando a pureza dos compostos.

Os compostos foram evidenciados por resultados de análise elementar CHNS e as caracterizadas pelas técnicas de condutividade molar, espectroscopia de absorção na região do IR, UV-Vis, RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, voltametria cíclica e onda quadrada e difração de raios X.

Os dados de condutividade molar mostraram que os compostos sintetizados são eletrólitos 1:1. A partir dos espectros de absorção na região do infravermelho foi possível observar bandas características dos ligantes AA, indicando a coordenação. A banda referente ao estiramento C-O do grupo carboxilato, indicando a coordenação do aminoácido de forma monodentada por esse grupo funcional e outra banda característica foi NH_2 . A presença do contra-íon PF_6^- foi confirmada por suas bandas características em torno de 827 e 556 cm^{-1} .

Os dados de voltametria cíclica mostraram que os compostos obtidos apresentam potenciais de oxidação maiores do que os precursores. Isso mostra a substituição dos ligantes cloretos pelos quelatos (N-O). Provocou uma menor densidade eletrônica no rutênio conduzindo um aumento do potencial de oxidação.

OS espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, permitiu verificar a influência da coordenação dos quelatos (N-O) dos ligantes aminoácidos na esfera de coordenação do rutênio (II). O composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ não apresentou diastereoisômeros, e foi confirmado por RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e ^{13}C . Acoplando entre si com forte e fraca intensidade e ocorreu fenômeno de coalescência para os átomos fósforos P_B e P_C com multiplicidade dublo triplete e os átomos de fósforos P_A e P_D apresentam a multiplicidade dublo duplo dubletos. E outra evidência que não possui diastereoisômeros, é o resultado de RMN ^{13}C a carbonila não apresentou duplicação.

Enquanto, os ligantes aminoácidos (L-Ala, L-Met, L-Trp e L-Glu) possuem carbono quiral e os compostos adquirem um perfil característico para formar diastereoisômeros, e foi observado por RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ e ^{13}C . Aparecem duplicidade de sinais quando comparados com o composto $[\text{Ru}(\text{Gly})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, evidenciando a

formação de diastereoisômeros. Os espectros de RMN ^{13}C confirma o diastereoisômeros destes compostos por meio dos sinais da carbonila que aparecem duplicados.

A técnica de difração de raios X foi importante na elucidação das estruturas dos compostos. As estruturas de raios X dos compostos confirmou a coordenação dos ligantes Aa de forma bidentada.

Os estudos de fluorescência da BSA, foi possível determinar o mecanismo de interação dos compostos pelo modo estático. Apresentaram uma interação relativamente forte com a BSA com a constante k_b da ordem de $10^4 - 10^6$. E os parâmetros termodinâmicos elucidaram a forma de interação dos compostos com BSA. Inference-se que a interação é espontânea e as forças de interação são hidrofóbicas. Nos ensaios citotóxicos, todos os compostos foram ativos, com destaque para célula de câncer de mama MDA-MB-231, que apresentaram altos índices de seletividade.

6. REFERÊNCIAS

ABE, K.; MATSUKI, N. Measurement of cellular 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reduction activity and lactate dehydrogenase release using MTT. **Neuroscience Research**, v. 38, n. 4, p. 325–329, 2000.

ABRAMS, M. J.; MURRER, B. A. Metal compounds in therapy and diagnosis. **Science**, v. 261, n. 5122, p. 725–730, 1993.

ALESSIO, E. et al. Synthesis , Molecular Structure , and Chemical Behavior of Hydrogen trans -Bis (dimethyl sulfoxide) tetrachlororuthenate (III) and mer-Trichlorotris (dimethyl sulfoxide) ruthenium (III): The First Fully Characterized Chloride-Dimethyl Sulfoxide-Ruthenium. **Inorg. Chem.**, v. 30, p. 609–618, 1991.

ALESSIO, E. Thirty Years of the Drug Candidate NAMI-A and the Myths in the Field of Ruthenium Anticancer Compounds: A Personal Perspective. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2017, n. 12, p. 1549–1560, 2017a.

ALESSIO, E. Thirty Years of the Drug Candidate NAMI-A and the Myths in the Field of Ruthenium Anticancer Compounds: A Personal Perspective. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2017, n. 12, p. 1549–1560, 2017b.

ALESSIO, E.; GUO, Z. Metal Anticancer Complexes – Activity, Mechanism of Action, Future Perspectives. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2017, n. 12, p. 1539–1540, 2017.

ALGRANTI, E.; BUSCHINELLI, J. T. P.; CAPITANI, E. M. DE. Câncer

de pulmão ocupacional*. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 36, n. 6, p. 784–794, 2010.

ALLARDYCE, B. C. S.; DYSON, P. J. Ruthenium in Medicine: Current Clinical Uses and Future Prospects. **Platinum Metals Rev.**, v. 45, n. 2, p. 62–69, 2001.

ALLEN, D. W. **Phosphines and related P – C-bonded compounds**. [s.l.: s.n.]. v. 43

ALMEIDA, M. A. P. **Complexos de rutênio contendo aminoácidos , com propriedades citotóxicas em células tumorais**. [s.l.] Universidade Federal de São Carlos, 2009.

ALMEIDA, M. A. P. et al. Structural features and cytotoxic activities of [Ru(AA-H)(dppb)(bipy)] PF₆complexes. **Polyhedron**, v. 81, p. 735–742, 2014a.

ALMEIDA, M. A. P. et al. Cytotoxicity and apoptotic mechanism of ruthenium(II) amino acid complexes in sarcoma-180 tumor cells. **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, 2014b.

ALMOTAIRY, A. R. Z. et al. Antitumor platinum(IV) derivatives of carboplatin and the histone deacetylase inhibitor 4-phenylbutyric acid. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 177, n. Iv, p. 1–7, 2017.

ALTAF, M. et al. New bipyridine gold(III) dithiocarbamate-containing complexes exerted a potent anticancer activity against cisplatin-resistant cancer cells independent of p53 status. **Oncotarget**, v. 8, n. 1, p. 490–505, 2017.

ALVARENGA, É. C. et al. Potenciais alvos terapêuticos contra o câncer. **Ciência e Cultura**, v. 66, n. 1, p. 43–48, 2014.

AMIR, M. K. et al. Anticancer activity of organotin(IV) carboxylates.

Inorganica Chimica Acta, v. 423, n. PB, p. 14–25, 2014.

AMIR, M. K. et al. Anticancer activity, DNA-binding and DNA-denaturing aptitude of palladium(II) dithiocarbamates. **Inorganica Chimica Acta**, v. 451, p. 31–40, 2016.

ANG, W. H. et al. Organometallic complexes that interconvert between trimeric and monomeric structures as a function of pH and their effect on human cancer and fibroblast cells. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 694, n. 6, p. 968–972, 2009.

ANG, W. H. et al. Organometallic ruthenium-based antitumor compounds with novel modes of action. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 696, n. 5, p. 989–998, 2011.

ANGIUS, F.; FLORIS, A. Liposomes and MTT cell viability assay: An incompatible affair. **Toxicology in Vitro**, v. 29, n. 2, p. 314–319, 2015.

ARAGÃO, W. et al. Contribuições da bioinorgânica para a química medicinal. **Review**, p. 5, 1994.

ARAÚJO, L. H. D. L. et al. Metástase gástrica de câncer de mama: relato de caso e revisão de literatura. **Rev bras cancerol**, v. 53, p. 365–368, 2007.

ARNESANO, F.; NARDELLA, M. I.; NATILE, G. Platinum drugs, copper transporters and copper chelators. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 374, p. 254–260, 2018.

ASSEM, L., TAKAMIYA, M. Phosphine Toxicological overview. **Institute of Environmental and Health**, p. 1–14, 2007.

BANDEIRA, P. N.; MENEZES, E. S. A. DE; HÉLCIO, S. Artigo Potencial Farmacológico de Chalconas : Uma Breve Revisão Chalcones Pharmacological Potential : A Brief Review Resumo Potencial Farmacológico de Chalconas : Uma Breve Revisão. v. 10, n. 5, 2018.

- BARBOSA, M. I. F. et al. Antiparasitic activities of novel ruthenium/lapachol complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 136, p. 33–39, 2014.
- BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G. Interações entre complexos antitumorais e o DNA e suas ferramentas de análise: um enfoque nos metalintercaladores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 1998–2016, 2015.
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química medicinal. As bases moleculares da ação dos fármacos**. [s.l: s.n.].
- BERALDO, H. Contribuições da química inorgânica para a química medicinal. **Química Nova na Escola**, n. 6, p. 4–6, 2005.
- BERGAMO, A.; SAVA, G. Ruthenium complexes can target determinants of tumour malignancy. **Dalton Transactions**, n. 13, p. 1267, 2007.
- BERNDSSEN, R. H. et al. Epigenetic approach for angiostatic therapy: promising combinations for cancer treatment. **Angiogenesis**, v. 20, n. 2, p. 245–267, 2017a.
- BERNDSSEN, R. H. et al. Combination of ruthenium(II)-arene complex [Ru(η^6 -p-cymene)Cl₂(pta)] (RAPTA-C) and the epidermal growth factor receptor inhibitor erlotinib results in efficient angiostatic and antitumor activity. **Scientific Reports**, v. 7, n. February, p. 1–16, 2017b.
- BIERSACK, B.; SCHOBERT, R. Metallodrug Conjugates with Steroids and Selective Estrogen Receptor Modulators (SERM). **Current medicinal chemistry**, v. 16, n. 18, p. 2324–2337, 2009.
- BLAZEVIC, A. et al. **Electronic State of Sodium trans-[Tetrachloridobis(1H-indazole)ruthenate(III)] (NKP-1339) in Tumor, Liver and Kidney Tissue of a SW480-bearing Mouse** **Scientific Reports**, 2017.

BLOCKHUYS, S.; WITTUNG-STAFSHEDE, P. Roles of copper-binding proteins in breast cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 4, p. 1–10, 2017.

BRATSOS, I. et al. Ruthenium Anticancer Compounds: Challenges and Expectations. **CHIMIA International Journal for Chemistry**, v. 61, n. 11, p. 692–697, 2007.

BÜCHEL, G. E. et al. Cis -Tetrachlorido-bis(indazole)osmium(IV) and its osmium(III) analogues: Paving the way towards the cis -isomer of the ruthenium anticancer drugs KP1019 and/or NKP1339. **Dalton Transactions**, v. 46, n. 35, p. 11925–11941, 2017.

CALDAS, S. S. et al. Modern techniques of sample preparation for pesticide residues determination in water by liquid chromatography with detection by diode array and mass spectrometry. **Quimica Nova**, v. 34, n. 9, p. 1604–1617, 2011.

CAO, Q. et al. G-quadruplex DNA targeted metal complexes acting as potential anticancer drugs. **Inorg. Chem. Front.**, v. 4, n. 1, p. 10–32, 2017.

CARLOS LIMA, J.; RODRIGUEZ, L. Phosphine-Gold(I) Compounds as Anticancer Agents: General Description and Mechanisms of Action. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 10, p. 921–928, 2011.

CHABNER, B. A. Barnett Rosenberg: In Memoriam (1924-2009) (Cancer Research (2010) 70, (428-9) DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4146). **Cancer Research**, v. 70, n. 4, p. 1748, 2010.

CHATT, J.; HAYTER, R. G. Some complexes of tertiary phosphines with ruthenium(II) and osmium(II). **J. Chem. Soc.**, n. 0, p. 896–904, 1961.

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

1155, 2008.

CHITAMBAR, C. R. Medical applications and toxicities of gallium compounds. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 7, n. 5, p. 2337–2361, 2010.

CHITAMBAR, C. R. et al. Gallium Maltolate Disrupts Tumor Iron Metabolism and Retards the Growth of Glioblastoma by Inhibiting Mitochondrial Function and Ribonucleotide Reductase. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 17, n. 6, p. 1240–1250, 2018.

CHITAMBAR, C. R.; ANTHOLINE, W. E. Iron-Targeting Antitumor Activity of Gallium Compounds and Novel Insights Into Triapine[®]-Metal Complexes. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 18, n. 8, p. 956–972, 2013.

CHITAMBAR, C. R.; SAX, D. Regulatory effects of gallium on transferrin-independent iron uptake by human leukemic HL60 cells. **Blood**, v. 80, n. 2, p. 505–11, 1992.

CLARKE, M. J. Ruthenium metallopharmaceuticals. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 232, n. 1–2, p. 69–93, 2002.

COLINA-VEGAS, L. et al. Cytotoxicity of Ru(II) piano-stool complexes with chloroquine and chelating ligands against breast and lung tumor cells: Interactions with DNA and BSA. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 2015.

COLINA-VEGAS, L. et al. Ru(II)/clotrimazole/diphenylphosphine/bipyridine complexes: Interaction with DNA, BSA and biological potential against tumor cell lines and Mycobacterium tuberculosis. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 162, p. 135–145, 2016.

COSTA, M. S. et al. Anti-Leishmania activity of new ruthenium(II)

complexes: Effect on parasite-host interaction. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 175, n. 12, p. 225–231, 2017.

COVALEST, T. H. E. Infrared Spectra of Aqueous Solutions . I . Metal Chelate Compounds of Amino Acids ' BY K ~ z u o. v. 11, n. 11, 1958.

CRUZ, A. S. et al. **Detecção Da Citotoxicidade De Materiais Biocompatíveis Nas Linhagens Celulares Mrc-5, HeLa E Rc-Ial** *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 1992.

CRUZ, E. . Cell line profile MDA-MB-231 (ECACC catalogue no. 92020424). **European Collection of Authenticated Cell Cultures**, v. 2780, n. 93112519, p. 87092802, 2017.

CUNHA, B. N. et al. Organometálicos de rutênio como possíveis metalofármacos: síntese, caracterização, interação com HSA e citotoxicidade. Resultados e Discussão. p. 2016, 2016.

CUNHA, B. N. et al. Hydrolysis reaction promotes changes in coordination mode of Ru(II)/acylthiourea organometallic complexes with cytotoxicity against human lung tumor cell lines. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 186, n. March, p. 147–156, 2018.

CUNHA, L. V. P. **COMPLEXOS FOSFÍNICOS DE Ru (II) e Ru (III) COM FÁRMACOS ANTI-TUBERCULOSE E SEUS DERIVADOS**. [s.l.] Universidade Federal de São Carlos, 2012.

DALIAN, D. et al. Ototoxic Model of Oxaliplatin and Protection from Nicotinamide Adenine Dinucleotide. **Journal of Otology**, v. 8, n. 1, p. 63–71, 2013.

DASARI, S.; BERNARD TCHOUNWOU, P. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. **European Journal of Pharmacology**, v. 740, p. 364–378, 2014.

DAVID, S. et al. Synthesis, characterization, and anticancer activity of ruthenium-pyrazole complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 111, p. 33–39, 2012.

DE GRANDIS, R. A. et al. Human topoisomerase inhibition and DNA/BSA binding of Ru(II)–SCAR complexes as potential anticancer candidates for oral application. **BioMetals**, v. 30, n. 3, p. 321–334, 2017.

DEPENBROCK, H. et al. Preclinical activity of trans-indazolium [tetrachlorobisindazoleruthenate (III)] (NSC 666158; IndCR; KP 1019) against tumour colony-forming units and haematopoietic progenitor cells. **European Journal of Cancer**, v. 33, n. 14, p. 2404–2410, 1997.

DWYER, B. G. et al. Ruthenium anticancer agent KP1019 binds more tightly than NAMI-A to tRNAPhe. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 182, n. February, p. 177–183, 2018.

FARNAZ, R. et al. Colloidal HSA – Graphene oxide nanosheets for sustained release of oxaliplatin: Preparation, release mechanism, cytotoxicity and electrochemical approaches. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 171, n. March, p. 10–16, 2018.

FARRELL, N. Transition Metal Complexes as Drugs and Chemotherapeutic Agents. **Metal Complexes as Drugs and Chemotherapeutic Agents**, v. 11, p. 809–840, 1989.

FERREIRA, C. et al. Impacto socioeconômico do câncer de pulmão não-pequenas células no Brasil. **Jornal Brasileiro de Economia da Saúde**, v. 8, n. 2, p. 91–98, 2016.

FESTA, R. A.; THIELE, D. J. Copper: An essential metal in biology. **Current Biology**, v. 21, n. 21, p. R877–R883, 2011.

FLOCKE, L. S. et al. **Molecular mode of action of NKP-1339 – a clinically investigated ruthenium-based drug – involves ER- and ROS-**

related effects in colon carcinoma cell lines *Investigational New Drugs*, 2016.

FONTES, ANA PAULA SOARES; CÉSAR, ELOI TEIXEIRA E BERALDO, H. A Química inorgânica na terapia do câncer. **Química nova**, v. 6, n. li, p. 2–7, 2005.

FONTES, A. P. S.; DE ALMEIDA, S. G.; DE ANDRADE NADER, L. Compostos de platina em quimioterapia do câncer. **Química Nova**, v. 20, n. 4, p. 398–406, 1997.

FRANCISCO, T. DOS S. **Complexos fosfínicos de rutênio: síntese, caracterização, imobilização e atividade catalítica**. [s.l.] Universidade federal do Ceará, 2015.

FRICKER, S. P. **Medicinal organometallic chemistry**. [s.l: s.n.]. v. 55

GABBIANI, C. et al. Proteomic and metallomic strategies for understanding the mode of action of anticancer metallodrugs. **Anti-cancer agents in medicinal chemistry**, v. 10, n. 4, p. 324–337, 2010.

GAMBINO, D.; OTERO, L. Perspectives on what ruthenium-based compounds could offer in the development of potential antiparasitic drugs. **Inorganica Chimica Acta**, v. 393, p. 103–114, 2012.

GARBIN SOBRINHO, L. L. **Complexos de rutênio (II) contendo 2-mercaptoimidazol e**. [s.l.] Universidade Federal de Uberlândia, 2015.

GEBRIM, L. H. **A detecção precoce do câncer de mama no Brasil**. [s.l: s.n.]. v. 32

GOMES, E. A. MULHERES E CÂNCER DE MAMA: percepção, itinerário terapêutico e prevenção. p. 152, 2012.

GRELA, E.; KOZŁOWSKA, J.; GRABOWIECKA, A. Current methodology of MTT assay in bacteria – A review. **Acta Histochemica**, v.

120, n. 4, p. 303–311, 2018.

GROESSL, M. et al. Structure-Activity Relationships for NAMI-A-type Complexes Binding , and Antiproliferative Activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 50, n. Iii, p. 2185–2193, 2007.

GURD, F. R. N.; WILCOX, P. E. Complex Formation between Metallic Cations and Proteins, Peptides, and Amino Acids. **Advances in Protein Chemistry**, v. 11, n. C, p. 311–427, 1956.

HASSAN, M. et al. Apoptosis and molecular targeting therapy in cancer. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

HENDGES, D. J. B.; STOLL, R. R.; MORESCHI, C. A Influência de Hábitos e Estilo de Vida no Surgimento de Neoplasias Malignas - Uma revisão de Literatura. **Revista Destaque Acadêmicos**, v. 5, n. 3, p. 121–130, 2013.

HÉRAULT, D. et al. Reduction of secondary and tertiary phosphine oxides to phosphines. **Chem. Soc. Rev.**, v. 44, n. 8, p. 2508–2528, 2015.

HIGGINS, S. J. Ruthenium(II)-dppm Coordination Chemistry. An Advanced Inorganic Miniproject. **Journal of Chemical Education**, v. 78, n. 5, p. 663, 2001.

HORDYJEWSKA, A.; POPIOŁEK, Ł.; KOCOT, J. The many “faces” of copper in medicine and treatment. **BioMetals**, v. 27, n. 4, p. 611–621, 2014.

HOUSECROFT, C. E. .; SHARPE, A. G. **Inorganic Chemistry**. 2^a ed. England: Pearson Education Limited, 2001.

HOUSECROFT, C. E. .; SHARPE, A. G. **Inorganic Chemistry**. 4^a ed. England: [s.n.].

II, A. T.; BODIES, M.; RNA, E. Cell line profile A549: Using the cytidine diphosphocholine pathway the cells can synthesise phospholipids.

European Collection of Authenticated Cell Cultures, v. 549, n. 86012804, p. 1–2, 2012.

IMRAN, M. et al. Photoactivated platinum-based anticancer drugs. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 376, p. 405–429, 2018.

INCA/MS. Carcinoma de Pulmão de Células não Pequenas. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 48, n. 4, p. 485–492, 2002.

INCA. **Programa nacional de controle do câncer da próstata: documento de consenso**. Rio de Janeiro - RJ: [s.n.].

INCA. **ABC do Câncer**. 2^a ed. Rio de Janeiro - RJ: [s.n.].

INCA. **CÂNCER DE MAMA: é preciso falar disso. CÂNCER DE MAMA: é preciso falar disso**, v. 1, n. 1, p. 1–20, 2014.

INCA. Estimativa do câncer 2016. **Ministério da Saúde Instituto Nacional de Cancer José Alencar Gomes da Silva**, p. 124, 2016.

INCA. **Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva**. [s.l: s.n.].

INCA. **ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do cânce**. [s.l: s.n.], v. 3. ed. rev

INCA. **ABC do cânc**er. 2^a ed. Rio de Janeiro - RJ: [s.n.]. v. II

INCA. Estimativa de câncer no Brasil. **Ministerio da Saúde**, 2018a.

INCA. **Tipos de câncer: Próstata**, 2018b.

ISMAEL, G. F. V. et al. Aspectos clínicos e histopatológicos em câncer de pulmão: análise dos dados de uma instituição no interior paulista entre 1997 e 2008. **Rev Bras Oncologia Clinica**, v. 7, n. 22, p. 72–78, 2010.

ISMAIL, M. B. et al. Synthesis, characterization and DNA interaction studies of tricarbonyl rhenium(I) compounds containing terpyridine Schiff

- base chelates. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 833, p. 1–9, 2017.
- JAKUPEC, M. A. et al. Antitumour metal compounds: more than theme and variations. **Dalton Trans.**, n. 2, p. 183–194, 2008.
- JÚNIOR, A. J. B. et al. Câncer De Próstata : Métodos De Diagnóstico , Prostate Cancer : Diagnostic Methods , Prevention and Treatment. **Vol.10,n.3,pp.40-46 (Mar - Mai 2015) Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 10, n. 3, p. 40–46, 2015.
- JUNIOR, W. E. F.; FRANCISCO, W. Proteínas: Hidrólise, Precipitação e um Tema para o Ensino de Química. **Química Nova na Escola**, v. 24, n. Novembro, p. 12–16, 2006.
- KAPITZA, S. et al. The heterocyclic ruthenium(III) complex KP1019 (FFC14A) causes DNA damage and oxidative stress in colorectal tumor cells. **Cancer Letters**, v. 226, n. 2, p. 115–121, 2005.
- KATHIRESAN, S. et al. Biological evaluation of redox stable cisplatin/Cu(II)-DNA adducts as potential anticancer agents. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 69, n. 2, p. 238–252, 2016.
- KOEBEL, M. Standard Potentials of Solid-State Metal Ion-Selective Electrodes. **Analytical Chemistry**, v. 46, n. 11, p. 1559–1563, 1974.
- KOSTOVA, I. Ruthenium Complexes as Anticancer Agents. **Current Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 9, p. 1085–1107, 2006.
- LAZAREVIĆ, T.; RILAK, A.; BUGARČIĆ, Ž. D. Platinum, palladium, gold and ruthenium complexes as anticancer agents: Current clinical uses, cytotoxicity studies and future perspectives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 142, p. 8–31, 2017a.
- LAZAREVIĆ, T.; RILAK, A.; BUGARČIĆ, Ž. D. Platinum, palladium, gold and ruthenium complexes as anticancer agents: Current clinical uses,

cytotoxicity studies and future perspectives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 142, p. 8–31, 2017b.

LAZIĆ, D. et al. DNA binding properties, histidine interaction and cytotoxicity studies of water soluble ruthenium(II) terpyridine complexes. **Dalton Transactions**, v. 45, n. 11, p. 4633–4646, 2016.

LEE, R. F. S. et al. The differential distribution of RAPTA-T in non-invasive and invasive breast cancer cells correlates with its anti-invasive and anti-metastatic effects. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 9, 2017.

LI, F.; COLLINS, J. G.; KEENE, F. R. Ruthenium complexes as antimicrobial agents. **Chem. Soc. Rev.**, v. 44, n. 8, p. 2529–2542, 2015.

LI, J. et al. Spectroscopic analysis and molecular modeling on the interaction of jatrorrhizine with human serum albumin (HSA). **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 118, p. 48–54, 2014.

LOPES, J. C. S. et al. Ruthenium(II) Complexes Containing Anti-Inflammatory Drugs as Ligands: Synthesis, Characterization and. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 9, p. 1838–1847, 2015.

LOUDA, D. W. **BIOCHEMISTRY Overview of Biomolecules**. 2012.

LUM, C. T. et al. Gold(III) complexes inhibit growth of cisplatin-resistant ovarian cancer in association with upregulation of proapoptotic PMS2 gene. **Chemical Science**, v. 5, n. 4, p. 1579–1584, 2014.

MANUEL, C.; CHAVES, M. Novas metodologias em química sustentável. **Novas Metodologias em Química Sustentável**, v. UC, 2015.

MASSONI, M. et al. **Propyl gallate metal complexes: Circular dichroism, BSA-binding, antioxidant and cytotoxic activity** *Polyhedron*, 2017.

MATOS, M. Complexos Metálicos na terapêutica do Cancro. **Sociedade Portuguesa de Química**, p. 61–68, 2001.

MAVROIDI, B. et al. Palladium(II) and platinum(II) complexes of derivatives of 2-(4'-aminophenyl)benzothiazole as potential anticancer agents. **Inorganica Chimica Acta**, v. 444, p. 63–75, 2016.

MELLO-ANDRADE, F. et al. Antitumor effectiveness and mechanism of action of Ru(II)/amino acid/diphosphine complexes in the peritoneal carcinomatosis progression. **Tumor Biology**, v. 39, n. 10, p. 1–18, 2017.

MESSORI, L. et al. A spectroscopic study of the reaction of NAMI, a novel ruthenium(III)anti-neoplastic complex, with bovine serum albumin. **European journal of biochemistry / FEBS**, v. 267, n. 4, p. 1206–1213, 2000.

MILACIC, V.; DOU, Q. P. The tumor proteasome as a novel target for gold(III) complexes: Implications for breast cancer therapy. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, n. 11–12, p. 1649–1660, 2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Ministério da Saúde (MS) - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC N° 166, de 24 de julho de 2017. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil.**, v. 2017, p. 1–22, 2017.

MONTANARI, C. A. A química medicinal na próxima década. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 134–137, 2000.

MOREIRA, M. B. et al. Investigação da supressão de fluorescência de soro albumina bovina e humana por complexo de rutênio. **Química Nova**, v. 38, n. 2, p. 227–232, 2015a.

MOREIRA, M. B. et al. Artigo. v. 38, n. 2, p. 227–232, 2015b.

MURRAY, B. S. et al. The development of RAPTA compounds for the treatment of tumors. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 306, n. P1, p.

86–114, 2016.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman spectra of inorganic and coordination compounds. Part A, Theory and applications in inorganic chemistry.** [s.l: s.n.].

NAVEENRAJ, S.; ANANDAN, S. Binding of serum albumins with bioactive substances - Nanoparticles to drugs. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews**, v. 14, n. 1, p. 53–71, 2013.

NEVES, A. P.; VARGAS, M. D. Complexos de platina(II) na terapia do câncer. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 3, p. 196–209, 2011.

NOTARO, A.; GASSER, G. Monomeric and dimeric coordinatively saturated and substitutionally inert Ru(II) polypyridyl complexes as anticancer drug candidates. **Chem. Soc. Rev.**, 2017.

OLIVEIRA, K. M. et al. Selective Ru(II)/lawsone complexes inhibiting tumor cell growth by apoptosis. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 176, n. ii, p. 66–76, 2017a.

OLIVEIRA, K. M. et al. Ruthenium(II)/triphenylphosphine complexes: An effective way to improve the cytotoxicity of lapachol. **Polyhedron**, v. 130, p. 108–114, 2017b.

OLIVEIRA, L. A. **A Química na medicina: Quimioterapia no tratamento do câncer** Unicamp, 2011.

ONCOGUIA, E. Instituto Oncoguia Tipos de Tratamento contra o Câncer. p. 2–5, 2018.

PADILHA, D. S. et al. Synthesis, characterization and biological activity of gallium(III) complexes with non-symmetrical N₂O-donor Schiff bases. **Polyhedron**, v. 123, p. 480–489, 2017.

PAULA, A.; FONTES, S. A descoberta das propriedades. n. ii, p. 2–7, 2005.

PAVIA, D. L. .; LAMPMAN, G. M. .; KRIZ, G. S. . **Introdução a Espectroscopia**. 4. ed. Cengage: Learning, 2010.

PEARSON, R. G. Hard and Soft Acids and Bases. **Journal of the American Chemical Society**, v. 85, n. 22, p. 3533–3539, 1963.

PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases, HSAB, part II: Underlying theories. **Journal of Chemical Education**, v. 45, n. 10, p. 643, 1968.

PEREIRA, L. R. **Influência da fosfina na estrutura e na citotoxicidade de complexos de rutênio (II) com a 2-mercaptopirimidina**. [s.l.] Universidade Federal de São Carlos, 2016.

PETERSON, T. G. et al. Metabolism of the isoflavones genistein and biochanin A in human breast cancer cell lines 1 – 3. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, n. 6 Suppl, p. 1505S–1511S, 1998.

PIEWAK, K.; BRINDELL, M. **Impact of low- and high-molecular-mass components of human serum on NAMI-A binding to transferrin** **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, 2015.

PIRPOUR TAZEHKAND, A. et al. The role of Her2-Nrf2 axis in induction of oxaliplatin resistance in colon cancer cells. **Biomedicine & pharmacotherapy**, v. 103, n. April, p. 755–766, 2018.

POPOLIN, C. P. et al. Cytotoxicity and anti-tumor effects of new ruthenium complexes on triple negative breast cancer cells. **Plos One**, v. 12, n. 9, p. e0183275, 2017.

PORTO, H. K. P. et al. Synthesis of a ruthenium(II) tryptophan-associated complex and biological evaluation against Ehrlich murine breast carcinoma. **Transition Metal Chemistry**, v. 40, n. 1, p. 1–10, 2015.

QI, J. et al. Synthesis, antiproliferative activity and mechanism of gallium(III)-thiosemicarbazone complexes as potential anti-breast cancer

agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 154, n. Iii, p. 91–100, 2018.

QUEIROZ, SALETE LINHARES; BATISTA, A. A. Isomerismo Cis-Trans: De Werner aos nossos dias. **Química Nova**, v. 21, n. 2, p. 193–201, 1998.

QUEIROZ, S. L. .; BATISTA, A. A. Complexos Fosfínicos e Suas aplicações na Medicina. **Química Nova**, v. 19, p. 651–659, 1996.

RAMACHANDRAN, R. et al. Anticancer activity of biologically synthesized silver and gold nanoparticles on mouse myoblast cancer cells and their toxicity against embryonic zebrafish. **Materials Science and Engineering C**, v. 73, p. 674–683, 2017.

RAMOS, J. M. T. D. A. Estudo espectroscópico vibracional de complexos de Ni (II) com os aminoácidos serina , glicina e ácido GUANIDOACÉTICO. n. Ii, p. 168, 2006.

REIS, F. C. C. **Investigação química de complexos de coordenação dos antibióticos enrofloxacina e norfloxacina combinados ao íon Ru(III) e suas interações com biomoléculas alvo.** [s.l.] Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP, 2014.

RICCI, A. **Amino Group Chemistry.** [s.l: s.n.].

ROSS, P. D.; SUBRAMANIAN, S. Thermodynamics of Protein Association Reactions: Forces Contributing to Stability. **Biochemistry**, v. 20, n. 11, p. 3096–3102, 1981.

SÁ, I. M. DE. A resistência à cloroquina e a busca de antimalariais entre as décadas de 1960 e 1980. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos**, v. 18, n. 2, p. 407–430, 2011.

SANTINI, C. et al. Advances in copper complexes as anticancer agents. **Chemical Reviews**, v. 114, n. 1, p. 815–862, 2014.

- SANTORO, I. L. Câncer de pulmão. **Medicina Ribeirão Preto**, v. 31, p. 266–276, 1998.
- SANTOS, E. R. et al. New ruthenium(II)/phosphines/diimines complexes: Promising antitumor (human breast cancer) and Mycobacterium tuberculosis fighting agents. **Polyhedron**, v. 51, n. 1, p. 292–297, 2013.
- SANTOS, E. R. et al. Ru(II)/bisphosphine/diimine/amino acid complexes: diastereoisomerism, cytotoxicity, and inhibition of tumor cell adhesion to collagen type I. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 69, n. 23, p. 3518–3530, 2016.
- SANTOS, E. R. et al. Cytotoxic activity and structural features of Ru(II)/phosphine/amino acid complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 182, n. December 2017, p. 48–60, 2018.
- SANTOS, S. DA S. **Câncer de mama em mulheres jovens: incidência, mortalidade e associação com os polimorfismos dos genes NQ01, CYP17 e CYP19**. [s.l.] Escola de Saúde Pública, 2013.
- SAÚDE, M. DA. Câncer: A informação pode salvar vidas. p. 2, 2017.
- SCOLARO, C. et al. In vitro and in vivo evaluation of ruthenium(II)-arene PTA complexes. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 48, n. 12, p. 4161–4171, 2005.
- SCOLARO, C. et al. Tuning the hydrophobicity of ruthenium(II)-arene (RAPTA) drugs to modify uptake, biomolecular interactions and efficacy. **Dalton Transactions**, v. 2, n. 43, p. 5065–5072, 2007.
- SCOLARO, C. et al. Hydrolysis study of the bifunctional antitumour compound RAPTA-C, [Ru(η^6 -p-cymene)Cl₂(pta)]. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, n. 9, p. 1743–1748, 2008.
- SILVA, T. F. Abordagens da química medicinal para o planejamento de

protótipos de fármacos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 5, p. 921–933, 2013.

SILVEIRA, V. C. **Investigação da Atividade Biológica de Complexos de Cobre(II) com Ligantes Inspirados em Biomoléculas**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2008.

SINGH, V. et al. Anti-cancer drug KP1019 induces Hog1 phosphorylation and protein ubiquitylation in *Saccharomyces cerevisiae*. **European Journal of Pharmacology**, v. 736, p. 77–85, 2014a.

SINGH, V. et al. Anti-cancer drug KP1019 modulates epigenetics and induces DNA damage response in *Saccharomyces cerevisiae*. **FEBS Letters**, v. 588, n. 6, p. 1044–1052, 2014b.

STEVENS, S. K. et al. The Anticancer Ruthenium Complex KP1019 Induces DNA Damage, Leading to Cell Cycle Delay and Cell Death in *Saccharomyces cerevisiae*. **Molecular Pharmacology**, v. 83, n. 1, p. 225–234, 2013.

STEVENS, S. K. et al. O KP1019 Complexo Anticancer Rutênio , causa danos DNA , levando ao ciclo celular Delay e morte celular em *Saccharomyces cerevisiae*. p. 1–14, 2016.

SULLIVAN, B. P.; CALVERT, J. M.; MEYER, T. J. Cis-Trans Isomerism in (trpy)(PPh₃)RuCl₂. Comparisons between the Chemical and Physical Properties of a Cis-Trans Isomeric Pair. **Inorganic Chemistry**, v. 19, n. 5, p. 1404–1407, 1980.

SULLIVAN, B. P.; MEYER, T. J. Comparisons of the Physical and Chemical Properties of Isomeric Pairs. 2. Photochemical, Thermal, and Electrochemical Cis-Trans Isomerizations of M(Ph₂PCH₂PPh₂)₂Cl₂(M = RuII, OsII). **Inorganic Chemistry**, v. 21, n. 3, p. 1037–1040, 1982.

TIEKINK, E. R. T. Gold derivatives for the treatment of cancer. **Critical**

Reviews in Oncology/Hematology, v. 42, n. 3, p. 225–248, 2002.

TRONDL, R. et al. **NKP-1339, the first ruthenium-based anticancer drug on the edge to clinical application** *Chem. Sci.*, 2014. Disponível em: <<http://xlink.rsc.org/?DOI=C3SC53243G>>

TRUDU, F. et al. Coordination compounds in cancer: Past, present and perspectives. **Journal of Applied Biomedicine**, v. 13, n. 2, p. 79–103, 2015.

TUNDO, G. R. et al. Effect of cisplatin on proteasome activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 153, p. 253–258, 2015.

VALLE, E. M. A. et al. Sobre uma degenerescência acidental nos deslocamentos químicos de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ em complexos difosfínicos de rutênio. **Química Nova**, v. 31, n. 4, p. 807–812, 2008.

VAN RIJT, S. H.; SADLER, P. J. Current applications and future potential for bioinorganic chemistry in the development of anticancer drugs. **Drug Discovery Today**, v. 14, n. 23–24, p. 1089–1097, 2009.

WANG, F. et al. Controlling ligand substitution reactions of organometallic complexes: tuning cancer cell cytotoxicity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 51, p. 18269–74, 2005.

WANG, F. et al. Turning tumor-promoting copper into an anti-cancer weapon via high-throughput chemistry. **Current medicinal chemistry**, v. 17, n. 25, p. 2685–98, 2010.

WANG, J. et al. The antitumor effect and toxicity of a ruthenium(II) complex in vivo. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 87, n. Ii, p. 49–52, 2018.

WU, X. et al. Gallium maltolate inhibits human cutaneous T-cell lymphoma tumor development in mice. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 135,

n. 3, p. 877–884, 2015.

ZHANG, W. et al. Synthesis, characterization, DNA/protein interaction and cytotoxicity studies of Cu(II) and Co(II) complexes derived from dipyriddy triazole ligands. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 163, p. 28–44, 2016.

ZHAO, H. et al. Antitumor effects and mechanisms of olaparib in combination with carboplatin and BKM120 on human triple- negative breast cancer cells. **Oncology Reports**, p. 3223–3234, 2018.

ZHE LIU, P. J. S. Anticancer Agents and Catalysts. **Acc Chem Res**, v. 47(4), p. 1174–1185, 2014.

ZHENG, W. et al. Rational design of multi-targeting ruthenium- and platinum-based anticancer complexes. **Science China Chemistry**, v. 59, n. 10, p. 1240–1249, 2016.

7. APÊNDICE

Apêndice A1– Espectro COSY (^1H - ^1H) dos compostos

Figura A2 – Espectro COSY (^1H - ^1H) do composto $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em $\text{DMSO} - d_6$

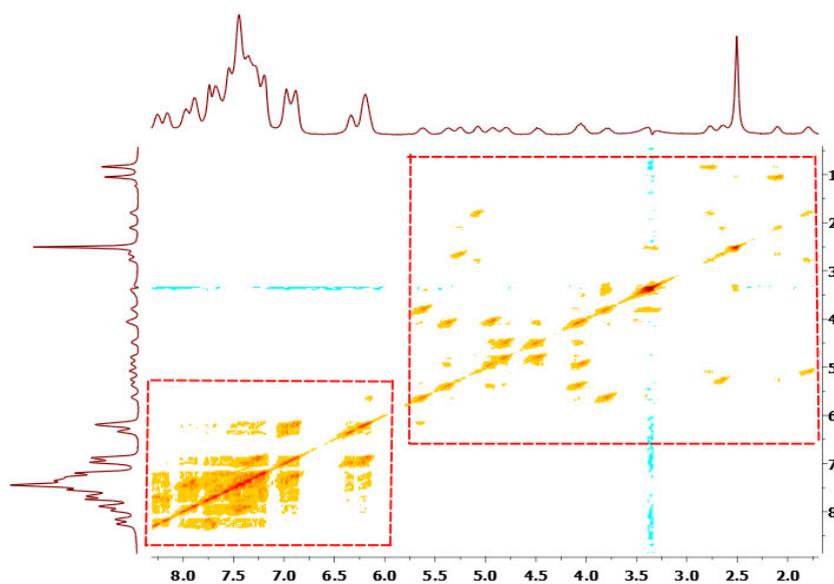


Figura A2 – Espectro COSY (^1H - ^1H) do composto $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em $\text{DMSO} - d_6$

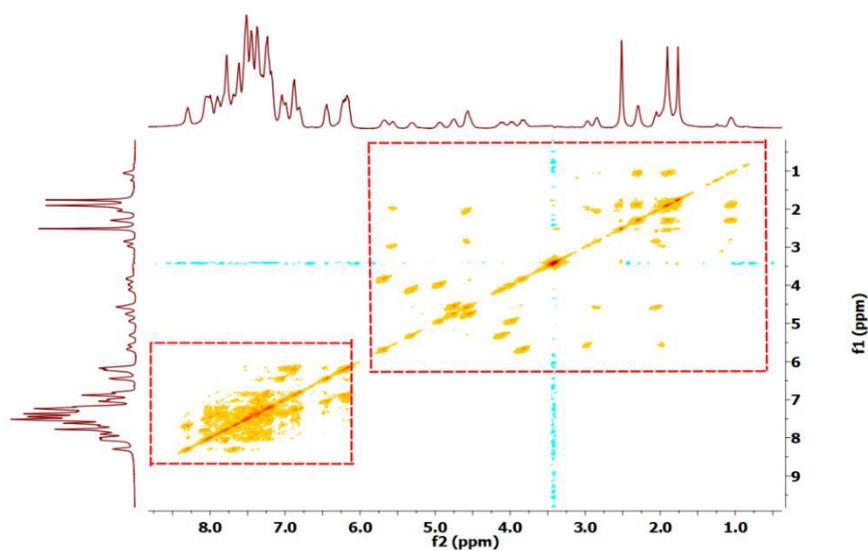
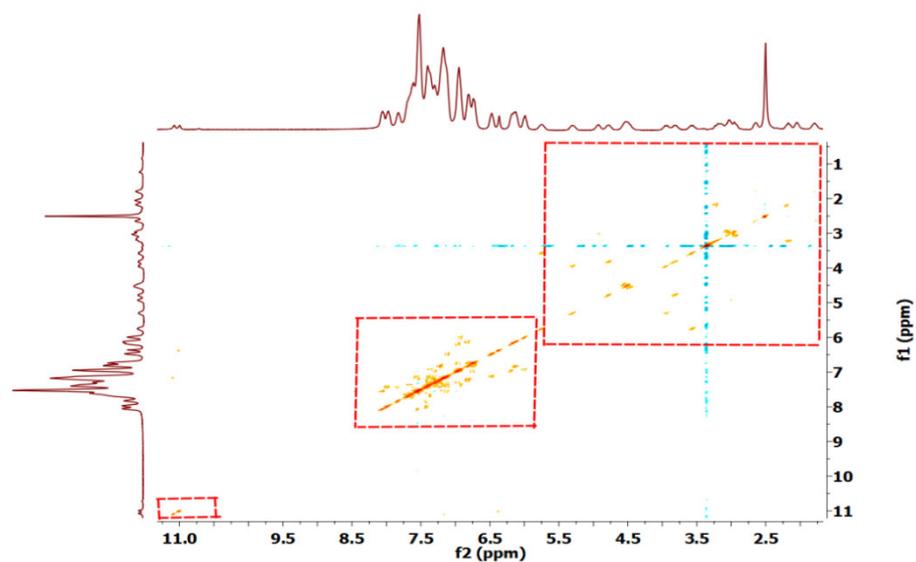


Figura A3 – Espectro COSY (^1H - ^1H) do composto $[\text{Ru}(\text{L-Trp})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em $\text{DMSO} - d_6$



Apêndice B – Espectros de absorção na região do ultravioleta e visível – UV/Vis

Figura B1 – Espectro de UV/Vis do composto $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em DMSO

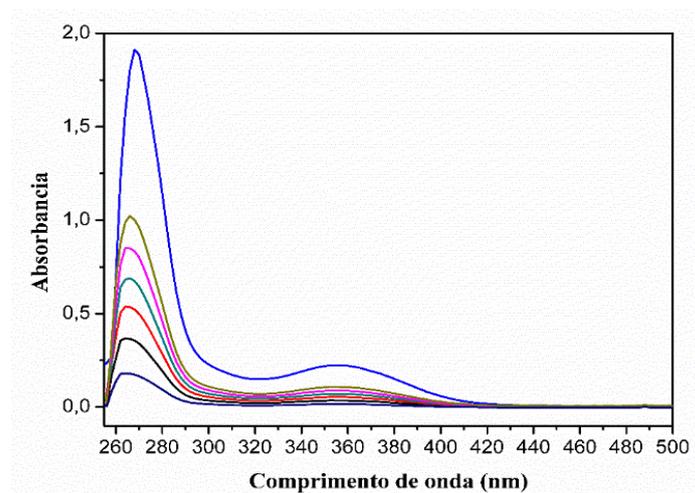


Figura B2 – Espectro de UV/Vis do composto $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em DMSO

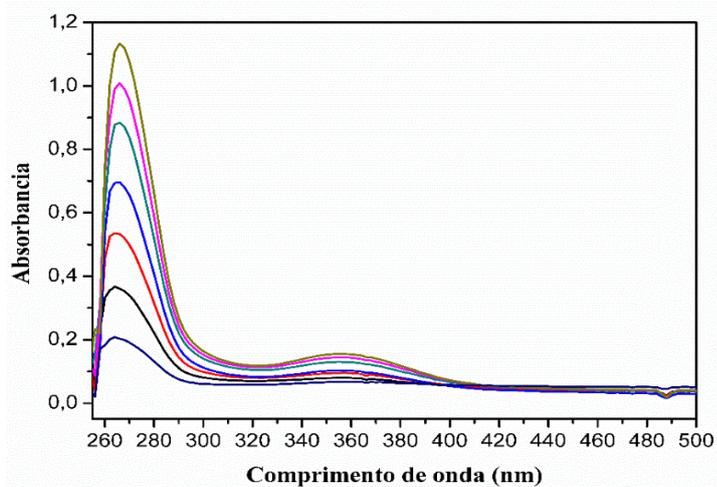


Figura B3 – Espectro de UV/Vis do composto $[\text{Ru}(\text{L-Trp})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em DMSO

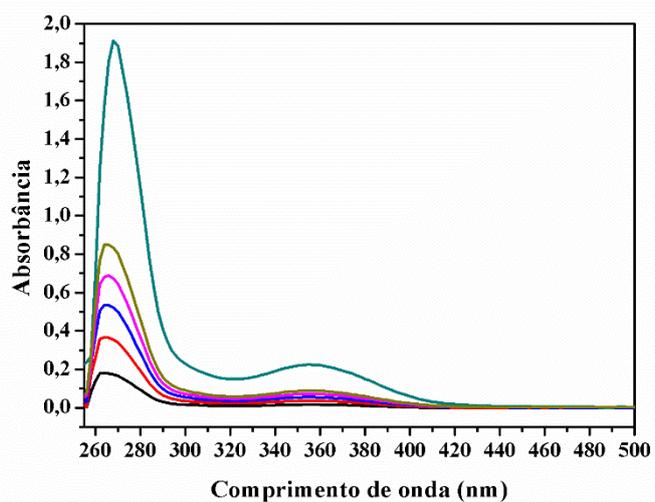
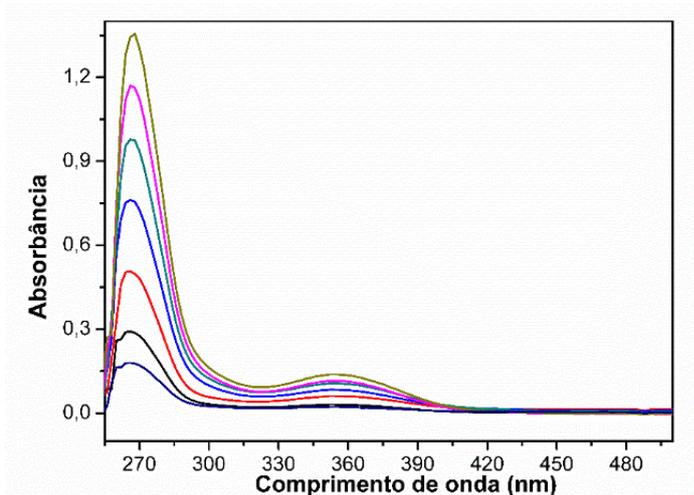


Figura B4 – Espectro de UV/Vis do composto $[\text{Ru}(\text{L-Glu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em DMSO



Apêndice C – Voltamogramas cíclicos e onda quadrada

Figura C1: Voltamograma cíclico do composto $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em diclorometano (1 mol L^{-1} de PTBA) com eletrodo de trabalho carbono vítreo, o eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl e o eletrodo auxiliar de platina

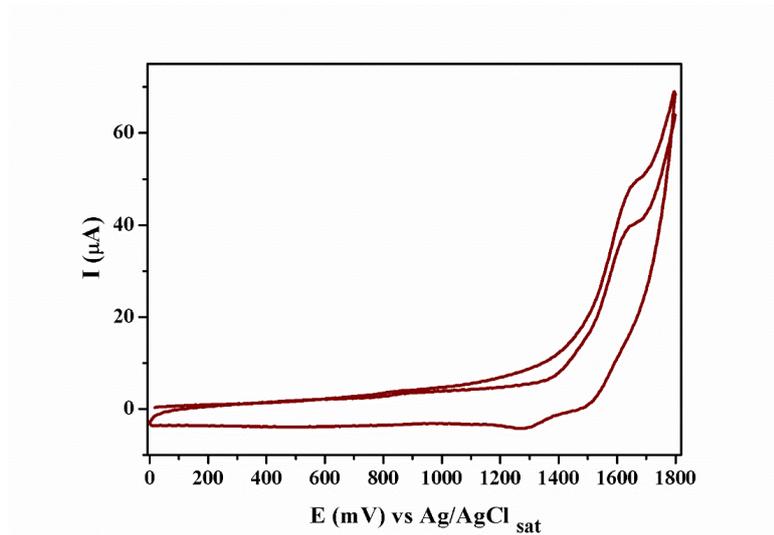


Figura C2: Voltamograma cíclico do composto $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em diclorometano (1 mol L^{-1} de PTBA) com eletrodo de trabalho carbono vítreo, o eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl e o eletrodo auxiliar de platina.

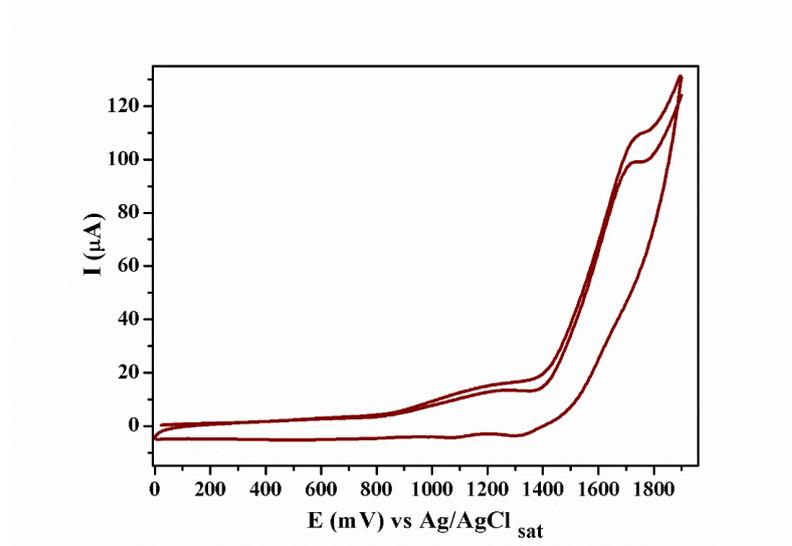


Figura C3: Voltamograma cíclico do composto $[\text{Ru}(\text{L-Trp})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em diclorometano (1 mol L^{-1} de PTBA) com eletrodo de trabalho carbono vítreo, o eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl e o eletrodo auxiliar de platina.

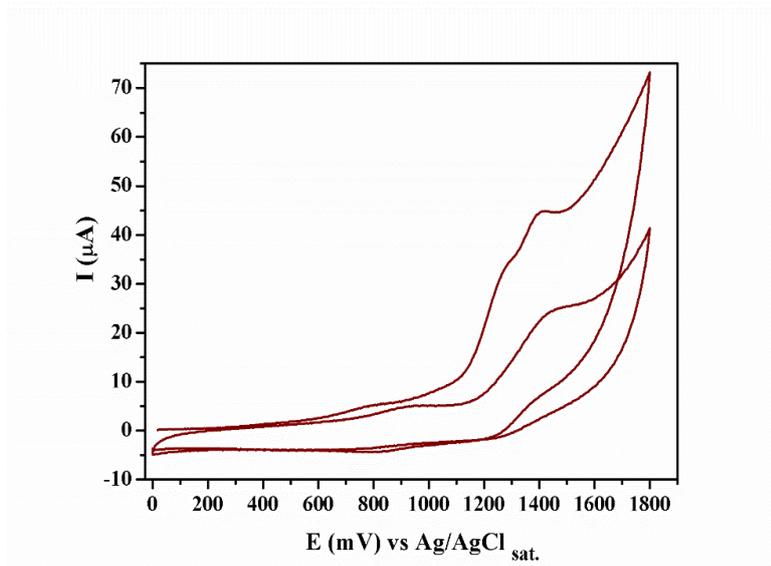


Figura C4: Voltamograma de onda quadrada do composto $[\text{Ru}(\text{L-Ala})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em diclorometano (1 mol L^{-1} de PTBA) com eletrodo de trabalho carbono vítreo, o eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl e o eletrodo auxiliar de platina.

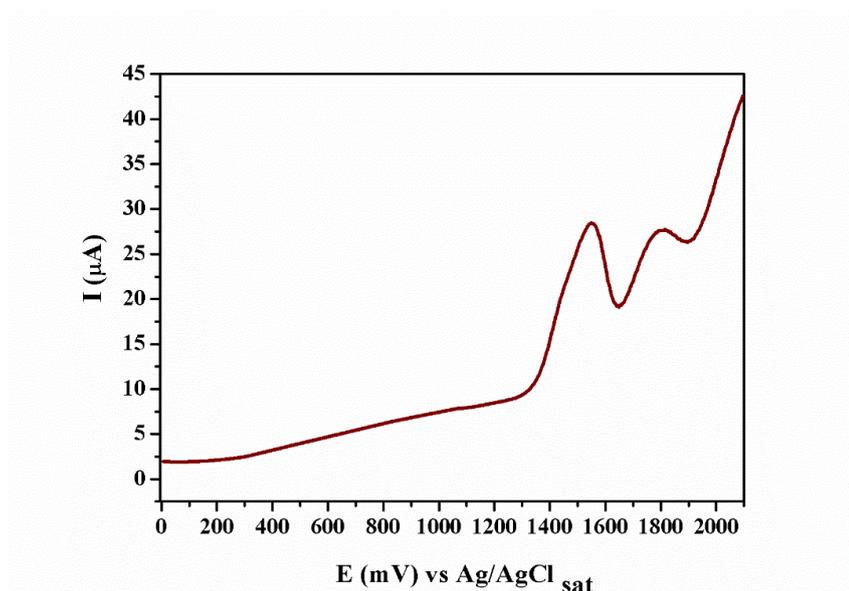


Figura C5: Voltamograma de onda quadrada do composto $[\text{Ru}(\text{L-Met})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em diclorometano (1 mol L^{-1} de PTBA) com eletrodo de trabalho carbono vítreo, o eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl e o eletrodo auxiliar de platina.

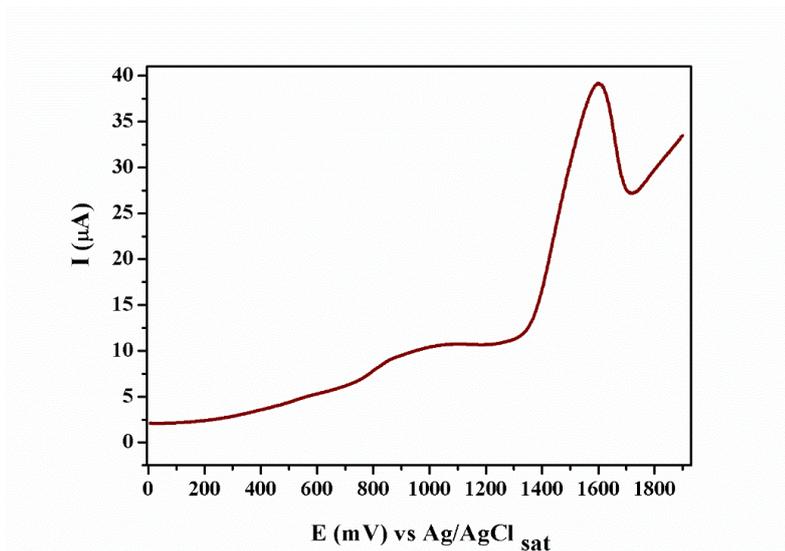
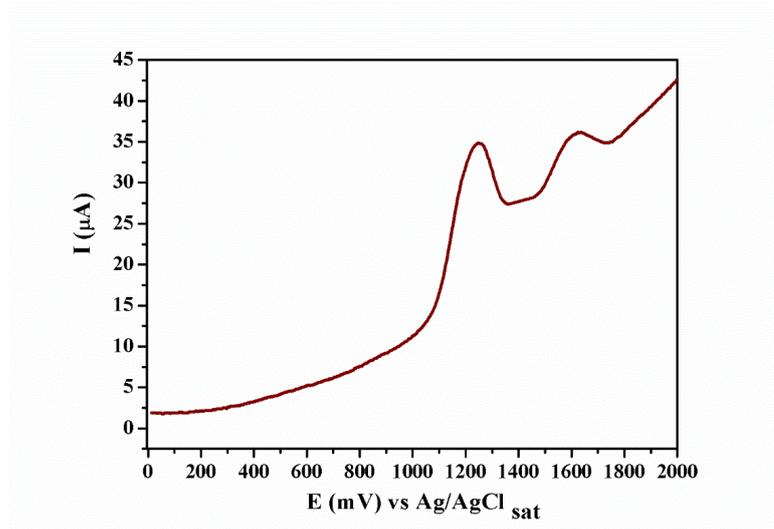


Figura C6: Voltamograma de onda quadrada do composto $[\text{Ru}(\text{L-Trp})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ em diclorometano (1 mol L^{-1} de PTBA) com eletrodo de trabalho carbono vítreo, o eletrodo de referência Ag/AgCl em KCl e o eletrodo auxiliar de platina.



Apêndice D – Tabela de análise elementar e condutividade molar

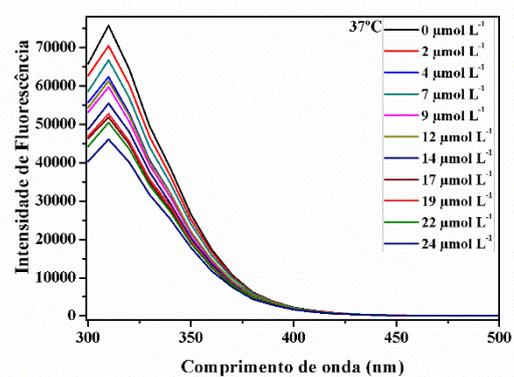
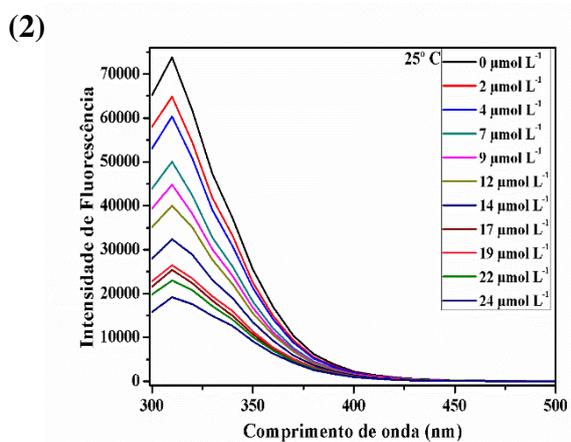
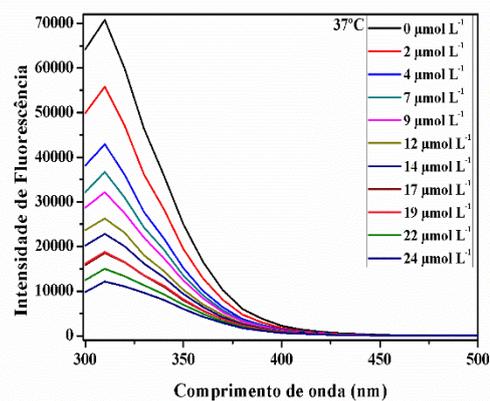
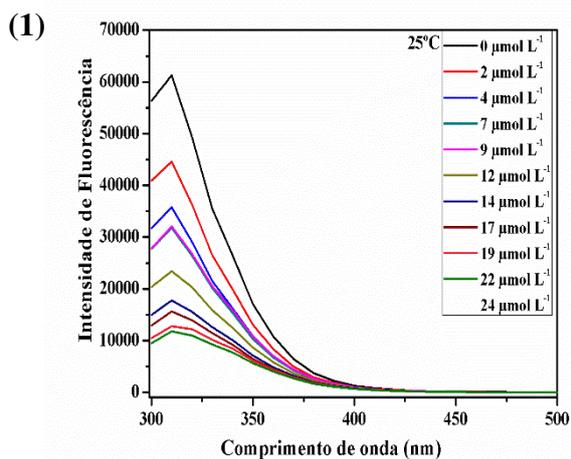
Compostos	(%)	(%)	(%)	(%)	Condutividade(μS/cm)
(1) C ₅₂ H ₄₈ F ₆ NO ₂ P ₅ Ru (teórico)	90 7,36)	0 44)	4 51)		80
(2) C ₅₄ H ₅₄ F ₆ NO ₃ P ₅ Ru (teórico)	94 7,72)	1 57)	4 23)	-	70
(3) C ₅₆ H ₅₈ F ₆ NO ₃ P ₅ SRu (teórico)	69 5,28)	9 49)	3 06)	3 58)	40
(4) C ₆₁ H ₅₅ F ₆ N ₂ O ₂ P ₅ Ru (teórico)	80 9,42)	4 25)	6 30)		60
(5) C ₅₅ H ₅₂ F ₆ NO ₄ P ₅ Ru (teórico)	60 5,90)	1 51)	8 52)		80

Legenda: (1) - [Ru(Gly)(dppm)₂]PF₆, (2) - [Ru(L-Ala)(dppm)₂]PF₆, (3) - [Ru(L-Met)(dppm)₂]PF₆, (4) - [Ru(L-Trp)(dppm)₂]PF₆ e (5) - [Ru(L-Glu)(dppm)₂]PF₆.

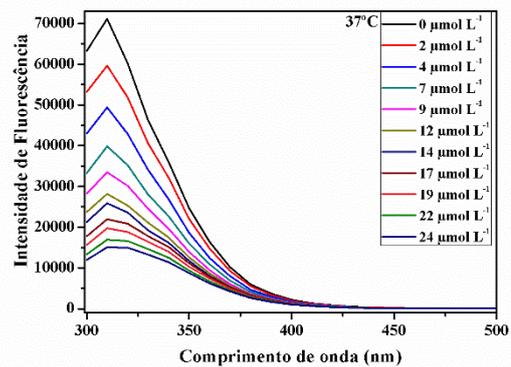
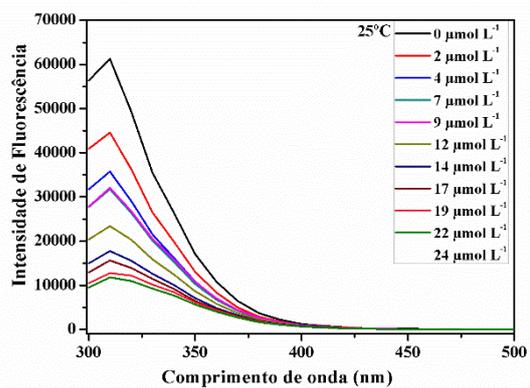
Apêndice E – Parâmetros de refinamento cristalográfico dos compostos [Ru(Gly)(dppm)₂PF₆], [Ru(L-Ala)(dppm)₂PF₆], [Ru(L-Met)(dppm)₂PF₆]

Compostos	[Ru(Gly)(dppm) ₂ PF ₆]	[Ru(L-Ala)(dppm) ₂ PF ₆]	[Ru(L-Met)(dppm) ₂ PF ₆]
Empirical formula	C52 H48 F6 N O2 P5 Ru	C53 H50 F6 N O2 P5 Ru	C55 H54 N O2 P4 Ru S F6
Formula weight	1088.83	1102.86	1195.01
Temperature	296(2) K	293(2) K	293 K
Wavelength	0.71073 \approx	0.71073 \approx	0.71073
Crystal system	Monoclinic	Monoclinic	Monoclinic
Space group	P 21/n	P 21/c	P 21
Unit cell dimensions	a = 13.2407(6) a = 90 ∞ . b = 19.0084(9) b = 107.117(2) ∞ . c = 21.6454(10) \approx g = 90 ∞ .	a = 13.5407(7) a = 90 ∞ . b = 19.2475(10) b = 106.985(2) ∞ . c = 21.6295(12) g = 90 ∞ .	a=12.2621(2) b=17.9504(3) c=12.4576(2) alpha=90 beta=90.525(1) gamma=90
Volume	5206.5(4) \approx^3	5391.3(5) \approx^3	2741.92
Z	4	4	2
Density (calculated)	1.389 Mg/m ³	1.359 Mg/m ³	1.447 Mg/m ³
Absorption coefficient	0.516 mm ⁻¹	0.499 mm ⁻¹	
F(000)	2224	2256	
Crystal size	0.610 x 0.280 x 0.230 mm ³	0.54 x 0.46 x 0.27 mm ³	0.535
Theta range for data collection	1.455 to 26.458 ∞ .	1.445 to 26.418 ∞	
Index ranges	-16<=h<=16, -23<=k<=23, -27<=l<=25	-16<=h<=16, -24<=k<=24, -27<=l<=27	
Reflections collected	86062	100435	
Independent reflections	10685 [R(int) = 0.0340]	11062 [R(int) = 0.0326]	0.0399 (12664)
Completeness to theta = 25.242	100.0 %	100.0 %	28.283
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.7454 and 0.7078	0.7454 and 0.6575	Tmin=0.948 Tmax=1.000
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	10685 / 0 / 604	11062 / 0 / 634	
Goodness-of-fit on F²	1.046	1.202	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0382, wR2 = 0.0936	R1 = 0.0476, wR2 = 0.1079	
R indices (all data)	R1 = 0.0483, wR2 = 0.1030	R1 = 0.0532, wR2 = 0.1108	
Extinction coefficient	n/a	n/a	
Largest diff. peak and hole	0.765 and -0.509 e. \approx^{-3}	1.018 and -0.702 e. \approx^{-3}	

Apêndice F – Espectro de supressão de fluorescência dos compostos (1) [Ru(L-Ala)(dppm)₂]PF₆, (2)[Ru(L-Met)(dppm)₂]PF₆, (3)[Ru(L-Trp)(dppm)₂]PF₆, (4)[Ru(L-Glu)(dppm)₂]PF₆, em 280 nm nas temperaturas 25 °C e 37 °C, respectivamente.



(3)



(4)

