



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Ouro Preto
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Química

DIOGO ÉMERSON LEITE DE CARVALHO

**“Síntese, caracterização e avaliação da atividade antitumoral de
Complexos de Ru(II) à base de ligantes fenâmicos”**

Ouro Preto – MG

Abril/2021



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Ouro Preto
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Química

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DE COMPLEXOS DE RU(II) À BASE DE LIGANTES FENÂMICOS

Autor: **Diogo Émerson Leite de Carvalho**

Orientador: Prof. **Dr. Rodrigo de Souza Corrêa**

Coorientadora: **Dra. Katia Mara de Oliveira**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração:
Química Inorgânica

Ouro Preto – MG

Abril/2021

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

C331s Carvalho, Diogo Emerson Leite De .
Síntese, caracterização e avaliação da atividade antitumoral de
Complexos de Ru(II) à base de ligantes fenâmicos. [manuscrito] / Diogo
Emerson Leite De Carvalho. - 2021.
101 f.: il.: color., gráf., tab..

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Souza Corrêa.

Coorientadora: Dra. Katia Mara de Oliveira.

Dissertação (Mestrado Acadêmico). Universidade Federal de Ouro
Preto. Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em
Química.

Área de Concentração: Química Inorgânica.

1. Complexos de rutênio(II). 2. Derivados fenâmicos. 3. Química
Bioinorgânica. 4. Metalofármacos. I. Corrêa, Rodrigo de Souza. II. Oliveira,
Katia Mara de. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 546

Bibliotecário(a) Responsável: Luciana De Oliveira - SIAPE: 1.937.800



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
REITORIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



FOLHA DE APROVAÇÃO

Diogo Émerson Leite de Carvalho

Síntese, caracterização e avaliação da atividade antitumoral de complexos de Ru(II) à base de ligantes fenâmicos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de mestre

Aprovada em 28 de abril de 2021

Membros da banca

Dr. Rodrigo de Souza Correa - Orientador - Universidade Federal de Ouro Preto
Dr.ª Priscila Pereira Silva Caldeira - Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais
Dr. Rafael Gomes da Silveira - Universidade Federal de Ouro Preto

Rodrigo de Souza Correa, orientador do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito no Repositório Institucional da UFOP em 16/09/2021



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo de Souza Correa, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 23/11/2021, às 02:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0221990** e o código CRC **6933CAFD**.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a pessoa que mais contribuiu para que esse trabalho fosse possível, gostaria de agradecer a mim por todo meu esforço e dedicação ao longo do trabalho, apesar de todas as dificuldades, soube contornar e seguir em frente.

Aos meus orientadores Rodrigo e Kátia Mara, que acreditaram no meu potencial, dedicaram seu tempo e conhecimento para meu crescimento profissional.

À minha namorada Nayara, que sempre me ajudou e me suportou, por mais difícil que eu seja. Por ter me apoiado nas inúmeras vezes que quis desistir.

Aos meus colegas de laboratório, mestre Alexandre, Pedico, Níquini, Day e toda a equipe do Laquesi que ajudaram de alguma forma.

A todos os amigos e familiares que acreditaram ou não em mim, mais uma vez provando que posso ir longe, com um passo de cada vez.

À República Nadavê e à República Senzala por terem me acolhido tão bem, foram de grande ajuda ao meu crescimento pessoal.

A quem paga a conta e também fez desse trabalho possível, obrigado FAPEMIG pela bolsa concedida.

Por fim, deixei o melhor para o final, agradeço a Deus por ter me dado a vida para chegar até aqui.

RESUMO

O presente trabalho envolve a obtenção, caracterização e avaliação da atividade citotóxica frente à células tumorais de quatro novos complexos de rutênio(II) contendo ligantes de interesse biológico, pertencentes à classe de anti-inflamatórios não esteroidais. Para a síntese dos novos compostos utilizou-se o complexo precursor *trans*-[RuCl₂(dppe)₂], onde dppe = 1,2-*bis*(difenilfosfina)etano e como ligantes (L) os ácidos fenâmico (fe), tolfenâmico (tol), mefenâmico (me) e flufenâmico (flu), para formar complexos de fórmula geral [Ru(L)(dppe)₂]PF₆. Os compostos obtidos foram caracterizados por diversas técnicas, tais como espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ³¹P{¹H}, ¹H, ¹³C{¹H}, voltametria cíclica, condutimetria, análise elementar, espectroscopia de absorção na região do ultravioleta/visível, espectroscopia de absorção na região do infravermelho e difração de raios X por monocristal. A atividade citotóxica dos complexos obtidos foi avaliada frente as linhagens de células tumorais de mama (MDA-MB-231) e pulmão (A549) e não tumoral de pulmão (MRC-5). Todos os complexos demonstraram significativa citotoxicidade frente as linhagens celulares investigadas, com valores de IC₅₀ na faixa de 0,94 – 17,71 µM. Além disso, com exceção do complexo com ácido tolfenâmico, o [Ru(tol)(dppe)₂]PF₆, todos os demais complexos foram mais citotóxicos do que a cisplatina, fármaco utilizado como referência. O complexo [Ru(me)(dppe)₂]PF₆ que apresentou alto índice de seletividade frente a linhagem A549. No caso da linhagem MDA-MB-231, o complexo mais seletivo foi o [Ru(fe)(dppe)₂]PF₆, com bom índice de seletividade. Os complexos foram avaliados quanto a interação com a Albumina de Soro Bovino (BSA) e os resultados demonstraram uma interação moderada com essa proteína, por meio dos mecanismos dinâmico e estático. As interações complexo-BSA são de natureza hidrofóbicas, com exceção do complexo [Ru(fe)(dppe)₂]PF₆, que predomina as interações eletrostáticas. Estudos de interação com o CT-DNA (*Calf-Thymus* DNA) por meio de titulações espectroscópicas e medidas de viscosidade demonstraram que os complexos interagem fracamente com o DNA, sendo muito provavelmente por interações eletrostáticas, tendo em vista que os complexos apresentam carga positiva e a molécula de DNA possui carga negativa devido a presença dos grupos fosfato.

Palavras chave: Complexos de rutênio(II), derivados fenâmicos, bioinorgânica, metalofármacos.

ABSTRACT

The present report is dedicated to the synthesis, characterization, and cytotoxic activity against tumor cells of four new ruthenium(II) complexes containing ligands of biological interest (fenamic), belonging to the class of non-steroidal anti-inflammatory drugs. For the synthesis of the new compounds, the $\text{trans-[RuCl}_2(\text{dppe})_2]$ precursor complex, where $\text{dppe} = 1,2\text{-bis(diphenylphosphine)ethane}$, and the fenamic (fe), mefenamic (me), tolfenamic (tol) and flufenamic (flu) acids were used. The compounds were characterized by several techniques, such as $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ nuclear magnetic resonance spectroscopy, cyclic voltammetry, conductometry, elemental analysis, ultraviolet/visible, infrared absorption spectroscopy, and single-crystal X-ray diffraction for all complexes. The cytotoxic activity of the complexes was evaluated against the breast tumor cell lines (MDA-MB-231) and lung (A549), as well as non-tumor lung ones (MRC-5). All complexes showed significant cytotoxicity against tumor cell lines, with IC_{50} values in the range from 0.94 to 17.71 μM . Except the $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ complex, all complexes were more cytotoxic than cisplatin, a drug used as a reference. The $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ complex presents a selectivity index against the A549 line. Regarding the cytotoxic against MDA-MB-231 cells, $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ was the most selective complex with a good selectivity. Finally, complexes/BSA (Bovine Serum Albumin) interaction studies reveal moderate forces occurring between them, involving dynamic and static mechanisms. Probably, the nature of complex/BSA interactions occurs by hydrophobic forces, except to the $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ complex, which predominates electrostatic interactions. Complex/CT-DNA (Calf-Thymus DNA) interactions by spectroscopic titrations and viscosity measurements show that complexes interact weakly with DNA. This interaction can be due to electrostatic attraction, given that all complexes are cationic and can be attracted by the negative charge of phosphate groups of DNA.

Keywords: Ruthenium (II) complexes, fenamic derivatives, bioinorganic, metallodrugs.

Sumário

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Evolução da utilização de metalofármacos.....	1
1.2	Descoberta da Cisplatina	1
1.3	Compostos de rutênio como agentes antitumorais	3
1.4	Derivados de ácidos fenâmico como ligantes em compostos de coordenação.....	6
1.5	Ligantes fosfínicos como ligantes em complexos de rutênio	9
2	OBJETIVOS	11
2.1	Objetivo geral	11
2.2	Objetivos específicos	11
3	MATERIAIS E MÉTODOS	12
3.1	Obtenção de atmosfera inerte	12
3.2	Solventes e reagentes	12
3.3	Síntese do complexo <i>trans</i> -[RuCl ₂ (dppe) ₂].....	12
3.3.1	<i>Síntese dos complexos do tipo [Ru(O-O)(dppe)₂]PF₆</i>	13
4	TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO	14
4.1	Condutividade, ponto de decomposição e análise elementar	15
4.2	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho.....	15
4.3	Eletroquímica – voltametria cíclica	15
4.4	Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis.....	15
4.5	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	15
4.6	Medidas de Difração de raios X por Monocristal.....	16
4.7	Avaliação da interação dos complexos com o DNA	16
4.8	Avaliação da interação dos complexos com a BSA	17
4.9	Avaliação da atividade citotóxica dos complexos	17
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	18
5.1	Síntese e caracterização dos complexos contendo o ácido fenâmico e seus derivados como ligantes.....	18
5.1.1	<i>Condutividade molar e ponto de decomposição</i>	19
5.1.2	<i>Análise espectroscópica na região do infravermelho</i>	20
5.1.3	<i>Voltametria cíclica</i>	23
5.1.4	<i>Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta e visível (UV-Vis)</i>	25
5.1.5	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H, ¹³C{¹H} e ³¹P {¹H}</i> 29	
5.1.6	<i>Estudos cristalográficos por meio de raios X por monocristal</i>	33

5.1.7	<i>Estudo de Estabilidade dos complexos por UV-vis</i>	35
5.2	Avaliação da interação dos complexos com o DNA	36
5.2.1	<i>Titulações espectroscópicas</i>	36
5.2.2	<i>Medidas de Viscosidade</i>	37
5.3	Avaliação da interação dos complexos com a BSA	39
5.4	Investigação da atividade citotóxica dos complexos	42
6	CONCLUSÕES	44
APÊNDICE A	– Estruturas dos complexos obtido	57
APÊNDICE B	– Espectros na região do Infravermelho.....	59
APÊNDICE C	– Espectros na região do UV-Vis.....	61
APÊNDICE D	– Curvas de calibração	63
APÊNDICE E	Espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) em CDCl_3	67
APÊNDICE F	– Espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN C $\{^1\text{H}\}$) em CDCl_3	69
APÊNDICE G	– Espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Fósforo (RMN ^{31}P $\{^1\text{H}\}$) em CDCl_3	73
APÊNDICE H	– Estrutura de Raio X dos monocristais	75
APÊNDICE I	– Voltamogramas	83
APÊNDICE J	– Interação com DNA por titulações espectroscópicas.....	85

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas dos compostos (a) cis-[PtCl ₂ (NH ₃) ₂] e (b) trans-[PtCl ₂ (NH ₃) ₂].....	2
Figura 2. Fórmulas estruturais de complexos de rutênio promissores a metalofármacos conhecidos como RM175, RAPTA-T, RDC11, DW1/2, TLD1433, NAMI-A e KP1019.....	4
Figura 3. Estruturas dos ligantes fenâmicos que serão incorporadas ao complexo. a) ácido fenâmico, b) ácido mefenâmico, c) ácido tolfenâmico, d) ácido flufenâmico	7
Figura 4. Modos de coordenação encontrados na literatura para ligantes derivados fenâmicos quando coordenados com metais.....	8
Figura 5. Representação mostrando a formação da ligação envolvendo os orbitais do rutênio e ligante fosfínico, como o ligante dppe, podendo atuar como σ -doador (A) e π -receptor (B). Os orbitais estão direcionados ao longo do eixo z, assim, tem-se os orbitais do metal rotulados como dz ² (em A) e dxz (em B).....	10
Figura 6. Espectro de absorção na região do infravermelho (FTIR-ATR) para o complexo [Ru(fe)(dppe) ₂]PF ₆	21
Figura 7. Voltamograma cíclico para o complexo precursor trans-[RuCl ₂ (dppe) ₂] (ESQUERDA) e para o complexo [Ru(fe)(dppe) ₂]PF ₆ (DIREITA), em CH ₂ Cl ₂ (1.10 ⁻³ molL ⁻¹ de PTBA).....	24
Figura 8. Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para o complexo [Ru(fe)(dppe) ₂]PF ₆ , em metanol.....	26
Figura 9. Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para os complexos em metanol.	26
Figura 10. Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para os ácidos fenâmicos em metanol.	27
Figura 11. Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para dppe e precursor em metanol.	27
Figura 12. Espectro de RMN ¹ H do [Ru(fluc)(dppe) ₂]PF ₆ em CDCl ₃	29
Figura 13. Espectro de RMN de ¹³ C{ ¹ H} do complexo [Ru(fluc)(dppe) ₂]PF ₆ em CDCl ₃	30
Figura 14. Espectro de RMN de ³¹ P{ ¹ H} do trans-[RuCl ₂ (dppe) ₂] em CH ₂ Cl ₂ /D ₂ O.....	31
Figura 15. Espectro de RMN ³¹ P{ ¹ H} do [Ru(fe)(dppe) ₂]PF ₆ em CDCl ₃	32
Figura 16. Estrutura cristalina dos complexos [Ru(fe)(dppe) ₂]PF ₆ com as elipsoides representados a 30% de probabilidade.	33
Figura 17. Representação genérica da ligação de hidrogênio intramolecular envolvendo os átomos N1-H1...O2 do ligante derivado fenâmico.	35
Figura 18. Espectros de absorção na região do UV-vis do complexo [Ru(fe)(dppe) ₂]PF ₆ em (A) DMSO e (B) DMSO/Tampão Tris-HCl 50:50 (v/v).....	36

Figura 19. Espectros de absorção na região UV-vis do complexo $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ na presença de diferentes concentrações do CT-DNA. Gráfico inserido: $[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ versus $[\text{DNA}]$	37
Figura 20. Efeito dos complexos de rutênio e do laranja de tiazol na viscosidade relativa do CT-DNA.....	38
Figura 21. Espectro de emissão da BSA (2,5 μM , $\lambda_{\text{ex}} = 280 \text{ nm}$) em diferentes concentrações do complexo $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ (0 – 12,5 μM), a 37°C.	39
Figura A 1. Estrutura do complexo $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, onde me = ácido mefenâmico	57
Figura A 2. Estrutura do complexo $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, onde me = ácido mefenâmico	57
Figura A 3. Estrutura do complexo $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, onde tol = ácido tolfenâmico	58
Figura A 4. Estrutura do complexo $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, onde flu = ácido flufenâmico.....	58
Figura B 1. Espectro de Infravermelho $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	59
Figura B 2. Espectro de Infravermelho $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	59
Figura B 3. Espectro de Infravermelho $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	60
Figura B 4. Espectro de Infravermelho de todos os complexos.....	60
Figura C 1. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível para o complexo $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em metanol.....	61
Figura C 2. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível para o complexo $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em metanol	61
Figura C 3. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível para o complexo $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em metanol.....	62
Figura C 4. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível para o complexo $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em metanol	62
Figura D 1. Curva de calibração em 258 nm $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	63
Figura D 2. Curva de calibração em 364 nm $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	63
Figura D 3. Curva de calibração em 258 nm $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	64
Figura D 4. Curva de calibração em 364 nm $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	64
Figura D 5. Curva de calibração em 257 nm $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	65
Figura D 6. Curva de calibração em 359 nm $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	65
Figura D 7. Curva de calibração em 257 nm $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	66
Figura D 8. Curva de calibração em 354 nm $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	66

Figura E 1. RMN ^1H de $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3	67
Figura E 2. RMN ^1H de $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3	67
Figura E 3. RMN ^1H de $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3	68
Figura E 4. RMN ^1H de $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3	68
Figura F 1. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ de $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3	69
Figura F 2. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ de $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3	70
Figura F 3. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ de $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3	71
Figura F 4. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ de $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3	72
Figura H 1. Estrutura cristalina do complexo $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	75
Figura H 2. Estrutura cristalina do complexo $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	77
Figura H 3. Estrutura cristalina do complexo $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	79
Figura H 4. Estrutura cristalina do complexo $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	81
Figura I 1. Voltamograma cíclico para o complexo $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CH_2Cl_2 (1.10^{-3} molL $^{-1}$ de PTBA).....	83
Figura I 2. Voltamograma cíclico para o complexo $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CH_2Cl_2 (1.10^{-3} molL $^{-1}$ de PTBA).....	83
Figura I 3. Voltamograma cíclico para o complexo $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CH_2Cl_2 (1.10^{-3} molL $^{-1}$ de PTBA).....	84
Figura I 4. Voltamograma cíclico para o complexo $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CH_2Cl_2 (1.10^{-3} molL $^{-1}$ de PTBA).....	84
Figura J 1. Espectroscopia Ultravioleta do composto $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	85
Figura J 2. Espectroscopia Ultravioleta do composto $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	85
Figura J 3. Espectroscopia Ultravioleta do composto $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	86
Figura J 4. Espectroscopia Ultravioleta do composto $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados de condutividade molar e temperatura de decomposição para os complexos sintetizados	20
Tabela 2. Atribuições das frequências vibracionais (cm^{-1}) do grupo carboxilato nos ligantes livres e coordenados.	21
Tabela 3. Modos vibracionais para o complexo precursor (1) e para os complexos contendo como ligantes os derivados fenâmico (2 – 5)	23
Tabela 4. Potenciais de oxidação e redução do $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$ para os complexos contendo ácido fenâmico e seus derivados	24
Tabela 5. Dados de absorvidade molar (ϵ) e tentativa de atribuição das bandas	28
Tabela 6. Comprimentos de ligação (\AA), ângulos de ligação ($^{\circ}$) e ângulos de torções ($^{\circ}$) em torno da esfera de coordenação do rutênio nos complexos $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	34
Tabela 7. Constantes de ligação (K_b) entre os complexos e o CT-DNA determinadas por meio de titulações espectroscópicas por UV-vis	37
Tabela 8. Valores obtidos para as constantes K_{sv} , k_q , K_b e n a 298 e 310 K	40
Tabela 9. Variação da energia de Gibbs (ΔG°), entalpia (ΔH°) e entropia (ΔS°)	42
Tabela 10. Valores de IC_{50} (μM) para os complexos de rutênio e cisplatina nas linhagens MDA-MB-231, A549 e MRC-5	42
Tabela 11. Atribuição do deslocamento químico do composto $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	69
Tabela 12. Atribuição do deslocamento químico do composto $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	70
Tabela 13. Atribuição do deslocamento químico do composto $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	71
Tabela 14. Atribuição do deslocamento químico do composto $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	72
Tabela 15. Dados do cristal e refinamento da estrutura $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	76
Tabela 16. Dados do cristal e refinamento da estrutura $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	78
Tabela 17. Dados do cristal e refinamento da estrutura $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	80
Tabela 18. Dados do cristal e refinamento da estrutura $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	82

ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

DNA	Ácido desoxirribonucleico
BSA	Albumina de soro bovino
fe	ácido fenâmico
me	ácido mefenâmico
flu	ácido flufenâmico
tol	ácido tolfenâmico
pymnS	pirimidina
en	1,2-etilenodiamina
Him	1 <i>H</i> -imidazol
dppm	1,2- <i>bis</i> (difenilfosfina)metano
dppe	1,2- <i>bis</i> (difenilfosfina)etano
<i>trans</i>	Isômero de posição <i>trans</i>
<i>cis</i>	Isômero de posição <i>cis</i>
RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$	Ressonância Magnética Nuclear de fósforo desacoplado do hidrogênio
RMN ^1H	Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio
RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$	Ressonância Magnética Nuclear de carbono desacoplado do hidrogênio
UV-vis	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível
IV	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho
δ	Deslocamento químico nos espectros de RMN
ϵ	Absortividade molar
λ	Comprimento de onda
Ep/2	Potencial de meio pico
Epa	Potencial de pico anódico
Ipa	Corrente de pico anódico
Ipc	Corrente de pico catódico

1. INTRODUÇÃO

1.1. Evolução da utilização de metalofármacos

A Química Bioinorgânica estuda o comportamento dos íons metálicos e seus compostos no corpo humano tanto para identificação, tratamento ou inibição do desenvolvimento de doenças.¹ Diante da constatação da presença de elementos metálicos no sistema biológico, abriu-se uma gama de opções para o crescimento da química inorgânica na área biológica. Dentre os trabalhos desenvolvidos na área de Química Bioinorgânica, há desenvolvimento de novos metalofármacos com os metais em diferentes estados de oxidação, propriedades magnéticas e nucleares.¹

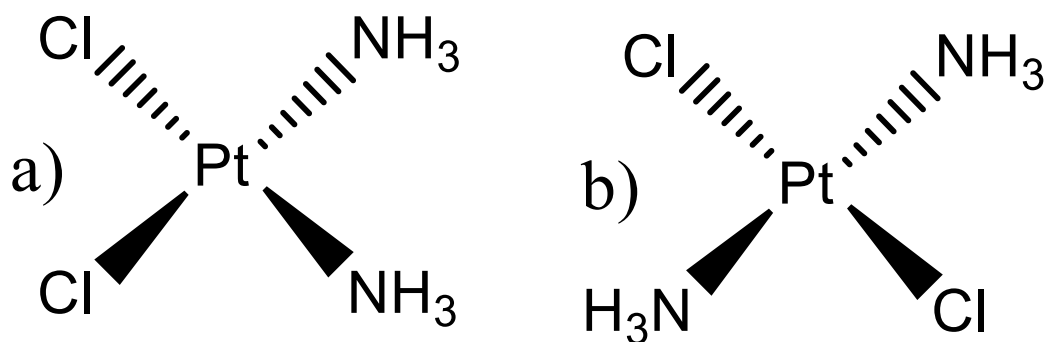
Curiosamente, os metais vêm sendo utilizados no combate e prevenção de doenças desde tempos remotos. Os egípcios, há 3500 anos a.C (antes de Cristo), faziam uso do cobre no processo de esterilização da água. Na Arábia e China, por volta de 3500 anos a.C, existem relatos mostrando o uso do ouro como medicamento. Contudo, somente nos últimos 100 anos com os trabalhos conduzidos pelo pesquisador Paul Ehrlich (laureado com o prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia em 1908) sobre o desenvolvimento de compostos a base de arsênio para o tratamento de sífilis, foi que os compostos a base de metais começaram a ser investigados quanto as suas propriedades medicinais.³

Nesse período, a área de Química Inorgânica estava se desenvolvendo de maneira considerável, de modo que vale destacar também o trabalho de Alfred Werner, ganhador do prêmio Nobel de Química em 1913, que desenvolveu uma teoria capaz de explicar a composição e estrutura dos compostos de coordenação.¹ A partir do melhor entendimento sobre a química desses compostos, tornou-se possível a sua exploração para diferentes aplicações, dentre as quais, na medicina.

1.2. Descoberta da Cisplatina

Os compostos de coordenação têm sido bastante explorados como uma alternativa para o diagnóstico e o tratamento de diversas doenças, incluindo o câncer. Contudo, este fato só realmente começou a tomar grandes proporções a partir da descoberta das propriedades antitumorais do complexo de platina(II) caracterizado como *cis*-(diaminodiclorido)platina(II), *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] (Figura 1), popularmente conhecido como cisplatina.

Figura 1. Estruturas dos compostos (a) *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] e (b) *trans*-[PtCl₂(NH₃)₂]



Fonte: O autor (2021)

A molécula de cisplatina foi sintetizada pela primeira vez em 1844 por Michele Peyrone. Em 1893, Alfred Werner ao estudar compostos de coordenação contribuiu para a formulação da existência de dois isômeros formados para a composição PtCl₂(NH₃)₂ (*cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] e *trans*-[PtCl₂(NH₃)₂]). Contudo, a descoberta das propriedades antitumorais da molécula de cisplatina só foram descobertas em 1964 por Barnett Rosenberg e colaboradores, 70 anos depois de sua descoberta. Tal descoberta se deu enquanto os pesquisadores estudavam o comportamento de bactérias de *Escherichia coli* sob efeito de campo elétrico, no qual verificaram que estava ocorrendo a inibição da divisão celular das bactérias. Interessantemente, constataram que estava formando em solução o complexo *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂], devido a dissolução da platina dos eletrodos e os sais de amônio que continha no meio de cultura e, que esse complexo era o responsável por causar a inibição da divisão celular das bactérias.⁵

Desde então, vários estudos com a cisplatina foram realizados e observaram que de fato esse composto era capaz de reduzir o tamanho de tumores em camundongos portadores do sarcoma-180 e leucemia L1210.⁵ Em 1971, testes clínicos em pacientes foram realizados pelo *US National Cancer Institute* (NCI) e em 1978, a cisplatina foi aprovada para uso clínico pela *US Food and Drug Administration* (FDA).^{6, 7} A cisplatina foi o primeiro composto de coordenação, contendo platina, aprovado para uso no tratamento de câncer. Esse fármaco é muito efetivo para o tratamento de câncer de testículo, contudo, atua em uma variedade de outros cânceres, como o de pulmão, bexiga e ovário.^{1, 8, 9, 10}

Vale ressaltar que enquanto a cisplatina se mostrou ativa frente células tumorais, o seu análogo, o isômero *trans*, é inativo. Tal fato pode ser associado ao possível mecanismo de ação da cisplatina, o qual se baseia na labilização dos ligantes cloridos e a coordenação a átomos de nitrogênio das bases nitrogenadas do DNA, impedindo dessa forma a sua replicação. Esse efeito não é observado para o isômero *trans*, e por isso, acredita-se que ele é inativo.^{1, 17, 18, 19}

Apesar do grande sucesso da cisplatina como agente quimioterápico, alguns problemas como efeitos colaterais foram detectados, causando debilidade de alguns pacientes, como por exemplo ototoxicidade, náuseas e toxicidade renal. Além disso, a cisplatina é inativa contra alguns tipos de células tumorais e também não apresenta efeito em fase metastática. Um outro inconveniente é a resistência adquirida após tratamento prolongado com o uso da cisplatina, deixando de atuar efetivamente contra as células tumorais.^{11, 12}

Diante disso, vários análogos da cisplatina começaram a ser explorados, com o objetivo de desenvolver um composto mais eficaz e com menores efeitos colaterais. A oxaliplatina, descoberta em 1976, já é utilizada comercialmente como medicamento na indústria.^{13, 14} É um composto que inibe a síntese de DNA por causar ligações cruzadas. Apesar de sua utilização no tratamento de câncer colorretal, ela obteve maiores taxas de resposta quando foi combinada com outros compostos, como o 5-fluorouracil/ácido folínico.¹¹ Vários estudos envolvendo compostos de platina abriu um leque de opções de metais que poderiam ser utilizados para tratamento de diversas doenças. Verificando a especificidade de cada complexo metálico e a atividade que ele apresenta frente a determinada doença. Apesar do tratamento do câncer ser pesquisado há décadas, apenas a partir da descoberta das propriedades antitumorais da cisplatina é que os metais começaram a ser vastamente estudados para fins terapêuticos, e a Química Inorgânica Medicinal ganhou destaque. Até então, apenas compostos orgânicos eram explorados para essa finalidade.^{1, 15, 16}

1.3. Compostos de rutênio como agentes antitumorais

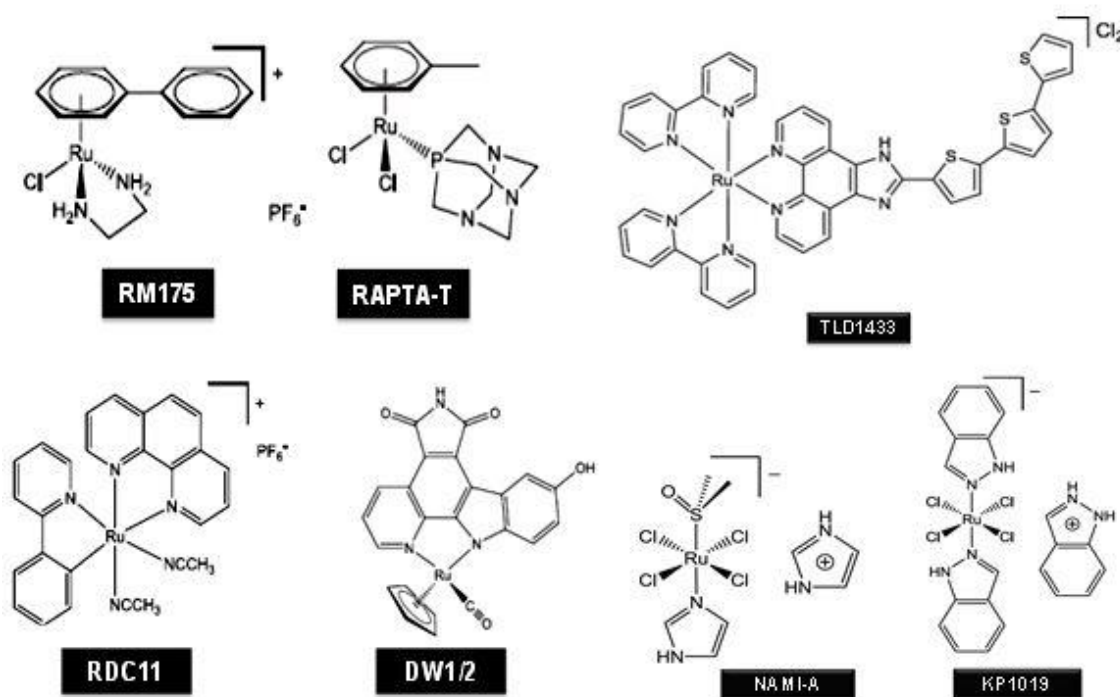
Após a descoberta das propriedades antitumorais da cisplatina e da constatação dos seus efeitos colaterais, os pesquisadores iniciaram uma busca por novos compostos contendo diferentes tipos de metais, que sejam efetivos e que causem menos efeitos colaterais. Nesse sentido, o rutênio surgiu como um metal promissor.²⁰ O rutênio tem atraído o interesse dos pesquisadores devido às suas propriedades, podendo destacar os diferentes estados de oxidação, sendo os mais comuns II, III e IV, bem como a habilidade de mimetizar o ferro, podendo se ligar à transferrina e à albumina séricas, que são proteínas envolvidas na solubilização e transporte de ferro no plasma,²¹ o que pode tornar os compostos de rutênio menos tóxicos ao organismo. Os primeiros relatos de compostos de rutênio com propriedades biológicas foram descritos por Clarke e seus colaboradores, por meio de estudos de complexos de Ru(II) e Ru(III) contendo como ligantes cloretos e amônia.¹¹

Assim como a cisplatina, o complexo *fac*-[RuCl₃(NH₃)₃] foi capaz de inibir o desenvolvimento de células tumorais, reduzindo tumores em camundongos portadores do

sarcoma EMT-6. Contudo, devido à baixa solubilidade deste composto, os estudos tiveram que ser interrompidos.²²

A partir da constatação das promissoras propriedades antitumorais de complexos de rutênio vários compostos vêm sendo desenvolvidos. Historicamente, um importante complexo de rutênio com atividade promissora é conhecido como NAMI-A (Him) [*trans*-RuCl₄(DMSO)(Him)], (Him = 1*H*-imidazol) (Figura 2). O NAMI-A demonstrou resultados muito eficazes frente a tumores metastáticos em vários tipos de cânceres, de modo que estudos clínicos têm sido realizados em anos recentes.²³ O NAMI-A tornou-se o primeiro complexo de rutênio(III) a entrar para triagem clínica. Contudo, ensaios clínicos de fase I/II do NAMI-A em combinação com a gencitabina em pacientes com câncer de pulmão não demonstraram resultados satisfatórios e os ensaios com o NAMI-A foram interrompidos.^{23, 24, 25}

Figura 2. Fórmulas estruturais de complexos de rutênio promissores a metalofármacos conhecidos como RM175, RAPTA-T, RDC11, DW1/2, TLD1433, NAMI-A e KP1019.



Fonte: O autor (2021)

De um modo geral, os complexos de rutênio(III) podem ser considerados pró-fármacos (administrados em forma inativa, sendo ativados somente após biotransformação), pois no estado de oxidação +3 o complexo é inerte e eles supostamente circulam quase intactos no sangue, assim, quando entram na célula tumoral os complexos podem ser reduzidos ao estado de oxidação +2, mais reativo, podendo se ligar aos alvos biológicos.²⁶

Uma nova classe de complexos de rutênio foi introduzida com os trabalhos de Dyson e Sadler em 2001, os organometálicos de rutênio com estruturas “*Banqueta de piano*”, conhecidos como RAPTA. Um representante dessa classe de compostos é o RAPTA-C, um complexo contendo o ligante *p*-cimeno e a fosfina PTA (1,3,5-triaza-7-fosfaadamantano).²⁷ Apesar do RAPTA-C mostrar-se inativo *in vitro*, ele apresenta resultados promissores *in vivo*, em estudos *in vivo* pré-clínicos em camundongos, se mostrou eficiente de 50 a 75% de inibição de crescimento tumoral.^{28, 29} Do mesmo modo, o análogo RAPTA-T (Figura 2) é apenas fracamente citotóxico, embora sua citotoxicidade seja melhor expressa em células tumorais do que em células não tumorais (seletividade em torno de 4,5), mostrando uma capacidade significativa de modificar o comportamento celular em termos de invasão e metástase (ambos simulado *in vitro*). O Rapta-T também demonstrou alguma atividade *in vivo* em um modelo de tumores sólidos. Outro importante complexo descoberto em 2001 com boa atividade antitumoral foi o RM175, cuja fórmula molecular é $[\text{Ru}(\text{bifenil})\text{Cl}(\text{en})]$, en = 1,2-etilenodiamina.³⁰

Uma classe de compostos de Ru(II)/fenantrolina é RDCs (do inglês RDC significa *Ruthenium Derivative Compound*), no qual o composto RDC11 (Figura 2), inibe o crescimento de vários tumores. Dados pré-clínicos sugerem que o RDC11 representa um candidato adequado para ensaios clínicos que visariam primeiro tumores resistentes à cisplatina, como cânceres ovarianos resistentes à cisplatina. Estudos sobre o modo de ação dos RDCs sugerem uma interação com o DNA,³¹ no qual, em comparação com a cisplatina, induzem apenas danos limitados ao DNA, sugerindo que vias celulares alternativas estão envolvidas em sua atividade antitumoral.

Nos últimos anos, Meggers e colaboradores substituíram o açúcar na molécula de estaurosporina (uma molécula orgânica) por um metal de rutênio contendo diversos substituintes, obtendo uma grande quantidade de compostos, dentre eles o DW1/2 (Figura 2) que está em fase pré-clínica que é capaz de inibir GSK3 e PI3K, levando à morte celular apoptótica mediada por p53 (proteína responsável por impedir a proliferação de células com DNA mutado) e pela via mitocondrial, com uma forte inibição da invasão celular.³² O TLD1433 é outro interessante composto de Ru(II) que entrou nos ensaios clínicos de fase II para tratamento de câncer de bexiga invasor não-muscular com terapia fotodinâmica.³³ Outros complexos desenvolvidos foram os KP1019 e o NKP1339. O NKP1339 é apenas uma evolução do KP1019, uma vez que foi modificado a partir deste para aumentar sua solubilidade aquosa. Sendo que a principal diferença é que o contra íon do complexo NKP1339 é um Na^+ enquanto o contra íon do composto KP1019 é um cátion 1H-Indazolium (Figura 2).³⁴ O composto NKP-

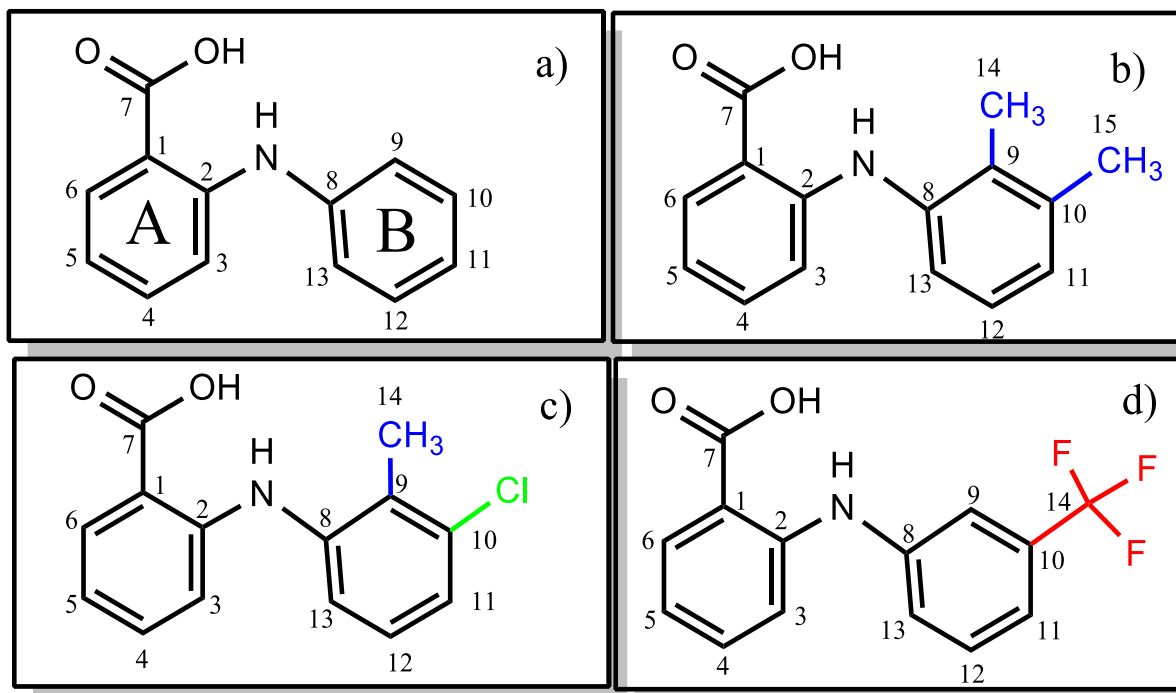
1339 introduzido em ensaios clínicos no combate cancerígeno, apresentou baixos efeitos colaterais.³⁵ Ambos os complexos se encontram em fase clínica, em estágio de teste em humanos.³⁶

No início dos testes clínicos, o composto NKP-1339 foi rebatizado como IT-139. Recentemente, relatos sobre as evoluções dos ensaios clínicos foram divulgados por pesquisadores dos Estados Unidos da América que avaliaram a segurança e dose tolerada em 46 pacientes com tumores sólidos.³⁷ O IT-139 demonstrou um perfil de segurança e atividade antitumoral modesta neste estudo de pacientes com tumores sólidos. A falta de toxicidade hematológica e a ausência de neurotoxicidade posicionam bem o IT-139 para uso em combinação com um amplo espectro de drogas anticâncer.³⁷ Além da baixa toxicidade para pacientes, a seletividade é um critério importante para aprovação clínica bem-sucedida. Ainda permanece um desafio, e necessita de uma investigação mais profunda as interações do IT-139 com as moléculas alvo dentro das células cancerígenas, ou seja, entender de fato o mecanismo de ação em indivíduos vivos.

1.4. Derivados de ácidos fenâmico como ligantes em compostos de coordenação

Uma alternativa bastante explorada pelos pesquisadores no desenvolvimento de novos compostos como candidatos a quimioterápicos é empregar ligantes que já apresentem prévia atividade biológica, buscando assim potencializá-la, além do efeito sinérgico metal-ligante, que pode ser obtido.³⁸ Alguns compostos interessantes para serem utilizados como ligantes no desenvolvimento de novos compostos de rutênio(II) bioativos são os compostos derivados de ácidos fenâmico ou derivados do ácido N-fenilantranílico (Figura 3). Portanto, no presente trabalho serão explorados as habilidades de coordenação de quatro compostos derivados ácidos fenâmicos que incluem o próprio ácido fenâmico (Figura 3a), ácido mefenâmico (Figura 3b), ácido tolfenâmico (Figura 3c) e ácido flufenâmico (Figura 3d), com o Ru(II). Estes ligantes pertencem à uma classe de fármacos muito conhecidas, utilizados frequentemente no tratamento de dores agudas ou crônicas resultantes do processo inflamatório. Sendo assim, estes ligantes são conhecidos como anti-inflamatórios não-esteroides (AINE's) que atuam na inibição da síntese de prostaglandinas mediante ao bloqueio da ciclooxigenase1 (COX-1) e ciclooxigenase2 (COX-2).³⁹

Figura 3. Estruturas dos ligantes fenâmicos que foram incorporadas ao complexo. a) ácido fenâmico, b) ácido mefenâmico, c) ácido tolfenâmico, d) ácido flufenâmico



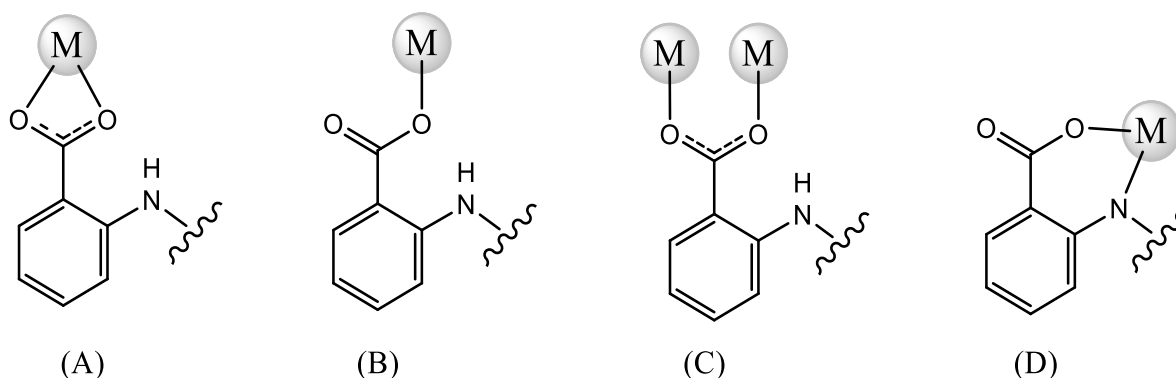
Fonte: O autor (2021)

O esqueleto base dessa classe de compostos é composta pelo ácido 2-(fenilamino)benzoico (Figura 3), que inclui dois anéis aromáticos (Anel **A** e **B**) unidos por um nitrogênio amínico (amina secundária), e na posição 2 do anel **A** um grupo ácido carboxílico. Normalmente, a formação dos demais derivados fenâmicos se dá pela substituição no anel **B** (Figura 3b-d). O fato dos derivados fenâmicos apresentarem átomos de oxigênio e nitrogênio como possíveis doadores de elétrons (bases de Lewis), inclui essas moléculas como possíveis ligantes para a química de coordenação, assim, despertando o nosso interesse.

Os pontos de coordenação possíveis para os derivados fenâmicos estão incluídos na Figura 4, enfatizando a versatilidade dessa classe de compostos na Química de Coordenação, o que no início tornou nosso trabalho mais desafiador. A Figura 4a ilustra a coordenação de derivado fenâmico como bidentado por dois átomos de oxigênio do grupo carboxilato. Na Figura 4b, está ilustrada uma situação onde os derivados fenâmicos atuam como monodentados monoaniônicos se ligando apenas um átomo de oxigênio do grupo carboxilato. Outra possibilidade de coordenação inclui esta classe de ligantes com o carboxilato realizando a coordenação em ponte, unindo dois centros metálicos (Figura 4c). Por fim, apesar de teoricamente ser possível a coordenação como bidentado pelos átomos doadores O,N (Figura 4d), sendo que na literatura existe apenas um relato recentemente publicado de compostos de

Ru(II) com ácido tolfenâmico, apresentando alta citotoxicidade, segmentação mitocondrial e capacidade de dano celular.⁴⁰

Figura 4. Modos de coordenação encontrados na literatura para ligantes derivados fenâmicos quando coordenados com metais.



Fonte: O autor (2021)

Pode-se encontrar vários complexos com metais do bloco *d* com os quatro ligantes estudados neste trabalho. Sendo que não há relatos desses ligantes com rutênio/fosfinas. Observa-se que das quatro possibilidades de coordenação abordadas, aquelas representadas nas Figura 4a-c são mais frequentes, sendo que bidentado pelo carboxilato é mais comum quando se tem complexos com derivados fenâmicos. Ao se coordenar via carboxilato, o ligante está carregado negativamente, formando um anel de quatro membros.

Em pesquisas de complexos com o ácido fenâmico, nota-se que este ligante pode formar complexos bidentados (Figura 4a) com Zn(II)⁴¹ e Cu(II),⁴² também formam complexos atuando como monodentados em algumas situações quando ligado também com Zn(II),⁴³ Mn(II)⁴⁴ e Ni(II).⁴⁵ O ácido fenâmico forma ponte em várias situações, quando coordenados à Cu(II);^{46, 47} e Rh(I)⁴⁸ em complexos binucleares, espécies trinucleares de Zn(II)⁴¹ e Cd(II),⁴⁴ além de um exemplo de complexo de Ni(II) hexa-nuclear⁴⁹ e complexos poliméricos contendo terras raras Tb(III), Gd(III) e Eu(III).⁵⁰

Quanto ao ligante mefenâmico, este pode formar complexos atuando como bidentado quando coordenado ao Cu(II),⁵¹ Ni(II),⁵² Co(II),⁵³ Zn(II).^{54, 55} O modo de coordenação como monodentada é também observada em uma variedade de complexos de Cu(II), Ni(II), Co(II)⁵⁶ Zn(II),^{55, 56} Mn(II).⁵⁷ Recentemente, um complexo de mefenâmico com prata(I) mostra a formação de um composto binuclear com o carboxilato em ponte,⁵⁸ o mesmo ocorre em outro complexo com Zn(II).⁵⁹

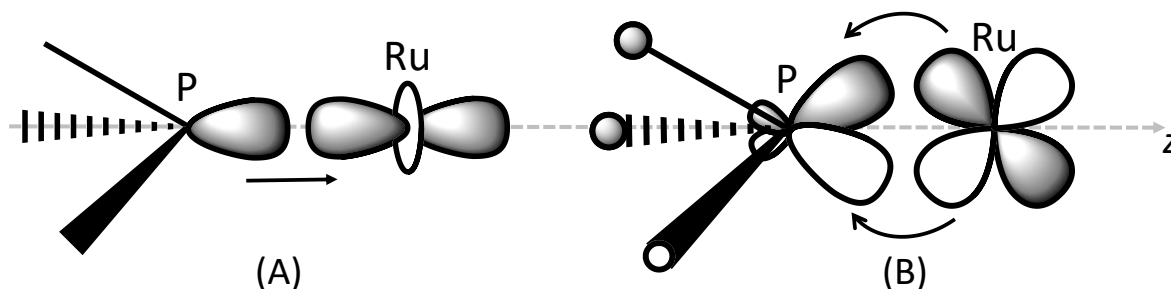
Complexos bidentados e monodentados de Cu(II) foram obtidos com o ligante tolfenâmico⁶⁰ e em ponte com Mn(II) formando uma cadeia polimérica.^{61,62} Além de compostos mono- e trinuclear com Zn(II) que destacam a versatilidade do tolfenato.⁶³ Por fim, e não menos importante, o quarto ligante identificado como ácido flufenâmico se coordena como bidentado,^{64, 65, 66, 67} monodentado,^{68, 69} e formando ponte via os dois oxigênios do carboxilato.^{64, 65, 70, 71}

A grande maioria dos complexos sintetizados até o momento com os derivados fenâmicos inclui metais da primeira série de transição. Portanto, os poucos relatos envolvendo rutênio e, principalmente com ligantes fosfínicos, servem de motivação para melhor explorar o comportamento desses ligantes quando coordenados com rutênio.

1.5. Ligantes fosfínicos como ligantes em complexos de rutênio

Os compostos de rutênio contendo ligantes fosfínicos são listados com diversas variações de ligantes na literatura, vários deles são relatados como potenciais complexos para tratamento antitumoral.^{72, 73, 74, 75, 76} Os ligantes fosfínicos utilizados no presente trabalho são importantes agentes quelantes, que estabilizam o composto de rutênio atuando como σ doadores e π receptores (Figura 5). Os ligante fosfínicos, tal como dppe (1,2-*bis*(difenilfosfina)etano), apresentam um par de elétrons livres sobre o átomo de fósforo e atuam doando elétrons para os orbitais vazios do metal, formando ligações σ (Figura 5a). Ainda, ligantes fosfínicos podem utilizar os orbitais σ^* (antiligantes) da ligação P-C com simetria π para aceitar densidade eletrônica de orbitais do metal (combinação de orbitais metálicos p ou d), formando a retroligação.^{77, 78} Estudos prévios consideram que os ligantes fosfínicos utilizam orbitais 3d vazios para formar a retroligação (M-P) com o metal,⁷⁹ mas tem sido mais aceito que os orbitais d vazios do fósforo não estejam envolvidos na religação, pois apresentam energia mais alta do que os orbitais antiligantes σ^* de P-C.^{78, 80} Deste modo, quando os átomos de fósforo do ligante dppe se ligam ao átomo de rutênio rico em elétrons, espera-se que a retroligação ocorra de maneira efetiva, estabilizando a ligação entre metal e o ligante. Em adição, a coordenação do ligante difosfínico dppe contribui para a estabilização do complexo devido ao efeito quelato, formando um anel quelato de cinco membros. Tal efeito é definido como a diferença de estabilidade entre um complexo quelato e o complexo correspondente com ligantes monodentados. Este efeito foi previamente definido em 1952 pelo pesquisador Schwarzenbach.⁸¹

Figura 5. Representação mostrando a formação da ligação envolvendo os orbitais do rutênio e ligante fosfínico, como o ligante dppe, podendo atuar como σ -doador (A) e π -receptor (B). Os orbitais estão direcionados ao longo do eixo z, assim, tem-se os orbitais do metal rotulados como dz^2 (em A) e dxz (em B).



Fonte: O autor (2021)

Além dos aspectos químicos e estruturais dos complexos de rutênio com difosfinas, tem sido reportado na literatura que os complexos de rutênio com a fosfina dppe apresentaram melhor atividade e seletividade contra células tumorais, provavelmente devido ao fato desta ser uma fosfina pequena se comparado a outras fosfinas, facilitando sua entrada na célula.⁸² Em trabalhos similares, também mostraram que quanto menor a cadeia carbônica, mais resistentes à oxidação podem ser os compostos, como no caso do $[\text{Ru}(\text{pymS})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{pymS})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, onde dppm = 1,2-*bis*(difenilfosfina)metano, dppe = 1,2-*bis*(difenilfosfina)etano e pymnS = pirimidina.^{83, 84} Também a presença de dois ligantes ajudou a aumentar a lipofilicidade desses compostos, que poderiam estar relacionados com uma maior atividade, ou seja, uma maior absorção pelas células.^{85, 86, 87}

Portanto, este trabalho de mestrado tem o intuito de explorar o comportamento químico e estrutural de complexos de rutênio contendo duas difosfinas dppe e uma molécula de bioligantes derivados de ácido fenâmico coordenados. Além disso, pretende-se investigar se os compostos obtidos apresentam propriedades promissoras quando avaliados contra células tumorais. A seletividade dos compostos será investigada pela realização de ensaios de citotoxicidade em células não tumorais. Por fim, estudos de interação com macromoléculas como DNA e BSA serão realizados para avaliar aspectos relacionados ao mecanismo de ação e transporte dos compostos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Desenvolver novos complexos difosfínicos de rutênio(II) contendo ligantes derivados de ácidos fenâmicos, e investigar suas propriedades citotóxicas frente à células tumorais e não tumorais e estudar suas interações com o DNA e a BSA

2.2. Objetivos específicos

Para alcançar o objetivo geral, os seguintes objetivos específicos serão seguidos:

- Sintetizar novos complexos de rutênio contendo ligantes derivados de ácidos fenâmicos, tais como: ácido fenâmico (fe), ácido mefenâmico (me), ácido tolfenâmico (tol) e ácido flufenâmico (flu);
- Após obter os compostos de fórmula geral $[\text{Ru}(\text{O}-\text{O})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, onde dppe é 1,2-bis(difenilfosfina)etano e O-O corresponde aos derivados fenâmicos, caracterizar por meio de técnicas de análise elementar, condutividade molar, decomposição térmica, espectrometria de massas, espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H , $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, voltametria cíclica, espectroscopia de absorção na região do ultravioleta/visível e do infravermelho, e difração de raios X;
- Avaliar as propriedades citotóxicas dos complexos obtidos frente a diferentes linhagens celulares tumorais de mama (MDA-MB-231) e pulmão (A549), células não tumoral de pulmão (MRC-5);
- Investigar a interação dos quatro compostos de rutênio obtidos com o DNA e com a albumina de soro bovino (BSA), buscando melhor entender o mecanismo de ação dos novos compostos com atividade antitumoral promissora.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Obtenção de atmosfera inerte

As sínteses dos complexos de rutênio desenvolvidos ao longo deste trabalho foram realizadas sob atmosfera de argônio, obtida pela passagem do fluxo de argônio por um sistema de colunas contendo cloreto de cálcio, peneira molecular e sílica gel. Esse procedimento foi realizado com o objetivo de secar o gás comercial, de procedência da White Martins.

3.2. Solventes e reagentes

Os solventes utilizados no desenvolvimento deste trabalho, tais como diclorometano, metanol, tolueno e éter etílico foram de procedência Synth P.A ou Merck P.A. Os reagentes $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ = tricloreto de rutênio hidratado, dppe = 1,2'-bis(difenilfosfina)etano, ácido fenâmico (fe), ácido mefenâmico (me), ácido tolfenâmico (tol) e ácido flufenâmico (flu), NH_4PF_6 = hexafluorofosfato de amônio, Et_3N = trietilamina, de procedência Aldrich, foram utilizados como recebidos.

3.3. Síntese do complexo *trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppe})_2]$

Inicialmente foram sintetizados os complexos precursores de rutênio e o primeiro complexo sintetizado foi o *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{DMSO})_4]$. Para isso o $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (1 g, 4,82 mmol) foi adicionado em um balão contendo DMSO (5 mL) desaerado e a reação foi mantida em refluxo com agitação por aproximadamente 5 h. Posteriormente, o sistema foi resfriado a temperatura ambiente e adicionou-se acetona (30 mL) formando um precipitado de coloração amarela. O precipitado foi filtrado utilizando um filtro de placa porosa, lavado com acetona e éter etílico e seco sob vácuo. Rendimento: 60%.

Posteriormente, o complexo *trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppe})_2]$ foi obtido a partir da reação do *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{DMSO})_4]$ com a difosfina dppe. Para isso, 0,5 g (1,03 mmol) do *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{DMSO})_4]$ foi adicionado em um frasco do tipo Schlenk contendo aproximadamente 20 mL de diclorometano desaerado, juntamente com 0,94 g (2,37 mmol) de dppe. A reação foi mantida em agitação por 5 horas em aproximadamente 60° C e em seguida o volume foi reduzido e o sólido precipitado pela adição de hexano. O precipitado de coloração amarela foi filtrado e lavado com hexano e seco sob vácuo. Rendimento: 80%.

3.3.1. Síntese dos complexos do tipo $[Ru(O-O)(dppe)_2]PF_6$

Os novos complexos do tipo $[Ru(O-O)(dppe)_2]PF_6$, onde O-O = ácido fenâmico, mefenâmico, flufenâmico e tolfenâmico foram obtidos a partir da reação do precursor *trans*- $[RuCl_2(dppe)_2]$, com os ligantes de interesse em atmosfera inerte (Argônio). Para a síntese dos complexos com os derivados de ácido fenâmicos, empregou-se o precursor *trans*- $[RuCl_2(dppe)_2]$. Inicialmente, o complexo *trans*- $[RuCl_2(dppe)_2]$ (0,05g e $5,16 \cdot 10^{-5}$ mol) foi adicionado em um tubo Schlenk contendo diclorometano desaerado. Em outro tubo Schlenk contendo metanol desaerado foi adicionado o ácido fenâmico (0,022g e $1,03 \cdot 10^{-4}$ mol), juntamente com 30 μ L de Et_3N para desprotonação do ligante. Após aproximadamente 30 minutos de agitação, a solução contendo o ligante desprotonado foi adicionada ao Schlenk contendo o precursor solubilizado. A essa mistura reacional foi adicionado o hexafluorofosfato de amônio (NH_4PF_6) para atuar como contraíon, uma vez que o complexo de interesse apresenta carga positiva. Após 1 hora de reação, o volume da reação foi reduzido a aproximadamente 2 mL, e o complexo final foi precipitado com água destilada desaerada. O produto formado foi coletado por filtração, lavado com água, éter e seco sob vácuo. O mesmo procedimento foi empregado para os complexos contendo o ácido mefenâmico ($[Ru(me)(dppe)_2]PF_6$), flufenâmico ($[Ru(fl)(dppe)_2]PF_6$) e tolfenâmico ($[Ru(tol)(dppe)_2]PF_6$).

$[Ru(fe)(dppe)_2]PF_6$ (1): Rendimento: 37 mg (57%). Cor: Amarelo pálido. Análise Elementar (%) para ($RuC_{65}H_{58}F_6NO_2P_5$): Calculado: C, 62,15; H, 4,62; N, 1,12; Encontrado: C, 55,02; H, 5,12; N, 2,25. Infravermelho (cm^{-1}): 3329, 2931, 1597, 1582, 1435, 1288, 1097, 832, 685, 557. UV-vis (metanol, $1,0 \times 10^{-5}$ M): λ/nm ($\epsilon/M^{-1}cm^{-1}$) 258 (30 802), 290 (10741), 364 (7400). Condutividade molar (Λ_M , $S.m^2.mol^{-1}$) = 97. Temperatura de decomposição ($^{\circ}C$): >300. RMN de $^{31}P\{^1H\}$ ($CDCl_3$, 400 MHz) δ/ppm : 58,78 (P1, P2), 57,76 (P3, P4), -144 (hept, $^3J_{P-P} = 19,6$ Hz, PF_6^-). RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 8,99 (N-H); 3,01-2,26 (dppe-H); 7,82-6,91 (Ar-dppe-H); 8,99 (N-H). RMN de $^{13}C\{^1H\}$ ($CDCl_3$, 100 MHz) δ (ppm): 182,03 (C-O); 145,05 e 140,93 (C-N); 132,67-133,44 e 130,74-131,67 (C-PPh2); 128,91-128,72 e 128,42-128,09 (C-dppe).

$[Ru(me)(dppe)_2]PF_6$ (2): Rendimento: 60 mg (90%). Cor: Amarelo pálido. Análise Elementar (%) para ($RuC_{67}H_{62}F_6NO_2P_5$): Calculado: C, 62,66; H, 4,83; N, 1,11; Encontrado: C, 59,88; H, 6,30; N, 1,90 %. Infravermelho (cm^{-1}): 3325, 3062, 1616, 1581, 1435, 1288, 1092, 833, 690, 555. UV-vis (metanol, $1,0 \times 10^{-5}$ M): λ/nm ($\epsilon/M^{-1}cm^{-1}$) 258 (55728), 364 (13431). Condutividade molar (Λ_M , $S.m^2.mol^{-1}$) = 146. Temperatura de decomposição ($^{\circ}C$): 295. RMN

de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ/ppm : 58,82 (P1, P2), 56,97 (P3, P4), -144 (hept, $^3\text{J}_{\text{P-P}} = 19,6$ Hz, PF_6^-). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 3,01-2,26 (dppe-H); 7,82-6,93 (Ar-dppe-H); 8,62 (N-H). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ (ppm): (125,74 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 182,46 (C-O); 146,93 e 138,80 (C-N); 133,46–129,64 e 132,73-131,88 (C-PPh₂); 128,90-128,70 e 128,33-128,14 (C-dppe); 20,80 e 14,40 (C-H).

[Ru(tol)(dppe)₂]PF₆ (3): Rendimento: 34 mg (50%). Cor: Amarelo pálido. Análise Elementar (%) para ($\text{RuC}_{66}\text{H}_{59}\text{ClF}_6\text{NO}_2\text{P}_5$): Calculado: C, 60,76; H, 4,53; N, 1,07; Encontrado: C, 61,12; H, 5,18; N, 1,64. Infravermelho (cm^{-1}): 3307, 2931, 1614, 1583, 1433, 1288, 1089, 831, 689, 555. UV-vis (metanol, $1,0 \times 10^{-5}$ M: λ/nm ($\epsilon/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$): λ/nm ($\epsilon/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 258 (45606), 290 (13836), 364 (11436). Condutividade molar (Λ_{M} , $\text{S.m}^2.\text{mol}^{-1}$) = 96. Temperatura de decomposição ($^{\circ}\text{C}$): 297. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ/ppm : 58,90 (P1, P2), 57,11 (P3, P4), -144 (hept, $^3\text{J}_{\text{P-P}} = 19,6$ Hz, PF_6^-). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 2,93-2,27 (dppe-H); 7,95-6,42 (Ar-dppe-H); 8,58 (N-H). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ (ppm): 182,07 (C-O); 146,68 e 140,60 (C-N); 135,58 (C-Cl); 132,38 e 130,70 (C-PPh₂); 128,95-128,15 e 126,96-126,90 (C-dppe); 15,43 (C-H).

[Ru(flu)(dppe)₂]PF₆ (4): Rendimento: 65 mg (95%). Cor: Amarelo pálido. Análise Elementar (%) para ($\text{RuC}_{66}\text{H}_{57}\text{F}_9\text{NO}_2\text{P}_5$): Calculado: C, 59,86; H, 4,31; N, 1,06; Encontrado: C, 57,01; H, 3,95; N, 1,22. Infravermelho (cm^{-1}): 3321, 3056, 1610, 1589, 1435, 1346, 1325, 1294, 1219, 1130, 1095, 831, 557, 688. UV-vis (metanol, $1,0 \times 10^{-5}$ M): λ/nm ($\epsilon/\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) 258 (36424), 290 (17609), 364 (9461). Condutividade molar (Λ_{M} , $\text{S.m}^2.\text{mol}^{-1}$) = 94. Temperatura de decomposição ($^{\circ}\text{C}$): 265. RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ/ppm : 59,05 (P1, P2), 57,90 (P3, P4), -144 (hept, $^3\text{J}_{\text{P-P}} = 19,6$ Hz, PF_6^-). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 3,02-2,26 (dppe-H); 7,82-6,06 (Ar-dppe-H, flu-H); 9,12 (N-H). RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ (ppm): 181,52 (C-O); 143,64 e 141,86 (C-N); 131,07 e 129,62 (C-PPh₂); 132,86-128,74 e 128,43 (C-dppe); 122,74 (C-F).

4. TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

O processo utilizado na caracterização dos complexos obtidos, deu-se inicialmente a partir da purificação por recristalização e posteriormente com a utilização de técnicas como: espectroscopia de absorção na região do IV e UV/vis, análise elementar, análise condutimétrica, voltametria cíclica e de pulso diferencial e espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H , ^{13}C e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, bem como determinação estrutural por meio de medidas de difração de raios X por monocristal. Os ensaios biológicos com moléculas de DNA e BSA foram realizados

por titulações espectroscópicas e fluorimétricas. Para os estudos citotóxicos foi utilizado o método MTT.

4.1. Condutividade, ponto de decomposição e análise elementar

As medidas de condutividade dos complexos foram realizadas empregando um condutivímetro (Meter Lab., modelo CDM230), e soluções dos complexos na concentração de $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, em metanol. Para a realização das medidas de ponto de fusão dos complexos empregou-se um equipamento Fisatom 431 D. As análises elementares de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram realizadas usando um Analisador PerkinElmer 2400 CHNS.

4.2. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) dos complexos sintetizados, bem como dos ligantes livres foram obtidos na região de $4000 \text{ a } 400 \text{ cm}^{-1}$, empregando-se um Espectrômetro ABB Bomem MB3000 (Quebec, Canada), localizado no Laboratório de Espectroscopia no Infravermelho do Departamento de Química da – UFOP.

4.3. Eletroquímica – voltametria cíclica

As análises por voltametria cíclica foram realizadas a temperatura ambiente utilizando-se um Potenciostato/Galvanostato Autolab, modelo PGSTAT302N. As medidas foram efetuadas em uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos: um eletrodo de referência Ag/AgCl ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$), e eletrodos de trabalho e auxiliar de platina, mergulhados em solução de eletrólito de PTBA ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em CH_2Cl_2).

4.4. Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis.

Os espectros de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-vis) foram obtidos na faixa de 200 a 800 nm, empregando um espectrofotômetro Thermo Scientific-Genesys 10s UV/vis, utilizando cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm e temperatura ambiente.

4.5. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de fósforo (RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$) e hidrogênio (RMN ^1H) foram obtidos empregando-se um espectrômetro Bruker Avance 400 MHz localizado no Laboratório Multiusuário de Caracterização de Moléculas do Cipharma/UFOP. Para obtenção dos espectros de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ os complexos foram solubilizados em CH_2Cl_2 e adicionados aos tubos de RMN juntamente com um capilar de D_2O .

Para os experimentos de RMN ^1H empregou-se o solvente clorofórmio deuterado (CDCl_3). Todos espectros foram obtidos à temperatura ambiente.

4.6. Medidas de Difração de raios X por Monocristal

Os monocristais obtidos neste trabalho foram obtidos por evaporação lenta da mistura de solventes metanol/diclorometano (1:1 v/v). As medidas de difração de raios X foram realizadas no difratômetro Rigaku XtaLAB mini II, usando radiação $\text{MoK}\alpha$ (0,71073 Å) monocromada por grafite. Os dados de difração foram coletados a temperatura ambiente e tratados por programas cristalográficos específicos. O pacote de programas do WINGX⁸⁸ foram usados na análise dos dados. As estruturas foram resolvidas usando os métodos diretos, com o programa SHELXS-97.⁸⁹ Os modelos assim obtidos foram refinados (mínimos quadrados de matriz completa) em F^2 usando o programa SHELXL-97.⁹⁰ O programa Mercury 4.0⁹¹ foi usado para analisar e elaborar representações gráficas das estruturas. Para análise dos parâmetros intramoleculares utilizou-se também o programa MOGUL,⁹² derivado do CSD,⁹³ fornecendo acesso a valores preferidos de comprimentos de ligação, ângulos, e de ângulos acíclicos da torsão para os compostos estudados.

4.7. Avaliação da interação dos complexos com o DNA

Para investigar a interação dos complexos de rutênio obtidos com o DNA empregou-se as titulações espectroscópicas por UV-vis e medidas de viscosidade. Inicialmente, preparou-se a solução de DNA pela solubilização de aproximadamente 2 mg de CT-DNA (*Calf Thymus*) em 1 mL de tampão Tris-HCl (4,5 mmol L^{-1} de Tris HCl, 0,5 mmol L^{-1} de Tris-base e 50 mmol L^{-1} de NaCl, pH 7,4). A concentração do CT-DNA foi determinada por UV-vis, a partir do valor de absorbância e da absorvidade molar em 260 nm, que é de 6600 $\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1} \text{L}$, utilizando a lei de Lambert-Beer ($A_{260} = \epsilon_{260} \times b \times c$).

Para realização das titulações espectroscópicas por UV-vis preparou-se uma solução de cada complexo na concentração de $1,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ em DMSO. A partir da solução $1,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de complexo em DMSO, foi preparada uma nova solução do complexo em tampão Tris-HCl, contendo 10% de DMSO. Posteriormente, registrou-se o espectro de UV-vis do complexo e foram adicionadas alíquotas de 10 μL de CT-DNA na cubeta do branco e na cubeta do complexo, para garantir que qualquer variação espectral fosse devido a interação do complexo com o DNA. As soluções foram homogeneizadas pelo mesmo tempo e os espectros registrados. A constante de interação (K_b) entre os complexos e o CT-DNA foi determinada empregando a seguinte Equação (1):⁹⁴

$$\frac{[\text{DNA}]}{(\varepsilon_a - \varepsilon_f)} = \frac{[\text{DNA}]}{(\varepsilon_b - \varepsilon_f)} + \frac{1}{[K_b(\varepsilon_b - \varepsilon_f)]} \quad (1)$$

onde: ε_a = é o coeficiente de extinção aparente, que corresponde à razão entre a absorvância medida e a concentração do complexo ($A_{\text{observada}}/[\text{Complexo}]$); ε_f = absorvância molar do complexo livre (sem adição de DNA); ε_b = absorvância molar do complexo ligado ao DNA; K_b = constante de ligação. A partir do gráfico de $[\text{DNA}]/(\varepsilon_a - \varepsilon_f)$ versus $[\text{DNA}]$ obtêm-se uma reta com inclinação de $1/(\varepsilon_b - \varepsilon_f)$ e intercepto de $1/K_b(\varepsilon_b - \varepsilon_f)$. Dessa forma, K_b é determinado a partir da razão entre a inclinação (coeficiente angular) e a intercepto (coeficiente linear).

O ensaio de viscosidade foi realizado empregando um viscosímetro de Ostwald em um banho de água em uma temperatura de 37°C. A concentração da solução de CT-DNA, em tampão Tris-HCl (foi fixada em 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$, enquanto a concentração dos complexos, solubilizados em DMSO (a porcentagem final do DMSO manteve-se em 2% em todas as soluções) variaram, com a finalidade de se obter diferentes relações complexo/DNA. O tempo das medidas, feitas em cinco réplicas, foi determinado com cronômetro digital. Os valores de viscosidade específica $(\eta/\eta_0)^{1/3}$, onde η corresponde a viscosidade relativa do DNA na presença dos complexos e η_0 é a viscosidade relativa do DNA, foram plotados versus $[\text{complexo}]/[\text{DNA}]$.

4.8. Avaliação da interação dos complexos com a BSA

A avaliação da interação dos complexos de rutênio com a BSA foi baseada na medida da supressão de fluorescência dos resíduos de triptofano presentes na BSA. Uma solução de 2,5 μM de BSA foi preparada em tampão Tris-HCl (4,5 mmol L^{-1} de Tris HCl, 0,5 mmol L^{-1} de Tris base e 50 mmol L^{-1} de NaCl) num pH 7,4. A concentração da BSA foi determinada empregando a absorvância molar da BSA em 279 nm ($43824 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$). Soluções de BSA contendo diferentes concentrações dos complexos (0 – 12,5 μM) foram preparadas, mantendo uma % de DMSO fixa em 10%. 200 μL dessas soluções foram adicionados a placas opacas de 96 poços (costar), em triplicata. As medidas foram efetuadas em um fluorímetro SpectraMax i3 nas temperaturas de 25 e 37°C, a partir da excitação em 280 nm, com emissão em 340 nm.

4.9. Avaliação da atividade citotóxica dos complexos

Para investigação da atividade citotóxica dos complexos de rutênio, empregou-se as linhagens celulares MDA-MB-231, de câncer de mama triplo negativo, A549, câncer de pulmão e, a linhagem celular MRC-5, não tumoral de pulmão. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Estrutura e Reatividade de Compostos Inorgânicos (LERCI) no Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos, sob supervisão do Prof. Dr. Alzir Azevedo

Batista. As linhagens celulares MDA-MB-231 (ATCC: HTB-26), A549 (ATCC: CCL-185), MRC-5 (ATCC: CCL-171) foram cultivadas em meio de cultura *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) contendo 10% de soro fetal bovino (FBS), penicilina (100 UI/mL), estreptomicina (100 mg/mL) e L-glutamina (2 mM). As linhagens celulares foram mantidas em estufa úmida com 5% de CO₂ e com temperatura constante de 37°C em garrafas de cultura.

Para a realização dos ensaios as células foram tripsinizadas, contadas para o ajuste da concentração das células, e em seguida semeadas em placas de cultura de 96 poços (Corning Costar) ($1,5 \times 10^4$ células/poço). As placas foram armazenadas em estufa (37°C - 5% CO₂) por 24 h para a adesão celular. Após este tempo adicionou-se os complexos em diferentes concentrações (100 – 0,78 µM) e manteve-se as placas na estufa por 48 horas. A porcentagem de DMSO empregada no experimento foi de 0,5% e os controles receberam esta mesma porcentagem de DMSO. Após 48 h, o meio de cultura foi removido das placas e foram adicionados 50 µL de MTT (0,5 mg/mL em PBS) em cada poço, as quais foram posteriormente incubadas na estufa (37°C - 5% CO₂) por um período de 3 – 4 horas. Neste período de incubação o MTT é reduzido pela desidrogenase mitocondrial em células viáveis formando cristais de formazan de coloração violeta. Os cristais de formazan formados foram solubilizados pela adição de isopropanol e a absorbância dos poços registrada utilizando-se um leitor de microplacas (Labtech LT4000) em um comprimento de onda de 540 nm. A partir dos valores de absorbância determinou-se os valores de IC₅₀ (Concentração de complexo que inibe 50% do crescimento celular).

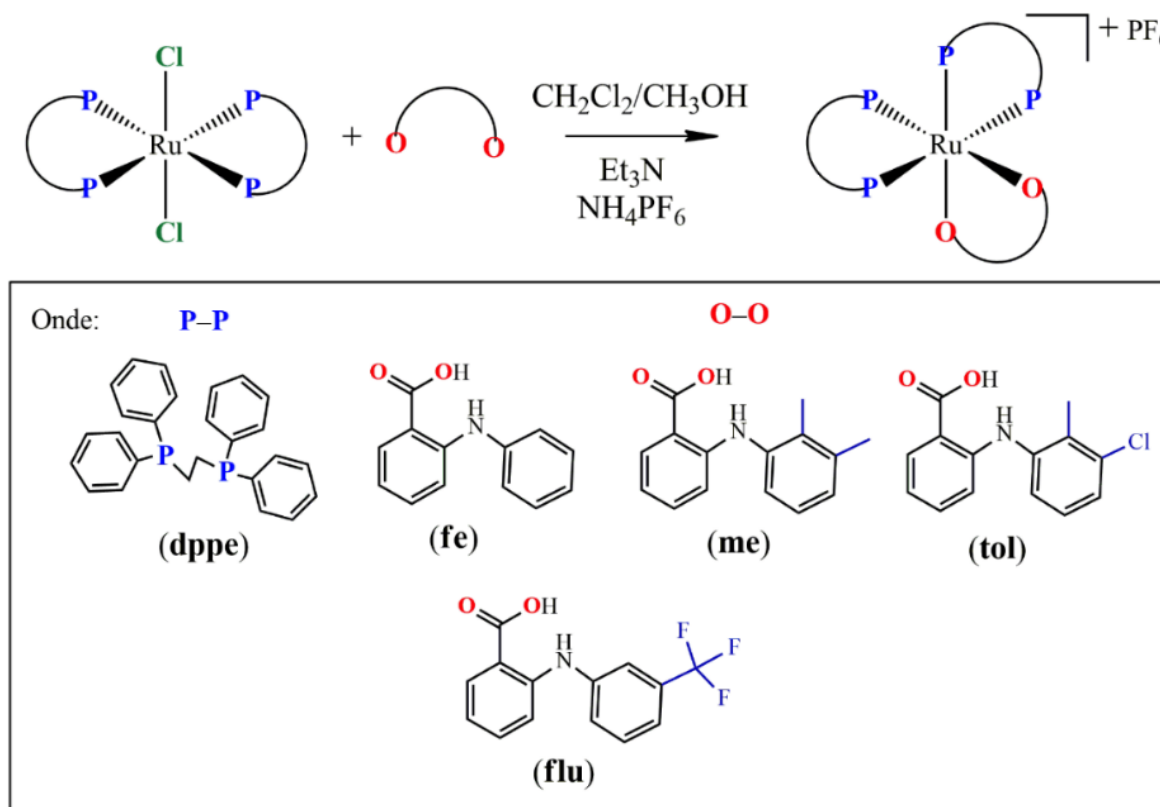
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Síntese e caracterização dos complexos contendo o ácido fenâmico e seus derivados como ligantes

Os novos complexos contendo o ácido fenâmico e derivados como ligantes foram obtidos pela substituição dos ligantes cloridos do complexo precursor [RuCl₂(dppe)₂], conforme a rota de síntese representada no Esquema 1. Um aspecto interessante a salientar é que o complexo precursor [RuCl₂(dppe)₂] pode apresentar os isômeros *cis* e *trans*. Usualmente, os complexos obtidos a partir do precursor [RuCl₂(dppe)₂] partem do isômero *cis*,^{95, 96} pois quando o clorido está *trans* a fósforo, mais lábil é o clorido, assim, mais rápida a reação. No entanto, a formação do isômero *cis* ocorre a partir do *trans* e o rendimento de fato não é tão alto. Desta maneira, executou-se a síntese a partir do *trans*-[RuCl₂(dppe)₂] sob refluxo, e à medida que o precursor se isomeriza para a espécie *cis*-[RuCl₂(dppe)₂] a reação vai se

desencadeando, formando o complexo final tris-quelato $[\text{Ru}(\text{L})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, que naturalmente apresenta os ligantes na configuração *cis*.

Esquema 1. Rota sintética empregada para obtenção dos complexos contendo ácido fenâmico e derivados.



Fonte: O autor (2021)

Conforme representado no Esquema 1, durante a síntese os complexos $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ foram obtidos com respectivos rendimentos de 57, 91, 51 e 95%. Outro aspecto interessante é que a rota de síntese utilizada aqui difere da estratégia adotada pelo grupo de pesquisa do doutor Aquino para obtenção de complexos $[\text{Ru}(\text{O-O})(\text{dppe})_2]$. Na ocasião, parte-se de uma espécie binuclear $[\text{Ru}_2(\mu\text{-O}_2\text{CR})_4(\text{MeOH})_2]^+$ com quatro carboxilatos em ponte, e em uma etapa posterior o ligante dppe é adicionado.^{97, 98}

5.1.1. Condutividade molar e ponto de decomposição

Os complexos obtidos são sólidos amarelos pálidos solúveis em solventes orgânicos como metanol, etanol, diclorometano, acetona, clorofórmio, DMSO. Por outro lado, são insolúveis em hidrocarbonetos, éter e água. Os compostos não são higroscópicos, são estáveis ao ar e apresentam alta estabilidade térmica como pode ser observado pelos pontos de decomposição relativamente altos, acima de 250 °C (Tabela 1). Em adição, as medidas de

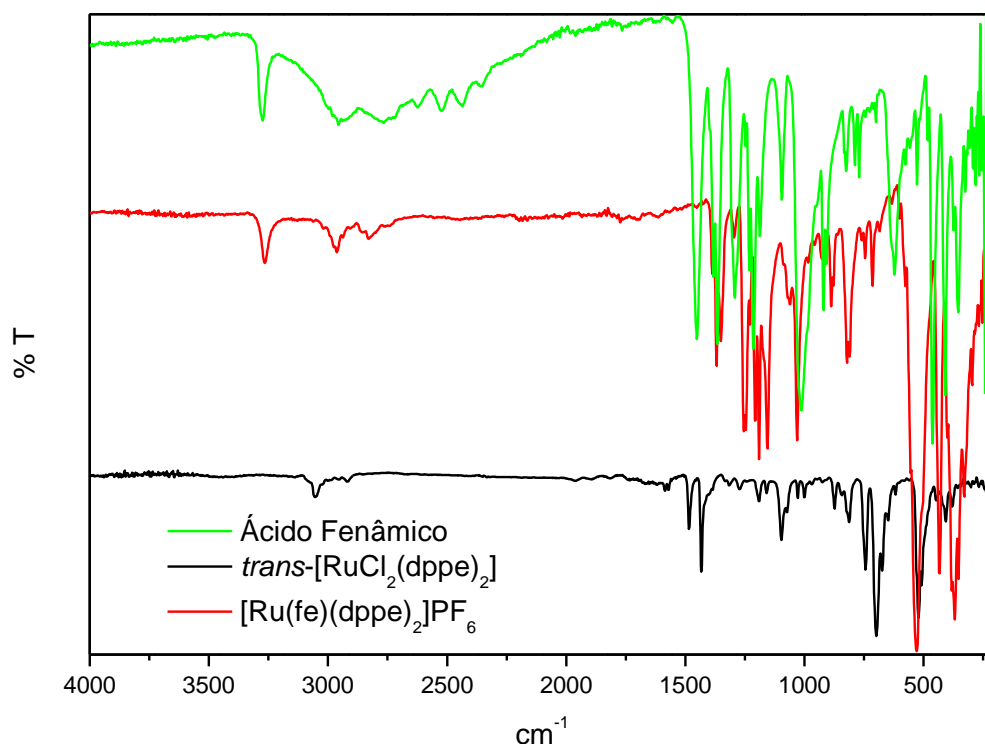
condutividade molar para os complexos contendo derivados de ácido fenâmicos foram realizadas empregando metanol à temperatura ambiente (23 °C). Para isso, utilizou-se soluções dos complexos na concentração de 10^{-4} M. Os resultados de condutividade molar são apresentados na Tabela 1. As medidas de condutividade variaram de 75 a 146 S $\text{cm}^2 \text{mol}^{-1}$, indicando que os compostos são eletrólitos 1:1, com o complexo atuando como cátion e o PF_6^- como ânion, segundo os padrões reportados na literatura.⁹⁹

Tabela 1. Dados de condutividade molar e temperatura de decomposição para os complexos sintetizados

Substância	Temperatura de decomposição (°C)	Condutividade* ($\text{Scm}^2\text{mol}^{-1}$)
Metanol	-	2,9
<i>trans</i> -[RuCl ₂ (dppe) ₂]	295	-
[Ru(fe)(dppe) ₂] PF_6	> 300	97
[Ru(me)(dppe) ₂] PF_6	295	146
[Ru(tol)(dppe) ₂] PF_6	297	96
[Ru(flu)(dppe) ₂] PF_6	265	94

5.1.2. Análise espectroscópica na região do infravermelho

A técnica de espectroscopia de absorção na região do infravermelho possibilita identificar grupos funcionais presentes em um determinado complexo, permitindo identificar se houve a coordenação do ligante de interesse e de qual modo essa coordenação ocorreu. Tal análise pode ser feita comparando-se os espectros do complexo precursor, do ligante derivado fenâmico e do novo complexo obtido. Na Figura 6 está representada a sobreposição dos espectros obtidos a partir da absorção na região do infravermelho empregando a técnica de reflectância total atenuada (FTIR-ATR) dos compostos *trans*-[RuCl₂(dppe)₂], ácido fenâmico e [Ru(fe)(dppe)₂] PF_6 . Os espectros dos compostos [Ru(me)(dppe)₂] PF_6 , [Ru(tol)(dppe)₂] PF_6 e [Ru(flu)(dppe)₂] PF_6 estão apresentados no APÊNDICE B.

Figura 6. Espectro de absorção na região do infravermelho (FTIR-ATR) para o complexo $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$.

Fonte: O autor (2021)

A partir da análise dos espectros de absorção na região do infravermelho dos complexos e dos ligantes livres foi possível obter importantes informações a respeito do modo de coordenação dos ligantes, principalmente na região de alta frequência. Os ligantes derivados fenâmicos, que podem se coordenar ao centro metálico, apresentam uma amina secundária, bem como um grupo carboxilato. A partir da análise dos espectros de infravermelho verificou-se que tanto nos ligantes livres quanto nos complexos a banda na região de $3055 - 3329 \text{ cm}^{-1}$ está presente e pode ser atribuída ao estiramento $\nu(\text{N-H})$ da amina, indicando que a coordenação ao metal não ocorreu pela amina.

Desta forma, a coordenação pode ser relacionada ao grupo carboxilato. Para comprovação os estiramentos simétricos e assimétricos característicos do grupo carboxilato, $\nu_s\text{COO}^-$ e $\nu_{as}\text{COO}^-$, foram analisados, tanto nos ligantes livres como nos complexos. Esses estiramentos ocorrem nos ligantes livres na região de $1648-1431 \text{ cm}^{-1}$, enquanto nos complexos foram observados na região de 1597 e 1433 cm^{-1} (Tabela 2).

Tabela 2. Atribuições das frequências vibracionais (cm^{-1}) do grupo carboxilato nos ligantes livres e coordenados.

Compostos	$\nu_{as}\text{COO}^-$	$\nu_s\text{COO}^-$	$\Delta (\text{cm}^{-1})$
-----------	------------------------	---------------------	---------------------------

Ácido fenâmico (fe)	1654	1434	220
Ácido mefenâmico (me)	1648	1445	203
Ácido tolfenâmico (tol)	1656	1431	225
Ácido flufenâmico (flu)	1652	1455	197
[Ru(fe)(dppe) ₂]PF ₆	1597	1435	162
[Ru(me)(dppe) ₂]PF ₆	1616	1433	183
[Ru(tol)(dppe) ₂]PF ₆	1614	1433	181
[Ru(flu)(dppe) ₂]PF ₆	1610	1435	175

O carboxilato pode se coordenar ao íon metálico de forma monodentada, bidentada ou bidentado em ponte. A distinção do modo de coordenação pode ser realizada a partir da diferença entre o estiramento simétrico e assimétrico ($\Delta \text{ cm}^{-1}$). Quando o grupo carboxilato se coordena de forma monodentada, o valor de Δ será maior do que o valor para o ligante livre, já a coordenação de forma bidentada apresentara um valor de Δ menor que o do ligante livre. Além do mais, o estiramento $\nu_{as}\text{COO}^-$ é deslocado para valores de mais alta frequência, quando comparado com a forma bidentada.¹⁰⁰ Analisando os estiramentos $\nu_{as}\text{COO}^-$ para os complexos de rutênio obtidos, verifica-se que houve um deslocamento para regiões de menores frequências, e ainda, os valores de Δ para os complexos são menores do que os obtidos para os ligantes livres, o que indica a coordenação dos ligantes ao rutênio de forma bidentada, pelo grupo carboxilato (Tabela 2).

Além disso, observou-se nos espectros de infravermelho dos complexos bandas na região de 831 $\nu(\text{P-F})$ e 555 $\delta(\text{P-F}) \text{ cm}^{-1}$, confirmando a presença do ânion PF_6^- nos complexos.¹⁰⁰ De forma geral, todos os complexos apresentaram um comportamento semelhante e na Tabela 3 é apresentada uma proposta de atribuição das principais bandas obtidas para os quatro complexos obtidos.

Tabela 3. Modos vibracionais para o complexo precursor (1) e para os complexos contendo como ligantes os derivados fenâmico (2 – 5)

Atribuição	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
$\delta = \text{C-H}$ (fora do plano) (Anel aromático)	698	685	690	689	688
$\delta, \nu_{\text{ass}} \text{PF}_6$ (Contra íon)	814/874	831/557	833/555	831/555	831/557
$\nu \text{P-C } \varphi$ (F) (dppe)	1097	1097	1092	1089	1095
$\nu \text{C}_R\text{-N}$ (f) (Amina 2 ^a aromática)	-	1288	1288	1288	1130 / 1219 / 1325/1346
sinal halogênio CF_3 (Átomo de F)	-	-	-	-	1294
δ no plano CH_2 (f) (Alcano)	1433	1435	1435	1433	1435
estiramento COO	-	1582	1581	1583	1589
estiramento C=C	1585	1597	1616	1614	1610
$\nu_{\text{ass}} \text{C-H}$ de CH_3 (f) (Aromático)	2916	2931	3062	2931	3056
$\nu_{\text{ass}} \text{N-H}$ (f) (Ar-NH-R (2 ^a))	3055	3329	3325	3307	3321

*(1) *trans*-[RuCl₂(dppe)₂], (2) [Ru(fe)(dppe)₂]PF₆, (3) [Ru(me)(dppe)₂]PF₆, (4) [Ru(tol)(dppe)₂]PF₆ e (5) [Ru(flu)(dppe)₂]PF₆.

F- forte; m- média; f- fraca; ass – assimétrico; ar -aromático

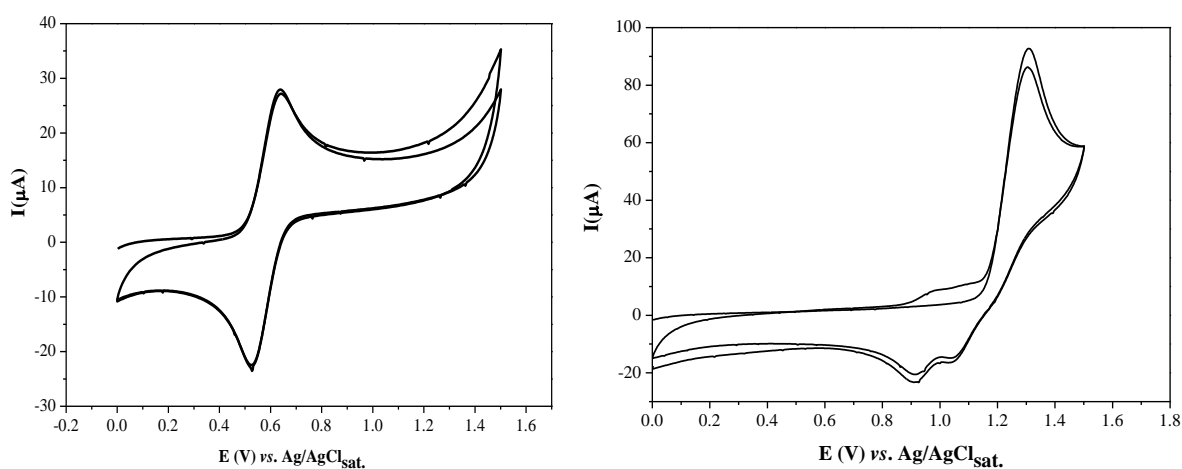
ν – designa uma vibração de estiramento; δ - designa uma vibração de deformação; γ - designa uma vibração de deformação fora do plano

5.1.3. Voltametria cíclica

Os estudos eletroquímicos dos complexos de rutênio(II) foram realizados utilizando a técnica de voltametria cíclica. Esta análise permitiu investigar o comportamento redox ($\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$) e a estabilidade dos complexos obtidos em solução. Os voltamogramas dos complexos foram obtidos em solução de diclorometano contendo $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ de PTBA, como eletrólito suporte, em temperatura ambiente. O complexo precursor *trans*-[RuCl₂(dppe)₂] apresenta um potencial de oxidação $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$ em 0,64 V. Os novos complexos contendo o ácido fenâmico e seus derivados apresentaram processos de oxidação $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$ na região de 1,26 a 1,57 V, ou seja, em regiões mais positivas, se comparado com o complexo precursor. Tal observação se deve a substituição de dois ligantes cloridos, bons doadores σ e π , por oxigênios do carboxilato dos ligantes fenâmico e derivados, que não são bons doadores de densidade eletrônica devido à ressonância do grupo $(\text{O-C-O})^-$. Assim, o rutênio fica com menor densidade eletrônica nos complexos com os ligantes fenâmico e derivados, sendo necessário uma maior energia para oxidá-lo a Ru^{III} .

Na Figura 7 é apresentado o voltamograma cíclico para o complexo precursor *trans*-[RuCl₂(dppe)₂], mostrando a reversibilidade do processo redox. Enquanto para o complexo [Ru(fe)(dppe)₂]PF₆ o processo redox é irreversível com a formação de outros intermediários na superfície do eletrodo após alguns ciclos, podendo representar a presença dos ligantes fenâmicos.¹⁰¹ Os demais complexos apresentaram o mesmo comportamento e seus voltamogramas são apresentados no APÊNDICE I e os parâmetros eletroquímicos ilustrados na Tabela 4.

Figura 7. Voltamograma cíclico para o complexo precursor *trans*-[RuCl₂(dppe)₂] (ESQUERDA) e para o complexo [Ru(fe)(dppe)₂]PF₆ (DIREITA), em CH₂Cl₂ (1.10⁻³ molL⁻¹ de PTBA).



Fonte: O autor (2021)

Tabela 4. Potenciais de oxidação e redução do Ru^{II}/Ru^{III} para os complexos contendo ácido fenâmico e seus derivados

Complexos	E _{pa} (V)	E ^{1/2} (V)	I _{pa} /I _{pc}
<i>trans</i> -[RuCl ₂ (dppe) ₂]	0,64	25,35	1,24
[Ru(fe)(dppe) ₂]PF ₆	1,31	5,83	3,83
[Ru(me)(dppe) ₂]PF ₆	1,26	4,51	2,62
[Ru(tol)(dppe) ₂]PF ₆	1,46	5,37	3,17
[Ru(flu)(dppe) ₂]PF ₆	1,55	1,45	2,91

Onde E^{1/2} = (E_{pa} + E_{pc})/2

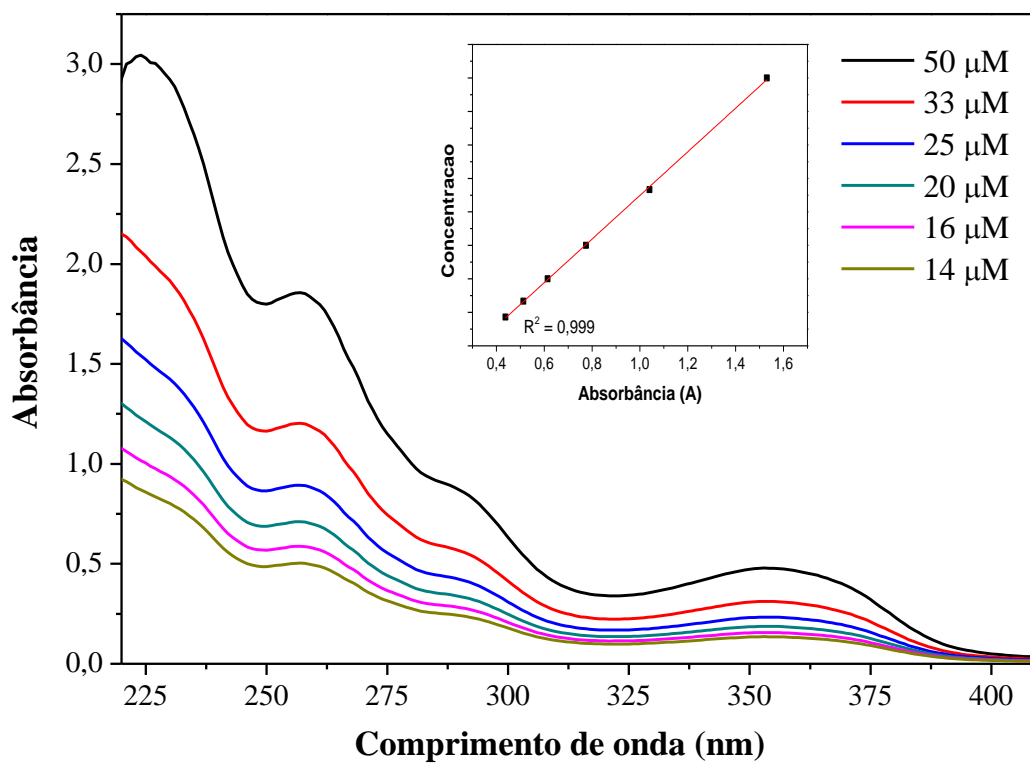
A técnica de voltametria cíclica apresenta sensibilidade para nos permitir verificar o potencial redox e relacionar com a densidade eletrônica em torno do centro metálico. Pelos valores de E_{pa} determinados para cada novo complexo nota-se que o composto com menor valor de potencial de oxidação Ru^{II}/Ru^{III} é o com ligante mefenâmico ([Ru(me)(dppe)₂]PF₆), justamente pelo fato de possuir dois grupos metilas, que atuam como doadores de densidade eletrônica para um de seus anéis benzênicos, assim, este é o ligante que apresenta maior

basicidade. No caso do complexo contendo o ácido fenâmico, o qual não possui substituintes nos anéis, apresenta um potencial de oxidação Ru^{II}/Ru^{III} em 1,31 V, maior do que o registrado para o complexo contendo o ácido mefenâmico (1,26 V). Ao analisar os complexos contendo halogênios como substituintes {[Ru(tol)(dppe)₂]PF₆ e [Ru(flu)(dppe)₂]PF₆}, que são retiradores de densidade eletrônica, o potencial de oxidação Ru^{II}/Ru^{III} tende a aumentar do complexo com ligante tolfenâmico (1,46 V) até o complexo com ácido flufenâmico (1,55 V), o qual possui três ligantes fluoretos em sua estrutura, sendo então o mais ácido dentre os estudados. O aumento no potencial não é mais pronunciado pois seus átomos de flúor não estão ligados diretamente no anel. A maior acidez do ácido flufenâmico (pKa = 3,97) comparado com os outros ligantes que apresentam (pKa > 4),¹⁰² justifica o comportamento eletroquímico observado.

5.1.4. Espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta e visível (UV-Vis)

Os espectros eletrônicos dos ligantes derivados fenâmicos e dos complexos de rutênio foram obtidos em uma solução de metanol, com o intuito de determinar as transições eletrônicas presentes e suas respectivas absorvidades molares (ϵ) (Figura 8). Os valores de ϵ foram obtidos aplicando a lei de Lambert-Beer, por meio das curvas de calibração obtidas a partir de soluções dos complexos em diferentes concentrações (Figura 8A e APÊNDICE C). Como esperado, os espectros eletrônicos dos complexos são semelhantes entre si tanto no perfil como na quantidade de bandas, bem como nos valores de absorvidade molar. Na Figura 8A é apresentado o espectro de UV-Vis para o complexo [Ru(fe)(dppe)₂]PF₆ em diferentes concentrações. Os espectros para os demais complexos estão apresentados no APÊNDICE C. Com base nos valores de absorvidade molar é possível prever o tipo de transição eletrônica está ocorrendo no complexo em estudo. Valores de ϵ na faixa de 30.000-60.000 Lcm⁻¹mol⁻¹ indicam a presença de transição n \rightarrow π^* , enquanto transições $\pi \rightarrow \pi^*$, revelam valores entre 10.000-20.000 Lcm⁻¹mol⁻¹.¹⁰³ Na análise de espectroscopia de cada complexo nota-se que todos apresentam o mesmo perfil com ligeiros deslocamentos nos comprimentos de absorção máximo (Figura 8B). O mesmo é também dos ligantes livres (Figura 8C). Para efeito de comparações, obteve-se os espectros de absorção na região do UV-Vis do complexo precursor e do ligante dppe (Figura 8D).

Figura 8. Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para o complexo $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, em metanol.



Fonte: O autor (2021)

Figura 9. Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para os complexos em metanol.

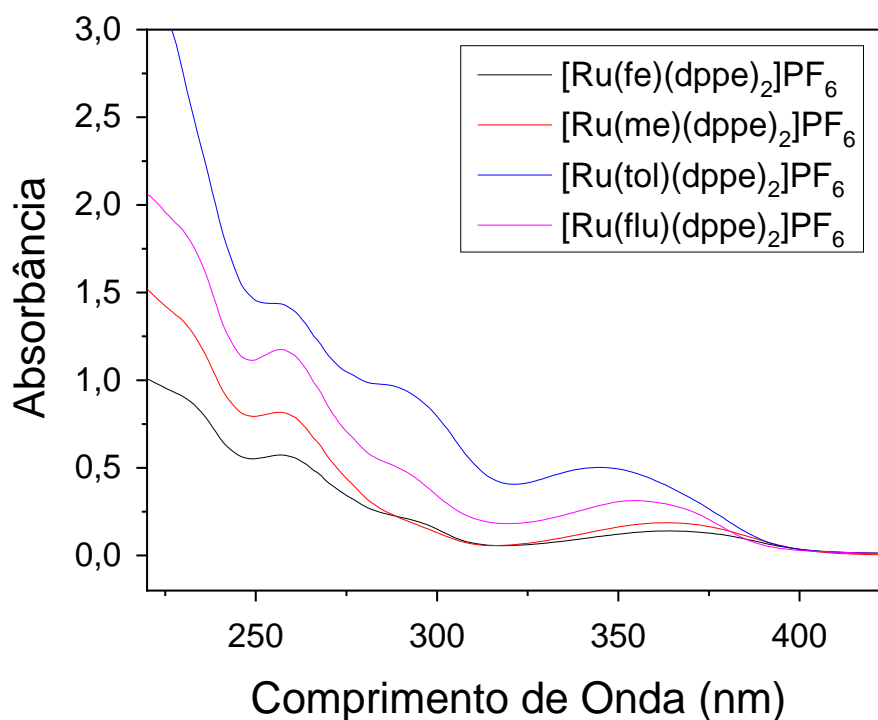
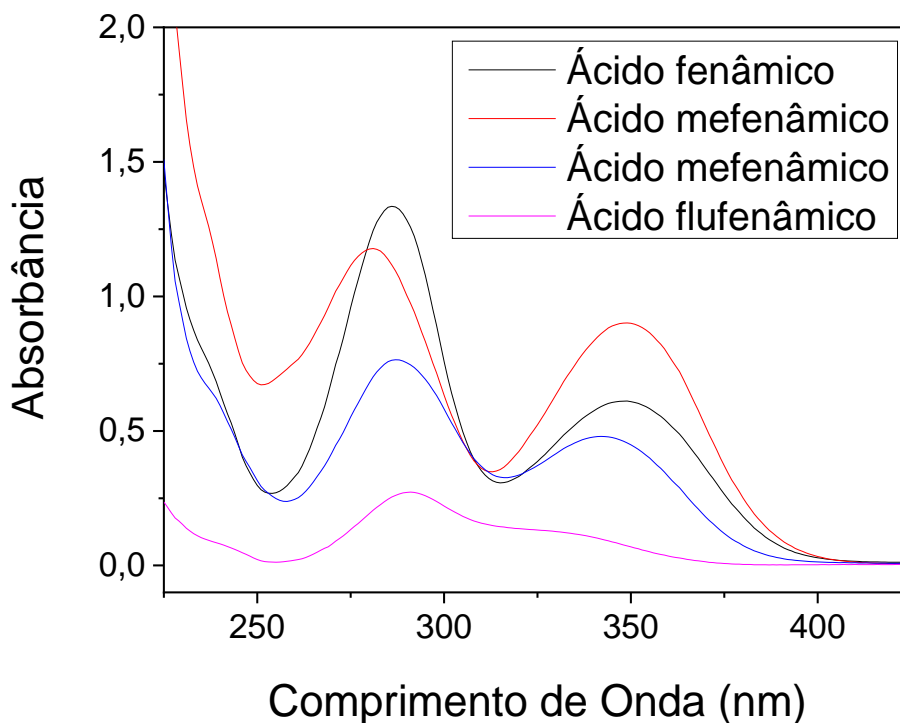
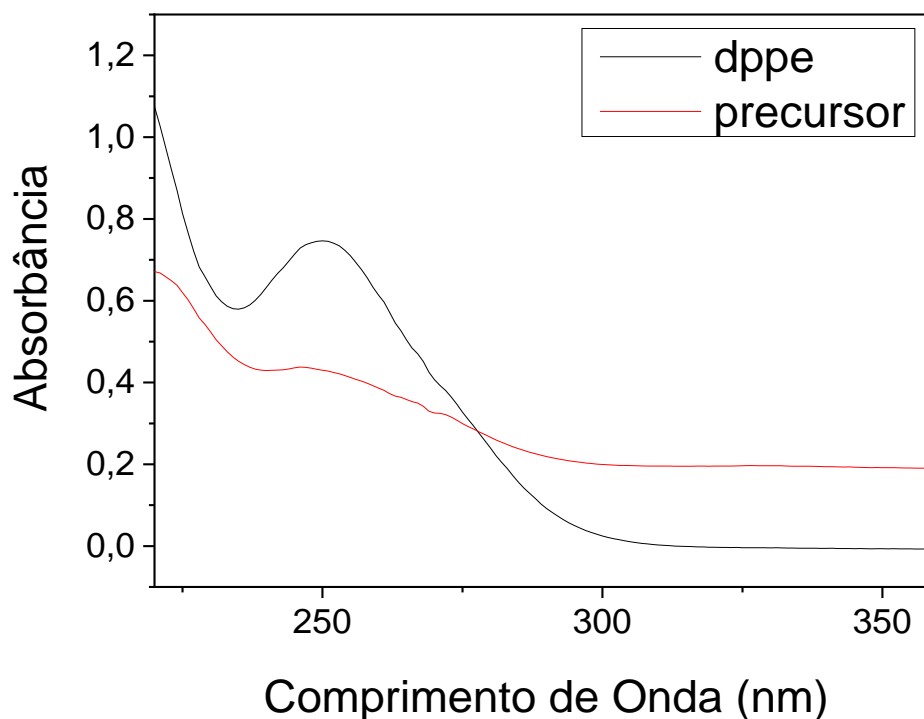


Figura 10. Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para os ácidos fenâmicos em metanol.



Fonte: O autor (2021)

Figura 11. Espectro de absorção eletrônica na região do UV-vis para dppe e precursor em metanol.



Fonte: O autor (2021)

Comparando as bandas obtidas na região do UV para os novos complexos com aquelas bandas observadas para o precursor e os ligantes (Figura 8), nota-se algumas mudanças que são resultado da coordenação. Na tentativa de atribuir as principais bandas, é possível observar que todos os espectros possuem bandas em região inferior a 220 nm, que não foram detalhadas aqui pelo fato de ocorrerem na mesma região de transparência (*cut-off*) do solvente metanol. No espectro do ligante livre encontra-se uma banda em torno de 250 nm atribuída à transição $\pi \rightarrow \pi^*$ dos anéis aromáticos de dppe, enquanto nos espectros dos novos complexos essa banda atribuída à transição intraligante (IL) ocorre em 257-258 nm, com deslocamento batocrômico decorrente da coordenação. Na faixa de 280 a 290 nm tem-se uma banda característica dos ligantes fenâmicos atribuída às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ dos anéis aromáticos que nos produtos também se observa em torno de 290 nm. Em adição, o espectro dos derivados fenâmicos livres apresentam uma banda em torno de 350 nm que pode atribuída à transição $n \rightarrow \pi^*$ em torno da amina secundária. Todos os novos complexos também apresentam uma banda alargada nesta região (354-364 nm) que provavelmente originada pelas misturas de transições $n \rightarrow \pi^*$ e transferência de carga metal-ligante (TCML). A Tabela 5 resume os principais dados obtidos por meio da técnica de absorção na região do UV-Vis para os novos complexos obtidos.

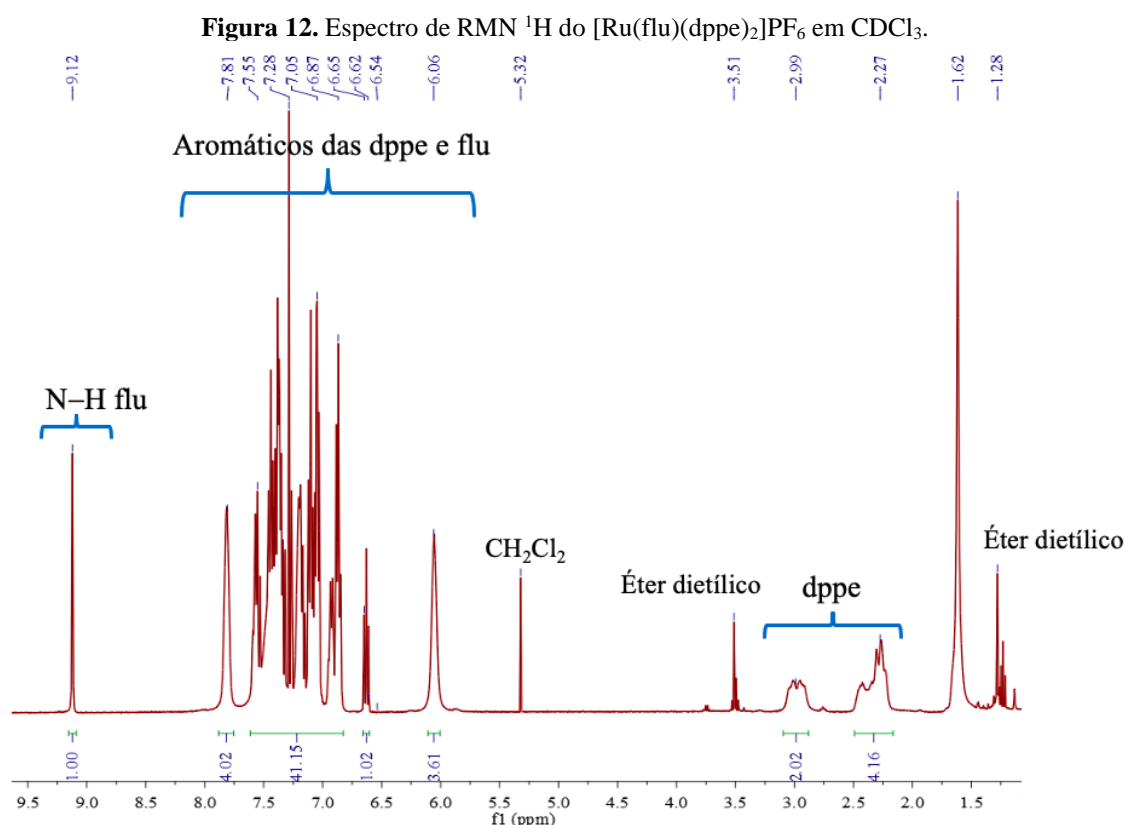
Tabela 5. Dados de absorvidade molar (ϵ) e tentativa de atribuição das bandas

Complexos	λ (nm)	ϵ (L cm ⁻¹ mol ⁻¹)	Transição provável
[Ru(fe)(dppe) ₂]PF ₆	258	30802	**IL ($\pi \rightarrow \pi^*$)
	290	10741	**IL ($\pi \rightarrow \pi^*$)
	364	7400	*TCML
[Ru(me)(dppe) ₂]PF ₆	258	55728	**IL ($\pi \rightarrow \pi^*$)
	290	-	-
	364	13431	*TCML
[Ru(tol)(dppe) ₂]PF ₆	257	45606	**IL ($\pi \rightarrow \pi^*$)
	290	13836	**IL ($\pi \rightarrow \pi^*$)
	359	11436	*TCML
[Ru(flu)(dppe) ₂]PF ₆	257	36424	**IL ($\pi \rightarrow \pi^*$)
	290	17609	**IL ($\pi \rightarrow \pi^*$)
	354	9461	*TCML

*TCML = Transferência de Carga do Metal para o Ligante ** Transição Intraligantes

5.1.5. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$

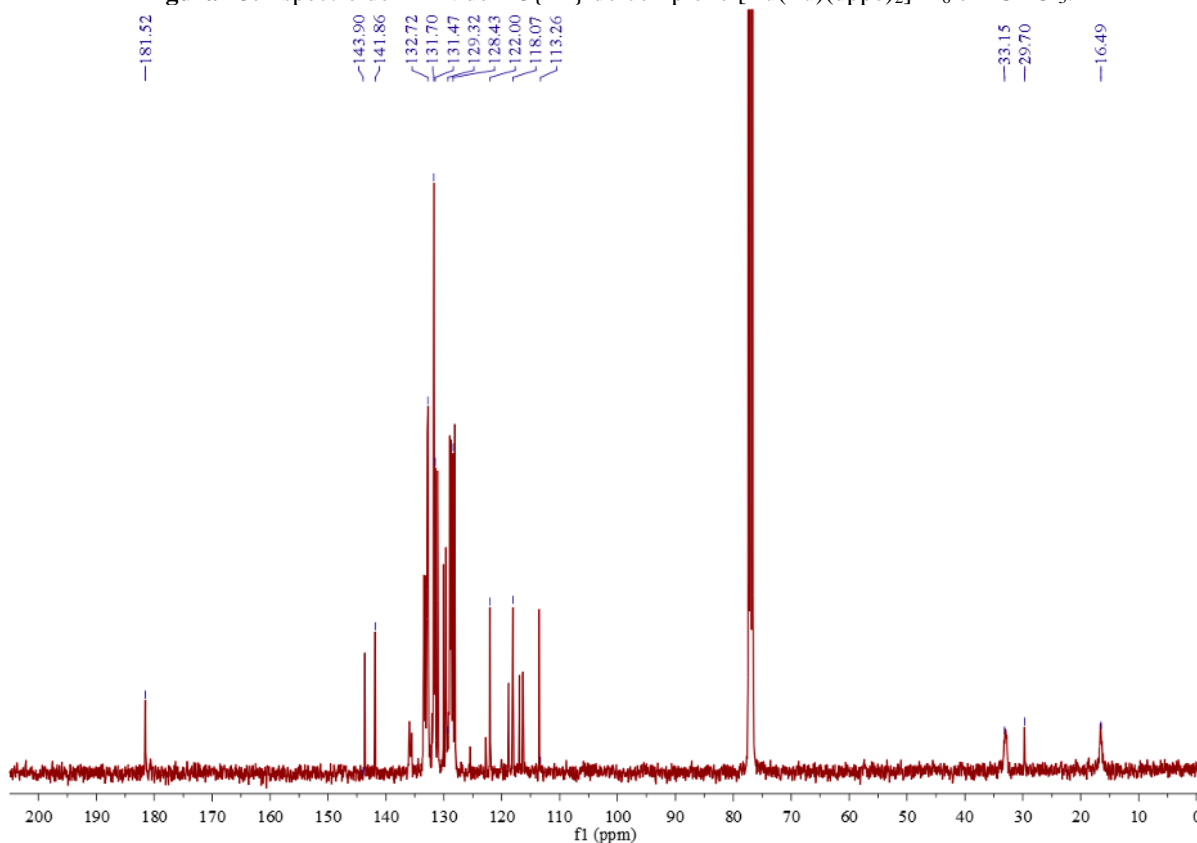
A partir do emprego das técnicas de RMN ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ foi possível confirmar a coordenação dos ligantes fenâmico e derivados devido a presença de sinais característicos. As tentativas de atribuições estão apresentadas na parte experimental e os espectros obtidos estão apresentados no APÊNDICE E, APÊNDICE F e APÊNDICE G. Na Figura 12 observa-se o espectro de RMN ^1H do complexo $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, onde é possível identificar duas regiões distintas, uma que contém os hidrogênios alifáticos das bisfosfinas dppe (3–2 ppm) e outra que contém os hidrogênios aromáticos dos ligantes dppe e flu (8–6 ppm). A atribuição individual de cada hidrogênio e suas respectivas constantes de acoplamento não foi possível tendo em vista a sobreposição dos sinais, todavia as integrais estão de acordo com o número de hidrogênios presente no complexo. Nos ligantes livres, na Figura 12 o ácido flufenâmico, observa-se o sinal referente ao hidrogênio do grupo O-H em 11,5 ppm, enquanto no espectro do complexo $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ não foi observado a presença desse hidrogênio, confirmando a desprotonação do ligante e coordenação ao centro metálico pelo grupo carboxilato. Além disso, vale ressaltar que em 9,12 ppm foi observado o sinal referente ao hidrogênio do grupo N-H do ácido flufenâmico, ou seja, no complexo o nitrogênio encontra-se protonado, e isto é uma boa evidência de que o átomo de nitrogênio não está envolvido na coordenação.



Fonte: O autor (2021)

A coordenação do ácido flufenâmico pelo carboxilato também pode ser comprovada com base no deslocamento químico do carbono do carboxilato no espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$. No ácido flufenâmico livre o deslocamento químico do carbono do grupo carboxilato é observado em torno de 173 ppm, e após a coordenação ao rutênio esse sinal deslocou-se para 181,52 ppm, conforme pode ser observado na Figura 13. Esse deslocamento com relação ao ligante livre se deve a deslocalização eletrônica no íon carboxilato após a sua coordenação ao rutênio, deixando assim o carbono mais desblindado. Do mesmo modo que nos espectros de RMN ^1H , houve uma sobreposição dos sinais dificultando a atribuição individual de cada carbono presente no complexo.

Figura 13. Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3 .

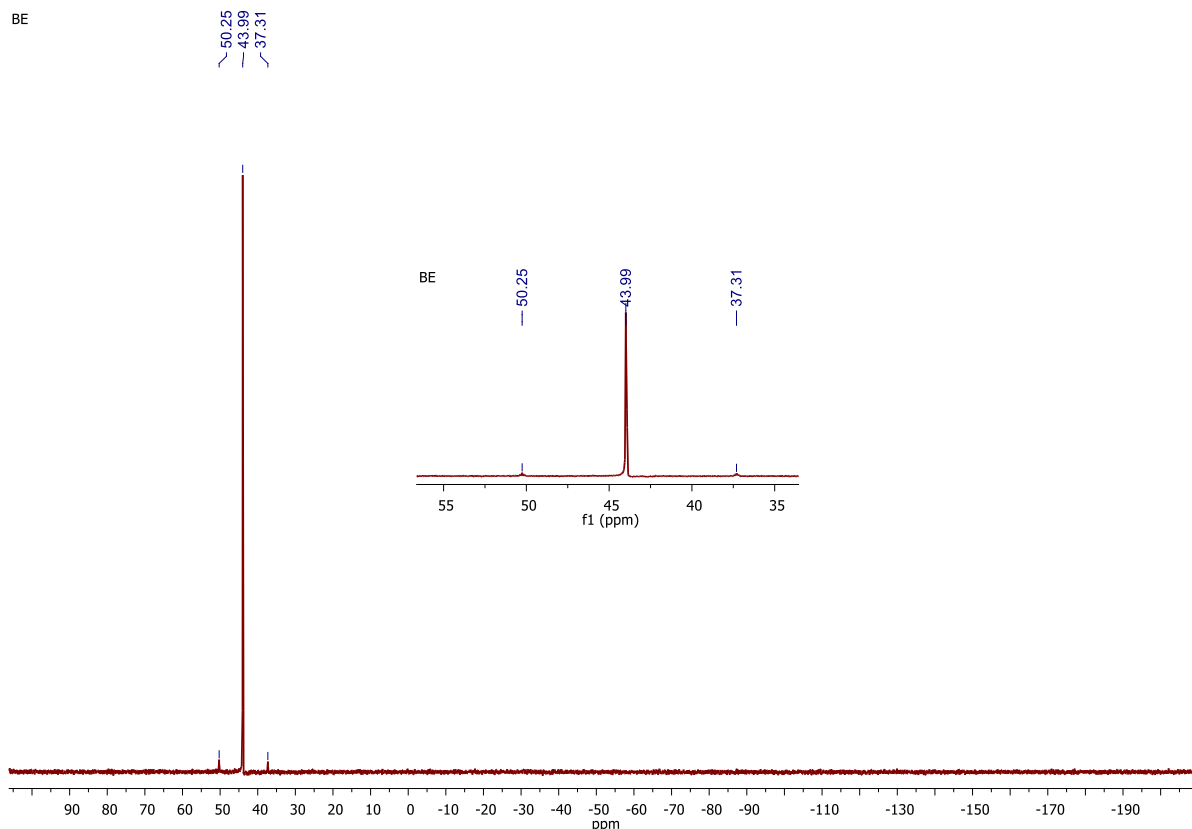


Fonte: O autor (2021)

Utilizou-se a técnica de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ como ferramenta importante para confirmar a síntese dos novos complexos. Inicialmente, obteve-se o espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo precursor *trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppe})_2]$ (Figura 14) que apresenta um singlete em δ 43 ppm o qual é característico de fosfinas *trans* posicionadas. Nesse caso as duas fosfinas dppe encontram-se em posição *trans* uma em relação a outra e, conseqüentemente, os ligantes cloridos encontram-se em posição *trans* entre si. Além do singlete, observa-se também a presença de dois tripletos, em menor intensidade, em δ 50 e 37 ppm ($^3J_{\text{P-P}} = 19,6$ Hz). Esses

tripletos são resultado da formação do isômero *cis*, ou seja, do isômero com os ligantes cloridos *cis* posicionados. Esse resultado indica que o isômero *trans*, em solução, vai se convertendo no isômero *cis*.

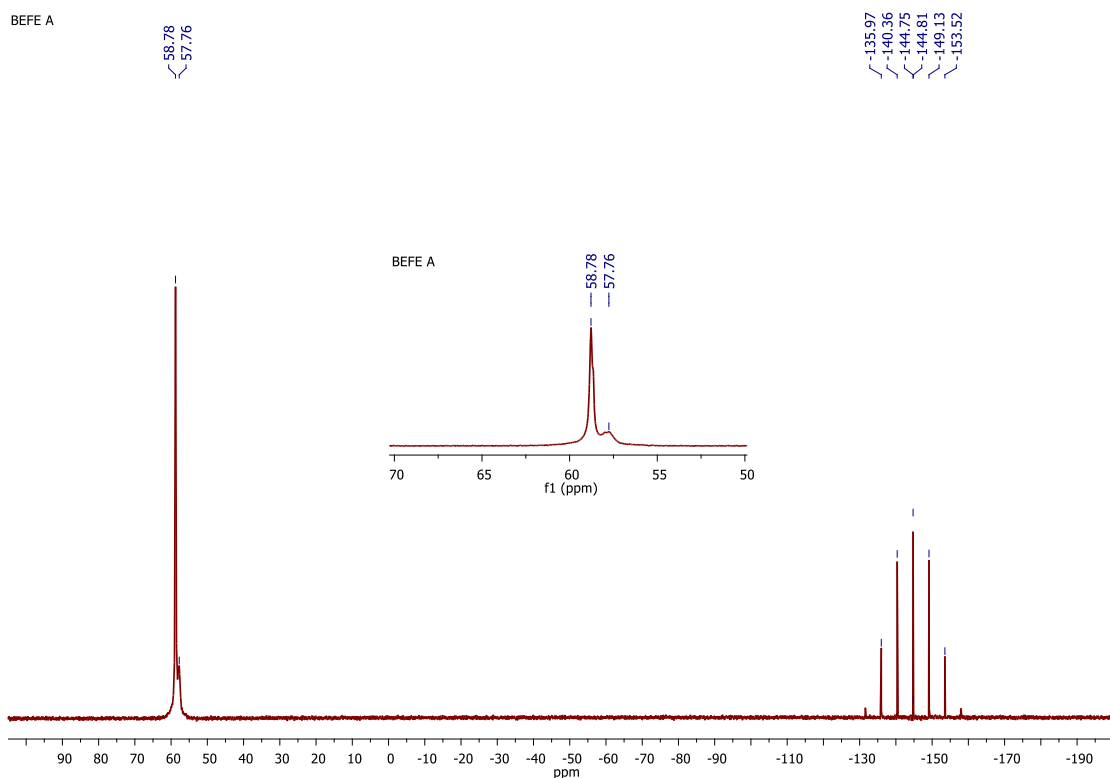
Figura 14. Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do *trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppe})_2]$ em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$.



Fonte: O autor (2021)

Após a realização das sínteses, observou-se que os dados de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ obtidos para os novos complexos são diferentes quando comparados com o deslocamento químico do precursor *trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppe})_2]$, bem como do isômero *cis*, indicando que ocorreu a formação de uma nova espécie. Analisando o espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ (Figura 15) notou-se que a presença de um sinal em torno de δ 57 ppm (ombro) e um singlete alargado em δ 58 ppm, que estão em campo mais baixo (alta frequência) em relação ao precursor. Isso pode ser devido ao efeito retirador de elétrons dos átomos de oxigênio do grupo carboxilato que deixa o rutênio mais deficiente de elétrons, e como consequência, os átomos de fósforo ficam mais desblindados. Por outro lado, quando se tem os ligantes cloridos que são melhores doadores σ e π , o centro metálico fica mais rico em densidade eletrônica e assim mantém os fósforos mais blindados. Os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ tiveram o mesmo comportamento e estão representados no APÊNDICE G.

Figura 15. Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3 .



Fonte: O autor (2021)

A coordenação do carboxilato dos ligantes derivados de ácidos fenâmico de forma bidentada ao rutênio, pela substituição dos dois ligantes cloridos, resultaria em um espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ condizente com a presença de dois conjuntos de tripletos. Porém, o perfil dos sinais obtidos indica que houve uma sobreposição de sinais, um em δ 58,78 ppm e outro em δ 57,76 ppm, que se integram na proporção 3:1. Esta integração está de acordo com a presença de quatro átomos de fósforo, como esperado. Na região de 58 ppm há três fósforos com ambiente químico similar e outro em torno de 57 ppm, mais blindado, com ambiente químico ligeiramente diferente. Para os produtos formados, não há como calcular a constante de acoplamento devido a coalescência dos sinais, ou seja, a sobreposição dos mesmos.

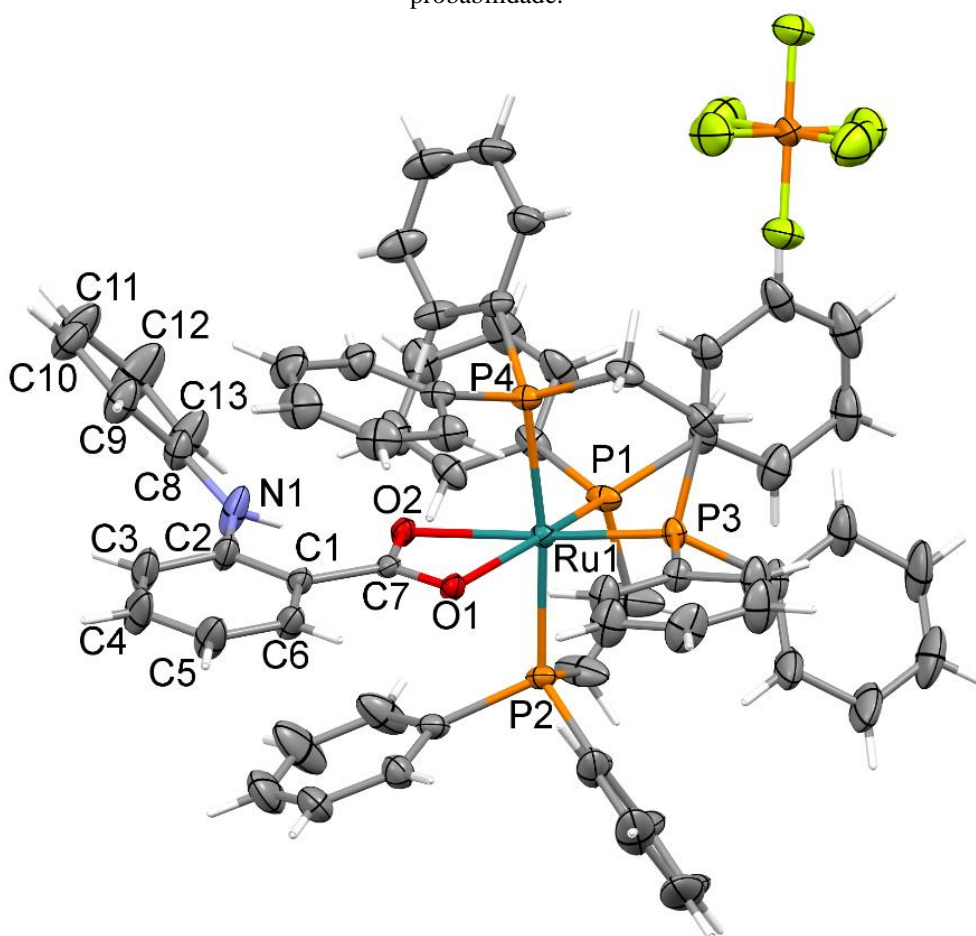
No caso do precursor, quando a molécula apresenta os átomos de clorido em *cis* na molécula ocorra a formação de um sistema de acoplamento de spin com padrão A_2X_2 . Na literatura o complexo $[\text{Ru}(\eta^2\text{-O}_2\text{CCH}_2\text{CH}_3)(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ (onde $\text{O}_2\text{CCH}_2\text{CH}_3$ é propionato) exibe dois tripletos muito próximos em 57,4 e 58,6 ppm, que também sugere um sistema de spin do tipo A_2X_2 .⁹⁶ Nos novos complexos, os ligantes derivados de fenâmicos apresentam uma ligação simples entre o carboxilato e o anel **A** que é capaz de girar. A rotação dessa parte da molécula faz com que um fósforo apresente um comportamento magnético diferente do esperado, apresentando um sinal coalescido. Este comportamento fluxonal que tem sido observado na

literatura.¹⁰⁴ Para tentar a definição destes sinais pretende-se realizar experimentos a baixas temperaturas ou em solventes diferentes. Assim, nos complexos obtidos aqui, considera-se que os dois núcleos quimicamente equivalentes são magneticamente diferentes, dando origem a um sistema de spin AA'BB' que leva a um padrão multipletto geminal mais complexo para as ressonâncias A e B.

5.1.6. Estudos cristalográficos por meio de raios X por monocristal

As estruturas cristalinas dos complexos $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ foram determinadas por meio de difração de raios X por monocristal (Figura 16), confirmando a estrutura dos complexos obtidos. Pelas informações cristalográficas foi possível confirmar os modos de coordenação, geometrias moleculares e conformações. Comprimentos e ângulos de ligação estão representados na Tabela 6.

Figura 16. Estrutura cristalina dos complexos $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ com as elipsoides representados a 30% de probabilidade.



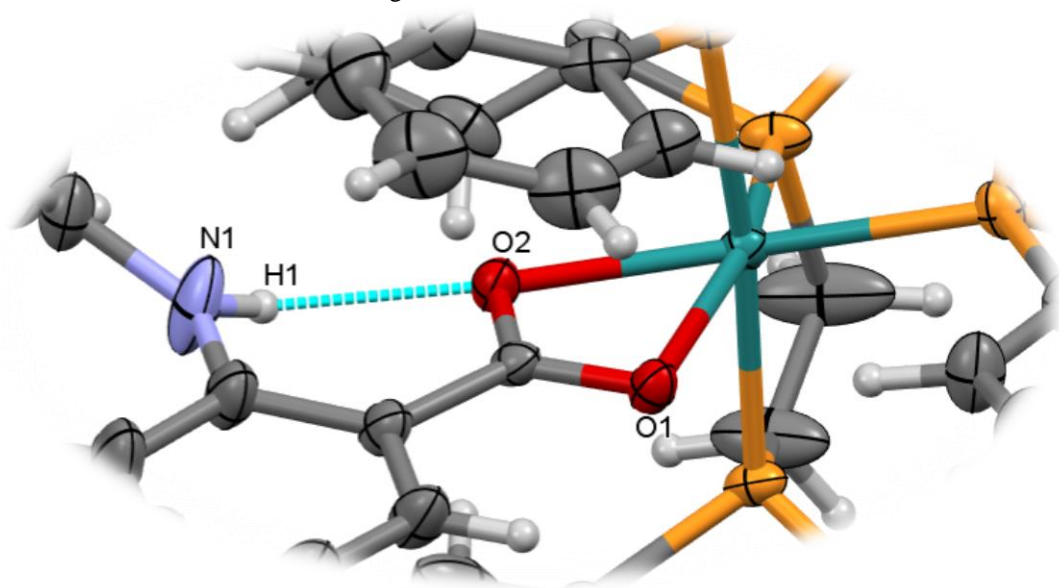
Fonte: O autor (2021)

Tabela 6. Comprimentos de ligação (Å), ângulos de ligação (°) e ângulos de torções (°) em torno da esfera de coordenação do rutênio nos complexos [Ru(fe)(dppe)₂]PF₆, [Ru(me)(dppe)₂]PF₆, [Ru(tol)(dppe)₂]PF₆ e [Ru(flu)(dppe)₂]PF₆

Fragmento	[Ru(fe)(dppe)₂] PF₆	[Ru(me)(dppe)₂] PF₆	[Ru(tol)(dppe)₂] PF₆	[Ru(flu)(dppe)₂] PF₆
Ru-O1	2,171 ± 3	2,195 ± 7	2,171 ± 8	2,176 ± 5
Ru-O2	2,178 ± 3	2,179 ± 7	2,180 ± 6	2,202 ± 5
Ru-P1	2,301 ± 12	2,304 ± 3	2,301 ± 3	2,305 ± 2
Ru-P2	2,366 ± 12	2,386 ± 3	2,386 ± 3	2,383 ± 2
Ru-P3	2,296 ± 12	2,313 ± 3	2,303 ± 3	2,312 ± 2
Ru-P4	2,360 ± 12	2,390 ± 3	2,381 ± 3	2,384 ± 2
O1-Ru-O2	59,88 ± 11	59,82 ± 17	59,75 ± 15	59,31 ± 9
P1-Ru-P2	83,24 ± 4	84,06 ± 10	84,08 ± 11	83,52 ± 8
P3-Ru-P4	84,15 ± 5	83,70 ± 10	83,63 ± 11	83,19 ± 8
O1-C7-C1-C6	-2,21	6,75	-3,49	-6,14

Os complexos apresentam uma geometria octaédrica distorcida tal como evidenciado pelos ângulos de ligação. Como se pode observar, em todas as estruturas o ligante derivado fenâmico está coordenado como bidentado pelos átomos de oxigênio do carboxilato, formando um anel de quatro membros que se encontra tensionado com um ângulo de mordida em torno de 59°. Este aspecto, com o ângulo bem menor que 90° evidencia a distorção do octaedro regular. Em adição, e menos tensionado as ligações P1-Ru-P2 e P3-Ru-P4, há formação de anéis quelatos de cinco membros pela coordenação bidentada do ligante dppe (~83°). Analisando os comprimentos de ligações que ocorrem nos complexos [Ru(fe)(dppe)₂]PF₆, [Ru(me)(dppe)₂]PF₆, [Ru(tol)(dppe)₂]PF₆ e [Ru(flu)(dppe)₂]PF₆, principalmente, em torno da esfera de coordenação, nota-se que a mesma tendência é observada. Em todos os complexos o comprimento de ligação Ru-O1 é ligeiramente menor que Ru-O2, exceto o composto [Ru(me)(dppe)₂]PF₆, que possui o comprimento de Ru-O2 menor que o Ru-O1. Sugere-se que o fato de haver uma ligação de hidrogênio intramolecular N1-H1...O2 (Figura 17), em que envolve o átomo O2 como aceptor de hidrogênio, enfraquece ligeiramente a ligação entre O2 e rutênio, de modo que o valor Ru-O2 encontrado seja maior. O fato do composto [Ru(me)(dppe)₂]PF₆ ter o comprimento de ligação invertido dos demais, pode ser devido ao efeito indutivo doador presente nos átomos de carbono do ligante mfenâmico dos carbonos C14 e C15 da Figura H 2 no APÊNDICE H. Pelo ângulo de torção envolvendo os átomos O1-C7-C1-C6, nota-se que o anel quelato e o anel A se encontra quase no mesmo plano.

Figura 17. Representação genérica da ligação de hidrogênio intramolecular envolvendo os átomos N1-H1...O2 do ligante derivado fenâmico.



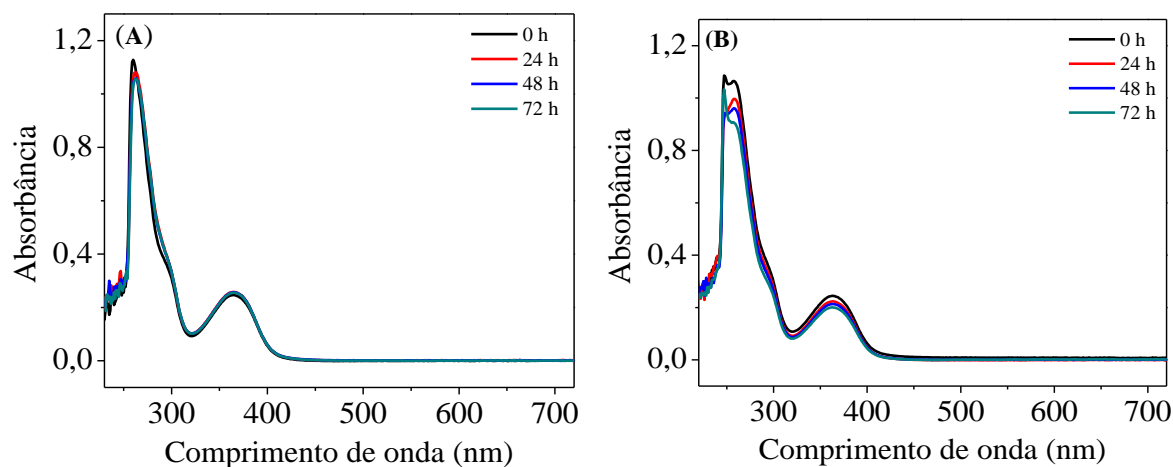
Fonte: O autor (2021)

Outra tendência que pode ser discutida é que o comprimento de ambos Ru-P2/Ru-P4 são maiores que Ru-P1/Ru-P3. Neste caso, como o átomo de P2 está *trans* a P4 (vice-versa), a maior influência *trans* de quando se tem P *trans* a P, em relação a P *trans* a O, faz com que o comprimento de ligação Ru-P seja maior.

5.1.7. Estudo de Estabilidade dos complexos por UV-vis

Antes de iniciar os estudos de interação dos complexos de rutênio obtidos com as biomoléculas DNA e BSA, bem como os estudos de citotoxicidade, realizou-se um estudo de estabilidade dos complexos nos solventes utilizados para a realização desses ensaios. O solvente mais comum empregados nesses ensaios é o DMSO, e este é um solvente que apresenta a capacidade de se coordenar a metais tanto pelo enxofre quanto pelo oxigênio. Nesse sentido, obteve-se os espectros de absorção na região do UV-Vis dos complexos em DMSO e também em uma mistura de DMSO e tampão Tris-HCl (pH 7.4) 50:50 (v/v) por um período de 0 a 72 h. Na Figura 18 observa-se os espectros obtidos para o complexo $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ e como não foi observado nenhuma alteração e nem surgimento de novas bandas, pode-se afirmar que o complexo é estável tanto em DMSO como na mistura DMSO/ Tampão Tris-HCl. O mesmo comportamento foi observado para os demais complexos.

Figura 18. Espectros de absorção na região do UV-vis do complexo $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em (A) DMSO e (B) DMSO/Tampão Tris-HCl 50:50 (v/v).



Fonte: O autor (2021)

5.2. Avaliação da interação dos complexos com o DNA

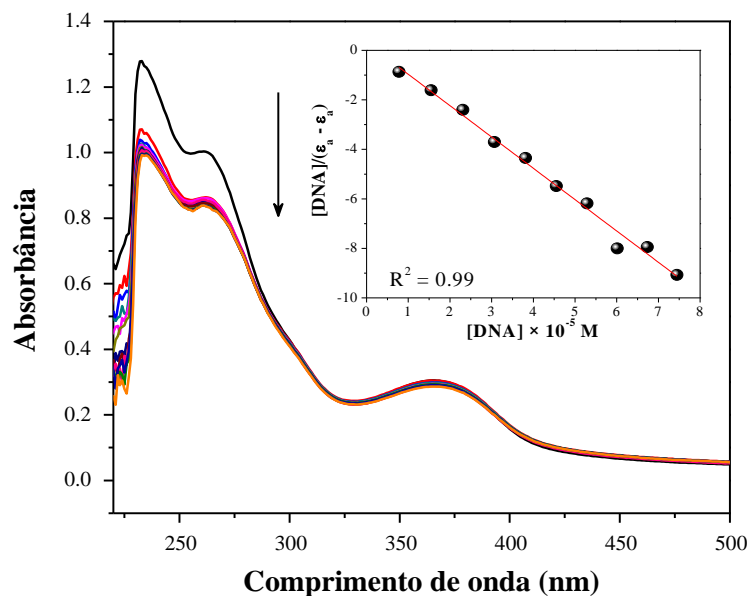
É sabido que um dos mecanismos de ação da cisplatina envolve a sua ligação aos pares de bases nitrogenadas do DNA, o que impede a sua replicação e leva conseqüentemente a morte celular.¹⁰⁵ Nesse sentido, o estudo da interação entre compostos que apresentam propriedades antitumorais e o DNA se tornou bastante comum. As interações entre os complexos metálicos e o DNA podem ser classificadas em covalentes e não covalentes.

5.2.1. Titulações espectroscópicas

A titulação espectroscópica por UV-vis é uma técnica simples e bastante empregada quando se deseja avaliar a interação de determinados compostos com o DNA. Para isso, realiza-se o monitoramento de bandas de absorção específicas do composto na presença de diferentes concentrações de DNA. A partir do tratamento dos dados é possível obter a constante de ligação (K_b), que indica a afinidade entre o composto e o DNA.

Nesse sentido, os complexos sintetizados durante o desenvolvimento deste trabalho foram avaliados quanto a interação com o CT-DNA empregando as titulações espectroscópicas. Na Figura 19 observa-se o espectro de absorção na região do UV-vis para o complexo $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ após sucessivas adições de alíquotas de CT-DNA. Verifica-se que à medida que aumenta a concentração de CT-DNA na solução ocorre uma diminuição na intensidade das bandas de absorção do complexo, indicando um hipocromismo. Isso é resultado das variações de energia envolvidas na transição eletrônica por causa das interações entre o complexo e o DNA. Vale ressaltar que todos os complexos apresentaram o mesmo comportamento.

Figura 19. Espectros de absorção na região UV-vis do complexo $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ na presença de diferentes concentrações do CT-DNA. Gráfico inserido: $[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ versus $[\text{DNA}]$.



Fonte: O autor (2021)

Os valores para as constantes K_b foram determinados a partir da razão entre o coeficiente angular e linear das retas obtidas pelos gráficos de $[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$ versus $[\text{DNA}]$ e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 7, juntamente com a porcentagem de hipocromismo. Os complexos apresentaram valores de K_b com magnitudes de $10^4 - 10^5 \text{ M}^{-1}$, os quais indicam interação moderada com o DNA por um modo não intercalativo, quando comparado com outros complexos de rutênio reportados na literatura.^{106, 107}

Tabela 7. Constantes de ligação (K_b) entre os complexos e o CT-DNA determinadas por meio de titulações espectroscópicas por UV-vis

Complexo	K_b (L mol^{-1})	λ (nm)	%H 10 μL	%H 50 μL	%H 100 μL
$[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	$(5,45 \pm 0,22) \times 10^4$	262	5,43	15,29	6,52
$[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	$(4,23 \pm 0,01) \times 10^5$	262	13,85	15,24	16,46
$[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	$(4,85 \pm 0,22) \times 10^5$	262	5,30	13,78	17,97
$[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	$(3,60 \pm 0,52) \times 10^4$	262	9,17	19,63	16,93

5.2.2. Medidas de Viscosidade

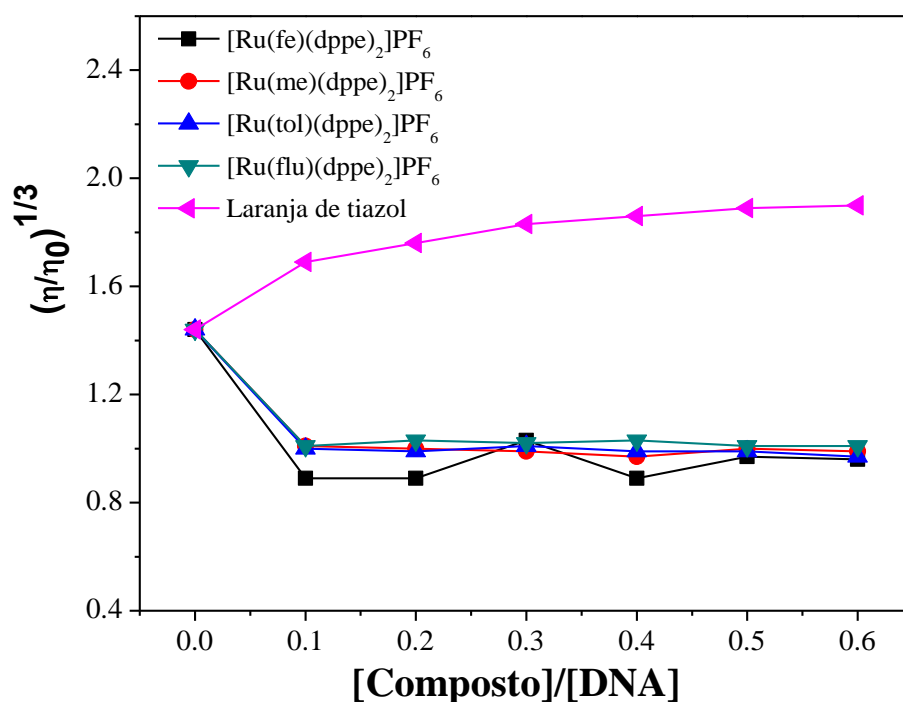
Ensaio por meio de medidas de viscosidade são de baixo custo e muito úteis na investigação da interação entre compostos e o DNA. Compostos que interagem covalentemente com o DNA, como por exemplo a cisplatina, causam uma diminuição na viscosidade da solução de DNA, tendo em vista que ocorre a distorção da dupla hélice, reduzindo o comprimento do DNA. No caso de interações por intercalação, ocorre o alongamento, enrijecimento e

desenrolamento da dupla hélice do DNA, causando o aumento da viscosidade. Interações com o DNA via sulcos ou eletrostáticas não causam mudanças significativas na estrutura do DNA e dessa forma não alteram a viscosidade da solução.¹⁰⁸

Nesse sentido, com o intuito de obter mais informações a respeito do tipo de interação envolvida entre os complexos de rutênio e o CT-DNA, o ensaio de viscosidade foi realizado. Para isso, preparou-se diferentes soluções de CT-DNA (concentração fixa de 50 μM) contendo diferentes concentrações dos complexos, e a viscosidade de cada solução foi avaliada empregando um viscosímetro de Ostwald.

Na Figura 20 é apresentado o gráfico de $(\eta/\eta_0)^{1/3}$ versus $[\text{composto}]/[\text{DNA}]$, onde η e η_0 equivale as viscosidades específicas da solução do CT-DNA na presença e ausência dos compostos, respectivamente, das soluções de CT-DNA na presença dos complexos de rutênio e do laranja de tiazol, um clássico intercalador que foi utilizado para efeitos de comparação.¹⁰⁹ Os valores de viscosidade do CT-DNA na presença do laranja de tiazol aumentou significativamente com o aumento da concentração, o que de fato é esperado no caso de interações por intercalação. Já na presença dos complexos, a viscosidade do CT-DNA não sofreu variações significativas com o aumento da relação $[\text{complexo}]/[\text{DNA}]$, o indica que o complexo não é um intercalador como o laranja de tiazol e nem interage covalentemente com o DNA, o que iria modificar consideravelmente sua viscosidade.

Figura 20. Efeito dos complexos de rutênio e do laranja de tiazol na viscosidade relativa do CT-DNA



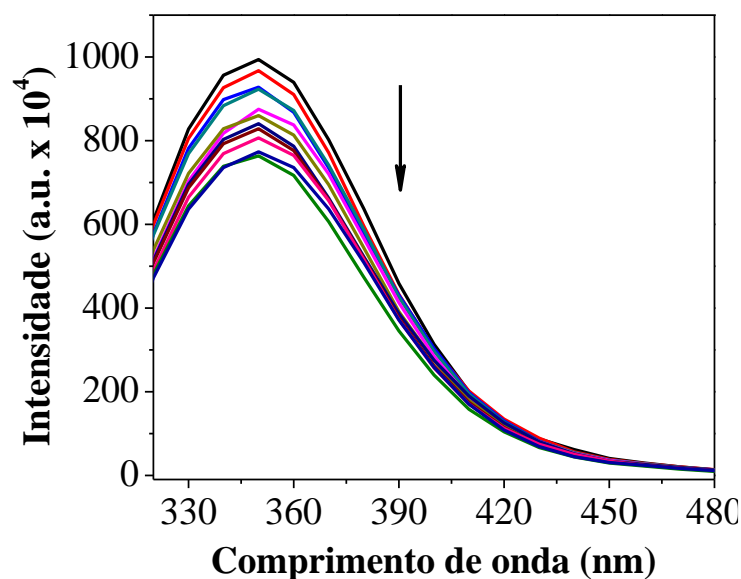
Fonte: O autor (2021)

5.3. Avaliação da interação dos complexos com a BSA

A Albumina de Soro Humano (HSA) é uma das principais proteínas presentes no plasma sanguíneo e é responsável por realizar o transporte de várias substâncias pelo organismo, incluindo fármacos. Nesse sentido, quando se trata do desenvolvimento de compostos que poderão atuar como possíveis candidatos a metalofármacos é interessante investigar a capacidade dos mesmos interagir com essa proteína.¹¹⁰ Para a realização desses ensaios é muito comum a utilização da Albumina de Soro Bovino (BSA) pois essa proteína apresenta uma estrutura muito similar à estrutura da HSA, além da maior disponibilidade e baixo custo.¹¹¹

A espectroscopia de fluorescência é bastante utilizada com essa finalidade, tendo em vista que a BSA apresenta elevada fluorescência quando excitada em 280 nm, devido principalmente a presença de resíduos de triptofano em sua estrutura.¹¹² Assim, os espectros de emissão de fluorescência da BSA (2,5 μM) na ausência e presença de diferentes concentrações dos complexos de rutênio (0 – 12,5 μM) foram registrados após excitação em 280 nm, com emissão em 340 nm. Conforme observado na Figura 21, à medida que ocorreu o aumento da concentração do complexo $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ houve uma diminuição significativa na intensidade da fluorescência da BSA, indicando que o complexo está interagindo com a proteína.

Figura 21. Espectro de emissão da BSA (2,5 μM , $\lambda_{\text{exc}} = 280 \text{ nm}$) em diferentes concentrações do complexo $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ (0 – 12,5 μM), a 37°C.



Fonte: O autor (2021)

A interação dos complexos com a BSA pode ocorrer por meio de dois tipos principais de mecanismos: dinâmico ou estático. Para fazer a identificação de qual mecanismo está ocorrendo o experimento foi realizado em duas temperaturas diferentes, 25 e 37 °C. O mecanismo dinâmico resulta da colisão entre a BSA e o supressor (complexos de rutênio, nesse caso) no estado excitado e assim, esse mecanismo é favorecido em temperaturas mais elevadas, pois têm-se o aumento do coeficiente de difusão. Logo, a constante de supressão para um mecanismo dinâmico aumenta com o aumento da temperatura. Por outro lado, no caso do mecanismo estático ocorre a formação de uma nova espécie entre a BSA e o supressor, no estado fundamental, e o aumento da temperatura faz com que a constante de supressão seja menor.¹¹¹

A constante de supressão foi determinada a partir do tratamento dos dados obtidos empregando a Equação (2) de Stern-Volmer:¹¹³

$$F_0/F = 1 + K_{sv}[Q] = 1 + k_q \tau_0[Q] \quad (2)$$

Onde F_0 equivale à intensidade de fluorescência na ausência do supressor; F é a intensidade de fluorescência na presença do supressor; $[Q]$ é a concentração do supressor e K_{sv} é a constante de Stern-Volmer, k_q é a constante de velocidade de supressão biomolecular, τ_0 é o tempo médio de vida de fluorescência da BSA sem o supressor. A constante K_{sv} foi obtida por meio de um gráfico de F_0/F versus $[Q]$ e a constante k_q foi obtida pela razão entre K_{sv} e τ_0 ($\sim 10^{-8}$ s).

Na Tabela 8 são apresentados os valores obtidos para a constante K_{sv} , e como se pode observar, à medida que ocorreu o aumento da temperatura a constante também aumentou, o que indica a ocorrência de mecanismo dinâmico. Por outro lado, ao analisar os valores da constante de velocidade de supressão biomolecular, k_q , observa-se que os valores são todos de ordem $10^{13} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Esses valores são maiores do que o máximo possível para um mecanismo dinâmico ($k_q = 2.0 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$), indicando assim que há também o envolvimento de mecanismo estático. Assim, pode-se concluir que a supressão da fluorescência causada pela interação dos complexos de rutênio com a BSA ocorre tanto pelo mecanismo dinâmico como pelo estático.

Tabela 8. Valores obtidos para as constantes K_{sv} , k_q , K_b e n a 298 e 310 K

Complexos	T(K)	$K_{sv} (\text{M}^{-1})$	$k_q (\text{M}^{-1} \text{s}^{-1})$	$K_b (\text{M}^{-1})$	n
[Ru(fe)(dppe) ₂]PF ₆	298	$(5,24 \pm 0,16) \times 10^4$	$5,24 \times 10^{13}$	$(1,44 \pm 0,10) \times 10^4$	0,89
	310	$(5,35 \pm 0,31) \times 10^4$	$5,35 \times 10^{13}$	$(1,17 \pm 0,16) \times 10^4$	0,86
[Ru(me)(dppe) ₂]PF ₆	298	$(2,53 \pm 0,10) \times 10^4$	$2,53 \times 10^{13}$	$(3,68 \pm 0,53) \times 10^5$	1,23

	310	$(2,90 \pm 0,09) \times 10^4$	$2,90 \times 10^{13}$	$(8,57 \pm 0,27) \times 10^6$	1,51
[Ru(tol)(dppe) ₂]PF ₆	298	$(3,77 \pm 0,52) \times 10^4$	$3,77 \times 10^{13}$	$(1,10 \pm 0,08) \times 10^4$	0,90
	310	$(4,01 \pm 0,70) \times 10^4$	$4,01 \times 10^{13}$	$(1,66 \pm 0,12) \times 10^4$	0,93
[Ru(flu)(dppe) ₂]PF ₆	298	$(3,53 \pm 0,47) \times 10^4$	$3,53 \times 10^{13}$	$(1,20 \pm 0,09) \times 10^4$	0,88
	310	$(3,64 \pm 0,91) \times 10^4$	$3,64 \times 10^{13}$	$(2,99 \pm 0,71) \times 10^5$	1,18

A constante de ligação (K_b) entre os complexos e a BSA e o número de sítios de ligação (n) foram determinados empregando a seguinte Equação (3): ¹¹³

$$\log[(F_0 - F)/F] = \log K_b + n \log [Q] \quad (3)$$

A constante K_b foi obtida a partir do coeficiente linear da reta obtida por meio do gráfico de $\log(F_0 - F)/F$ versus $\log[Q]$ e n foi calculado a partir do coeficiente angular desta mesma equação da reta. Os valores de K_b , apresentados na Tabela 8, são da ordem de $10^4 - 10^6 \text{ M}^{-1}$. Esses valores de K_b mostram que a força de interação dos complexos com a BSA varia de moderada a forte. Dentre os complexos, o [Ru(me)(dppe)₂]PF₆ é o que interage mais fortemente com a BSA, pois apresenta K_b de ordem $10^5 - 10^6 \text{ M}^{-1}$. Comportamento similar foi observado para outros complexos de rutênio contendo duas bisfosfinas dppe, lapachol, lausona e 2-mercaptopirimidina como ligantes ^{114 e 115}. Com exceção do complexo [Ru(fe)(dppe)₂]PF₆, os valores de K_b para os demais complexos aumentaram com o aumento da temperatura, indicando a maior estabilidade do complexo formado com a BSA à medida que a temperatura aumenta. O número de sítios de ligação (n) para os complexos é aproximadamente 1, indicando que os complexos interagem com a proteína por um sítio de ligação. A interação dos complexos com a BSA por ocorrer por meio de vários tipos de interações tais como ligações de hidrogênio, forças de van der Waals, interações hidrofóbicas ou eletrostáticas. Para melhor compreender qual tipo de interação está envolvida no sistema avaliado, determinou-se os parâmetros termodinâmicos como a variação da energia livre de Gibbs (ΔG°), variação de entalpia (ΔH°) e entropia (ΔS°), a partir das equações (4 e 5): ¹¹⁶

$$\ln(K_{b1}/K_{b2}) = (1/T_1 - 1/T_2) \times \Delta H/R \quad (4)$$

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_b = \Delta H^\circ - T \Delta S^\circ \quad (5)$$

onde K_{b1} e K_{b2} são as constantes de ligação em T_1 (298 K) e T_2 (310 K) e R é a constante ideal dos gases.

Os valores de ΔG° , ΔH° e ΔS° obtidos são apresentados na Tabela 9 e a partir da análise dos seus sinais é possível definir o tipo de interação envolvida entre os complexos e a BSA. Sabe-se que sinais positivos para ΔH° e ΔS° indicam o envolvimento de interações

hidrofóbicas, sinais negativos para ΔH° e ΔS° , corresponde a força de van der Waals e ligações de hidrogênio e sinal negativo para ΔH° e positivo para ΔS° , sugere o envolvimento de interações eletrostáticas. Com base nisso, o complexo $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ e a BSA interagem via interações eletrostáticas, e no caso dos demais complexos, ocorre predominantemente o envolvimento de interações hidrofóbicas. Além disso, como os valores de ΔG° são negativos, o processo de ligação é espontâneo.

Tabela 9. Variação da energia de Gibbs (ΔG°), entalpia (ΔH°) e entropia (ΔS°)

Complexos	ΔG° (kJ mol ⁻¹)	ΔH° (kJ mol ⁻¹)	ΔS° (J mol ⁻¹)
$[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	-23,72	-13,29	35,01
	-24,14		33,66
$[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	-31,75	201,49	782,70
	-41,15		752,40
$[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	-23,06	26,34	165,76
	-25,05		159,34
$[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$	-23,27	205,82	768,76
	-32,50		739,00

5.4. Investigação da atividade citotóxica dos complexos

A atividade citotóxica dos complexos de rutênio sintetizados durante o desenvolvimento deste trabalho foi investigada frente as linhagens tumorais de mama (MDA-MB-231) e pulmão (A549) e não tumoral de pulmão (MRC-5), por meio do ensaio de MTT. As células estudadas foram tratadas com os complexos em diferentes concentrações durante o período de 48 h. A cisplatina foi empregada como controle positivo. Os valores de IC_{50} (concentração de composto que inibe 50% do crescimento celular) foi determinado e os resultados estão apresentados na Tabela 10. Destaca-se que os ligantes livres fe, me, flu e tol foram estudados isoladamente e não apresentaram atividade citotóxica na maior concentração empregada (100 μM). Nesse sentido, verifica-se que a coordenação dos ligantes fe, me, flu e tol ao rutênio aumentou consideravelmente a atividade citotóxica dos mesmos, o que pode ser devido ao efeito sinérgico da combinação metal-ligante.

Tabela 10. Valores de IC_{50} (μM) para os complexos de rutênio e cisplatina nas linhagens MDA-MB-231, A549 e MRC-5

Complexos	MRC-5	A549	MDA-MB-231	*IS ¹	#IS ²
-----------	-------	------	------------	------------------	------------------

<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppe) ₂]	2,83 ± 0,06	0,40 ± 0,060	0,77 ± 0,40	7,08	3,68
[Ru(fe)(dppe) ₂]PF ₆	8,40 ± 1,65	2,90 ± 0,11	1,93 ± 0,24	2,90	4,35
[Ru(me)(dppe) ₂]PF ₆	7,68 ± 1,65	2,40 ± 0,27	3,67 ± 0,77	3,20	2,09
[Ru(tol)(dppe) ₂]PF ₆	11,79 ± 2,51	17,71 ± 1,35	6,29 ± 0,28	0,67	1,87
[Ru(flu)(dppe) ₂]PF ₆	1,98 ± 0,55	1,72 ± 0,09	0,94 ± 0,20	1,15	2,11
fe, me, flu e tol	> 100	> 100	> 100	--	--
Cisplatina	29,1 ± 0,8	11,54 ± 1,19	2,43 ± 0,20	2,52	11,98

*IS¹ = IC₅₀ MRC-5/IC₅₀A549 e #IS² = IC₅₀ MRC-5/IC₅₀MDA-MB-231.

Analisando os valores de IC₅₀ dos complexos de rutênio, verifica-se que todos demonstraram ser citotóxicos frente as linhagens celulares investigadas. Com exceção do complexo [Ru(tol)(dppe)₂]PF₆, todos os demais complexos, incluindo o precursor *cis*-[RuCl₂(dppe)₂]¹¹⁸, demonstraram ser mais citotóxicos frente a linhagem tumoral de pulmão, A549, do que a cisplatina, fármaco usado como referência. Além disso, os complexos [Ru(fe)(dppe)₂]PF₆ e [Ru(flu)(dppe)₂]PF₆ são 1,25 e 2,58 vezes, respectivamente, mais citotóxicos do que a cisplatina frente a linhagem tumoral de mama, MDA-MB-231. Vale destacar ainda o complexo [Ru(me)(dppe)₂]PF₆ que apresentou um índice de seletividade de 3,20 frente a linhagem A549, ou seja, esse complexo é 3,20 vezes mais ativo frente a linhagem tumoral A549 do que a na linhagem não tumoral MRC-5 e o precursor *cis*-[RuCl₂(dppe)₂] apresentou um índice de 7,08. No caso da linhagem MDA-MB-231, o complexo mais seletivo foi o [Ru(fe)(dppe)₂]PF₆, com um índice de seletividade de 4,35. Desta forma, pretende-se selecionar os complexos [Ru(fe)(dppe)₂]PF₆ e [Ru(me)(dppe)₂]PF₆ para a realização de estudos mais detalhados, a fim de investigar o mecanismo de morte celular, além de avaliar a possibilidade de realização de estudos *in vivo*.

6. CONCLUSÕES

Foram sintetizados e caracterizados quatro novos complexos de rutênio (II) de fórmula geral: $[\text{Ru}(\text{O-O})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, onde $\text{dppe} = 1,2'$ -bis(difenilfosfina)etano e O-O representa os derivados fenâmicos: ácidos fenâmico (fe), mefenâmico (me), tolfenâmico (tol) e flufenâmico (flu). Os complexos foram caracterizados por técnicas analíticas que confirmaram a coordenação dos ligantes derivados de ácidos fenâmico ao rutênio (II) de forma bidentada pelo carboxilato. Os compostos mostraram-se estáveis no estado sólido e em solução de DMSO e tampão Trizma®. Os compostos interagem moderadamente com o DNA, tal como evidenciado por meio de estudos por titulações espectroscópicas e viscosidade. A interação dos complexos com albumina de soro bovino (BSA) mostrou que o composto $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ apresentou prováveis interações eletrostáticas, enquanto os demais compostos provavelmente apresentam interações hidrofóbicas com BSA. Por fim, todos os compostos estudados apresentaram bons valores de IC_{50} , se comparado o metalofármaco cisplatina. Pelo índice de seletividade (IS), os compostos $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ apresentaram os melhores resultados em células A549. Para a célula de MDA-MB-231, o índice de seletividade que apresentou melhor IS foi o $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$. Neste sentido, o complexo $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ se destaca como um candidato mais estudos biológicos mais avançados. Pode-se notar que os complexos contendo ligantes halogenados (flu e tol) mostraram-se menos promissores em termos de IS. Desta forma, fazendo-se uma relação entre a estrutura e atividade, conclui-se que a presença de substituintes halogenados não são relevantes para o aumento da atividade biológica dos complexos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BERALDO, H.. Contribuições da Química Inorgânica para a Química Medicinal. **Química Nova na Escola** (Impresso), v. 6, p. 4-6, 2005.
2. BERALDO, H.; FONTES, A. P. S. ; CESAR, E. T. . A Química Inorgânica na Terapia do Câncer. **Química Nova na Escola** (Impresso), v. 6, p. 13, 2005.
3. FARRELL, N.. Biomedical uses and applications of inorganic chemistry. An overview. **Coordination Chemistry Reviews**, [S.l.], v. 232, n. 1-2, p. 1-4, out. 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0010-8545\(02\)00100-5](http://dx.doi.org/10.1016/s0010-8545(02)00100-5).
4. MEIER-MENCHES, S. M. *et al.* Structure–activity relationships for ruthenium and osmium anticancer agents – towards clinical development. **Chemical Society Reviews**, [S.l.], v. 47, n. 3, p. 909-928, 2018. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c7cs00332c>.
5. ROSENBERG, B. *et al.* Platinum Compounds: a new class of potent antitumour agents. **Nature**, [S.l.], v. 222, n. 5191, p. 385-386, abr. 1969. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/222385a0>.
6. KELLAND, L.. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. **Nature Reviews Cancer**, [S.l.], v. 7, n. 8, p. 573-584, 12 jul. 2007. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrc2167>.
7. SILVA, R. G. da; SILVA, W. E. da; BELIAN, M. F.. Antineoplastic Chemotherapics Platinum-Based Under the Light of Evolutionary Biology. **Revista Virtual de Química**, [S.l.], v. 10, n. 5, p. 1140-1167, 2018. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20180081>.
8. AMIM, R.S. *et al.* Síntese e Caracterização de Complexos de Platina(II) com Potencial Atividade Antitumoral. In: XLVI CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 46., 2006, Salvador. **Anais [...]**. Salvador: 2006.
9. CARVALHO, M. S.. **Síntese, determinação estrutural citotóxica in vitro de novos compostos de coordenação de platina contendo como ligantes compostos imidazolidínicos derivados da 2-tioxo-imidazolidin-4-ona e da Imidazolidina-2,4-diona**. 2009. 125 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.
10. MAROSTICA, L. L.. **Avaliação in vitro e in vivo do efeito antitumoral de tratamentos combinados de um derivado da cucurbitacina b com fármacos antineoplásicos frente a tumor de pulmão**. 2016. 180 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biotecnologia e Biociências, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.
11. CLARKE, M. J. *et al.* Reduction and Subsequent Binding of Ruthenium Ions Catalyzed by Subcellular Components. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.l.], v. 12, n. 1, p. 79-87, jan. 1980. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0162-0134\(00\)80045-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0162-0134(00)80045-8).

12. OLIVEIRA, L. A. de. **A Química na medicina: quimioterapia no tratamento do câncer.** Campinas: [20--]. 6 p. Programa Institucional de Bolsa de Iniciação à Docência – PIBID/UNICAMP.
13. MONNERET, C.. Platinum anticancer drugs. From serendipity to rational design. **Annales Pharmaceutiques Françaises**, [S.l.], v. 69, n. 6, p. 286-295, nov. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharma.2011.10.001>.
14. GRAHAM, J.; MUHSIN, M.; KIRKPATRICK, P.. Oxaliplatin. **Nature Reviews Drug Discovery**, [S.l.], v. 3, n. 1, p. 11-12, jan. 2004. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nrd1287>.
15. TORRES, M. F.. **A química medicinal no contexto do ensino superior: Proposta de investigação da atividade biológica de compostos de coordenação na perspectiva interdisciplinária.** 2015. 54 f. Monografia (Especialização) - Curso de Educação Química, Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015.
16. ROCHA, D. P. *et al.* Coordenação de metais a antibióticos como uma estratégia de combate à resistência bacteriana. **Química Nova**, [S.l.], v. 34, n. 1, p. 111-118, 2011. FapUNIFESP (SCIELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422011000100022>.
17. TEIXEIRA, G. F.. **Complexos mono e dinucleares de platina(II) com ligantes aminados N-alkilados de cadeia longa: síntese, caracterização e incorporação em lipossomas.** 2011. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química Inorgânica, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2011.
18. ESTEVES, L. F.. **Investigação teórica do mecanismo de ação de compostos binucleares de platina(II).** 2012. 107 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Físico-química, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2012.
19. FONTES, A. P. S.; ALMEIDA, S. G. de; NADER, L. A.. Compostos de platina em quimioterapia do câncer. **Química Nova**, [S.l.], v. 20, n. 4, p. 398-406, ago. 1997. FapUNIFESP (SCIELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40421997000400010>.
20. NIKOLAOU, S.; SILVA, C.. Considerações sobre Textos que Tratam do Desenvolvimento de Metalofármacos de Rutênio. **Química Nova**, [S.l.], v. 41, n. 7, p. 833-838, 10 abr. 2018. Sociedade Brasileira de Química (SBQ). <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170228>.
21. FRASCA, D. *et al.* Effects of Hypoxia and Transferrin on Toxicity and DNA Binding of Ruthenium Antitumor Agents in Hela Cells. **Metal-based Drugs**, [S.l.], v. 3, n. 4, p. 197-209, 1996. Hindawi Limited. <http://dx.doi.org/10.1155/mbd.1996.197>.
22. SANTIAGO, M. O.. **Síntese, Caracterização e Estudos Cinéticos da Isomerização de Compostos de Ru(II) Contendo Ligantes (X-bipy).** 2004. 147 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química Inorgânica, Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2004.
23. LEIJEN, S. *et al.* Phase I/II study with ruthenium compound NAMI-A and gemcitabine in patients with non-small cell lung cancer after first line therapy. **Investigational New Drugs**, [S.l.], v. 33, n. 1, p. 201-214, 25 out. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10637-014-0179-1>.

24. ALESSIO, Enzo. 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**, [S.l.], v. 2017, n. 12, p. 1549-1560, 28 set. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/ejic.201600986>.
25. ALESSIO, Enzo; MESSORI, Luigi. NAMI-A and KP1019/1339, Two Iconic Ruthenium Anticancer Drug Candidates Face-to-Face: a case story in medicinal inorganic chemistry. **Molecules**, [S.l.], v. 24, n. 10, p. 1995, 24 maio 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24101995>.
26. JAKUPEC, M. A. *et al.* Antitumour metal compounds: more than theme and variations. **Dalton Trans.**, [S.l.], n. 2, p. 183-194, 2008. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/b712656p>.
27. ALLARDYCE, C. S. *et al.* [Ru(η^6 -p-cymene)Cl₂(pta)] (pta = 1,3,5-triaza-7-phosphatricyclo[3.3.1.1]decane): a water soluble compound that exhibits pH dependent dna binding providing selectivity for diseased cells. **Chemical Communications**, [S.l.], n. 15, p. 1396-1397, 2001. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/b104021a>.
28. NOWAK-SLIWINSKA, P. *et al.* Organometallic Ruthenium(II) Arene Compounds with Antiangiogenic Activity. **Journal Of Medicinal Chemistry**, [S.l.], v. 54, n. 11, p. 3895-3902, 9 jun. 2011. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jm2002074>.
29. SCOLARO, C. *et al.* In Vitro and in Vivo Evaluation of Ruthenium(II)-Arene PTA Complexes. **Journal Of Medicinal Chemistry**, [S.l.], v. 48, n. 12, p. 4161-4171, jun. 2005. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jm050015d>.
30. BERGAMO, A. *et al.* In vivo tumour and metastasis reduction and in vitro effects on invasion assays of the ruthenium RM175 and osmium AFAP51 organometallics in the mammary cancer model. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.l.], v. 104, n. 1, p. 79-86, jan. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2009.10.005>.
31. KLAJNER, M. *et al.* DNA Binding to an Anticancer Organo-Ruthenium Complex. **The Journal Of Physical Chemistry B**, [S.l.], v. 114, n. 44, p. 14041-14047, 11 nov. 2010. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/jp1044783>.
32. DEBRECZENI, J. É. *et al.* Ruthenium Half-Sandwich Complexes Bound to Protein Kinase Pim-1. **Angewandte Chemie International Edition**, [S.l.], v. 45, n. 10, p. 1580-1585, 27 fev. 2006. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/anie.200503468>.
33. SMITHEN, D. A. *et al.* Synthesis and Photobiological Activity of Ru(II) Dyads Derived from Pyrrole-2-carboxylate Thionoesters. **Inorganic Chemistry**, [S.l.], v. 56, n. 7, p. 4121-4132, 16 mar. 2017. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/acs.inorgchem.7b00072>.
34. TRONDL, R. *et al.* NKP-1339, the first ruthenium-based anticancer drug on the edge to clinical application. **Chem. Sci.**, [S.l.], v. 5, n. 8, p. 2925-2932, 4 abr. 2014. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c3sc53243g>.

35. SCHOENHACKER-ALTE, B. *et al.* Sensitivity towards the GRP78 inhibitor KP1339/IT-139 is characterized by apoptosis induction via caspase 8 upon disruption of ER homeostasis. **Cancer Letters**, [S.l.], v. 404, p. 79-88, set. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2017.07.009>.
36. ALESSIO, E.; MESSORI, L.. NAMI-A and KP1019/1339, Two Iconic Ruthenium Anticancer Drug Candidates Face-to-Face: a case story in medicinal inorganic chemistry. **Molecules**, [S.l.], v. 24, n. 10, p. 1995, 24 maio 2019. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24101995>.
37. BURRIS, H. *et al.* Safety and activity of IT-139, a ruthenium-based compound, in patients with advanced solid tumours: a first-in-human, open-label, dose-escalation phase I study with expansion cohort. **Esmo Open**, [S.l.], v. 1, n. 6, p. 154, fev. 2017. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/esmooopen-2016-000154>.
38. TARUSHI, A. *et al.* Manganese coordination compounds of mefenamic acid: in vitro screening and in silico prediction of biological activity. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.l.], v. 190, p. 1-14, jan. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.09.017>.
39. KUMMER, C. L.; COELHO, T. C. R. B.. Anti-inflamatórios não esteroides inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2): aspectos atuais. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, [S.l.], v. 52, n. 4, p. 498-512, jul. 2002. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1590/s0034-70942002000400014>.
40. KUMAR, P. *et al.* Modulation of ruthenium anticancer drugs analogs with tolfenamic acid: reactivity, biological interactions and growth inhibition of yeast cell. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.l.], v. 199, p. 110769, out. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110769>.
41. SMOLKOVÁ, R. *et al.* Synthesis, characterization, DNA binding, topoisomerase I inhibition and antimicrobial activity of four novel zinc(II) fenamates. **Polyhedron**, [S.l.], v. 141, p. 230-238, fev. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.poly.2017.11.052>.
42. JIANG, H.; MA, J.; ZHANG, W.. Di- μ -chlorido-bis[(2-anilinobenzoato- κ 2O,O')(1,10-phenanthroline- κ 2N,N')copper(II)]. **Acta Crystallographica Section e Structure Reports Online**, [S.l.], v. 63, n. 6, p. 1681-1681, 23 maio 2007. International Union of Crystallography (IUCr). <http://dx.doi.org/10.1107/s1600536807024725>.
43. JIN, S.; WANG, D.. Construction of six non-covalent-bonded supramolecules from reactions of cadmium(II), and zinc(II) with 3,5-dimethylpyrazole and carboxylate ligands. **Inorganica Chimica Acta**, [S.l.], v. 415, p. 31-43, maio 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ica.2014.02.027>.
44. TAN, Y. *et al.* Synthesis, crystal structures, and properties of three metal complexes with N-phenylanthranilic acid. **Journal Of Molecular Structure**, [S.l.], v. 1086, p. 49-55, abr. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2015.01.005>.
45. KUNG, Y. *et al.* Synthesis, Crystal Structure of Mixed-ligand Complexes [Ni(NPA)2(Phen)(Ac)(H2O)]·H2O. **Chinese Journal Of Inorganic Chemistry**, [S.l.], v. 23, p. 1777-1780, out. 2007.

46. TAŞ, M. *et al.* Synthesis and characterization of Tetrakis- μ -[N-phenylanthranilato](O,O')-bis[(4-vinylpyridine copper(II)) complex. **Zeitschrift Für Kristallographie - Crystalline Materials**, [S.l.], v. 228, n. 2, p. 92-99, fev. 2013. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1524/zkri.2013.1583>.
47. TAŞ, M. *et al.* The Tetra- μ -[N-phenylanthranilato](O,O')-bis[(2-amino-4-methyl)pyridine Copper(II)] Complex Crystal. **Synthesis And Reactivity In Inorganic, Metal-organic, And Nano-metal Chemistry**, [S.l.], v. 43, n. 9, p. 1212-1223, 21 out. 2013. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/15533174.2012.757237>.
48. TRZECIAK, A. M. *et al.* Structure of di- μ -N-Phenylanthranilato-di-1, 5-cyclooctadiene dirhodium(I). **Polyhedron**, [S.l.], v. 4, n. 10, p. 1677-1681, jan. 1985. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0277-5387\(00\)84158-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0277-5387(00)84158-3).
49. LIU, Y. *et al.* Poly[[tetrakis(μ -2-anilinobenzoato- κ 2O: o $\cdot\cdot$)tetra- μ 1,1,1-azido-tetra- μ 1,1-azido-octamethanolhexanickel(ii)] methanol hexasolvate]. **Acta Crystallographica Section e Structure Reports Online**, [S.l.], v. 67, n. 3, p. 307-308, 5 fev. 2011. International Union of Crystallography (IUCr). <http://dx.doi.org/10.1107/s1600536811003473>.
50. ZENG, C. *et al.* Lanthanide CPs: the guest-tunable drastic changes of luminescent quantum yields, and two photon luminescence. **J. Mater. Chem. C**, [S.l.], v. 2, n. 12, p. 2235-2242, 2014. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c3tc32309a>.
51. BATOOL, S. S. *et al.* Synthesis and Structural Characterization of a Monomeric Mixed Ligand Copper(II) Complex Involving N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine and Mefenamate. **Journal Of Structural Chemistry**, [S.l.], v. 60, n. 7, p. 1156-1165, jul. 2019. Pleiades Publishing Ltd. <http://dx.doi.org/10.1134/s0022476619070187>.
52. TOTTA, X. *et al.* Synthesis, structure and biological activity of nickel(II) complexes with mefenamato and nitrogen-donor ligands. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.l.], v. 145, p. 79-93, abr. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.01.009>.
53. SMOLKOVÁ, R. *et al.* Three variants of novel Co(II) complex with NSAID mefenamic acid and N,N'-donor ligand neocuproine. **Zeitschrift Für Kristallographie - Crystalline Materials**, [s.l.], v. 231, n. 12, p. 715-724, 1 jan. 2016. Walter de Gruyter GmbH. <http://dx.doi.org/10.1515/zkri-2016-1991>.
54. LAKSHMAN, T. R.; DEB, J.; PAINE, T. K.. Anti-inflammatory activity and enhanced COX-2 selectivity of nitric oxide-donating zinc(ii)-NSAID complexes. **Dalton Transactions**, [S.l.], v. 45, n. 36, p. 14053-14057, 2016. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c6dt00838k>.
55. TARUSHI, A. *et al.* Antioxidant capacity and DNA-interaction studies of zinc complexes with a non-steroidal anti-inflammatory drug, mefenamic acid. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.l.], v. 128, p. 85-96, nov. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.07.013>.
56. DILEK, E. *et al.* Synthesis, crystal structure, spectroscopy, thermal properties and carbonic anhydrase activities of new metal(II) complexes with mefenamic acid and

- picoline derivatives. **Journal Of Coordination Chemistry**, [S.l.], v. 70, n. 16, p. 2833-2852, 18 ago. 2017. Informa UK Limited.
<http://dx.doi.org/10.1080/00958972.2017.1366996>.
57. FENG, J. *et al.* Manganese-mefenamic acid complexes exhibit high lipoxygenase inhibitory activity. **Dalton Trans.**, [S.l.], v. 43, n. 28, p. 10930-10939, 2014. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c4dt01111b>.
58. ALTAY, A. *et al.* Novel silver(I) complexes bearing mefenamic acid and pyridine derivatives: synthesis, chemical characterization and in vitro anticancer evaluation. **Inorganica Chimica Acta**, [S.l.], v. 493, p. 61-71, jul. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ica.2019.05.008>.
59. BERA, S. *et al.* Design and Synthesis of Zn II -Coordination Polymers Anchored with NSAIDs: metallovesicle formation and multi :drug delivery. **Chemistry – An Asian Journal**, [S.l.], v. 15, n. 4, p. 503-510, 22 jan. 2020. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/asia.201901664>.
60. TARUSHI, A. *et al.* Copper(II) complexes with the non-steroidal anti-inflammatory drug tolfenamic acid: structure and biological features. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.l.], v. 149, p. 68-79, ago. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.02.019>.
61. PAUL, M.; DASTIDAR, P.. Coordination Polymers Derived from Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs for Cell Imaging and Drug Delivery. **Chemistry - A European Journal**, [S.l.], v. 22, n. 3, p. 988-998, 11 dez. 2015. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/chem.201503706>.
62. TARUSHI, A. *et al.* Manganese(II) complexes of tolfenamic acid or naproxen in polymeric structures or encapsulated in [15-MC-5] manganese(III) metallacrowns: structure and biological activity. **Inorganica Chimica Acta**, [S.l.], v. 483, p. 579-592, nov. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ica.2018.09.001>.
63. TARUSHI, A. *et al.* Structural features of mono- and tri-nuclear Zn(ii) complexes with a non-steroidal anti-inflammatory drug as ligand. **Dalton Transactions**, [S.l.], v. 41, n. 23, p. 7082, 2012. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c2dt30547j>.
64. TOLIA, C. *et al.* Copper(II) interacting with the non-steroidal antiinflammatory drug flufenamic acid: structure, antioxidant activity and binding to dna and albumins. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.l.], v. 123, p. 53-65, jun. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.02.009>.
65. TSILIOU, S. *et al.* Cobalt(II) complexes with non-steroidal anti-inflammatory drugs and α -diimines. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.l.], v. 160, p. 125-139, jul. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.12.015>.
66. TARUSHI, A. *et al.* Zinc complexes of flufenamic acid: characterization and biological evaluation. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.l.], v. 163, p. 332-345, out. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2016.04.023>.
67. SIMUNKOVA, M. *et al.* Redox-cycling and intercalating properties of novel mixed copper(II) complexes with non-steroidal anti-inflammatory drugs tolfenamic, mefenamic

- and flufenamic acids and phenanthroline functionality: structure, sod-mimetic activity, interaction with albumin, dna damage study and anticancer activity. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.l.], v. 194, p. 97-113, maio 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.02.010>.
68. MELNI'K, M. *et al.* Spectral study of copper(II) flufenamates: crystal and molecular structure of biis(flufenamato)di(n,n-diethylnicotinamide)di(aqua)copper(ii). **Polyhedron**, [S.l.], v. 15, n. 13, p. 2159-2164, jul. 1996. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0277-5387\(95\)00486-6](http://dx.doi.org/10.1016/0277-5387(95)00486-6).
69. SMOLKOVÁ, R. *et al.* Novel Zn(II) complexes with non-steroidal anti-inflammatory ligand, flufenamic acid: characterization, topoisomerase i inhibition activity, dna and hsa binding studies. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.l.], v. 177, p. 143-158, dez. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2017.09.005>.
70. DIMIZA, F. *et al.* Manganese(II) coordination compounds of carboxylate non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.l.], v. 203, p. 110906, fev. 2020. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.110906>.
71. BURY, A. *et al.* Metal complexes of anti-inflammatory drugs. Part V. Meclofenamic acid complexes of manganese(II), iron(III), cobalt(II), nickel(II), copper(II) and zinc(II). **Inorganica Chimica Acta**, [S.l.], v. 152, n. 3, p. 171-175, jul. 1988. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0020-1693\(00\)84947-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0020-1693(00)84947-6).
72. OLIVEIRA, K. M. de. **Complexos de Rutênio Contendo Lapachol e Lausona: Síntese, Caracterização e suas Propriedades Quimioterapêuticas**. 2014. 144 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química Inorgânica, Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2014.
73. PEREIRA, F. C. *et al.* Cis-[RuCl(BzCN)(N-N)(P-P)]PF₆ complexes: synthesis and in vitro antitumor activity: (BzCN = benzonitrile; N-N = 2,2'-bipyridine; 1,10-phenanthroline; P-P = 1,4-bis(diphenylphosphino) butane, 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane, or 1,1'-(diphenylphosphino)ferrocene). **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.l.], v. 149, p. 91-101, ago. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.03.011>.
74. VAIRA, M. D. *et al.* Reaction of [CpRu(CH₃CN)₃]PF₆ with bidentate ligands: structural characterization of [{CpRu(CH₃CN)₂}]₂(μ-η^{1:1}-dppe)(PF₆)₂[dppe=1,2-bis(diphenylphosphino)ethane]. **Journal Of Organometallic Chemistry**, [S.l.], v. 689, n. 10, p. 1757-1762, maio 2004. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jorganchem.2004.02.035>.
75. VON POELHSITZ, G. *et al.* Synthesis and characterization of nitrosyl complexes containing 4,6-dimethyl-pyrimidine-2-thiolato ('SpymMe₂') as ligand: [Ru('SpymMe₂',-N,-S) ('SpymMe₂',-S)(NO)(P-P)](PF₆) (P-P = 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane or 1,2-bis(diphenylphosphino)ethylene: X-ray structure of [Ru('SpymMe₂',-N,-S) ('SpymMe₂',-S)(NO)(dppe)](PF₆). **Inorganic Chemistry Communications**, [S.l.], v. 8, n. 9, p. 805-808, set. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.inoche.2005.06.003>.
76. WYMAN, I. W. *et al.* Synthesis, structure and electrochemistry of (ferrocene-2-propenoato-O,O')bis[1,2-bis(diphenylphosphino)ethane-P,P']ruthenium(II)hexafluoro-

- phosphate. **Inorganica Chimica Acta**, [S.l.], v. 359, n. 9, p. 3092-3096, jun. 2006. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ica.2005.10.048>.
77. ORPEN, A. G.; CONNELLY, N. G.. Structural systematics: the role of P-A σ^* orbitals in metal-phosphorus π -bonding in redox-related pairs of M-PA₃ complexes (A = R, Ar, OR; R = alkyl). **Organometallics**, [S.l.], v. 9, n. 4, p. 1206-1210, abr. 1990. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/om00118a048>.
78. FEY, N.; ORPEN, A. G.; HARVEY, J. N.. Building ligand knowledge bases for organometallic chemistry: computational description of phosphorus(III)-donor ligands and the metal-phosphorus bond. **Coordination Chemistry Reviews**, [S.l.], v. 253, n. 5-6, p. 704-722, mar. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2008.04.017>.
79. GILHEANY, D. G.. No d Orbitals but Walsh Diagrams and Maybe Banana Bonds: chemical bonding in phosphines, phosphine oxides, and phosphonium ylides. **Chemical Reviews**, [S.l.], v. 94, n. 5, p. 1339-1374, jul. 1994. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/cr00029a008>.
80. MARYNICK, D. S.. π -Accepting abilities of phosphines in transition-metal complexes. **Journal Of The American Chemical Society**, [S.l.], v. 106, n. 14, p. 4064-4065, jul. 1984. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ja00326a048>.
81. SCHWARZENBACH, G.. Der Chelateffekt. **Helvetica Chimica Acta**, [S.l.], v. 35, n. 7, p. 2344-2359, 1 dez. 1952. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/hlca.19520350721>.
82. PEREIRA, L. R.. **Influência da fosfina na estrutura e na citotoxicidade de complexos de rutênio (II) com a 2-mercaptopirimidina**. 2016. 117 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química Inorgânica, Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2016.
83. AL-NOAIMI, M. *et al.* Synthesis, structure, spectroscopic properties, electrochemistry, and DFT correlative studies of trans-[Ru(P-P)₂Cl₂] complexes. **Polyhedron**, [S.l.], v. 62, p. 110-119, out. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.poly.2013.06.024>.
84. BECK, D.; KLÜFFERS, P.. HN₂O₂ – as a Ligand in Mononuclear Hydrogenhyponitrite-K²-N,O Ruthenium Complexes with Bisphosphane Co-Ligands. **Chemistry - A European Journal**, [S.l.], v. 24, n. 60, p. 16019-16028, 18 out. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/chem.201803770>.
85. LITKE, S. V. *et al.* Photophysics of mixed ligand complexes of ruthenium(II) with 2,2'-bipyridyl and phosphines. **Optics And Spectroscopy**, [S.l.], v. 89, n. 6, p. 847-853, dez. 2000. Pleiades Publishing Ltd. <http://dx.doi.org/10.1134/1.1335032>.
86. LITKE, S. V. *et al.* Photophysics of the adsorbed bipyridyl complexes of ruthenium(II) with phosphines. **Optics And Spectroscopy**, [S.l.], v. 92, n. 2, p. 167-171, fev. 2002. Pleiades Publishing Ltd. <http://dx.doi.org/10.1134/1.1454022>.
87. SORDAKIS, K.; BELLER, M.; LAURENCZY, G.. Chemical Equilibria in Formic Acid/Amine-CO₂Cycles under Isochoric Conditions using a Ruthenium(II) 1,2-Bis(diphenylphosphino)ethane Catalyst. **Chemcatchem**, [S.l.], v. 6, n. 1, p. 96-99, 7 nov. 2013. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/cctc.201300740>.

88. FARRUGIA, L. J.. WinGXsuite for small-molecule single-crystal crystallography. **Journal Of Applied Crystallography**, [S.l.], v. 32, n. 4, p. 837-838, 1 ago. 1999. International Union of Crystallography (IUCr). <http://dx.doi.org/10.1107/s0021889899006020>.
89. SHELDRICK, G. M.: SHELXS-97. Program for the Solution of Crystal Structures. University of Göttingen, Germany 1997.
90. SHELDRICK, G. M.: SHELXL-97. Program for the Refinement of Crystal Structures. University of Göttingen, Germany 1997.
91. MACRAE, C. F. *et al.* Mercury 4.0: from visualization to analysis, design and prediction. **Journal Of Applied Crystallography**, [S.l.], v. 53, n. 1, p. 226-235, 1 fev. 2020. International Union of Crystallography (IUCr). <http://dx.doi.org/10.1107/s1600576719014092>.
92. BRUNO, I. J. *et al.* Retrieval of Crystallographically-Derived Molecular Geometry Information. **Journal Of Chemical Information And Computer Sciences**, [S.l.], v. 44, n. 6, p. 2133-2144, nov. 2004. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/ci049780b>.
93. GROOM, C. R. *et al.* The Cambridge Structural Database. **Acta Crystallographica Section B Structural Science, Crystal Engineering And Materials**, [S.l.], v. 72, n. 2, p. 171-179, 1 abr. 2016. International Union of Crystallography (IUCr). <http://dx.doi.org/10.1107/s2052520616003954>.
94. WOLFE, Alan; SHIMER, George H.; MEEHAN, Thomas. Polycyclic aromatic hydrocarbons physically intercalate into duplex regions of denatured DNA. **Biochemistry**, [S.L.], v. 26, n. 20, p. 6392-6396, out. 1987. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/bi00394a013>.
95. VELOZO-SÁ, V. S. *et al.* In vitro cytotoxicity and in vivo zebrafish toxicity evaluation of Ru(ii)/2-mercaptopyrimidine complexes. **Dalton Transactions**, [S.l.], v. 48, n. 18, p. 6026-6039, 2019. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c8dt03738h>.
96. PAGOTO, T. M. P. *et al.* A ruthenium(II) complex with the propionate ion: synthesis, characterization and cytotoxic activity. **Comptes Rendus Chimie**, [S.l.], v. 18, n. 12, p. 1313-1319, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.crci.2015.07.008>.
97. WYMAN, I. W. *et al.* Structure and Electrochemistry of Heterobimetallic Ferrocenecarboxylatoruthenium(II) Complexes. **Organometallics**, [S.l.], v. 23, n. 22, p. 5353-5364, out. 2004. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/om049635n>.
98. WYMAN, I. W. *et al.* Synthesis and Characterization of a Ruthenocene Carboxylate Containing Ruthenium(II) Complex. **Organometallics**, [S.l.], v. 24, n. 24, p. 6055-6058, nov. 2005. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/om050603p>.
99. GEARY, W. J.. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, [S.l.],

v. 7, n. 1, p. 81-122, out. 1971. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0010-8545\(00\)80009-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0010-8545(00)80009-0).

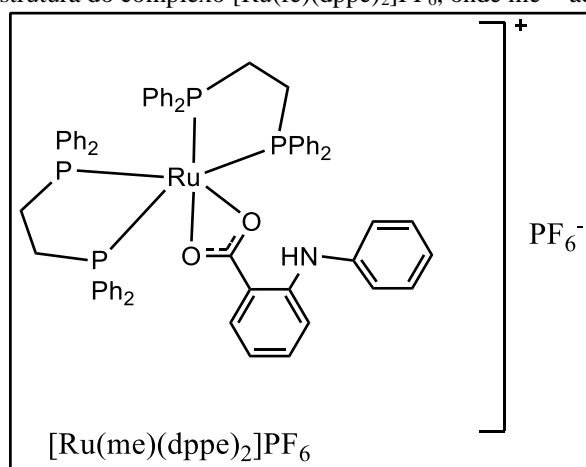
100. NAKAMOTO, K.. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds Part B: applications in coordination, organometallic and bioinorganic chemistry**. 6. ed. New Jersey: Jhon Wiley & Sons, 2009.
101. SHETTI, Nagaraj P.; NAYAK, Deepti S.; MALODE, Shweta J.; KAKARLA, Raghava Reddy; SHUKLA, Shyam S.; AMINABHAVI, Tejraj M.. Sensors based on ruthenium-doped TiO₂ nanoparticles loaded into multi-walled carbon nanotubes for the detection of flufenamic acid and mefenamic acid. **Analytica Chimica Acta**, [S.L.], v. 1051, p. 58-72, mar. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2018.11.041>.
102. FÁBIÁN, L. *et al.* Cocrystals of Fenamic Acids with Nicotinamide. **Crystal Growth & Design**, [S.L.], v. 11, n. 8, p. 3522-3528, 3 ago. 2011. American Chemical Society (ACS). <http://dx.doi.org/10.1021/cg200429j>.
103. POELHSITZ, Gustavo Von. **Complexos contendo o ligante 2 - Mercaptopiridina derivados da série '[RUCL IND. 3(NO)(P-P)]'**. 2001. 166 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, 2001.
104. NIXON, J. F.; SILLETT, G. J.D.. ³¹P and ¹⁹⁵Pt NMR studies on fluxional η¹-ligated 1,2,4-triphosphacyclopentadienyl palladium(II) and platinum(II) complexes. **Journal Of Organometallic Chemistry**, [S.L.], v. 461, n. 1-2, p. 237-245, nov. 1993. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-328x\(93\)83298-a](http://dx.doi.org/10.1016/0022-328x(93)83298-a).
105. DASARI, Shaloam; TCHOUNWOU, Paul Bernard. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. **European Journal Of Pharmacology**, [S.L.], v. 740, p. 364-378, out. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.025>.
106. CORREA, Rodrigo S.; OLIVEIRA, Katia M. de; DELOLO, Fábio G.; ALVAREZ, Anislay; MOCELO, Raúl; PLUTIN, Ana M.; COMINETTI, Marcia R.; CASTELLANO, Eduardo E.; BATISTA, Alzir A.. Ru(II)-based complexes with N-(acyl)-N',N'-(disubstituted)thiourea ligands: synthesis, characterization, bsa- and dna-binding studies of new cytotoxic agents against lung and prostate tumour cells. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.L.], v. 150, p. 63-71, set. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.04.008>.
107. COLINA-VEGAS, Legna; DUTRA, Jocely Lucena; VILLARREAL, Wilmer; A. NETO, João Honorato de; COMINETTI, Marcia Regina; PAVAN, Fernando; NAVARRO, Maribel; BATISTA, Alzir A.. Ru(II)/clotrimazole/diphenylphosphine/bipyridine complexes: interaction with dna, bsa and biological potential against tumor cell lines and mycobacterium tuberculosis. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.L.], v. 162, p. 135-145, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2016.06.023>.
108. KELLETT, Andrew; MOLPHY, Zara; SLATOR, Creina; MCKEE, Vickie; FARRELL, Nicholas P.. Molecular methods for assessment of non-covalent metallodrug-DNA interactions. **Chemical Society Reviews**, [S.L.], v. 48, n. 4, p. 971-988, 2019. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c8cs00157j>.
109. TSE, Winston C.; BOGER, Dale L.. A Fluorescent Intercalator Displacement Assay for Establishing DNA Binding Selectivity and Affinity. **Accounts Of Chemical Research**,

- [S.L.], v. 37, n. 1, p. 61-69, jan. 2004. American Chemical Society (ACS).
<http://dx.doi.org/10.1021/ar030113y>.
110. LEE, Philbert; WU, Xiaoyang. Review: modifications of human serum albumin and their binding effect. **Current Pharmaceutical Design**, [S.L.], v. 21, n. 14, p. 1862-1865, 26 mar. 2015. Bentham Science Publishers Ltd..
<http://dx.doi.org/10.2174/1381612821666150302115025>.
111. LI, Xiangrong; WANG, Gongke; CHEN, Dejun; LU, Yan. Interaction of procyanidin B3 with bovine serum albumin. **Rsc Advances**, [S.L.], v. 4, n. 14, p. 7301-7312, 2014. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c3ra44653k>.
112. KANDAGAL, P.B.; ASHOKA, S.; SEETHARAMAPPA, J.; SHAIKH, S.M.T.; JADEGOUD, Y.; IJARE, O.B.. Study of the interaction of an anticancer drug with human and bovine serum albumin: spectroscopic approach. **Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis**, [S.L.], v. 41, n. 2, p. 393-399, maio 2006. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2005.11.037>.
113. LAKOWICZ, Joseph R. **Principles of fluorescence spectroscopy**. [s.l.: s.n.], 1999. Disponível em:
<<http://public.ebookcentral.proquest.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=3085922>>.
Acesso em: 17 mar. 2021.
114. OLIVEIRA, Katia M.; HONORATO, João; DEMIDOFF, Felipe C.; SCHULTZ, Mario S.; NETTO, Chaquip D.; COMINETTI, Marcia R.; CORREA, Rodrigo S.; BATISTA, Alzir A.. Lapachol in the Design of a New Ruthenium(II)-Diphosphine Complex as a Promising Anticancer Metallodrug. **Journal Of Inorganic Biochemistry**, [S.L.], v. 214, p. 214-111289, jan. 2021. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2020.111289>.
115. VELOZO-SÁ, Vivianne S.; PEREIRA, Luciano R.; LIMA, Aliny P.; MELLO-ANDRADE, Francielli; REZENDE, Manuela R. M.; GOVEIA, Rebeca M.; PIRES, Wanessa C.; SILVA, Monize M.; OLIVEIRA, Katia M.; FERREIRA, Antonio G.. In vitro cytotoxicity and in vivo zebrafish toxicity evaluation of Ru(ii)/2-mercaptopyrimidine complexes. **Dalton Transactions**, [S.L.], v. 48, n. 18, p. 6026-6039, 2019. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c8dt03738h>.
116. ZARATE, Ximena; SCHOTT, Eduardo; ESCOBAR, Carlos A.; LOPEZ-CASTRO, Roberto; ECHEVERRIA, Cesar; ALVARADO-SOTO, Leonor; RAMIREZ-TAGLE, Rodrigo. INTERACTION OF CHALCONES WITH CT-DNA BY SPECTROPHOTOMETRIC ANALYSIS AND THEORETICALSIMULATIONS. **Química Nova**, [S.L.], p. 914-918, 2016. GN1 Genesis Network. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20160114>.
117. ROSS, Philip D.; SUBRAMANIAN, S.. Thermodynamics of protein association reactions: forces contributing to stability. **Biochemistry**, [S.L.], v. 20, n. 11, p. 3096-3102, 1 maio 1981. American Chemical Society (ACS).
<http://dx.doi.org/10.1021/bi00514a017>.

118. PEREIRA, Luciano R.. **Influência da fosfina na estrutura e na citotoxicidade de complexos de rutênio (II) com a 2-mercaptopirimidina**. 117 f. Dissertação (mestrado) – Curso de Química Inorgânica. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos. 2016.

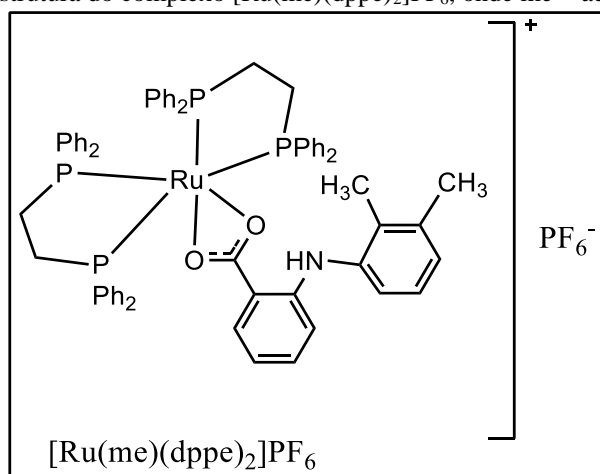
APÊNDICE A – Estruturas dos complexos obtido

Figura A 1. Estrutura do complexo $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, onde me = ácido mefenâmico



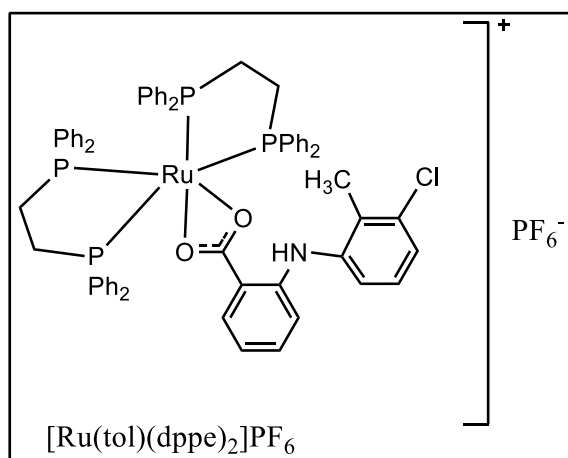
Fonte: O autor (2021)

Figura A 2. Estrutura do complexo $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, onde me = ácido mefenâmico



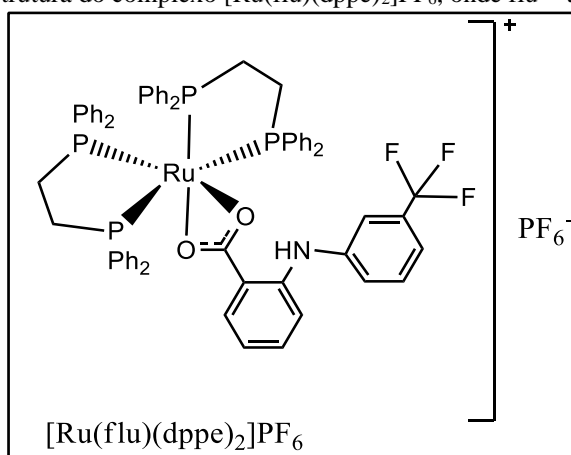
Fonte: O autor (2021)

Figura A 3. Estrutura do complexo $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, onde tol = ácido tolfenâmico



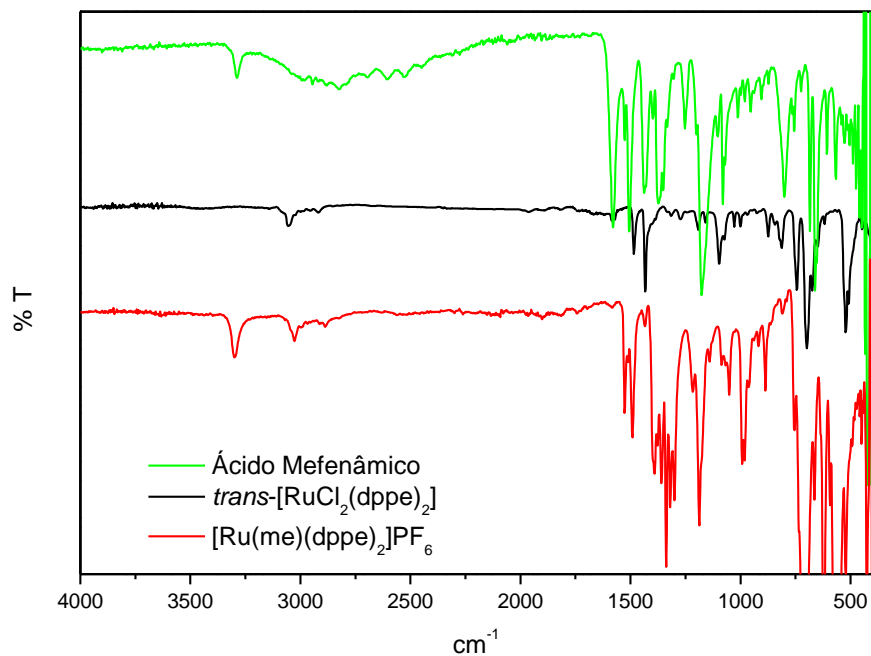
Fonte: O autor (2021)

Figura A 4. Estrutura do complexo $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$, onde flu = ácido flufenâmico

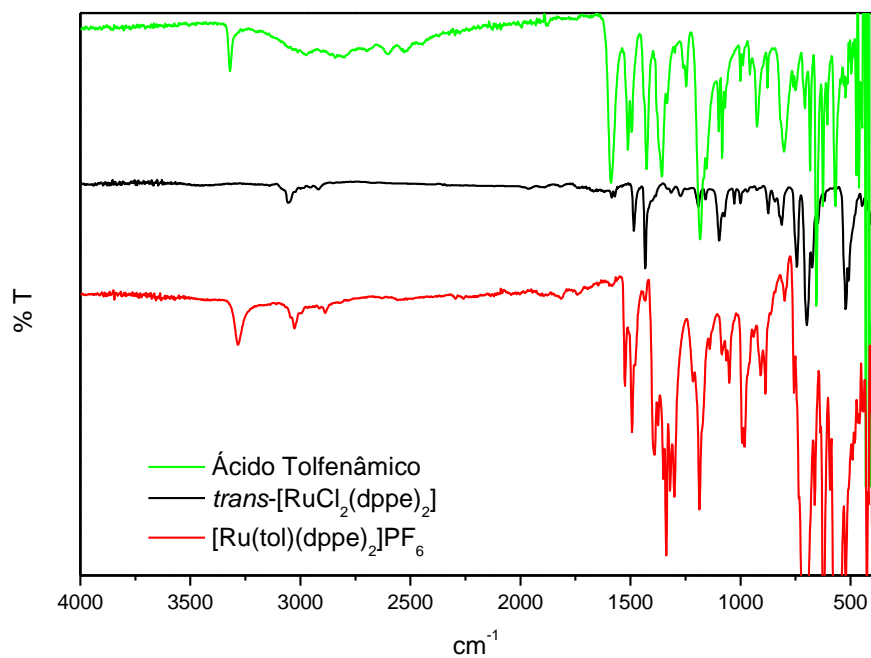


Fonte: O autor (2021)

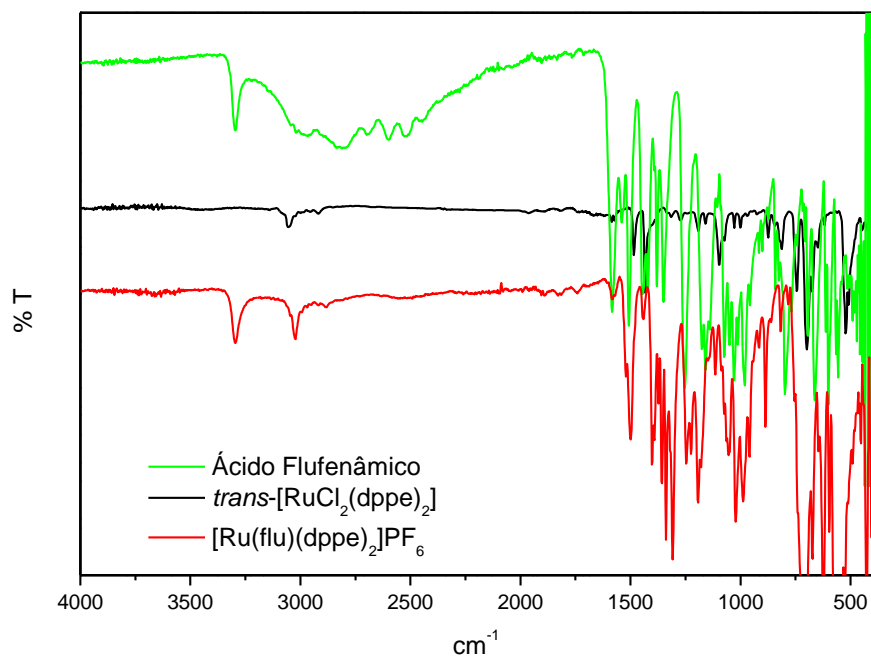
APÊNDICE B – Espectros na região do Infravermelho

Figura B 1. Espectro de Infravermelho $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$.

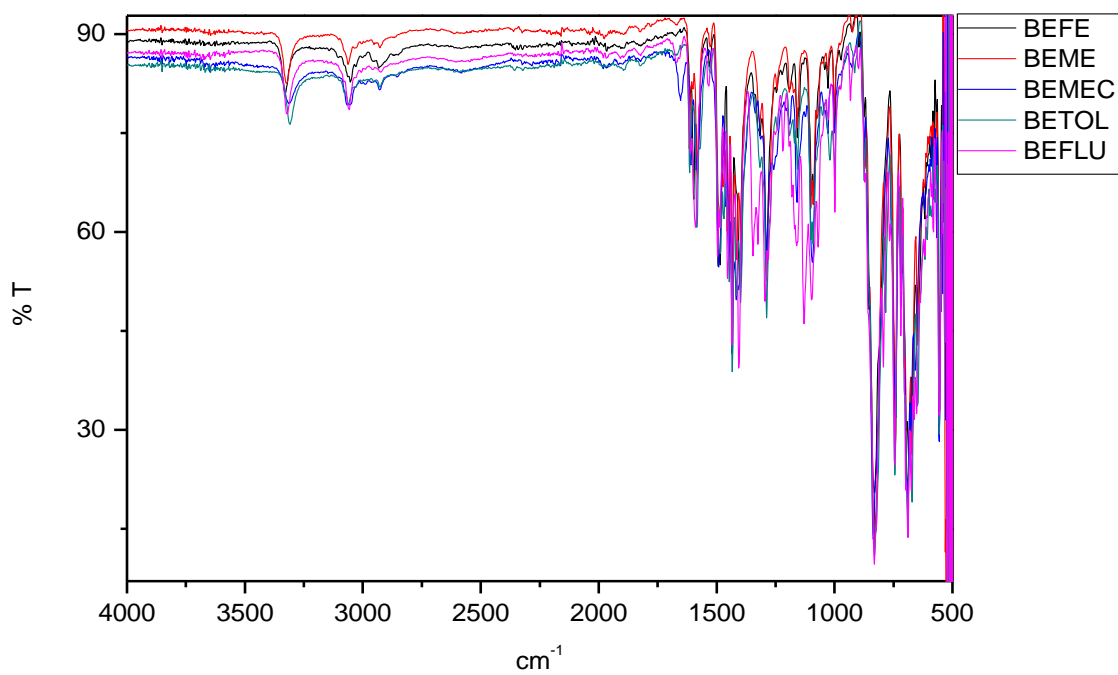
Fonte: O autor (2021)

Figura B 2. Espectro de Infravermelho $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ 

Fonte: O autor (2021)

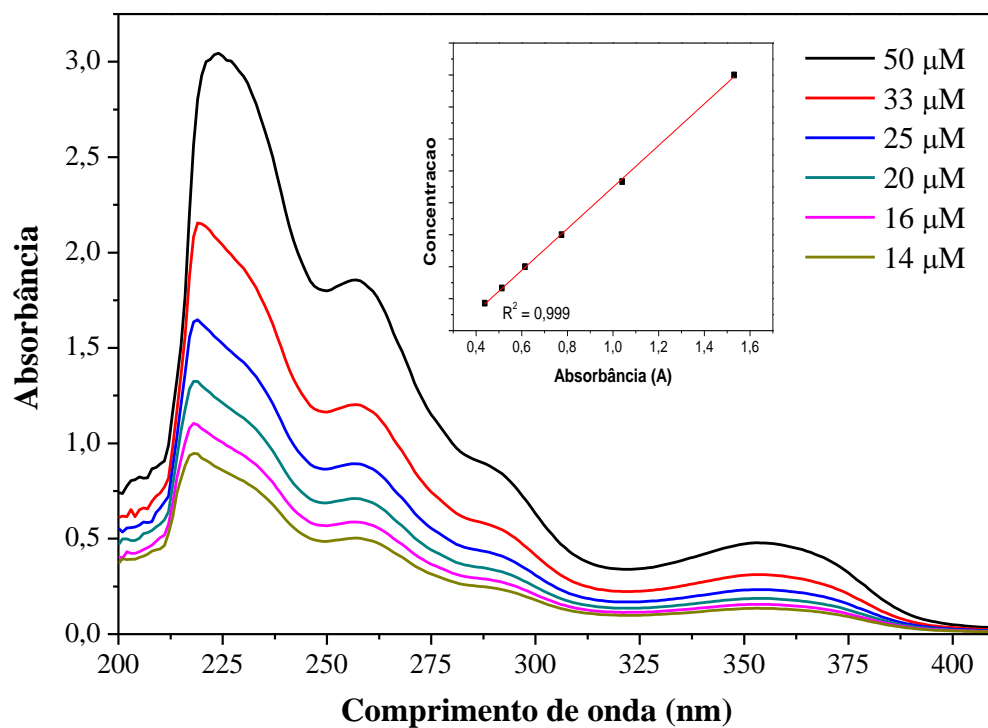
Figura B 3. Espectro de Infravermelho $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ 

Fonte: O autor (2021)

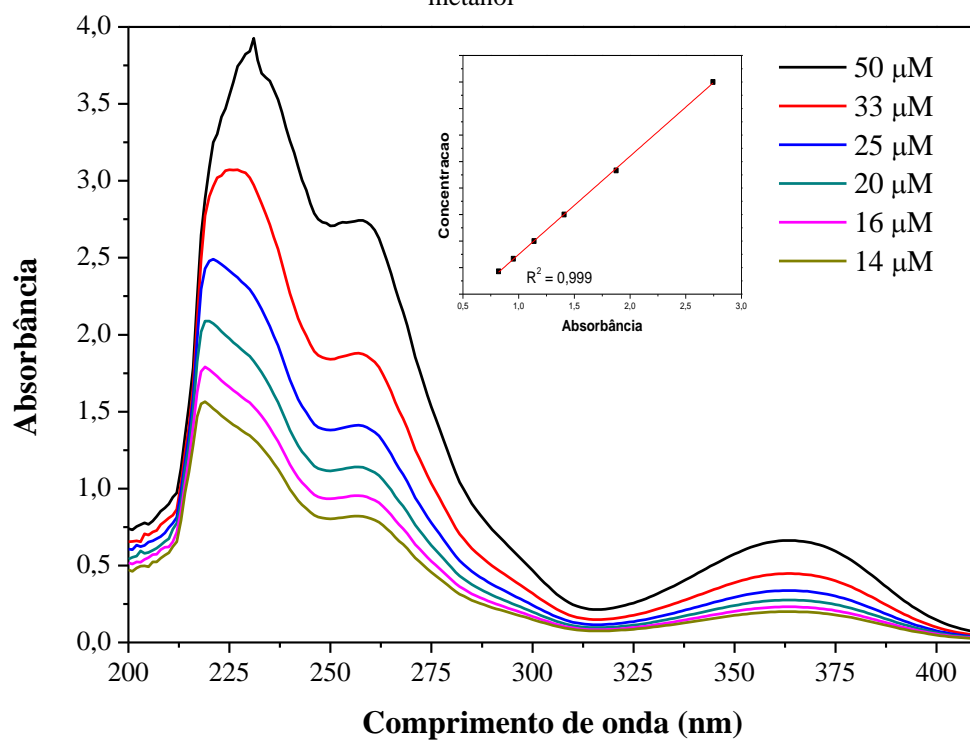
Figura B 4. Espectro de Infravermelho de todos os complexos

Fonte: O autor (2021)

APÊNDICE C – Espectros na região do UV-Vis

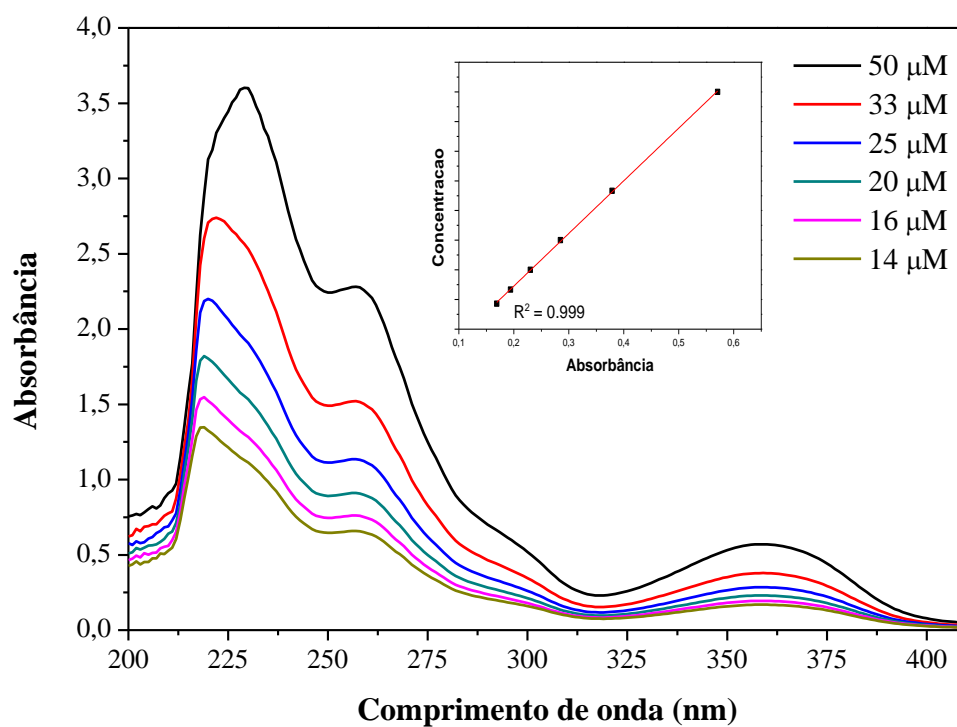
Figura C 1. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível para o complexo $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em metanol

Fonte: O autor (2021)

Figura C 2. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível para o complexo $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em metanol

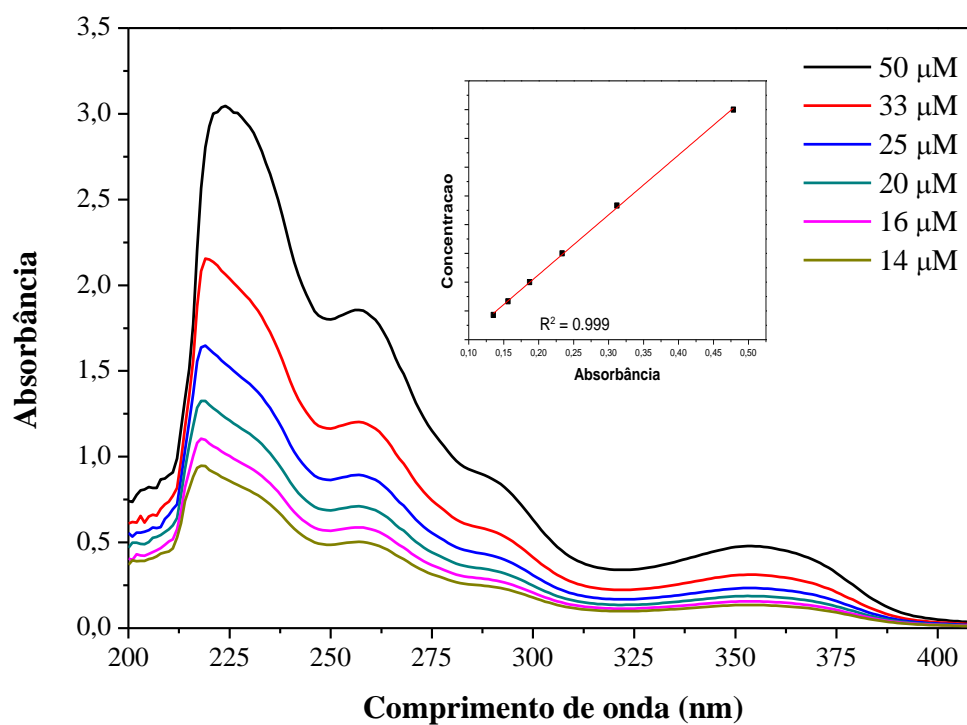
Fonte: O autor (2021)

Figura C 3. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível para o complexo [Ru(tol)(dppe)₂]PF₆ em metanol



Fonte: O autor (2021)

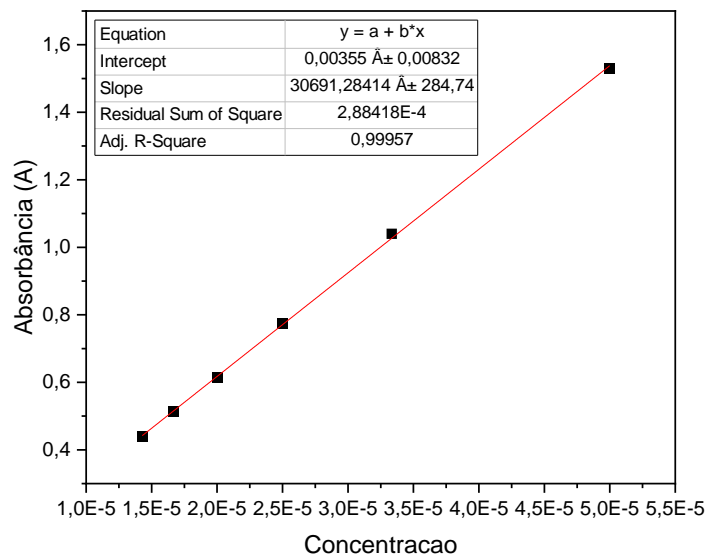
Figura C 4. Espectro de absorção na região do ultravioleta e visível para o complexo [Ru(flu)(dppe)₂]PF₆ em metanol



Fonte: O autor (2021)

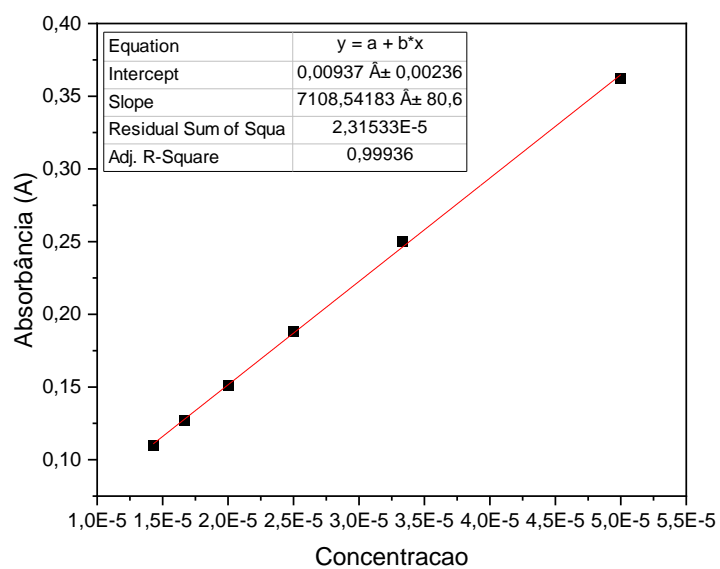
APÊNDICE D – Curvas de calibração

Figura D 1. Curva de calibração em 258 nm $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$

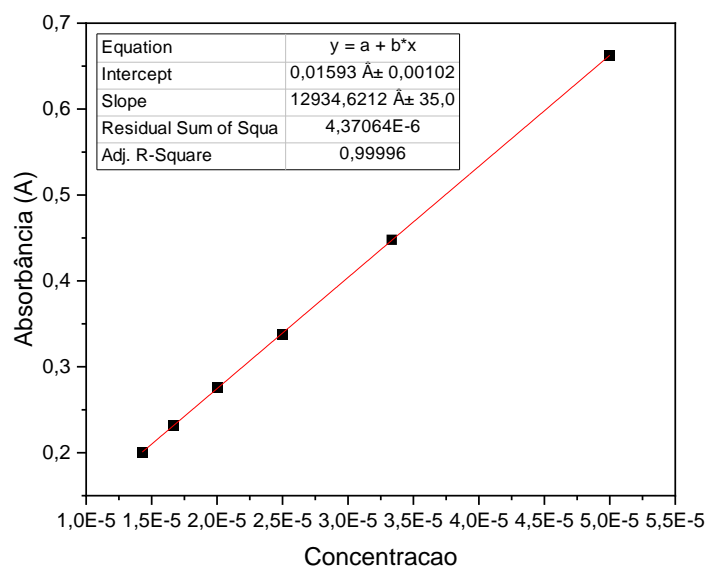


Fonte: O autor (2021)

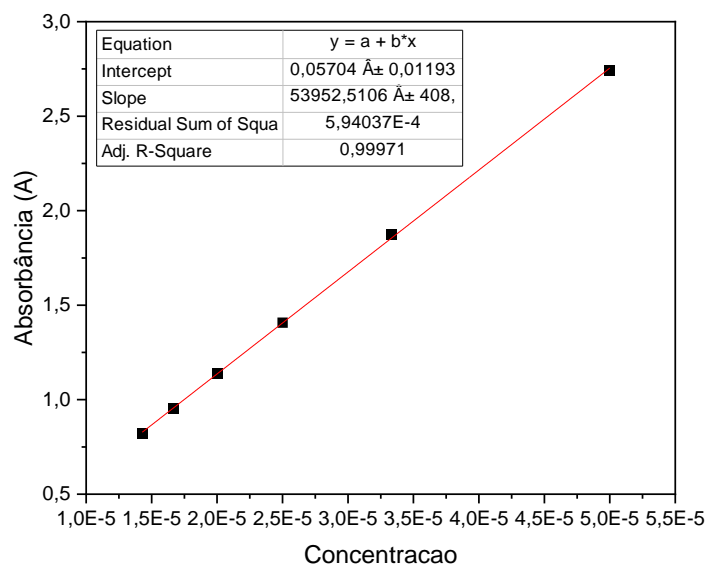
Figura D 2. Curva de calibração em 364 nm $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$



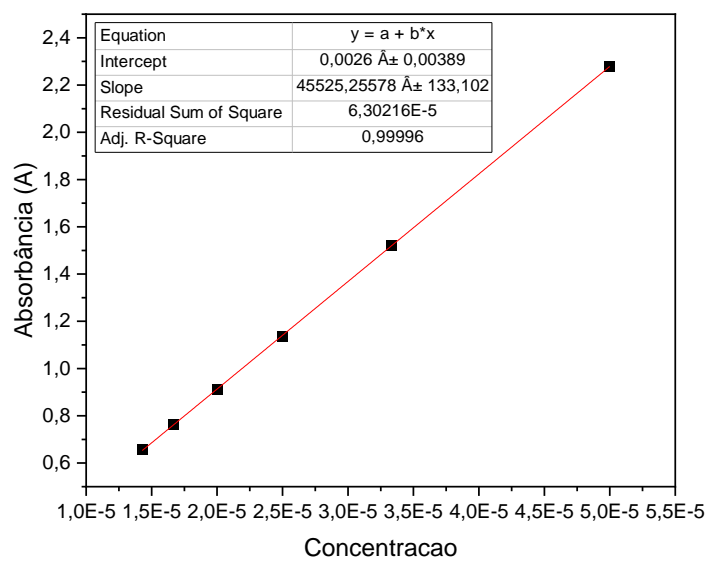
Fonte: O autor (2021)

Figura D 3. Curva de calibração em 258 nm $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ 

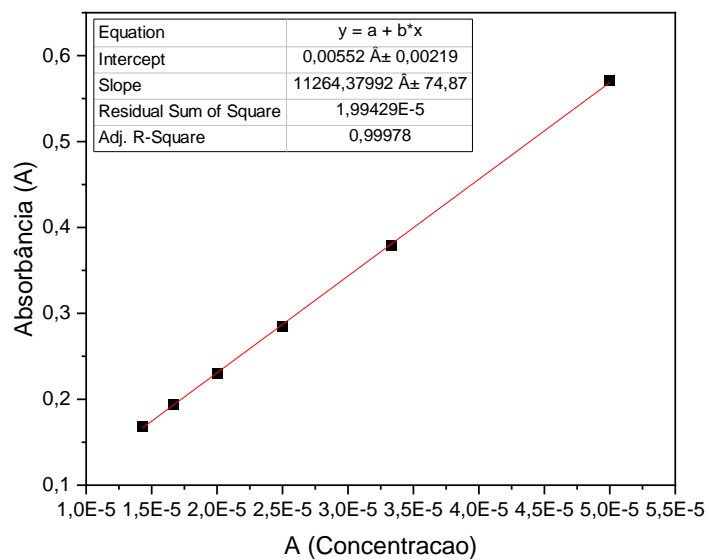
Fonte: O autor (2021)

Figura D 4. Curva de calibração em 364 nm $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ 

Fonte: O autor (2021)

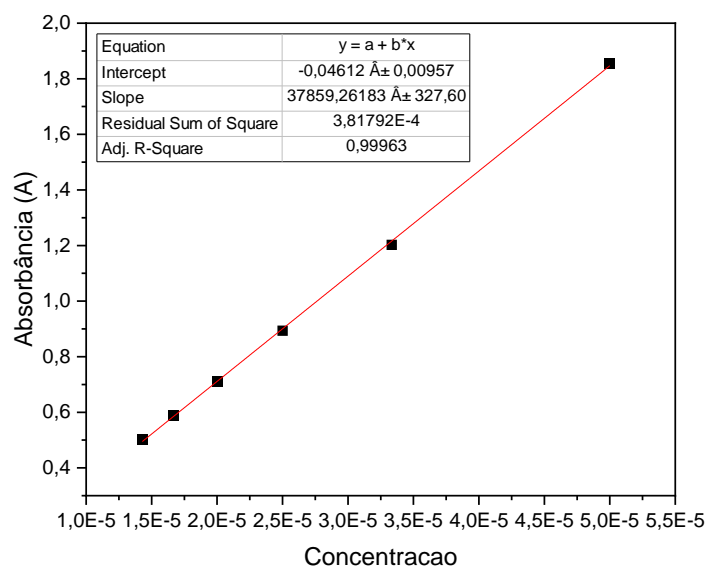
Figura D 5. Curva de calibração em 257 nm $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ 

Fonte: O autor (2021)

Figura D 6. Curva de calibração em 359 nm $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ 

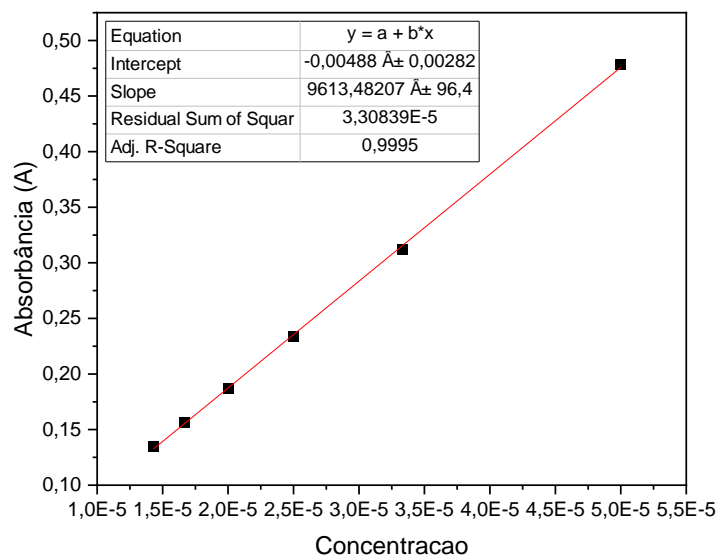
Fonte: O autor (2021)

Figura D 7. Curva de calibração em 257 nm $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$



Fonte: O autor (2021)

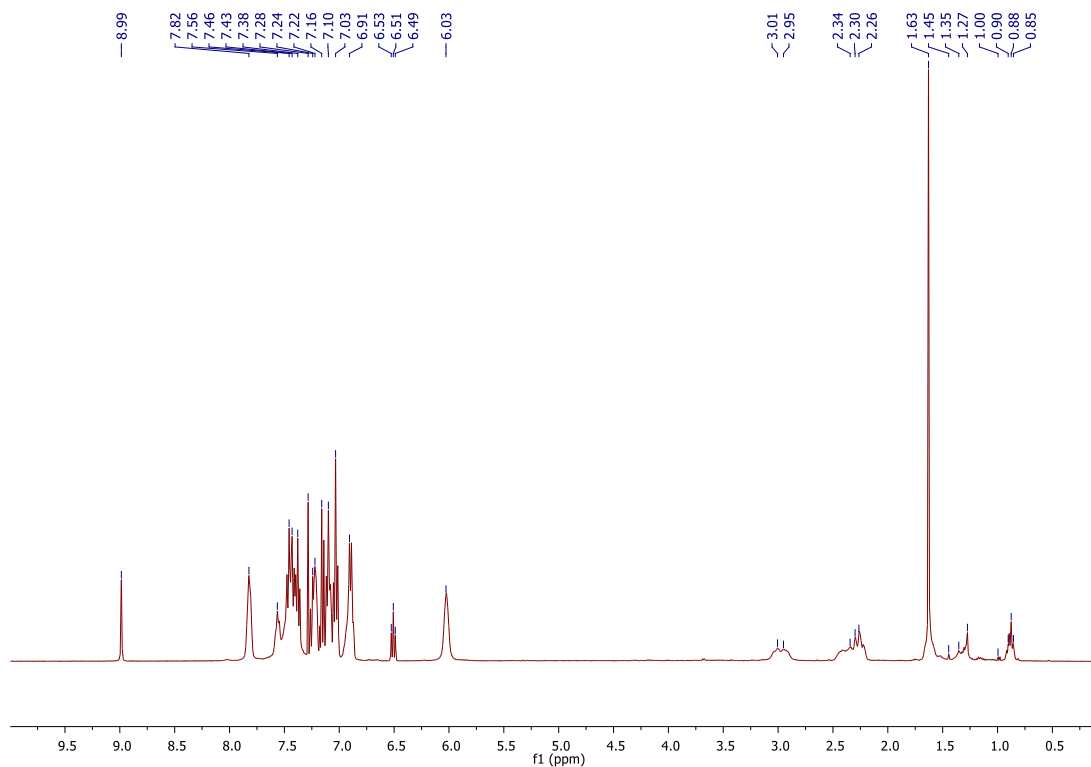
Figura D 8. Curva de calibração em 354 nm $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$



Fonte: O autor (2021)

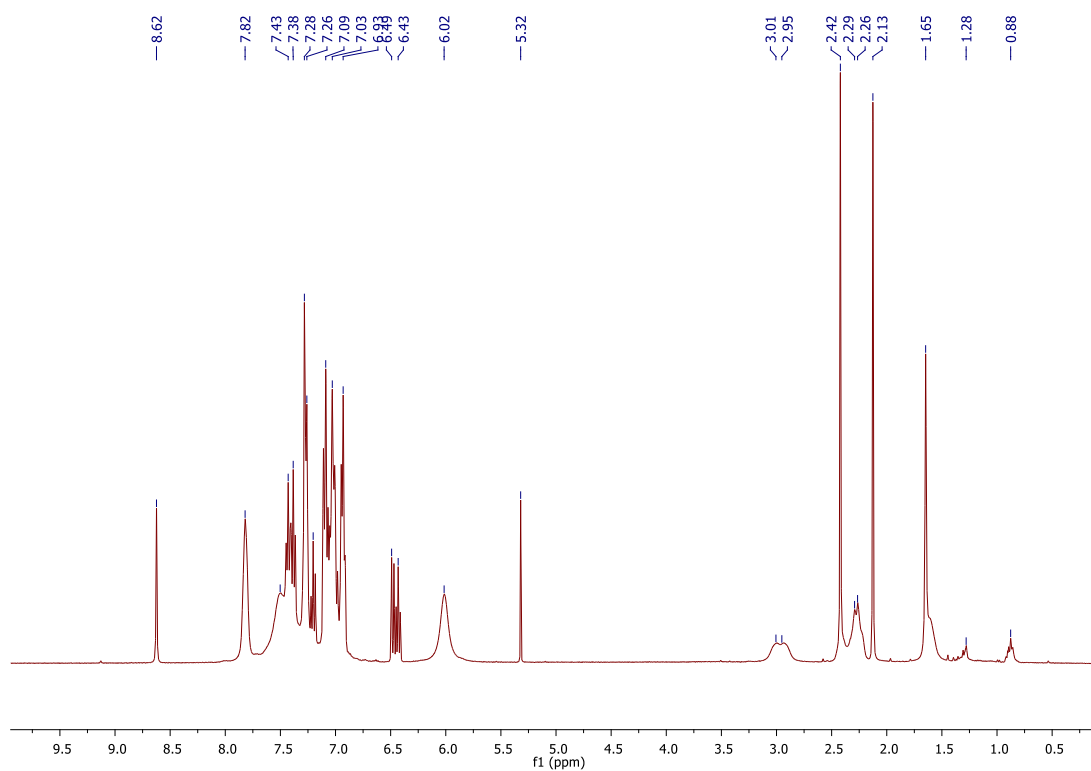
APÊNDICE E Espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) em CDCl_3

Figura E 1. RMN ^1H de $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3

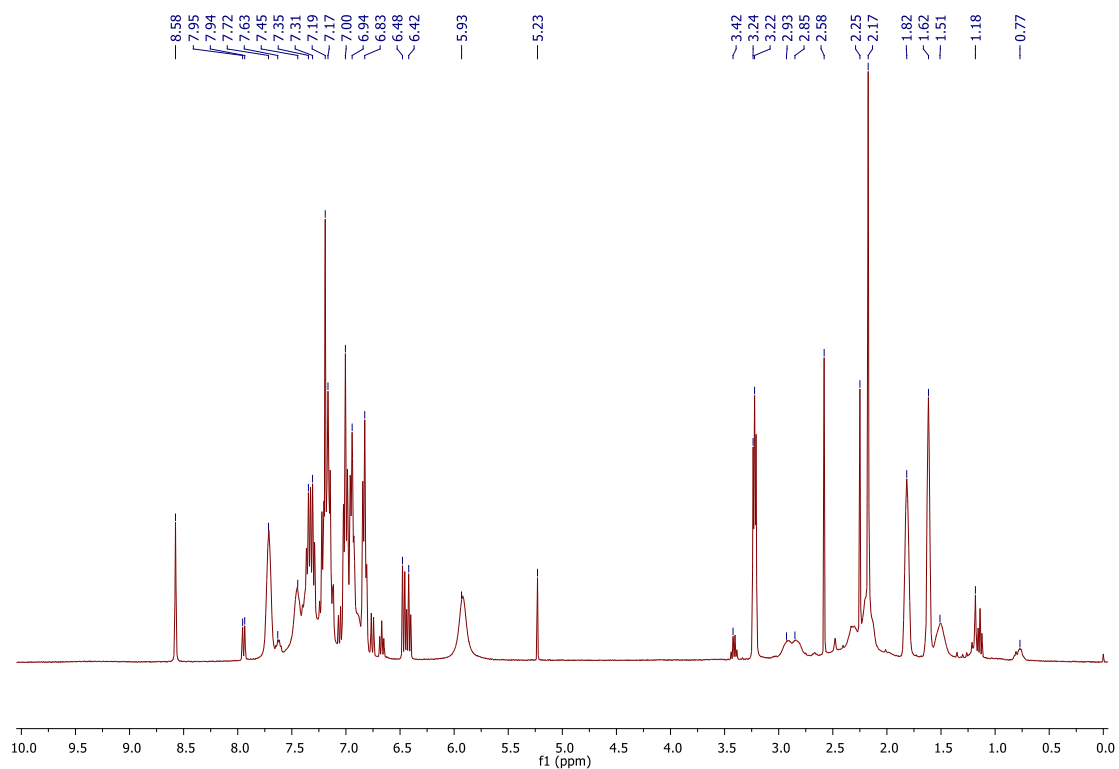


Fonte: O autor (2021)

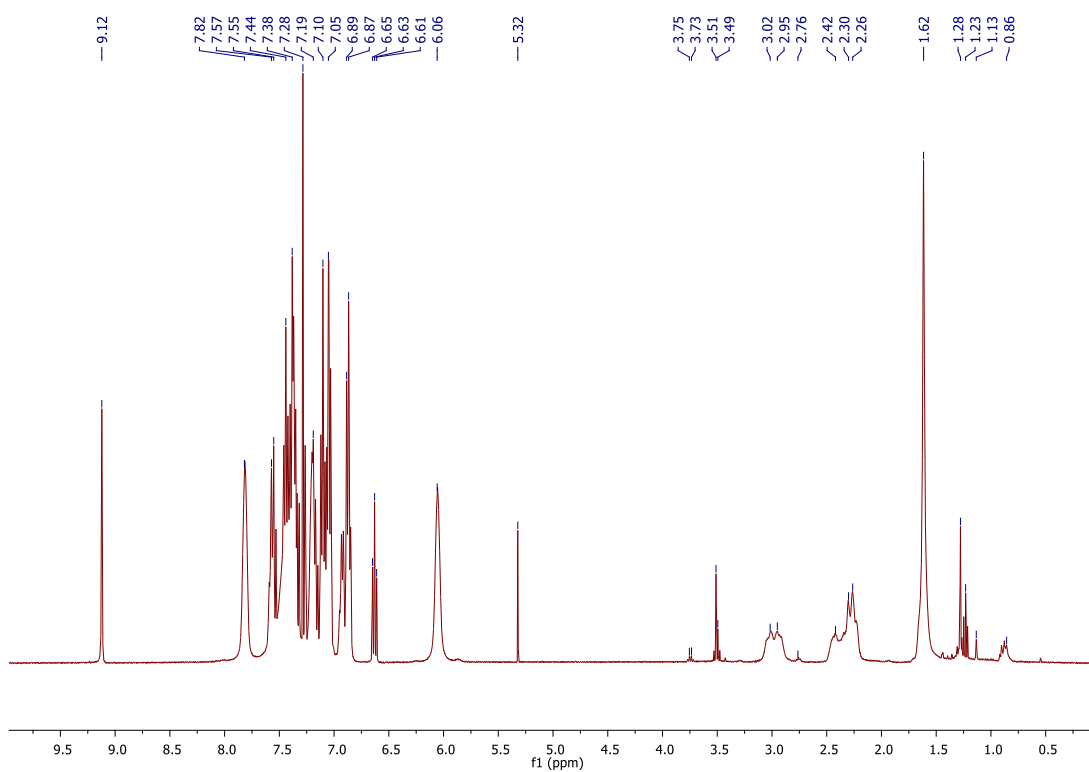
Figura E 2. RMN ^1H de $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3



Fonte: O autor (2021)

Figura E 3. RMN ^1H de $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3 

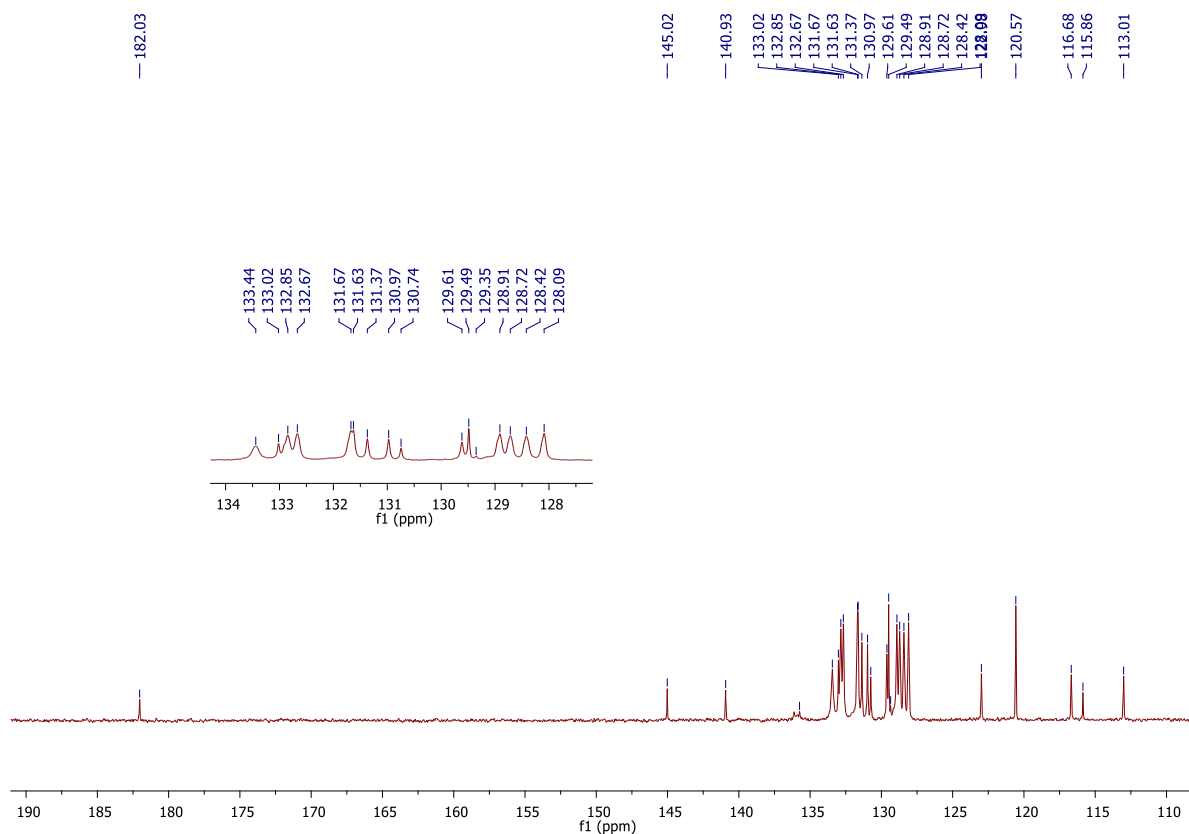
Fonte: O autor (2021)

Figura E 4. RMN ^1H de $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3 

Fonte: O autor (2021)

APÊNDICE F – Espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono (RMN C {¹H}) em CDCl₃

Figura F 1. RMN ¹³C {¹H} de [Ru(fe)(dppe)₂]PF₆ em CDCl₃

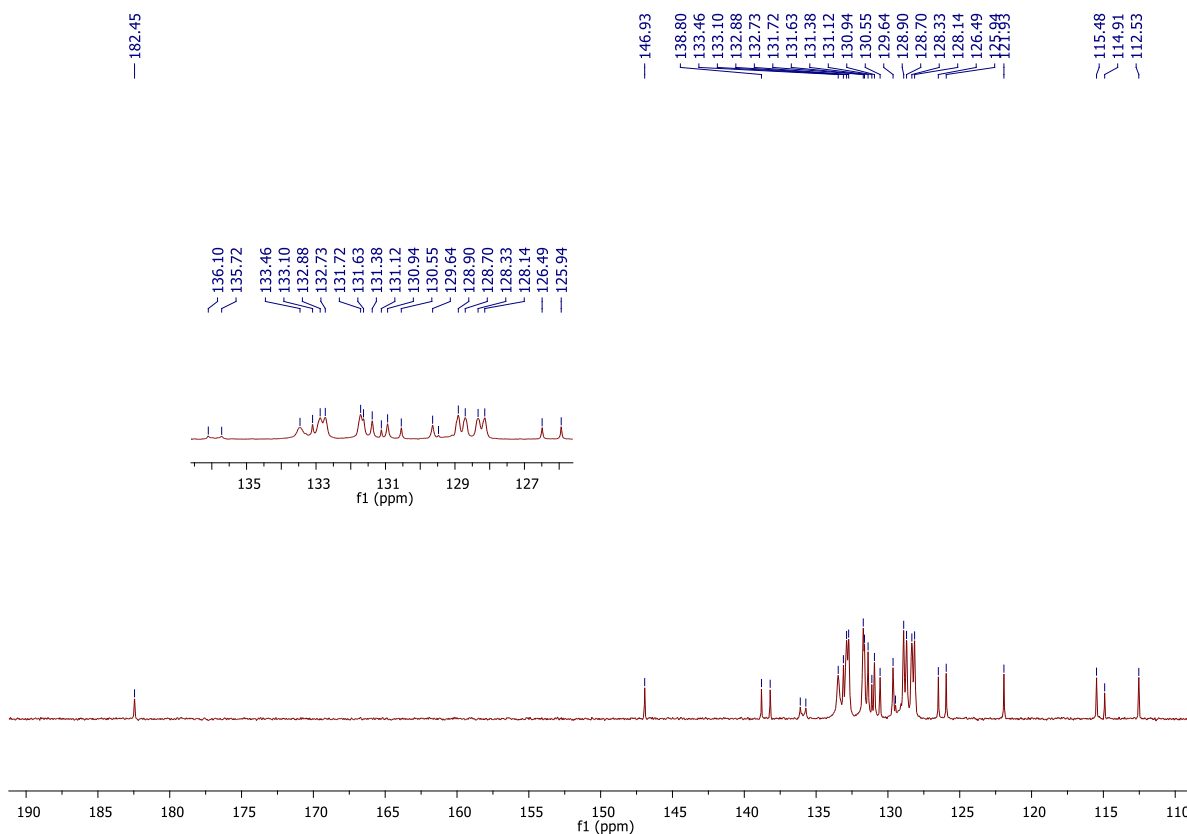


Fonte: O autor (2021)

Tabela 11. Atribuição do deslocamento químico do composto [Ru(fe)(dppe)₂]PF₆

Carbono	δ / Ppm	Referência
C7	182,03	C-O
C2	145,02	C-N
C8	140,93	C-N
C-PPh ₂	133,44; 133,02;132,85; ;132,67	C-P
C-PPh ₂	131,67;131,63; 131,37;130,97;130,74	C-P
C4	129,61	C-C
C6	129,49	C-C
C10 - C12	129,35	C-C
C-dppe	128,91;128,72	C-C
C-dppe	128,42;128,09	C-C
C11	122,98	C-C
C9 - C13	120,57	C-C
C5	-	C-C
C3	116,68	C-C
C1	115,85	C-C

Fonte: https://sdbs.db.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi

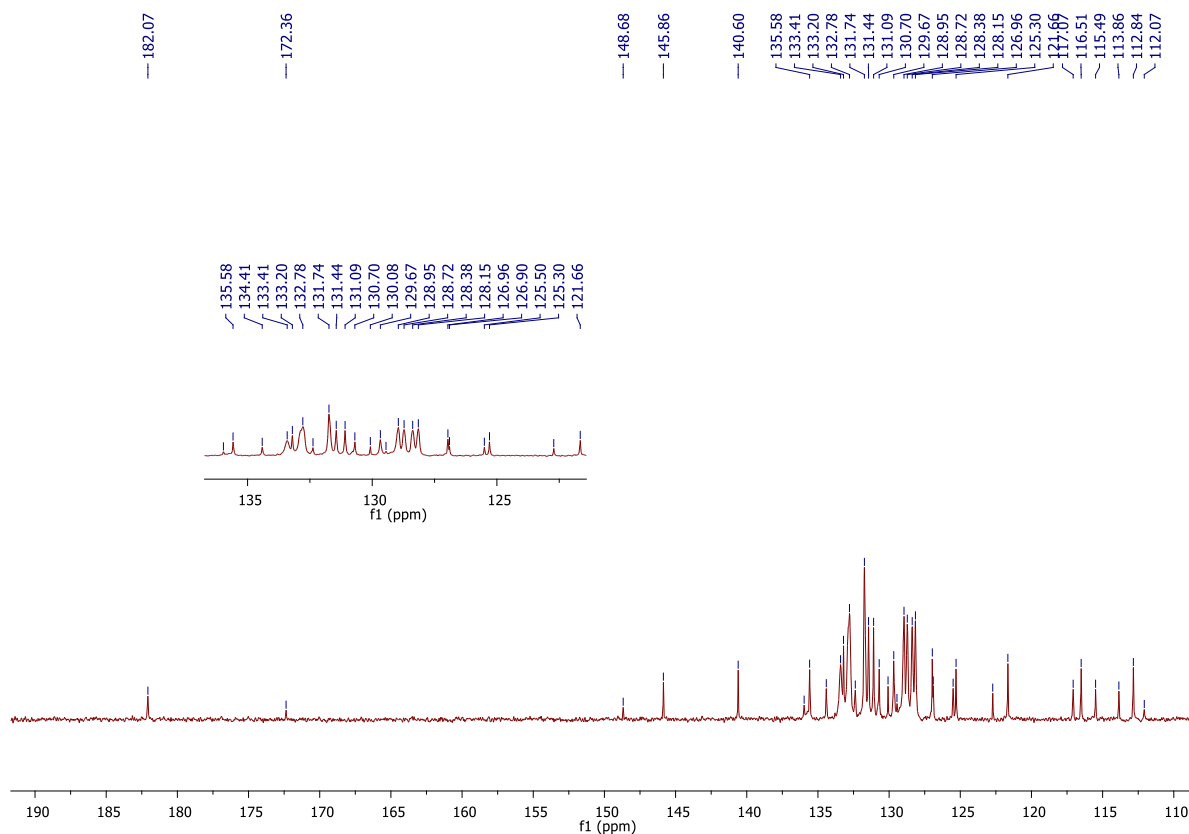
Figura F 2. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ de $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3 

Fonte: O autor (2021)

Tabela 12. Atribuição do deslocamento químico do composto $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$

Carbono	δ / Ppm	Referência
C7	182,46	C-O
C2	146,93	C-N
C8	138,80	C-N
C10	138,20	C-C
C-PPh2	133,46;131,72;129,64	C-P
C4	133,10	C-C
C-PPh2	132,73-131,88	C-P
C6	130,94	C-C
C9	130,55	C-C
C-dppe	128,90-128,70;128,33-128,14	C-C
C11	126,49	C-C
C12	125,94	C-C
C13	121,93	C-C
C5	115,48	C-C
C3	114,91	C-C
C1	112,53	C-C
C14	20,80	C-H
C15	14,40	C-H

Fonte: https://sdbs.db.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi

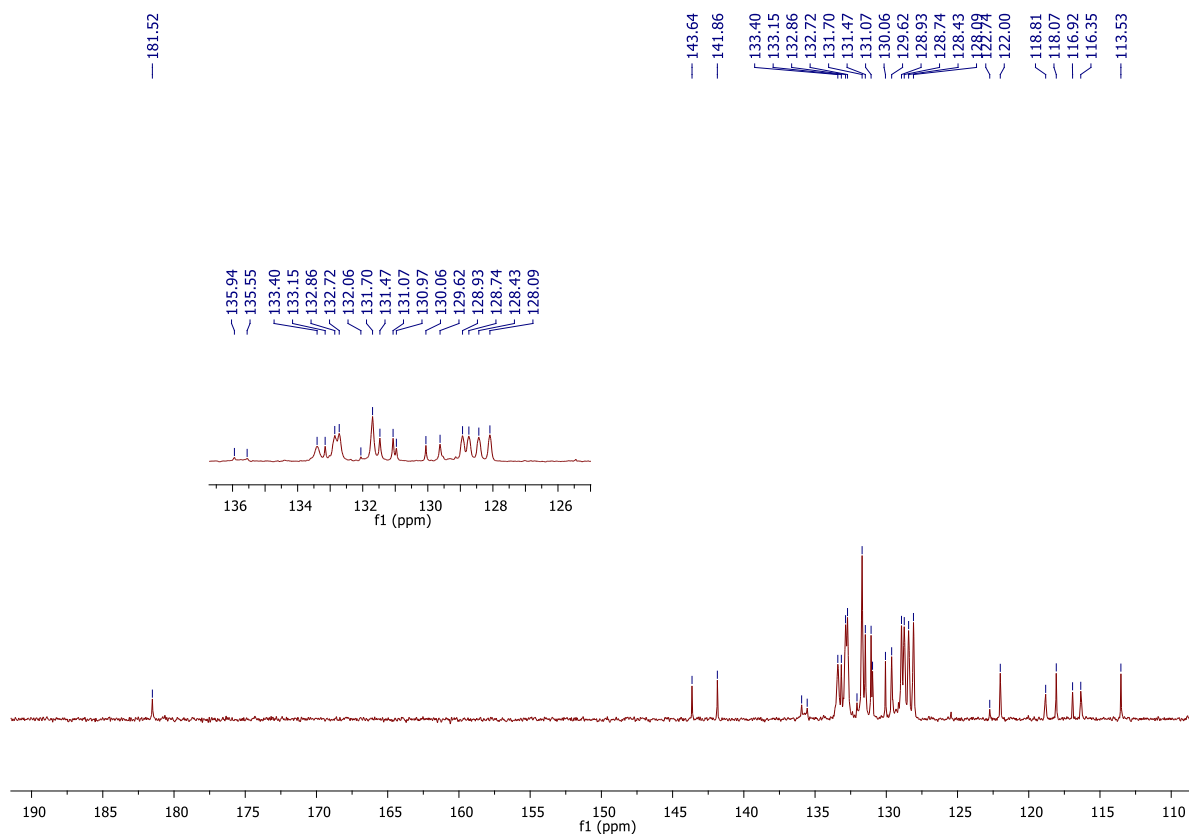
Figura F 3. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ de $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3 

Fonte: O autor (2021)

Tabela 13. Atribuição do deslocamento químico do composto $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$

Carbono	δ / Ppm	Referência
C7	182,07	C-O
C2	148,68	C-N
C8	140,60	C-N
C-PPh2	132,38;130,70	C-P
C10	135,58	C-Cl
C4	134,41	C-C
C-PPh2	132,78	C-P
C6	131,44	C-C
C9	129,67	C-C
C-dppe	128,95-128,72;128,38-128,15	C-C
C-dppe	126,96-126,90	C-C
C12	125,50	C-C
C11	125,30	C-C
C10	121,66	C-C
C13	117,07	C-C
C5	113,86	C-C
C1	112,84	C-C
C14	15,43	C-H

Fonte: https://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi

Figura F 4. RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$ de $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3 

Fonte: O autor (2021)

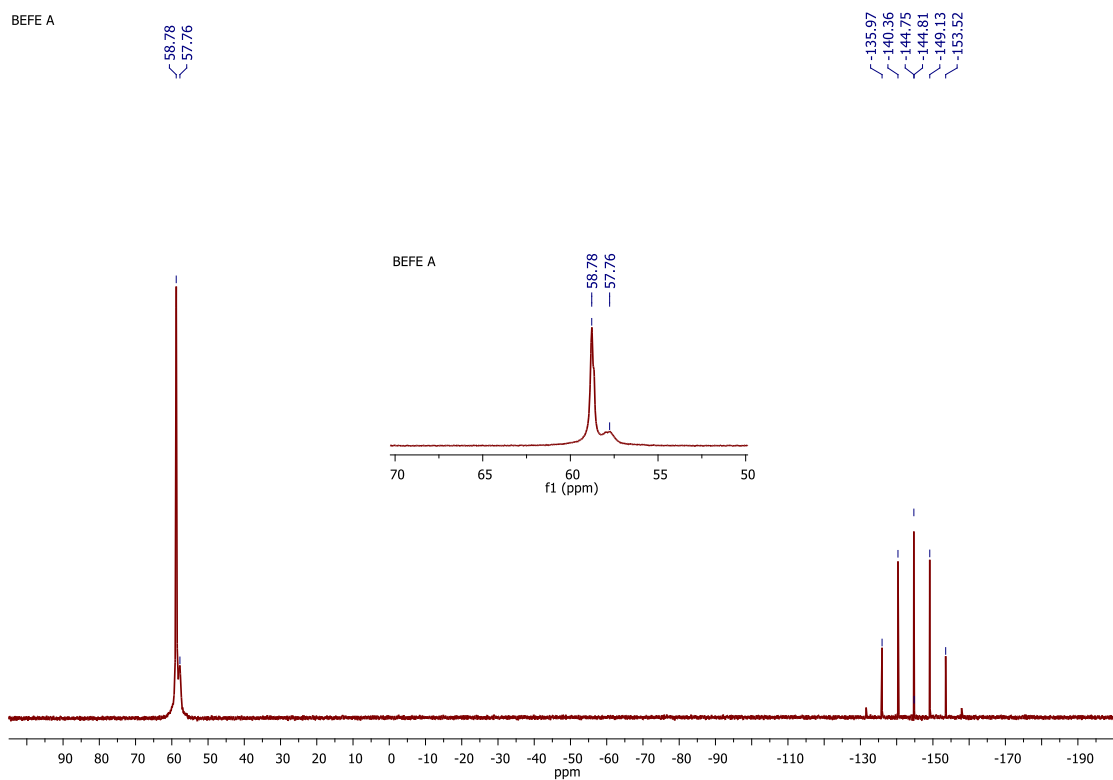
Tabela 14. Atribuição do deslocamento químico do composto $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$

Carbono	δ / Ppm	Referência
C7	181,52	C-O
C2	143,64	C-N
C8	141,86	C-N
C-PPh2	131,07;129,62	C-P
C4	135,94	C-C
C6	133,40	C-C
C10	133,15	C-C
C12	130,06	C-C
C-dppe	132,86-132,72;128,93-128,74	C-C
C-dppe	128,43	C-C
C14	128,09	C-C
C13	125,45	C-C
C14	122,74	C-F
C10	122,00	C-C
C14	118,81	C-F
C11	118,07	C-C
C11	116,92	C-C
C12	116,35	C-C
C13	113,53	C-C

Fonte: https://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi

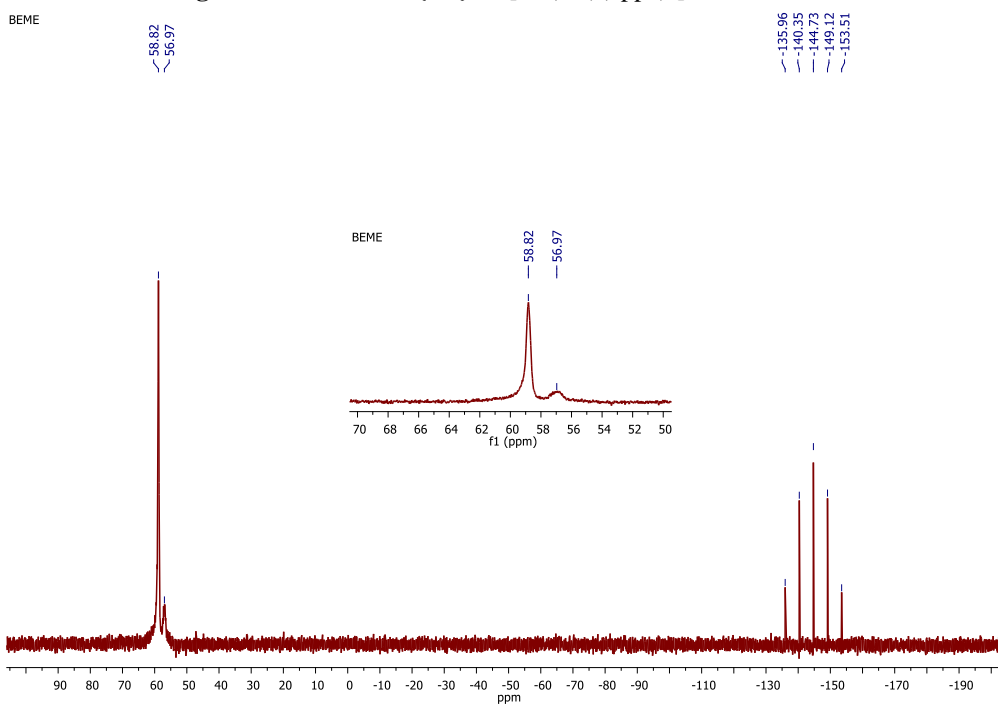
APÊNDICE G – Espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Fósforo (RMN ^{31}P { ^1H }) em CDCl_3

Figura G 1. RMN ^{31}P { ^1H } de $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3

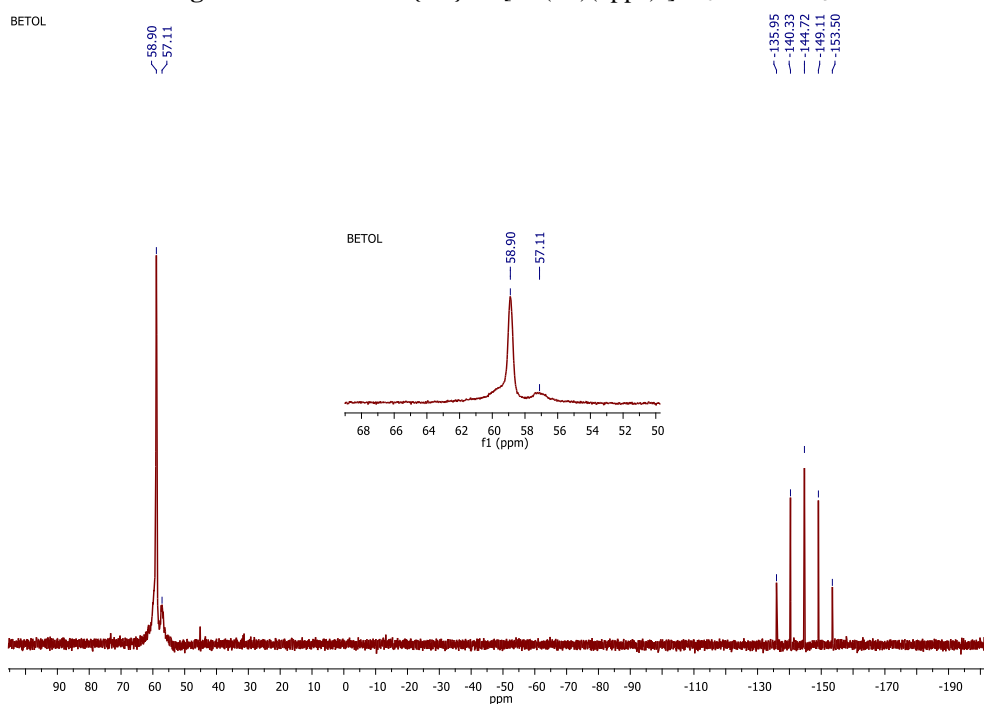


Fonte: O autor (2021)

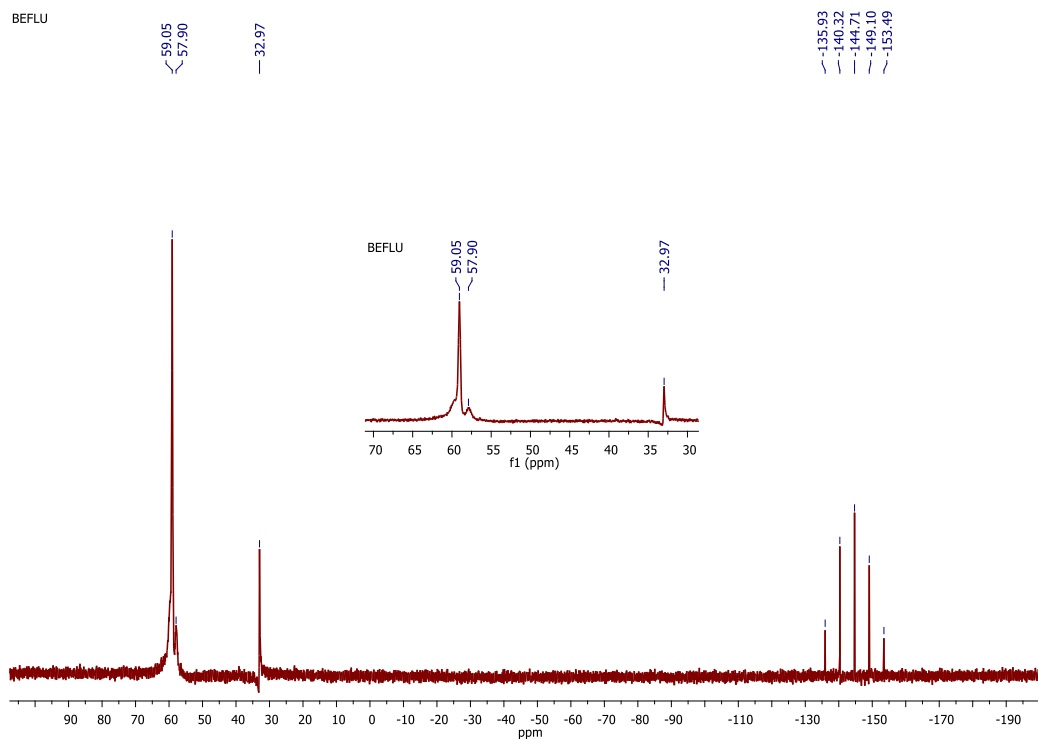
Figura G 2. RMN ^{31}P { ^1H } de $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3



Fonte: O autor (2021)

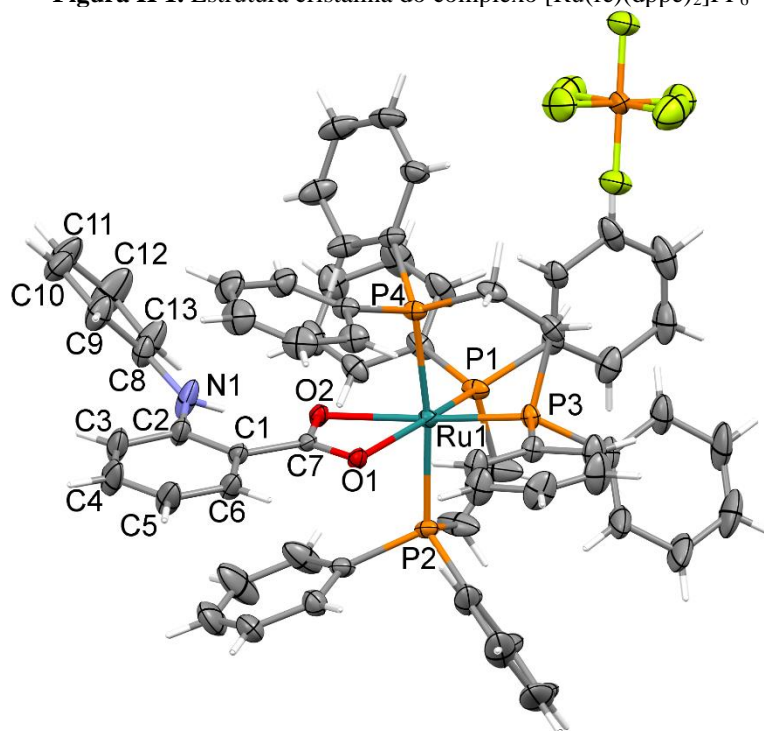
Figura G 3. RMN ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ de $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3 

Fonte: O autor (2021)

Figura G 4. RMN ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ de $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CDCl_3 

Fonte: O autor (2021)

APÊNDICE H – Estrutura de Raio X dos monocristais

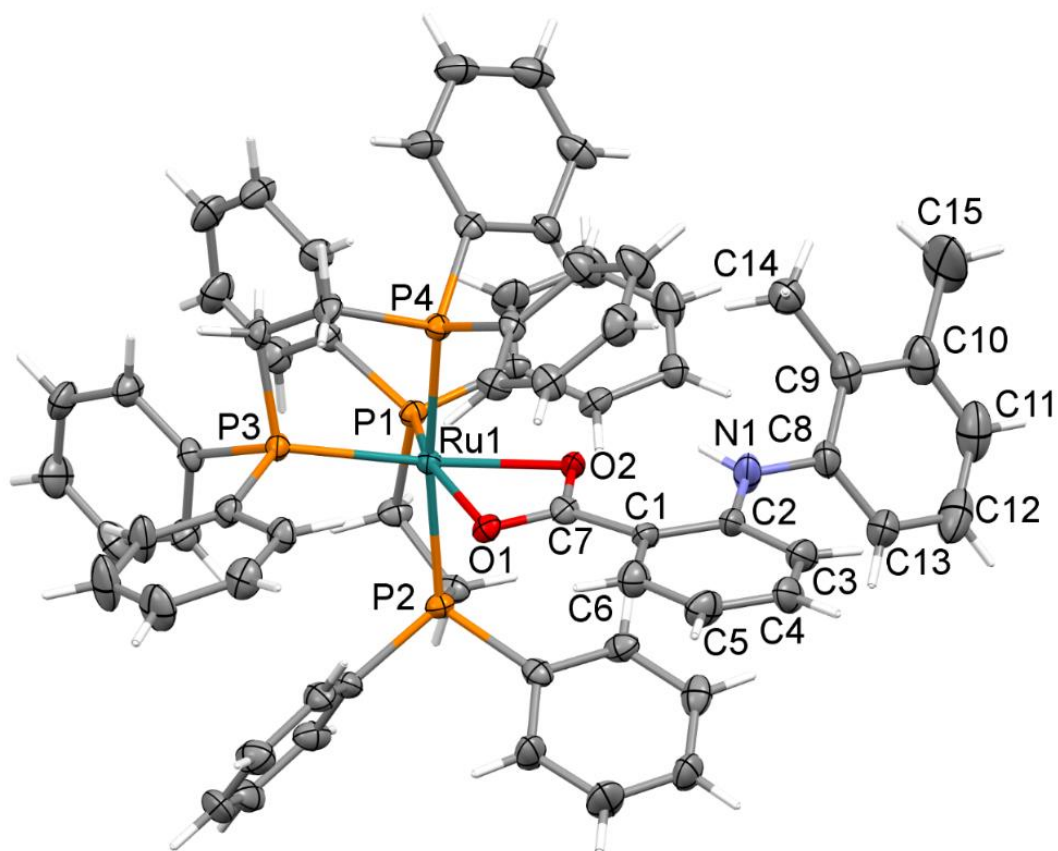
Figura H 1. Estrutura cristalina do complexo $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ 

Fonte: O autor (2021)

Tabela 15. Dados do cristal e refinamento da estrutura [Ru(fe)(dppe)₂]PF₆.

Dados do cristal e refinamento da estrutura		
Fórmula empírica	C ₆₅ H ₅₈ F ₆ N O ₂ P ₅ Ru	
Massa molecular	1255,04 g	
Comprimento de onda	0,71073 Å	
Sistema Cristalino	Monoclínico	
Grupo Espacial	C 2/c	
Dimensões da célula unitária	a = 25,7097(6) Å	$\alpha = 90^\circ$
	b = 12,1820(2) Å	$\beta = 101,272(2)^\circ$
	c = 37,2901(9) Å	$\gamma = 90^\circ$.
Volume	11453,8(4) Å ³	
Densidade (calculada)	1,456 Mg/m ³	
Coefficiente de Absorção	0,480 mm ⁻¹	
Tamanho do cristal	0,30 x 0,12 x 0,08 mm ³	
Intervalo Theta para coleta de dados	2,60 to 26,00°	
Faixas de índice	-31 ≤ h ≤ 31, -15 ≤ k ≤ 15, -45 ≤ l ≤ 45	
Reflexões coletadas	57154	
Reflexões independentes	11258 [R(int) = 0.0453]	
Completude para Theta = 25,242°	99,9 %	
Método de refinamento	Mínimos quadrados de matriz completa em F ²	
Dados / restrições / parâmetros	11258 / 0 / 724	
Adequação do ajuste em F ²	1,229	
Índices R finais [I > 2sigma (I)]	R1 = 0,0687, wR2 = 0,1212	
Índices R (todos os dados)	R1 = 0,0789, wR2 = 0,1272	
Coefficiente de extinção	n/a	
Maior diferença pico e buraco	0,704 and -1,287 e.Å ⁻³	

Figura H 2. Estrutura cristalina do complexo $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$

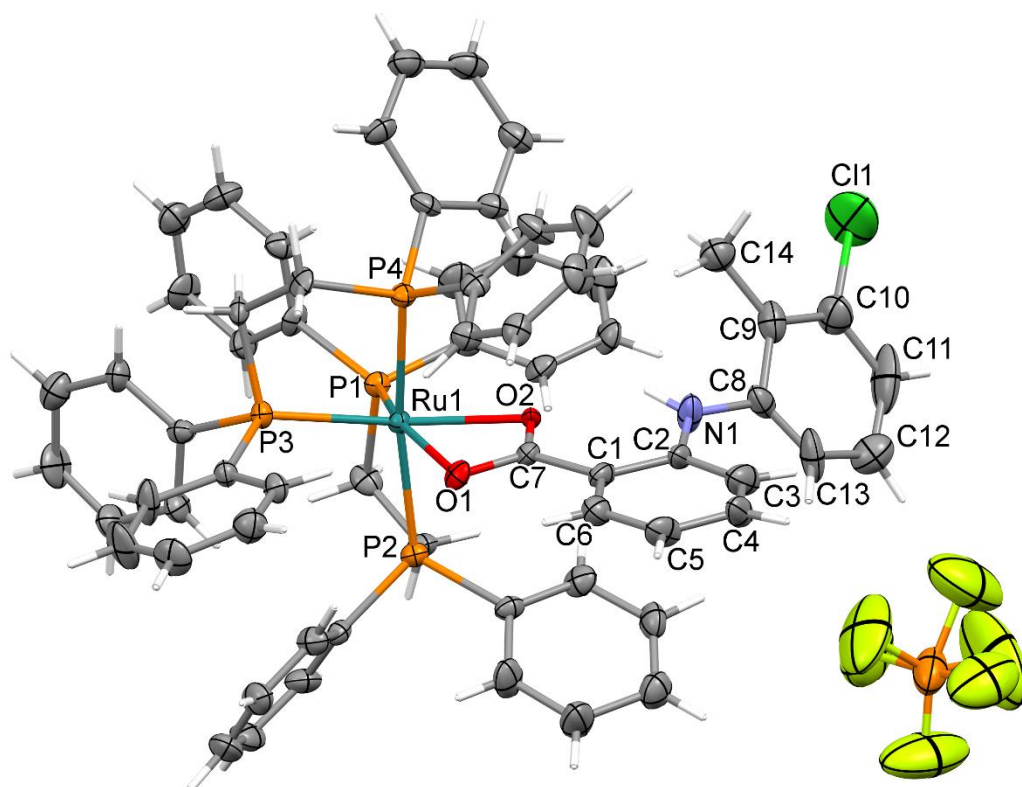


Fonte: O autor (2021)

Tabela 16. Dados do cristal e refinamento da estrutura [Ru(me)(dppe)₂]PF₆.

Dados do cristal e refinamento da estrutura		
Fórmula empírica	C ₆₇ H ₆₂ F ₆ N O ₂ P ₅ Ru	
Massa molecular	1283,09 g	
Comprimento de onda	0,71073 Å	
Sistema Cristalino	Monoclínico	
Grupo Espacial	Cc	
Dimensões da célula unitária	a = 19,6292(15) Å	α = 90°
	b = 15,9250(11) Å	β = 105,090(8) °
	c = 19,2447(16) Å	γ = 90°
Volume	5808,4(8) Å ³	
Densidade (calculada)	1,467 Mg/m ³	
Coefficiente de Absorção	0,475 mm ⁻¹	
Tamanho do cristal	0,240 x 0,148 x 0,101 mm ³	
Intervalo Theta para coleta de dados	2,524 to 25,999	
Faixas de índice	-24 ≤ h ≤ 24, -19 ≤ k ≤ 19, -23 ≤ l ≤ 23	
Reflexões coletadas	58152	
Reflexões independentes	11405 [R(int) = 0,0498]	
Completude para Theta = 25,242°	99,9 %	
Método de refinamento	Mínimos quadrados de matriz completa em F ²	
Dados / restrições / parâmetros	11405 / 2 / 741	
Adequação do ajuste em F ²	1,095	
Índices R finais [I > 2sigma (I)]	R1 = 0,0358, wR2 = 0,0807	
Índices R (todos os dados)	R1 = 0,0506, wR2 = 0,0901	
Coefficiente de extinção	0,94(4)	
Maior diferença pico e buraco	0,460 and -0,334 e.Å ⁻³	

Figura H 3. Estrutura cristalina do complexo $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$

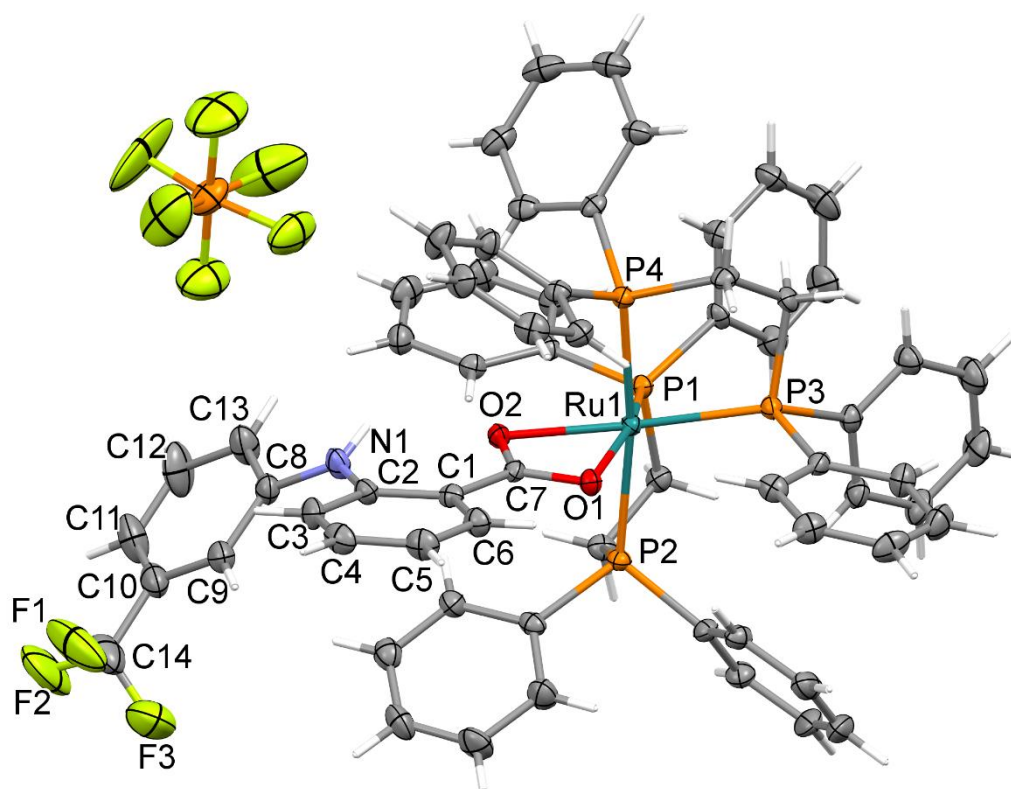


Fonte: O autor (2021)

Tabela 17. Dados do cristal e refinamento da estrutura [Ru(tol)(dppe)₂]PF₆.

Dados do cristal e refinamento da estrutura		
Fórmula empírica	C ₆₆ H ₅₉ ClF ₆ NO ₂ P ₅ Ru	
Massa molecular	1303,51 g	
Comprimento de onda	0,71073 Å	
Sistema Cristalino	Monoclínico	
Grupo Espacial	Cc	
Dimensões da célula unitária	a = 19,6387(7) Å	α = 90°
	b = 15,8829(5) Å	β = 105,508(4) °
	c = 19,2176(7) Å	γ = 90°
Volume	5776,1(4) Å ³	
Densidade (calculada)	1,499 Mg/m ³	
Coefficiente de Absorção	0,523 mm ⁻¹	
Tamanho do cristal	0,25 x 0,18 x 0,05 mm ³	
Intervalo Theta para coleta de dados	2,635 to 25,748°	
Faixas de índice	-24 ≤ h ≤ 23, -19 ≤ k ≤ 19, -23 ≤ l ≤ 23	
Reflexões coletadas	29499	
Reflexões independentes	10863 [R(int) = 0.0237]	
Completude para Theta = 25,242°	99,9 %	
Método de refinamento	Mínimos quadrados de matriz completa em F ²	
Dados / restrições / parâmetros	10863 / 2 / 739	
Adequação do ajuste em F ²	1,115	
Índices R finais [I > 2sigma (I)]	R1 = 0,0380, wR2 = 0,0938	
Índices R (todos os dados)	R1 = 0,0488, wR2 = 0,1037	
Coefficiente de extinção	0,31(2)	
Maior diferença pico e buraco	0,425 and -0,354 e.Å ⁻³	

Figura H 4. Estrutura cristalina do complexo $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$

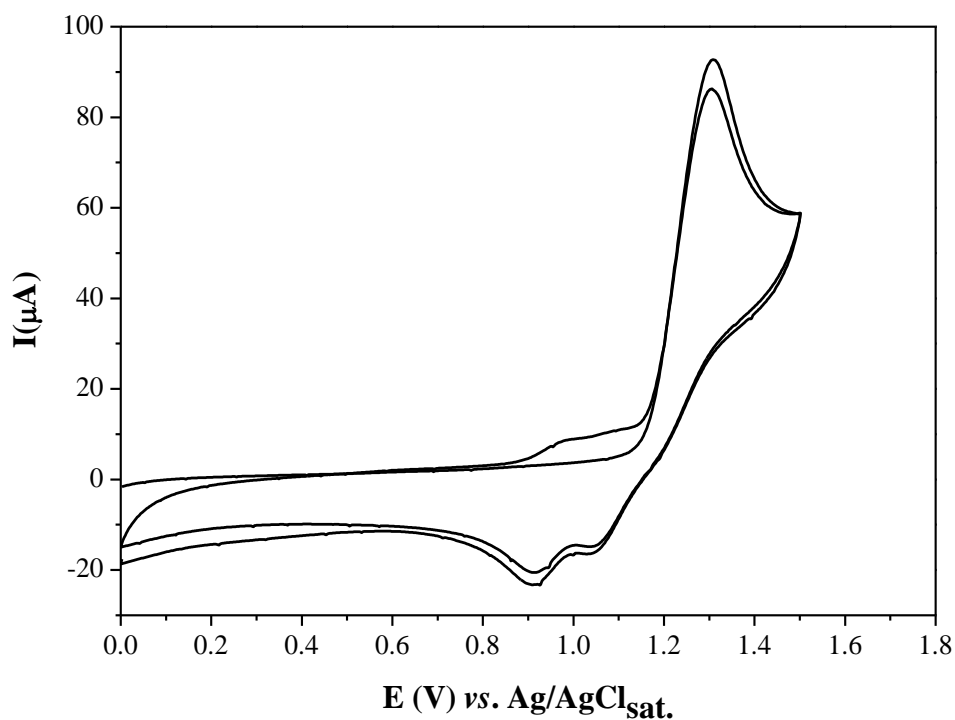


Fonte: O autor (2021)

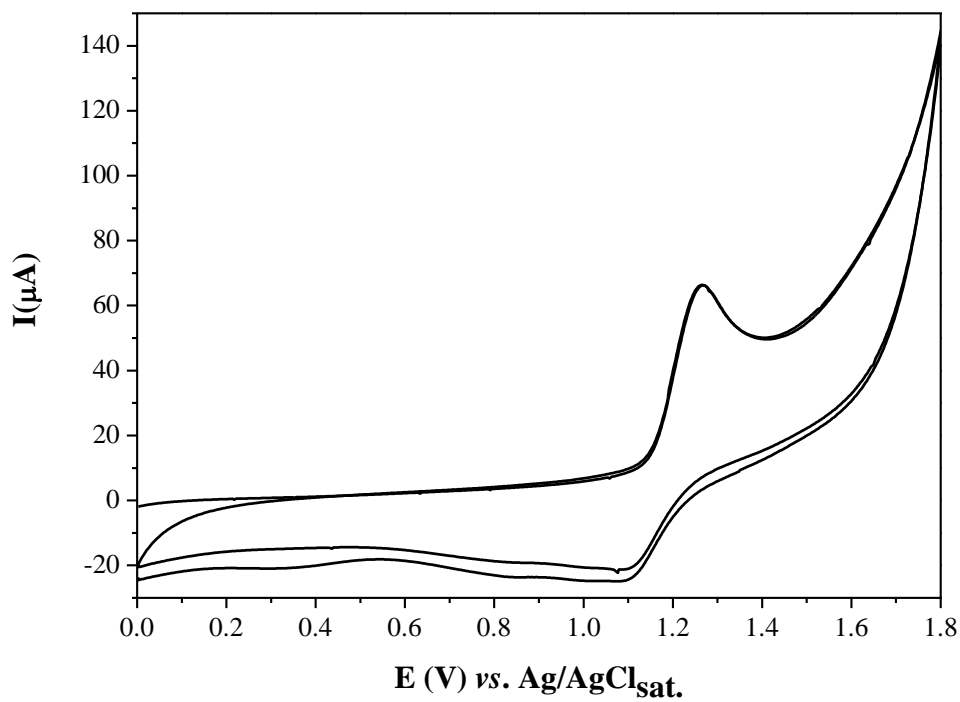
Tabela 18. Dados do cristal e refinamento da estrutura [Ru(flu)(dppe)₂]PF₆

Dados do cristal e refinamento da estrutura		
Fórmula empírica	C ₆₆ H ₅₇ F ₉ NO ₂ P ₅ Ru	
Massa molecular	1323,04 g	
Comprimento de onda	0,71073 Å	
Sistema Cristalino	Monoclínico	
Grupo Espacial	Cc	
Dimensões da célula unitária	a = 19,5508(6) Å	α = 90°
	b = 15,8677(5) Å	β = 99,713 (3) °
	c = 19,2157(7) Å	γ = 90°
Volume	5875,8(3) Å ³	
Densidade (calculada)	1,496 Mg/m ³	
Coefficiente de Absorção	0,479 mm ⁻¹	
Tamanho do cristal	0,36 x 0,15 x 0,10 mm ³	
Intervalo Theta para coleta de dados	2,635 to 25,748°	
Faixas de índice	-24 ≤ h ≤ 23, -19 ≤ k ≤ 19, -23 ≤ l ≤ 23	
Reflexões coletadas	29499	
Reflexões independentes	10863 [R(int) = 0,0237]	
Completude para Theta = 25,242°	99,9 %	
Método de refinamento	Mínimos quadrados de matriz completa em F ²	
Dados / restrições / parâmetros	10863 / 2 / 739	
Adequação do ajuste em F ²	1,115	
Índices R finais [I > 2σ(I)]	R1 = 0,0380, wR2 = 0,0938	
Índices R (todos os dados)	R1 = 0,0488, wR2 = 0,1037	
Coefficiente de extinção	0,31(2)	
Maior diferença pico e buraco	0,313 and -0,521 e.Å ⁻³	

APÊNDICE I – Voltamogramas

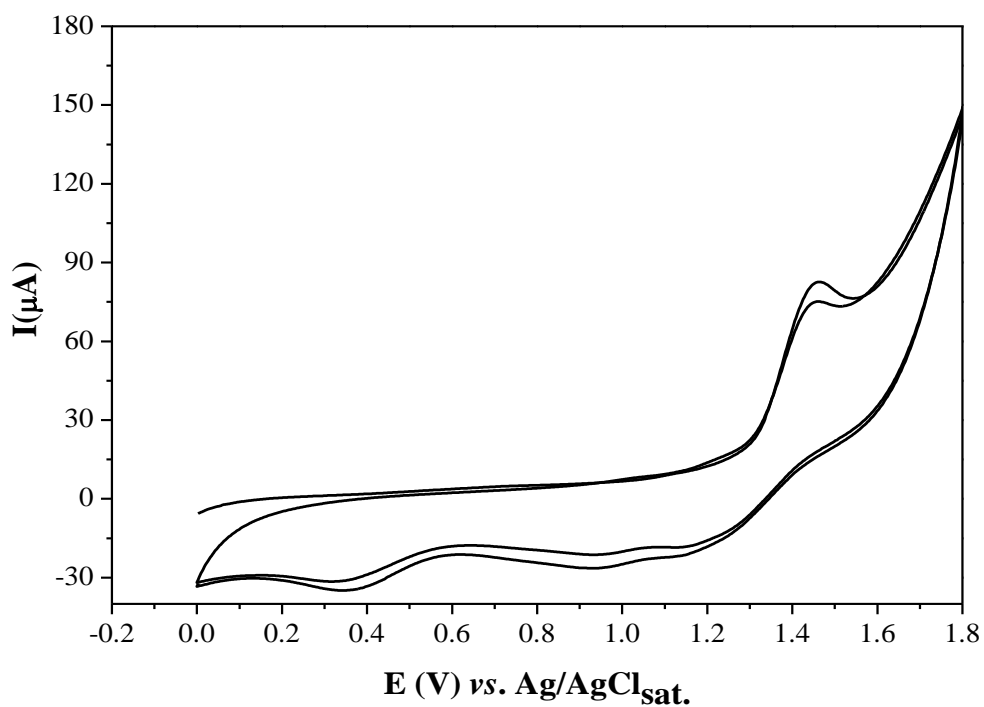
Figura I 1. Voltamograma cíclico para o complexo $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CH_2Cl_2 ($1 \cdot 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ de PTBA)

Fonte: O autor (2021)

Figura I 2. Voltamograma cíclico para o complexo $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CH_2Cl_2 ($1 \cdot 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ de PTBA)

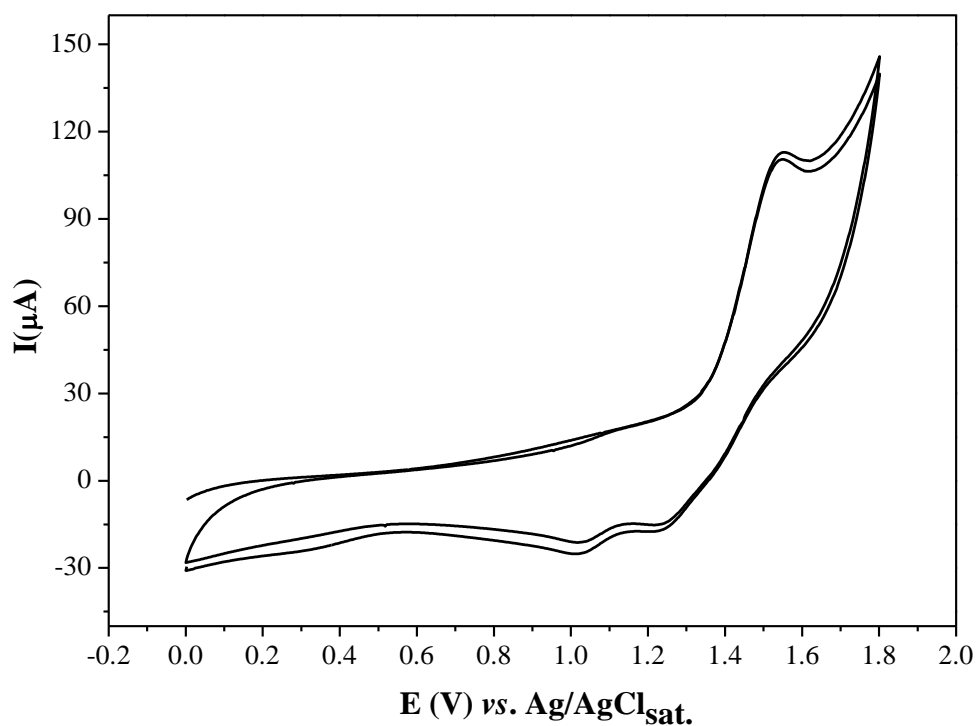
Fonte: O autor (2021)

Figura I 3. Voltamograma cíclico para o complexo $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CH_2Cl_2 ($1.10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ de PTBA)



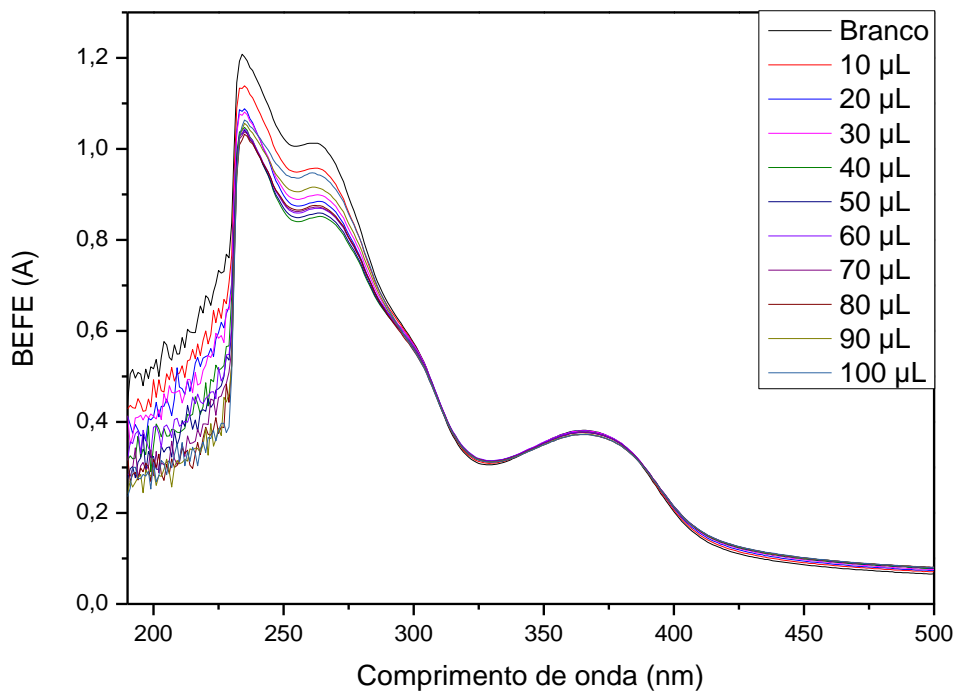
Fonte: O autor (2021)

Figura I 4. Voltamograma cíclico para o complexo $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ em CH_2Cl_2 ($1.10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ de PTBA)

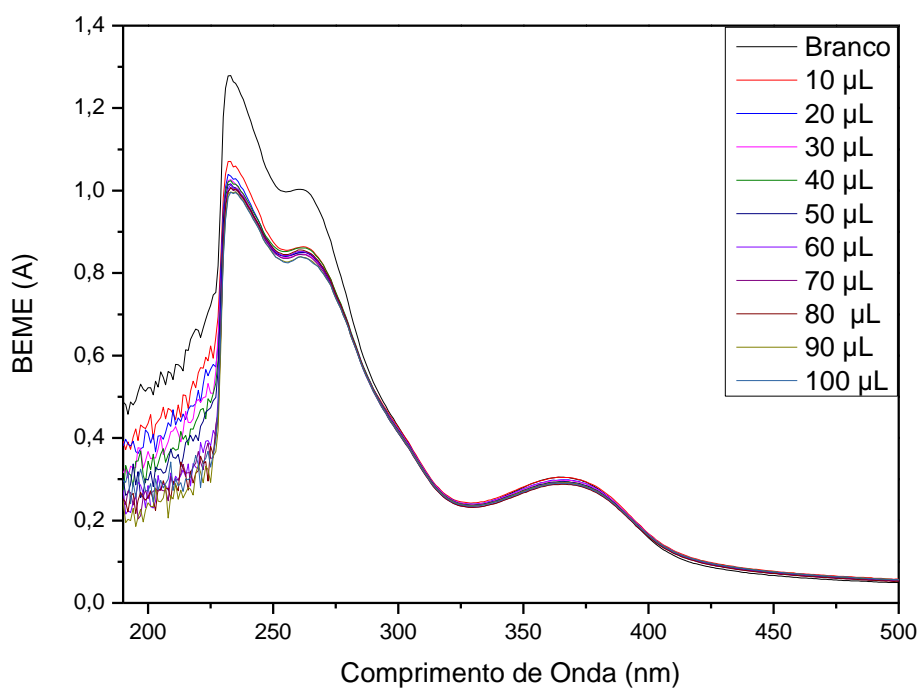


Fonte: O autor (2021)

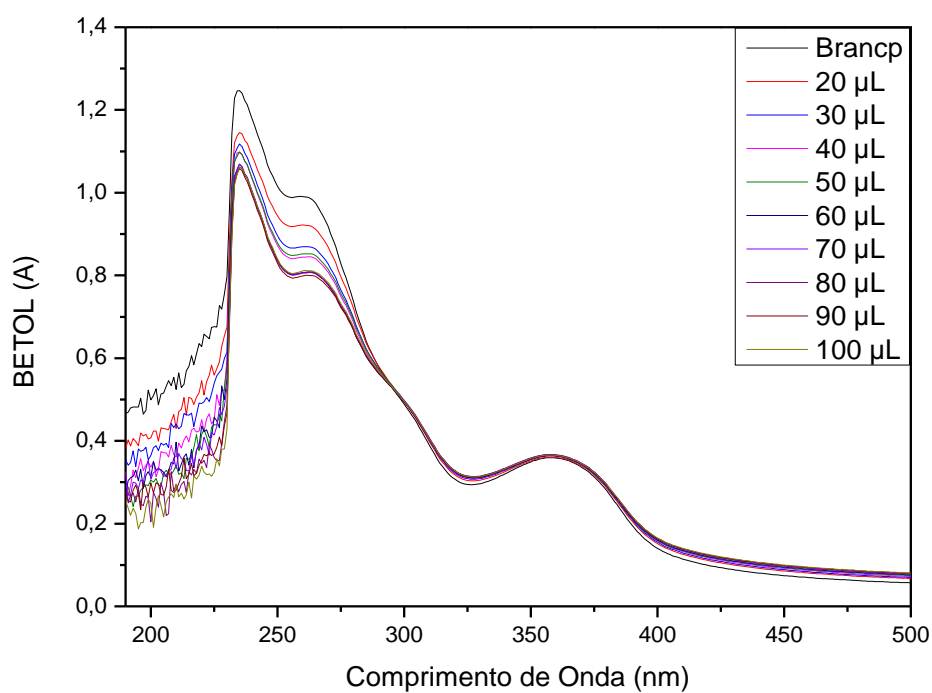
APÊNDICE J – Interação com DNA por titulações espectroscópicas

Figura J 1. Espectroscopia Ultravioleta do composto $[\text{Ru}(\text{fe})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ 

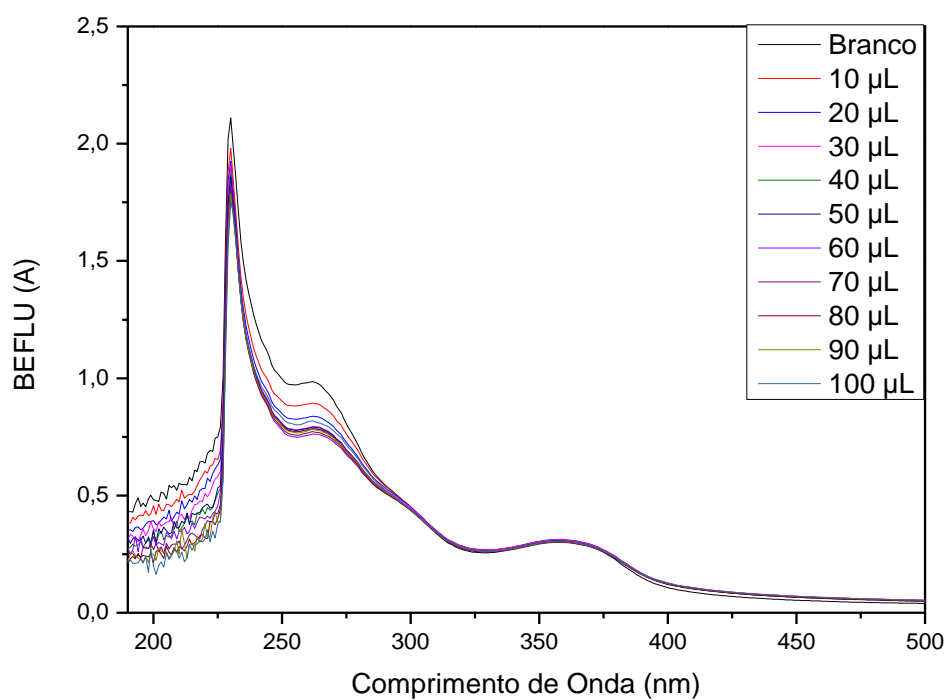
Fonte: O autor (2021)

Figura J 2. Espectroscopia Ultravioleta do composto $[\text{Ru}(\text{me})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ 

Fonte: O autor (2021)

Figura J 3. Espectroscopia Ultravioleta do composto $[\text{Ru}(\text{tol})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ 

Fonte: O autor (2021)

Figura J 4. Espectroscopia Ultravioleta do composto $[\text{Ru}(\text{flu})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ 

Fonte: O autor (2021)