



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JOSÉ MARCOS DA SILVEIRA CARVALHO

**DESENVOLVIMENTO DE NOVOS COMPLEXOS FOSFÍNICOS DE RUTÊNIO COM
POTENCIAL ANTICÂNCER E BACTERICIDA**

FORTALEZA

2018

JOSÉ MARCOS DA SILVEIRA CARVALHO

DESENVOLVIMENTO DE NOVOS COMPLEXOS FOSFÍNICOS DE RUTÊNIO COM
POTENCIAL ANTICÂNCER E BACTERICIDA

Tese apresentada a coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química. Área de concentração: Química Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Henrique S. de Sousa.

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C324d Carvalho, José Marcos da Silveira.

Desenvolvimento de novos complexos fosfínicos de rutênio com potencial anticâncer e bactericida / José Marcos da Silveira Carvalho. – 2018.

174 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2018.

Orientação: Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa .

Coorientação: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes.

1. Rutênio. 2. Fosfinas. 3. Monóxido de carbono. 4. Câncer. I. Título.

CDD 540

JOSÉ MARCOS DA SILVEIRA CARVALHO

DESENVOLVIMENTO DE NOVOS COMPLEXOS FOSFÍNICOS DE RUTÊNIO COM
POTENCIAL ANTICÂNCER E BACTERICIDA

Tese apresentada a coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química. Área de concentração: Química Inorgânica.

Aprovada em: 31/01/2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Eduardo Henrique S. de Sousa (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Tercio de Freitas Paulo
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Marcos Carlos de Mattos
Universidade Estadual do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Jackson Rodrigues de Sousa
Universidade Estadual do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Claudenilson da Silva Clemente
Universidade Estadual do Ceará (UFC)

Dedico este trabalho a minha família especialmente a minha mãe e a minha namorada, Amanda, que sempre me deram apoio total para que tudo na minha vida desse certo.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de financiamento 001.

À Deus por permitir que eu chegasse até este momento, me dando forças para não desistir e me erguer nos momentos que fraquejei.

À minha namorada, Amanda, por estar sempre ao meu lado apoiando, cuidando de mim e trazendo alegria e conforto nos momentos difíceis.

À minha mãe e meu pai, por terem me trazido a este mundo e por terem me criado, mesmo que sem muitas condições financeiras, mas souberam me passar os reais valores da vida e me tornaram a pessoa que sou hoje.

À minha irmã Edneusa que sempre me apoiou, porque sei que por mais que brigamos em alguns momentos tenho certeza de que sempre teremos a amizade um do outro e apoio nos momentos difíceis que a vida às vezes nos proporciona.

Gostaria de agradecer, em especial ao aluno de doutorado Florêncio, por ser uma pessoa cooperativa, que me ajudou muito, principalmente nos momentos finais deste trabalho.

Ao meu amigo professor Sergio Xavier, pelos conhecimentos que me foram transmitidos através dos nossos inúmeros diálogos, tendo sido capaz, quando ninguém mais pôde ser, de sanar muitas dúvidas capciosas que eu tive em muitos momentos ajudando a mostrar o caminho a ser seguido no trabalho e no ramo pessoal.

Ao meu amigo baiano, professor Carlos Daniel, pelas grandes discussões científicas durante esses anos, por ter sido um grande amigo e conselheiro, tendo me ajudado e aconselhado nos momentos mais difíceis.

A aluna de doutorado Gilmara, pela amizade e por sempre se mostrar prestativa, não apenas comigo, mas com todo o grupo, deixando em muitas ocasiões de fazer seu trabalho para nos ajudar.

Ao Prof. Dr. Eduardo Henrique S. Sousa, pela orientação e por mostrar sempre presença no laboratório, sempre mostrando o caminho e me guiando por esta longa jornada desde a iniciação científica.

Aos professores e alunos do Grupo de Bioinorgânica, pelas discussões científicas, amizade, boa convivência e por todo conhecimento que obtive neste

período. Seria difícil citar todos aqui, pois são muitos, mas todos tiveram sua participação na realização deste trabalho ou para o meu crescimento como pessoa e como cientista.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química, pela oportunidade de realização do curso de Doutorado.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

A todas as pessoas que não foram citadas, mas que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

“Nada pode ser obtido sem alguma espécie de sacrifício, é preciso oferecer em troca alguma coisa de valor equivalente. Esse é o princípio básico da alquimia, a lei da troca equivalente”

(Alfonse Elric - Fullmetal alchemist)

RESUMO

Neste trabalho foram sintetizados e caracterizados complexos fosfínicos de rutênio II coordenados aos ligantes de interesse biológico quinonas substituídas e dppz (ligante dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina). Em seguida, o ligante monóxido de carbono (CO) foi adicionado aos complexos com o intuito de combinar as propriedades farmacológicas descritas para o CO nos complexos CORMs (carbono monoxide releasing molecules) com o potencial anticâncer destes ligantes e de potencializar a atividade tumoral desta nova série de complexos, visando a minimização de efeitos colaterais ao organismo. Os complexos sintetizados foram caracterizados por técnicas eletroquímicas e espectroscópicas e os resultados experimentais foram comparados com os obtidos a partir de estudos de DFT (Teoria do Funcional da Densidade). As medidas eletroquímicas mostraram-se condizentes com as espectroscópicas e estas por sua vez estão de acordo com os estudos teóricos, sugerindo que as bases utilizadas nos cálculos de DFT são capazes de descrever os perfis vibracionais e eletrônicos dos complexos. Foi observada uma correlação entre os substituintes do anel dos ligantes quinonas, em que ligantes aceptores de densidade eletrônica estabilizam os orbitais dos complexos, enquanto substituintes de natureza doadora de densidade eletrônica tendem a aumentar a energia destes orbitais. Esta observação pode vir a ser útil para o planejamento de novos compostos otimizados que visem a diminuição da energia necessária para a ocorrência de reações fotoquímicas, de forma a facilitar a utilização em terapia fotodinâmica. Os ensaios de citotoxicidade *in vitro* demonstraram que os complexos sintetizados apresentaram potencial antineoplástico frente as linhagens tumorais HCT-116 (próstata) e PC-3 (colón), também foi observada atividade frente bactérias do tipo gram-positivo.

Palavras-chave: Rutênio; fosfinas; monóxido de carbono; câncer.

ABSTRACT

In this work, it were synthesized phosphinic ruthenium II complexes containing the biological interesting ligands quinone derivatives and dppz (dipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazine). After that, carbon monoxide ligand (CO) was added to the complexes in order to combine the pharmacological properties described to the CO in the CORM (carbon monoxide release molecule) complexes with the anticancer activity of those ligands, boosting the antitumor action of this new series of complexes and minimizing the side effects to the organism. The synthesized complexes were characterized through electrochemical and spectroscopic techniques, and the experimental results were compared to the ones obtained from DFT (Density Functional Theory) studies. Electrochemical measures showed coherence with the spectroscopic assays, which ones agreed with the theoretical studies, suggesting the selected basis for the DFT calculations are able to describe both electronic and vibrational profiles of the complexes. A correlation was observed among the ring substituents in the quinone ligands, in which electronic density acceptor ligands stabilizes the complexes orbitals and electronic density donors substituents enhance the energy of those orbitals. That observation can be useful to the planning of new optimized compounds that intends to reduce the energy necessary to the occurrence of photochemical reactions, facilitating their use in photodynamic therapy. *In vitro* cytotoxic assays demonstrated the synthesized complexes presented antineoplastic potential against the tumor cell lines HCT-116 (colon) and PC-3 (prostate). Bactericide effect was also observed against gram-positive cultures.

Keywords: Ruthenium; phosphines; carbon monoxide; cancer.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Representação das interações metal-ligante:1= ligação σ ; 2= retrodoação π .	26
Figura 2	– Ângulo de cone de Tolman para PR_3 .	27
Figura 3	– Processos reversíveis de oxirredução das quinonas.	28
Figura 4	– Ligantes polipiridínicos.	29
Figura 5	– Estruturas dos compostos liberadores de CO, CORM-3 e CORM-A1.	30
Figura 6	– Estruturas dos complexos sintetizados.	32
Figura 7	– Espectros de emissão dos LEDs utilizados.	45
Figura 8	– Placas de LEDs de 96 poços, nas cores: vermelho (A), amarelo (B), verde (C), azul (D), branco (E) e UV(F).	46
Figura 9	– Esquema eletrônico da placa de LEDs de 96 poços (A) e placa de LEDs de 96 poços (B).	46
Figura 10	– Placa de circuito impresso dos LEDs para cubeta (A) e esquema da soldagem dos componentes na placa (B).	47
Figura 11	– Reatores de LEDs para cubetas, A= UV, B=Azul e C=Verde.	48
Figura 12	– Esquema eletrônico do reator de LEDs com potenciômetro.	48
Figura 13	– Espectro de massas teórico para o íon Ru^+ .	49
Figura 14	– Espectro de massas de alta resolução (ESI-MS) para o complexo <i>cis</i> - $[RuCl_2(dppb)(NN-F)]$ em acetonitrila (A) e simulado (B).	51
Figura 15	– Espectro de massas de alta resolução (ESI-MS) para o complexo <i>cis</i> - $[RuCl_2(dppb)(NN-Met)]$ em acetonitrila (A) e simulado (B).	52
Figura 16	– Espectro de massas de alta resolução (ESI-MS) para o complexo <i>cis</i> - $[RuCl_2(dppb)(NN-Br)]$ em acetonitrila (A) e simulado (B).	53
Figura 17	– Faixa de deslocamento químico para as diferentes espécies coordenadas de ^{31}P .	57
Figura 18	– Estruturas dos dois isômeros constitucionais gerados pela coordenação dos ligantes assimétricos NN-R.	58
Figura 19	– Comparação dos Espectro de RMN de $^{31}P\{^1H\}$ dos complexos do tipo <i>cis</i> - $[RuCl_2(dppb)(NN-R)]$ e <i>cis</i> - $[RuCl_2(dppb)(NN-R_2)]$ em	

CH ₂ Cl ₂ a 60 MHz, calibrados com ácido fosfórico.....	60
Figura 20 – Correlação dos valores de deslocamento químico de ³¹ P (fosforo trans ao ligante NN) com o parâmetro de Hammett com σ-para (A), correlação dos valores de deslocamento químico de ³¹ P versus comprimento de ligação Ru-P calculados para os complexos da série 1.....	61
Figura 21 – Espectro de RMN de ³¹ P{ ¹ H} do complexo <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(NN-Br)] em CDCl ₃ obtido a 400 MHz.....	63
Figura 22 – Espectro de RMN de ³¹ P{ ¹ H} do complexo <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(NN-F)] em CDCl ₃ a 400MHz.....	63
Figura 23 – Espectro de RMN de ³¹ P{ ¹ H} do complexo <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(NN-Met)] em CDCl ₃ a 400MHz.....	64
Figura 24 – Espectro de RMN de ³¹ P{ ¹ H} do complexo <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(NN-COOH)] em CDCl ₃ a 400MHz.....	64
Figura 25 – Possíveis espécies formadas a partir do complexo Ru-NN-COOH.....	66
Figura 26 – Espectros de IV Experimentais para os complexos da série 1 dispersos em pastilha de KBr (preto,) e teóricos (vermelho) para os complexos isolados no vácuo.....	68
Figura 27 – Diagramas de energia dos orbitais moleculares selecionados (OMs), em função do substituinte R, para os complexos da série 1.....	71
Figura 28 – Efeito do substituinte R nos espectros de UV-vis para os complexos da série 1 em metanol (A). Gráfico do parâmetro de Hammett σ-para versus λ _{máx} Experimental (triângulos verdes) e λ _{máx} teórico (círculos azuis) para os complexos da série 1(B).....	72
Figura 29 – Diagrama de energia para os orbitais dos complexos da série 1, com seus respectivos gráficos de composição dos seus orbitais moleculares.....	75
Figura 30 – Espectros eletrônicos experimentais (preto), teóricos (vermelho) e força de oscilador (azul) para os complexos da série 1, Ru-NN-Dmet (A), Ru-NN-Met (B), Ru-NN(C), Ru-NN-F (D), Ru-NN-Br(E),	

	Ru-NN-COOH(F) e Ru-NN-NO ₂ (G).....	78
Figura 31	– Voltamograma cíclico dos complexos da série 1. Eletrodo de trabalho platina, eletrólito suporte: 0,1 mol L ⁻¹ de PTBA em CH ₂ Cl ₂ e v = 100 mV s ⁻¹	81
Figura 32	– Correlação entre o potencial de meia onda(E _{1/2}) e o parâmetro de Hammett σ (A), e correlação entre energia do HOMO e o parâmetro de Hammett σ (B).....	83
Figura 33	– Espectro de massa de alta resolução (ESI-MS) (A) e espectro simulado (B) para o complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(NN-Dmet)] ⁺ em acetonitrila.....	84
Figura 34	– Espectro de massa de alta resolução (ESI-MS) (A) e espectro simulado (B) para o complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(NN-Met)] ⁺ em acetonitrila.....	85
Figura 35	– Espectro de RMN de ³¹ P{ ¹ H} do complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(NN-Dmet)]PF ₆ em CH ₂ Cl ₂ obtido a 60 MHz.....	88
Figura 36	– Espectro de RMN de ³¹ P{ ¹ H} do complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(NN-Met)]PF ₆ em CH ₂ Cl ₂ obtido a 60 MHz.....	88
Figura 37	– Espectros de IV experimentais (preto, em pastilha de KBr) e teóricos (vermelho, vácuo) para os complexos NN-Met-CO (A) e NN-Dmet-CO (B).....	91
Figura 38	– Espectros eletrônicos experimentais (preto), teóricos em metanol (vermelho) e força de oscilador (azul) para os complexos da série 2, <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(NN-Met)] ⁺ (A), e <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(NN-DMet)] ⁺ (B).....	93
Figura 39	– Diagrama de energia para os orbitais dos complexos <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(NN-Met)] ⁺ (A), <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(NN-Met)] ⁺ (B) e <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(NN)] ⁺ (C), com seus respectivos gráficos de composição dos orbitais moleculares.....	95
Figura 40	– Espectro de massas de alta resolução (ESI-MS) do complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF ₆ em acetonitrila (A) e Espectro de massa simulado para o complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF ₆ (B).....	99

Figura 41 – Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para os complexos <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(dppz)] (azul) e <i>cis</i> -[Ru(CO)Cl(dppb)(dppz)]PF ₆ (vermelho) em CH ₂ Cl ₂ a 60MHz.....	101
Figura 42 – Espectro de RMN ^1H para o complexo <i>cis</i> -[Ru(CO)Cl(dppb)(dppz)]PF ₆ em (CD ₃) ₂ CO a 500 MHz (A), ampliações da região de aromáticos (B).....	102
Figura 43 – Espectro de RMN ^1H 2D (COSY) para o complexo <i>cis</i> -[Ru(CO)Cl(dppb)(dppz)]PF ₆ em (CD ₃) ₂ CO a 500 MHz.....	103
Figura 44 – Espectros vibracionais na região do infravermelho dos complexos <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(dppz)](azul), <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF ₆ em pastilha de KBr (vermelho) e <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)] ⁺ teórico no vácuo (preto).....	104
Figura 45 – Diagramas de energia dos principais orbitais moleculares dos complexos <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(dppz)] e <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)] ⁺ calculados por DFT-TD.....	106
Figura 46 – Espectros eletrônicos na região do UV-vis em metanol, experimental (A) e teórico (B), para os complexos <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(dppz)] (preto), <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF ₆ (vermelho) e <i>cis</i> -[RuCl(MeOH)(dppb)(dppz)] ⁺ (azul).....	107
Figura 47 – Contribuição percentual dos ligantes Cl ⁻ , CO, dppb, dppz e do centro metálico Ru ⁺² para a formação dos orbitais moleculares dos complexos <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(dppz)] e <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)] ⁺	108
Figura 48 – Voltamograma cíclico dos complexos <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF ₆ (vermelho) e <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(dppz)] (azul), eletrodo de carbono-vítreo em C ₂ H ₃ N em PTBA 0,1 mol L ⁻¹ a 100 mV s ⁻¹	110
Figura 49 – Ensaio de liberação fotoquímica de CO para o complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)] ⁺ monitorada pelo por meio da mioglobina, utilizando o LED azul (A) e traço cinético em 424 nm (B).....	112
Figura 50 – Perfil cromatográfico observado para o gás liberado pelos	

complexos da série 2, em DMSO/H ₂ O (1:9 v/v) sob irradiação de luz azul (Vermelho) e perfil cromatográfico observado para o padrão de monóxido de carbono (preto).....	113
Figura 51 – Perfil cromatográfico observado para o gás liberado pelo complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)] ⁺ , em DMSO/H ₂ O (1:9 v/v) sob irradiação de luz azul (A) e curva de calibração utilizada para a quantificação do CO liberado (B).....	114
Figura 52 – Monitoramento de uma solução do complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)] ⁺ em tampão fosfato pH 7,4 e 20% de DMF a 37°C, por espectroscopia eletrônica na região do UV-vis..	115
Figura 53 – Estudo de reatividade do complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)] ⁺ 20 μmol L ⁻¹ frente a glutathione a 1 mmol L ⁻¹ em tampão fosfato 50 mmol L ⁻¹ , pH=7,4 contendo 20% de DMSO a 25°C.....	116
Figura 54 – Estudo de reatividade do complexo Ru-NN-Br 10 μmol L ⁻¹ em tampão fosfato 100 mmol L ⁻¹ , pH=7,4 contendo 20% de DMSO a 25 ° C, frente a glutathione a 30 μmol L ⁻¹ (A), 100 μmol L ⁻¹ (B) e 10 mmol L ⁻¹ (C).....	117
Figura 55 – Titulação de 100uL de uma solução 10μ mol L ⁻¹ do complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppzi)]PF ₆ em tampão tris 10 mmol L ⁻¹ pH=7,4, com adições sucessivas de 5,2 nmol de CT-DNA (A). Gráfico linear de [DNA]/(ε _a -ε _f) versus [DNA] utilizado para a determinação de K _b	119
Figura 56 – Acompanhamento por espectroscopia na região do UV-vis de uma solução contendo 300 μmol L ⁻¹ de guanina, 30 μmolL ⁻¹ do complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)] ⁺ em tampão fosfato pH 7,4 a 50 mmol L ⁻¹ (A). Variação da absorvância nos comprimentos selecionados em função do tempo (B).....	120
Figura 57 – Titulação de 100uL de uma solução 10μ mol L ⁻¹ do complexo <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(NN-Br)] 10μ mol L ⁻¹ em tampão tris 10 mmol L ⁻¹ pH=7,4, com adições sucessivas de 5,2 nmol de de CT-DNA (A)..	120
Figura 58 – Mudanças espectroscópicas do complexo <i>cis</i> -[RuCl(dppb)(dppz)CO] ⁺ em acetonitrila (A), DMF (B), DMSO (C), Metanol (D) e PBS/DMF (tampão fosfato 50 mmol L ⁻¹ ,	

pH=7,4 contendo 20% de DMF) durante a irradiação com LED azul a 25°C (E)..... 122

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2016 por sexo, exceto pele não melanoma*	23
Tabela 2	– Valores de tensão suportados, corrente, comprimento de onda e potência luminosa para as diferentes cores de LEDs.....	45
Tabela 3	– Valores de m/z (M/Z C =calculado e M/Z EX=experimental) e atribuições com seus respectivos erros para o complexo Ru-NN-Br.....	54
Tabela 4	– Valores de comprimento de ligação teóricos Pt-Ru (fosforo trans ao ligante NN) e Pc-Ru (fosforo <i>cis</i> ao ligante NN) para os complexos da série 1.....	62
Tabela 5	– Atribuição dos principais modos vibracionais para os complexos da série 1, (Experimental/DFT).....	69
Tabela 6	– Parâmetros de Hammett: σ -meta e σ -para para os grupos substituintes: H, CH ₃ , F, Br, COOH e NO ₂	73
Tabela 7	– Principais transições eletrônicas obtidas por TD-DFT/B3LYP para os complexos da série 1 em metanol (L=LUMO e H=HOMO), força de oscilador (f) e suas atribuições.....	80
Tabela 8	– Dados de Voltametria Cíclica obtidos para os complexos da série 1 em CH ₂ Cl ₂ 0,1molL ⁻¹ de PTBA, 100mVs ⁻¹ versus ferroceno (fc)..	82
Tabela 9	– Valores de m/z atribuições com seus respectivos erros para os complexos da série 2.....	86
Tabela 10	– Dados comparativos dos comprimentos de ligação Pt-Ru (fosforo trans ao ligante L) e Pc-Ru (fosforo <i>cis</i> ao ligante L) para alguns complexos da série 1 e 2, valores teóricos (T) e experimental (EX).....	89
Tabela 11	– Atribuição dos principais modos vibracionais para os complexos da série 2, IV experimental (Ex) e teórico (T).....	92
Tabela 12	– Principais transições eletrônicas obtidas experimentalmente e por TD-DFT/B3LYP para os complexos da série 2 em metanol.....	97
Tabela 13	– Valores de m/z (M/Z C =calculado e M/Z EX=experimental) e atribuições com seus respectivos erros para o complexo	98

<i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)] ⁺	
Tabela 14 – Atribuição das principais frequências vibracionais do complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF ₆	105
Tabela 15 – Principais transições eletrônicas obtidas por TD-DFT/B3YLT para o complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)] ⁺ em metanol.....	109
Tabela 16 – Tempo de retenção para os padrões: monóxido de carbono (CO), metanol, etanol, acetona, formaldeído, acetaldeído e dióxido de carbono (CO ₂) em CD-TDC.....	113
Tabela 17 – Tempo de meia vida para a reação de fotólise do complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)] ⁺ utilizando o LED azul.....	123
Tabela 18 – Resultados de CIM e CBM para os complexos Ru-NN-COOH e Ru-DPPZ-CO, frente as bactérias <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Escherichia coli</i>	124
Tabela 19 – Valores de IC ₅₀ (μM) obtidos em ensaios de citotoxicidade in vitro contra linhagem HCT-116, PC-3 e SF-295.....	124

ABREVIATURAS E SIGLAS

CMI	Concentração inibitória mínima
CBM	Concentração bactericida mínima
CORMs	<i>Carbon monoxide releasing molecules</i> (Moléculas liberadoras de CO)
COSY	<i>Homonuclear correlation spectroscopy</i> (espectroscopia de correlação heteronuclear)
CT-DNA	Calf thymus (Timo de bezerro) DNA
DMF	N,N-Dimethylmethanamide
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucléico
dppb	1,4-bis(difenilfosfina)butano
dppe	1,4-bis(difenilfosfina)etano
dppz	Dipiridofenazina (ligante dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina)
Fc	Ferroceno
HOMO	Orbital molecular ocupado de maior energia
IV	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho
LUMO	Orbital molecular desocupado de menor energia
MLCT	Transição eletrônica do tipo transferência de carga metal-ligante
ND	Não foi possível determinar na faixa de concentração utilizada
NH ₄ PF ₆	Hexafluorofosfato de amônio
NN	ciclohexa-3,5-dieno-1,2-diimina
NN-Br	4-bromociclohexa-3,5-dieno-1,2-diimina
NN-COOH	Ácido 3,4-diiminaciclohexa-1,5-dieno-1-oico
NN-Dmet	4,5-dimethylciclohexa-3,5-dieno-1,2-diimina
NN-F	4-fluorociclohexa-3,5-dieno-1,2-diimina
NN-Met	4-methylciclohexa-3,5-dieno-1,2-diimina
NN-NO ₂	4-nitrociclohexa-3,5-dieno-1,2-diimina
PTBA	Perclorato de tetrabutílamônio
Ru-DPPZ-CO	Complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF ₆
Ru-NN	Complexo <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(NN)]

Ru-NN-Br	Complexo <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(NN-Br)]
Ru-NN-COOH	Complexo <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(NN-COOH)]
Ru-NN-Met	Complexo <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(NN-Met)]
Ru-NN-Dmet	Complexo <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(NN-Dmet)]
Ru-NN-NO ₂	Complexo <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(NN-NO ₂)]
Ru-NN-F	Complexo <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(NN-F)]
Ru-NN-Dmet-CO	Complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(NN-Dmet)] ⁺
Ru-NN-Met-CO	Complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(NN-Met)] ⁺
Ru-NN-CO	Complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(NN)] ⁺
Ru-DPPZ	Complexo <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppb)(dppz)]
Ru-DPPZ-CO	Complexo <i>cis</i> -[RuCl(CO)(dppb)(dppz)] ⁺
RMN	Ressonância magnética nuclear
UFC mL ⁻¹	Unidade Formadora de Colônia por mililitros
UV	Ultravioleta
UV-vis	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta/visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	23
1.1	Câncer.....	23
1.2	Metais de transição no tratamento do câncer.....	24
1.3	Complexos de rutênio.....	25
1.4	Ligantes fosfínicos.....	26
1.5	Ligantes derivados de quinonas (NN-R e NN-R2) e fenazinas (DPPZ).....	27
1.6	Monóxido de carbono.....	29
2	OBJETIVOS.....	31
2.1	Gerais.....	31
2.2	Específicos.....	31
3	PROCEDIMENTOS.....	33
3.1	Reagentes e soluções.....	33
3.1.1	<i>Atmosfera de argônio.....</i>	33
3.1.2	<i>Solventes.....</i>	33
3.1.3	<i>Ligantes e Reagentes Químicos.....</i>	33
3.1.4	<i>Gases CO (monóxido de carbono) e cloro (Cl₂).....</i>	33
3.2	Instrumentação e procedimento experimental.....	34
3.2.1	<i>Espectroscopia de Absorção Eletrônica na Região do Ultravioleta e Visível (UV-vis).....</i>	34
3.2.2	<i>Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho.....</i>	34
3.2.3	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....</i>	34
3.2.4	<i>Espectrometria de Massas de Alta Resolução (ESI-MS).....</i>	34
3.2.5	<i>Voltametria Cíclica (VC).....</i>	35
3.3.	Sínteses.....	35
3.3.1	<i>[RuCl₂(PPh₃)₃].....</i>	35
3.3.2	<i>[RuCl₂(dppb)]₂(μ-dppb).....</i>	36
3.3.3	<i>[RuCl₃(dppb)(H₂O)].....</i>	36
3.3.4	<i>Sínteses dos complexos do tipo cis-[RuCl₂(dppb)(NN-R)] e cis-[RuCl₂(dppb)(NN-R₂)].....</i>	36

3.3.5	Síntese dos complexos do tipo <i>cis</i>-[RuCl(CO)(dppb)(NN-R)]PF₆ e <i>cis</i>-[RuCl(CO)(dppb)(NN-R₂)]PF₆.....	38
3.3.6	Síntese do ligante dppz.....	38
3.3.7	Síntese do complexo <i>cis</i>-[RuCl(dppb)(dppz)CO]PF₆ (Ru-DPPZ-CO).....	39
3.4	Ensaio biológico.....	40
3.4.1	Ensaio bacteriológico.....	40
3.4.1.1	<i>Diluições seriadas dos complexos Ru-NN-COOH e Ru-DPPZ-CO.....</i>	40
3.4.1.2	<i>Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM).....</i>	41
3.4.1.3	<i>Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM).....</i>	41
3.4.2	Ensaio de citotoxicidade.....	42
3.4.2.1	<i>Teste de concentração única.....</i>	43
3.4.2.2	<i>Determinação da IC₅₀.....</i>	43
3.4.2.1	<i>Análise Estatística.....</i>	43
3.5	DFT e TD-DFT.....	43
3.6	Construção das placas de LEDs para os ensaios fotoquímicos.....	44
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
4.1	Caracterização dos compostos do tipo NN-R e NN-R₂.....	49
4.1.1	Espectrometria de Massas de Alta Resolução.....	49
4.1.2	Ressonância Magnética Nuclear de ³¹P {¹H}.....	55
4.1.2.1	<i>Aspectos teóricos sobre RMN de ³¹P.....</i>	55
4.1.2.2	<i>Caracterização dos complexos contendo os ligantes NN-R e NN-R₂ por RMN de ³¹P {¹H}.....</i>	57
4.1.3	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho.....	67
4.1.4	Espectroscopia Eletrônica na Região do Ultravioleta-Visível.....	70
4.1.5	Comportamento eletroquímico dos complexos.....	81
4.2	Caracterização dos complexos da série 2.....	83
4.2.1	Espectrometria de Massas de Alta Resolução.....	83
4.2.2	Ressonância magnética nuclear de ³¹P{¹H}.....	87
4.2.3	Espectroscopia vibracional na região do infravermelho.....	89
4.2.4	Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-Visível.....	92
4.3	Caracterização do composto <i>cis</i>-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ (Ru-DPPZ-CO).....	98

4.3.1	<i>Espectrometria de Massas de Alta Resolução</i>	98
4.3.2	<i>Ressonância Magnética Nuclear (RMN)</i>	99
4.3.3	<i>Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho</i>	103
4.3.4	<i>Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-Visível</i>	105
4.3.5	<i>Comportamento eletroquímico do complexo</i>	110
4.4	Estudos de Reatividade	111
4.4.1	<i>Estudos de Liberação de CO</i>	111
4.4.2	<i>Estudos de Estabilidade Térmica</i>	114
4.4.3	<i>Ensaio de interação com DNA</i>	118
4.4.4	<i>Estudos Fotoquímicos</i>	121
4.5	Ensaio Biológicos	123
4.5.1	<i>Ensaio Bacteriológicos</i>	123
4.5.2	<i>Resultados dos ensaios de atividade anticâncer</i>	124
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	125
	REFERÊNCIAS	128
	ANEXO A - ESTRUTURA DOS COMPOSTOS NN-R, NN-R₂, DPPZ-R E DPPZ-R₂	142
	ANEXO B - ESPECTROS DE INFRAVERMELHO EXPERIMENTAIS E TEÓRICOS	144
	ANEXO C – ESTRUTURA TRIDIMENSIONAL E DISTRIBUIÇÃO DA NUVEM ELETRÔNICA, CALCULADOS POR DFT, PARA OS PRINCIPAIS ORBITAIS DOS COMPLEXOS SINTETIZADOS	147
	ANEXO D – DIAGRAMA DE ENERGIAS DOS ORBITAIS MOLECULARES CALCULADOS POR DFT, PARA OS COMPLEXOS SINTETIZADOS	161
	ANEXO E – RMN DA FOSFINA DPPBTS	166
	ANEXO F – ACOMPANHAMENTO POR ESPETROSCOPIA UV-VIS DE UMA	167
	ANEXO G – ENSAIO DE LIBERAÇÃO FOTOQUÍMICA DE CO PARA O COMPLEXO Ru-NN-Dmet-CO MONITORADA PELO POR MEIO DA MIOGLOBINA, UTILIZANDO O LED UV	168
	ANEXO H – ESTUDOS COMPLEMENTARES REALIZADOS PARA O COMPLEXO <i>cis</i>-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ (Ru-DPPZ-CO)	169


ANEXO I – GRÁFICOS DE ENSAIOS COM AS CEPAS DE BACTÉRIAS CIM E CBM.....	174
---	------------

1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer

O câncer é responsável pela segunda maior taxa de óbitos no mundo, perdendo apenas para as doenças cardiovasculares, sendo responsável por cerca de 8,2 milhões de mortes e incidência de 14,1 milhões de novos casos por ano.^{1, 2} A organização mundial da saúde (OMS) prevê um crescente aumento no número de casos de câncer para as próximas décadas, principalmente em países de baixa e média renda, com mais de 20 milhões de novos casos de câncer esperados para 2025.³ Segundo o Instituto Nacional do Câncer (INCA), foram estimados no Brasil, para o ano de 2016, mais de 590 mil novos casos de câncer, sendo os tipos mais comuns diagnosticados listados na Tabela 1.

Tabela 1-Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2016 por sexo, exceto pele não melanoma*.

Localização primária	Casos	%		Localização primária	Casos	%
Próstata	2.470	28,6%		Colo do Útero	1.970	23,1%
Estômago	970	11,2%		Mama Feminina	1.810	21,2%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	680	7,9%		Cólon e Reto	480	5,6%
Cólon e Reto	440	5,1%		Estômago	480	5,6%
Bexiga	370	4,3%		Traqueia, Brônquio e Pulmão	410	4,8%
Leucemias	310	3,6%		Glândula Tireoide	270	3,2%
Cavidade Oral	290	3,4%		Leucemias	250	2,9%
Laringe	250	2,9%		Ovário	250	2,9%
Linfoma não Hodgkin	230	2,7%		Corpo do Útero	230	2,7%
Sistema Nervoso Central	230	2,7%		Sistema Nervoso Central	190	2,2%

*Números arredondados para múltiplos de 10.

Fonte: INCA 2016

Devido à elevada ocorrência de casos desta doença, ao crescente aumento em sua incidência que vem ocorrendo nas últimas décadas e às previsões de crescimento significativo de novos casos para as próximas décadas, tem havido uma intensificação em pesquisas científicas por novas alternativas de combate aos mais diversos tipos de câncer.⁴⁻¹⁰ Com o crescente aumento nas pesquisas focadas no desenvolvimento de novas drogas potencialmente ativas contra neoplasias, tem havido um particular enfoque em pesquisas que possam melhorar a seletividade, uma vez que as drogas em uso clínico acabam afetando as células saudáveis do paciente.

Uma estratégia que tem se destacado no desenvolvimento de moléculas para o combate às células cancerosas, é a indução da célula à apoptose (morte celular programada) ativada por hipoxia.¹¹ As drogas que promovem apoptose são, geralmente atuam promovendo a inibição da replicação do DNA. Uma das maneiras mais comuns de indução de apoptose, é através da inibição de enzimas importantes que atuam nas etapas de reparação, replicação, transcrição e estruturação do DNA.¹²⁻¹⁴ Moléculas que combatem às células cancerosas, por este mecanismo, possuem uma seletividade maior, pois seu processo de ativação ocorre por uma diferenciação das células doentes, ou seja, são ativadas pelo ambiente redutor presente nas células cancerígenas, ocasionado pelo metabolismo elevado que consome muito oxigênio alterando vias metabólicas normais e gerando um microambiente redutor.¹⁵⁻¹⁷

1.2 Metais de transição no tratamento do câncer

A Química Bioinorgânica estuda os compostos inorgânicos que estão presentes no meio biológico, sejam eles introduzidos naturalmente ou artificialmente, seja para fins terapêuticos ou por contaminação. Sabe-se que a vida dos seres vivos necessita de diversos elementos químicos para sua manutenção, alguns em maior quantidade que outros, todavia cada elemento possui uma quantidade específica para a manutenção do equilíbrio biológico (homeostase), conseqüentemente a ausência, deficiência ou o excesso de um elemento essencial acarreta problemas de saúde ou até mesmo a morte.¹⁸

Embora seja sabido que vários metais de transição desempenham papéis importantes em diversos processos biológicos, a indústria farmacêutica é dominada pela química orgânica, e as drogas baseadas em metais são muitas vezes subestimadas. Isso se deve ao fato de ao longo da história os metais pesados terem

sido associados a casos de envenenamentos, o que acarretou o fato dos metais ficarem conhecidos por serem de “alta toxicidade”. Todavia este obstáculo não impediu que até este momento, diversos compostos de coordenação fossem aplicados em terapias de várias doenças, inclusive no tratamento do câncer.^{19, 20}

Os compostos de coordenação têm se destacado no tratamento contra o câncer, necessariamente na etapa de quimioterapia sendo os complexos de platina (Pt) a base dos tratamentos de inúmeros tipos de câncer.^{21, 22} A *cis*-platina, por exemplo, vem sendo utilizada no tratamento de câncer de ovário, testículo, bexiga e cervical, porém existem desvantagens no uso desse fármaco, tal como a sua insatisfatória seletividade, tornando este composto tóxico para células saudáveis; sua alta toxicidade leva o paciente a ter vários efeitos colaterais, sendo o principal a nefrotoxicidade, devido ao acúmulo deste composto nos rins, o que limita a dosagem que pode ser administrada.^{23, 24} A elevada toxicidade da *cis*-platina juntamente com a resistência desenvolvida a essa droga por alguns tipos de tumores, tem levado a busca por análogos da *cis*-platina e outras classes de compostos baseados em diferentes metais de transição para serem utilizados como alternativas no tratamento do câncer, tais como rutênio, gálio, ferro, titânio, cobre e ouro.^{25, 26}

1.3 Complexos de rutênio

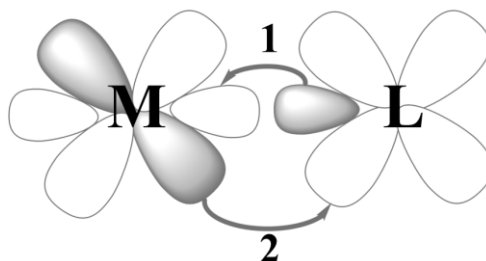
Os complexos de rutênio têm se destacado bastante na busca por novos fármacos contendo metais de transição.²⁷⁻³⁰ Alguns dos fatores para este destaque são: o elevado grau de desenvolvimento da química sintética dos complexos de rutênio e a estabilidade química de seus compostos, tornando possível a coordenação de diferentes tipos de ligantes, desde o mais simples íon cloreto às moléculas orgânicas complexas formando compostos bastante estáveis quanto à substituição de alguns ligantes. A capacidade de preparar compostos em estados de oxidação acessíveis em condições fisiológicas, possibilitando ação dos seus fármacos por mecanismos redox, sendo os estados de oxidação Ru(II) e Ru(III) similares aos compostos de platina(II) em termos de cinética de substituição de ligantes, possibilitando a sua atuação em mecanismos semelhantes ao dos complexos de Pt.³¹ A sua semelhança química com o ferro pode facilitar sua aplicação biológica, isso devido ao fato do organismo ser preparado para lidar com situações de excesso de ferro, sugere-se que os mesmos mecanismos de transporte e solubilização de ferro

podem ser aplicados ao rutênio.³² Outra vantagem é a capacidade de formar complexos com geometria octaédrica, proporcionando um número maior de ligantes e uma maior possibilidade de gerar diversidade espacial, podendo interagir com maior eficiência em diferentes alvos biológicos.^{f30, 33}

1.4 Ligantes fosfínicos

Os ligantes fosfínicos são ligantes neutros que possuem um par de elétrons disponíveis (em cada fósforo), sendo capaz de formar ligações σ estáveis. Também possuem orbitais p vazios com capacidade de realizar retrodoação com centros metálicos. Dessa forma estes ligantes capazes de atuar tanto como os ligantes do tipo aminas, realizando ligações σ doadoras fortes, como o monóxido de carbono realizando ligações π -aceptoras fortes (Figura 1).³⁴ Essas propriedades químicas tornam essa classe de ligante altamente versátil, concedendo a eles a capacidade de estabilizar metais de transição com diversos estados de oxidação, como nos complexos $[\text{Au}(\text{dppe})_2]^+$ (Au (I)) e $\text{mer-}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{ins})]$ (Ru(III)). Estes ligantes também exercem alterações importantes na reatividade dos centros metálicos, ferindo aos complexos formados um acentuado efeito *trans* labilizante.^{34, 35}

Figura 1- Representação das interações metal-ligante: 1= ligação σ ; 2= retrodoação π .

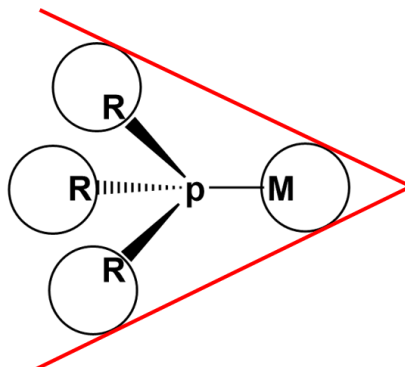


Fonte: Adaptado da referência 28.

A grande versatilidade dos ligantes fosfínicos se deve a possibilidade de variar os grupos substituintes ligados ao átomo de fósforo, por grupos doadores ou receptores de densidade eletrônica. A variação destes substituintes acarreta alterações na labilidade da ligação de alguns complexos do tipo P-M-L (Fosforo - Metal-Ligante) fornecendo a estes ligantes propriedades *trans* labilizante. Outro aspecto interessante das fosfinas é o impedimento estérico que podem proporcionar, dependendo do tamanho do substituinte R, em fosfinas do tipo PR_3 ou $\text{P}(\text{OR})_3$, sendo possível aumentar ou diminuir o ângulo de cone de Tolman (R-P-R) (Figura 2).³⁴ As propriedades *trans* labilizante juntamente com os efeitos estéricos dão às fosfinas a

capacidade de formar complexos estáveis que contenham um sítio facilmente dissociável, condição ideal para aplicação em catálise e para a citotoxicidade dessa classe de complexos.³⁴

Figura 2 - Ângulo de cone de Tolman para PR_3



Fonte: Elaborada pelo autor.

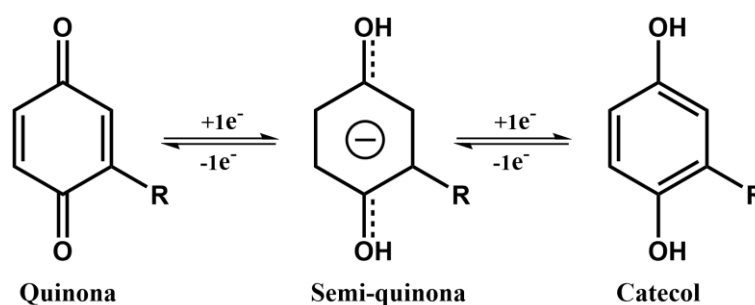
Os complexos de fosfinas também possuem uma importante atuação na área medicinal.³⁶ O estudo destes complexos aplicado à medicina foi impulsionado pela descoberta da atividade antiartrítica apresentada pelo complexo $[Au(Et_3P)(SGluAc_4)]$ (Auranofina) que foi liberado para o uso clínico nos Estados Unidos em 1985. Desde então, as atividades antitumorais deste tipo de composto passaram a ser bastante exploradas pelos pesquisadores, e estes estudos resultaram no surgimento de diversos complexos fosfínicos contendo diferentes centros metálicos, que vem sendo submetidos à avaliação de suas atividades antitumoral em diversas linhagens de células. Outras atividades vêm sendo descobertas, tais como sua atividade antimálica³⁷ e amebíase.³⁸

1.5 Ligantes derivados de quinonas (NN-R e NN-R₂) e fenazinas (DPPZ)

As quinonas são um grupo de substâncias orgânicas derivadas de compostos aromáticos como benzeno, naftaleno e antraceno contendo como substituintes dois grupos $C=O$ ou derivados de quinonas ($C=N$). Estas substâncias são bastante comuns na natureza e apresentam diversas atividades farmacológicas, tais como ação anticâncer,³⁹ fungicida,^{40, 41} tripanossomicida,⁴²⁻⁴⁴ anti-malarial,^{45, 46} moluscicida,^{47, 48} leishmanicida^{49, 50} dentre outras. Quinonas e seus derivados podem ser tóxicos para as células, principalmente, pela sua capacidade redox e intercalação com o DNA (ácido desoxirribonucleico), induzindo a geração de radicais livres e a quebras das fitas de DNA.⁵¹⁻⁵⁴

Segundo a literatura,⁵⁵ as propriedades redox das quinonas estão fortemente relacionadas à sua atividade antineoplásica, e em todos os casos a atividade está relacionada à biorredução das quinonas, pois estas substâncias são capazes de aceitar um ou dois pares de elétrons para formar espécies aniônicas radicalares ou espécies dianiônicas (Figura 3).^{53, 56} No organismo o processo de redução das quinonas no organismo é mediado por algumas enzimas redutases.^{45, 57, 58}

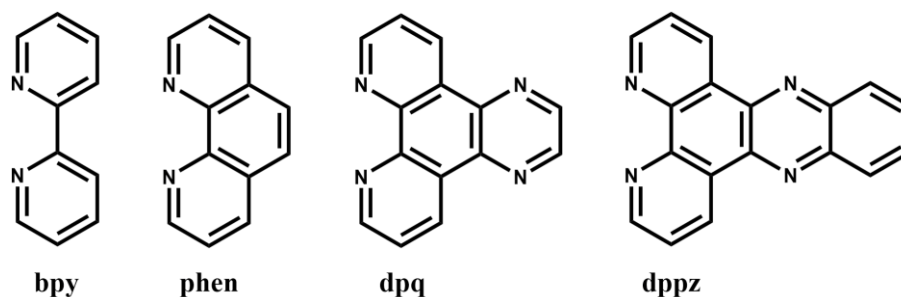
Figura 3 - Processos reversíveis de oxirredução das quinonas.



Fonte: Adaptado da referência 57.

Outra classe de ligantes que já vem sendo bastante estudada para a síntese de complexos metálicos com atividade anticancerígena são os ligantes polipiridínicos, os quais vem sendo utilizados com os mais diversos centros metálicos, exibindo potencial como ferramentas para a clivagem de DNA através de fotoirradiação, como é o caso do complexo $[Ru(phen)_2(dppz)]^{+3}$.^{33, 59} Os principais ligantes polipiridínicos utilizados são bipyridinas (bpy), fenantrolinas (phen), dipiridoquinoxilina (dpq) e dipiridofenazina (dppz =dipirido[2,3-a:2'3'-c]fenazina) (Figura 4). Dentre estes ligantes o dppz vem ganhando um destaque especial nas pesquisas por ter demonstrado uma elevada afinidade pelo DNA ($K_b \geq 10^6 M^{-1}$). Esse crescente interesse se deve ao fato deste ligante ser um sistema dotado de significativa rigidez e que juntamente com seu sistema aromático planar que favorece intercalação ao DNA, aliado a isso tem-se sua habilidade de coordenação bidentada tornando a ligação com centros metálicos muito estável, bem como atribuindo aos complexos propriedades fotoquímicas.^{33, 60}

Figura 4 - Ligantes polipiridínicos



Fonte: Elaborada pelo autor.

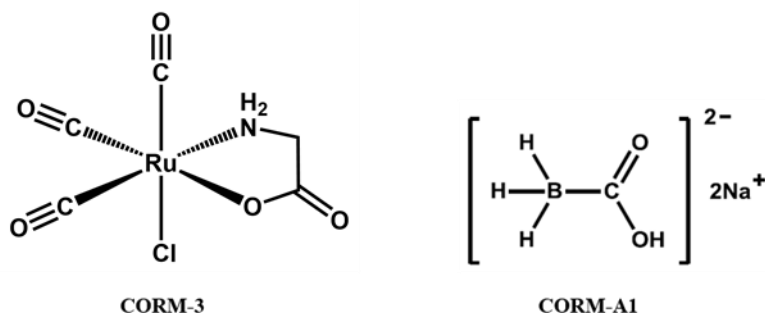
1.6 Monóxido de carbono

A utilização do CO como um agente farmacêutico emergiu lentamente, devido à resistência por parte da comunidade científica, que classificava esta molécula apenas como um gás tóxico. Hoje sabe-se que o CO desempenha um papel importante em um grande número de atividades biológicas, tais como: Potenciação de longo prazo do hipocampo,⁶¹ envolvimento no processo de Ingestão alimentar,⁶² participar do controle do gasto e/ou produção de energia em neurônios,⁶³ um dos causadores da hiperalgesia mecânica⁶⁴ associado a atividades endócrinas do hipotálamo inibindo a liberação do hormônio hipotalâmico liberador das corticotrofinas (CRH) e estimulando a liberação hipotalâmica⁶⁵ atuação como um fator de relaxamento vascular, reduzindo a contração do músculo liso dos vasos, especialmente das artérias pequenas,⁶⁶ regulador direto de uma proteína envolvida na atividade cíclica do núcleo supra quiasmático, um dos principais núcleos hipotalâmicos determinadores do ritmo circadiano,⁶⁷ inibidor do processo de agregação plaquetária,⁶⁸ envolvimento no processo de proliferação celular,⁶⁹ efeitos anti-inflamatórios inibindo a síntese de citocinas pró-inflamatórias,⁷⁰ influência a atividade contrátil do canal biliar,⁷¹ inibe a ação de determinados fatores de crescimento sobre o músculo liso dos vasos sanguíneos,⁷² supressão da rejeição de enxertos de órgãos cardíacos,⁷³ supressão da malária cerebral,⁷⁴ e atividade anti-apoptótica.⁷⁵

Esta discussão sobre as possíveis aplicações biológicas do monóxido de carbono, motivou muitos pesquisadores a desenvolverem moléculas liberadoras de CO ou CORMs (CO releasing molecules; moléculas liberadoras de CO). Parte deste interesse se deve ao sucesso dos testes de atividade biológica empregando

liberadores de CO, CORM-3⁷⁶ e CORM-A1⁷⁷ (Figura 5). Estes compostos mostraram propriedades químicas bastante interessantes, pois apesar destes compostos não possuírem elevada solubilidade em água, tais complexos foram capazes de transportar e liberar CO, provando serem farmacologicamente ativos, promovendo vaso-relaxação em aortas isoladas atenuando a hipertensão aguda em vivo.⁷⁸

Figura 5 - Estruturas dos compostos liberadores de CO, CORM-3 e CORM-A1



Fonte: Elaborada pelo autor.

Devido aos resultados obtidos com os complexos CORM-3 e CORM-A1, houve um grande aumento na procura pelo desenvolvimento de novas moléculas transportadoras de CO, tendo como um dos objetivos, a busca por moléculas mais solúveis em água e com taxas de liberação de CO controlada. Nesta busca tem sido explorado diversos sistemas com diferentes centros metálicos como ferro,⁷⁹ manganês,⁸⁰ molibdênio,⁸¹ irídio,⁸² cobalto⁸³ e rênio.⁸⁴ Diversas vertentes vêm sendo exploradas na elaboração de novas drogas, que possibilitam a liberação controlada de monóxido de carbono, como a incorporação ou encapsulamento de CORMs em nanopartículas,⁸⁵ pois através da funcionalização destes materiais podemos obter um novo material com propriedades muito semelhantes ao complexo livre, liberando CO por controle de PH, irradiação de luz, ou por algum outro estímulo controlado para fins terapêuticos.⁸⁶

2 OBJETIVOS

2.1 Gerais

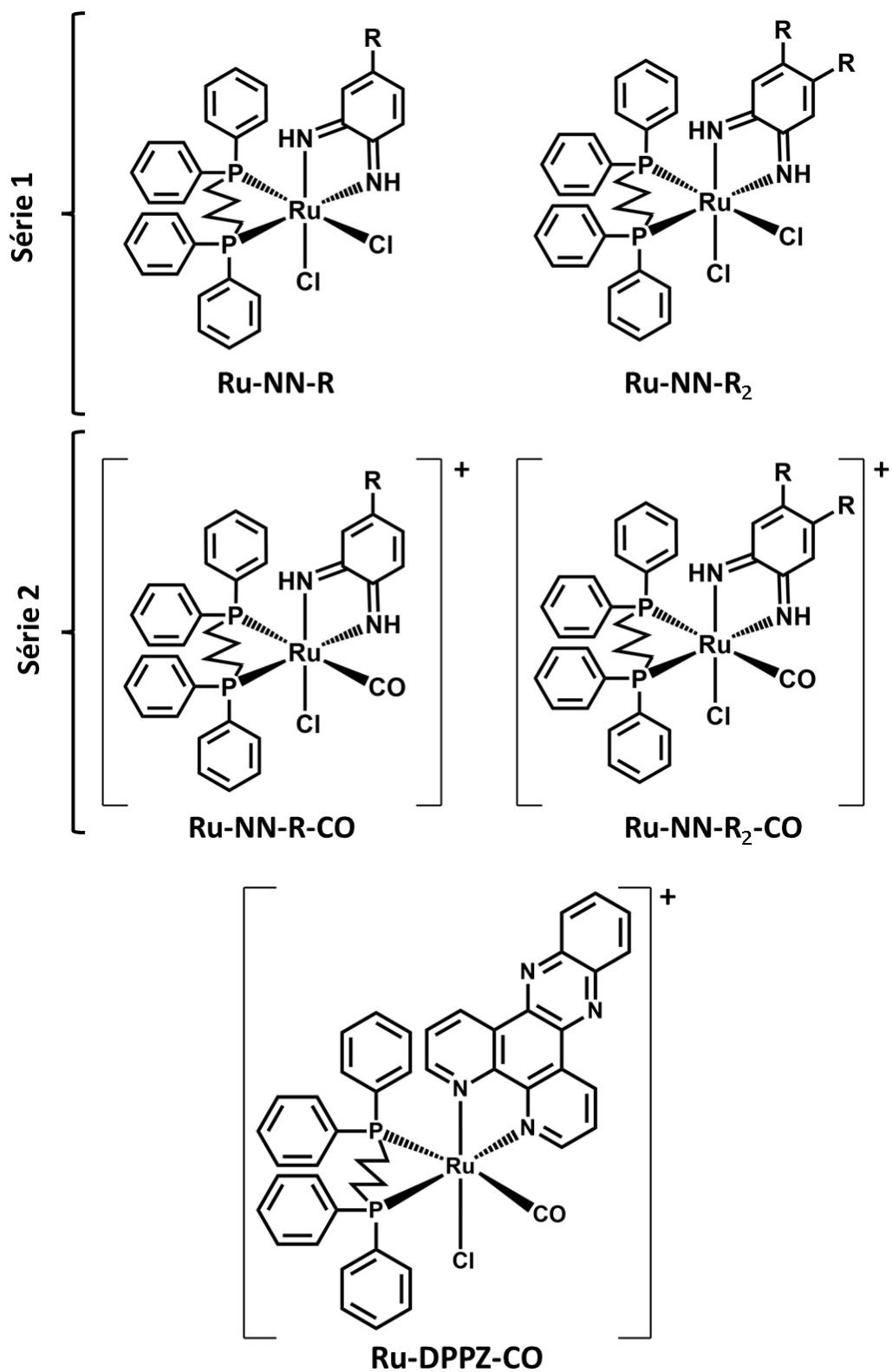
Este trabalho tem como principal interesse sintetizar e caracterizar novos complexos fosfínicos de rutênio contendo os ligantes derivados quinonas, dppz e monóxido de carbono, tendo em vistas as diversas potencialidades médicas apresentadas pelo CO e o potencial anticâncer dos compostos contendo os ligantes dpb, dppz e quinonas.

Avaliar a capacidade citotóxica dos complexos sintetizados frente a diversas linhagens de células cancerígenas e bacterianas, investigando a modulação de reatividade através da alteração dos grupos substituintes nos anéis das quinonas, bem como seus efeitos na fotoquímica destes sistemas.

2.2 Específicos

1. Sintetizar e caracterizar os complexos metálicos contendo os ligantes NN-R, NN-R₂, série 1 (Figura 6);
2. Incorporar o monóxido de carbono aos complexos metálicos contendo os ligantes NN-R, NN-R₂, dppz (Figura 6);
3. Avaliar a atividade biológica dos compostos frente às diferentes linhas de células tumorais;
4. Realizar estudos de liberação de CO para os complexos monocarbonílicos;
5. Avaliar a influência dos substituintes R dos ligantes NN-R e NN-R₂ na fotoquímica dos complexos e na sua atividade biológica.

Figura 6 - Estruturas dos complexos sintetizados



R e R₂ = F, Br, COOH, NO₂ e CH₃

Fonte: Elaborada pelo autor.

3 PROCEDIMENTOS

3.1 Reagentes e soluções

3.1.1 Atmosfera de argônio

A preparação de alguns complexos foi realizada sob atmosfera de argônio, de procedência White Martins, sendo tratado com um sistema catalítico para remoção de traços de O₂. Este sistema é constituído por colunas contendo sílica gel, cloreto de cálcio e catalisador BTS-R-11.9 (Fluka Chemika). Estes procedimentos são necessários para remover traços de O₂ em argônio comercial evitando seu contato com sistemas muito sensíveis ao O₂ e a umidade sendo assim necessário desoxigenar e secar o gás comercial antes de sua utilização.

3.1.2 Solventes

Todos os solventes utilizados nas sínteses dos precursores foram de procedência Synth, sendo utilizados sem qualquer purificação prévia. Os solventes utilizados na síntese do ligante dppz e dos complexos do tipo NN-R e NN-R₂ foram de grau cromatográfico.

3.1.3 Ligantes e Reagentes Químicos

Todos os ligantes e reagentes utilizados foram de procedência Sigma-Aldrich com pureza elevado grau de pureza.

3.1.4 Gases CO (monóxido de carbono) e cloro (Cl₂)

O monóxido de carbono utilizado para a preparação dos complexos carbonílicos foi obtido por meio da reação de desidratação do ácido fórmico pelo ácido sulfúrico concentrado como descrito na literatura.⁸⁷ O gás cloro utilizado na preparação do complexo precursor [Ru(Cl)₃(dppb)(H₂O)] foi obtido por meio da reação do ácido clorídrico concentrado com permanganato de potássio tal como descrito na literatura.⁸⁷

3.2 Instrumentação e procedimento experimental

3.2.1 Espectroscopia de Absorção Eletrônica na Região do Ultravioleta e Visível (UV-vis)

Os espectros eletrônicos nas regiões do ultravioleta e visível dos complexos foram obtidos em um espectrofotômetro Hewlett-Packard, modelo 8453 de arranjo de diodos, acoplado a um computador, as medidas cinéticas e os testes de liberação de CO foram realizados em um espectrofotômetro Cary 5000 UV-vis-NIR da Varian. As medidas foram realizadas utilizando uma célula de quartzo de caminho óptico de 1cm, os espectros foram obtidos a temperatura ambiente, exceto nas medidas cinéticas onde utilizou-se um banho termostático Tecnal TE-200 acoplado ao equipamento.

3.2.2 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Os espectros vibracionais dos compostos foram obtidos na forma de dispersão em pastilha de KBr, utilizando-se um Espectrofotômetro de infravermelho com Transformada de Fourier FTIR da ABB Bomem FTLA 2000-102, apresentando uma janela espectral de 4000 a 400cm⁻¹.

3.2.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ³¹P {¹H} obtidos à 60 MHz foram realizados em um espectrômetro Varian anaspect modelo EM360, utilizando-se como solvente CH₂Cl₂, fazendo uso de capilar de ácido fosfórico para ajustar os valores de deslocamento químico. Os espectros de RMN de ³¹P {¹H} e ¹H obtidos a 400MHz e 500MHz foram tomados em um equipamento AVANCE DPX 400 Bruker, e AVANCE DPX 500 Bruker, respectivamente, utilizando como solvente CDCl₃ e C₂D₆O

3.2.4 Espectrometria de Massas de Alta Resolução (ESI-MS)

As análises por espectrometria de massas de alta resolução foram realizadas no laboratório ThoMSon de Espectrometria de Massas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) pela colaboradora prof. e Dr. Dávila de Souza Zampieri. Os dados foram obtidos através de espectrômetro de massas de alta resolução equipado com uma fonte de ionização por “electrospray” por infusão direta operando no modo positivo ESI(+) – EM, sob as seguintes condições: tensão de pulverização 3,0 kV;

potencial capilar, 30 V; potencial da lente do tubo, 100 V; temperatura Capilar, 280 ° C, e uma taxa de fluxo de 10 $\mu\text{L min}^{-1}$. Os dados foram registados em modo EM completo em ESI (+) utilizando uma faixa de m/z 100 a 1700. Os espectros de massas foram o resultado de mais de 10 microscans e processados através do software Xcalibur. Foram retiradas alíquotas de 1 μL da amostra e diluídas em 1 mL de acetonitrila. As soluções de amostra foram preparadas em microtubos de polipropileno (Eppendorf) e injetadas diretamente no ESI (+)-FT-ICR-EM.

Os espectros de massas teóricos, para os fragmentos, foram obtidos por meio do software “MS Analyzer 2014 Notebook”. Este programa permite o cálculo de massas moleculares, fornece informações sobre isótopos e fragmentos, calcula as fórmulas correspondentes a uma certa massa molecular, dispondo de recursos gráficos que permitem gerar espectros. Esta ferramenta está disponível para “download” gratuitamente em <http://artemis.ffclrp.usp.br/softwareP.htm>.

3.2.5 Voltametria Cíclica (VC)

As medidas eletroquímicas foram realizadas em um sistema eletroquímico potenciostato/galvanostato Bioanalytical Systems, modelo Epsilon-EC-Ver.2.00.71-USB, à temperatura ambiente, utilizando-se uma célula convencional de três eletrodos: platina, Ag|AgCl|KCl e platina os quais atuam como eletrodos de trabalho, de referência e auxiliar, respectivamente. Todos os experimentos foram realizados em meio orgânico utilizando-se como eletrólito suporte uma solução de perclorato de tetrabutylamônio (PTBA) 0,1 mol L^{-1} em diclorometano ou acetonitrila grau cromatográfico, sendo utilizado o ferroceno como referência.

3.3 Sínteses

3.3.1 [RuCl₂(PPh₃)₃]

O complexo [RuCl₂(PPh₃)₃] foi sintetizado segundo procedimento descrito na literatura,⁸⁸ sendo usado 1,00 g (3,8 mmol) de RuCl₃.3H₂O que foi inicialmente dissolvido em 150 mL de metanol previamente deaerado, em seguida, a solução foi colocada sob refluxo em atmosfera inerte por aproximadamente 15 min. Após esse período foram adicionados 5,75 g (22 mmol) de PPh₃, e manteve-se a solução sob refluxo por 3 h. Em seguida, o precipitado marrom escuro formado foi separado por meio de filtração, utilizando-se funil de placa porosa, e o sólido obtido lavado com

hexano quente para a retirada de excesso de óxido de trifenilfosfina, sendo posteriormente seco a vácuo. Rendimento 3,57g.

3.3.2 [RuCl₂(dppb)]₂(μ-dppb)

O complexo [RuCl₂(dppb)]₂(μ-dppb) foi preparado de acordo com os procedimentos descritos na literatura,⁸⁹ em que 2,00g (2,1 mmol) de RuCl₂(PPh₃)₃ foram dissolvidos em 300mL de hexano previamente desaerado, em seguida foram adicionados 1,80g (4,20 mmol) do ligante dppb (1,4-bis(difenilfosfino)butano), sendo a solução mantida sob refluxo e atmosfera inerte por um período de 6 h. Em seguida o precipitado de cor verde formado foi filtrado em funil de placa porosa e o sólido lavado com hexano à quente, sendo posteriormente seco a vácuo e armazenado em dessecador. Rendimento 1,60g.

3.3.3 [RuCl₃(dppb)(H₂O)]

O complexo [RuCl₃(dppb)(H₂O)] foi preparado de acordo com os procedimentos descritos na literatura,⁹⁰ em que 150 mg (0,09 mmol) do complexo [RuCl₂(dppb)]₂(μdppb) foi disperso em 30mL de metanol em um frasco do tipo "Schlenk". Em seguida o gás Cl₂ foi borbulhado na solução até que todo o material verde solubilizasse e a solução mudasse de cor, passando de verde para vermelho. Após esta etapa a solução foi concentrada em rotoevaporador até cerca de 5mL e precipitada pela adição de éter etílico, sendo posteriormente filtrada. O sólido obtido foi lavado com hexano à quente e mantido armazenado em dessecador. Rendimento 96 mg.

3.3.4 Sínteses dos complexos do tipo cis-[RuCl₂(dppb)(NN-R)] e cis-[RuCl₂(dppb)(NN-R₂)]

Dissolveu-se 104 mg (0,16 mmol) de [RuCl₃(dppb)(H₂O)] em 100 mL de metanol, aqueceu-se a solução até iniciar o refluxo, em seguida adicionou-se lentamente uma solução contendo 0,16 mmol do ligante NN-R ou NN-R₂ em cerca de 2 mL de metanol. Esta mistura reacional foi mantida sob refluxo por 5 dias na presença de luz. Ao final deste período, reduziu-se o volume da solução por rotoevaporação, seguida da adição de éter etílico para promover a precipitação do complexo. Após a precipitação, a solução foi resfriada por 2 h no freezer e em seguida foi filtrada, sendo posteriormente lavada com hexano a quente e seca a vácuo. Os sólidos obtidos foram

recristalizados em metanol sendo posteriormente armazenado em dessecador. Rendimentos: Ru-NN-Dmet = 82 mg, Ru-NN-Met = 87 mg, Ru-NN-Br = 75 mg, Ru-NN-F = 70 mg, Ru-NN-COOH = 30 mg e Ru-NN-NO₂ = 36mg.

Ru-NN-DMet: ³¹P {¹H} NMR (60 MHz, CH₂Cl₂, 298 K: δ (ppm) 28,27 (d); 36,70 (d, 2J_{pp} 37,41Hz).

Ru-NN-Met: ³¹P {¹H} NMR (60 MHz, CH₂Cl₂, 298 K: δ (ppm) 27,20 (d), 37,27 (d, 2J_{pp} 37,41Hz). HRMS (ESI, m/z) calculado para C₃₇H₃₉ClN₃P₂Ru ([M -Cl + MeCN]⁺), 724,1351u; encontrado: 724,1348u; e para C₃₅H₃₆ClN₂P₂Ru ([M -Cl), calculado: 683,1086u; encontrado: 683,1082u.

Ru-NN-F: ³¹P {¹H} NMR (60 MHz, CH₂Cl₂, 298 K: δ (ppm) 26,41 (d), 33,55 (d, 2J_{pp} 36,92Hz). HRMS (ESI, m/z) calculado para C₃₆H₃₆ClFN₃P₂Ru ([M -Cl + MeCN]⁺), 728,1101u; encontrado: 728,1096u; e para C₃₄H₃₃ClFN₂P₂Ru ([M -Cl), calculado: 687,0835u; encontrado: 687,0832u.

Ru-NN-Br: ³¹P {¹H} NMR (60 MHz, CH₂Cl₂, 298 K: δ (ppm) 25,76 (d); 33,66 (d, 2J_{pp} 36,92Hz). HRMS (ESI, m/z) calculado para C₃₆H₃₆BrClN₃P₂Ru ([M -Cl + MeCN]⁺), 790,0279u; encontrado: 790,0284u; para C₃₄H₃₃BrClN₂P₂Ru ([M -Cl), calculado: 749,0014u; encontrado: 749,0015; para C₃₆H₃₇ClN₃P₂Ru (M -Cl +MeCN +H), calculado: 710,1195u; encontrado: 710,1192u; para C₃₄H₃₄ClN₂P₂Ru (M -Cl -Br +H), calculado: 669,0929u; encontrado: 669,0925u; e para C₃₂H₃₃ClN₂P₂Ru (M -Cl -Br -C₂ +H), calculado: 645,0929u; encontrado: 645,0926u.

Ru-NN-COOH: ³¹P {¹H} NMR (60 MHz, CH₂Cl₂, 298 K: δ (ppm) 24,38 (d); 32,63 (d, 2J_{pp} 36,20Hz).

Ru-NN-NO₂: ³¹P {¹H} NMR (60 MHz, CH₂Cl₂, 298 K: δ (ppm) 22,14 (d); 27,89 (d, 2J_{pp} 36,80Hz).

3.3.5 Síntese dos complexos do tipo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN-R)]PF₆ e *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN-R₂)]PF₆

Dissolveu-se 100 mg do complexo Ru-NN-R (*cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-R)]) ou Ru-NN-R₂ (*cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-R₂)]) em 5 mL de DMF e adicionou-se 15 mL de H₂O destilada, em seguida borbulhou-se monóxido de carbono por 30 minutos, sob agitação e ao abrigo da luz. Após este período, adicionou-se o contra íon NH₄PF₆ solubilizado previamente em H₂O destilada, para promover a precipitação. A solução foi em seguida filtrada e lavada com água, sendo posteriormente lavada com hexano a quente e seca a vácuo. O sólido de cor marrom obtido foi armazenado em frasco escuro e mantido em dessecador sob vácuo. Rendimentos: Ru-NN-Dmet-CO = 83 mg e Ru-NN-MEt-CO = 71 mg.

Ru-NN-Dmet-CO: FTIR (KBr)_v (C≡O) 2012cm⁻¹ e _v (PF) 840 cm⁻¹. ³¹P {¹H} NMR (60 MHz, CH₂Cl₂, 298 K: δ (ppm) 19,70 (d), 31,22 (d, 2J_{pp} 35,95 Hz). HRMS (ESI, m/z) calculado para C₃₈H₄₁ClN₃P₂Ru ([M - CO + MeCN]⁺), 738,1508u; encontrado: 738,1503u; para C₃₇H₃₈ClN₂OP₂Ru ([M]⁺), calculado: 725,1194u; encontrado: 725,1191u, e para C₃₆H₃₈ClN₂P₂Ru ([M - Cl]⁺), calculado: 697,1242u; encontrado: 697,1243u.

Ru-NN-Met-CO: FTIR (KBr)_v (C≡O) 2019 cm⁻¹ e _v (PF) 840 cm⁻¹. ³¹P {¹H} NMR (60 MHz, CH₂Cl₂, 298 K: δ (ppm) 20,08(d), 30,84 (d, 2J_{pp} 35,75Hz). HRMS (ESI, m/z) calculado para C₃₇H₃₉ClN₃P₂Ru ([M - CO + MeCN]⁺), 738,1508u; encontrado: 738,1503u; para C₃₆H₃₆ClN₂OP₂Ru ([M]⁺), calculado: 725,1194u; encontrado: 725,1191u, e para C₃₅H₃₆ClN₂P₂Ru ([M - Cl]⁺), calculado: 697,1242u; encontrado: 697,1243u.

3.3.6 Síntese do ligante dppz

Em um balão de 250mL foram adicionados 4g (22,1mmol) do ligante 1,10-fenantrolina e 4g (33,6mmol) de brometo de potássio (KBr) e com o auxílio de um funil de adição e sob banho de gelo, adicionou-se lentamente 40mL de ácido sulfúrico concentrado. Em seguida foi adicionado 20 mL de ácido nítrico concentrado, o sistema

foi posto em refluxo a 100°C por um período de 3 h. Posteriormente adicionou-se 400 mL de água gelada, então deixou-se a solução repousar durante a noite na geladeira. A solução amarela obtida foi neutralizada pela adição de bicarbonato de sódio, tomando o cuidado para o pH da solução não ficar acima de 7 para evitar a formação de subprodutos.^{34, 91}

Em seguida a solução foi extraída com diclorometano (4x100mL) e as frações orgânicas foram combinadas e secas com sulfato de sódio anidro por pelo menos 1h. Após esta etapa a solução foi filtrada, para a remoção do sulfato de sódio, e rotoevaporada até a secura, sendo o produto obtido (1,10-fenantrolina-5,6-diona) posteriormente recristalizado em metanol.^{34, 91} Rendimento 3,25 g.

O ligante dppz foi sintetizado pela condensação dos ligantes 1,10-fenantrolina-5,6-diona com 1,2-fenilenodiamina. Em um balão de 50 mL foi dissolvido 1,10-fenantrolina-5,6-diona (0,34 g; 1,62 mmol) em 15 mL de etanol anidro e sob aquecimento até a obtenção de uma solução de cor amarelo claro, em um segundo balão, dissolveu-se o ligante 1,2-fenilenodiamina (340 mg; 0,314 mmol) da mesma quantidade de etanol anidro. Em seguida adicionou-se lentamente à solução contendo o ligante 1,2-fenilenodiamina a solução contendo o ligante 1,10-fenantrolina-5,6-diona, deixou-se a solução sob aquecimento por um período de 30min. Após esta etapa, deixou-se a solução esfriar à temperatura ambiente, em seguida a solução foi colocada em um freezer a 4 C° durante à noite. O produto precipitou sob a forma de agulhas longas sendo recolhido por filtração seguido de recristalização em metanol.^{34, 91} Rendimento 137 mg.

3.3.7 Síntese do complexo *cis*-[RuCl(dppb)(dppz)CO]PF₆ (Ru-DPPZ-CO)

Foi dissolvido 150 mg (0,0924 mmol) do complexo precursor [RuCl₂(dppb)]₂(μ-dppb)], em 25mL dediclorometano e em seguida foi adicionado 52 mg (0,1847 mmol), do ligante dipirido[3,2-a:2',3'-c]fenazina (dppz). A solução foi mantida sob refluxo durante 48 h. Após o período reacional, a solução foi transferida para um frasco “Schlenk”, sendo mantida sob pressão do gás CO (1 bar) durante 30 minutos. Depois disso, foi adicionada uma solução saturada de NH₄PF₆ (149 mg; 0,92 mmol) em metanol, com a obtenção de um precipitado amarelo. A solução foi filtrada a vácuo e

o sólido foi lavado com hexano a quente. Rendimento 139 mg. Anal. Calc. $C_{47}H_{38}ClF_6N_4OP_3Ru$: Exp. (calc.) C= 53,89 (55,44); H= 3,67 (3,76); N= 5,53 (5,50). FTIR (KBr)_v (C≡O) 1993 cm^{-1} e_v (PF) 836 cm^{-1} . ^{31}P { 1H } NMR (60 MHz, CH_2Cl_2 , 298 K: δ (ppm) 6,20 (d); 35,77 (d, $2J_{pp}$ 29.53Hz), -145,85 (m); 1H RMN (500 MHz, acetona- d_6 , 298 K): δ (ppm) 9,80 (d, 1H), 9,71 (d, 2H), 8,56-8,49 (m, 1H), 8,48 (dd, 1H), 8,33 (d, 1H), 8,25-8,15 (m, 2H), 8,10-8,03 (m, 1H), 8,02-7,92 (m, 4H), 7,86 (dd, 1H), 7,82-7,75 (m, 1H), 7,72 (t, 2H), 7,50 (s, 3H), 7,31-7,23 (m, 1H), 7,11 (d, 2H), 7,03 (m, 3H), 6,97-6,90 (m, 2H), 6,71 (t, 2H), 3,51-3,37 (m, 2H), 3,05 (m, 1H), 2,63 (m, 1H), 2,42 (m, 1H) e 1,69 (m, 1H). HRMS (ESI, m/z) calculado para $C_{47}H_{38}ClN_4OP_2Ru$, 873,1248; encontrado: 873.1247; e $[M + MeCN]^+$, para $C_{48}H_{41}ClN_5P_2Ru$, calculado: 886,1565; encontrado: 886.1564, e $[M-CO]^+$ para $C_{46}H_{38}ClN_4P_2Ru$, calculado: 845,1294; encontrado: 845,1298.

3.4 Ensaios biológicos

3.4.1 Ensaios bacteriológicos

A atividade antimicrobiana dos complexos foi avaliada frente as cepas de bactérias ATCC 6538P e ATCC 10536, no Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, pela aluna de doutorado Andressa Hellen de Moraes Batista, e sob coordenação da Profa. Dra. Nádia Accioly Pinto Nogueira, na Universidade Federal do Ceará.

3.4.1.1 Diluições seriadas de Ru-NN-COOH e Ru-DPPZ-CO

As diferentes concentrações das substâncias (40 a 0,019 $\mu g/mL$) foram obtidas por diluições binárias, em água ultrapura, a partir de uma solução mãe de 800 $\mu g/mL$ para Ru-DPPZ-CO e 400 $\mu g/mL$ de Ru-NN-COOH, em DMSO (dimetilsulfóxido) 10% (Sigma Aldrich, Inc, USA) e mantida sob a proteção da luz e sob refrigeração (-20°C).

3.4.1.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM das substâncias foram medidas para as cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P) e *Escherichia coli* (ATCC 10536), sendo determinada pelo método de microdiluição em caldo de cultura Brain Heart Infusion (BHI) de acordo com a metodologia descrita na literatura,⁹² utilizando-se, para isso, microplacas com 96 poços de fundo redondo, estéreis.

Colônias isoladas de cada cepa foram ativadas por incubação a 37°C, durante a noite, em caldo BHI, e incubadas até atingirem fase exponencial de crescimento (4-6h). Após esse período, as culturas tiveram sua densidade celular ajustada em meio BHI estéril, de modo a se obter uma turbidez equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹).

A suspensão obtida foi diluída 100 vezes, em solução salina 0,85% estéril, resultando em uma cultura com aproximadamente 10^6 UFC mL⁻¹. Aos poços da microplaca foram adicionados 100 µL de caldo BHI, 20 µL das substâncias em diferentes concentrações variando de 0,019 a 40 µg/mL e por fim, 80 µL da suspensão microbiana. As microplacas foram incubadas durante 24 horas em estufa bacteriológica a 37 °C. Após esse período foi realizada a inspeção visual do crescimento microbiano e a leitura das absorbâncias em leitora de Elisa Bio-Tek a 570 nm. A determinação da população microbiana presente no inóculo inicial foi realizada por contagem de colônias em Ágar Plate-Count,⁹³ e utilizada para determinação da CBM.⁹⁴

A CIM foi considerada a menor concentração da substância capaz de inibir o crescimento das cepas testadas, constatado pela ausência de turvação visível do crescimento microbiano. As placas de cultura também foram submetidas à leitura de absorbância a 570 nm para confirmação dos valores de CIM e para excluir a possível interferência da turvação determinada pela presença da substância.

3.4.1.3 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

De forma asséptica, foram depositados inóculos de 5 µL obtidos a partir dos poços das placas de microdiluição usadas para a determinação da CIM, que não apresentaram crescimento microbiano visível, na superfície do ágar Plate-Count. Em seguida, as placas de Petri foram incubadas a 37°C e após 24h, foi realizada a

contagem das colônias crescidas na superfície do ágar.^{93, 94} A concentração de substância capaz de provocar um crescimento microbiano na superfície do ágar < 0,1% do inóculo inicial, foi considerada a CBM.

3.4.2 Ensaios de citotoxicidade

A determinação do potencial citotóxico foi realizada em colaboração com a Profa. Dra. Cláudia do Ó Pessoa, no Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina da UFC, através do método do MTT. As linhagens tumorais utilizadas, SF-295 (glioblastoma - humano), PC3 (próstata) e HCT-116 (colón) foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO₂. As amostras foram diluídas em água Milli-Q. As amostras foram testadas na concentração de 5 µg/mL. Para determinação da CI₅₀, as amostras foram testadas em concentrações crescentes em diluição seriada.

Análise de citotoxicidade pelo método do MTT vem sendo utilizada no programa de *screening* do *National Cancer Institute* dos Estados Unidos (NCI), que testa mais de 10.000 amostras a cada ano (SKEHAN *et al.*, 1990). É um método rápido, sensível e barato. Foi descrita primeiramente por Mosman (1983), tendo a capacidade de analisar a viabilidade e o estado metabólico da célula. É uma análise colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazolium (MTT) em azul de formazan, a partir de enzimas mitocondriais presentes somente nas células metabolicamente ativas. O estudo citotóxico pelo método do MTT permite definir facilmente a citotoxicidade, mas não o mecanismo de ação (BERRIDGE *et al.*, 1996). As células foram plaqueadas na concentração de 0,1 x 10⁶ células por mL para as linhagens de PC-3 e SF-295, e 0,7 x 10⁵ células por mL para a linhagem HCT-116. As placas foram incubadas por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Ao término deste, as mesmas foram centrifugadas e o sobrenadante, removido. Em seguida, foram adicionados 150 µL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado com 150 µL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa a 595nm.

3.4.2.1 Teste de concentração única

As amostras foram avaliadas, nas quatro linhagens supracitadas, em concentração máxima de $5 \mu\text{g mL}^{-1}$. Os compostos que apresentaram percentuais de inibição maior que 75% em pelo menos duas das três linhagens testadas, seguiram para a determinação da IC_{50} .

3.4.2.2 Determinação da IC_{50}

As amostras previamente selecionadas, foram testadas em curva de diluição seriada fator dois, onde a maior concentração testada foi $5 \mu\text{g mL}^{-1}$.

3.4.2.1 Análise Estatística

Os percentuais de inibição por concentração foram analisados segundo a média \pm desvio padrão da média (DP) da porcentagem de inibição do crescimento celular usando o programa *GraphPad Prism 5* em todas as concentrações testadas.

3.5 DFT e TD-DFT

Os cálculos computacionais foram desenvolvidos junto ao Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho, CENAPAD, instalado na Universidade Federal do Ceará, pelo colaborador Prof. Dr. Tercio de Freitas Paulo.

As otimizações geométricas foram conduzidas utilizando-se da Teoria do Funcional da Densidade (DFT) implementada no pacote de bases do Software Gaussian09 (Gaussian Inc, Wallingford, CT).⁹⁵ As distâncias de ligação e frequências vibracionais foram previstas com a utilização do funcional híbrido B3LYP (restrito ou irrestrito, dependendo das espécies). Este funcional usa uma combinação do funcional de troca de 03 parâmetros de Becke, B3, com o funcional de correlação com correções de gradiente fornecidas através dos estudos de Lee, Yang e Parr (LYP).⁹⁶ Os elétrons de caroço (eletrons core) - 1s até 4f - foram descritos pelo Los Alamos National Laboratory, através da utilização da função de base de pseudo-potencial de núcleo efetivo do tipo duplo-ZETA; (LANL2DZ),⁹⁷ cuja aplicação serviu para otimizar e descrever o átomo de Ru. Para a caracterização dos outros átomos (C, H, N, O, F, S, Cl, Br e F) utilizou-se a função de base conjunto de base 6-31G(d).

A análise vibracional foi realizada quando nenhuma frequência imaginária foi encontrada, indicando que as geometrias otimizadas foram em um mínimo da

superfície de energia potencial. Os espectros IR foram gerados pelo programa GaussView usando uma largura de banda de 5 cm^{-1} . Baseado nas geometrias de equilíbrio nos estados fundamental e excitado, a teoria do funcional da densidade dependente do tempo (TD-DFT) foi aplicada para investigar as propriedades eletrônicas do estado excitado dos compostos.

As energias das excitações verticais foram determinadas por time-dependent density functional theory protocol (TDDFT) usando também o funcional B3LYP e o conjunto misto de bases supracitado. Foi utilizado o modelo de solvatação contínuo "polarizable continuum model" (PCM),⁹⁸ considerando a constante dielétrica do metanol, para simular o efeito do solvente. As informações sobre energia e contribuição das transições, energia e a contribuição dos átomos dos orbitais foram analisadas usando os programas Gausssum 3,0⁹⁹ e multiwfn.¹⁰⁰

3.6 Construção das placas de LEDs para os ensaios fotoquímicos

Para a realização dos ensaios fotoquímicos de liberação de CO e os ensaios de atividade biológica sob fotólise, foi necessário a confecção de dois sistemas para fotoirradiação utilizando LEDs de alto brilho de 5 mm. Nesse contexto, foram montados dois sistemas de fotoirradiação de baixo custo, sendo que um deles foi aplicado aos ensaios realizados em cubetas de quartzo enquanto o outro para os ensaios de atividade biológica que utilizam placas de 96 poços.

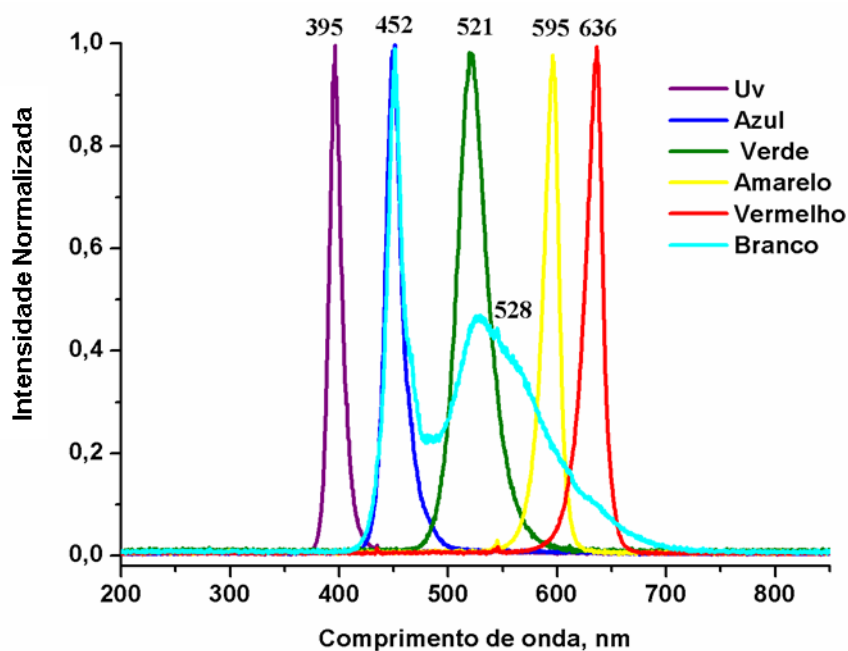
Todos os LEDs empregados para a confecção das placas apresentavam tamanho de 5 mm, alto brilho e possuíam procedência chinesa, tendo sido adquiridos através do site "Aliexpress", cujas especificações encontram-se listadas na Tabela 2. Os LEDs tiveram os seus comprimentos de onda de emissão avaliados com um espectrofotômetro Ocean Optics USB2000 (Ocean Optics), a fim de determinar com maior precisão a faixa de energia em que as amostras estariam sendo irradiadas Figura 7.

Tabela 2- Valores de tensão suportados, corrente, comprimento de onda e potência luminosa para as diferentes cores de LEDs.

LEDs				
Cor do LED	Tensão em Volts (V)	Corrente (mA)	Comprimento de onda (nm)	Potência luminosa (MCD)
Vermelho	1,8-2,1	20	600-656	2500-3000
Amarelo	1,8-2,1	20	570-614	1500-2000
Verde	2,5-3,0	20	485-570	15000-18000
Azul	2,5-3,0	20	430-485	6000-8000
Branco	2,5-3,0	20	425-690	12000-14000
UV (Roxo)	3,0-3,7	20	380-420	300-400

Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 7 - Espectros de emissão dos LEDs utilizados.



Fonte: Elaborada pelo autor.

O sistema de fotoirradiação montado para a realização dos ensaios de atividade biológica foi confeccionado em placas de 96 poços (Figura 8), a fim de que nos ensaios biológicos fosse possível irradiar cada poço individualmente. Dessa maneira, foi soldado um LED em cada poço da placa, sendo que a cada linha, um conjunto de quatro LEDs foram soldados em série.

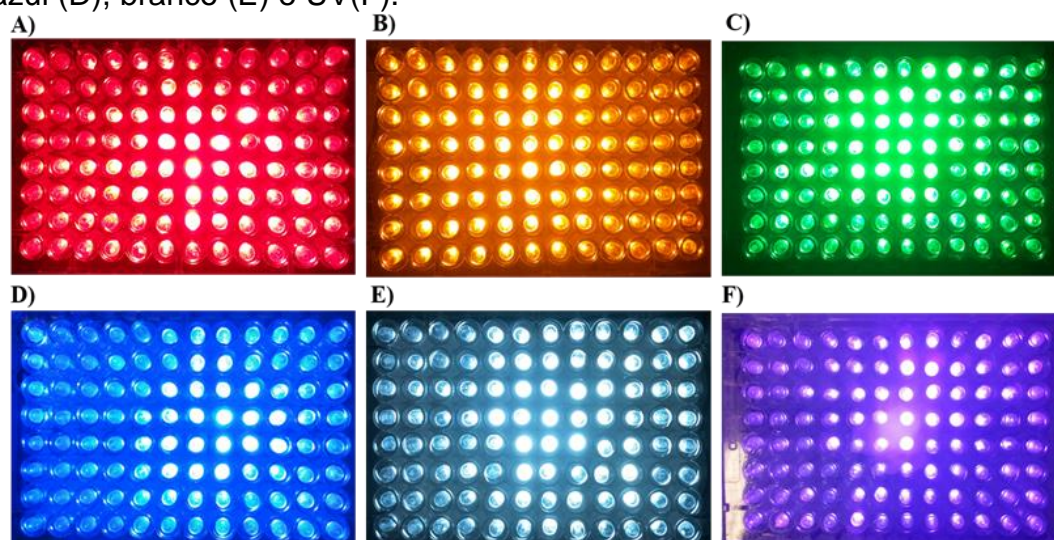
A este conjunto foi acoplado uma resistência, tanto para limitar a tensão e adequá-la a cada tipo de LED utilizado, uma vez que alguns possuem voltagens diferenciadas, quanto para restringir a corrente em 15 mA (Figura 9). Com isso evitar

a ocorrência de um superaquecimento do sistema e conseqüentes interferências nos ensaios.

O valor adequado da resistência para cada tipo de LED foi calculado através da Lei de Ohm ($R = (V_{\text{alimentação}} - V_{\text{led}}) / I$), onde: R é a resistência em ohms do resistor adequado para o LED; $V_{\text{alimentação}}$ é a tensão em volts da fonte de alimentação utilizada nos LEDs; V_{led} é a tensão em volts do LED (Tabela 2) e I é a corrente do LED em ampères (foi utilizado 15 mA).

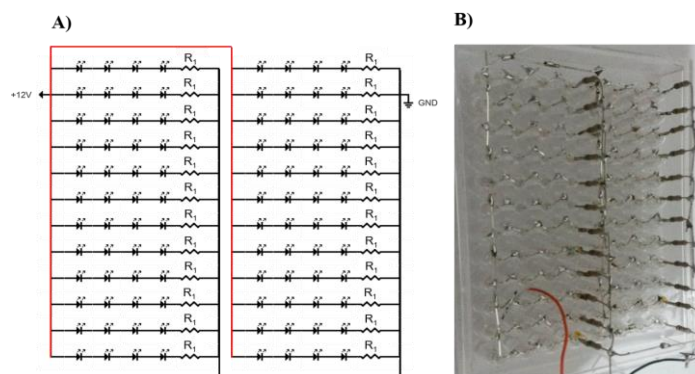
As placas foram seladas e alimentadas com uma fonte de 12V, com exceção da placa que possuía LEDs UV, sendo esta alimentada com uma fonte de 18,5V.

Figura 8 - Placas de LEDs de 96 poços, nas cores: vermelho (A), amarelo (B), verde (C), azul (D), branco (E) e UV(F).



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 9 - Esquema eletrônico da placa de LEDs de 96 poços (A) e placa de LEDs de 96 poços (B).



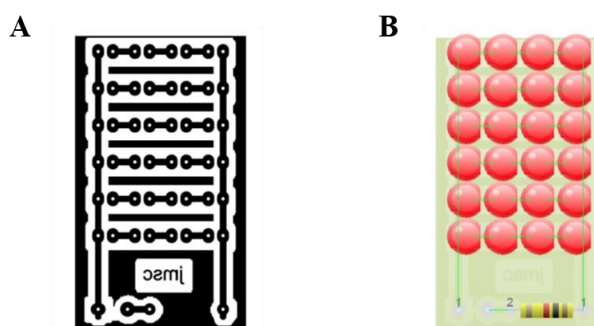
Fonte: Elaborada pelo autor.

Os sistemas de fotoirradiação para soluções em cubeta de quartzo foram montados em placas de fenolite cobreada. A confecção das placas se deu pelo método de transferência térmica, onde foram impressas as trilhas do circuito (Figura 10) em papel fotográfico, utilizando-se uma impressora a laser. Em seguida, utilizou-se um ferro de passar roupa, com temperatura alta o suficiente para transferir a tinta do papel fotográfico para a placa de fenolite cobreada, tomando cuidado para não queimar o papel.

Após a etapa de transferência, as placas foram imersas em água até que o papel amolecesse, sendo em seguida retirado o papel cuidadosamente para não danificar o desenho das trilhas. As placas foram mergulhadas em uma solução comercial de percloroeto de ferro (cloreto férrico), sendo corroídas, tomando bastante cuidado para não exceder o tempo e corroer as trilhas do circuito impresso. Na sequência, elas foram lavadas com bastante água para a remoção de todo o percloroeto de ferro.

Na etapa seguinte, realizou-se uma limpeza com esponja de aço de uso doméstico, uma lavagem com água e secagem com papel toalha. Por último, foram feitos buracos com o auxílio de uma broca de 0,8 mm de diâmetro, sendo posteriormente estanhadas para prevenção de futuras corrosões.

Figura 10 - Placa de circuito impresso dos LEDs para cubeta (A) e esquema da soldagem dos componentes na placa (B).



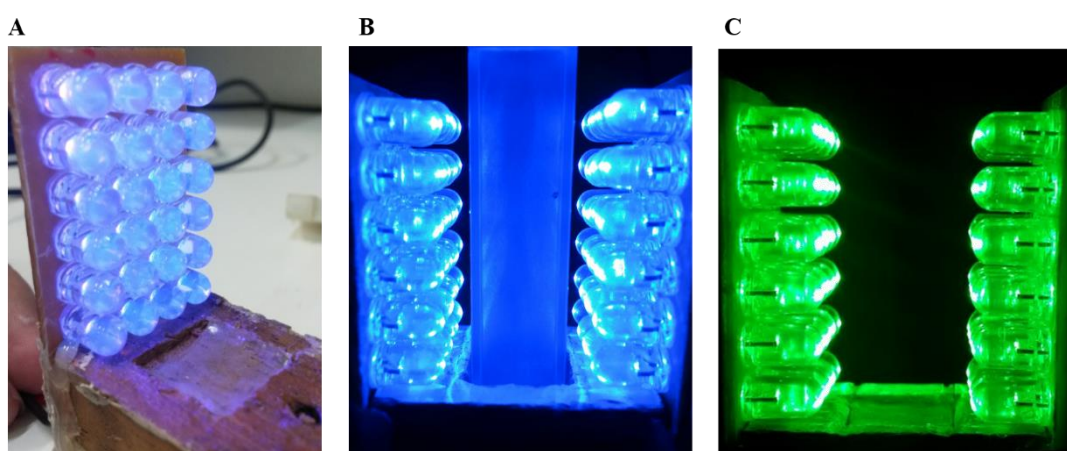
Fonte: Elaborada pelo autor.

Após a confecção das placas de circuito impresso, os LEDs e os seus devidos resistores foram soldados nas placas. As placas de LEDs resultantes foram então fixadas em uma base de madeira que continha uma cava para alocar a cubeta de modo que ao final a distância entre ela (aproximadamente 3mm para cada lado) e os

LEDs fossem a mesma em todos os experimentos. Dentro da cava, adicionou-se fita dupla face para melhorar a fixação da cubeta e prevenir possíveis acidentes.

Para os reatores azul e verde, utilizou-se duas placas com 24 LEDs, totalizando 48 LEDs, Figura 11. Para o reator UV, optou-se pelo uso de apenas uma placa contendo 24 LEDs, pois em virtude de sua grande energia, foi observada em testes preliminares que as reações ocorriam de maneira muito rápida quando duas placas eram empregadas.

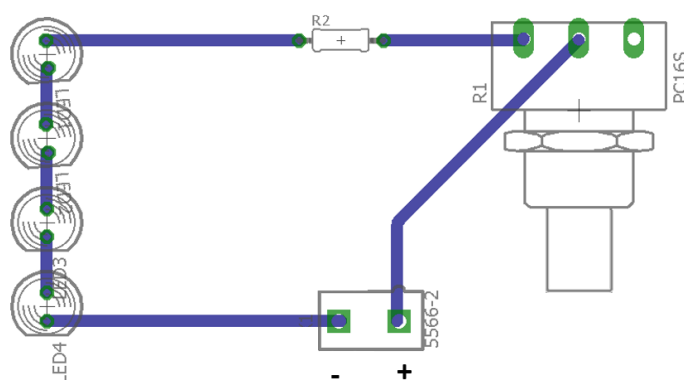
Figura 11 - Reatores de LEDs para cubetas, A= UV, B=Azul e C=Verde.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Para otimizar os reatores, pode-se opcionalmente adicionar um potenciômetro de 1k ou 5 k de acordo com o esquema da Figura 12. Assim é possível variar a intensidade da luz emitida pelos LEDs.

Figura 12 - Esquema eletrônico do reator de LEDs com potenciômetro.



Fonte: Elaborada pelo autor.

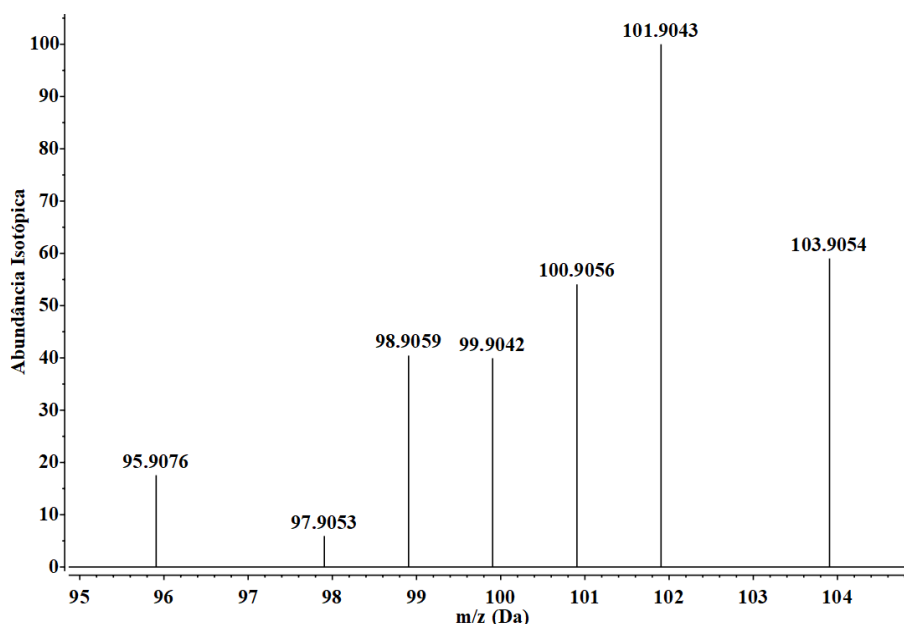
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização dos compostos do tipo NN-R e NN-R₂

4.1.1 Espectrometria de Massas de Alta Resolução

A espectrometria de massas de alta resolução (High Resolution Mass Spectroscopy (HRMS)) é uma técnica para determinação estrutural bastante utilizada em moléculas orgânicas e inorgânicas. Esta técnica foi uma importante ferramenta utilizada para a elucidação das estruturas dos complexos aqui estudados, particularmente devido ao típico perfil isotópico do rutênio, que apresenta uma riqueza de isótopos, com a existência de sete isótopos para este átomo metálico (Figura 13). Devido suas abundâncias isotópicas naturais serem bastante diversificadas, funcionam como uma “impressão digital” dos sinais, fazendo com que os espectros de massas dos complexos de rutênio apresentem uma distribuição isotópica bastante característica e de fácil caracterização.

Figura 13 - Espectro de massas teórico para o íon Ru⁺.



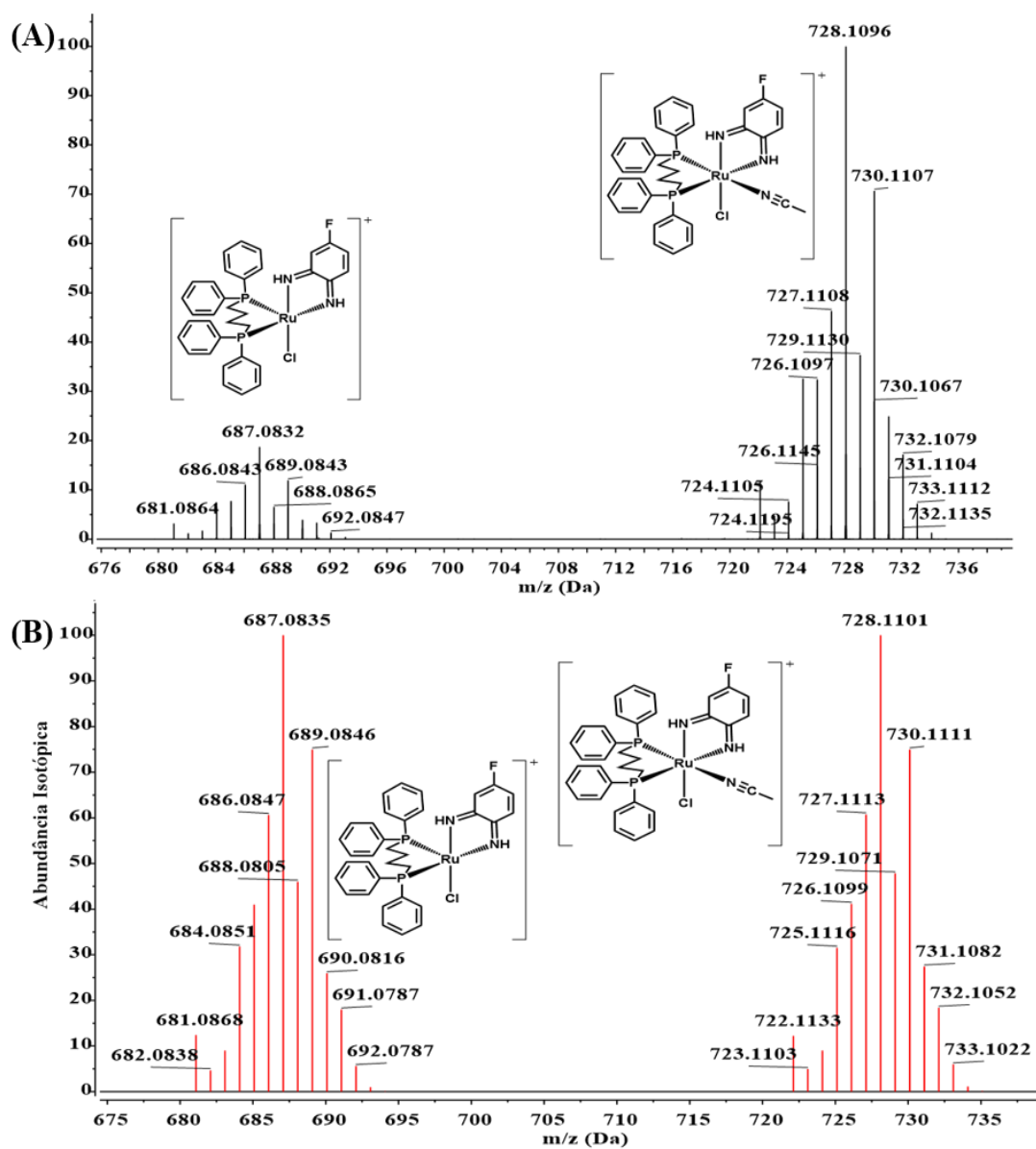
Fonte: Elaborada pelo autor.

A espectrometria de massas de alta resolução (ESI-MS) foi utilizada para auxiliar na caracterização dos complexos Ru-NN-F, Ru-NN-Br e Ru-NN-Met da série 1 dissolvidos em acetonitrila (ACN). Para reforçar as atribuições foram calculados os espectros teóricos para os fragmentos, com base nas estruturas atribuídas aos sinais registrados nos espectros experimentais, sendo observado uma boa concordância

tanto nos valores de massa registrado para os fragmentos, quanto no perfil isotópico de cada fragmento, resultante da riqueza isotópica do rutênio.

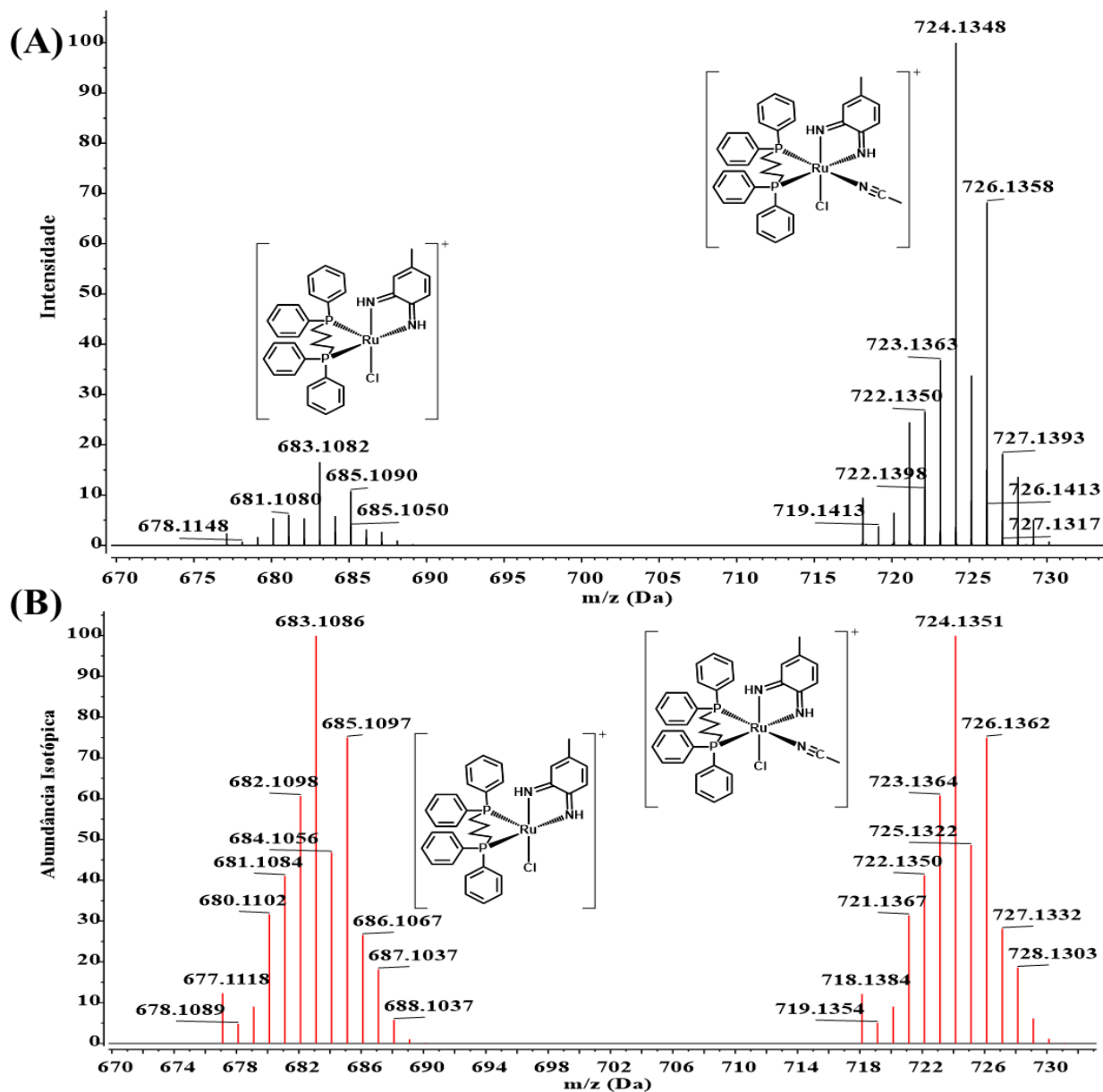
Os espectros de massas para os complexos Ru-NN-Met e Ru-NN-F em acetonitrila (Figura 14 e Figura 15), apresentaram apenas dois fragmentos cada, que por sua vez, exibiram perfil isotópico típico de complexos metálicos contendo o átomo de rutênio. Infelizmente, para esses complexos não foi observado a presença do íon molecular intacto, que deveria apresentar m/z teórico em 722,0524u e 718,0774u para NN-F e Ru-NN-Met, respectivamente. Todavia, os picos base registrados para estes complexos foram resultantes da substituição de um dos ligantes cloretos por uma molécula do solvente acetonitrila para Ru-NN-F (exp.: 728,1096u e teor.: 728,1101u) e Ru-NN-Met (exp.: 724,1348u e teor.: 724,1351u). Este resultado pode ser explicado pelo fato destes complexos serem moléculas neutras (não detectadas), que possuem alto efeito *trans* labilizante exercido pelo ligante dppb por meio de seu átomo de fósforo sobre o ligante cloreto, que se encontra em posição *trans*. Desta forma, possibilitando que o ligante cloreto seja substituído por uma molécula de solvente, no caso acetonitrila, assim não sendo observado os complexos intactos contendo dois cloretos. O segundo fragmento registrado, apresentou m/z 687,0832u (teórico = 687,0835u) para o complexo Ru-NN-F e 683,1082u (teórico = 683,1086u) para o complexo Ru-NN-Met, atribuídos a uma espécie pentacoordenada formada durante a medida, resultante da saída do ligante Cl^- da esfera de coordenação.

Figura 14 - Espectros de massas de alta resolução com ionização por “electrospray” (ESI-MS) para o complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-F)] em acetonitrila (A) e simulado (B).



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 15 - Espectros de massas de alta resolução com ionização por “electrospray” (ESI-MS) para o complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-Met)] em acetonitrila (A) e simulado (B).

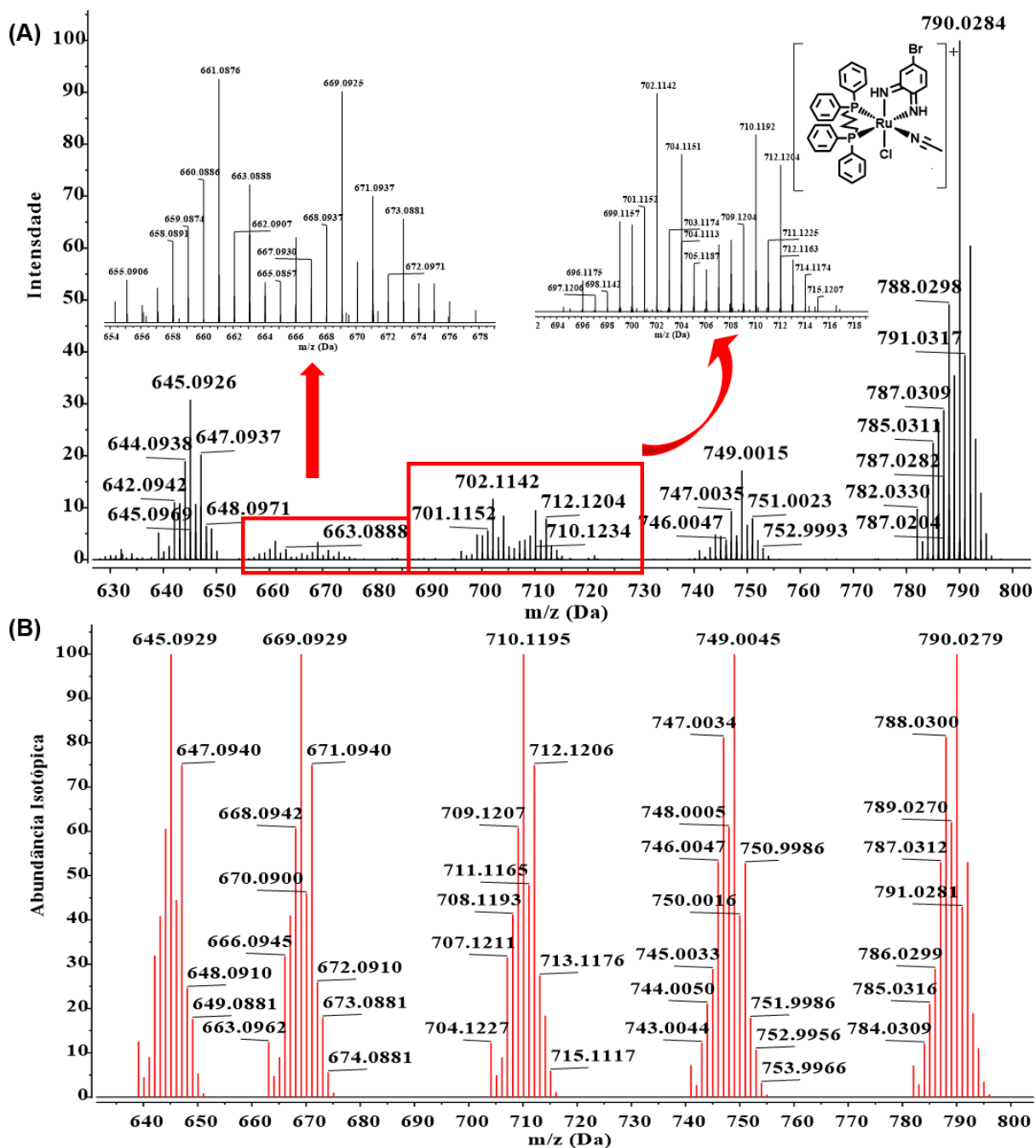


Fonte: Elaborada pelo autor.

O espectro de massas de alta resolução (ESI-MS) para o complexo Ru-NN-Br foi obtido (Figura 16), e além de apresentar o perfil isotópico típico de complexos metálicos contendo o átomo de rutênio, exibiu um perfil de fragmentação mais detalhado em sinais, comparativamente aos complexos anteriores. Provavelmente, esse comportamento se deve ao substituinte Br ser um bom grupo abandonador, consequência de seu tamanho e eletronegatividade, aumentando assim as possíveis

fragmentações. O espectro teórico para este complexo (Figura 16) foi montado com base nas propostas de atribuições para os fragmentos, levando em consideração os valores de massa experimentais obtidos.

Figura 16 - Espectros de massas de alta resolução com ionização por “electrospray” (ESI-MS) para o complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-Br)] em acetonitrila (A) e simulado (B).



Fonte: Elaborada pelo autor.

Partindo do espectro de massas do complexo Ru-NN-Br em acetonitrila, juntamente com os resultados teóricos, foi possível atribuir os sinais e montar a Tabela 3, em que podemos observar que o pico base com m/z de 790,0284u (Teórico = 790,0311u) foi atribuído a coordenação do solvente acetonitrila substituindo um dos ligantes cloretos, assim como observado no caso dos compostos anteriores contendo os ligantes NN-F e NN-Met. O sinal com m/z igual a 749,0015u (Teórico = 749,0014u) foi atribuído a espécie pentacoordenada resultante da perda de um íon cloreto, e o sinal com valor de m/z 710,1192u (Teórico = 710,1195u) foi atribuído a perda do substituinte bromo do ligante NN-Br do pico base. Os sinais com valores de m/z 669,0925u (Teórico = 669,0929u) e 645,0926u (Teórico = 645,0929u) foram atribuídos, respectivamente, as espécies formadas pela perda do solvente acetonitrila do fragmento com m/z 710,1192u e pela quebra do anel do ligante NN-Br, do sinal com m/z 645,0926u.

Tabela 3 - Valores de m/z (M/Z_C = calculado e M/Z_{EX} = experimental) e atribuições com seus respectivos erros para o complexo Ru-NN-Br. (continua)

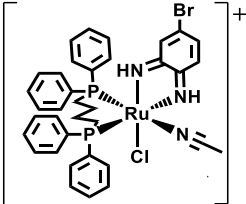
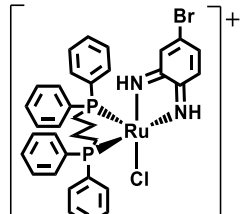
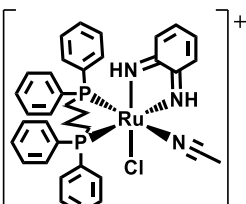
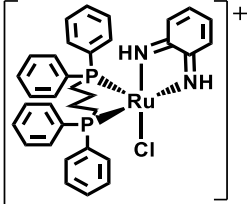
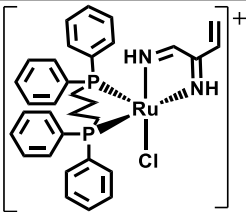
Notação/Fórmula	Estrutura	M/Z_C	M/Z_{EX}	Erro (ppm)
$[M - Cl + ACN]^+$		790,0279	790,0284	0,63
$[M - Cl]^+$		749,0014	749,0015	0,13
$[M - Cl + ACN - Br + H]^+$		710,1195	710,1192	0,42
$[M - Cl - Br + H]^+$		669,0929	669,0925	0,60

Tabela 3 - Valores de m/z (M/Z_C =calculado e M/Z_{EX} =experimental) e atribuições com seus respectivos erros para o complexo Ru-NN-Br. (conclusão)

Notação/Fórmula	Estrutura	M/Z_C	M/Z_{EX}	Erro (ppm)
$[M - Cl - Br - C_2 + H]^+$		645,0929	645,0926	0,62

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.1.2 Ressonância Magnética Nuclear de ^{31}P { 1H }

4.1.2.1 Aspectos teóricos sobre RMN de ^{31}P

O núcleo de fósforo apresenta características físicas como raio e massa muito maiores que o núcleo de hidrogênio. Nos espectros de RMN a frequência efetiva sentida pelo núcleo (ν) é menor que o campo magnético aplicado (B_0), devido a circulação de elétrons ocasionar o surgimento de um campo magnético que se opõe ao campo aplicado, gerando um efeito chamado de blindagem (σ), fazendo com que núcleos em ambientes químicos diferentes possuam diferentes blindagens acarretando uma diferença na frequência de observação do sinal (deslocamento químico (δ)) (Equação 1).^{101, 102}

$$\nu = (\gamma/2\pi) \cdot B_0(1 - \sigma) \quad (1)$$

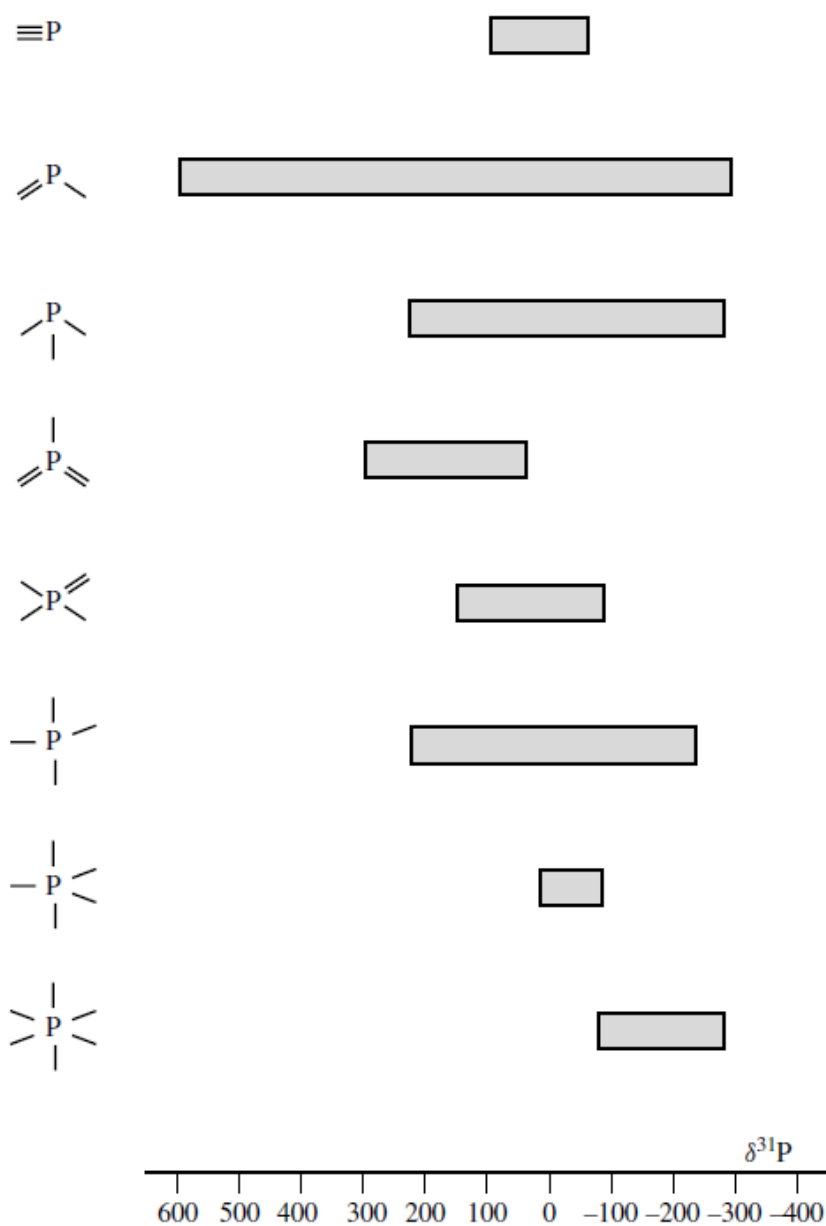
De acordo com uma das abordagens mais aceitas para deslocamentos químicos de átomos pesados, o deslocamento químico para estes tipos de átomos, é resultante do somatório de duas contribuições, uma contribuição de blindagem diamagnética, (σ_d) e uma contribuição paramagnética, (σ_p).¹⁰³ A diferença no deslocamento químico, entre dois sinais de dois átomos do mesmo núcleo, é resultante da diferença nas constantes de blindagem (σ) dos núcleos que originam os sinais. Em geral, o principal contribuinte para o deslocamento químico de átomos pesados vem do termo paramagnético.¹⁰³ O termo paramagnético é dependente da densidade de elétrons envolvidos nas ligações entre o núcleo estudado (fósforo) com outros núcleos, geometria e hibridização dos orbitais p e d. Embora esta teoria consiga responder por grandes tendências nos deslocamentos químicos de átomos pesados, poucas variações são reproduzidas, sendo relatado que alguns valores de

deslocamento químico para ^{31}P estão correlacionados simplesmente com as densidades de elétrons no fósforo. Na tentativa de unificar uma teoria para os deslocamentos químicos de ^{31}P "Letcher e Van Wazer" utilizaram a mecânica-quântica para demonstrar os fatores que dominam as mudanças no deslocamento químico do núcleo de ^{31}P , mostrado pela Equação 2: sendo $\Delta\chi_x$ a diferença de eletronegatividade na ligação P-X, Δn_π , é a variação na sobreposição de elétrons- π , $\Delta\theta$ a variação no ângulo das ligações- σ , C, k e A são constantes.^{101, 103}

$$\Delta\delta = -C\Delta\chi_x + K\Delta n_\pi + A\Delta\theta \quad (2)$$

Em resumo, os valores de deslocamento químico do ^{31}P são resultantes do ambiente químico em torno do átomo de fósforo, o qual está intimamente relacionado a sua estrutura molecular, dependendo principalmente do ângulo de ligação, eletronegatividade dos substituintes, densidade eletrônica do fósforo, caracter de ligação- π dos substituintes, incluindo sua estereoquímica. Como o núcleo de fósforo é bastante versátil e diversificado do ponto de vista estrutural, e aos fatores mencionados, que afetam o deslocamento químico deste núcleo, o fósforo apresenta uma faixa de deslocamento químico extremamente ampla e sensível, variando geralmente de -400 a 600 ppm (Figura 17),^{101, 102, 104, 105} tornando a técnica de ressonância magnética de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ uma ótima ferramenta para a caracterização de complexos contendo ligantes fosfinicos.

Figura 17 - Faixa de deslocamento químico para as diferentes espécies coordenadas de ^{31}P .



Fonte: Adaptado da referência 105.

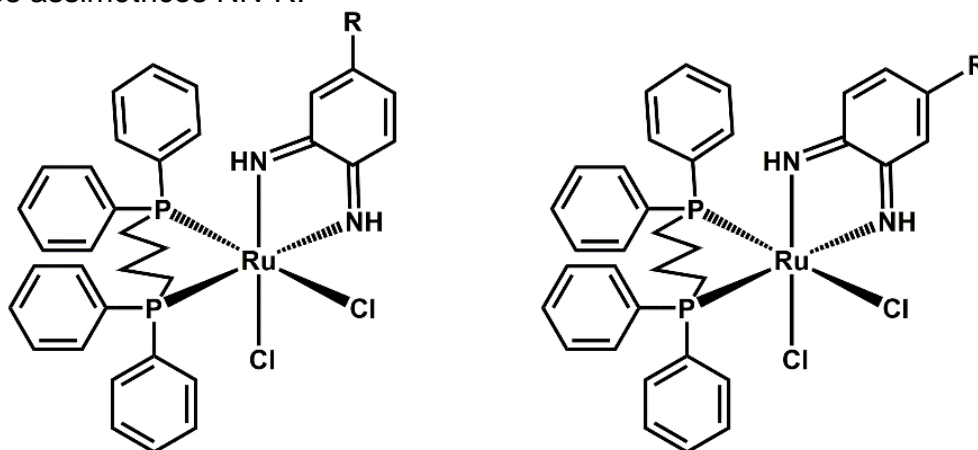
4.1.2.2 Caracterização dos complexos contendo os ligantes NN-R e NN-R₂ por RMN de ^{31}P { ^1H }

A técnica de ressonância magnética de ^{31}P { ^1H } é uma potente ferramenta utilizada na caracterização de complexos fosfínicos de rutênio, sendo capaz de trazer informações importantes sobre estrutura e geometria dos complexos, isso é possível devido a sensibilidade dos núcleos de fósforos as suas vizinhanças, discutidas na

sessão anterior, fazendo com que os átomos de fosforo do ligante dppb apresentem deslocamentos químicos característicos e distintos para cada núcleo de fosforo no composto. Além disso, também pode fornecer informações relacionadas à pureza do composto, sendo inclusive possível quantificar impurezas que contenham fosforo em suas estruturas. Partindo deste princípio, foi utilizado esta técnica para caracterizar e avaliar a pureza dos complexos preparados.

Para os compostos do tipo NN-R existe a possibilidade de outro tipo de isomeria além do isomerismo *cis* e *trans*, que surge da assimetria dos ligante NN-R, sendo possível a sua coordenação em duas posições espaciais diferentes, ocasionando a formação de dois complexos muito semelhantes, cujos núcleos de fosforo são bastante similares. Porém, apresentam uma pequena diferença devido à posição com que o ligante NN-R se coordena (Figura 18), acarretando na formação de isômeros geométricos, ocasionando o surgimento de outros sinais no espectro de RMN de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$.¹⁰⁶ Este fenômeno não é observado para os complexos do tipo NN-R₂, devido serem simétricos.

Figura 18 - Estruturas dos dois isômeros constitucionais gerados pela coordenação dos ligantes assimétricos NN-R.

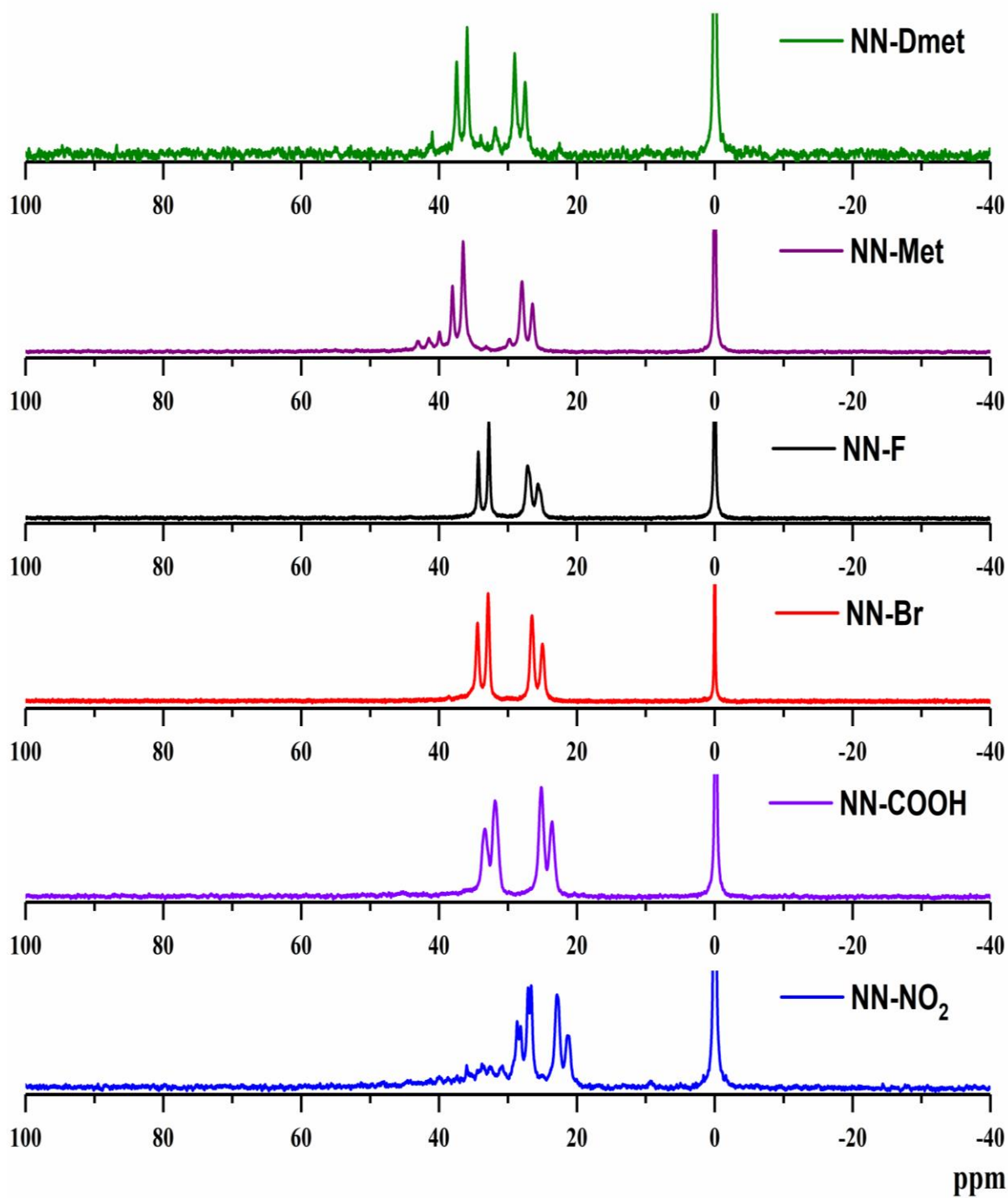


Fonte: Elaborada pelo autor.

O espectro de RMN ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ dos complexos da série 1 (*cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-R)] e *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-R₂)]) em CH₂Cl₂ a 60 MHz (Figura 19) apresentaram dois dubletos, um na região entre 20 e 30 ppm e o outro na região entre 30 e 40 ppm, referentes aos dois núcleos de fósforos do ligante dppb, indicando que a vizinhança química destes átomos são diferentes, constatando conseqüentemente a existência do isômero *cis*. Atribui-se os sinais em menores deslocamentos químicos, mais

protegidos, aos núcleos de fósforo que se encontra *trans* ao átomo de nitrogênio dos ligantes NN-R ou NN-R₂, os sinais em maiores valores de deslocamentos químicos, mais desprotegidos, foram atribuídos aos núcleos de fósforo *trans* ao átomo de cloro.^{107, 108} O ligante cloreto trata-se de um ligante do tipo doador de elétrons, enquanto os ligantes NN-R e NN-R₂ apresentam um forte caráter π-retirador de elétrons. Desta forma, sabe-se que átomos de fósforo *trans* a ligantes π-aceptores são deslocados para campos bem mais altos, causando a proteção destes núcleos, por outro lado átomos de fósforo *trans* a ligantes π-doadores causam a sua desproteção.

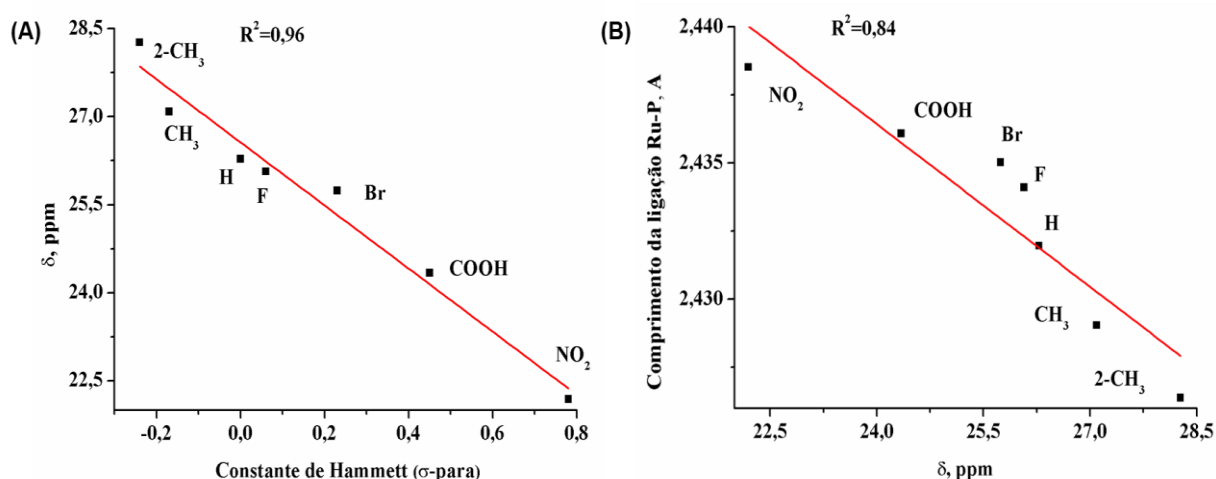
Figura 19 - Comparação dos Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos do tipo *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{NN-R})]$ e *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{NN-R}_2)]$ em CH_2Cl_2 a 60 MHz, calibrados com ácido fosfórico.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Uma importante correlação foi observada entre os valores de comprimento de ligação Ru-P (teóricos) e os valores de δ dos núcleos de fósforos *trans* ao ligante NN, em que podemos observar uma dependência do deslocamento químico em função do substituinte, resultando em um comportamento linear (Figura 20). Vale ressaltar que essa análise só foi possível, porque nestes compostos não foram realizadas alterações na estrutura do complexo, não sendo alterados ligantes ligados diretamente ao centro metálico, que afetariam a Ru-P, sendo alterado somente a densidade eletrônica π do ligante NN, por meio dos substituintes R.

Figura 20 - Correlação dos valores de deslocamento químico de ^{31}P (fosforo *trans* ao ligante NN) com o parâmetro de Hammett com σ -para (A), correlação dos valores de deslocamento químico de ^{31}P versus comprimento de ligação Ru-P calculados para os complexos da série 1.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Na Tabela 4 podemos evidenciar que o comprimento da ligação Ru-P para os complexos da série 1, se correlacionam com o substituinte R dos ligantes NN. Sendo observado que, quanto maior for o caráter retirador de densidade eletrônica do substituinte, maior será o comprimento da ligação Ru-P. O aumento do caráter π -acceptor do ligante quinona resulta em uma menor densidade eletrônica no centro metálico, este por sua vez terá menos densidade eletrônica π disponível para realizar outras ligações π , resultando em uma menor densidade eletrônica π do rutênio sobre o núcleo de fósforo por meio de retrodoação. Como foi descrito anteriormente na seção sobre RMN de ^{31}P , a densidade eletrônica π é um dos fatores que afetam o

deslocamento químico do ^{31}P , sendo assim os valores de deslocamento químico encontrados e os valores de comprimentos de ligação Ru-P encontram-se consistentes sugerindo que os estudos teóricos conseguem descrever razoavelmente as tendências dos comprimentos de ligação Ru-P.

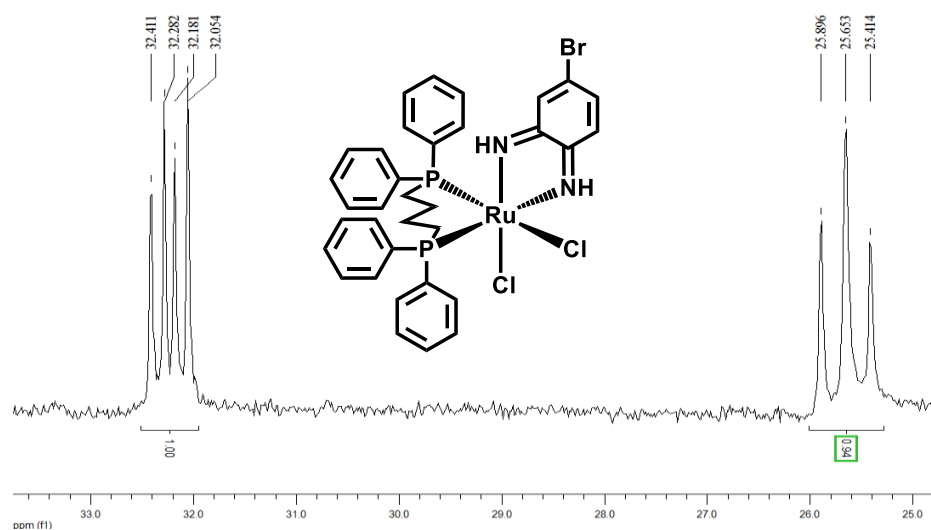
Tabela 4 - Valores de comprimento de ligação teóricos Pt-Ru (fosforo *trans* ao ligante NN) e Pc-Ru (fosforo *cis* ao ligante NN) para os complexos da série 1.

composto	Pt-Ru	Pc-Ru
Ru-NN-Dmet	2,42639	2,39321
Ru-NN-Met	2,42905	2,39557
Ru-NN-F	2,43411	2,40017
Ru-NN	2,43197	2,39956
Ru-NN-Br	2,43503	2,40444
Ru-NN-COOH	2,43609	2,41111
Ru-NN-NO ₂	2,43853	2,41993

Fonte: Elaborada pelo autor.

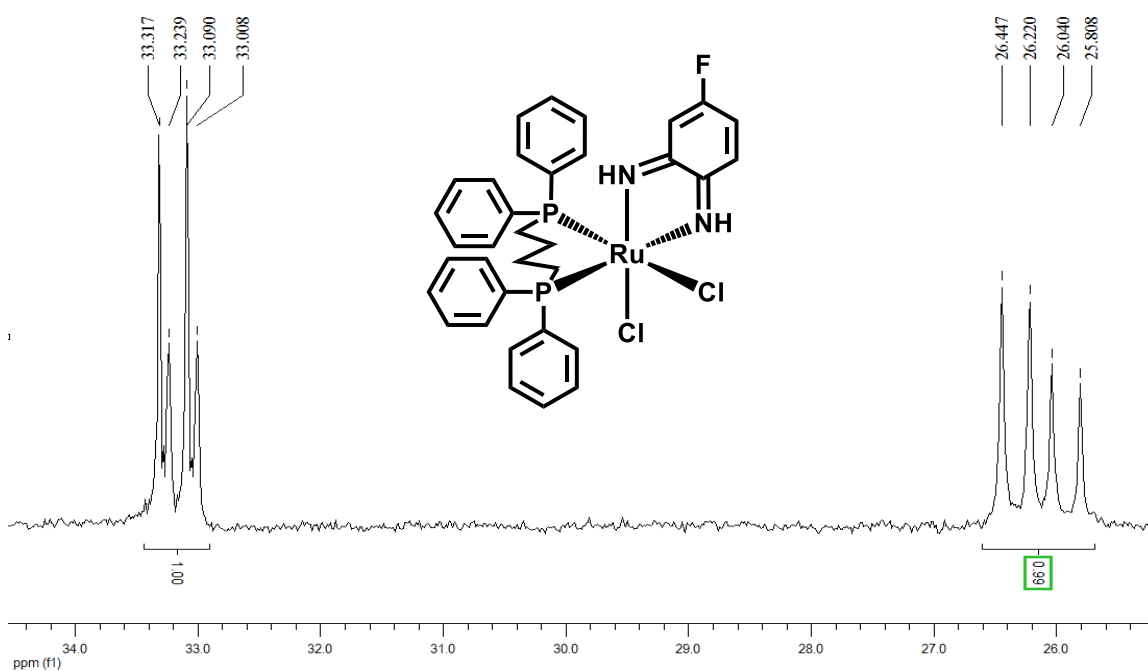
De acordo com o que foi discutido anteriormente, os complexos do tipo NN-R apresentam isômeros constitucionais, este fenômeno pode ser observado claramente ao analisarmos os espectros de RMN de ^{31}P dos complexos Ru-NN-Br, Ru-NN-F, Ru-NN-CH₃, e Ru-NN-COOH a 400MHz (Figuras 21-24), sendo observado um alargamento dos dupletos referentes aos fósforos ou até mesmo um desdobramento dos mesmos. Este fenômeno é quase imperceptível para os complexos Ru-NN-Met e Ru-NN-Br realizados a 60MHz (Figura 19), porém os espectros de RMN obtidos a 400MHz não deixam dúvidas quanto a ocorrência deste tipo de isomeria. Tendo sido observado em todos os complexos do tipo Ru-NN-R dois pares de dupletos para cada “tipo” de núcleo de fósforo, com exceção do complexo Ru-NN-COOH sendo observado mais de dois sinais para cada fósforo. Todos sendo atribuídos a pelo menos um par de cada isômero geométrico *cis*.

Figura 21 - Espectro de RMN de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ do complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-Br)] em CDCl₃ obtido a 400 MHz.



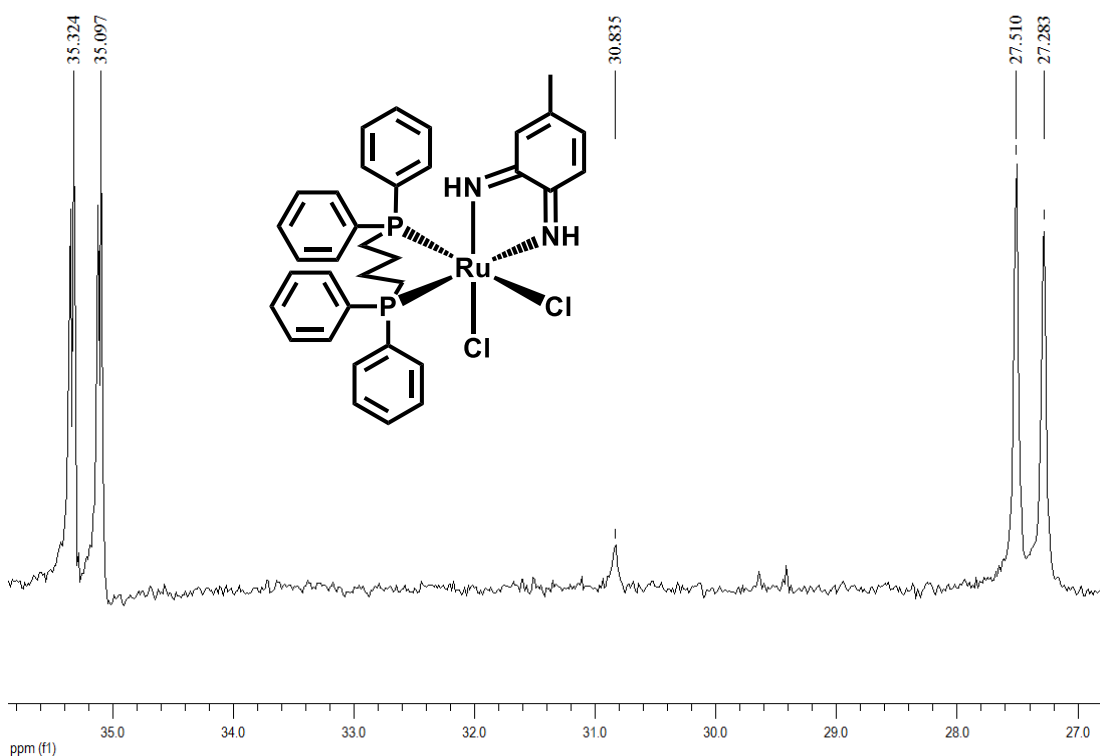
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 22 - Espectro de RMN de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ do complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-F)] em CDCl₃ a 400MHz.



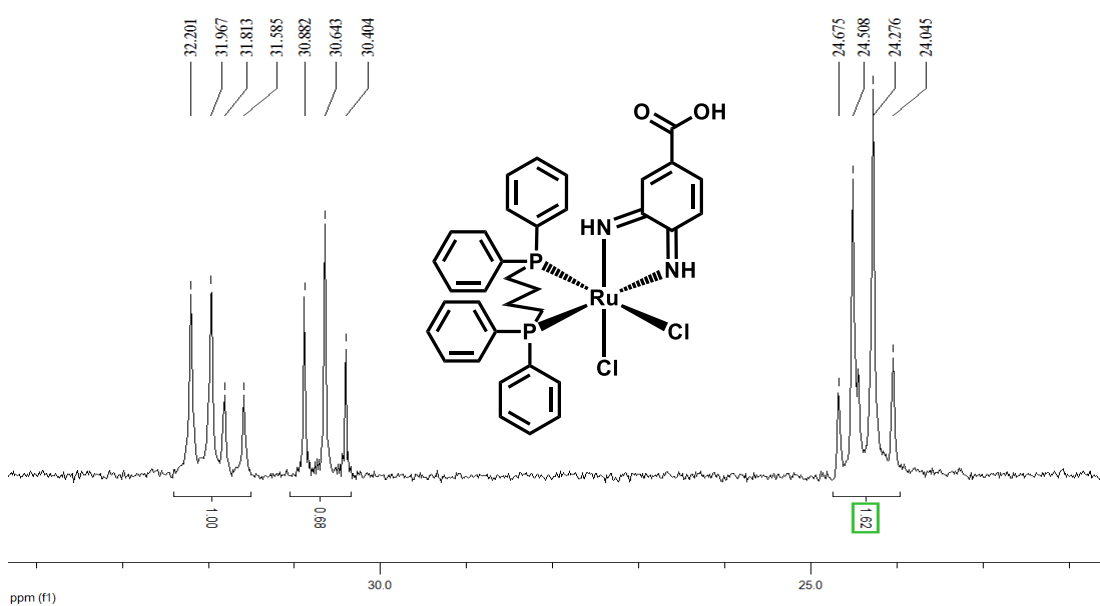
Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 23 - Espectro de RMN de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ do complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-Met)] em CDCl₃ a 400MHz.



Fonte: Elaborada pelo autor.

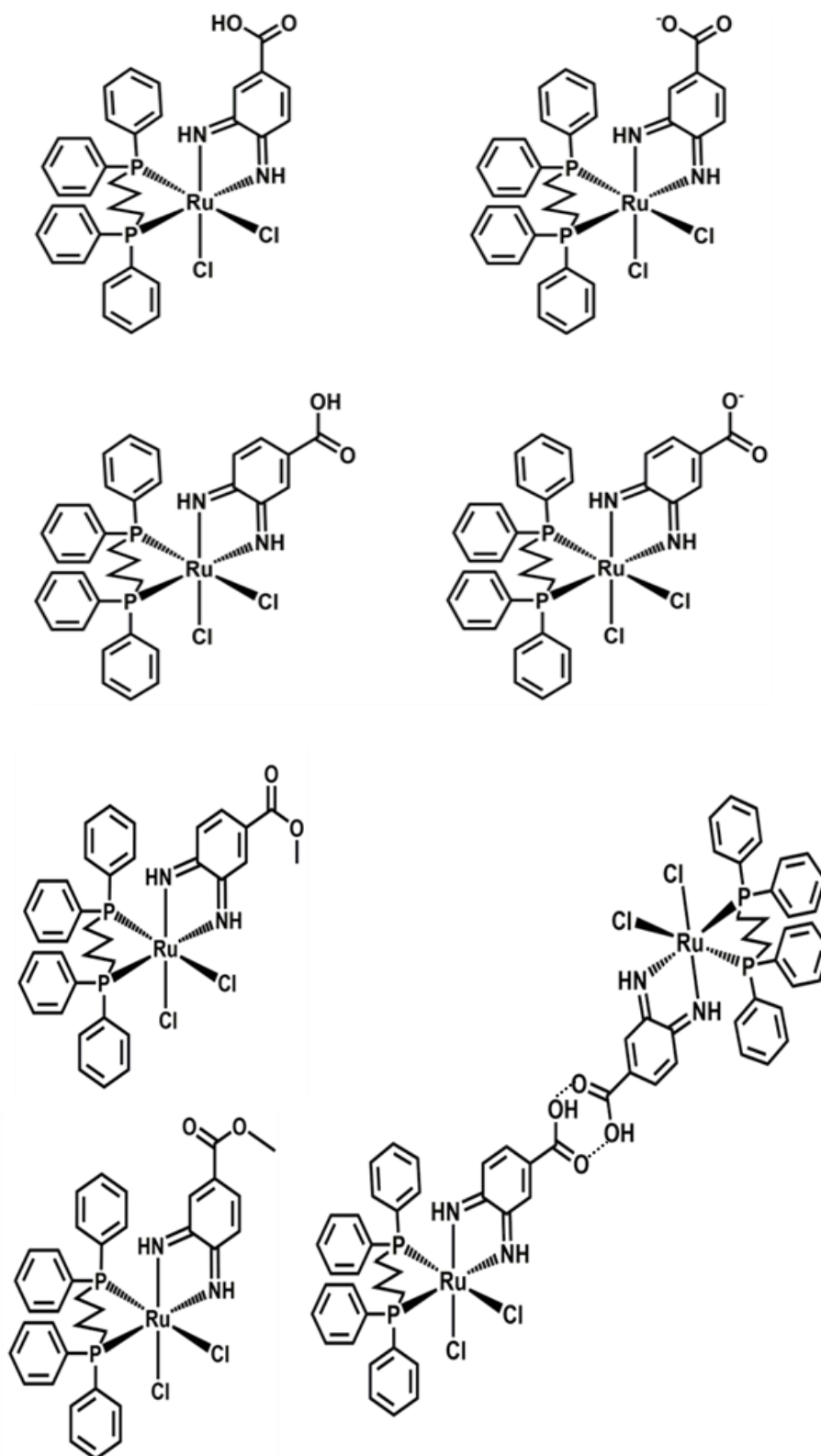
Figura 24 - Espectro de RMN de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ do complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-COOH)] em CDCl₃ a 400MHz.



Fonte: Elaborada pelo autor.

O espectro RMN do complexo NN-COOH a 400MHz, mostrou-se bastante interessante com expressivas diferenças dos demais complexos da mesma série. Assim, como no caso dos complexos contendo os ligantes NN-R, para este complexo também foi observado o desdobramento dos sinais de fósforo no espectro a 400MHz (Figura 24), confirmando a existência de isômeros decorrentes da forma com que o ligante NN-COOH se coordena. Entretanto, seriam esperados apenas 4 sinais, sendo um par para cada tipo de fósforo da amostra. Porém, foram observados 8 dupletos, sendo 4 dupletos na região característica de fósforo trans ao ligante cloreto, dois deles na região de maior desproteção do espectro e os outros dois ao lado direito formando um sinal com aparência de um tripleto, vale ressaltar que a integração relativa dos sinais estão de 1:1 sugerindo a inexistências de isômeros *trans*. Os outros 4 sinais característicos de fósforo trans ao ligante NN-COOH encontram-se colapsados na região abaixo de 25 ppm, apresentando uma aparência de quarteto. O surgimento de um maior número de sinais pode ser explicado por uma possível dimerização de dois complexos por meio do ligante NN-COOH, tendo em vista que os espectros de RMN de ^{31}P são tomados em soluções bastante concentradas, tornando possível que ocorra uma dimerização do complexo por meio do substituinte ácido carboxílico do anel do ligante NN-COOH (Figura 25) Outra explicação para a ocorrência desse fenômeno observado seria uma possível desprotonação do ligante NN-COOH durante a etapa de síntese e parte do complexo tenha sido isolado na forma NN-COONa. Estudos de caracterização por RMN mostram que o ligante dppbts (1,2-Bis[di(m-sodiosulfonatofenil)fosfino]butano) apresenta o espectro de RMN deste ligante dependente do pH (Anexo E). Existe ainda uma terceira possibilidade para este caso, que seria uma possível reação de esterificação, entre o grupo ácido do ligante NN-COOH e o solvente utilizado na síntese (MeOH). Uma vez que na solução analisada por RMN, se um dos casos citados acima ocorrer teremos uma situação que seriam esperados o dobro de sinais.

Figura 25 - Possíveis espécies formadas a partir do complexo Ru-NN-COOH.



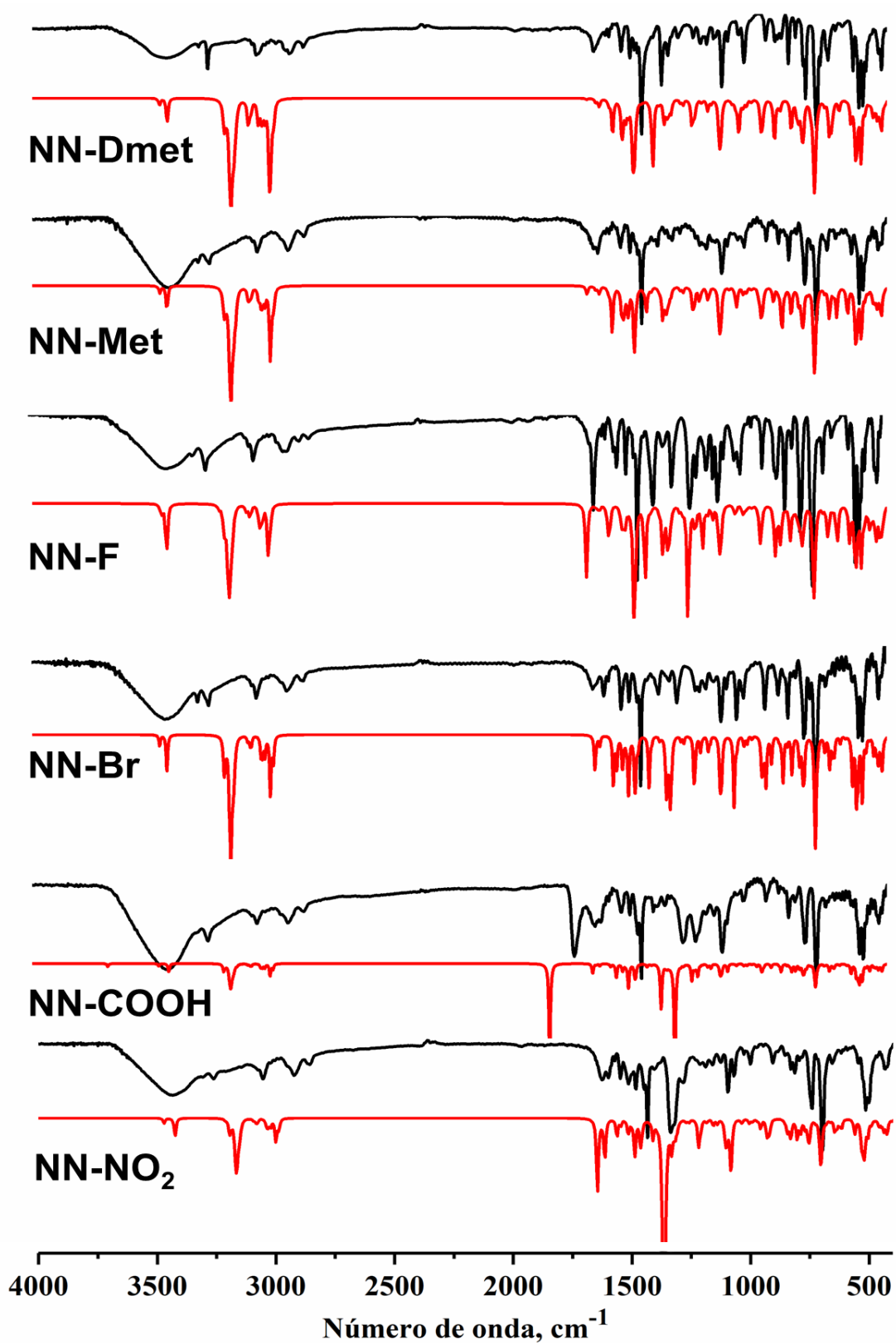
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.1.3 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

As análises dos espectros vibracionais na região do infravermelho para os complexos da série 1, (*cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-R)] e *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-R₂)], foram analisadas e discutidas em conjunto com os dados computacionais, a fim de fornecer um maior suporte para as atribuições. Neste trabalho, utilizou-se o método de teoria do funcional da densidade (DFT) para a otimização das geometrias dos complexos e para a obtenção dos seus respectivos espectros vibracionais teóricos.

A comparação dos espectros vibracionais teóricos e experimentais para todos os compostos da série 1 indica uma boa concordância entre os valores experimentais e aqueles previstos por DFT (Figura 26). Todavia, observa-se pequenas discrepâncias entre os valores teóricos e experimentais nas intensidades e nas frequências das bandas. Essas discrepâncias de valores são esperadas, uma vez que os espectros teóricos são calculados para as espécies isoladas no vácuo. Por outro lado, as frequências das bandas observadas nos espectros de FTIR experimentais dos complexos sólidos dispersos em pastilha de KBr podem sofrer influência de interações intermoleculares que são desconsideradas nas simulações computacionais.

Figura 26- Espectros de IR Experimentais para os complexos da série 1 dispersos em pastilha de KBr (preto,) e teóricos (vermelho) para os complexos isolados no vácuo.



Fonte: Elaborada pelo autor.

A análise dos espectros vibracionais na região do infravermelho, experimental e teóricos, para os complexos da série 1, demonstrou que todos estes complexos apresentaram as bandas características de complexos fosfínicos de rutênio e dos ligantes NN-R ou NN-R₂ (Tabela 5) sustentando que os ligantes do tipo NN e o dppb encontram-se coordenados ao centro metálico.^{109, 110}

Tabela 5 - Atribuição dos principais modos vibracionais para os complexos da série 1, (Experimental/DFT).

Complexos Ru-NN-R, Frequência/ cm ⁻¹ (Exp/DFT)						Atribuições
R = F	R = Br	R = COOH	R = Met	R = Dmet	R = NO ₂	
3426/ 3431	3421/ 3432	3426/ 3424	3433/ 3424	3437/ 3431	3439/ 3423	v(NH)
3252/ 3169	3251/ 3172	3259/ 3162	3250/ 3166	3256/ 3161	3254/ 3168	v(CH)
3052/ 3005	3052/ 3006	2924/ 2997	2923/ 2997	2916/ 2998	2921/ 2997	v(CH ₂)s
		1714/ 1818				v(C=O)
		1430/ 1293				v(COO ⁻)
1618, 1520/ 1595, 1500	1621, 1521/ 1664, 1572	1633, 1520/ 1687, 1541	1613, 1522/ 1611, 1558	1631, 1517/ 1611, 1554	1625, 1546/ 1644, 1565	v(CN + CC)
1434, 1217/ 1463, 1231	1433, 1215/ 1468, 1233	1451, 1260/ 1468 e 1223	1433/ 1461	1435/ 1469	1435/ 1459	v(CC)+ β(CH)
					1338/ 1282 1364	v(NO)
			1363/ 1331	1346/ 1383		δ(CH ₃)
1095/ 1102	1094/ 1104	1090 1099	1091/ 1102	1095/ 1101	1069/ 1085	v(PC)
717, 533/ 749, 685, 510	703, 527/ 746, 703 e 527	744, 694, 515, 750, 700 515	746, 696, 515/ 750, 704, 531	742, 694, 520/ 754, 705, 534	741, 700, 515/ 752, 702, 520	v(CH)
507/ 500	500/ 505	497/ 500	500/ 507	497/ 505	500/ 505	v(RuP)

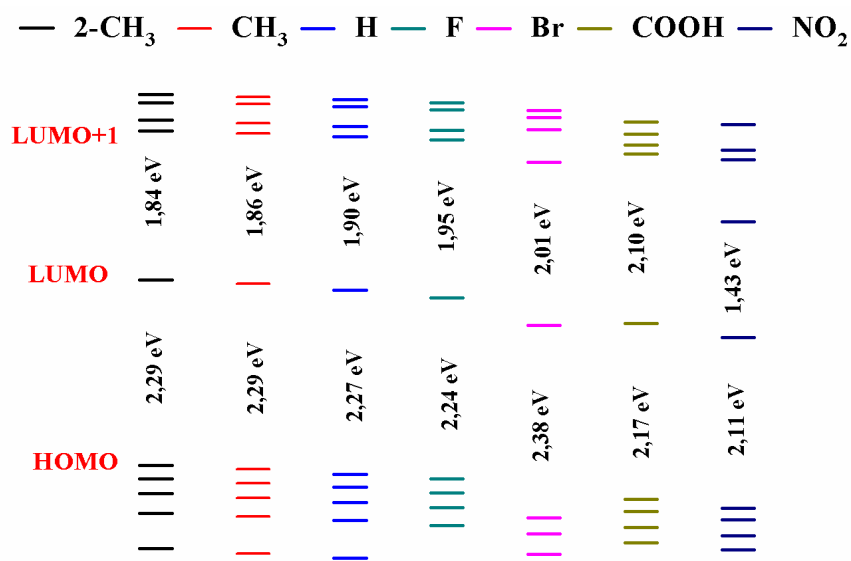
Fonte: Elaborada pelo autor.

Em todos os compostos da série, observa-se a presença dos modos vibracionais característicos do ligante dppb coordenado ao Ru: $\nu(\text{Ru-P})$ em $\sim 500 \text{ cm}^{-1}$, $\nu(\text{CH})$ em ~ 700 e 530 cm^{-1} e $\nu(\text{CH})$ em ~ 3000 e 3250 cm^{-1} . Também foram evidenciados os modos vibracionais específicos do substituinte R dos ligantes NN, como $\nu(\text{C=O})$ e $\nu(\text{COO}^-)$ do ligante NN-COOH em 1714 e 1430 cm^{-1} , $\nu(\text{NO})$ do ligante NN-NO₂ em 1338 cm^{-1} e $\delta(\text{CH}_3)$ dos ligantes NN-Met e NN-Dmet em 1363 cm^{-1} .

4.1.4 Espectroscopia Eletrônica na Região do Ultravioleta-Visível

A espectroscopia de absorção eletrônica na região do UV-vis foi utilizada em conjunto com a teoria do funcional da densidade dependente do tempo (TD-DFT) para tornar possível fazer uma análise mais detalhada da composição das bandas de maior interesse dos complexos da série 1, bem como validar a atribuição destas bandas. Com estas análises foi possível descrever eficientemente as medidas das contribuições das superposições de orbitais do metal e dos ligantes deduzidas por Mulliken, resultando em um perfil espectral com valores de λ_{max} próximos aos valores experimentais, sugerindo novamente que as bases utilizadas nos cálculos foram capazes de descrever satisfatoriamente a estrutura eletrônica dos compostos aqui discutidos. Estes estudos forneceram informações importantes a respeito das contribuições dos orbitais moleculares (OM) e das propriedades do estado excitado dos complexos estudados. Assim, tornou possível extrair informações importantes sobre a natureza das transições eletrônicas, auxiliando na interpretação do comportamento espectroscópico dos complexos e suas implicações na reatividade destes compostos.

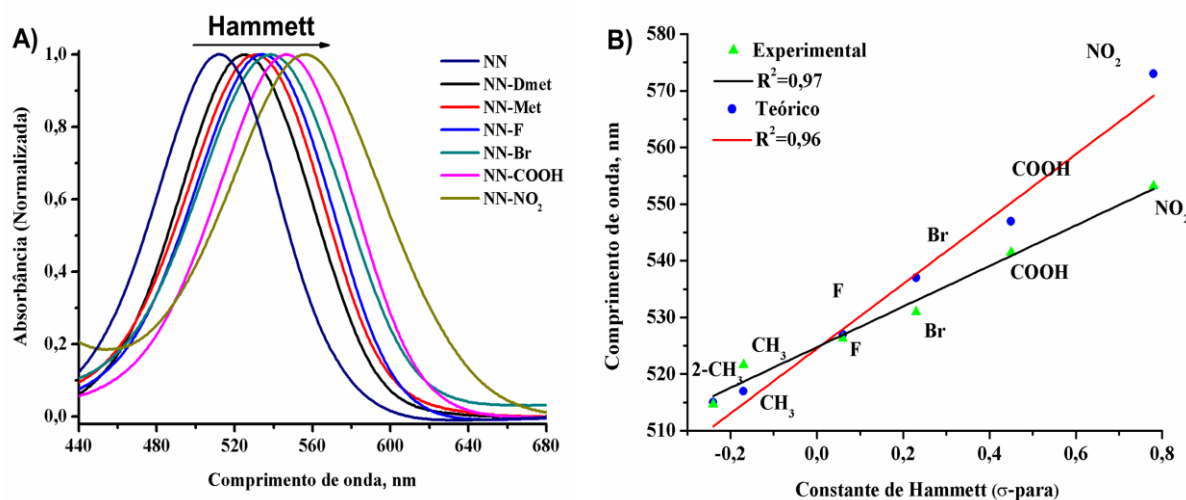
Figura 27 - Diagramas de energia dos orbitais moleculares selecionados (OMs), em função do substituinte R, para os complexos da série 1.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Foi realizado uma análise dos diagramas de energia para os complexos da série 1 e para o complexo contendo o ligante NN sem substituinte no anel (Figura 27), onde pode-se observar uma variação da diferença de energia entre os orbitais de fronteira HOMO e LUMO (gap), sugerindo que o grupo substituinte R do anel dos ligantes NN-R e NN-R₂ possuem uma influência bastante significativa nos níveis de energia de tais orbitais. Os estudos indicaram que os substituintes contendo grupos com caráter retirador de elétrons, como os grupos NO₂ e COOH, possuem a tendência de acarretar uma diminuição do valor de ΔE entre HOMO e LUMO dos complexos, diminuindo assim, a energia das transições eletrônicas. Por outro lado, os substituintes contendo grupos doadores, como o grupo CH₃, acarretam num aumento do valor de ΔE , ocasionando um aumento na energia desta transição. Esta variação de energia é observada claramente nos espectros experimentais de UV-vis para estes complexos (Figura 28 (A)), sendo que em todos os compostos contendo os ligantes do tipo NN-R e NN-R₂ apresentaram variação nos valores de λ_{\max} da transição eletrônica na região do visível TCML (transferência de carga metal-ligante).

Figura 28 – Efeito do substituinte R nos espectros de UV-vis para os complexos da série 1 em metanol (A). Gráfico do parâmetro de Hammett σ -para *versus* $\lambda_{\text{máx}}$ Experimental (triângulos verdes) e $\lambda_{\text{máx}}$ Teórico (círculos azuis) para os complexos da série 1(B).



Fonte: Elaborada pelo autor.

O composto Ru-NN-NO₂ foi o que apresentou maior deslocamento de máximo de absorção da banda TCML, com deslocamento batocrômico de 33 nm quando comparado ao complexo com menor valor de λ para esta transição (Ru-NN-Dmet). Estes deslocamentos observados nos espectros dos complexos tipo Ru-NN-R e Ru-NN-R₂ foram confirmados por TD-DFT, demonstrando que realmente os substituintes do anel dos ligantes NN, possuem influência expressiva nas propriedades eletrônicas dos complexos formados. Similar fenômeno também foi observado nos deslocamentos químicos nos espectros de RMN de ³¹P {¹H} dos compostos em questão (Figura 19).

A fim de realizar um estudo mais detalhado sobre a influência dos grupos substituintes no anel dos ligantes NN nos complexos estudados, foram preparados gráficos de correlação, na busca de identificar tendências lineares entre os parâmetros de Hammett e as propriedades dos complexos. Curiosamente, foi observado uma boa correlação com os valores de deslocamento químico dos fósforos ou dos comprimentos de onda (TCML) *versus* os efeitos eletrônicos provocados pelos grupos substituintes previstos por Hammett, Figura 20 e Figura 28. Com exceção do complexo de referência "Ru-NN", que não apresenta grupos substituintes, os outros mostraram-

se com boa correlação com respeito aos parâmetros de Hammett. Os parâmetros de Hammett (Tabela 6) foram estabelecidos a partir de estudos da ionização de ácidos benzoicos meta ou para-substituídos em água a 25 °C. Hammett demonstrou que existia uma relação linear entre o logaritmo da constante de ionização de ácidos benzoicos substituídos e o logaritmo da constante de ionização do ácido benzoico, esta relação se dá devido à mudança na energia de ativação, ΔG^\ddagger , causada pela adição dos substituintes ser diretamente proporcional às mudanças na Energia Livre de Gibbs, ΔG . Então, Hammett utilizou seus estudos para criar uma equação (Equação de Hammett = $\text{Log}K_x = \rho\sigma + \text{Log} K_0$) que mede a influência eletrônica de um dado grupo substituinte, em qualquer molécula a que ele está ligado ou em qualquer reação química. Este parâmetro é a constante sigma, σ , de sua equação. Essa constante sofre influência da posição que o substituinte se encontra na molécula e seus efeitos são aditivos.¹¹¹⁻¹¹⁴

Tabela 6- Parâmetros de Hammett: σ -meta e σ -para para os grupos substituintes: H, CH₃, F, Br, COOH e NO₂.¹¹¹

Grupo	σ -meta	σ -para
H	0,00	0,00
CH ₃	-0,07	-0,17
F	0,34	0,06
Br	0,39	0,23
COOH**	0,37	0,45
NO ₂ **	0,71	0,78

**indica que o grupo está mais estericamente impedido.

Fonte: Adaptado da referência 111.

Essas correlações observadas com os parâmetros de Hammett, podem ser justificadas pelos estudos de TD-DFT, em que se observa significativo efeito da mudança dos substituintes na energia de LUMO e HOMO (Figura 27). O aumento do caráter retirador de elétrons do substituinte acarreta uma maior estabilização dos orbitais moleculares dos complexos, principalmente de HOMO e LUMO, ocasionando um abaixamento na diferença de energia destes orbitais, levando a uma transição eletrônica em comprimentos de onda mais longo. Este efeito foi observado em todos os compostos com exceção do composto “Ru-NN”, cuja anel do ligante NN, não apresenta substituintes. Curiosamente, ao compararmos os valores de $\lambda_{\text{máx}}$ de absorção experimental e teórico com a ordem de energia esperada pelos efeitos dos substituintes previstos por Hammett (Figura 28), podemos observar que o complexo

Ru-NN apresenta um desvio bem menos significativo, sugerindo que o método de TD-DFT se mostrou mais efetivo para o planejamento de complexos. Levando em consideração este ser um método teórico mais robusto e sofisticado, a análise teórica do efeito dos substituintes acaba sendo uma opção interessante para a escolha inicial de ligantes para o planejamento de novos complexos. Este efeito dos substituintes é de fundamental importância quanto ao planejamento de novas moléculas, podendo ser utilizado para o planejamento de novos complexos com absorção mais próximas da janela terapêutica melhorando a aplicação para uso em terapia fotodinâmica.

A análise da composição de orbitais moleculares selecionados (OMs) para os compostos da série 1, indicou que os HOMO, HOMO-1 e HOMO-2, possuem uma forte contribuição do átomo de Ru (aproximadamente 50%), dos ligantes NN e dos ligantes Cl⁻ para a sua composição. Entretanto, os orbitais moleculares ocupados de maior energia, HOMO-3, HOMO-4, e HOMO-5, apresentaram uma maior densidade eletrônica nos ligantes dppb, bqdi e Cl⁻(Figura 29). O LUMO é constituído predominantemente pelo ligante bqdi e o átomo de Rutênio, possuindo uma forte contribuição dos ligantes NN (70%), e uma contribuição um pouco menor do átomo de Ru. Do orbital molecular LUMO+1 ao LUMO+9 podemos observar uma composição predominantemente centrada no ligante dppb.

Figura 29 - Diagrama de energia para os orbitais dos complexos da série 1, com seus respectivos gráficos de composição dos seus orbitais moleculares.

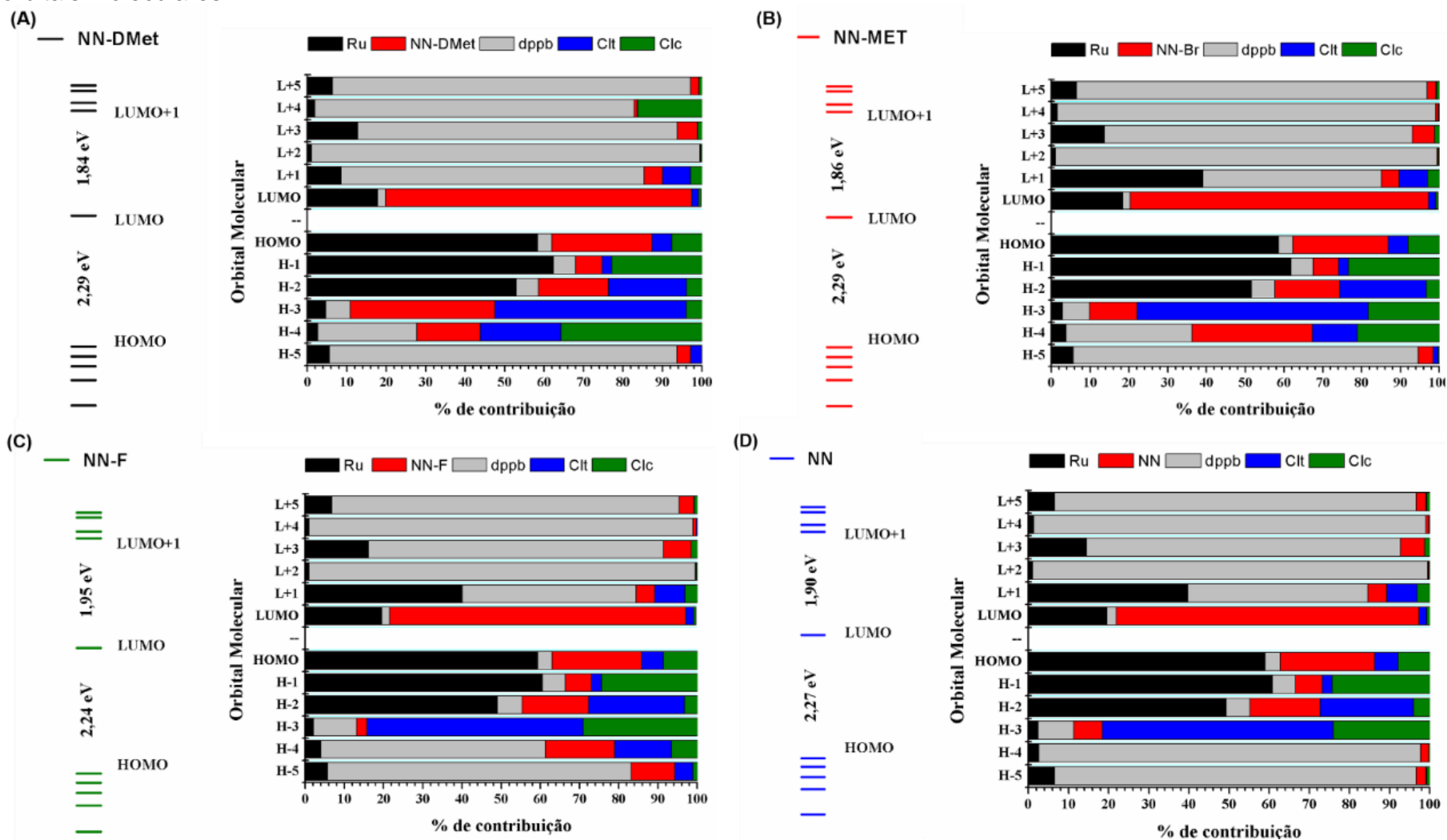
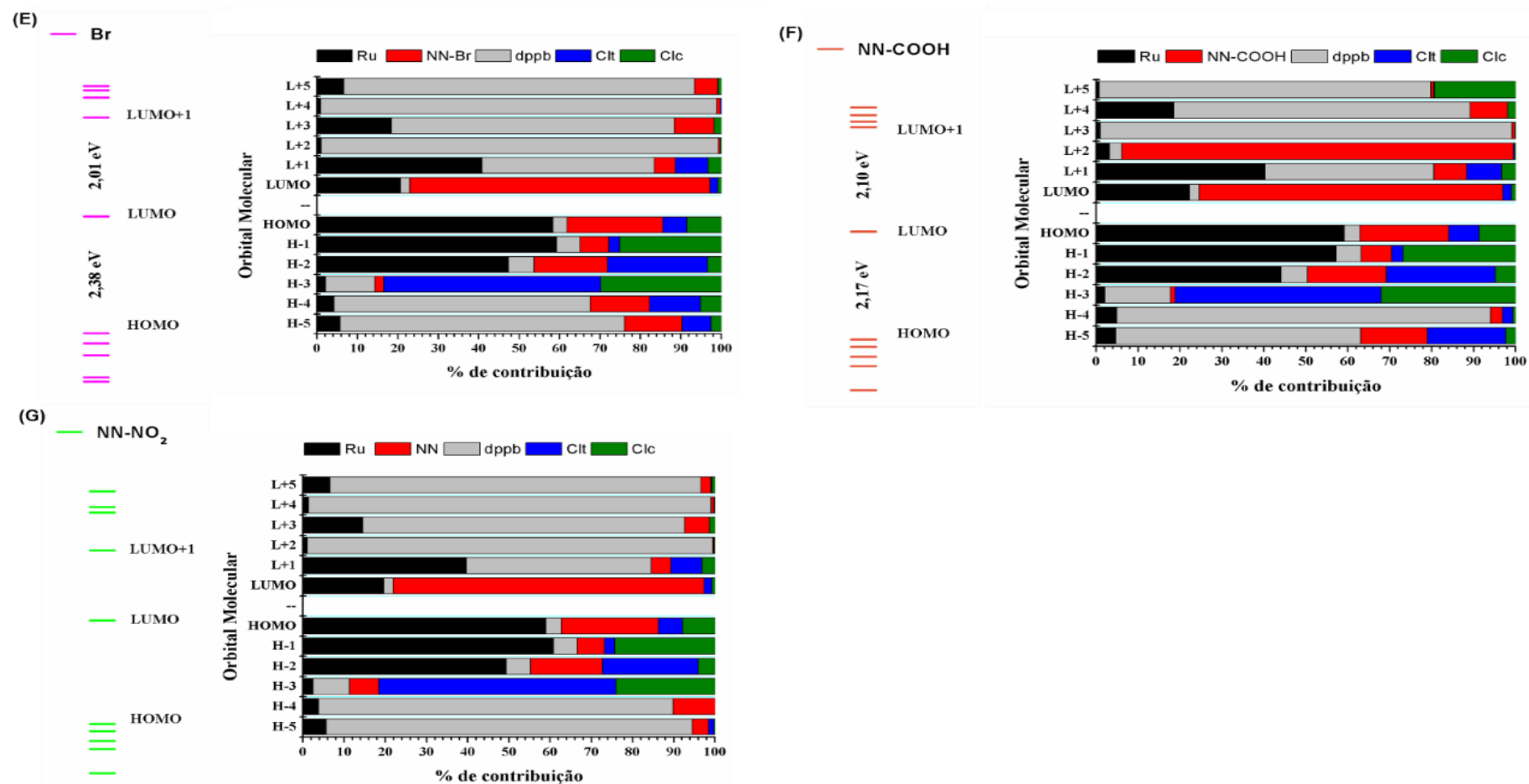


Figura 29 - Diagrama de energia para os orbitais dos complexos da série 1, com seus respectivos gráficos de composição dos seus orbitais moleculares. (continuação)



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os espectros de absorção eletrônica para os complexos da série 1 em metanol (Figura 30) apresentaram bandas nas regiões do ultravioleta e do visível. As bandas localizadas na região do ultravioleta em torno de 220 e 300 nm podem ser atribuídas a um somatório de contribuições de transições que, em maioria, são intraligantes dos ligantes fosfínicos, do ligante quinona e transições envolvendo o centro metálico e o ligante dppb.¹¹⁵ A região de maior interesse do espectro eletrônico destes complexos é a região do visível, pois todos os complexos desta série apresentam uma banda intensa e larga, iniciada em torno de 450 nm e chegando até 650 nm (dependendo do complexo) com um alto valor de coeficiente de absorvidade molar ($\epsilon \cong 13 \text{ kmol}^{-1}\text{L cm}^{-1}$) e com valores de λ máximo variando de 513 a 557 nm, dependendo dos efeitos doadores ou retiradores dos substituintes R, conforme discutido anteriormente. Esta banda é bem característica para sistemas contendo complexos metálicos contendo ligantes NN,^{116, 117} sendo atribuída a uma transferência de carga do metal para o ligante (TCML) NN.¹¹⁸ Segundo a literatura, esta transição eletrônica ocorre dos orbitais d semipreenchidos do rutênio para os orbitais π^* vazios dos ligantes do tipo quinona. Essa atribuição é reforçada pelos resultados de TD-DFT (Tabela 7) que indicam, que esta transição ocorre dos orbitais HOMO-2 para o LUMO em todos os complexos da série. A análise da composição do HOMO-2, dos complexos (Figura 29 e Anexo D) indica que este possui um caráter ligante, $d(\text{Ru})-\pi(\text{NN-R})$, com contribuição adicional de orbitais p dos cloretos. Já o LUMO possui maior contribuição de orbitais π^* -NN e com certa contribuição dos orbitais d(Ru) constatando que realmente esta transição tem um forte caráter de TCML. Adicionalmente, outro resultado que dá suporte a esta atribuição é a força de oscilador, pois este parâmetro é uma quantidade adimensional que representa a razão entre o coeficiente de absorção integrado observado e o calculado para um único elétron num poço de potencial harmônico tridimensional, resultando em uma medida da probabilidade para que uma dada transição eletrônica ocorra.¹¹⁹ A força de oscilador pode ser relacionada ao coeficiente de absorvidade molar, pois quanto maior for a intensidade (absorvidade molar) de uma transição eletrônica, mais o valor da força de oscilador se aproxima da unidade.

Figura 30 - Espectros eletrônicos experimentais (preto), teóricos (vermelho) e força de oscilador (azul) para os complexos da série 1, Ru-NN-Dmet (A), Ru-NN-Met (B), Ru-NN(C), Ru-NN-F (D), Ru-NN-Br(E), Ru-NN-COOH(F) e Ru-NN-NO₂(G).

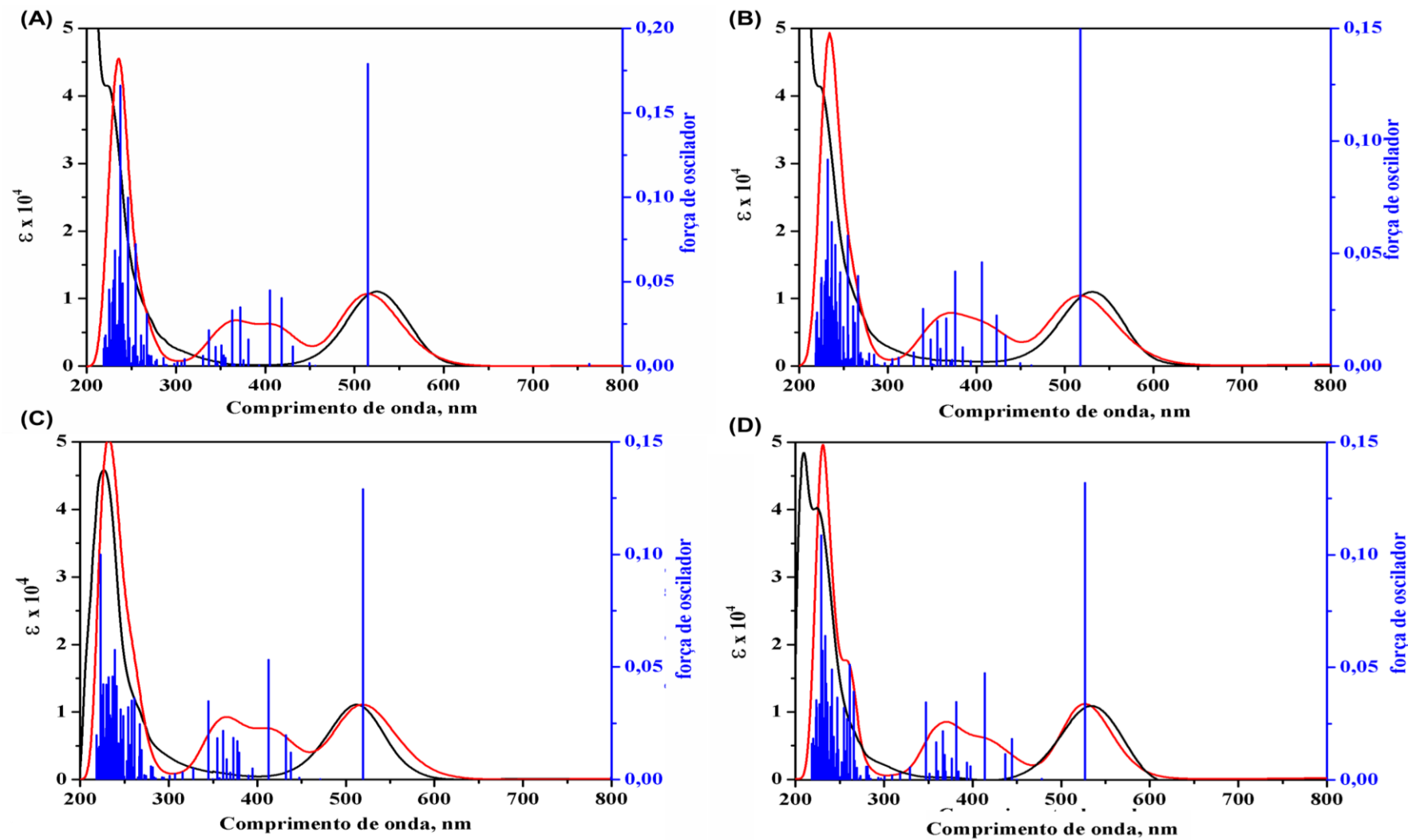
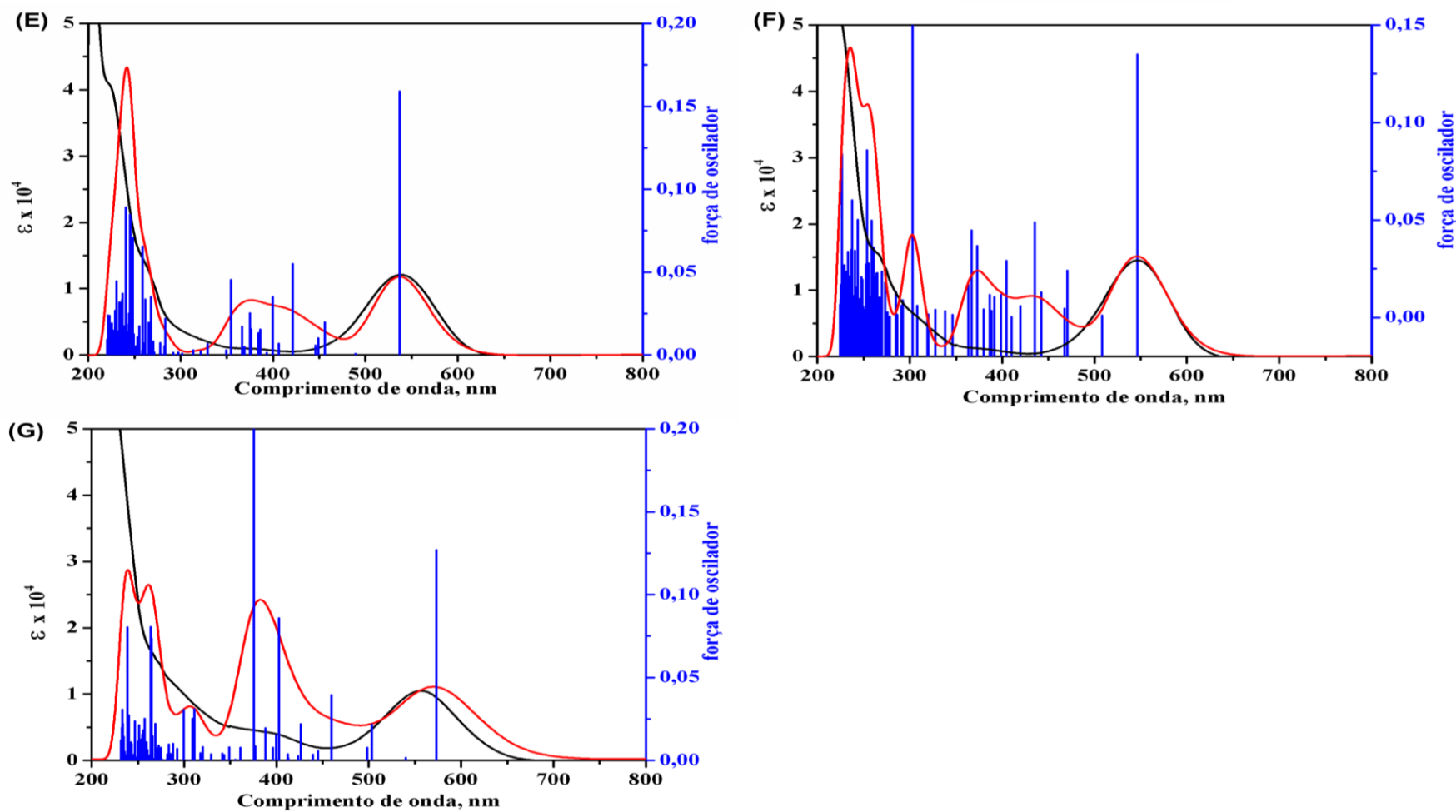


Figura 30 - Espectros eletrônicos experimentais (preto), teóricos (vermelho) e força de oscilador (azul) para os complexos da série 1, Ru-NN-Dmet (A), Ru-NN-Met (B), Ru-NN(C), Ru-NN-F (D), Ru-NN-Br(E), Ru-NN-COOH(F) e Ru-NN-NO₂(G). (continuação)



Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 7- Principais transições eletrônicas obtidas por TD-DFT/B3LYP para os complexos da série 1 em metanol (L=LUMO e H=HOMO), força de oscilador (*f*) e suas atribuições.

R=	λ_{DFT} (nm)	<i>f</i>	Maior contribuição	Tipo de transição
H	519	0,129	H-2 → L (81%)	d(Ru)- π (NN) → π^* (NN)-d(Ru)
	345	0,0349	H-15 → L (60%),	π (dppb)+ π (NN) → π^* (NN)-d(Ru)
	261	0,0361	H-5 → L+1 (27%)	π → π^* (dppb)
	223	0,0999	H-4 → L+5 (19%)	π → π^* (dppb)
Dmet	515	0,1789	H-2 → L (80%)	d(Ru)- π (NN) → π^* (NN)-d(Ru)
	363	0,033	H-10 → L (68%)	π (dppb) → π^* (NN)-d(Ru)
	246	0,0999	H-7 → L+1 (37%)	π (dppb)+ π (NN) → π^* (dppb)
	237	0,1661	H → L+12 (33%)	d(Ru)- π^* (NN) → π^* (NN)
Met	517	0,1551	H-2 → L (80%)	d(Ru)- π (NN) → π^* NN-d(Ru)
	340	0,0255	H-15 → L (66%)	d(Ru)- σ (dppb)-p(Cl ⁻) → π^* NN-d(Ru)
	255	0,058	H-6 → L+1 (21%)	π (dppb)+ π (NN) → π^* (dppb)-d(Ru)
	222	0,0124	H-3 → L+7 (48%)	p(Cl ⁻)+ π (NN) → π^* (dppb)
F	527	0,1319	H-2 → L (80%)	d(Ru)- π (NN) → π^* (NN)-d(Ru)
	347	0,0345	H-15 → L (60%),	d(Ru)- σ (dppb)-p(Cl ⁻) → π^* (NN)-d(Ru)
	261	0,0513	H-4 → L+1 (46%)	π (dppb) → π^* (dppb)+d(Ru)
	229	0,1087	H-1 → L+12 (19%)	d(Ru) → π^* (NN)
Br	537	0,1591	H-2 → L (78%)	d(Ru)- π (NN) → π^* (NN)-d(Ru)
	354	0,0453	H-15 → L (72%)	π (dppb) + p(Cl ⁻) → π^* (NN)-d(Ru)
	262	0,0336	H-4 → L+1 (40%)	π (dppb) → π^* (dppb)+d(Ru)
	241	0,0892	H-4 → L+2 (17%)	π → π^* (dppb)
COOH	547	0,1349	H-2 → L (78%)	d(Ru)- π (NN) → π^* NN-d(Ru)
	372	0,0368	H-15 → L (49%)	d(Ru)- σ (dppb)-p(Cl ⁻) → π^* NN-d(Ru)
	303	0,1498	H → L+2 (82%)	d(Ru)- π^* (NN) + p(Cl ⁻) → π^* (NN)
	231	0,0236	H-15 → L+1 (33%)	d(Ru)- σ (dppb)-p(Cl ⁻) → π^* (dppb)-d(Ru)
NO ₂	573	0,1269	H-2 → L (77%)	d(Ru)- π (NN) → π^* NN-d(Ru)
	375	0,2029	H-14 → L (31%)	p(Cl ⁻)-d(Ru) → π^* NN-d(Ru)
	264	0,0805	H-6 → L+2 (24%)	π (dppb)+ π (NN) → d(Ru)- π^* (dppb)
	239	0,0804	H-12 → L+2 (40%)	π (dppb)+ π (NN) → d(Ru)- π^* (dppb)

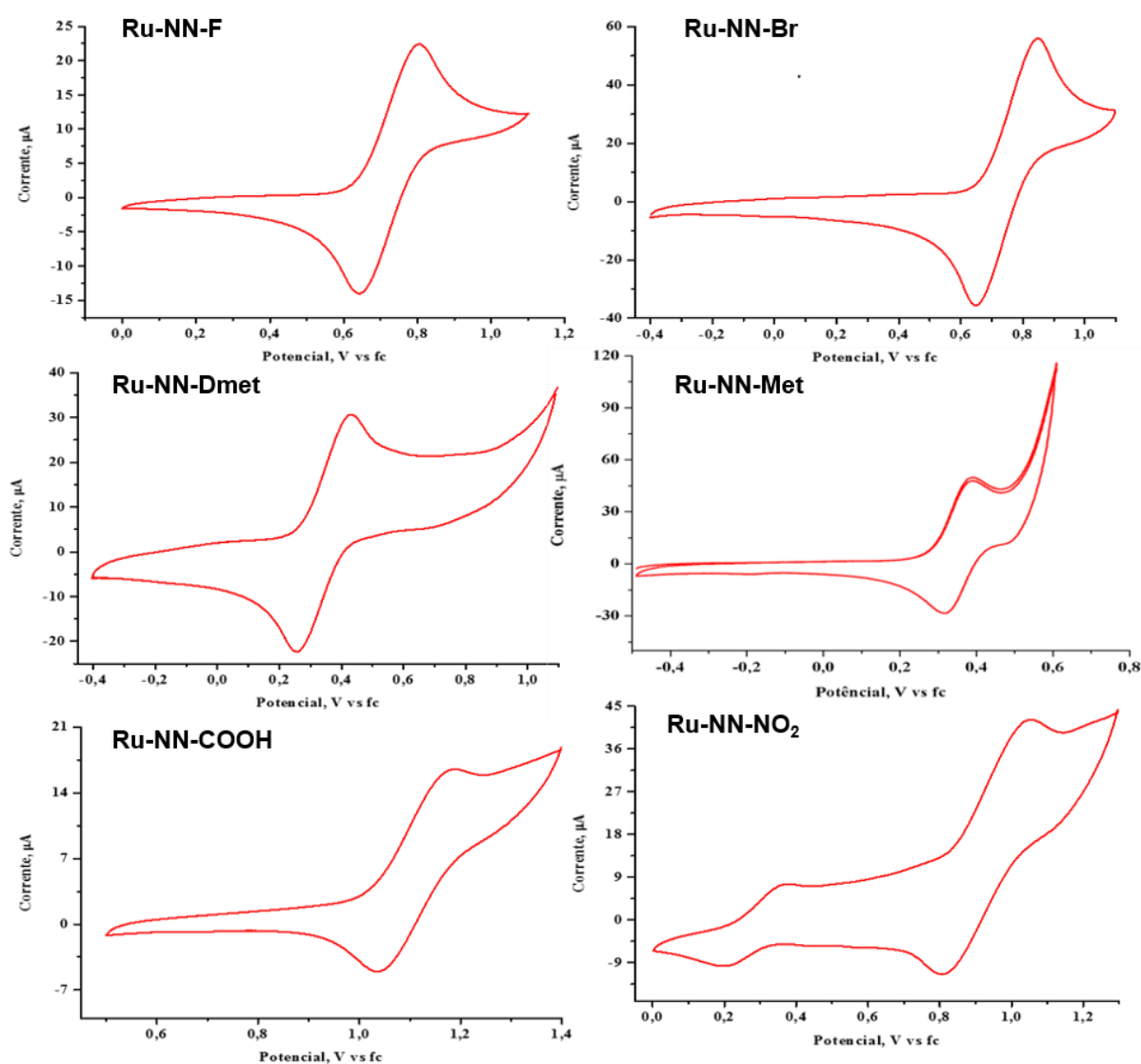
*L=LUMO e H=HOMO

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.1.5 Comportamento eletroquímico dos complexos

O comportamento redox dos complexos da série 1, foi estudado utilizando-se eletrodos de Pt como trabalho e auxiliar, sendo utilizado como eletrodo de referência um eletrodo de Ag/Ag⁺. O eletrólito suporte utilizado foi perclorato de tetrabutilamônio (PTBA) 0,1 mol L⁻¹ em CH₂Cl₂, as medidas foram realizadas com velocidade de varredura de 0,100 Vs⁻¹. Antes da realização das medidas foi tomado um voltamograma cíclico do ferroceno (fc) nas mesmas condições do experimento, sendo o valor de E_{1/2} obtido para o ferroceno subtraído do valor das amostras, resultando em um voltamograma versus fc.

Figura 31 – Voltamograma cíclico dos complexos da série 1. Eletrodo de trabalho platina, eletrólito suporte: 0,1 mol L⁻¹ de PTBA em CH₂Cl₂ e v = 100 mV s⁻¹.



Fonte: Elaborada pelo autor.

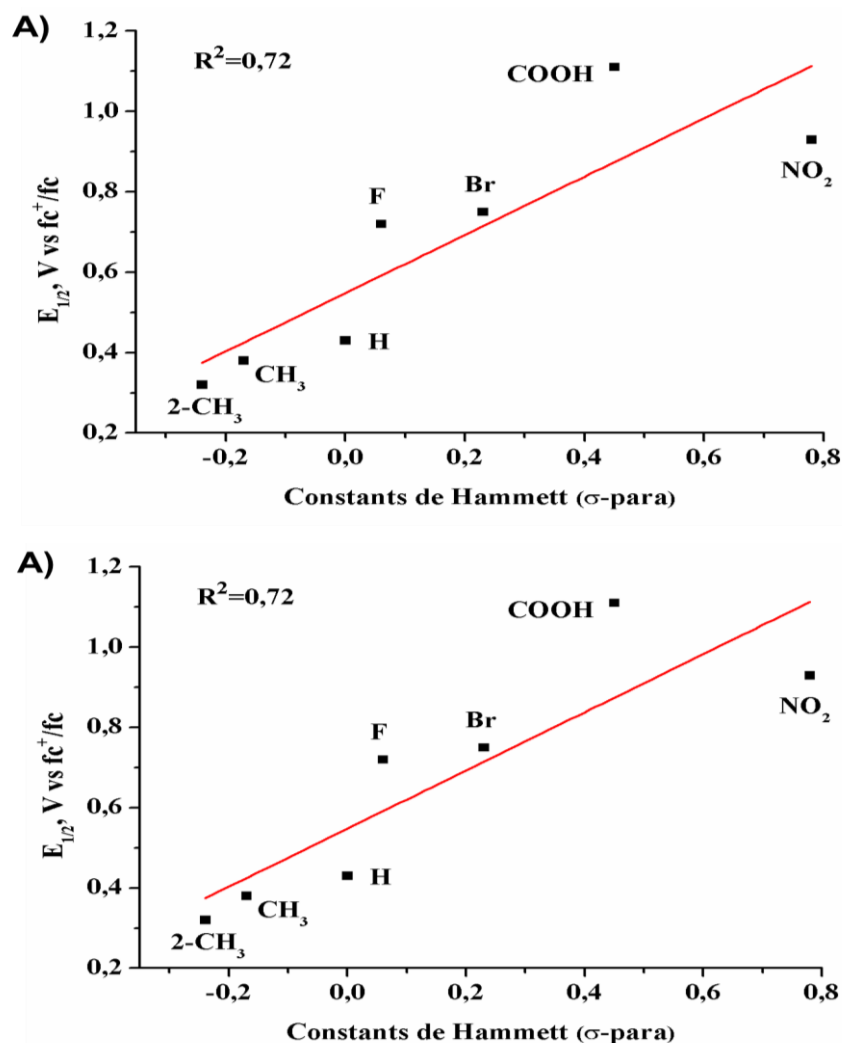
Os voltamogramas cíclicos para os complexos da séries 1 (Figura 31) apresentaram uma onda anódica e uma onda catódica, atribuídas ao par redox Ru^{III}/Ru^{II} .^{106, 120} A comparação entres os valores de potenciais obtidos indica que os substituintes R exercem influências significativas sobre o comportamento redox dos complexo. Sendo observado que, substituintes com efeito retirador de elétrons acarretam o aumento do caráter π -ácido dos ligantes NN, deslocando os potenciais de oxidação e redução dos complexos para valores de maior energia. Efeito contrário foi observado para substituintes doadores eletrônicos (Tabela 8), seguindo a correlação prevista pelos parâmetros de Hammett (Figura 32 A).^{106, 121, 122} Estes resultados encontram-se condizentes com os resultados obtidos por espectroscopia eletrônica UV-vis e RMN, sendo também previstos pelos estudos de DTF, em que foi observado a estabilização dos orbitais HOMO com o aumento do caráter retirador dos substituintes do anel do ligante quinona (Figura 27). O abaixamento de energia observado para os orbitais HOMO destes complexos (Figura 32 B), apresenta boa linearidade frente aos parâmetros de Hammett. Vale ressaltar que alguns desses complexos ainda não se encontram completamente livres de impurezas, principalmente o complexo Ru-NN-NO₂. Contudo estratégias como uso de resinas cromatográficas, estão sendo estudas para a purificação destes complexos.

Tabela 8 - Dados de Voltametria Cíclica obtidos para os complexos da série 1 em CH₂Cl₂ 0,1molL⁻¹ de PTBA, 100mVs⁻¹ versus ferroceno (fc).

Complexo	E _{pa.} (V)	E _{pc.} (V)	E _{1/2} (V)	I _a /I _c
Ru-NN-Dmet	0,43	0,22	0,32	0,97
Ru-NN-Met	0,53	0,23	0,38	0,98
Ru-NN-F	0,80	0,64	0,72	1,02
Ru-NN-Br	0,85	0,65	0,75	0,98
Ru-NN-COOH	1,19	1,03	1,11	0,92
Ru-NN-NO ₂	1,05	0,80	0,93	0,98

Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 32 – Correlação entre o potencial de meia onda ($E_{1/2}$) e o parâmetro de Hammett σ (A), e correlação entre energia do HOMO e o parâmetro de Hammett σ (B).



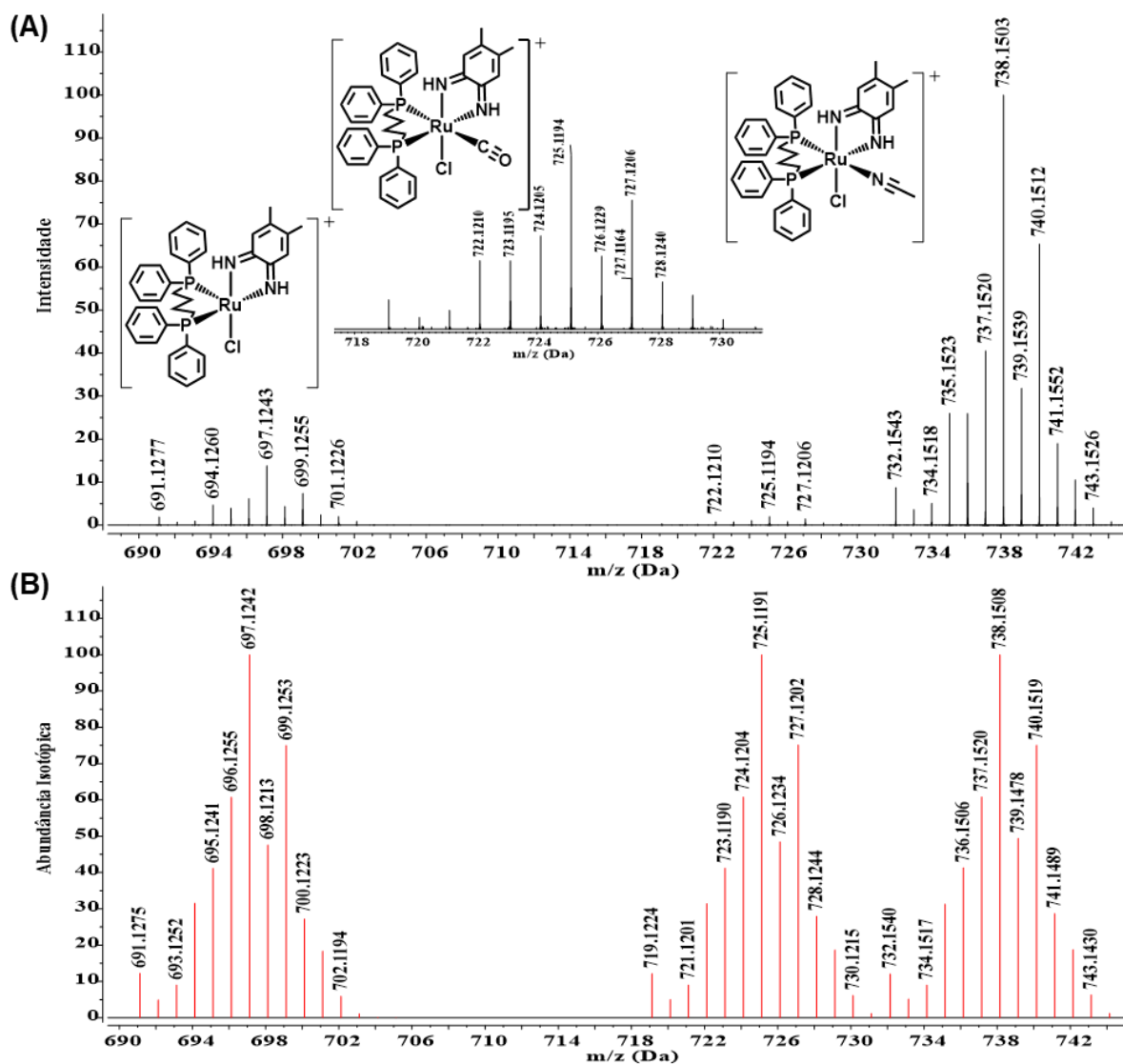
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2 Caracterização dos complexos da série 2

4.2.1 Espectrometria de Massas de Alta Resolução

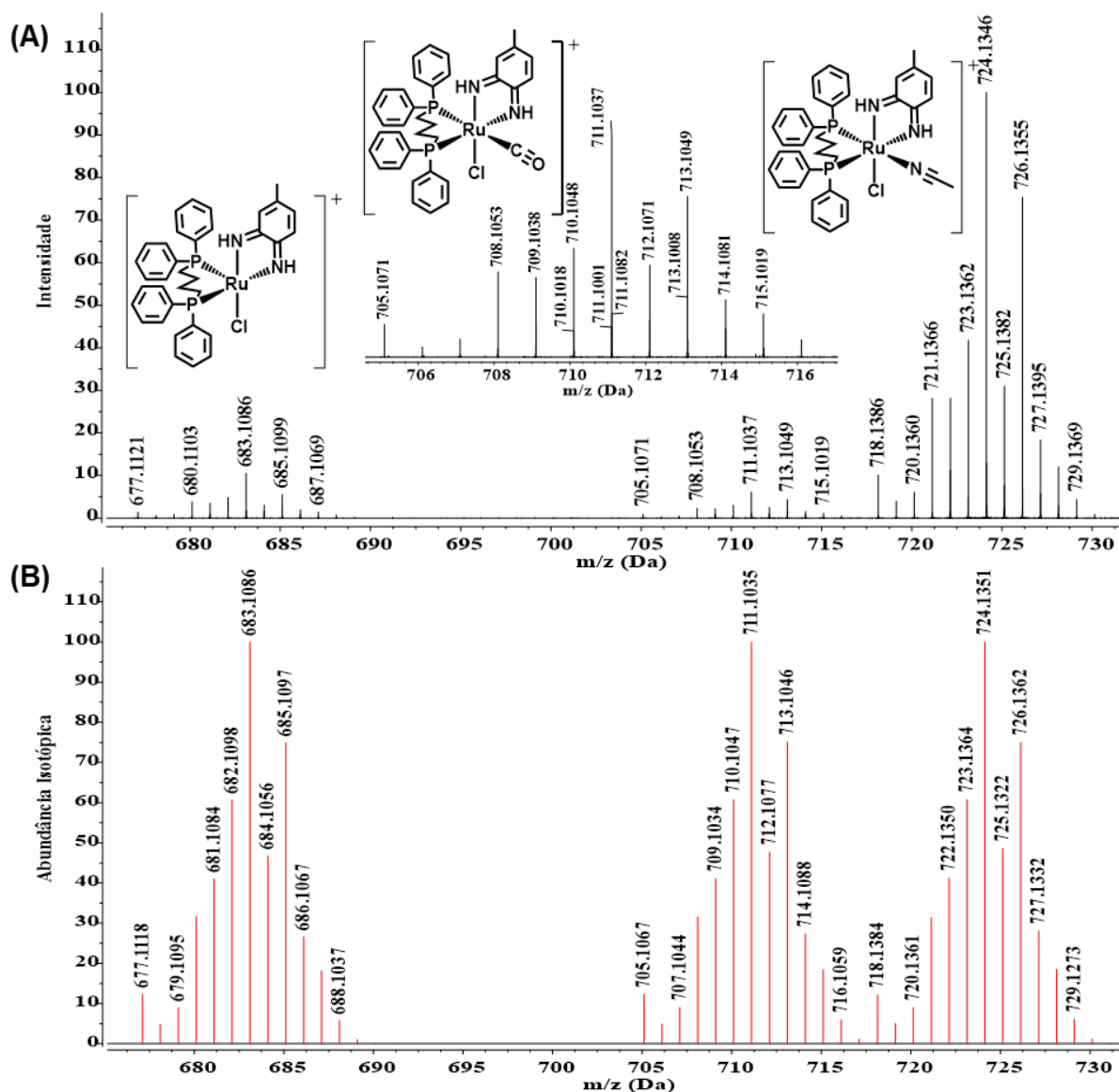
Os complexos da série 2 também foram analisados por espectrometria de massas de alta resolução com Ionização por “Electrospray” (ESI-MS), sendo dissolvidos em acetonitrila (ACN) e injetados diretamente no detector, os resultados adquiridos em conjunto com espectros simulados, calculados para os fragmentos atribuídos, encontram se ilustrados na Figura 33 e na Figura 34.

Figura 33 - Espectro de massa de alta resolução (ESI-MS) (A) e espectro simulado (B) para o complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN-Dmet)]⁺ em acetonitrila.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 34 - Espectro de massa de alta resolução (ESI-MS) (A) e espectro simulado (B) para o complexo $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{NN-Met})]^+$ em acetonitrila.

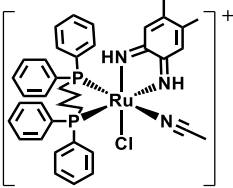
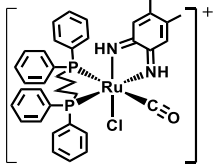
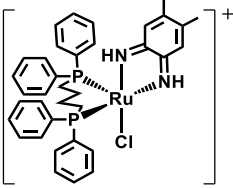
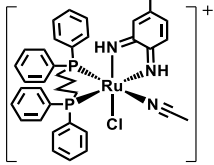
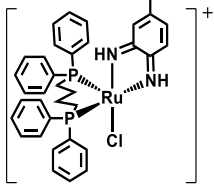


Fonte: Elaborada pelo autor.

Com os resultados da análise em conjunta dos espectros experimentais e simulados foi montado a Tabela 9. Podemos observar que os erros entre os valores experimentais e simulados estão na quarta casa decimal, resultando em um valor de erro menor que 1ppm, sugerindo que as propostas de formulação estão consistentes. Através dos espectros de massas dos compostos Ru-NN-Dmet-CO e Ru-NN-Met-CO foi possível evidenciar, diferentemente dos compostos da série 1, o íon molecular intacto, com m/z de 725,1191u (teórico=725,1194u) e m/z 701,1037u (teórico=701,1035u) respectivamente. O pico base para os complexos da série 2, consiste na espécie formada pela substituição do ligante monóxido de carbono, por

uma molécula do solvente ACN, semelhante ao evidenciado para os complexos da série 1. Este fato sugere que podemos utilizar o efeito *trans* labilizante dos ligantes fosfínicos para planejar moléculas transportadoras, não apenas do ligante monóxido de carbono, mas outros ligantes monodentados como o NO. O terceiro fragmento observado para estes complexos, com m/z de 697,1243u (teórico=697,1242u) para o complexo Ru-NN-Dmet-CO e 683,1086u (teórico=683,1086u) para o complexo Ru-NN-Met-CO foi atribuído a uma espécie pentacoordenada formada durante a ionização do experimento, resultante da perda do ligante CO da esfera de coordenação, igual como observado para os complexos da série 1.

Tabela 9 - Valores de m/z atribuições com seus respectivos erros para os complexos da série 2. (continua)

	Notação/Fórmula	Estrutura	M/Z _c	M/Z _{EX}	Erro (ppm)
NN-Dmet-CO	$[M - CO + ACN]^+$		738,1508	738,1503	0,50
	$[M]^+$		725,1194	725,1191	0,30
	$[M - CO]^+$		697,1242	697,1243	0,10
NN-Met-CO	$[M - CO + ACN]^+$		724,1351	724,1346	0,50
	$[M - CO]^+$		683,1086	683,1086	0,00

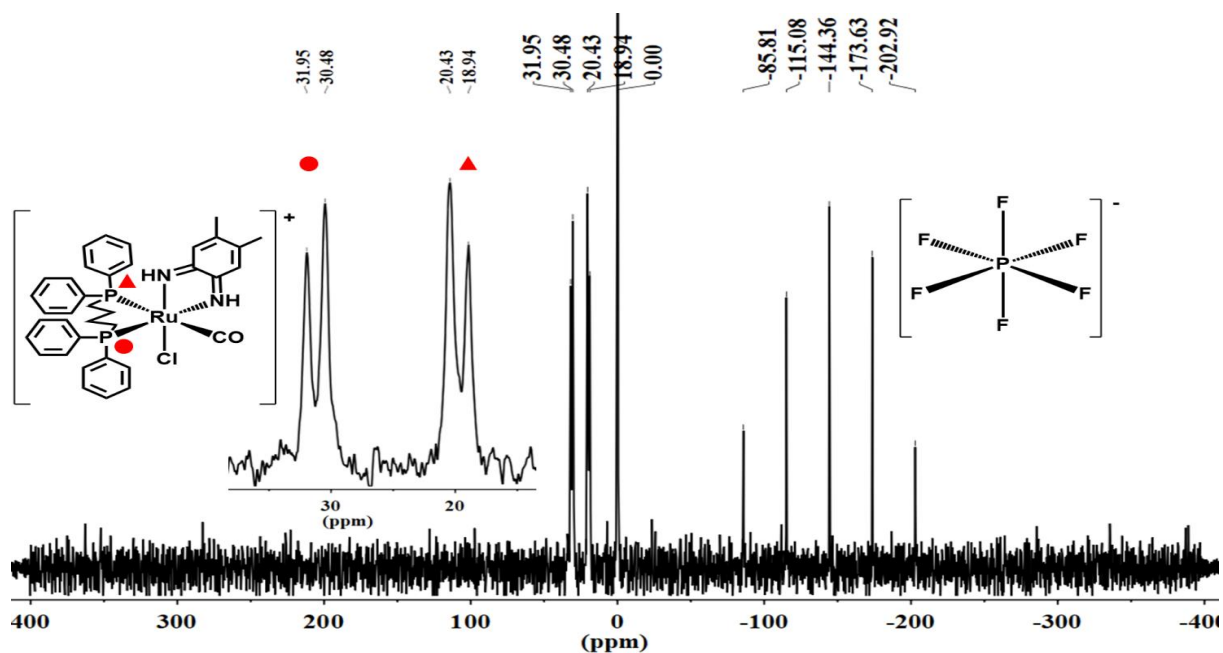
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2.2 Ressonância magnética nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$

Os espectros de ressonância magnética nuclear de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para os complexos da série 2 (*cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN-Dmet)]PF₆ e *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN-Met)]PF₆) em CH₂Cl₂ (Figura 35 e Figura 36) apresentaram dois dubletos cada, com valores em aproximadamente δ 20 e δ 31. Referentes aos dois núcleos de fósforos do ligante dppb, sugerindo a conformação *cis* para estes complexos, adicionalmente evidenciando que não ocorreu isomerização para a forma *trans* durante a etapa de adição do ligante CO. Sendo o sinal em torno de 20 ppm atribuído ao átomo de fósforo *trans* ao ligante CO e o sinal em 30 ppm ao átomo de fósforo *trans* ao ligante do tipo NN.^{107, 123}

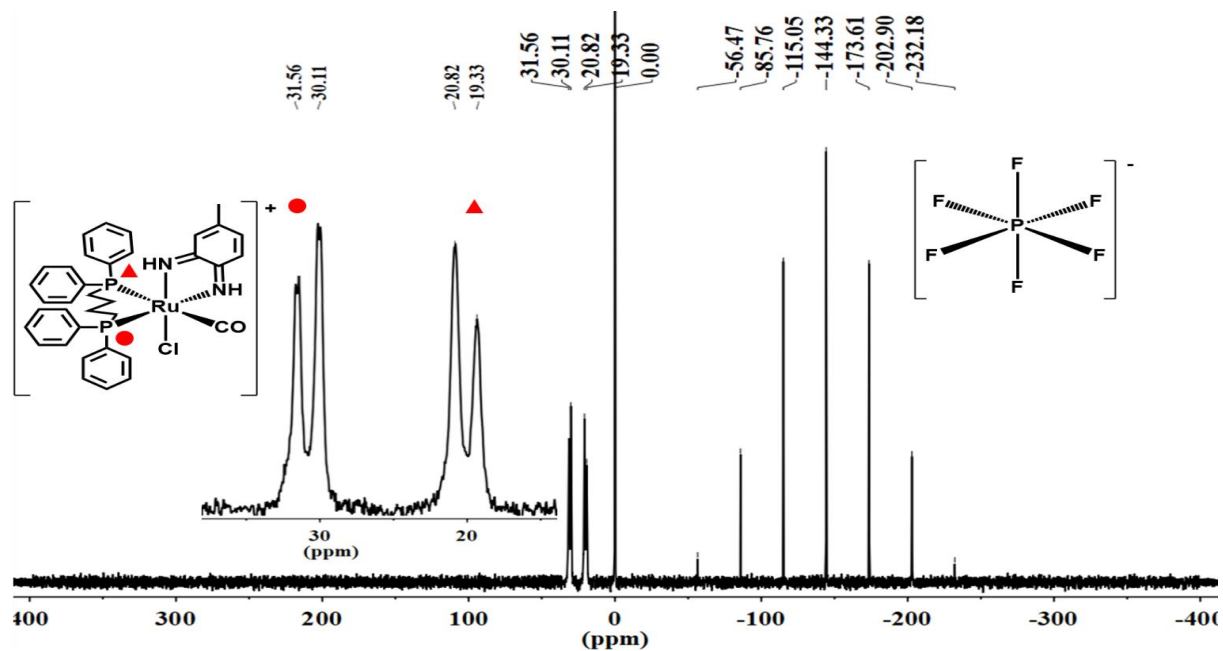
O fato destes dois complexos apresentarem valores muito próximos de deslocamento químico para os núcleos de fósforo é bastante curioso, tendo em vista que os complexos de partida Ru-NN-Dmet e Ru-NN-Met apresentavam valores bem mais distintos, principalmente para o núcleo de fósforo *trans* ao ligante NN. Curiosamente, praticamente os mesmos deslocamentos químicos são observados para o complexo análogo contendo o ligante NN sem modificações, Ru-NN-CO, que possui valores de deslocamento químico em 20,54 e 30,06 ppm, sugerindo que o efeito exercido pelo ligante monóxido de carbono acaba sendo predominante para a determinação dos valores de deslocamento dos fósforos, quando comparado ao efeito dos substituintes R dos ligantes em questão. Resultando em variações discretas de δ entre os compostos da série 2, porém, se faz necessário a realização de medidas de RMN em um equipamento de maior potência, para avaliar melhor essas variações, pois para o complexo Ru-NN-Met-CO, mesmo no equipamento de 60MHz ainda foi possível visualizar, mesmo que discretamente, o desdobramento do sinal de fósforo em torno δ 30 pmm referentes aos isômeros conformacionais.

Figura 35 - Espectro de RMN de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN-Dmet)]PF₆ em CH₂Cl₂ obtido a 60 MHz.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 36 - Espectro de RMN de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN-Met)]PF₆ em CH₂Cl₂ obtido a 60 MHz.



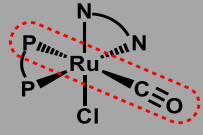
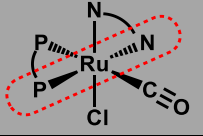
Fonte: Elaborada pelo autor.

Outro método de avaliar indiretamente os deslocamentos químicos dos núcleos de fósforo, seria pela análise dos comprimentos de ligação P-Ru, assim como foi realizado para os complexos da série 1. É sabido que, quanto maior for o

comprimento de ligação Ru-P mais protegido tende a ser o núcleo de fósforo.^{108, 117} A Tabela 10 foi construída a partir dos dados extraídos das estruturas cristalina dos complexos Ru-NN e Ru-NN-CO, e dos dados teóricos obtidos para estes complexos e os complexos da série 2. Podemos observar nos complexos de referência, que ocorreu um aumento no comprimento de ligação Ru-P após a substituição do ligante cloreto pelo ligante monóxido de carbono, corroborando com os resultados teóricos, que apresentam a mesma tendência.

A troca do ligante cloreto que se encontra *trans* ao núcleo de fósforo, por monóxido de carbono acarreta um aumento da ligação Ru-P, devido a competição por densidade eletrônica π destes núcleos. Como o CO é um ligante que possui um forte caráter π acceptor de elétrons, acaba deslocando para si parte da densidade eletrônica do rutênio, diminuindo a ordem de ligação Ru-P e conseqüentemente acarretando na diminuição da densidade eletrônica π sobre os núcleos de fósforo, principalmente o fósforo que se encontra coordenado *trans* ao ligante dppb.^{108, 117} Dadas estas observações, os deslocamentos químicos encontrados são consistente com as atribuições, pois como foi discutido ligantes π -acceptores deslocam os sinais de fosforo para campos mais altos.

Tabela 10 – Dados comparativos dos comprimentos de ligação P_t- Ru (fosforo *trans* ao ligante L) e P_c- Ru (fosforo *cis* ao ligante L) para alguns complexos da série 1 e 2, valores teóricos (T) e experimental (EX).

Complexo	P _t - Ru 	P _c - Ru 
Ru-NN-Dmet-CO	2,43544(T)	2,54346(T)
Ru-NN-Met-CO	2,43585(T)	2,54187(T)
Ru-NN-CO*	2,43812(T) 2,3375(9)(EX)	2,54057(T) 2,4353(10)(EX)
Ru-NN ^{*,**}	2,3262(16)(EX) 2,39958(T)	2,3155(17)(EX) 2,43202(T)

*Compostos de referência, **Ligante cloreto no lugar do CO.

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2.3 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Os espectros vibracionais na região do infravermelho para os complexos da série 2 foram analisados em conjunto com os dados computacionais, a fim de fornecer

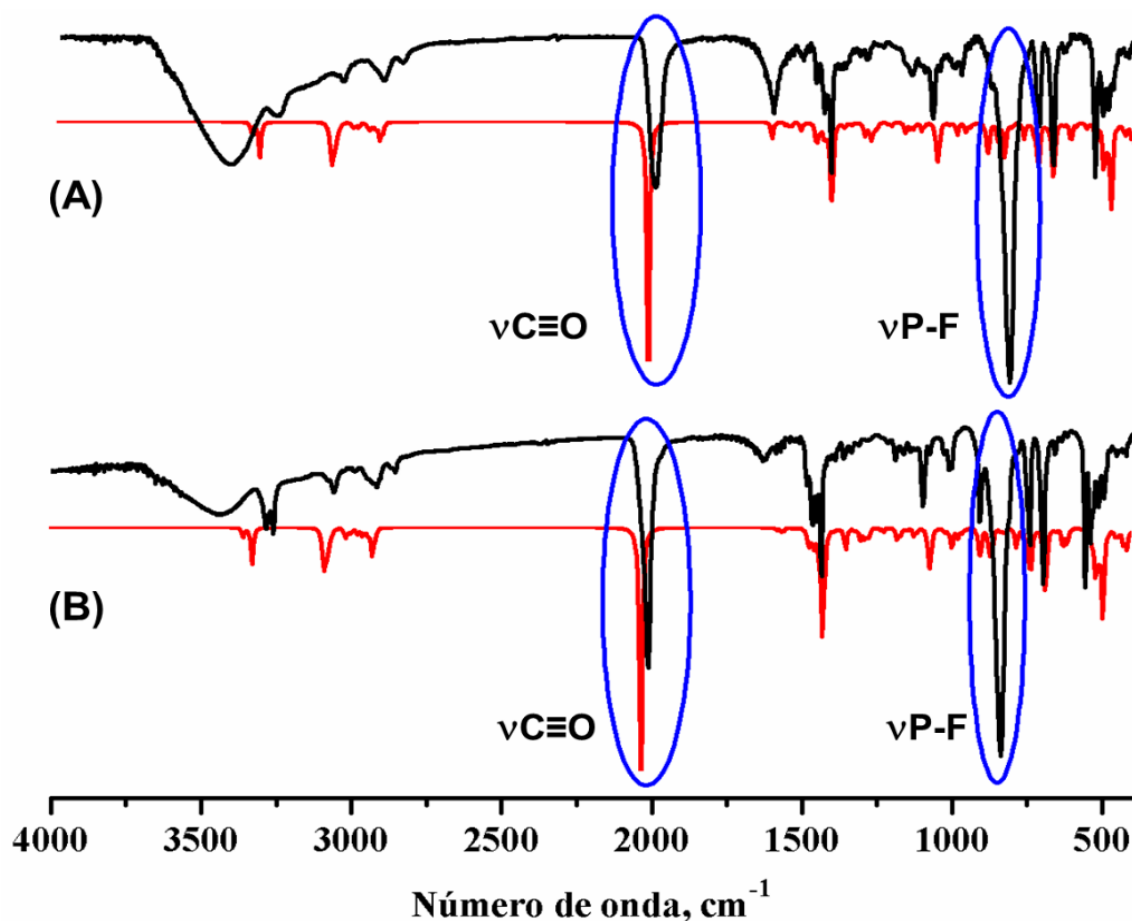
maior suporte às atribuições aqui discutidas, de forma semelhante aos complexos da série 1.

Os espectros vibracionais em pastilha de KBr e teóricos (no vácuo) também apresentaram boa concordância entre si (Figura 37). Indicando que as bases utilizadas nos cálculos de DFT foram capazes de descrever o comportamento vibracional dos complexos da série 2, sendo assim possível fornecer suporte as atribuições dos modos vibracionais para estes compostos.

A análise dos espectros vibracionais, experimentais e teóricos (Tabela 11) para os complexos *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN-Dmet)]PF₆ e *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN-Met)]PF₆, sugerem que estes compostos mantiveram a sua integridade estrutural após a coordenação do ligante CO, pois estes apresentam as bandas características dos ligantes quinona, como o $\nu(\text{N-H})$ em 3433 cm⁻¹ e $\delta(\text{CH}_3)$ em 1380 cm⁻¹ característicos dos ligantes NN-Met e NN-Dimet. Também foram observados modos vibracionais referentes ao ligante dppb, dentre eles podemos destacar: $\nu(\text{RuP})$ em 512 cm⁻¹, $\gamma(\text{CH})$ ente 750 e 515 cm⁻¹ e $\nu(\text{CH})$ ente 2900e 3250 cm⁻¹. Outros estiramentos de fundamental importância para estas moléculas, que também foram observados em ambos os compostos, são os $\nu(\text{CO})$ em 2012 cm⁻¹ para o complexo Ru-NN-Met-CO e 2019 cm⁻¹ para o complexo Ru-NN-Dmet-CO, bem como o $\nu\text{P-F}$ em 840 cm⁻¹. Estiramentos estes que confirmam a coordenação do ligante CO e a presença do contra-íon PF₆⁻, respectivamente, indicando que realmente ocorreu a substituição do ligante cloreto pelo CO, originando complexo positivamente carregado conforme também foi evidenciado por RMN. Convém mencionar que o valor encontrado para o $\nu(\text{CO})$ sugere que este ligante não se encontra tão fortemente ligado ao centro metálico, como no complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ (estudos descrito na seção 4.3.). Esta observação é condizente com os espectros de RMN de ³¹P para estes compostos, pois o complexo contendo o ligante dppz, apresentou deslocamento químico do fósforo *trans* ao ligante CO por volta de 10 pmm, já os complexos contendo os ligantes quinonas, Ru-NN-CO, Ru-NN-Dmet-CO e Ru-NN-Met-CO, apresentaram um valor de δ duas vezes maiores. Sugerindo que o CO encontra se mais fortemente ligado no complexo contendo o ligante dppz, provavelmente devido a maior capacidade π -acceptora dos ligantes quinonas, que deslocam parte da densidade eletrônica π do rutênio para si, diminuindo a retrodoação para o ligante monóxido de

carbono, resultado em uma maior ordem de ligação entre os átomos de carbono e oxigênio. Isso então provocaria um maior valor de frequência para o estiramento $C\equiv O$ para estes complexos. Esta observação pode vir a melhor justificar a aplicação destes compostos como moléculas transportadora e liberadoras de monóxido de carbono. Vale ressaltar que foi observado uma menor frequência de estiramento $C\equiv O$ para o complexo contendo o ligante NN-Dmet. Sugerindo que neste composto o CO está ligado ligeiramente mais forte que no complexo Ru-NN-Met, devido a este ligante possuir dois substituintes metilas proporcionando a quinona um menor efeito retirador de elétrons.

Figura 37 - Espectros de IR experimentais (preto, em pastilha de KBr) e teóricos (vermelho, vácuo) para os complexos NN-Met-CO (A) e NN-Dmet-CO (B).



Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 11 - Atribuição dos principais modos vibracionais para os complexos da série 2, IV experimental (Ex) e teórico (T).

Atribuição	Frequência (cm ⁻¹) (Experimental/Teórico(DFT))	
	Ru-NN-Met-CO	Ru-NN-Dmet-CO
v(NH)	3439/ 3424	3439/ 3485
v(CH)	3275/ 3326	3259/ 3323
v(CH)s	2922/ 2923	2915/2998
v(CO)	2019/ 2032	2012/2038
v(CC +CN)	1624, 1526/ 1618, 1558	1628, 1574/ 1611, 1554
γ(CC)	1433/ 1422	1436/ 1469
δ(CH ₃)	1380/ 1367	1388/ 1383
v(PC)	1091/ 1102	1096/ 1101
v(PF)	840	840
γ(CH)	746, 696 e 515/ 750, 704, 531	740, 695 e 540/ 754, 705 e 534
v(RuP)	512/ 514	511/ 517

Fonte: Elaborada pelo autor.

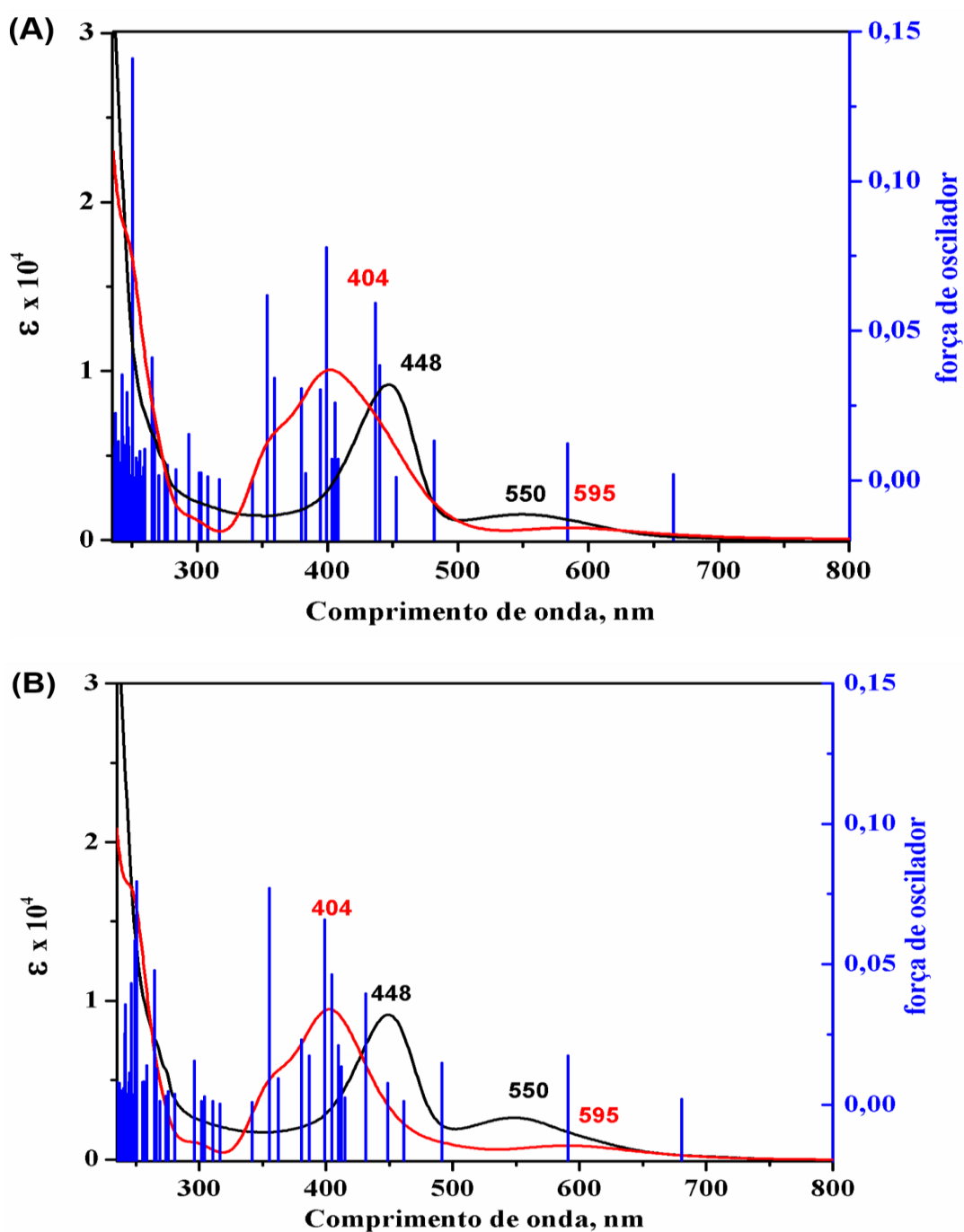
4.2.4 Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-Visível

A espectroscopia eletrônica na região do UV-vis foi utilizada para a caracterização dos compostos da série 2 em conjunto com os resultados computacionais obtidos por TD-DFT. Tornando possível realizar uma análise mais aprofundada da composição das bandas de maior interesse, além de reforçar as atribuições aqui discutidas, semelhante ao que foi realizado para os complexos da série 1. Vale ressaltar que os resultados dos cálculos computacionais obtidos por TD-DFT, para os complexos da série 2, foram capazes de descrever satisfatoriamente o perfil espectral destes complexos, embora a margem da variação dos valores de $\lambda_{\text{máx}}$ das bandas tenham sido maiores que as obtidas para os compostos da série 1.

Os espectros de absorção eletrônica na região do UV-vis para os complexos *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN-Dmet)]PF₆ e *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN-Met)]PF₆ em metanol (Figura 38), apresentaram um perfil espectral muito semelhante. Ambos os complexos apresentaram bandas na região abaixo de 300 nm, atribuídas a transições intra e interligantes dos ligantes fosfínicos e dos ligantes NN (NN-Dmet e NN-Met).^{115, 117} Essa atribuição é reforçada pelos estudos teóricos cuja análise da composição destas transições (Figura 39 e Figura 38), demonstram que grande parte das contribuições para estas transições na região do ultravioleta, provem dos orbitais π dos ligantes

dppb e quinona. Estes complexos também apresentaram bandas na região do visível, uma mais intensa em 448nm atribuída a uma transferência de carga do metal para o ligante bqdi, envolvendo os orbitais $d\pi$ semipreenchidos do rutênio para os orbitais $\pi\pi^*$ vazios dos ligante NN. para o complexo Ru-NN-CO (ANEXO F).

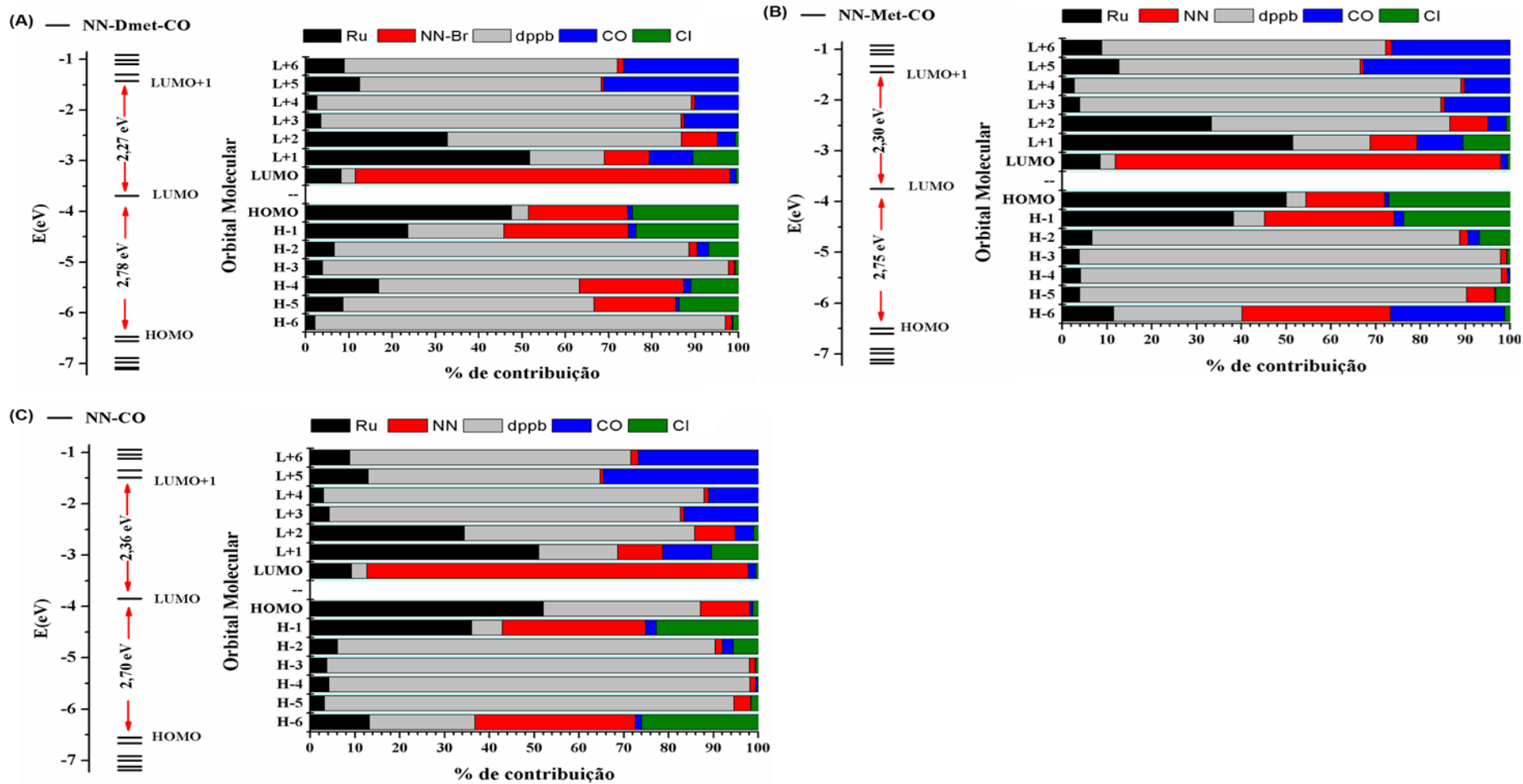
Figura 38 - Espectros eletrônicos experimentais (preto), teóricos em metanol (vermelho) e força de oscilador (azul) para os complexos da série 2, *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN-Met)]⁺ (A), e *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN-DMet)]⁺ (B).



Fonte: Elaborada pelo autor.

A composição dos orbitais moleculares selecionados (OMs) (Figura 39) para os compostos $cis-[RuCl(CO)(dppb)(Dmet)]^+$ e $cis-[RuCl(CO)(dppb)(Met)]^+$, indicam que o HOMO-5 encontra-se praticamente localizado no ligante dppb, possuindo uma contribuição com cerca de 90% de contribuição deste ligante para a sua composição no complexo $cis-[RuCl(CO)(dppb)(Met)]^+$ e 60% no complexo $cis-[RuCl(CO)(dppb)(Dmet)]^+$. Por outro lado, o HOMO-6 destes complexos, possui contribuições bastante diversificada, sendo formado por parcelas de contribuições do centro metálico e dos ligantes dppb, NN-Met ou NN-Dmet e Cl⁻, e ainda uma pequena contribuição do ligante CO. O LUMO para estes complexos é composto em grande maioria por fortes contribuições π^* dos ligantes NN-Met e NN-Dmet (85%).

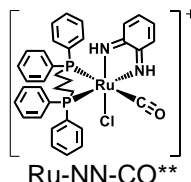
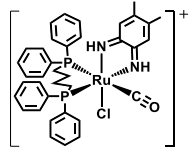
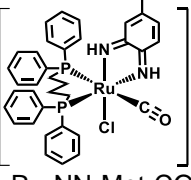
Figura 39- Diagrama de energia para os orbitais dos complexos *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN-Met)]⁺, (A) *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN-Met)]⁺+(B) e *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN)]⁺+(C), com seus respectivos gráficos de composição dos orbitais moleculares.



Fonte: Elaborada pelo autor.

A análise da composição da banda em 438 nm para estes compostos (Tabela 12), demonstra que esta banda é composta principalmente por transições eletrônicas entre o HOMO-6 e LUMO (72%) para o complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(Met)]⁺ e HOMO-5 e LUMO (83%) para o complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(Dmet)]⁺. Podemos evidenciar que, embora esta transição possua uma contribuição dos orbitais d do rutênio para os orbitais $p\pi^*$ vazios dos ligantes NN-Dmet e NN-Met, grande parte desta transição envolve orbitais π dos ligantes dppb, cloreto e quinona. Evidenciando que esta transição eletrônica, possui em sua essência um menor caráter de transferência de carga do metal-ligante, podendo ser atribuída como uma transição eletrônica do tipo transferência de carga (metal-ligante)-para-ligante. O mesmo perfil espectral foi observado para o complexo de referência *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN)]⁺ em que também foi evidenciado que a transição na região discutida envolve orbitais cujas composições indicam que esta banda também pode ser atribuída como uma transição eletrônica do tipo transferência de carga (metal-ligantes)-para-ligante. Convém lembrar que uma transição eletrônica na região do visível e com perfil semelhante, também é evidenciada nos complexos precursores, *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-Dmet)] e *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-Met)] Figura 30, porém para estes complexos esta transição possui um caráter predominante de transferência de carga metal ligante. Isto se deve a coordenação do ligante CO, promover a formação de novos orbitais moleculares, com energia e composição diferentes dos orbitais moleculares dos complexos precursores, resultando em novas transições eletrônicas com energias diferenciadas. Vale ressaltar que a análise da superfície dos orbitais moleculares ocupados (ANEXO D), que envolvem a transição eletrônica de 438 nm, sugere que estes orbitais possuem participação da ligação Ru($d\pi$)-CO($p\pi$) e que o LUMO destes complexos possui uma participação na ligação Ru($d\pi^*$)-CO($p\pi^*$). O que nos leva a considerar que, transições eletrônicas envolvendo estes orbitais acarretam um enfraquecimento da ligação Ru-CO, como estes são os orbitais envolvidos nas transições eletrônicas que compõem a banda em 438 nm, justifica-se assim a saída do ligante CO da esfera de coordenação quando estes complexos são expostos a luz na região do visível, ou solubilizados em solventes coordenantes, o que também foi evidenciado experimentalmente para o complexo Ru-NN-CO (ANEXO F).

Tabela 12- Principais transições eletrônicas obtidas experimentalmente e por TD-DFT/B3LYP para os complexos da série 2 em metanol.

Complexo	$\lambda_{DFT/Ex}$ (nm)	f	Maior contribuição	Atribuição
 Ru-NN-CO**	603/550	0,0109	H-1→L (84%)	$\pi(\text{Ru-CO}) + p(\text{Cl}^-) \rightarrow \pi^*(\text{NN})$
	507/550	0,0105	H-2→L (96%)	$\pi(\text{dppb}) \rightarrow \pi^*(\text{NN})$
	439/437	0,0479	H-6→L (76%)	$\pi(\text{dppb}) + d(\text{Ru}) \rightarrow \pi^*(\text{NN})$
	361/437	0,0928	H-12 →L (41%)	$\pi(\text{Ru-Cl}^-) \rightarrow \pi^*(\text{NN})$
	265/270	0,0352	H-2→L+1 (37%)	$\pi(\text{dppb}) \rightarrow d(\text{Ru})-p(\text{Cl}^-)$
	250/240	0,155	H-2→L+2 (58%)	$\pi(\text{dppb}) \rightarrow d(\text{Ru})-\pi^*(\text{dppb})$
 Ru-NN-Dmet-CO	583/550	0,0123	H-1→L (70%)	$\pi(\text{Ru-CO}) + p(\text{Cl}^-) \rightarrow \pi^*(\text{NN})$
	481/550	0,0133	H-2→L (97%)	$\pi(\text{dppb}) \rightarrow \pi^*(\text{NN})$
	436/438	0,0592	H-5→L (83%)	$\pi(\text{NN}) + p(\text{Cl}^-) + d(\text{Ru}) \rightarrow \pi^*(\text{NN})$
	399/438	0,0779	H-9→L (56%)	$\pi(\text{dppb}) \rightarrow \pi^*(\text{NN})$
	264/270	0,0411	H-2→L+1 (53%)	$\pi(\text{dppb}) \rightarrow d(\text{Ru})-p(\text{Cl}^-)$
	250/240	0,1411	H-2→L+2 (61%)	$\pi \rightarrow \pi^*(\text{dppb})$
 Ru-NN-Met-CO	591/550	0,0175	H-1→L (75%)	$\pi(\text{Ru-CO}) + p(\text{Cl}^-) \rightarrow \pi^*(\text{NN})$
	491/550	0,0149	H-2→L (96%)	$\pi(\text{dppb}) \rightarrow \pi^*(\text{NN})$
	431/438	0,0395	H-6→L (72%)	$\pi(\text{NN}) + p(\text{Cl}^-) + d(\text{Ru}) \rightarrow \pi^*(\text{NN})$
	399/438	0,0659	H-10→L (46%)	$\pi(\text{dppb}) \rightarrow \pi^*(\text{NN})$
	265/270	0,0478	H-2→L+1 (52%)	$\pi(\text{dppb}) \rightarrow p(\text{Cl}^-) + d(\text{Ru})-\pi(\text{dppb})$
	251/240	0,0796	H-2→L+2 (21%)	$\pi \rightarrow \pi^*(\text{dppb})$

*L=LUMO e H=HOMO, **Composto de referência.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os espectros eletrônicos calculados para estes complexos, preveem uma transição eletrônica de baixa intensidade em 550 nm, sendo também observado no espectro experimental uma transição nesta região. Uma transição semelhante foi evidenciada para o complexo referência (Ru-NN-CO), sendo observada quando o ligante monóxido de carbono deixa a esfera de coordenação (ANEXO F). Considerando que para esse sistema de quinonas haja geralmente uma liberação térmica espontânea do CO coordenado, ou sua conversão em outra espécie, de forma que temos um complexo sem CO coordenado, podemos supor que tal banda em cerca de 550 nm possa ser decorrente deste processo e não necessariamente uma transição do complexo de CO. Há uma chance de que devido ao forte efeito *trans* labilizante do ligante dppb nestes complexos, CO não se mantenha coordenado quando o complexo é dissolvido, assim não se pode afirmar se esta banda em 550 nm se trata inequivocamente de uma transição pertencente aos complexos ou se a um complexo parcialmente sem CO.

4.3 Caracterização do composto *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ (Ru-DPPZ-CO)

4.3.1 Espectrometria de Massas de Alta Resolução

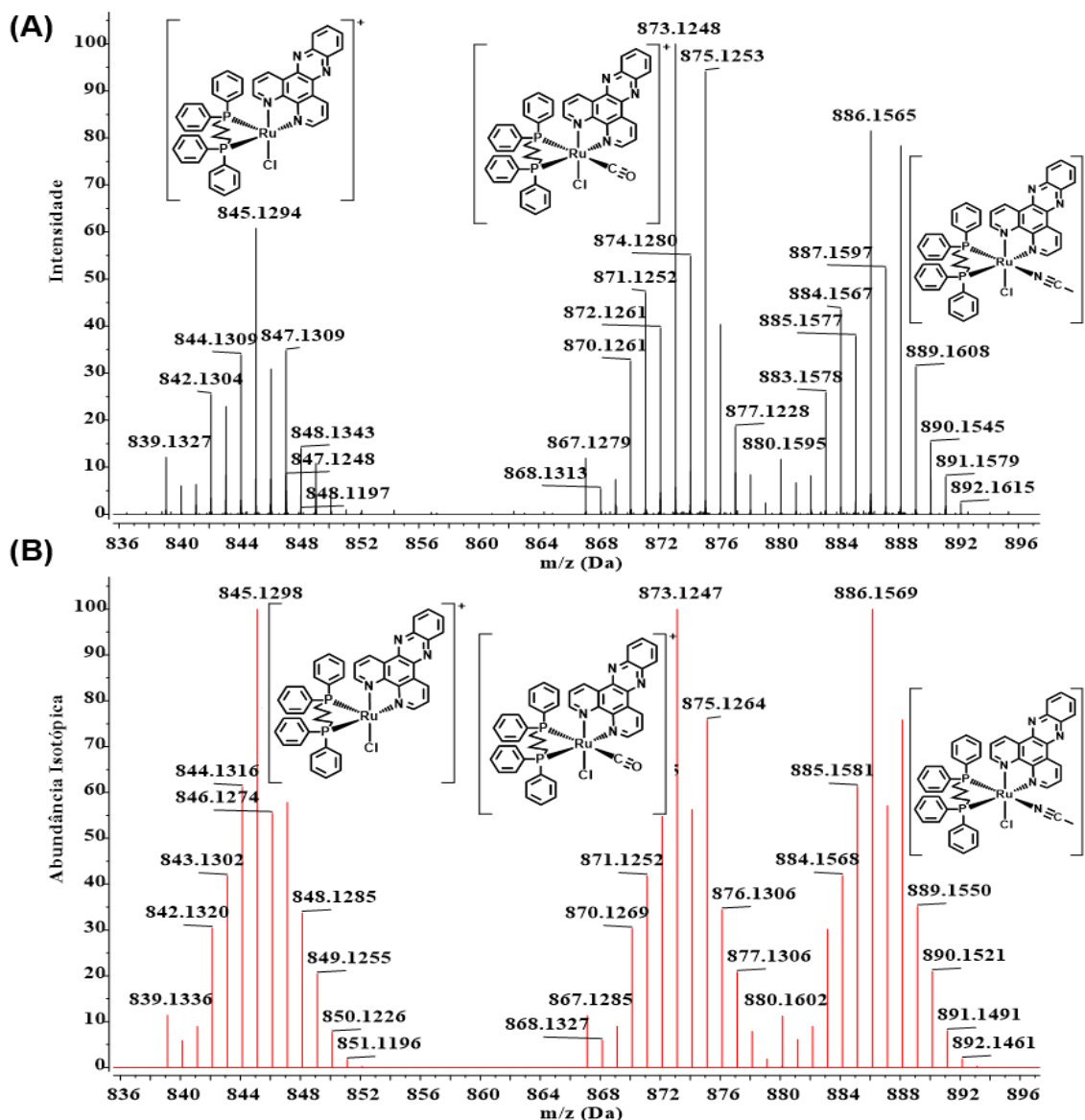
A espectrometria de massas de alta resolução com ionização por "electrospray" (High resolution electrospray ionization mass spectrometry (ESI-HRMS)) foi realizada com o composto dissolvido em acetonitrila (ACN) (Figura 40) sendo observado o íon molecular intacto, com m/z de 873,1248u (teórico 873,1247u), plenamente consistente com o complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺. Além do íon molecular, também foi observado mais dois outros fragmentos, um deles com m/z de 886,1565u (teórico 886,1569u), que foi atribuído ao íon [RuCl(ACN)(dppb)(dppz)]⁺ resultante da substituição do ligante monóxido de carbono por uma molécula do solvente acetonitrila (ACN). O terceiro fragmento observado, com m/z de 845,1294u (teórico 845,1298u) foi atribuído a uma espécie pentacoordenada formada durante a medida, resultante da saída do ligante CO da esfera de coordenação. Estes resultados, obtidos por meio da espectrometria de massas de alta resolução, apresentaram um valor de erro menor que 1ppm, indicando que existe coerência nas atribuições, validaram a composição do complexo sintetizado.

Tabela 13- Valores de m/z (M/Z_C =calculado e M/Z_{EX}=experimental) e atribuições com seus respectivos erros para o complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺.(continua)

Notação/Fórmula	Estrutura	M/Z _C	M/Z _{EX}	Erro (ppm)
[M -CO + ANC] ⁺		886,1569	886,1565	0,45
[M] ⁺		873,1247	873,1248	0,11
[M -CO] ⁺		845,1298	845,1294	0,47

Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 40 - Espectro de massas de alta resolução (ESI-MS) do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ em acetonitrila (A) e Espectro de massa simulado para o complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ (B).



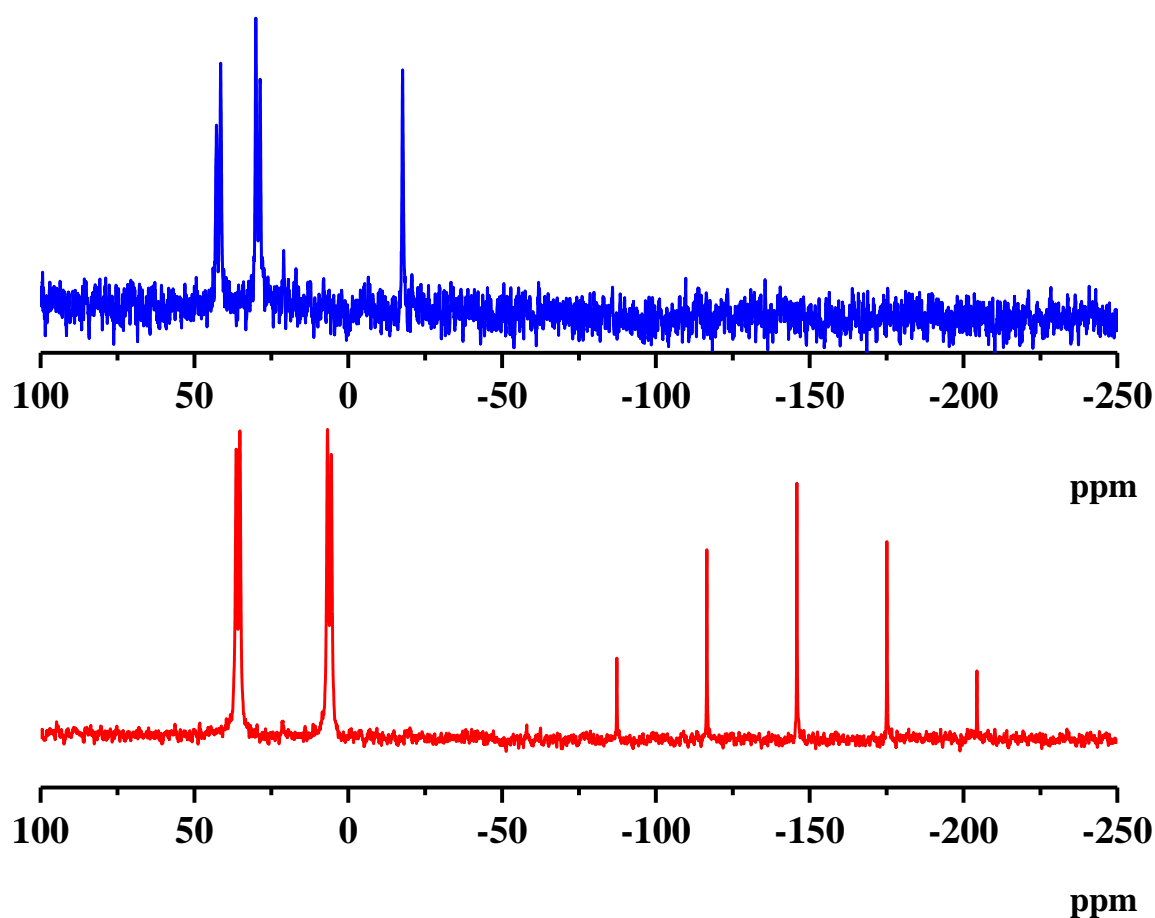
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.3.2 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

O complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ (Ru-DPPZ-CO) também foi caracterizado por RMN de ³¹P{¹H}, ¹H 1D e 2D(COSY). O espectro de ressonância magnética nuclear de ³¹P{¹H} para o complexo Ru-DPPZ-CO em CH₂Cl₂ (Figura 41) apresentou dois dupletos em δ 6,2 e δ 35,77 referentes aos dois núcleos de fósforos do ligante dppb, que diferem entre si devido a vizinhança química destes átomos serem diferentes, indicando que o complexo encontra-se na forma do isômero *cis*.¹²⁰,

¹²⁴ Ao compararmos o espectro obtido com o do composto precursor (*cis*-[RuCl₂(dppb)(dppz)] ou (Ru-DPPZ), cujo espectro também apresenta dois dubletos em δ 42,24 e δ 29,37, atribui-se o sinal em δ 29,37 ao núcleo de fósforo que se encontra *trans* ao átomo de nitrogênio do ligante dppz e o sinal em δ 42,42 ao fosforo *trans* ao átomo de cloro.^{107, 123} Assim, observamos que a coordenação do ligante monóxido de carbono acarretou um deslocamento dos sinais do fósforo para regiões de menores deslocamentos químicos, sendo o sinal do núcleo de fósforo em 6,2 ppm atribuído ao fósforo *trans* ao ligante CO, enquanto o sinal em 35,77 ppm foi atribuído ao fosforo *trans* ao ligante dppz. Segundo a literatura átomos de fosforo *trans* ao ligante CO são deslocados para campos significativamente mais altos, este forte deslocamento deve-se ao efeito competitivo entre os dois ligantes, ambos com forte caráter π -aceptor (P e CO). Outra informação importante observada no espectro de ³¹P{¹H} do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ é a presença dos sinais referentes ao contra-íon PF₆⁻, um hepteto em -145,85ppm, indicando que o composto encontra-se na forma de um cátion, condizente com substituição de um dos ligantes cloretos pelo ligante CO.¹²⁴ Vale ressaltar que a integração dos sinais do contra-íon encontra-se em uma relação de 1 para 1 com os sinais dos fósforos do ligante dppb, sendo condizente com a estrutura proposta.

Figura 41 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ para os complexos *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{dppz})]$ (azul) e *cis*- $[\text{Ru}(\text{CO})\text{Cl}(\text{dppb})(\text{dppz})]\text{PF}_6$ (vermelho) em CH_2Cl_2 a 60MHz.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os espectros de RMN ^1H e COSY foram obtidos em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ a 500 MHz (Figura 42 e Figura 43), a fim de identificar todos os ligantes orgânicos e dar suporte a composição proposta. Foram observados 17 sinais na região de aromáticos, com integração para 30 hidrogênios, estando de acordo com a formulação proposta. Também foram observados 6 sinais na região de alifáticos com integração para 8 hidrogênios, atribuídos a ponte butano do ligante dppb. O espectro COSY obtido tornou possível fazer a distinção entre os sinais dos ligante dppb e dppz, tornando possível fazer a atribuição de todos os sinais referentes ao ligante dppz (Figura 43).

Figura 42 - Espectro de RMN ^1H para o complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{CO})\text{Cl}(\text{dppb})(\text{dppz})]\text{PF}_6$ em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ a 500 MHz (A), ampliações da região de aromáticos (B).

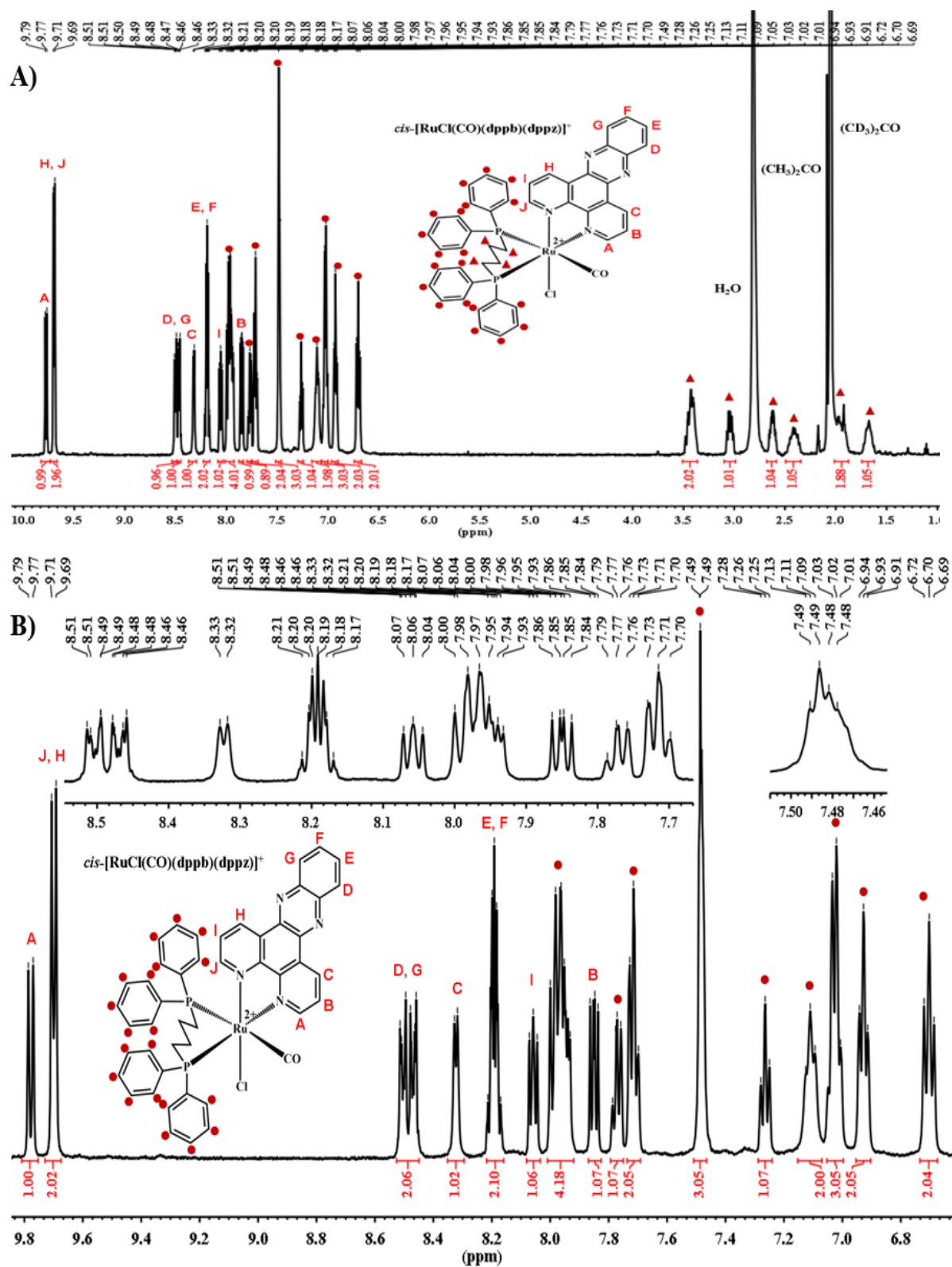
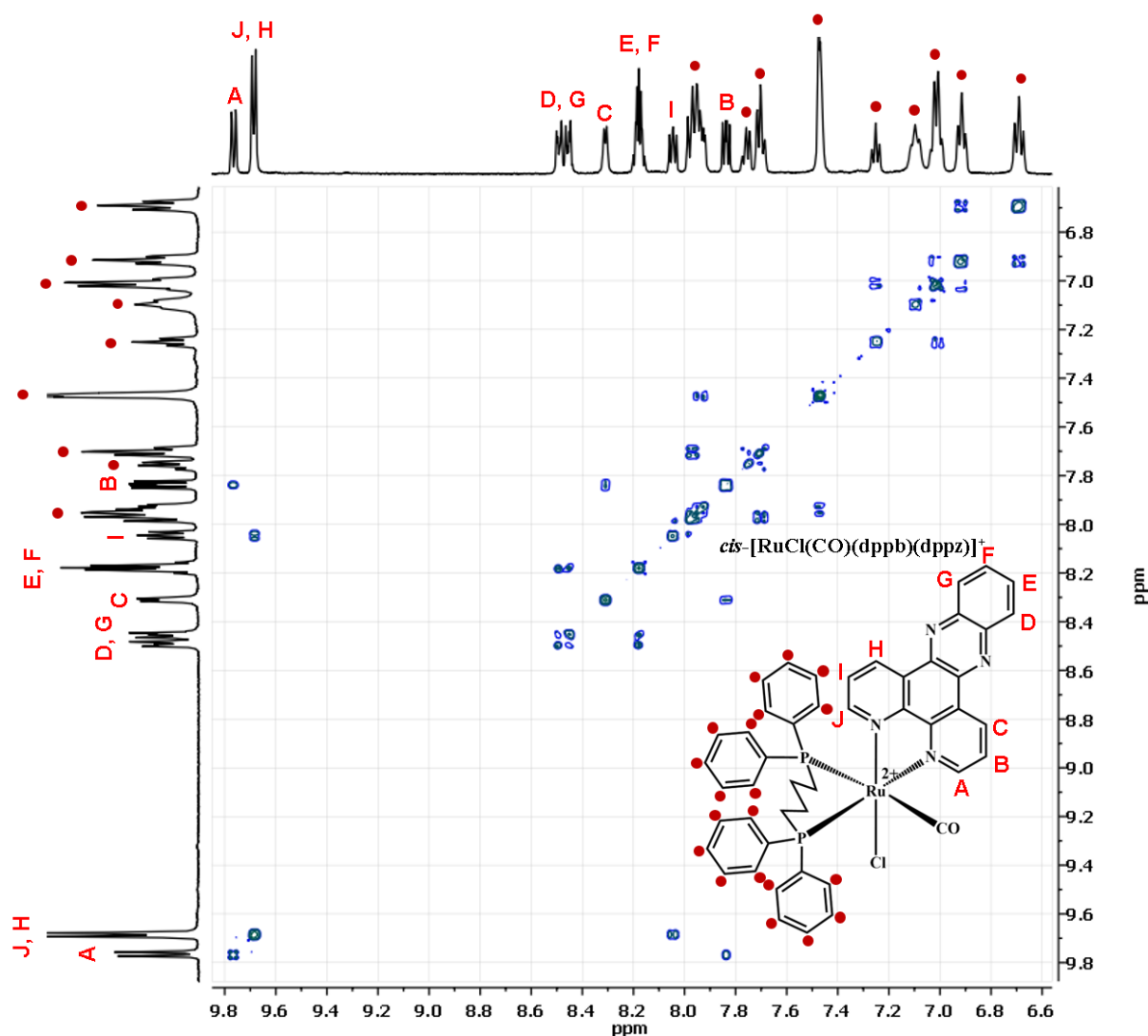


Figura 43- Espectro de RMN ^1H 2D (COSY) para o complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{CO})\text{Cl}(\text{dppb})(\text{dppz})]\text{PF}_6$ em $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ a 500 MHz.



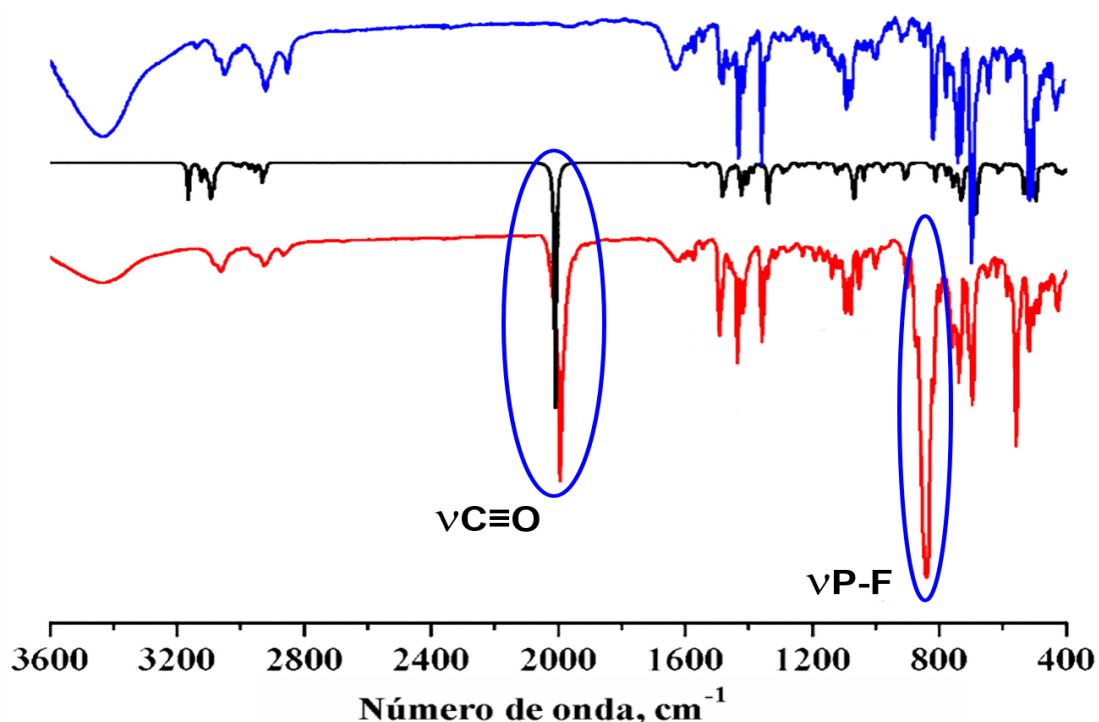
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.3.3 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

Os resultados obtidos para as medidas espectroscópicas na região do infravermelho e na região do ultravioleta e visível (UV-vis), para o complexo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{dppz})]^+$, foram analisadas juntamente com os estudos computacionais, com o objetivo de dar suporte às atribuições deste trabalho, assim como os demais complexos aqui estudado. O método da teoria do funcional de densidade (DFT) foi utilizado para a otimização de geometria do íon complexo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{dppz})]^+$ e para construção dos seus espectros vibracionais e eletrônicos.

O estudo computacional foi capaz de gerar um espectro de IV teórico, que concordou com os valores experimentais obtidos, dando suporte as atribuições dos modos vibracionais (Figura 44). No entanto, vale ressaltar que estes resultados são uma comparação entre o espectro de FTIV experimental do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ disperso em KBr e o espectro teórico calculado no vácuo.

Figura 44- Espectros vibracionais na região do infravermelho dos complexos *cis*-[RuCl₂(dppb)(dppz)](azul), *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ em pastilha de KBr (vermelho) e *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺ teórico no vácuo (preto).



Fonte: Elaborada pelo autor.

O espectro vibracional na região do infravermelho do complexo Ru-DPPZ-CO apresentou bandas características de complexos fosfínicos de rutênio, e bandas do ligante dppz. Tais bandas presentes no complexo precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(dppz)] (Tabela 14) reforçam que os ligantes dppb e dppz ainda encontram-se coordenados ao centro metálico, dando indícios que o complexo manteve sua integridade após a coordenação do ligante monocarbonílico. Os dados mais relevantes desta técnica, se referem a presença dos estiramentos característicos do ligante CO em 1993 cm⁻¹, bem como do contra-íon PF₆⁻ em 836 cm⁻¹ e 557 cm⁻¹.¹⁰⁹ Estas últimas bandas são observadas apenas no espectro experimental, uma vez que o contra-íon não foi incluído no cálculo DFT. Todavia, elas auxiliam na confirmação de coordenação do

ligante monóxido de carbono, e que houve a saída do ligante cloreto da estrutura, indicando que o complexo se encontra carregado positivamente, o que também pode-se observar pela técnica de RMN.

Curiosamente, o valor baixo para o estiramento do ligante monóxido de carbono sugere que este ligante se encontra ligado fortemente ao centro metálico, uma vez que o CO livre exibe um modo de estiramento em 2143 cm^{-1} .¹⁰⁹ Fato este que pode vir a dificultar a aplicação deste composto como molécula transportadora e liberadora de monóxido de carbono.

Tabela 14 - Atribuição das principais frequências vibracionais do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆.

Atribuição	Frequência (cm ⁻¹) (Experimental/Teórico (DFT))
v(CH)	3275/ 3326
v(CH)s	2922/ 2923
v(CO)	1993/ 2023
v(CC +CN)	1357, 1492 / 1492, 1347
β(CH)	1434/ 1433
v(PC)	1091/ 1102
v(PF)	836 e 557
v(CH)	746, 696 e 515/ 750, 704, 531
v(RuP)	518/ 514

Fonte: Elaborada pelo autor.

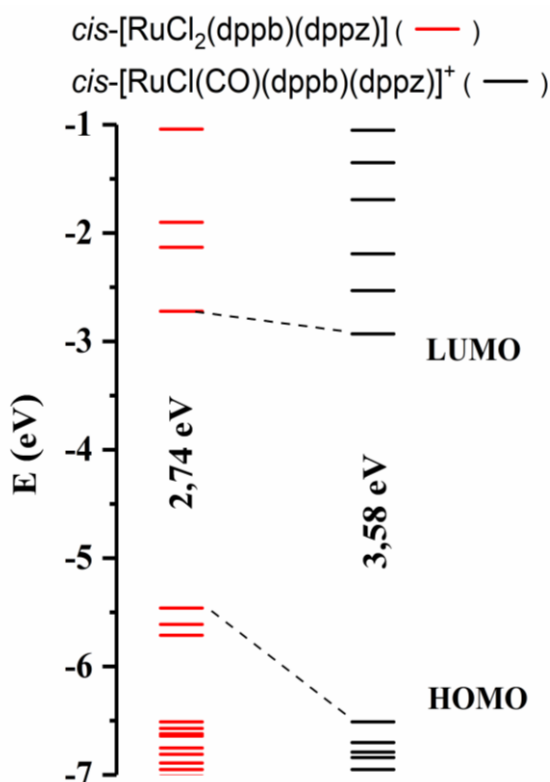
4.3.4 Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-Visível

A teoria do funcional da densidade dependente do tempo (TD-DFT) foi aplicada em conjunto com a espectroscopia de absorção eletrônica na região do UV-vis, para investigar as propriedades eletrônicas do estado excitado do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺ e do seu precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(dppz)]. Estes estudos forneceram informações importantes sobre a natureza das transições eletrônicas que poderiam, eventualmente, promover fotoclivagem da ligação Ru-CO. O emprego de fotoliberadores de CO já é bem descrito na literatura, com a utilização de complexos inorgânicos contendo o ligante monóxido de carbono. Foi utilizado a análise das contribuições do orbital molecular (OM) obtido por DFT apenas para auxiliar na interpretação do comportamento espectroscópico do complexo, uma vez que as medidas das contribuições das superposições de orbitais do metal e dos ligantes

deduzidas por Mulliken, utilizadas para descrever o orbital molecular podem variar de acordo com o conjunto de base utilizados.

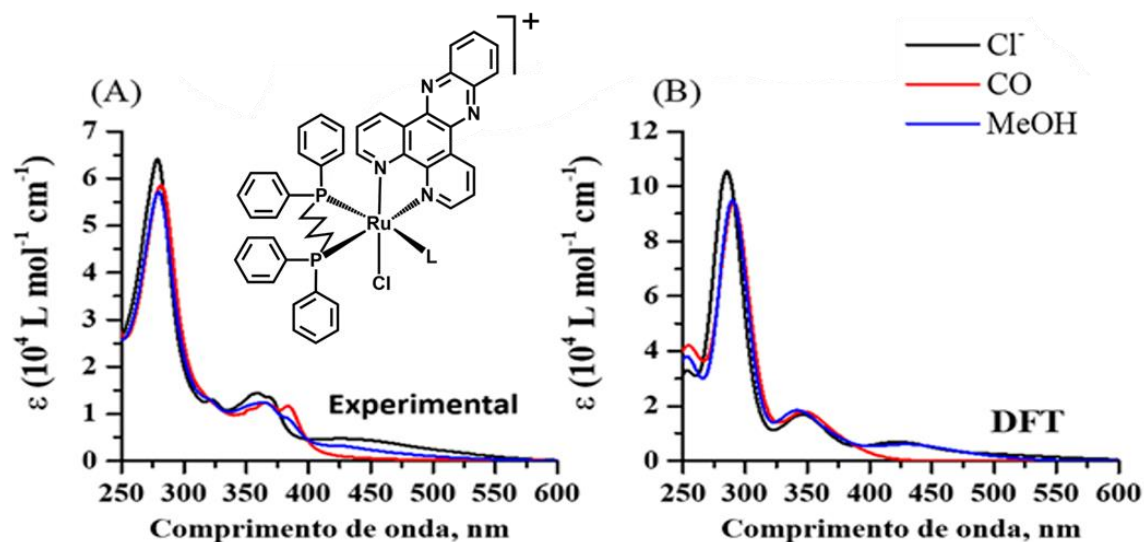
A Figura 45 apresenta os diagramas de energia do complexo com o ligante CO e o seu precursor. Estes resultados teóricos indicam um aumento da diferença de energia entre os orbitais HOMO e LUMO no complexo $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{dppz})]^+$ devido a uma maior estabilização do orbital HOMO quando o ligante cloreto é substituído pelo ligante CO. Após a coordenação do CO, observa-se um espectro com menor número de transições eletrônicas na região do visível, devido ao forte deslocamento das transições para a região do ultravioleta. Isso é verificado pelo aumento da diferença de energia entre os orbitais do complexo contendo CO, tal como ilustrado nos espectros UV-vis apresentados na Figura 46. A atribuição das bandas das transições eletrônicas do complexo, foi realizada por meio de comparação entre os espectros eletrônicos experimentais e teóricos, obtidos para o complexo e seu precursor, em conjunto com seus respectivos orbitais moleculares calculados por DFT (Figura 45).

Figura 45 - Diagramas de energia dos principais orbitais moleculares dos complexos $cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{dppz})]$ e $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{dppz})]^+$ calculados por DFT-TD.



Fonte: Elaborada pelo autor.

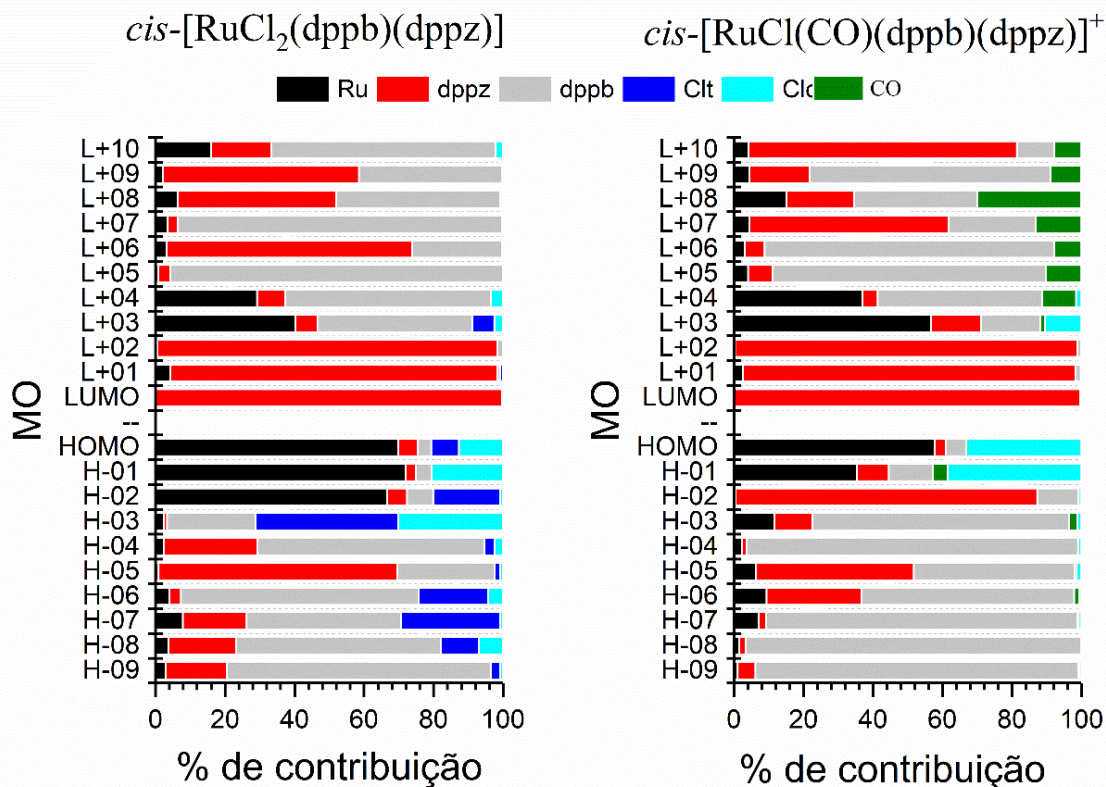
Figura 46 - Espectros eletrônicos na região do UV-vis em metanol, experimental (A) e teórico (B), para os complexos *cis*-[RuCl₂(dppb)(dppz)] (preto), *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ (vermelho) e *cis*-[RuCl(MeOH)(dppb)(dppz)]⁺(azul).



Fonte: Elaborada pelo autor.

A análise da composição dos orbitais moleculares selecionados (OMs) indicou uma forte contribuição do átomo de Ru e do ligante Cl^- para formar os orbitais moleculares ocupados de maior energia, HOMO, HOMO-1, e HOMO-3, enquanto o orbital HOMO-2 apresentou maior densidade eletrônica no ligante dppz (Figura 47). Por outro lado, os orbitais moleculares desocupados de menor energia, LUMO, LUMO+1, e LUMO+2 encontram-se predominantemente centrados no ligante dppz, enquanto LUMO+3 e LUMO+4 são compostos principalmente pelo centro metálico e pelo ligante dppb em ambos os complexos.

Figura 47 - Contribuição percentual dos ligantes Cl⁻, CO, dppb, dppz e do centro metálico Ru⁺² para a formação dos orbitais moleculares dos complexos *cis*-[RuCl₂(dppb)(dppz)] e *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Assim como os espectros de FTIV, os espectros teóricos de absorção eletrônica apresentam satisfatória concordância com os dados experimentais (Figura 46). As transições eletrônicas para o complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺ foram atribuídas com base nos resultados de TD-DFT, sendo a banda de absorção eletrônica observada experimentalmente em 384 nm (Tabela 15), atribuído como uma transição eletrônica do orbital HOMO-1 para o orbital LUMO, orbital este composto principalmente por contribuições dos orbitais π*-dppz. Portanto a transição HOMO-1 para LUMO foi atribuída como um “transferência de carga” (¹MLLCT) (metal-ligantes)-para-ligante. Isso pode ser ilustrado por meio do gráfico da superfície de contorno da densidade eletrônica dos orbitais moleculares do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺ (ANEXO C). Podemos observar que, o orbital HOMO-1 deste complexo possui contribuições na formação das ligações π ligante envolvendo os orbitais dπ-Ru e π-CO, e π-antiligante envolvendo os orbitais dπ-Ru e pπ-Cl caracterizando as ligações Ru–CO e Ru–Cl. Assim, espera-se que uma transição

originada do orbital HOMO-1 deva enfraquecer a ligação Ru-CO, e fortalecer a ligação Ru-Cl. A transição eletrônica calculada por TD-DFT em 253 nm é originada no orbital HOMO-3 para o orbital LUMO + 4, cuja análise do orbital LUMO+4 sugere que este orbital possui um caráter σ -antiligante sendo composto por fortes contribuições dos orbitais d-Ru e σ^* -CO, sugerindo que esta transição eletrônica também venha a contribuir para o enfraquecimento da ligação Ru-CO. Nos estudos de liberação de CO, que serão apresentados mais adiante (seção 4.4.1), de fato foi observado uma liberação lenta de CO para este complexo, quando irradiado com luz azul (450nm), porém a taxa de liberação de CO foi muito mais rápida quando se utilizou uma fonte de luz ultravioleta (395nm) sendo esta energia consistente com as discussões reportadas nesta sessão.

Tabela 15 - Principais transições eletrônicas obtidas por TD-DFT/B3LYP para o complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺ em metanol.

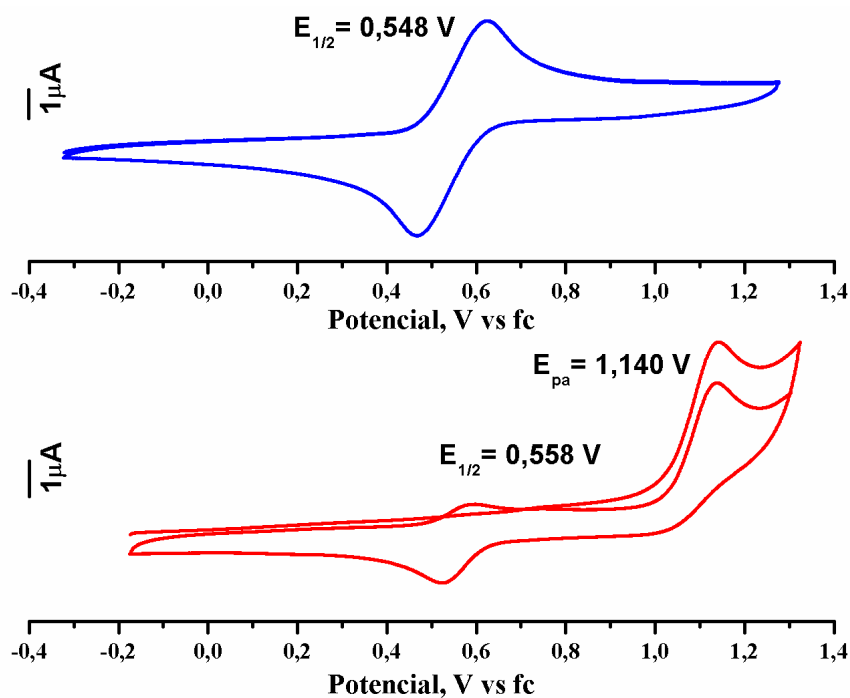
$\lambda_{cal.}(nm)$	Força do oscilador(f)	Transição	Atribuição
379	0,0485	H-1→LUMO (79%)	dRu/ π Cl/ π CO → π^* dppz
370	0,0178	H-2 → LUMO (92%)	π dppz → π^* dppz
361	0,0218	H-3 → LUMO (88%)	π dppb/dRu → π^* dppz
346	0,1766	H-5→LUMO (62%)	π dppz / π dppb/dRu → π^* dppz
294	0,3054	H-8→L+1 (19%) H-2→L+2 (24%)	π dppb → π^* dppz π dppz → π^* dppz
291	0,4327	H-9→L+1 (35%)	π dppb → π^* dppz
287	0,2184	H-5→L+2 (66%)	π dppz / π dppb/dRu → π^* dppz
262	0,1764	H-14→L+1 (42%)	π dppz → π^* dppz

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.3.5 Comportamento eletroquímico do complexo

O comportamento redox do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ foi estudado utilizando-se eletrodo de carbono-vítreo em acetonitrila e PTBA 0,1mol.L⁻¹ como eletrólito suporte, empregando-se velocidade de varredura de 0,100 V.s⁻¹, apresentando um processo irreversível com E_{pa} de 1,140 V versus ferroceno (Figura 48). Este processo redox irreversível poderia ser atribuído a um evento eletroquímico-químico promovido pela oxidação do centro metálico seguido pela liberação de CO, e posteriormente coordenação de uma molécula do solvente, resultando no complexo *cis*-[RuCl(ACN)(dppb)(dppz)]PF₆, comprovado pelo surgimento de um novo par redox com E_{1/2} em 0,548V vs ferroceno, vale ressaltar que este valor é semelhante ao do complexo *cis*-[RuCl₂dppb)(dppz)]. Desta forma, podemos constatar um deslocamento de mais 0,5V para o complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ em relação ao composto *cis*-[RuCl₂(dppb)(dppz)], (Figura 48), o que é condizente com esperado para complexos contendo o ligante monóxido de carbono.^{120, 125, 126}

Figura 48 - Voltamograma cíclico dos complexos *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ (vermelho) e *cis*-[RuCl₂(dppb)(dppz)] (azul), eletrodo de carbono-vítreo em C₂H₃N em PTBA 0,1 mol L⁻¹ a 100 mV s⁻¹.



Fonte: Elaborada pelo autor.

A irreversibilidade do processo redox devido a saída do ligante CO da esfera de coordenação, deve-se ao fato da ligação entre o monóxido de carbono e o centro metálico, ser realizada por uma fraca doação σ e uma forte interação do tipo π . Desta forma, com a oxidação do centro metálico espera-se que ocorra um enfraquecimento da capacidade do centro metálico de realizar a retrodoação π , e conseqüentemente enfraquecendo a ligação Ru-CO, tornando possível a substituição do CO por uma molécula de solvente.¹²⁴⁻¹²⁶

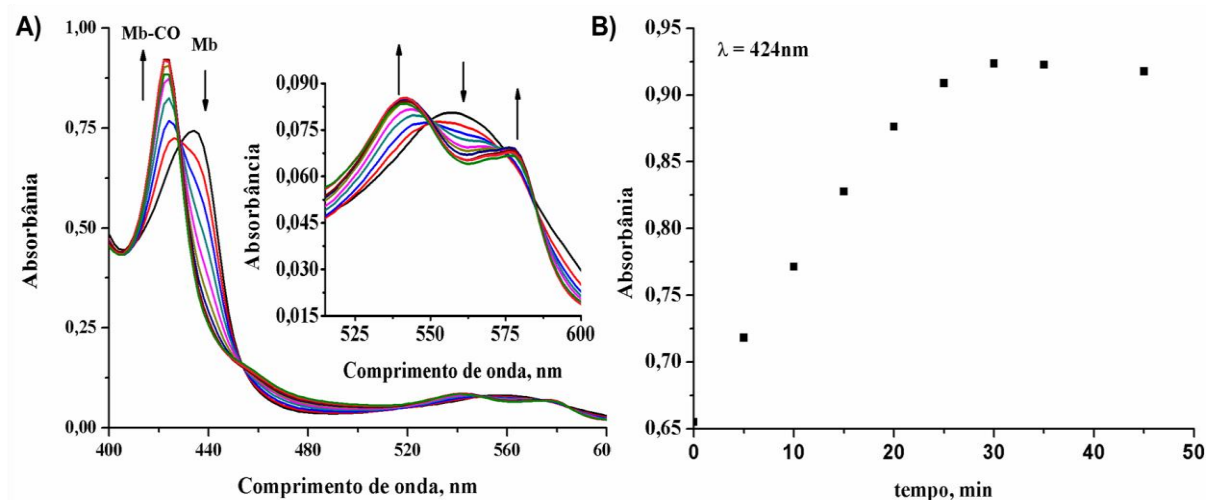
4.4 Estudos de Reatividade

4.4.1 Estudos de Liberação de CO

O ensaio clássico com mioglobina foi escolhido como o primeiro método para avaliar a ocorrência da liberação de CO. Infelizmente, devido à baixa solubilidade em água dos complexos, os experimentos foram realizados em uma mistura de tampão fosfato (PBS) pH 7,4 e NN-dimetil formamida (DMF) 4:1 (v/v). Esta proporção utilizada foi escolhida para minimizar a precipitação do complexo durante a realização dos experimentos, e para evitar a desnaturação da mioglobina. Em função destas dificuldades, estas medidas foram utilizadas apenas como dados qualitativos, tratando-se de um ensaio válido para constatar a liberação de CO. Para irradiação das amostras, foram utilizados LEDs UV (395 nm) e azul (450 nm).

Os ensaios de liberação de CO frente a mioglobina para os complexos da série 2 não resultaram em indícios significativos de liberação de CO (ANEXO G). Entretanto o complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺ mostrou ser capaz de atuar como um transportador de CO (Figura 49) fotoquímico, pois nos experimentos realizados com luz azul e UV foi evidenciado a formação da carboximioglobina (Mb-CO).

Figura 49 - Ensaio de liberação fotoquímica de CO para o complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺ monitorada pelo por meio da mioglobina, utilizando o LED azul (A) e traço cinético em 424 nm (B).

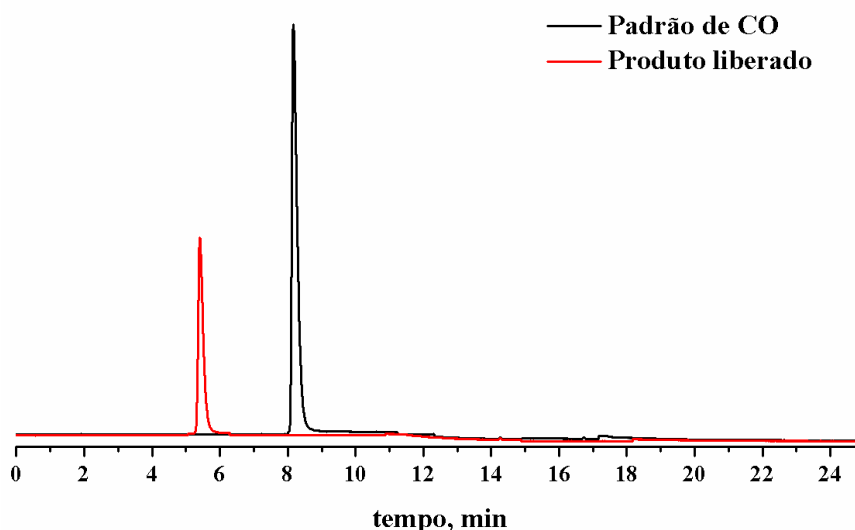


Fonte: Elaborada pelo autor.

Após o ensaio qualitativo frente a mioglobina, foram realizadas medidas quantitativas de CO por meio da cromatografia gasosa, utilizando um detector de condutividade térmica (TCD). Por meio da cromatografia gasosa, foi possível realizar a detecção e quantificação de CO sob irradiação de luz. Diferentemente do ensaio com mioglobina, foram utilizadas amostras mais concentradas ($\sim 1 \text{ mmol L}^{-1}$) para esta medição e irradiação de luz azul durante um tempo mais longo quando necessário.

Os cromatogramas obtidos para os complexos da série 2, assim como os resultados frente a mioglobina, não apresentaram um perfil cromatográfico referente a liberação de CO (Figura 50), sendo necessário a realização de estudos mais detalhados, para identificar a espécie gerada, cujo tempo de retenção não coincidiu com os observados para os seguintes padrões testados (Tabela 16). Todavia o complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺ apresentou em seu cromatograma um único pico com tempo de retenção de 8,2 min (Figura 51), consistente com o tempo de retenção observado para o padrão de CO.

Figura 50 – Perfil cromatográfico observado para o gás liberado pelos complexos da série 2, em DMSO/H₂O (1:9 v/v) sob irradiação de luz azul (Vermelho) e perfil cromatográfico observado para o padrão de monóxido de carbono (preto).



Fonte: Elaborada pelo autor.

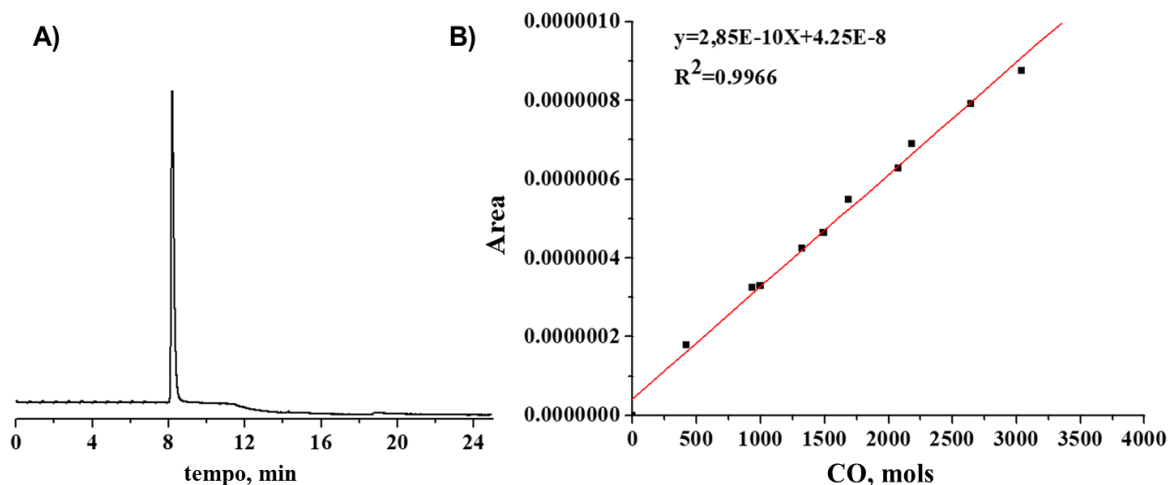
Tabela 16 - Tempo de retenção para os padrões: monóxido de carbono (CO), metanol, etanol, acetona, formaldeído, acetaldeído e dióxido de carbono (CO₂) em CD-TDC.

	CO	Metanol	Etanol	Acetona	Formaldeído	Acetaldeído	CO ₂
Tempo de retenção (min)	8,2	2,4	2,9	3,2	7,2	7,8	14,7

Fonte: Elaborada pelo autor.

A quantificação do CO liberado pelo complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺ foi realizada utilizando uma curva padrão preparada para o gás CO, onde foi observada uma libertação de $0,77 \pm 0,04$ equivalentes de CO por cada mol de complexo após 3 horas de irradiação. Estes resultados reforçam a capacidade de fotoclivagem da ligação Ru-CO com a utilização de luz com energia moderada (LED azul), sugerindo que esta molécula pode ser utilizada como um transportador fotoquímico de CO.

Figura 51 - Perfil cromatográfico observado para o gás liberado pelo complexo $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{dppz})]^+$, em DMSO/ H_2O (1:9 v/v) sob irradiação de luz azul (A) e curva de calibração utilizada para a quantificação do CO liberado (B).



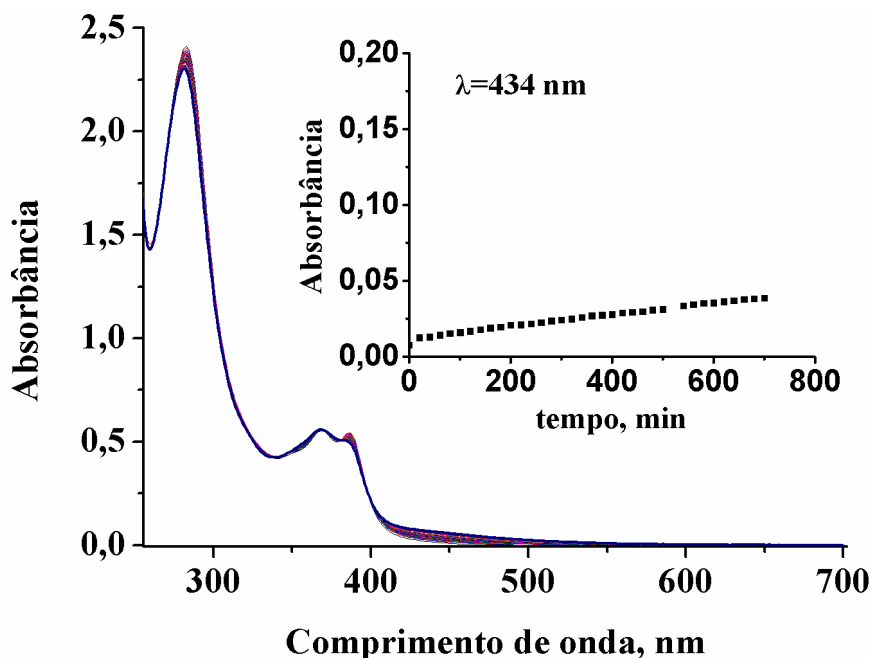
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.4.2 Estudos de Estabilidade Térmica

Possuir estabilidade térmica é uma característica muito importante para compostos com fins terapêuticos, em particular para complexos metálicos em que se busca efeitos de fotoreatividade, como é o caso dos CORMs, os quais se destinam, em sua maioria, a funcionar através da ativação fotoquímica. Com base nisso, o complexo $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{dppz})]^+$ foi investigado em tampão fosfato pH 7,4 a 37 °C, a fim de se obter informações sobre sua estabilidade em condições próximas às fisiológicas. Sendo observado depois de 12h, apenas alterações espectroscópicas muito modestas, conferindo a esta molécula uma razoável estabilidade térmica em tais condições (Figura 52).

Adicionalmente, esse resultado sustenta que a liberação térmica de CO é provavelmente um processo muito lento, uma vez que nas tentativas de quantificar o CO liberado nestas condições, frente a mioglobina, não apresentaram alterações significativas no espaço de tempo analisado, sugerindo que a saída do ligante monóxido de carbono da esfera de coordenação é bastante lenta nestas condições.

Figura 52- Monitoramento de uma solução do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺ em tampão fosfato pH 7,4 e 20% de DMF a 37°C, por espectroscopia eletrônica na região do UV-vis.

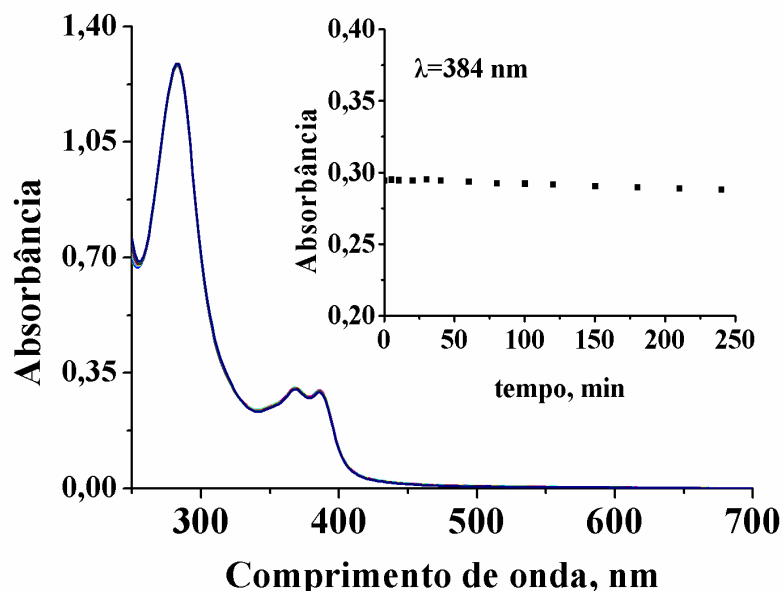


Fonte: Elaborada pelo autor.

Além da estabilidade térmica, foi investigada a reatividade do complexo frente a batióis, empregando-se uma solução de glutatona (GSH) a 1 mmol L^{-1} e a 25°C (Figura 53). Essa mistura não apresentou alterações significativas no espectro de absorção eletrônica do complexo mesmo após 4 h.

Este resultado sugere que este complexo apresenta estabilidade mesmo frente a níveis elevados de tióis, geralmente encontrados no interior das células, $0,5\text{-}10 \text{ mmol L}^{-1}$,¹²⁷ sugerindo que a atividade deste complexo não está relacionada a reações de substituição do ligante CO por glutatona ou reações redox envolvendo batióis, como no caso dos nitrosilocomplexos de rutênio, que são capazes de liberar NO, frente a estes redutos biológicos.¹²⁸

Figura 53 – Estudo de reatividade do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺ 20 μmol L⁻¹ frente a glutationa a 1mmol L⁻¹ em tampão fosfato 50 mmol L⁻¹, pH=7,4 contendo 20% de DMSO a 25°C.



Fonte: Elaborada pelo autor.

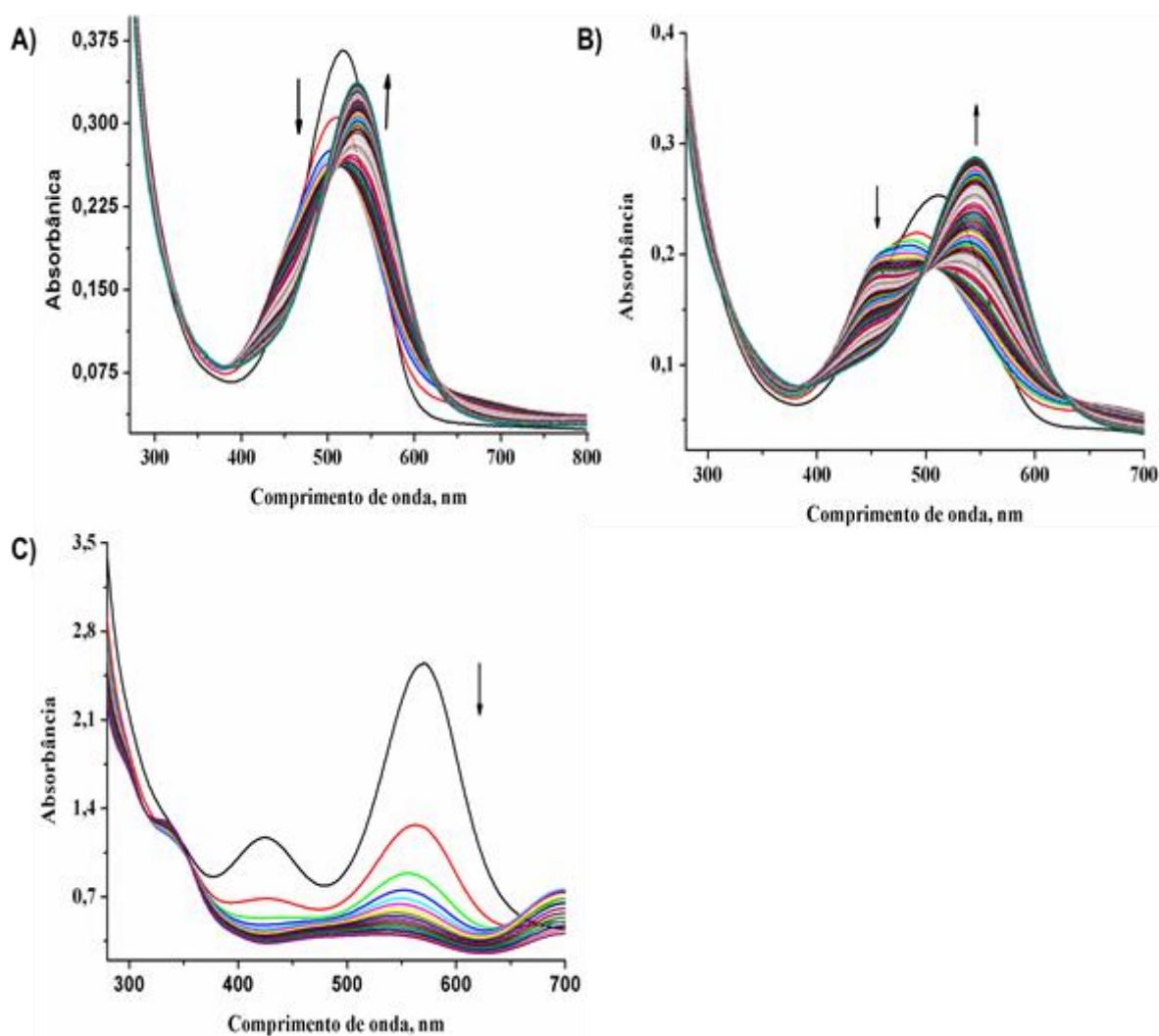
Adicionalmente, foi avaliada a estabilidade deste complexo, por espectroscopia na região do UV-vis no meio de cultura celular contendo 20% de DMSO, e mantido a 37°C por um período de 12h. Neste intervalo de tempo, novamente, não foram observadas quaisquer alterações espectroscópicas significativas (ANEXO H).

Tendo em vista que os ensaios biológicos foram realizados na presença do solvente orgânico (DMSO), foi monitorado a ocorrência de possíveis mudanças de condutividade em uma solução 1 mmol L⁻¹ do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ neste solvente, por um período de 24h. Ainda assim, não foram observadas alterações significativas nos valores de condutividade, sugerindo que este solvente não facilitaria a saída do ligante cloreto da esfera de coordenação.

Esses resultados indicam que o complexo apresenta uma boa estabilidade nas condições dos ensaios biológicos, sugerindo que sua atividade biológica provavelmente deve-se a interações como uma entidade inteira de bioestruturas (ex. DNA, proteína).

Os complexos da série 1 apresentam em sua esfera de coordenação ligantes derivados de quinonas, que podem sofrer reações redox com biotióis, podendo ser reduzidas a semiquinonas ou a catecois. Tendo em vista esta possibilidade, foi realizado um ensaio com o composto NN-Br, frente a diferentes concentrações de glutatona (Figura 54), ficando evidente a existência de reações com glutatona nas condições testadas. Além disso, foi observado uma dependência da concentração da glutatona sendo observado a formação de diferentes espécies em função da concentração do tiol em questão.

Figura 54 - Estudo de reatividade do complexo Ru-NN-Br $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão fosfato 100 mmol L^{-1} , $\text{pH}=7,4$ contendo 20% de DMSO a 25°C , frente a glutatona a $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ (A), $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ (B) e 10 mmol L^{-1} (C).



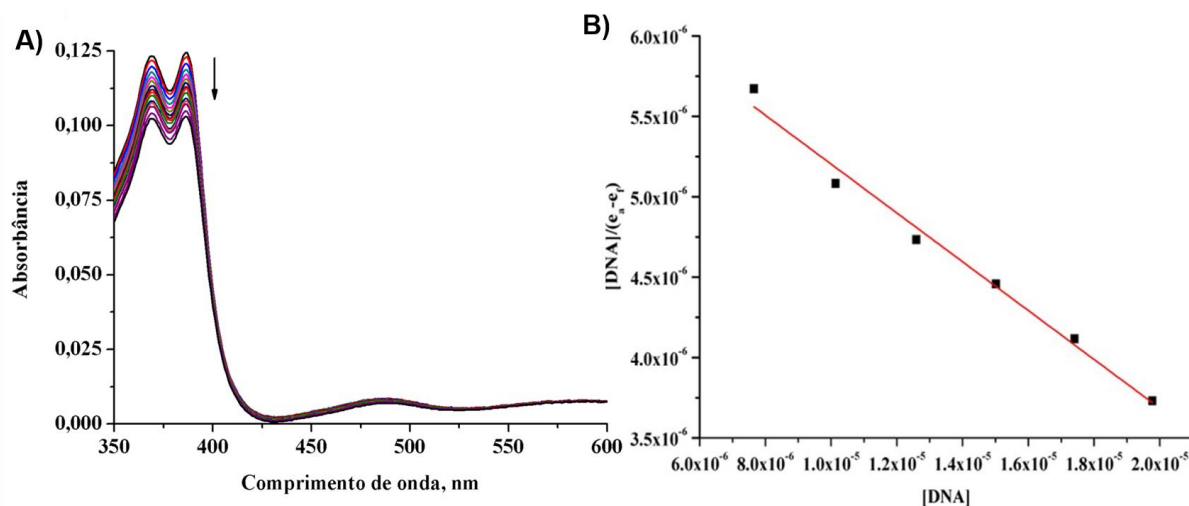
Fonte: Elaborada pelo autor.

A ocorrência de reações do complexo envolvendo biotióis pode estar relacionada com sua atividade biológica, pois etapas sucessivas de redução e de oxidação de quinonas podem gerar espécies reativas de oxigênio.¹²⁹

4.4.3 Ensaios de interação com DNA

Com o intuito de avaliar a interação com DNA, foi realizado uma titulação do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ com o CT-DNA (DNA de Timo de bezerro), em tampão tris pH 7,4 a 25 ° C (Figura 55). Sendo observado um moderado deslocamento hipocrômico (*H*) decorrente de interações com o DNA (*H* = 18,5%), não sendo observado deslocamento do valor de λ analisado. A constante de ligação ao DNA (*K*_b) foi estimada pelo método de Schmechel e Crothers,¹³⁰ por meio da construção de um gráfico linear de [DNA]/($\epsilon_a - \epsilon_f$) versus [DNA], onde ϵ_a é a absorvidade molar aparente para o complexo e ϵ_f é a absorvidade molar do complexo livre. O valor encontrado para a constante de ligação com o DNA (*K*_b) foi de $2,26 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, um valor abaixo dos valores encontrados para espécies orgânicas consideradas intercalantes, como por exemplo o brometo de etídio que possui uma constante *K*_b de ligação de 10^6 M^{-1} ,¹³¹ e de outros complexos de rutênio contendo o ligante dppz (exemplo: [Ru(bpy)₂(dppz)]²⁺ *K*_b = $3,2 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$).¹³² Curiosamente este complexo possuindo um valor de afinidade de ligação com o DNA muito semelhante ao *K*_b medido para um complexo análogo que não possui o ligante dppz (*cis*-[RuCl(CO)(dppb)(bipy)]PF₆, *K*_b = $3,78 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$)¹³³ sugerindo que esse baixo valor de afinidade pelo DNA se deve ao impedimento estérico ocasionado pelos grupos fosfínicos do ligante dppb. Vale ressaltar que, as tentativas para deslocar o brometo de etídio ligado ao DNA (ANEXO H), por meio da titulação com complexo, só foram eficazes quando foi utilizado concentrações bem maiores do complexo (ca. *K*_b ~ $1,6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$), sendo condizente com o baixo valor de *K*_b observado para este complexo.

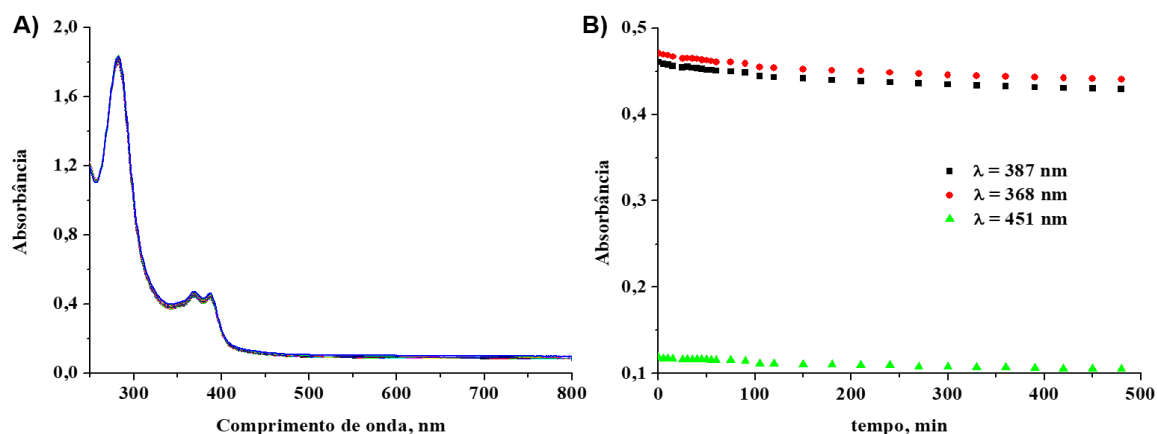
Figura 55 - Titulação de 100uL de uma solução $10\mu\text{ mol L}^{-1}$ do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppzi)]PF₆ em tampão tris 10 mmol L^{-1} pH=7,4, com adições sucessivas de 5,2 nmol de CT-DNA (A). Gráfico linear de $[\text{DNA}]/(\epsilon_a - \epsilon_i)$ versus $[\text{DNA}]$ utilizado para a determinação de K_b .



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os complexos metálicos contendo o ligante dppz são conhecidos pela sua capacidade de intercalação com o DNA, porém alguns complexos também podem atuar por meio de ligação covalente direta ao DNA.¹³⁴ Para avaliar esta possibilidade, foi misturado $300\mu\text{ mol L}^{-1}$ de guanina com $30\mu\text{ mol L}^{-1}$ do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺ em tampão fosfato pH 7,4 a 50 mmol L^{-1} , esta solução foi incubada durante 8h a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, sendo monitorada por espectroscopia UV-vis (Figura 56). Não sendo observado alterações no espectro electrónico do complexo nestas condições, durante intervalo de tempo analisado, sugerindo que não há formação de ligação direta do complexo com o DNA. Estes resultados aparentemente sugerem que a disposição espacial dos grupos fenilas do ligante dppb, podem desfavorecer a intercalação do ligante dppz ao DNA por meio de impedimento estérico, como relatado em outros complexos de rutênio.¹³⁵ sugerindo que, a atividade biológica promissora observado para este complexo poderia ser devido à interações deste com outras biomoléculas.

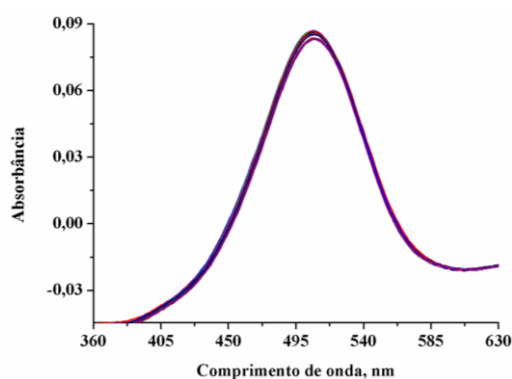
Figura 56 - Acompanhamento por espectroscopia na região do UV-vis de uma solução contendo $300 \mu\text{mol L}^{-1}$ de guanina, $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ do complexo $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{dppz})]^+$ em tampão fosfato pH 7,4 a 50 mmol L^{-1} (A). Variação da absorbância nos comprimentos selecionados em função do tempo (B).



Fonte: Elaborada pelo autor.

Ferraram realizados ensaios preliminares de interação com DNA com o complexo NN-Br (Figura 57), em que foi possível observar que, após a titulação com o CT-DNA ocorreu um pequeno aumento da absorvidade molar do complexo, o que impossibilitou o cálculo de K_b . Sugerindo que estes complexos possuem valores de afinidade com o DNA bem menores do que os encontrados para o complexo $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{CO})(\text{dppb})(\text{dppz})]^+$, e que a atividade biológica observada destes complexos não deve estar relacionada à intercalação ao DNA.

Figura 57 - Titulação de 100uL de uma solução $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ do complexo $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppb})(\text{NN-Br})]$ $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão tris 10 mmol L^{-1} pH=7,4, com adições sucessivas de 5,2 nmol de de CT-DNA (A).

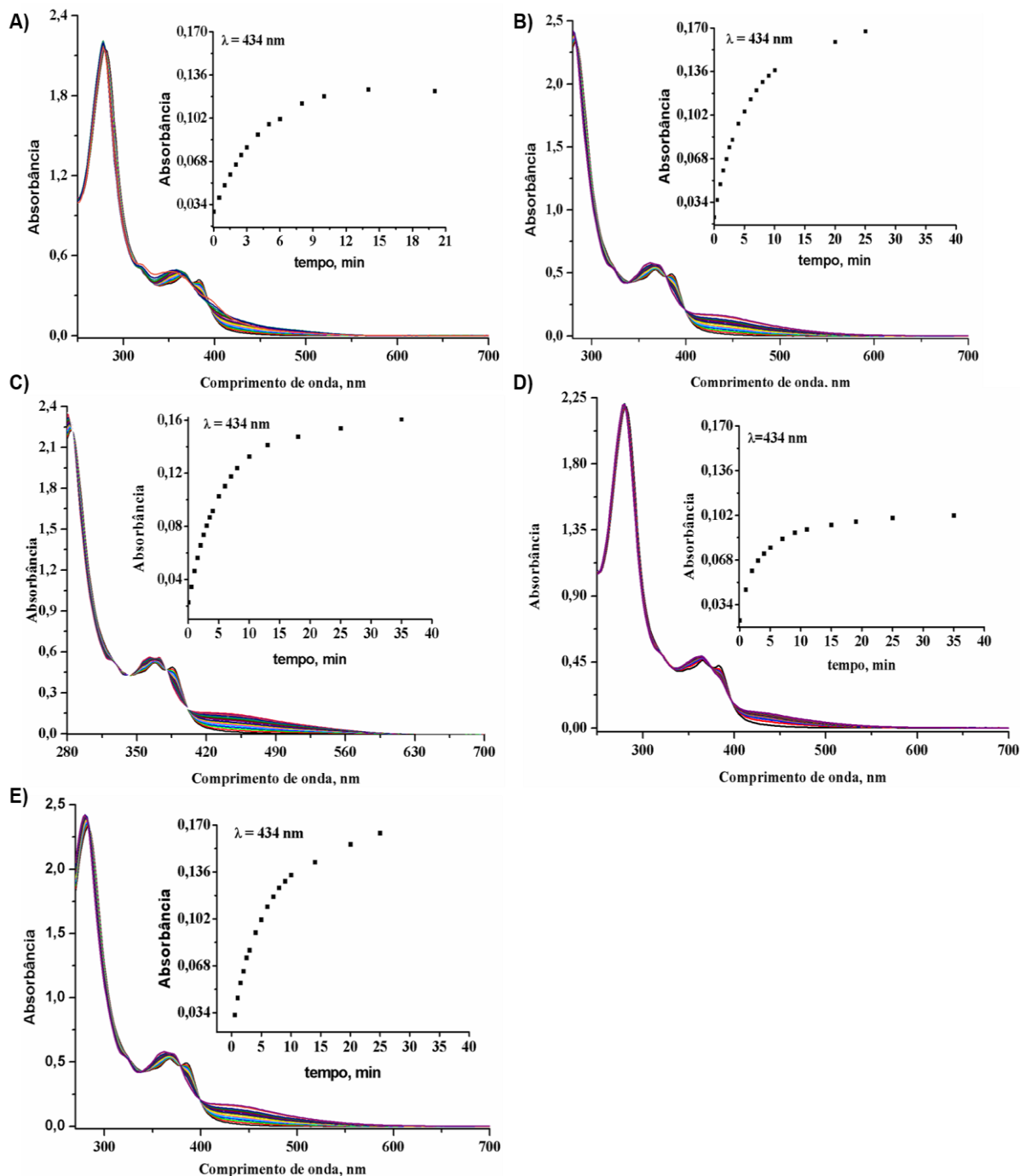


Fonte: Elaborada pelo autor.

4.4.4 Estudos Fotoquímicos

Com o objetivo de investigar se a luz poderia desencadear a liberação de CO, o complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺ foi submetido a irradiação com luz, utilizando-se dois LEDs com picos máximos de emissão em 450 nm (azul) e 395 nm (UV), em diferentes composições de solvente (20% de DMF em tampão fosfato, metanol, DMF, DMSO e acetonitrila). Em todos os casos, foram observados, como resultados de processos fotoquímicos, o surgimento de uma nova banda em 434 nm, juntamente com variações nas intensidades das bandas em 383 e 353 nm. Estas alterações espectroscópicas também deram origem a três pontos isosbéticos em 339, 378 e 398 nm (Figura 58). Curiosamente, o perfil espectroscópico do produto da fotólise é bastante semelhante ao do complexo precursor *cis*-[RuCl₂(dppb)(dppz)], exceto quando foi utilizado acetonitrila como solvente. Provavelmente acetonitrila se coordena após a saída do CO, e posteriormente com a irradiação, acarreta outras alterações estruturais no complexo, ocasionando variações espectroscópica mais significativa. A coordenação da acetonitrila ao centro metálico também foi observada por espectrometria de massas de alta resolução, que apresentou um pico consistente com coordenação deste solvente tal como discutido anteriormente. Além disso, o espectro eletrônico do complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(dppz)], feito em acetonitrila, demonstra um perfil que possui grande semelhança com o produto do início da fotólise (ANEXO H). A explicação mais plausível para as mudanças posteriores a coordenação deste solvente, seria a possibilidade deste ligante induzir uma isomerização, que por sua vez pode ser facilitada fotoquimicamente, resultados semelhantes foram relatados por sistema análogo de rutênio.¹³⁶

Figura 58 - Mudanças espectroscópicas do complexo *cis*-[RuCl(dppb)(dppz)CO]⁺ em acetoneitrila (A), DMF (B), DMSO (C), Metanol (D) e PBS/DMF (tampão fosfato 50 mmol L⁻¹, pH=7,4 contendo 20% de DMF) durante a irradiação com LED azul a 25°C (E).



Fonte: Fonte: Elaborada pelo autor.

Os espectros eletrônicos teóricos do complexo precursor e do complexo contendo o ligante CO em metanol, foram consistentes com as modificações

espectroscópicas experimentais observados após a fotólise neste solvente (Figura 46). O ajuste a uma cinética de primeira ordem para os processos de fotólise usando o LED azul, mostrou um tempo de meia-vida na faixa de 2,4 a 3,9 minutos para as várias condições de solvente estudadas (ANEXO H e Tabela 17). Todavia, quando foi utilizado o LED UV, foi observado uma forte aceleração dos processos fotoquímicos encurtando bruscamente o intervalo de tempo do experimento dos experimentos.

Tabela 17 – Tempo de meia vida para a reação de fotólise do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]⁺ utilizando o LED azul.

Solvente	t _{1/2} (min)
DMF	3,88
Metanol	2,36
DMSO	3,76
Acetonitrila	2,87
PBS/DMF	3,82
PBS/DMF-escuro	1158*

*estimativa

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.5 Ensaios Biológicos

4.5.1 Ensaios Bacteriológicos

Alguns dos compostos deste trabalho, tais como o complexo Ru-NN-COOH e Ru-DPPZ-CO, foram avaliados com respeito a capacidade de inibir o crescimento *in vitro* das cepas de bactérias ATCC 6538P (*Staphylococcus aureus*) e ATCC 10536 (*Escherichia coli*), para se obter a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Concentração Bactericida Mínima (CBM) destes compostos frente a estas duas cepas. Estes experimentos envolvendo as bactérias foram realizados pela aluna de Doutorado Andressa Hellen do departamento de farmacologia da UFC.

Para a realização deste ensaio foram escolhidos uma cepa Gram-positivo e a outra Gram-negativo, com o objetivo de sondar se as paredes celulares destas bactérias interferiam na atividade dos complexos. Os resultados obtidos para CIM e CBM encontram-se dispostos na Tabela 18, a qual resume os resultados encontrados nos gráficos de viabilidade celular em função da concentração dos compostos (ANEXO I). Como pode ser observado na Tabela 18, os compostos analisados não apresentaram atividade contra a cepa de bactéria *Escherichia coli*, na faixa de

concentração estudada. Entretanto, apresentaram alta citotoxicidade frente a cepa *Staphylococcus aureus*, principalmente o composto Ru-DPPZ-CO, que se destacou por apresentar atividade na escala de nano molar. Como os complexos em análise demonstraram atividade apenas frente a cepa de Gram-positivo (*Staphylococcus aureus*), sugere-se que as diferenças contidas nas paredes celular de ambas as bactérias podem influenciar na penetração dos complexos na bactéria, ocasionando essa diferença na atividade.

Tabela 18 – Resultados de CIM e CBM para os complexos Ru-NN-COOH e Ru-DPPZ-CO, frente as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Compostos	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P		<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536	
	CIM (μmolL^{-1})	CBM (μmolL^{-1})	CIM (μmolL^{-1})	CBM (μmolL^{-1})
Ru-NN-COOH	7,086	ND	ND	ND
Ru-DPPZ-CO	0,153	0,613	ND	ND

*ND= não foi possível determinar na faixa de concentração utilizada

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.5.2 Resultados dos ensaios de atividade anticâncer

Alguns dos compostos deste trabalho foram avaliados com respeito a capacidade de inibir o crescimento de células tumorais *in vitro*, empregando-se as seguintes linhagens tumorais: HCT-116 (colón - humano), PC-3 (próstata - humano) e SF-295 (glioblastoma - humano) usando o método MTT.

Tabela 19 - Valores de IC₅₀ (μM) obtidos em ensaios de citotoxicidade *in vitro* contra linhagem HCT-116, PC-3 e SF-295.

Complexo	HCT-116(μmolL^{-1})	PC-3(μmolL^{-1})	SF-295(μmolL^{-1})
Ru-DPPZ-CO	0,094	0,156	0,159
Ru-NN-DIMET	1,46	2,91	≥ 5
Ru-NN-MET	1,64	1,25	≥ 5
Ru-NN	≥ 5	≥ 5	≥ 5
Ru-NN-F	2,81	3,3	≥ 5
Ru-NN-Br	1,65	3,05	≥ 5
Ru-NN-COOH	≥ 5	≥ 5	≥ 5
Ru-NN-CO	0,498	1,095	1,816
Doxorrubicina	0,11	0,44	0,25

Fonte: Elaborada pelo autor.

Como pode ser observado na Tabela 19, os complexos contendo derivados de quinonas Ru-NN e Ru-NN-COOH, apresentaram baixa citotoxicidade para as

linhagens tumorais estudadas, contudo, os demais complexos contendo os substituintes, CH₃, Br e F apresentaram citotoxicidade moderada frente as linhagens tumorais testadas, exceto na linhagem de SF-295. Sugerindo que é possível modular a atividade destes complexos por meio dos substituintes do anel dos ligantes derivados de quinonas.

O complexo contendo o ligante dppz se destacou dos demais apresentando atividade frente todas as linhagens tumorais testadas, possuindo atividade bem maior que a doxorrubicina (fármaco de referência), indicando que mesmo sem apresentar indícios de interação com DNA este complexo demonstrou um excelente atividade contra diferentes tipos de neoplasias, sugerindo que o seu mecanismos de atividade deve ser estudada mais profundamente a fim de avaliar o possível surgimento de uma nova classe de medicamentos.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foram sintetizados e caracterizados sistemas de rutênio II contendo os ligantes quinonas e dppz. Em seguida, foi adicionado o ligante monóxido de carbono a alguns destes compostos, com finalidade de combinar as propriedades farmacológicas descritas para o CO nos complexos do tipo CORMs, com o potencial anticâncer destes ligantes e de potencializar a atividade antitumoral destes novos compostos, tentando minimizar os efeitos colaterais ao organismo.

Os complexos foram caracterizados utilizando-se técnicas eletroquímicas e espectroscópicas, sendo os resultados experimentais comparados com os obtidos a partir de estudos de DFT. As medidas eletroquímicas mostraram-se condizentes com as espectroscópicas, indicando um forte deslocamento do potencial redox de todos os compostos para regiões de maior potencial, de acordo com o caráter retirador dos substituintes R.

A espectroscopia na região do infravermelho indicou a presença dos ligantes existentes na esfera de coordenação do rutênio, sendo de fundamental importância na caracterização dos complexos contendo o ligante CO, tornando possível afirmar que este ligante realmente encontra-se ligado ao centro metálico.

A técnica de ressonância magnética de ³¹P{¹H} foi uma forte ferramenta utilizada na caracterização de complexos fosfínicos de rutênio, fornecendo

informações sobre a geometria dos complexos, indicando a presença de isômeros decorrentes da coordenação dos ligantes assimétricos do tipo NN-R. Os dados de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ mostraram-se de acordo com os resultados de UV-vis, havendo um deslocamento dos sinais de fósforos dependente do caráter dos substituintes R dos ligantes quinonóides.

Os espectros eletrônicos na região do ultravioleta e visível mostraram que os compostos sintetizados se apresentaram condizentes com os espectros teóricos, mostrando que as bases utilizadas nos cálculos foram capazes de descrever de maneira satisfatória a estrutura eletrônica dos compostos. Os estudos de DFT também sugerem que as bandas de transferência de carga para os complexos contendo ligantes derivados de quinonas, apresentam uma forte influência do substituinte do anel quinonóide. Sendo observado que substituintes de natureza retiradora de elétrons estabilizam os orbitais dos complexos, principalmente os orbitais HOMO e LUMO, enquanto substituintes de natureza doadora de densidade eletrônica tendem a aumentar a energia destes orbitais. A tendência do deslocamento destas bandas prevista pelos estudos de DFT, encontraram-se condizentes com os resultados experimentais, sugerindo que é possível utilizar o estudo de DFT para o planejamento de novos compostos otimizados, que visem a modulação da energia necessária para a ocorrência de reações fotoquímicas, de forma a facilitar a aplicação destes complexos em terapia fotodinâmica.

Os ensaios de fotoliberação do complexo Ru-DPPZ-CO demonstraram que o composto mesmo não possuindo transições eletrônicas significativas na faixa de irradiação (470nm), apresentou resultados que sugerem a substituição do ligante CO por uma molécula de solvente. Os resultados dos ensaios com bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* para os compostos analisados, apresentaram atividade apenas para a cepa *Staphylococcus aureus*, o que pode estar relacionado a parede celular deste microrganismo, o que acarretaria a uma certa seletividade para estes compostos.

Os resultados com a bactéria *Staphylococcus aureus* apresentaram-se bastante satisfatórios para ambas as classes de compostos. Porém, foi observada uma atividade maior para o complexo Ru-DPPZ-CO, sugerindo que para estes

sistemas o ligante dppz é mais eficiente que os ligantes derivados quinonas, no combate a este tipo de micro-organismo.

Nos ensaios realizados com as linhagens de células cancerígenas, todos os complexos contendo ligantes derivados de quinonas, exceto Ru-NN e Ru-NN-COOH apresentaram toxicidade para as linhagens HCT-116 e PC-3, estes resultados indicam que os substituintes do ligante quinona podem proporcionar uma maior seletividade para os alvos biológicos quando em associação com CO. O complexo Ru-DPPZ-CO apresentou forte citotoxicidade frente a todas as linhagens de células cancerígenas aqui estudadas sugerindo que esta classe de composto deve ser mais amplamente explorada e seus mecanismos de atuação devem ser avaliados para melhor entendermos o potencial farmacológico destes sistemas.

Em conjunto, os resultados de caracterização e os estudos teóricos evidenciam a obtenção dos complexos almejados, e os ensaios de atividade sugerem que estes sistemas apresentaram se bastante promissores e que merecem destaque no desenvolvimento de metalofármacos.

REFERÊNCIAS

- 1 FERLAY, J.; SOERJOMATARAM, I.; DIKSHIT, R.; ESER, S.; MATHERS, C.; REBELO, M.; PARKIN, D. M.; FORMAN, D.; BRAY, F., Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *International Journal of Cancer*, 2015, 136 (5), E359-E386. <https://doi.org/10.1002/ijc.29210>.
- 2 FERLAY J, SOERJOMATARAM I, ERVIK M, DIKSHIT R, ESER S, MATHERS C, REBELO M, PARKIN DM, FORMAN D, BRAY, F (2013). GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: **International Agency for Research on Cancer**. visualizada em <http://globocan.iarc.fr/Default.aspx>
- 3 BRAY F. **Transitions in human development and the global cancer burden.** In: **Wild CP, Stewart B**, eds. World cancer report 2014. Lyon: International Agency for Research on Cancer.
- 4 SUTO, Y.; NAKAJIMA-SHIMADA, J.; YAMAGIWA, N.; ONIZUKA, Y. *et al.* Synthesis and biological evaluation of quinones derived from natural product komaroviquinone as anti-Trypanosoma cruzi agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 25, n. 15, p. 2967-2971, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.05.022>.
- 5 H HARISA, G. I.; ALANAZI, F. K. Low density lipoprotein bionanoparticles: From cholesterol transport to delivery of anti-cancer drugs. **Saudi Pharmaceutical Journal**, 22, n. 6, p. 504-515, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2013.12.015>.
- 6 WADA, K.; OHKOSHI, E.; MORRIS-NATSCHKE, S. L.; BASTOW, K. F. *et al.* Cytotoxic esterified diterpenoid alkaloid derivatives with increased selectivity against a drug-resistant cancer cell line. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 22, n. 1, p. 249-252, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.11.026>.
- 7 PRIYA, R.; HEMAVATHI, D.; HASCITHA, J.; ABIRAMI, S. *et al.* Immunotherapy for cervical cancer - can it do another lung cancer? **Current Problems in Cancer**. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.currprobcancer.2017.12.004>.
- 8 MARKOWSKA, A.; SAJDAK, S.; MARKOWSKA, J.; HUCZYŃSKI, A. Angiogenesis and cancer stem cells: New perspectives on therapy of ovarian cancer. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 142, n. Supplement C, p. 87-94, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.06.030>.
- 9 MARCAZZAN, S.; VARONI, E. M.; BLANCO, E.; LODI, G. *et al.* Nanomedicine, an emerging therapeutic strategy for oral cancer therapy. **Oral Oncology**, 76, n. Supplement C, p. 1-7, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2017.11.014>.

- 10 SEPANTAFAR, M.; MAHERONNAGHSH, R.; MOHAMMADI, H.; RADMANESH, F. *et al.* Engineered Hydrogels in Cancer Therapy and Diagnosis. **Trends in Biotechnology**, 35, n. 11, p. 1074-1087, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.06.015>.
- 11 MENG, W. D.; CHU, R. X.; WANG, B. Z.; WANG, L. P. *et al.* Helicobacter pylori infection and expressions of apoptosis-related proteins p53, ASPP2 and iASPP in gastric cancer and precancerous lesions. **Pathologie Biologie**, 61, n. 5, p. 199-202, 2013. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.patbio.2013.02.002>.
- 12 PLYTA, Z. F.; LI, T.; PAPAGEORGIOU, V. P.; MELLIDIS, A. S. *et al.* Inhibition of topoisomerase I by naphthoquinone derivatives. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 8, n. 23, p. 3385-3390, 1998. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0960-894X\(98\)00600-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0960-894X(98)00600-3).
- 13 ANDOH, T.; ISHIDA, R. Catalytic inhibitors of DNA topoisomerase II. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression**, 1400, n. 1-3, p. 155-171, 1998. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-4781\(98\)00133-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-4781(98)00133-X).
- 14 WANG, J. C. DNA Topoisomerases. **Annual Review of Biochemistry**, 65, n. 1, p. 635-692, 1996. DOI: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.bi.65.070196.003223>.
- 15 REISNER, E.; ARION, V. B.; KEPPLER, B. K.; POMBEIRO, A. J. L. Electron-transfer activated metal-based anticancer drugs. **Inorganica Chimica Acta**, 361, n. 6, p. 1569-1583, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ica.2006.12.005>.
- 16 HÖCKEL, M.; VAUPEL, P. Tumor Hypoxia: Definitions and Current Clinical, Biologic, and Molecular Aspects. **Journal of the National Cancer Institute**, 93, n. 4, p. 266-276, 2001. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/jnci/93.4.266>.
- 17 BROWN, J. M. Tumor Hypoxia in Cancer Therapy. *In*: HELMUT, S. e BERNHARD, B. (Ed.). **Methods in Enzymology**: Academic Press, 2007. v. Volume 435, p. 295-321. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(07\)35015-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(07)35015-5).
- 18 OLIVEIRA, C. G. Síntese e Caracterização de Complexos de Metais da Primeira Série do Bloco d com Tiossemicarbazonas para Investigar seu Potencial contra a *Mycobacterium tuberculosis*, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – SP, 2013.
- 19 SOUTHAM, H. M.; BUTLER, J. A.; CHAPMAN, J. A.; POOLE, R. K. Chapter One - The Microbiology of Ruthenium Complexes. *In*: POOLE, R. K. (Ed.). **Advances in Microbial Physiology**: Academic Press, 2017. v. 71, p. 1-96. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2017.03.001>.

- 20 TFOUNI, E.; TRUZZI, D. R.; TAVARES, A.; GOMES, A. J. *et al.* Biological activity of ruthenium nitrosyl complexes. **Nitric Oxide**, 26, n. 1, p. 38-53, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.niox.2011.11.005>.
- 21 NOVOHRADSKY, V.; ZERZANKOVA, L.; STEPANKOVA, J.; VRANA, O. *et al.* New insights into the molecular and epigenetic effects of antitumor Pt(IV)-valproic acid conjugates in human ovarian cancer cells. **Biochemical Pharmacology**, 95, n. 3, p. 133-144, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2015.04.003>.
- 22 GRIFFITH, D.; BERGAMO, A.; PIN, S.; VADORI, M. *et al.* Novel platinum pyridinehydroxamic acid complexes: Synthesis, characterisation, X-ray crystallographic study and nitric oxide related properties. **Polyhedron**, 26, n. 16, p. 4697-4706, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.poly.2007.03.011>.
- 23 ANG, W. H.; DYSON, P. J. Classical and Non-Classical Ruthenium-Based Anticancer Drugs: Towards Targeted Chemotherapy (Eur. J. Inorg. Chem. 20/2006). **European Journal of Inorganic Chemistry**, 2006, n. 20, p. 3993-3993, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/ejic.200690041>.
- 24 PERES, L. A. B.; JÚNIOR, A. D. d. C. Nefrotoxicidade aguda da cisplatina: Mecanismos moleculares. **J Bras Nefrol**, 35, p. 332-340, 2013. DOI: <https://doi.org/10.5935/0101-2800.20130052>.
- 25 JAKUPEC, M. A.; GALANSKI, M.; ARION, V. B.; HARTINGER, C. G. *et al.* Antitumour metal compounds: more than theme and variations. **Dalton Transactions**, n. 2, p. 183-194, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/B712656P>.
- 26 ALAMA, A.; TASSO, B.; NOVELLI, F.; SPARATORE, F. Organometallic compounds in oncology: implications of novel organotin as antitumor agents. **Drug Discovery Today**, 14, n. 9-10, p. 500-508, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2009.02.002>.
- 27 SIJA, É.; HARTINGER, C. G.; KEPPLER, B. K.; KISS, T. *et al.* Solution equilibrium studies of anticancer ruthenium(II)- η^6 -p-cymene complexes of pyridinecarboxylic acids. **Polyhedron**, 67, n. 0, p. 51-58, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.poly.2013.08.057>.
- 28 VALLE, E. M. A.; NASCIMENTO, F. B. d.; FERREIRA, A. G.; BATISTA, A. A. *et al.* Sobre uma degenerescência acidental nos deslocamentos químicos de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ em complexos difosfínicos de rutênio. **Química Nova**, 31, p. 807-812, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000400019>.
- 29 ZHANG, P.; HUANG, W.; WANG, Y.; LI, H. *et al.* Isomeric ruthenium(II) complexes for cancer therapy and cellular imaging. **Inorganica Chimica Acta**, 469, n. Supplement C, p. 593-599, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ica.2017.09.056>.

- 30 SWAVEY, S.; MORFORD, K.; TSAO, M.; COMFORT, K. *et al.* Heteroleptic monometallic and trimetallic ruthenium(II) complexes incorporating a π -extended dipyrin ligand: Light-activated reactions with the A549 lung cancer cell line. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 175, n. Supplement C, p. 101-109, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2017.07.012>.
- 31 FISCHER, B.; HEFFETER, P.; KRYEZIU, K.; GILLE, L. *et al.* Poly(lactic acid) nanoparticles of the lead anticancer ruthenium compound KP1019 and its surfactant-mediated activation. **Dalton Transactions**, 43, n. 3, p. 1096-1104, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/C3DT52388H>.
- 32 ALLARDYCE, C. S.; DYSON, P. J. Ruthenium in Medicine: Current Clinical Uses and Future Prospects. **Platinum Metals Review**, 45, p. 62+69, 2001.
- 33 CLARKE, M. J. Ruthenium metallopharmaceuticals. **Coordination Chemistry Reviews**, 232, n. 1-2, p. 69-93, 2002. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0010-8545\(02\)00025-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0010-8545(02)00025-5).
- 34 DA SILVA MIRANDA, F.; SIGNORI, A. M.; VICENTE, J.; DE SOUZA, B. *et al.* Synthesis of substituted dipyrido[3,2-a:2',3'-c]phenazines and a new heterocyclic dipyrido[3,2-f:2',3'-h]quinoxalino[2,3-b]quinoxaline. **Tetrahedron**, 64, n. 22, p. 5410-5415, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2008.02.097>.
- 35 JÚNIOR, J. W. D. C. Complexos Fosfínicos de Rutênio Contendo os Ligantes Nitro, Nitrosilo ou Piridinas, Com Atividades Antitumorais e Antituberculose, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – SP, 2010.
- 36 DOMINELLI, B.; CORREIA, J. D. G.; KÜHN, F. E. Medicinal Applications of Gold(I/III)-Based Complexes Bearing N-Heterocyclic Carbene and Phosphine Ligands. **Journal of Organometallic Chemistry**, 866, p. 153-164, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2018.04.023>.
- 37 SANNELLA, A. R.; CASINI, A.; GABBIANI, C.; MESSORI, L. *et al.* New uses for old drugs. Auranofin, a clinically established antiarthritic metaldrug, exhibits potent antimalarial effects in vitro: Mechanistic and pharmacological implications. **FEBS Letters**, 582, n. 6, p. 844-847, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.febslet.2008.02.028>.
- 38 DEBNATH, A.; PARSONAGE, D.; ANDRADE, R. M.; HE, C. *et al.* A high-throughput drug screen for *Entamoeba histolytica* identifies a new lead and target. **Nat Med**, 18, n. 6, p. 956-960, 2012. DOI: <http://www.nature.com/nm/journal/v18/n6/abs/nm.2758.html#supplementary-information>.
- 39 SUBRAMANIAN, S.; FERREIRA, M. M. C.; TRSIC, M. A Structure-Activity Relationship Study of Lapachol and Some Derivatives of 1,4-Naphthoquinones Against Carcinosarcoma Walker 256. **Structural Chemistry**, 9, n. 1, p. 47-57, 1998. DOI: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1022487632133>.

- 40 MEAZZA, G.; DAYAN, F. E.; WEDGE, D. E. Activity of Quinones on Colletotrichum Species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, n. 13, p. 3824-3828, 2003. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jf0343229>.
- 41 BRADLEY, C. A.; PEDERSEN, D. K. Baseline Sensitivity of Cercospora zeae-maydis to Quinone Outside Inhibitor Fungicides. **Plant Dis**, 95, n. 2, p. 189-194, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/pdis-05-10-0356>.
- 42 FERREIRA, V. F.; JORQUEIRA, A.; SOUZA, A. M.; DA SILVA, M. N. *et al.* Trypanocidal agents with low cytotoxicity to mammalian cell line: a comparison of the theoretical and biological features of lapachone derivatives. **Bioorg Med Chem**, 14, n. 16, p. 5459-66, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2006.04.046>.
- 43 TAPIA, R. A.; SALAS, C. O.; VÁZQUEZ, K.; ESPINOSA-BUSTOS, C. *et al.* Synthesis and biological characterization of new aryloxyindole-4,9-diones as potent trypanosomicidal agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 24, n. 16, p. 3919-3922, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2014.06.044>.
- 44 VAZQUEZ, K.; ESPINOSA-BUSTOS, C.; SOTO-DELGADO, J.; TAPIA, R. A. *et al.* New aryloxy-quinone derivatives as potential anti-Chagasic agents: synthesis, trypanosomicidal activity, electrochemical properties, pharmacophore elucidation and 3D-QSAR analysis. **RSC Advances**, 5, n. 80, p. 65153-65166, 2015. DOI: 10.1039/c5ra10122k.
- 45 DOS SANTOS, E. V. M.; CARNEIRO, J. W. d. M.; FERREIRA, V. F. Quantitative structure–activity relationship in aziridinyl-1,4-naphthoquinone antimalarials: study of theoretical correlations by the PM3 method. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 12, n. 1, p. 87-93, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2003.10.022>.
- 46 CARNEIRO, P. F.; PINTO, M. C. R. F.; MARRA, R. K. F.; DA SILVA, F. d. C. *et al.* Synthesis and antimalarial activity of quinones and structurally-related oxirane derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 108, n. Supplement C, p. 134-140, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.11.020>.
- 47 DOS SANTOS, A. F.; FERRAZ, P. A.; PINTO, A. V.; PINTO, M. d. C. *et al.* Molluscicidal activity of 2-hydroxy-3-alkyl-1,4-naphthoquinones and derivatives. **Int J Parasitol**, 30, n. 11, p. 1199-202, 2000. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s0020-7519\(00\)00114-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0020-7519(00)00114-4).
- 48 CAMARA, C. A.; SILVA, T. M. S.; DA-SILVA, T. G.; MARTINS, R. M. *et al.* Molluscicidal activity of 2-hydroxy-[1,4]naphthoquinone and derivatives. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 80, n. 2, p. 329-334, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0001-37652008000200011>.
- 49 KAYSER, O.; KIDERLEN, A. F.; LAATSCH, H.; CROFT, S. L. In vitro leishmanicidal activity of monomeric and dimeric naphthoquinones. **Acta Trop**,

- 77, n. 3, p. 307-14, 2000. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s0001-706x\(00\)00161-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0001-706x(00)00161-3).
- 50 COTA, B. B.; SIQUEIRA, E. P.; OLIVEIRA, D. M. d.; ALVES, T. M. A. *et al.* Chemical constituents and leishmanicidal activity from leaves of *Kielmeyera variabilis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 22, p. 1253-1258, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2012005000095>.
- 51 FERRAZ, P. c. A. L.; DE ABREU, F. C.; PINTO, A. V.; GLEZER, V. *et al.* Electrochemical aspects of the reduction of biologically active 2-hydroxy-3-alkyl-1,4-naphthoquinones. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 507, n. 1, p. 275-286, 2001. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-0728\(01\)00439-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-0728(01)00439-9).
- 52 SHANG, Y.; ZHANG, L.; JIANG, Y.; LI, Y. *et al.* Airborne quinones induce cytotoxicity and DNA damage in human lung epithelial A549 cells: The role of reactive oxygen species. **Chemosphere**, 100, n. 0, p. 42-49, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.12.079>.
- 53 UZELAC, L.; ŠKALAMERA, Đ.; MLINARIĆ-MAJERSKI, K.; BASARIĆ, N. *et al.* Selective photocytotoxicity of anthrols on cancer stem-like cells: The effect of quinone methides or reactive oxygen species. **European Journal of Medicinal Chemistry**, 137, n. Supplement C, p. 558-574, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.05.063>.
- 54 GONTIJO, T. B.; DE FREITAS, R. P.; EMERY, F. S.; PEDROSA, L. F. *et al.* On the synthesis of quinone-based BODIPY hybrids: New insights on antitumor activity and mechanism of action in cancer cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 27, n. 18, p. 4446-4456, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.08.007>.
- 55 GORDALIZA, M.; MIGUEL DEL CORRAL, J.; ANGELES CASTRO, M.; MAR MAHIQUES, M. *et al.* Synthesis and bioactivity of new antineoplastic terpenylquinones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 6, n. 15, p. 1859-1864, 1996. DOI: [https://doi.org/10.1016/0960-894X\(96\)00326-5](https://doi.org/10.1016/0960-894X(96)00326-5).
- 56 VOGLER, A. Photochemistry of transition metal p-benzoquinone complexes: Photoreduction of the quinone induced by CT excitation. **Inorganic Chemistry Communications**, 47, n. Supplement C, p. 42-44, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2014.07.006>.
- 57 SALUNKE-GAWALI, S.; RANE, S. Y.; PURANIK, V. G.; GUYARD-DUHAYON, C. *et al.* Three dimensional hydrogen-bonding network in a copper complex of 2-hydroxy-1,4-naphthoquinone: structural, spectroscopic and magnetic properties. **Polyhedron**, 23, n. 16, p. 2541-2547, 2004. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.poly.2004.08.022>.
- 58 RAJENDRAN, M. Quinones as photosensitizer for photodynamic therapy: ROS generation, mechanism and detection methods. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, 13, n. Supplement C, p. 175-187, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2015.07.177>.

- 59 WAGENKNECHT, H.-A.; STEMP, E. D. A.; BARTON, J. K. DNA-Bound Peptide Radicals Generated through DNA-Mediated Electron Transport†. **Biochemistry**, 39, n. 18, p. 5483-5491, 2000. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/bi992897m>.
- 60 CHEN, W.; TURRO, C.; FRIEDMAN, L. A.; BARTON, J. K. *et al.* Resonance Raman Investigation of Ru(phen)₂(dppz)₂⁺ and Related Complexes in Water and in the Presence of DNA. **The Journal of Physical Chemistry B**, 101, n. 35, p. 6995-7000, 1997. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jp970423w>.
- 61 KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSEL, E. T. M. **Cellular mechanisms of learning and the biological basis of individuality: Principles of Neural Science**. 4^a ed. ed. New York: McGraw Hill, 2000.
- 62 CARLSON, N. R. **Fisiologia do Comportamento**. 7^a ed. ed. Barueri-SP: Manoele, 2002.
- 63 OELGESCHLÄGER, E.; ROTHER, M. Carbon monoxide-dependent energy metabolism in anaerobic bacteria and archaea. **Arch Microbiol**, 190, n. 3, p. 257-69, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00203-008-0382-6>.
- 64 MELLER, S. T.; DYKSTRA, C. L.; GEBHART, G. F. Investigations of the possible role for carbon monoxide (CO) in thermal and mechanical hyperalgesia in the rat. **Neuroreport**, 5, n. 17, p. 2337-41, 1994. DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/00001756-199411000-00032>.
- 65 KOSTOGLU-ATHANASSIOU, I.; FORSLING, M. L.; NAVARRA, P.; GROSSMAN, A. B. Oxytocin release is inhibited by the generation of carbon monoxide from the rat hypothalamus – further evidence for carbon monoxide as a neuromodulator. **Molecular Brain Research**, 42, n. 2, p. 301-306, 1996. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0169-328X\(96\)00137-4](https://doi.org/10.1016/S0169-328X(96)00137-4).
- 66 DECALUWÉ, K.; PAUWELS, B.; VERPOEST, S.; BROUCKAERT, P. *et al.* Study on the involvement of soluble guanylyl cyclase and its different isoforms in carbon monoxide and carbon monoxide releasing molecule-2 induced vasodilatation. **Vascular Pharmacology**, 56, n. 5, p. 358-359, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vph.2011.08.145>.
- 67 SCHALLNER, N.; LIEBERUM, J. L.; GALLO, D.; LEBLANC, R. H., 3rd *et al.* Carbon Monoxide Preserves Circadian Rhythm to Reduce the Severity of Subarachnoid Hemorrhage in Mice. **Stroke**, 48, n. 9, p. 2565-2573, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1161/strokeaha.116.016165>.
- 68 CHLOPICKI, S.; LOMNICKA, M.; FEDOROWICZ, A.; GROCHAL, E. *et al.* Inhibition of platelet aggregation by carbon monoxide-releasing molecules (CO-RMs): comparison with NO donors. **Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol**, 385, n. 6, p. 641-50, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00210-012-0732-4>.

- 69 LV, C.; SU, Q.; FANG, J.; YIN, H. Styrene-maleic acid copolymer-encapsulated carbon monoxide releasing molecule-2 (SMA/CORM-2) suppresses proliferation, migration and invasion of colorectal cancer cells in vitro and in vivo. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 520, n. 2, p. 320-326, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.09.112>.
- 70 JOE, Y.; KIM, S.-K.; CHEN, Y.; YANG, J. W. *et al.* Tristetraprolin Mediates Anti-Inflammatory Effects of Carbon Monoxide on Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury. **The American Journal of Pathology**, 185, n. 11, p. 2867-2874, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.07.002>.
- 71 CHEN, C.-Y.; KAO, C.-Y.; LIN, P.-J.; SHIESH, S.-C. Carbon monoxide may enhance bile secretion by increasing glutathione excretion and Mrp2 expression in rats. **Journal of the Chinese Medical Association**, 76, n. 5, p. 258-264, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2013.02.001>.
- 72 SONG, R.; MAHIDHARA, R. S.; LIU, F.; NING, W. *et al.* Carbon monoxide inhibits human airway smooth muscle cell proliferation via mitogen-activated protein kinase pathway. **Am J Respir Cell Mol Biol**, 27, n. 5, p. 603-10, 2002. DOI: <http://dx.doi.org/10.1165/rcmb.4851>.
- 73 SATO, K.; BALLA, J.; OTTERBEIN, L.; SMITH, R. N. *et al.* Carbon monoxide generated by heme oxygenase-1 suppresses the rejection of mouse-to-rat cardiac transplants. **J Immunol**, 166, n. 6, p. 4185-94, 2001. DOI: <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.166.6.4185>.
- 74 PAMPLONA, A.; FERREIRA, A.; BALLA, J.; JENEY, V. *et al.* Heme oxygenase-1 and carbon monoxide suppress the pathogenesis of experimental cerebral malaria. **Nat Med**, 13, n. 6, p. 703-10, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nm1586>.
- 75 SONG, R.; KUBO, M.; MORSE, D.; ZHOU, Z. *et al.* Carbon Monoxide Induces Cytoprotection in Rat Orthotopic Lung Transplantation via Anti-Inflammatory and Anti-Apoptotic Effects. **The American Journal of Pathology**, 163, n. 1, p. 231-242, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63646-2](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63646-2).
- 76 CHLOPICKI, S.; OLSZANECKI, R.; MARCINKIEWICZ, E.; LOMNICKA, M. *et al.* Carbon monoxide released by CORM-3 inhibits human platelets by a mechanism independent of soluble guanylate cyclase. **Cardiovasc Res**, 71, n. 2, p. 393-401, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cardiores.2006.03.011>.
- 77 RYAN, M. J.; JERNIGAN, N. L.; DRUMMOND, H. A.; MCLEMORE, G. R. *et al.* Renal vascular responses to CORM-A1 in the mouse. **Pharmacological research**, 54, n. 1, p. 24-29, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2006.01.012>.
- 78 MANN, B. Carbon Monoxide: An Essential Signalling Molecule. *In*: JAOUEN, G. e METZLER-NOLTE, N. (Ed.). **Medicinal Organometallic Chemistry**: Springer

Berlin Heidelberg, 2010. v. 32, cap. 10, p. 247-285. (Topics in Organometallic Chemistry). DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-13185-1_10.

- 79 ROMANSKI, S.; RÜCKER, H.; STAMELLOU, E.; GUTTENTAG, M. *et al.* Iron Dienylphosphate Tricarbonyl Complexes as Water-Soluble Enzyme-Triggered CO-Releasing Molecules (ET-CORMs). **Organometallics**, 31, n. 16, p. 5800-5809, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/om300359a>.
- 80 GONZALEZ, M. A.; YIM, M. A.; CHENG, S.; MOYES, A. *et al.* Manganese Carbonyls Bearing Tripodal Polypyridine Ligands as Photoactive Carbon Monoxide-Releasing Molecules. **Inorganic Chemistry**, 51, n. 1, p. 601-608, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ic2021287>.
- 81 ZHANG, W.-Q.; ATKIN, A. J.; FAIRLAMB, I. J. S.; WHITWOOD, A. C. *et al.* Synthesis and Reactivity of Molybdenum Complexes Containing Functionalized Alkynyl Ligands: A Photochemically Activated CO-Releasing Molecule (PhotoCO-RM). **Organometallics**, 30, n. 17, p. 4643-4654, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/om200495h>.
- 82 BIKIEL, D. E.; GONZÁLEZ SOLVEYRA, E.; DI SALVO, F.; MILAGRE, H. M. S. *et al.* Tetrachlorocarbonyliridates: Water-Soluble Carbon Monoxide Releasing Molecules Rate-Modulated by the Sixth Ligand. **Inorganic Chemistry**, 50, n. 6, p. 2334-2345, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ic102038v>.
- 83 ATKIN, A. J.; WILLIAMS, S.; SAWLE, P.; MOTTERLINI, R. *et al.* μ_2 -Alkyne dicobalt(0)hexacarbonyl complexes as carbon monoxide-releasing molecules (CO-RMs): probing the release mechanism. **Dalton Transactions**, n. 19, p. 3653-3656, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/B904627P>.
- 84 ZOBI, F.; DEGONDA, A.; SCHAUB, M. C.; BOGDANOVA, A. Y. CO Releasing Properties and Cytoprotective Effect of *cis-trans*- [ReII(CO)2Br2L2]n Complexes. **Inorganic Chemistry**, 49, n. 16, p. 7313-7322, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ic100458j>.
- 85 DÖRDELMANN, G.; PFEIFFER, H.; BIRKNER, A.; SCHATZSCHNEIDER, U. Silicon Dioxide Nanoparticles As Carriers for Photoactivatable CO-Releasing Molecules (PhotoCORMs). **Inorganic Chemistry**, 50, n. 10, p. 4362-4367, 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ic1024197>.
- 86 LIU, J.; HOFFMANN, P.; STEINMETZER, J.; ASKES, S. H. C. *et al.* Visible light-activated biocompatible photo-CORM for CO-release with colorimetric and fluorometric dual turn-on response. **Polyhedron**, 172, p. 175-181, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.poly.2019.04.031>.
- 87 MORITA, T.; ROSELY, M.; ASSUMPÇÃO, V. **Manual de Soluções, Reagentes e Solventes: Padronização, Preparação, Purificação**. São Paulo-SP: LTDA, 1968.

- 88 STEPHENSON, T. A.; WILKINSON, G. New complexes of ruthenium (II) and (III) with triphenylphosphine, triphenylarsine, trichlorostannate, pyridine and other ligands. **Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry**, 28, n. 4, p. 945-956, 1966. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0022-1902\(66\)80191-4](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1902(66)80191-4).
- 89 BRESSAN, M.; RIGO, P. Five-coordinate complexes of ruthenium(II) with di(tertiary phosphines). **Inorganic Chemistry**, 14, n. 9, p. 2286-2288, 1975. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ic50151a060>.
- 90 DINELLI, L. R.; BATISTA, A. A.; WOHNATH, K.; DE ARAUJO, M. P. *et al.* Synthesis and Characterization of [RuCl₃(P-P)(H₂O)] Complexes; P-P = Achiral or Chiral, Chelating Ditertiary Phosphine Ligands. **Inorganic Chemistry**, 38, n. 23, p. 5341-5345, 1999. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ic990130c>.
- 91 YAMADA, M.; TANAKA, Y.; YOSHIMOTO, Y.; KURODA, S. *et al.* Synthesis and Properties of Diamino-Substituted Dipyrido [3,2-*a*:2',3'-*c*]phenazine. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, 65, n. 4, p. 1006-1011, 1992. DOI: <http://dx.doi.org/10.1246/bcsj.65.1006>.
- 92 Clinical Laboratory Standards Institute. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**. 18th informational supplement, CLSI M07-A8. Wayne. PA: 2009.
- 93 ROMEIRO, R. S. M. e. b. d. p. V. U. ROMEIRO, R.S. **Métodos em bacteriologia de plantas**. Viçosa UFV: 2001.
- 94 BARON, E.J.P., FINEGOLD, S.M. **Diagnostic Microbiology**. 9. Mosby, St., 1994.
- 95 FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B.; SCUSERIA, G. E. *et al.* **Gaussian 09**. Wallingford, CT, USA: Gaussian, Inc., 2009.
- 96 LEE, C.; YANG, W.; PARR, R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, 37, n. 2, p. 785-789, 1988. DOI: <http://dx.doi.org/10.1103/physrevb.37.785>.
- 97 YANG, Y.; WEAVER, M. N.; MERZ, K. M. Assessment of the "6-31+G** + LANL2DZ" Mixed Basis Set Coupled with Density Functional Theory Methods and the Effective Core Potential: Prediction of Heats of Formation and Ionization Potentials for First-Row-Transition-Metal Complexes. **The Journal of Physical Chemistry A**, 113, n. 36, p. 9843-9851, 2009. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jp807643p>.
- 98 TOMASI, J.; MENNUCCI, B.; CAMMI, R. Quantum mechanical continuum solvation models. **Chemical Reviews**, 105, n. 8, p. 2999-3093, 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/cr9904009>.

- 99 O'BOYLE, N. M.; TENDERHOLT, A. L.; LANGNER, K. M. cclib: A library for package-independent computational chemistry algorithms. **Journal of Computational Chemistry**, 29, n. 5, p. 839-845, 2008. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jcc.20823>.
- 100 LU, T.; CHEN, F. Multiwfn: A multifunctional wavefunction analyzer. **Journal of Computational Chemistry**, 33, n. 5, p. 580-592, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jcc.22885>.
- 101 GUPTA, R. R.; JAIN, M. **3 Phosphorus-31. Coupling constant: Datasheet from Landolt-Börnstein - Group III Condensed Matter - Volume 35A: "Chemical Shifts and Coupling Constants for Boron-11 and Phosphorus-31" in SpringerMaterials**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1997. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/10426834_77.
- 102 KÜHL, O. The Range of Chemical Shifts, Coupling Constants, and What Influences Each. *In*: KÜHL, O. (Ed.). **Phosphorus-31 NMR Spectroscopy: A Concise Introduction for the Synthetic Organic and Organometallic Chemist**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2008. p. 7-23. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-540-79118-8_2.
- 103 GORENSTEIN, D. G. Non-biological aspects of phosphorus-31 NMR spectroscopy. **Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy**, 16, n. Supplement C, p. 1-98, 1984. DOI: [https://doi.org/10.1016/0079-6565\(84\)80002-3](https://doi.org/10.1016/0079-6565(84)80002-3).
- 104 LETCHER, J. H.; WAZER, J. R. V. Theoretical Interpretation of ^{31}P NMR Chemical Shifts. I. **The Journal of Chemical Physics**, 44, n. 2, p. 815-829, 1966. DOI: <http://dx.doi.org/10.1063/1.1726763>.
- 105 KARAGHIOSOFF, K. Phosphorus-31 NMR. *In*: **eMagRes**: John Wiley & Sons, Ltd, 2007. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/9780470034590.emrstm0393>.
- 106 DOS SANTOS FRANCISCO, T.; DE OLIVEIRA CRUZ, D. C.; BATISTA, A. A.; FERREIRA, A. G. *et al.* Preparation, characterization and structure of ruthenium phosphine complexes containing non-innocent ligands. **Polyhedron**, 31, n. 1, p. 104-109, 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.poly.2011.09.015>.
- 107 SANTIAGO, M. O.; BATISTA, A. A.; DE ARAÚJO, M. P.; DONNICI, C. L. *et al.* $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -n.m.r. as a tool for identification of ruthenium isomers containing PPh_3 or 1,4-bis(diphenylphosphino)butane ligands. X-ray structures of the *cis*- $\{\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2 [4,4'-(\text{-X})_2\text{-}2,2'\text{-bipy}]\}$ complexes [$\text{X}=\text{-H}$, -Me , -SMe and $(\text{-Cl}$, $\text{-Me})$]. **Transition Metal Chemistry**, 30, n. 2, p. 170-175, 2005. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11243-004-2238-5>.
- 108 VON POELHSITZ, G.; DE ARAUJO, M. P.; DE OLIVEIRA, L. A. A.; QUEIROZ, S. L. *et al.* *fac*- $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\text{dppb})]$ (I) and *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{NO})(\text{diop})]$ (II) complexes: syntheses, characterization and X-ray structures. **Polyhedron**, 21, n. 22, p. 2221-2225, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(02\)01166-X](https://doi.org/10.1016/S0277-5387(02)01166-X).

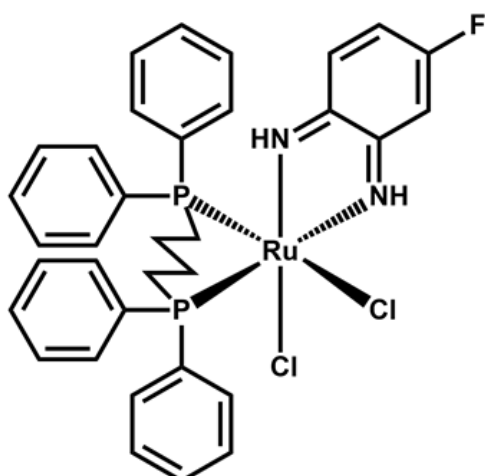
- 109 K. Nakamoto, **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds Part B: Theory and Applications in Inorganic Chemistry**, Hoboken-New Jersey, WILEY, 2009.
- 110 SOUZA, A.P.C. “**Complexos de Rutênio (II) de Interesse Biológico: Avaliação In Vitro e In Vivo Do Potencial Antitumoral e Genotóxico**”, Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos-SP, 2014.
- 111 TAVARES, L. C. QSAR: A ABORDAGEM DE HANSCH. **Quim. Nova**, 27, n. 4, p. 631-639, 2004. DOI: http://static.sites.sbq.org.br/quimicanova.sbq.org.br/pdf/Vol27No4_631_17-DV03107.pdf
- 112 HANSCH, C.; LEO, A.; TAFT, R. W. A survey of Hammett substituent constants and resonance and field parameters. **Chemical Reviews**, 91, n. 2, p. 165-195, 1991. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/cr00002a004>.
- 113 IUPAC. **Compendium of Chemical Terminology**, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). XML on-line corrected version: <http://goldbook.iupac.org> (2006-) created by M. Nic, J. Jirat, B. Kosata; updates compiled by A. Jenkins. <https://doi.org/10.1351/goldbook>. 1997.
- 114 HAMMETT, L. P. The Effect of Structure upon the Reactions of Organic Compounds. Benzene Derivatives. **Journal of the American Chemical Society**, 59, n. 1, p. 96-103, 1937. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ja01280a022>.
- 115 MACFARLANE, K. S.; JOSHI, A. M.; RETTIG, S. J.; JAMES, B. R. Characterization of Five-Coordinate Ruthenium(II) Phosphine Complexes by X-ray Diffraction and Solid-State ³¹P CP/MAS NMR Studies and Their Reactivity with Sulfoxides and Thioethers. **Inorganic Chemistry**, 35, n. 25, p. 7304-7310, 1996. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ic960860+>.
- 116 WARREN, L. F. Synthesis of [M'-N₄] and [M'-N₆] complexes based on o-benzoquinone diimine with cobalt, iron, and ruthenium. **Inorganic Chemistry**, 16, n. 11, p. 2814-2819, 1977. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ic50177a028>.
- 117 A. L. R. Silva, **Estudos de Complexos Metálicos de Rutênio com Ligantes O-Fenilênicos e o Ligante Bifosfínico: 1,4-bis(difenilfosfino)butano (dppb)**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza-CE, 2007.
- 118 BHATTACHARYA, S. Synthesis, characterization and reactivity of a ruthenium-quinone complex. **Polyhedron**, 13, n. 3, p. 451-456, 1994. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(00\)81659-9](https://doi.org/10.1016/S0277-5387(00)81659-9).
- 119 Damasceno, M, V, A. **Estudos de Efeito de Solventes no Espectro de Absorção Eletrônica da Merocianina de Brooker e Derivados**. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo-SP 2014.

- 120 FRAZÃO BARBOSA, M. I.; VALLE, E. M. A.; QUEIROZ, S. L.; ELLENA, J. *et al.* On the synthesis and structures of the complexes [RuCl(L)(dppb)(N–N)]PF₆ (L = CO, py or 4-NH₂py; dppb = 1,4-bis(diphenylphosphino)butane; N–N = 2,2'-bipyridine or 1,10-phenanthroline) and [(dppb)(CO)Cl₂-Ru-pz-RuCl₂(CO)(dppb)] (pz = pyrazine). **Polyhedron**, 29, n. 11, p. 2297-2303, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.poly.2010.04.028>.
- 121 MASUI, H.; LEVER, A. B. P.; DODSWORTH, E. S. Substituent effects and bonding characteristics in (o-benzoquinone diimine)bis(bipyridine)ruthenium(II) complexes. **Inorganic Chemistry**, 32, n. 3, p. 258-267, 1993. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ic00055a005>.
- 122 LEVER, A. B. P.; MASUI, H.; METCALFE, R. A.; STUFKENS, D. J. *et al.* The ground and excited state electronic structures of ruthenium quinones and related species. **Coordination Chemistry Reviews**, 125, n. 1, p. 317-331, 1993. DOI: [https://doi.org/10.1016/0010-8545\(93\)85028-3](https://doi.org/10.1016/0010-8545(93)85028-3).
- 123 QUEIROZ, S. L.; BATISTA, A. A.; OLIVA, G.; DO PI. GAMBARDELLA, M. T. *et al.* The reactivity of five-coordinate Ru(II) (1,4-bis(diphenylphosphino)butane) complexes with the N-donor ligands: ammonia, pyridine, 4-substituted pyridines, 2,2'-bipyridine, bis(o-pyridyl)amine, 1,10-phenanthroline, 4,7-diphenylphenanthroline and ethylenediamine. **Inorganica Chimica Acta**, 267, n. 2, p. 209-221, 1998. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0020-1693\(97\)05615-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0020-1693(97)05615-6).
- 124 BARBOSA, M. I. F. **Complexos Carbonílicos de Rutênio. "De um gás tóxico a uma droga com potencial agente citotóxico"**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos – SP, 2007.
- 125 REIS, J. P. B. **Complexos de Rutênio(II) Com Potenciais Atividades Antitumorais: Síntese, Caracterização e Ensaio Biológicos**. Tese de Doutorado, Universidade federal de São Carlos, São Carlos – SP, 2014.
- 126 FAYAD-KOBEISSI, S.; RATOVOANTENAINA, J.; DABIRÉ, H.; WILSON, J. L. *et al.* Vascular and angiogenic activities of CORM-401, an oxidant-sensitive CO-releasing molecule. **Biochemical Pharmacology**, 102, n. Supplement C, p. 64-77, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.12.014>.
- 127 MA, H.; LI, X.; LIU, X.; DENG, M. *et al.* Fluorescent glutathione probe based on MnO₂-Si quantum dots nanocomposite directly used for intracellular glutathione imaging. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 255, n. Part 2, p. 1687-1693, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.08.170>.
- 128 SILVA SOUSA, E. H.; RIDNOUR, L. A.; GOUVEIA, F. S.; SILVA DA SILVA, C. D. *et al.* Thiol-Activated HNO Release from a Ruthenium Antiangiogenesis Complex and HIF-1 α Inhibition for Cancer Therapy. **ACS Chemical Biology**, 11, n. 7, p. 2057-2065, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/acschembio.6b00222>.
- 129 NGUYEN, M. V. C.; LARDY, B.; ROUSSET, F.; HAZANE-PUCH, F. *et al.* Quinone compounds regulate the level of ROS production by the NADPH

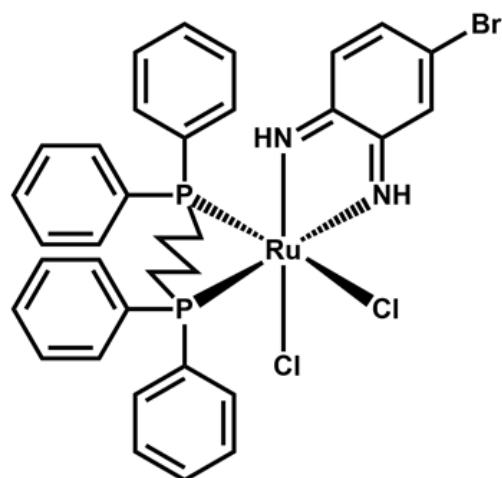
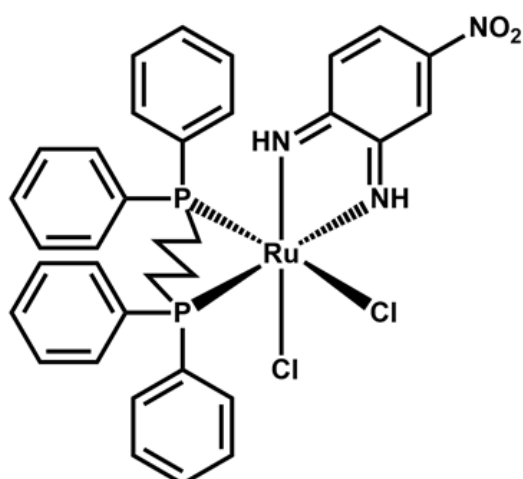
- oxidase Nox4. **Biochemical Pharmacology**, 85, n. 11, p. 1644-1654, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.03.023>.
- 130 SCHMECHEL, D. E. V.; CROTHERS, D. M. Kinetic and hydrodynamic studies of the complex of proflavine with poly A-poly U. **Biopolymers**, 10, n. 3, p. 465-480, 1971. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/bip.360100304>.
- 131 LEPECQ, J. B.; PAOLETTI, C. A fluorescent complex between ethidium bromide and nucleic acids: Physical—Chemical characterization. **Journal of Molecular Biology**, 27, n. 1, p. 87-106, 1967. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(67\)90353-1](https://doi.org/10.1016/0022-2836(67)90353-1).
- 132 MIHAILOVIC, A.; VLADDESCU, I.; MCCAULEY, M.; LY, E. *et al.* Exploring the Interaction of Ruthenium(II) Polypyridyl Complexes with DNA Using Single-Molecule Techniques. **Langmuir**, 22, n. 10, p. 4699-4709, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/la053242r>.
- 133 CARNIZELLO, A. P.; BARBOSA, M. I. F.; MARTINS, M.; FERREIRA, N. H. *et al.* In vitro and in vivo antitumor activity of a novel carbonyl ruthenium compound, the ct-[RuCl(CO)(dppb)(bipy)]PF₆[dppb=1,4-bis(diphenylphosphine)butane and bipy=2,2'-bipyridine]. **Journal of Inorganic Biochemistry**, 164, n. Supplement C, p. 42-48, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2016.08.010>.
- 134 ABREU, F. D.; PAULO, T. d. F.; GEHLEN, M. H.; ANDO, R. A. *et al.* Aryl-Substituted Ruthenium(II) Complexes: A Strategy for Enhanced Photocleavage and Efficient DNA Binding. **Inorganic Chemistry**, 56, n. 15, p. 9084-9096, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.inorgchem.7b01108>.
- 135 LI, G.; SUN, L.; JI, L.; CHAO, H. Ruthenium(ii) complexes with dppz: from molecular photoswitch to biological applications. **Dalton Transactions**, 45, n. 34, p. 13261-13276, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/c6dt01624c>.
- 136 VALLE, E. M. A.; LIMA, B. A. V.; FERREIRA, A. G.; NASCIMENTO, F. B. d. *et al.* Driving forces in substitution reactions of octahedral complexes: the influence of the competitive effect. **Polyhedron**, 28, n. 16, p. 3473-3478, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.poly.2009.07.029>.

ANEXO A - ESTRUTURA DOS COMPOSTOS NN-R, NN-R₂, DPPZ-R E DPPZ-R₂

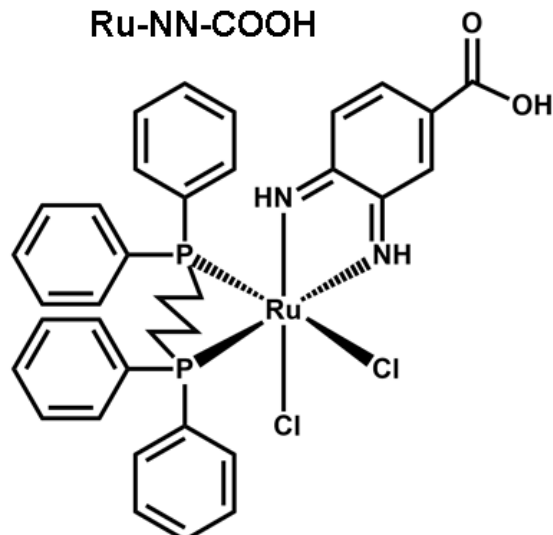
Ru-NN-F



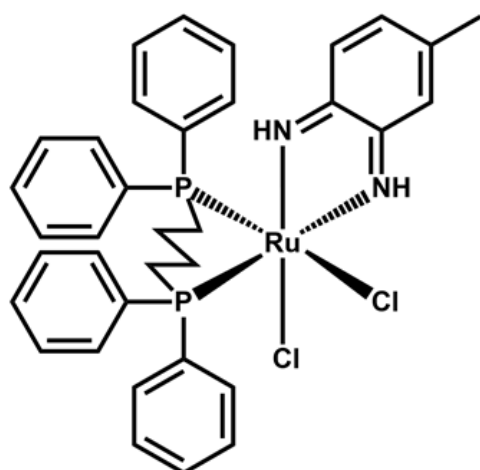
Ru-NN-Br

Ru-NN-NO₂

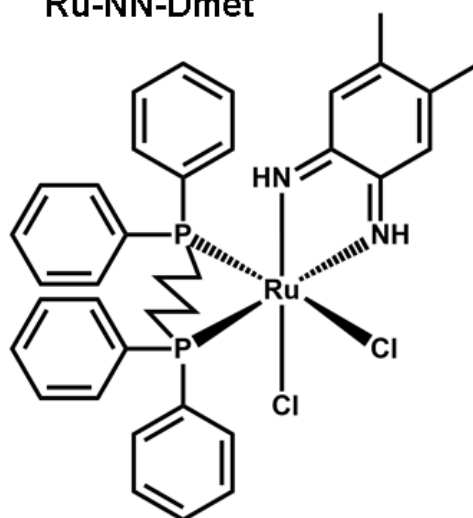
Ru-NN-COOH

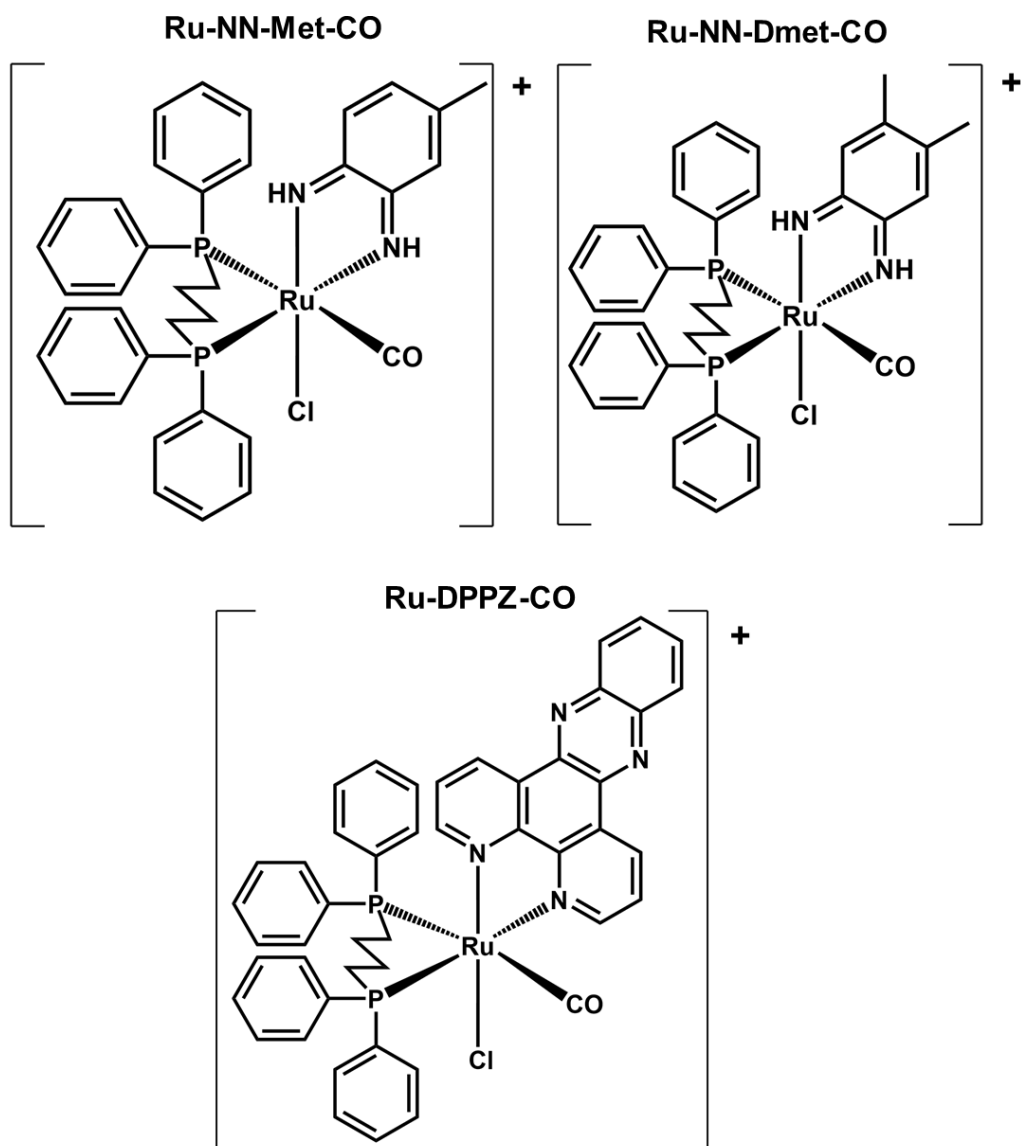


Ru-NN-Met



Ru-NN-Dmet

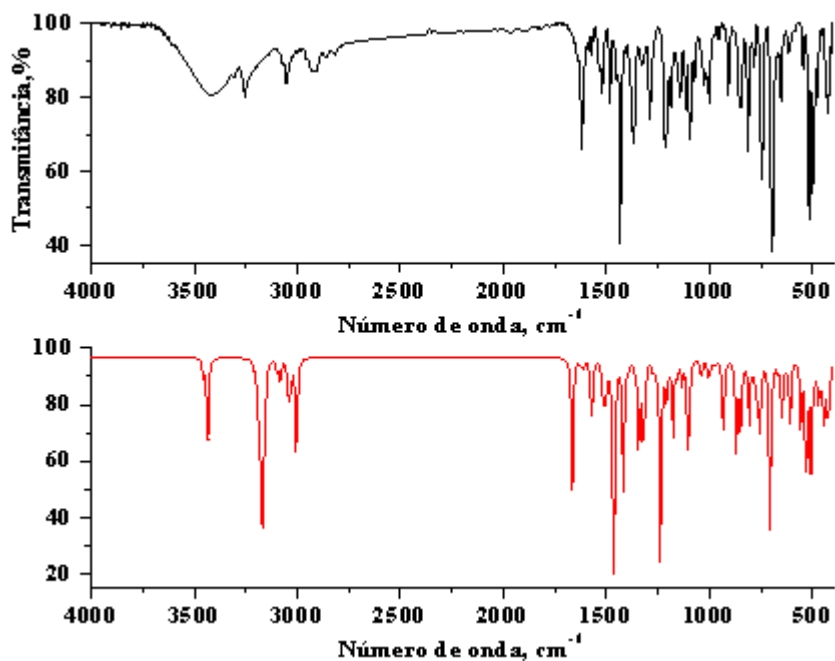




Fonte: Elaborada pelo autor.

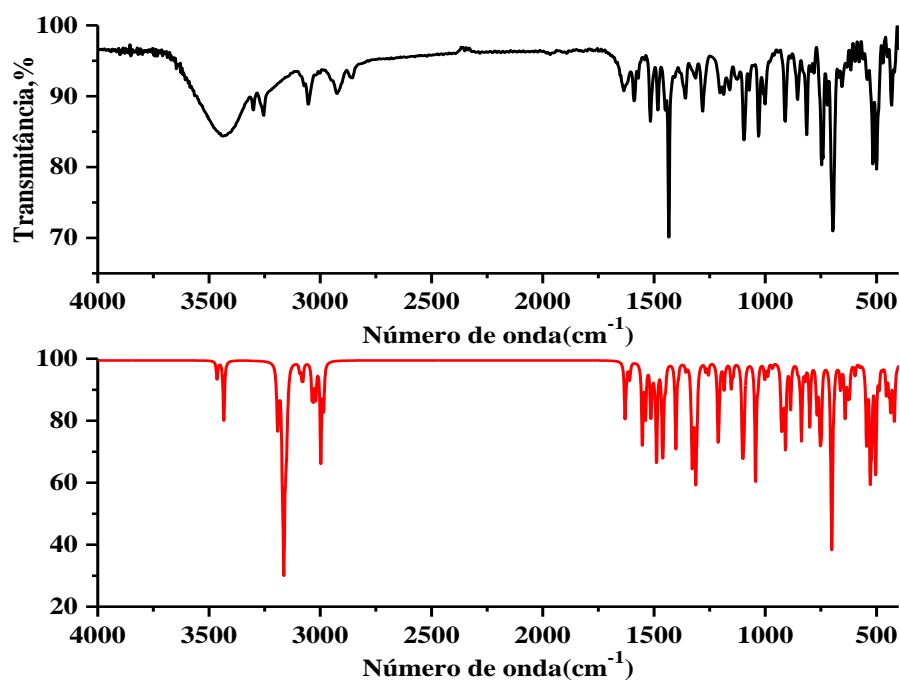
ANEXO B - ESPECTROS DE INFRAVERMELHO EXPERIMENTAIS E TEÓRICOS

ANEXO B.1 – Espectros vibracional na região do infravermelho para o complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-F)] teórico (vermelho) e experimental (preto).



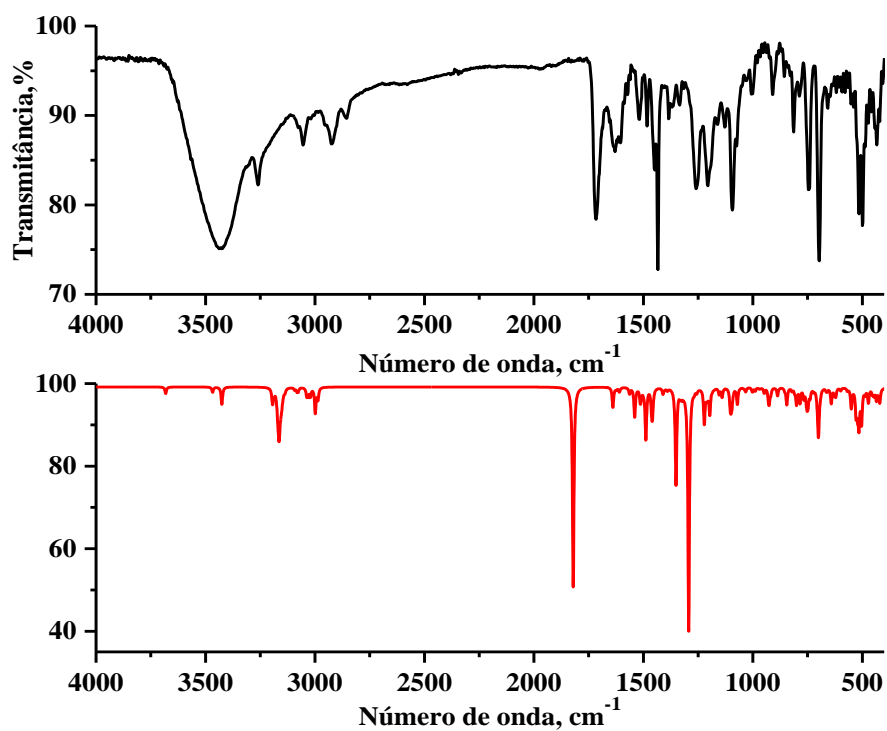
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO B.2 – Espectro vibracional na região do infravermelho para o complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-Br)] experimental (preto) e teórico (vermelho).



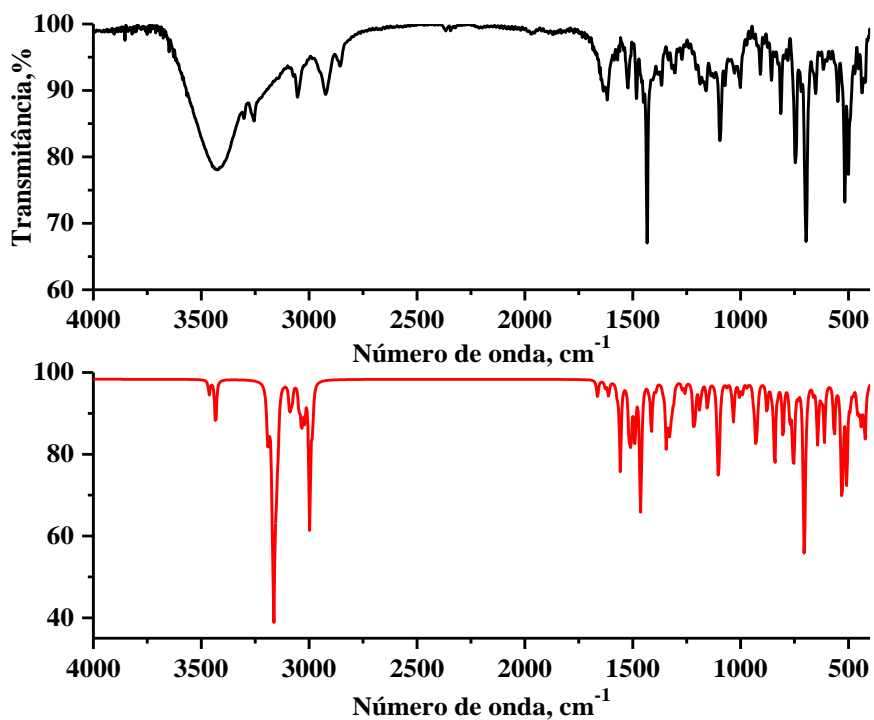
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO B.3 – Espectro de Infravermelho experimental (preto) e teórico (vermelho) para o complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-COOH)].



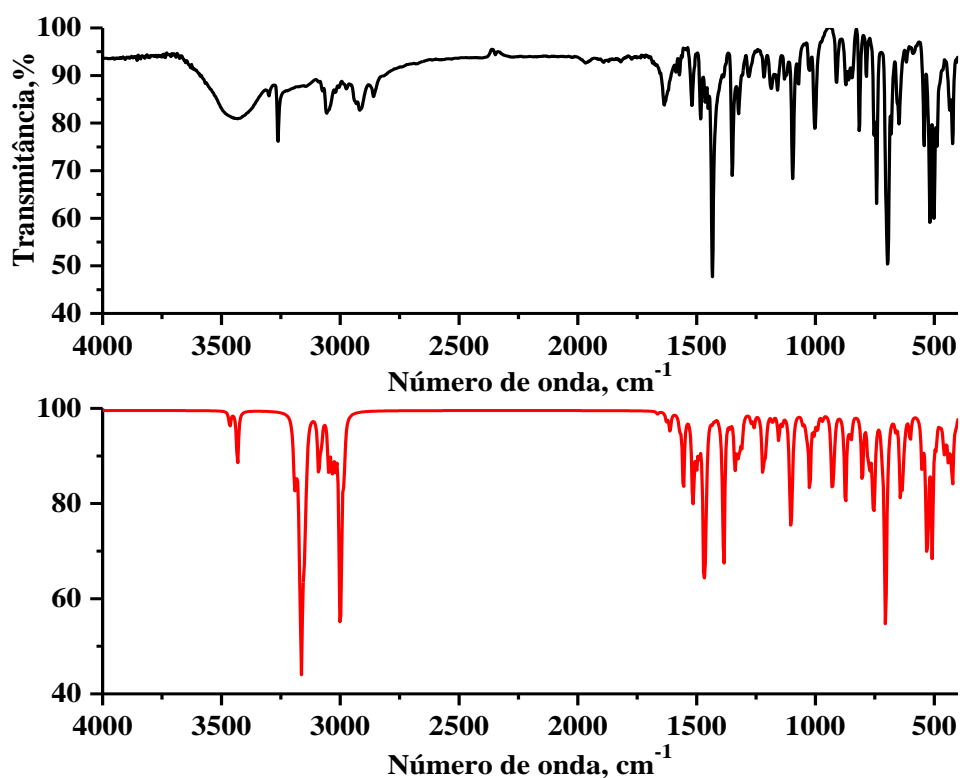
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO B.4 – Espectro vibracional na região do Infravermelho para o complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-Met)] experimental (preto) e teórico (vermelho).



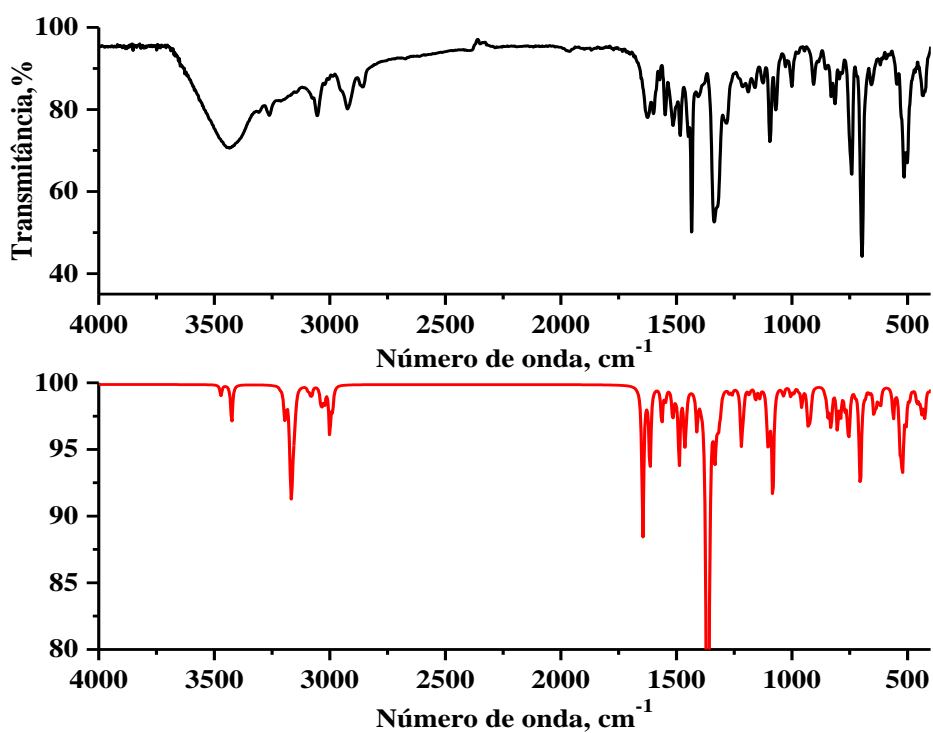
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO B.5 – Espectro de vibracional na região do Infra Vermelho experimental (preto) e teórico (vermelho) para o complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-Dmet)].



Fonte: Elaborada pelo autor.

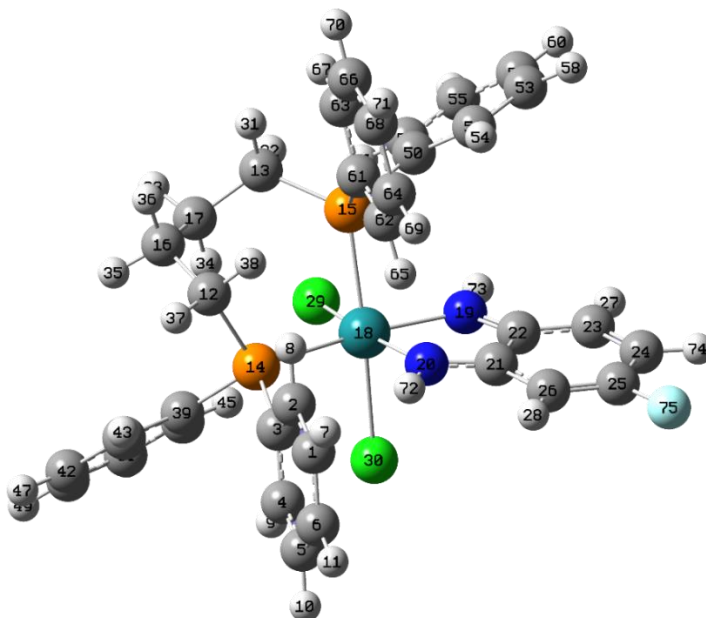
ANEXO B.6 – Espectro vibracional na região do Infravermelho experimental (preto) e teórico (vermelho) para o complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-NO₂)].



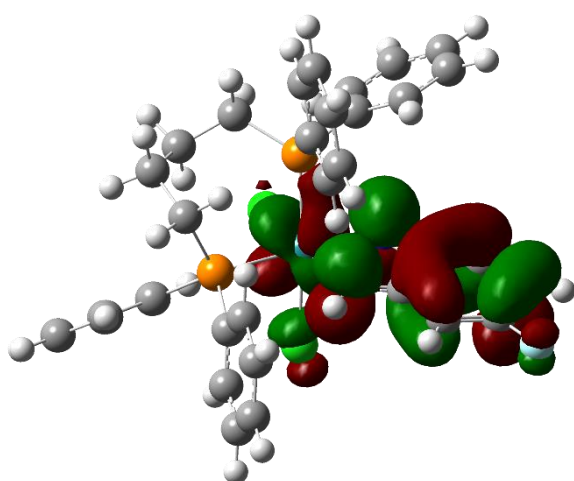
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO C – ESTRUTURA TRIDIMENSIONAL E DISTRIBUIÇÃO DA NUVEM ELETRÔNICA, CALCULADOS POR DFT, PARA OS PRINCIPAIS ORBITAIS DOS COMPLEXOS SINTETIZADOS.

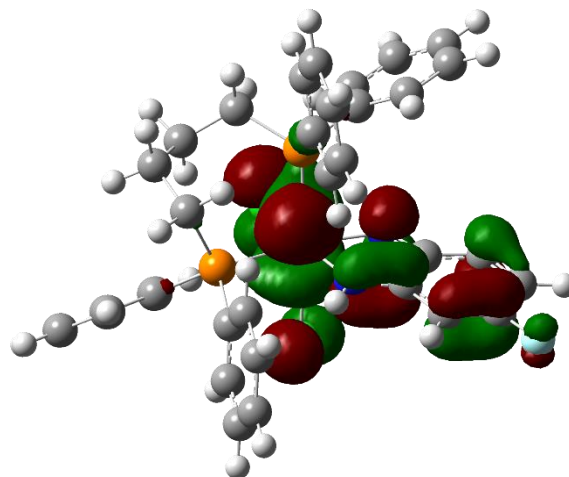
ANEXO C.1 – Complexo NN-F



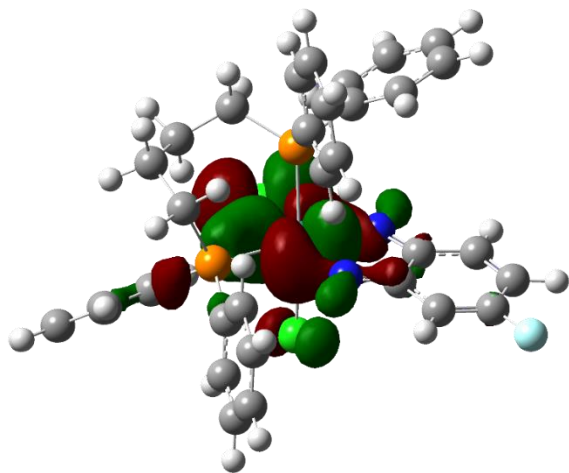
LUMO



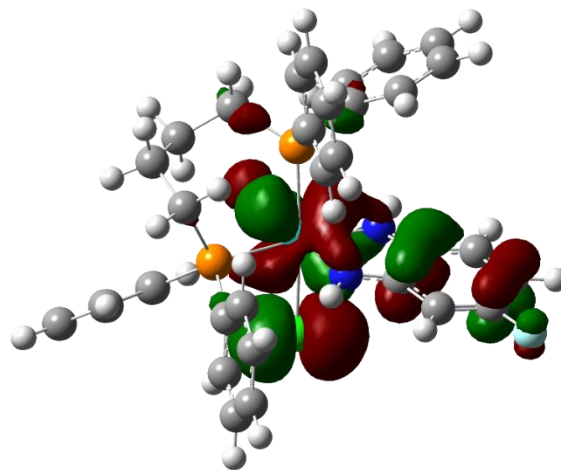
HOMO



H-1 (HOMO-1)

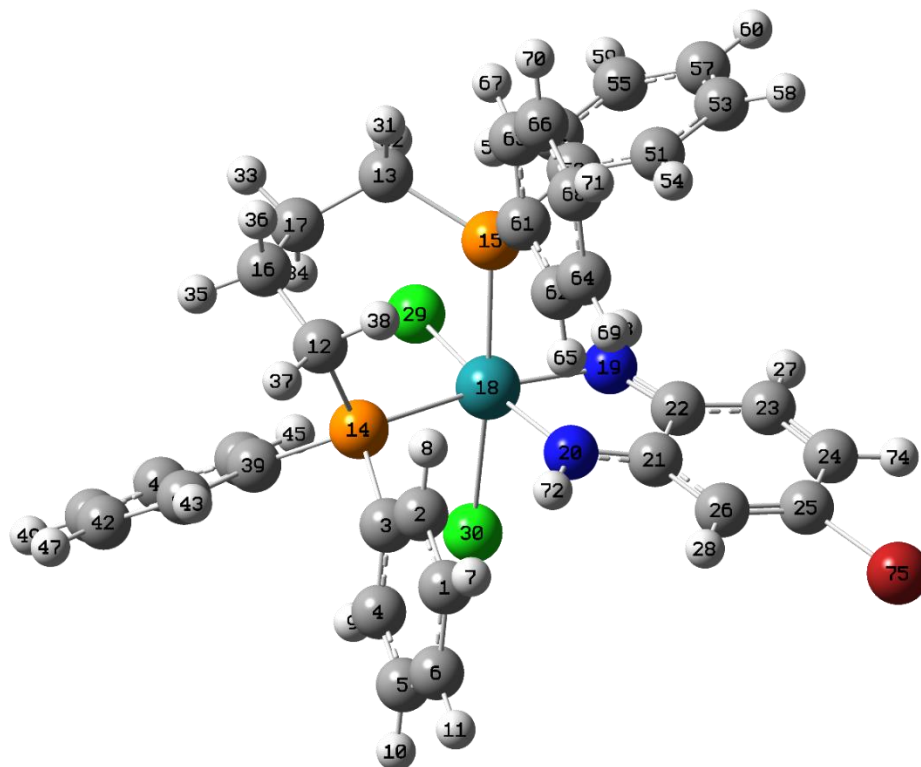


H-2 (HOMO-2)



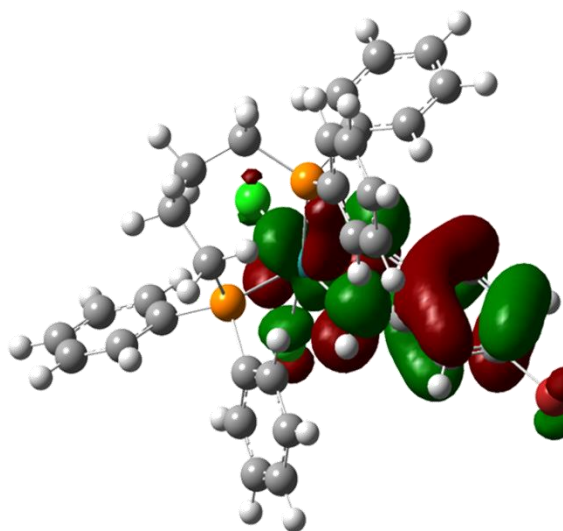
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO C.2 – Complexo NN-Br

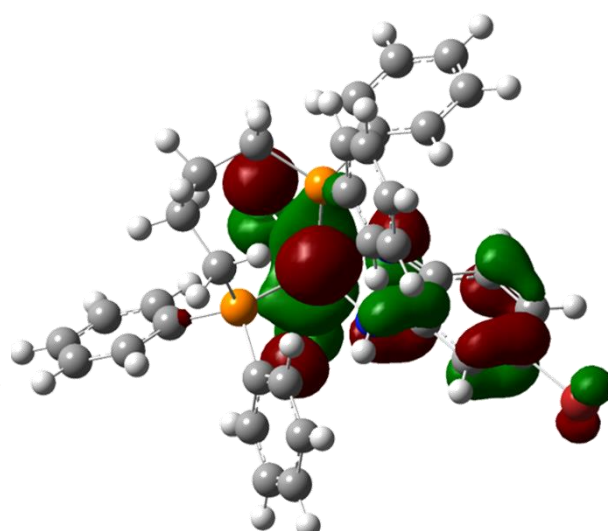


LUMO

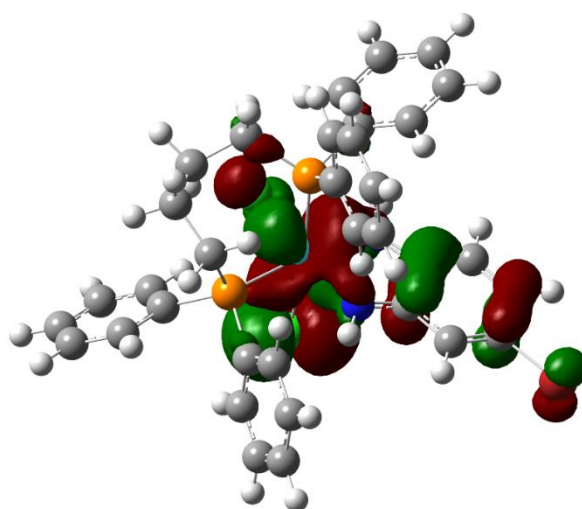
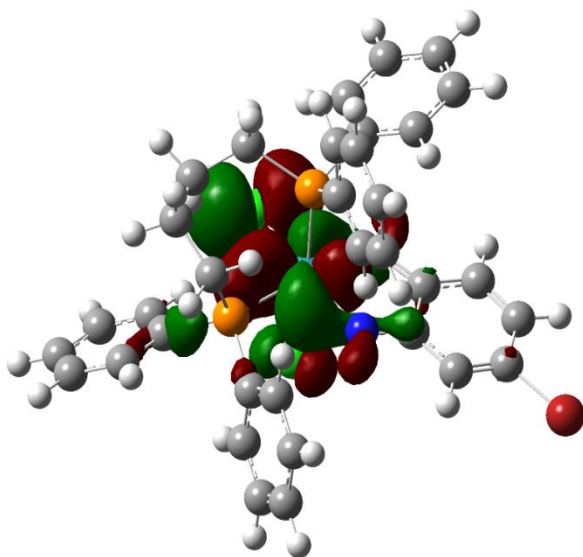
HOMO



HOMO-1

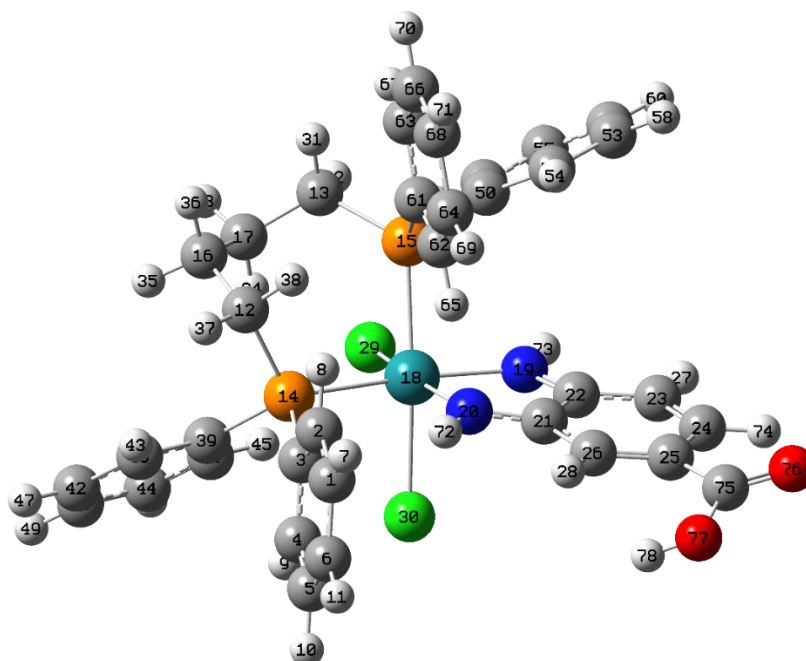


HOMO-2

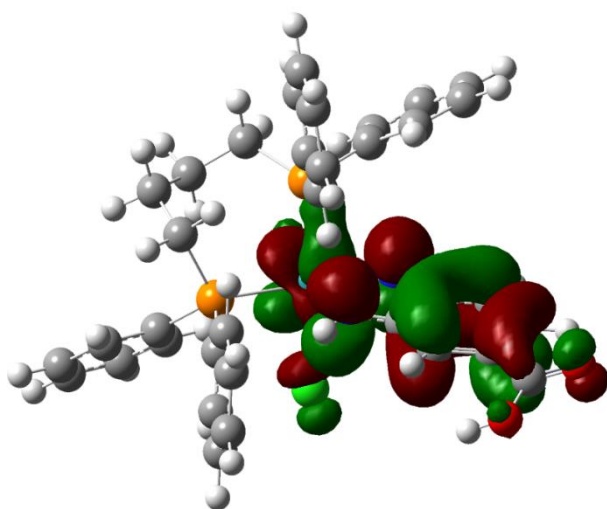


Fonte: Elaborada pelo autor.

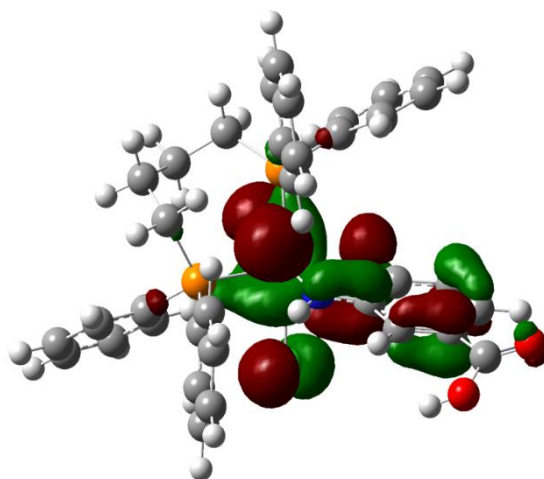
ANEXO C.3 – Complexo NN-COOH



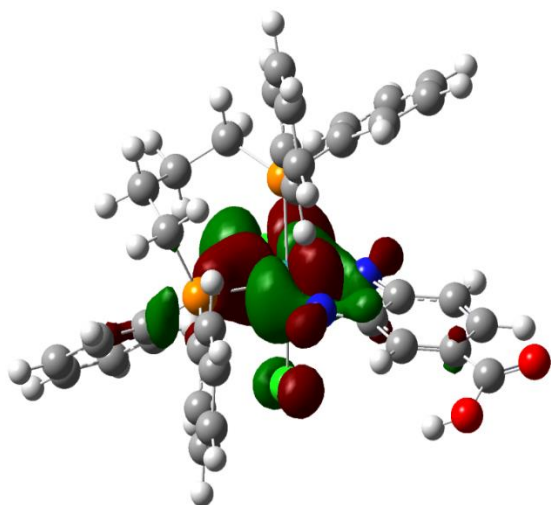
LUMO



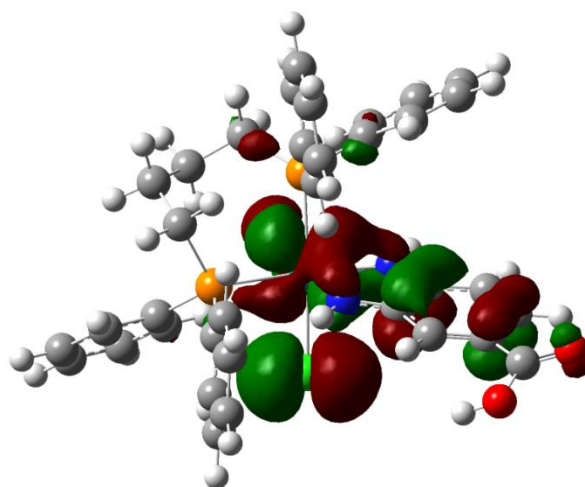
HOMO



HOMO-1

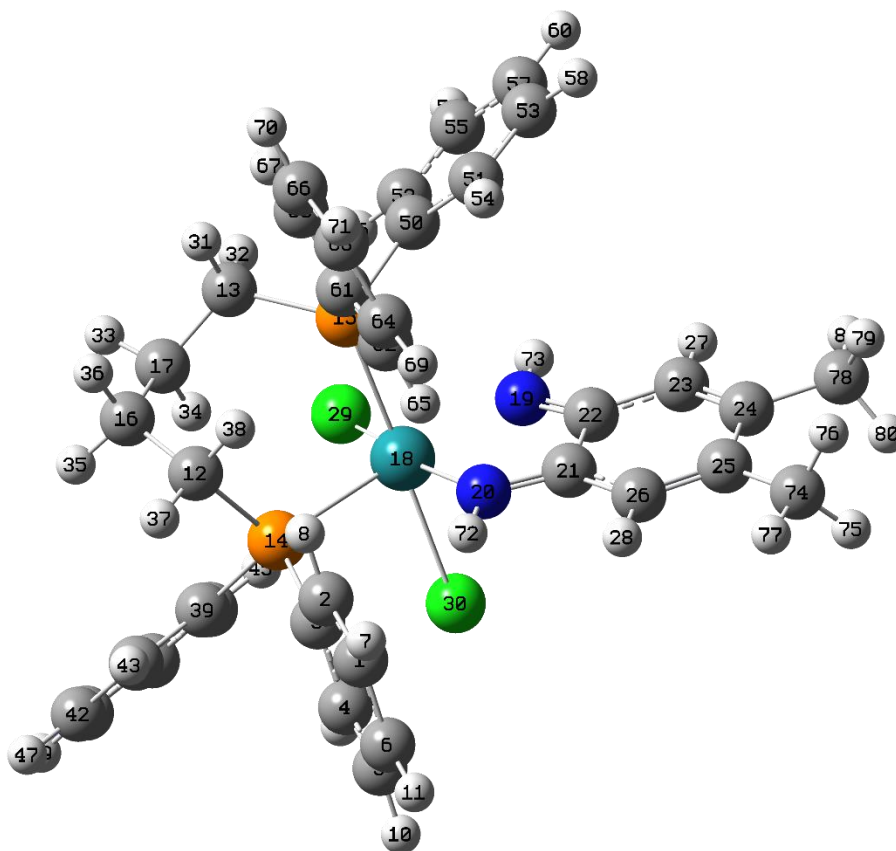


HOMO-2

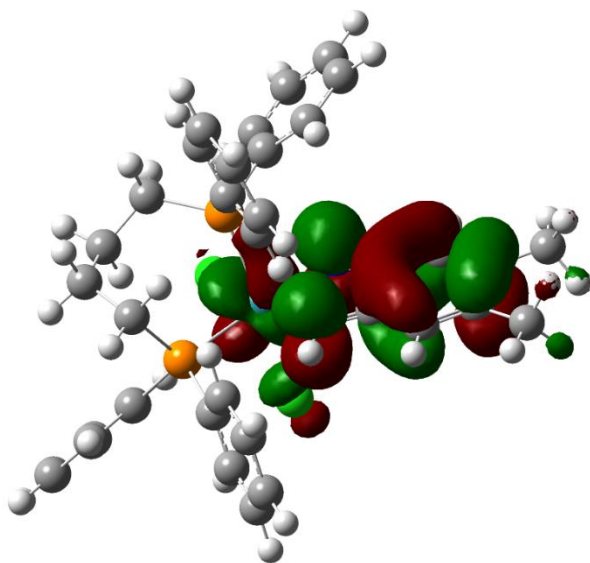


Fonte: Elaborada pelo autor.

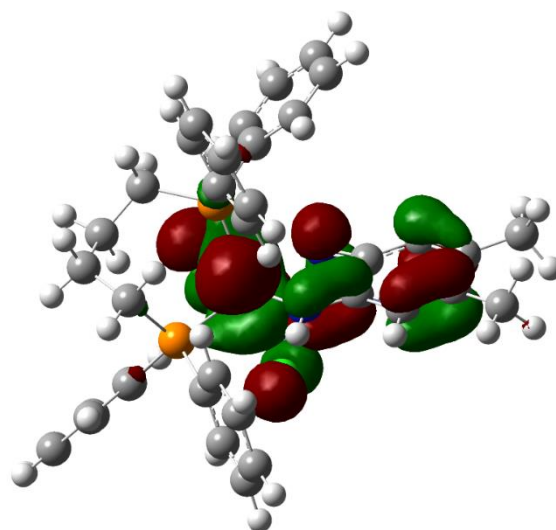
ANEXO C.4 – Complexo NN-Dmet



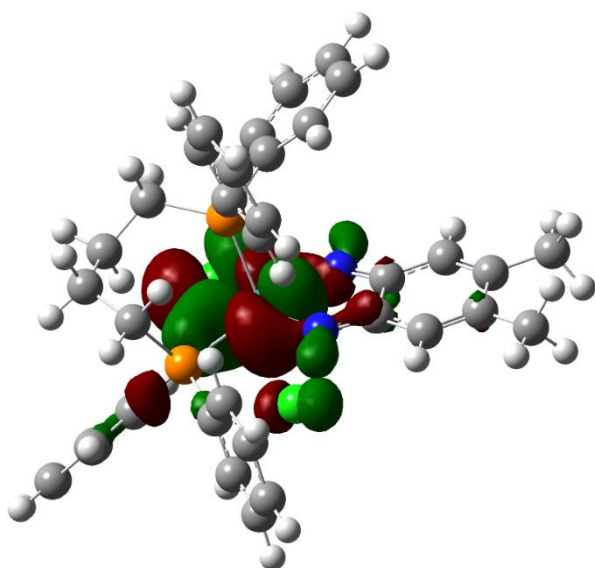
LUMO



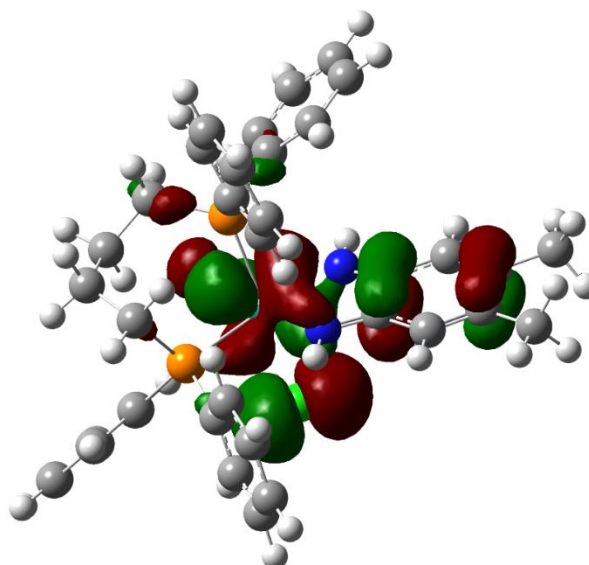
HOMO



HOMO-1

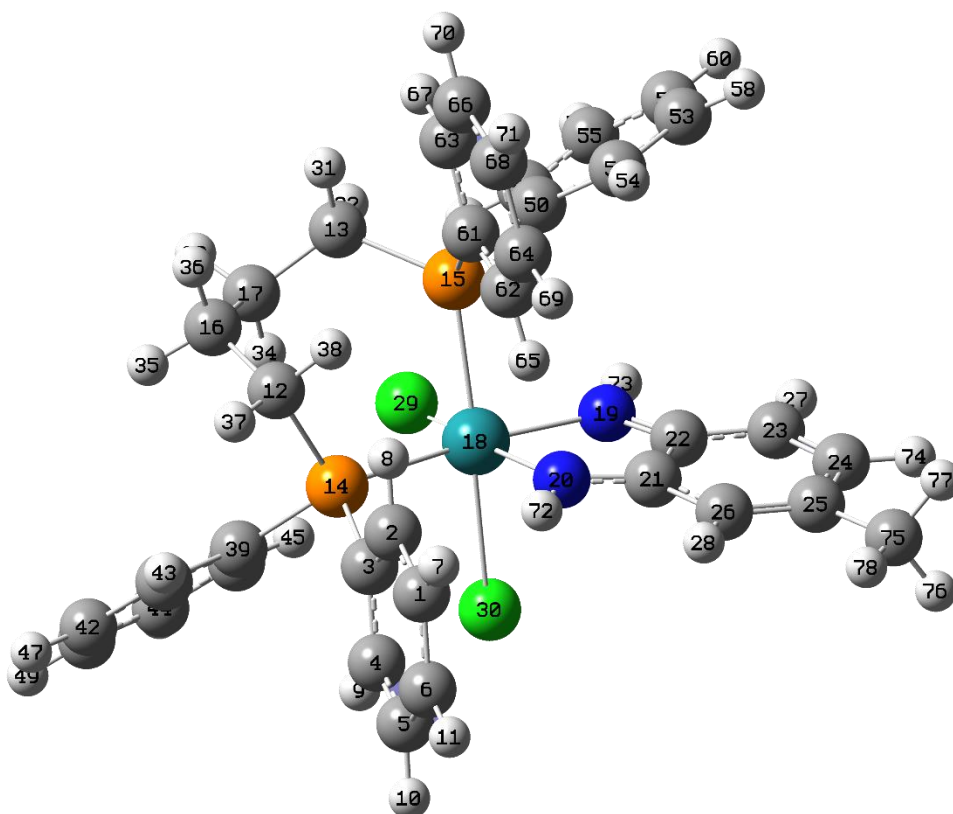


HOMO-2

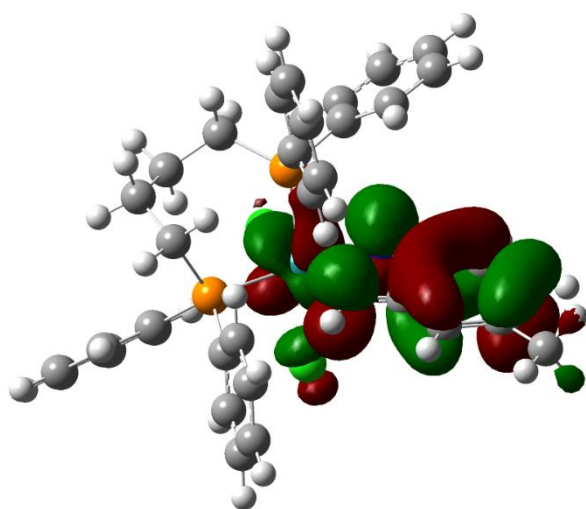


Fonte: Elaborada pelo autor.

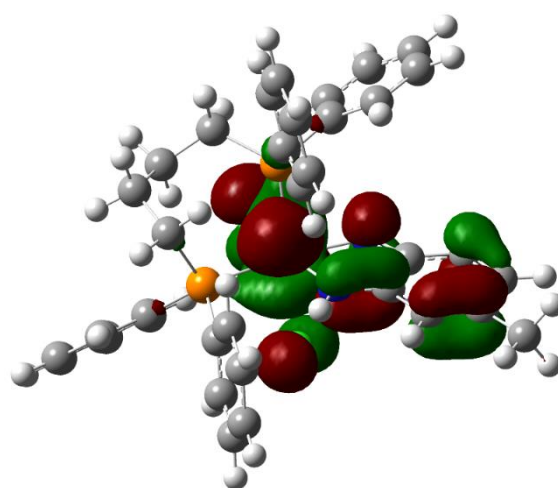
ANEXO C.5 – Complexo Ru-NN-Met



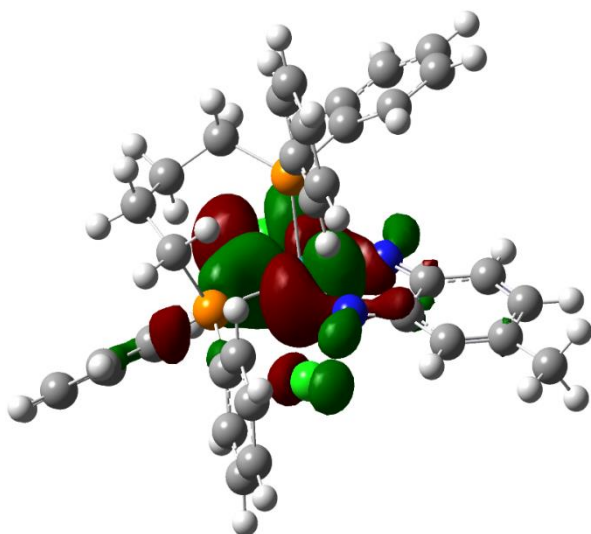
LUMO



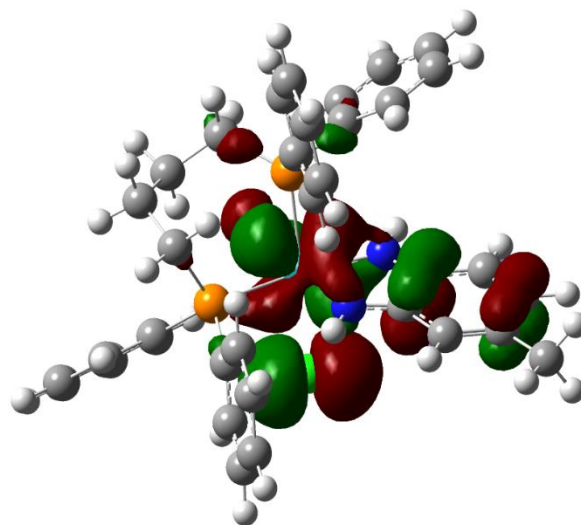
HOMO



HOMO-1

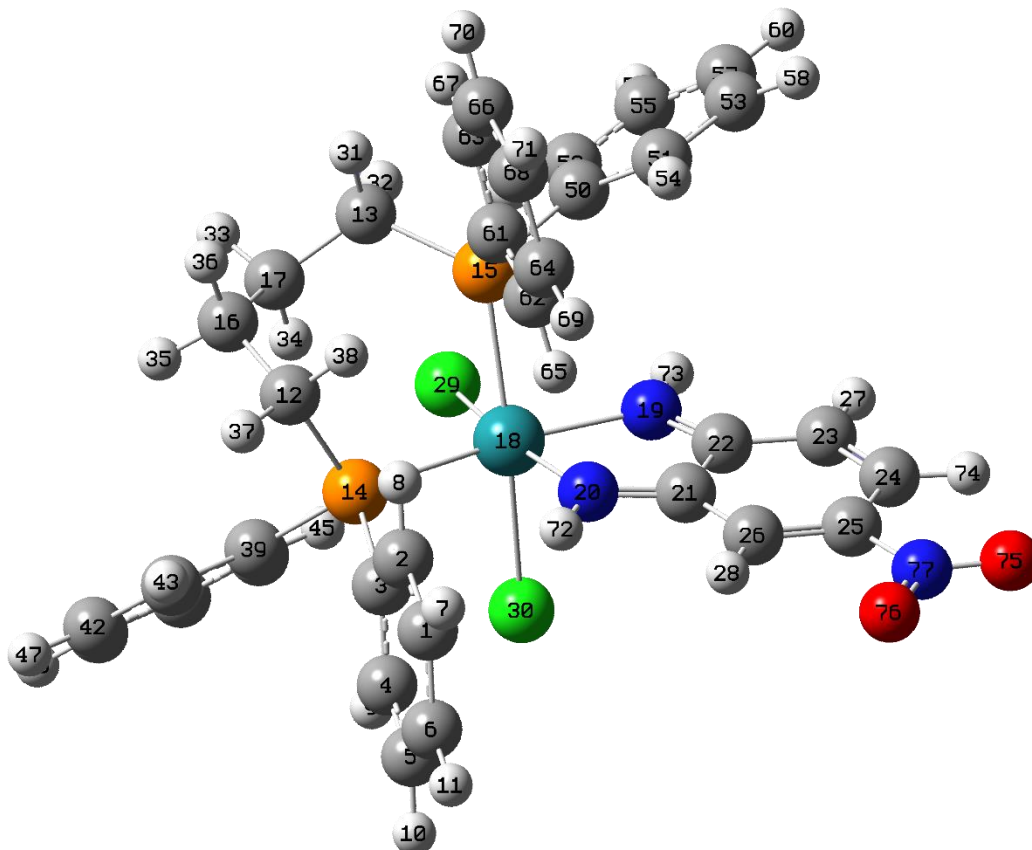


HOMO-2

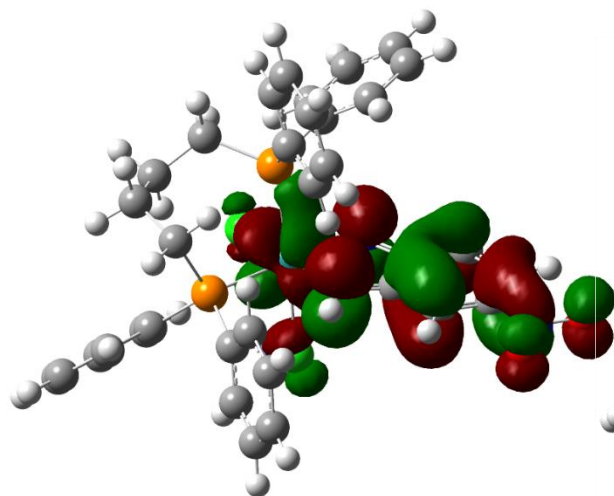


Fonte: Elaborada pelo autor.

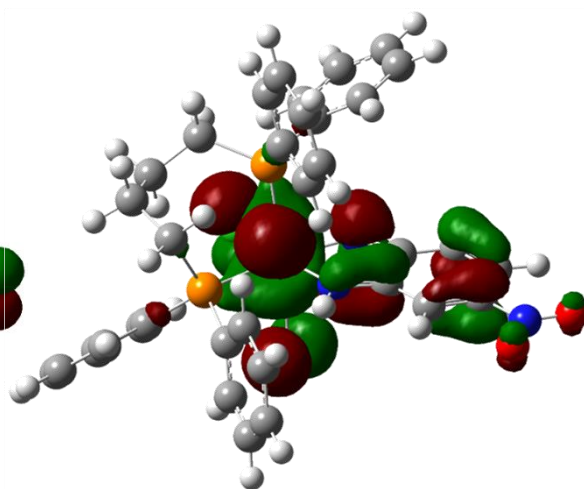
ANEXO C.5 – Complexo NN-NO₂



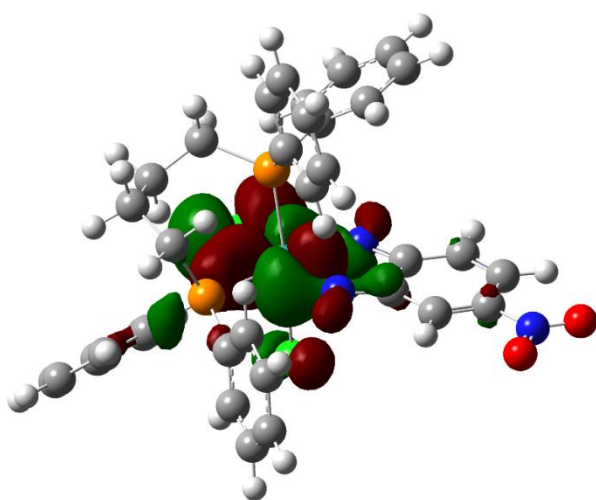
LUMO



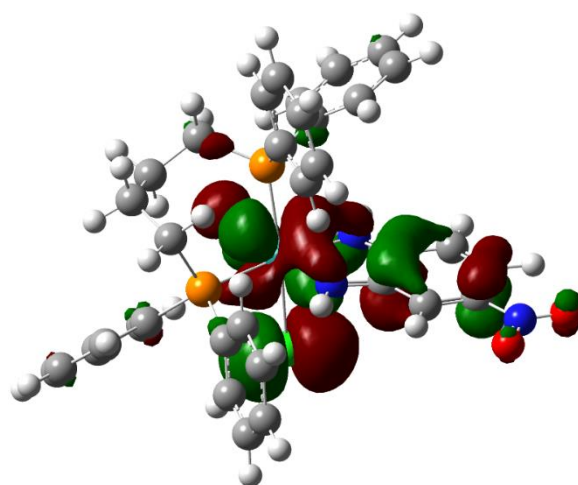
HOMO



HOMO-1

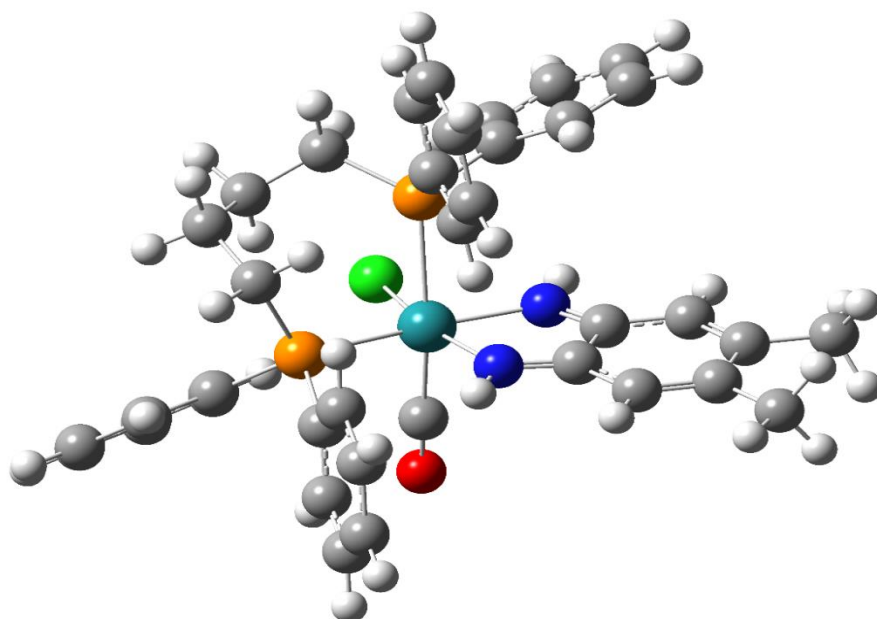


HOMO-2

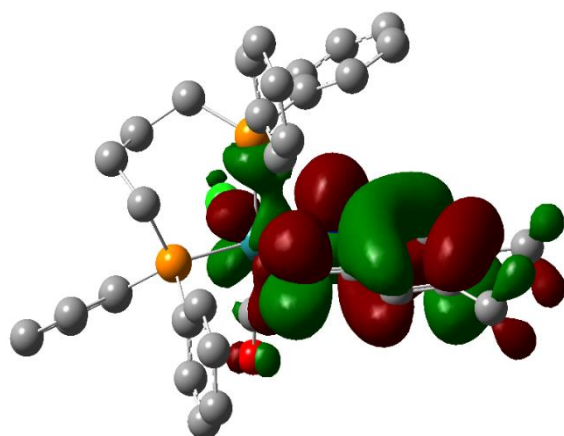


Fonte: Elaborada pelo autor.

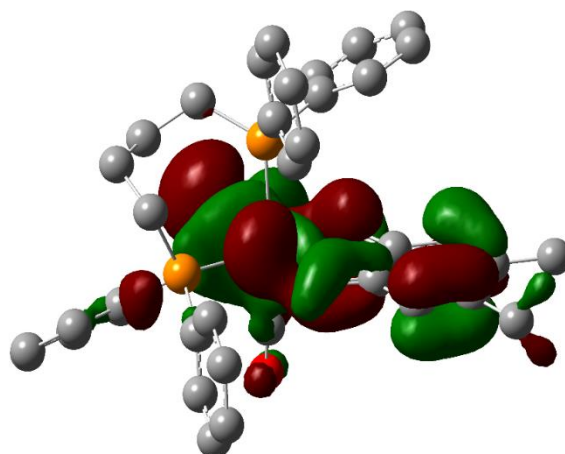
ANEXO C.7 – Complexo Ru-NN-Dmet-CO



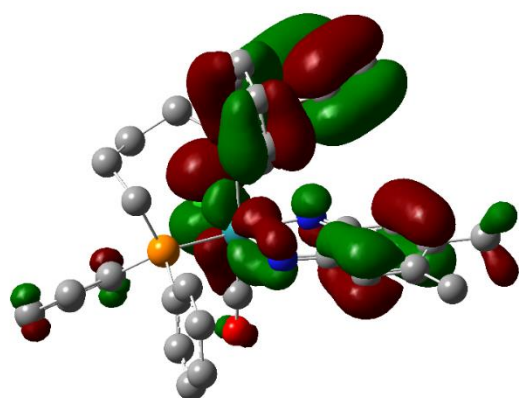
LUMO



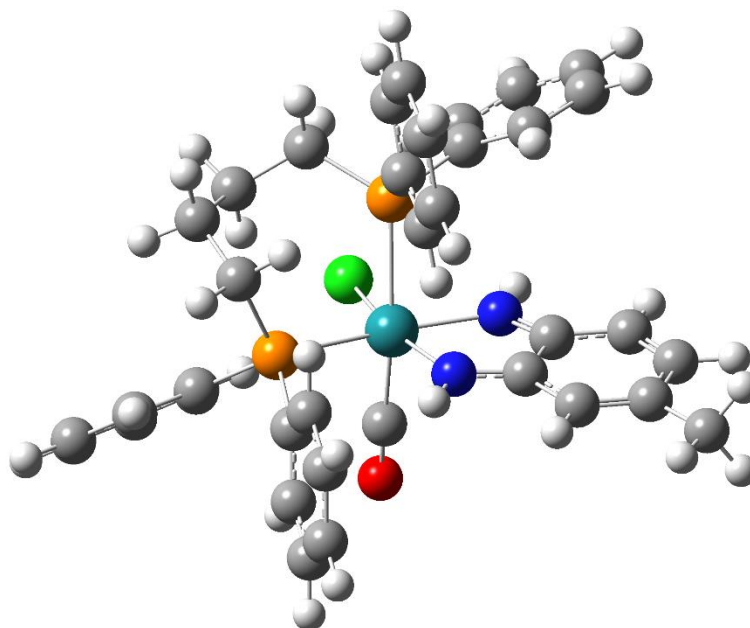
HOMO



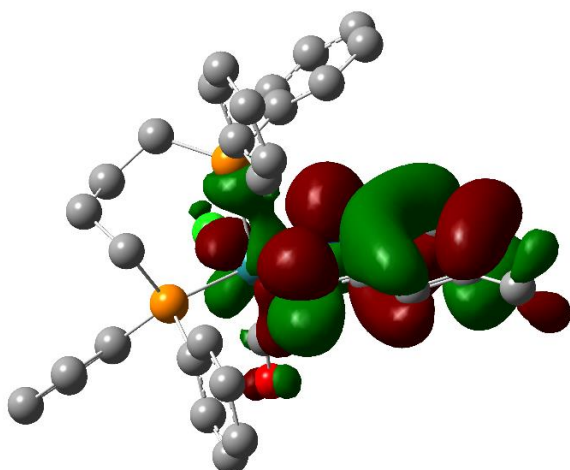
HOMO-5



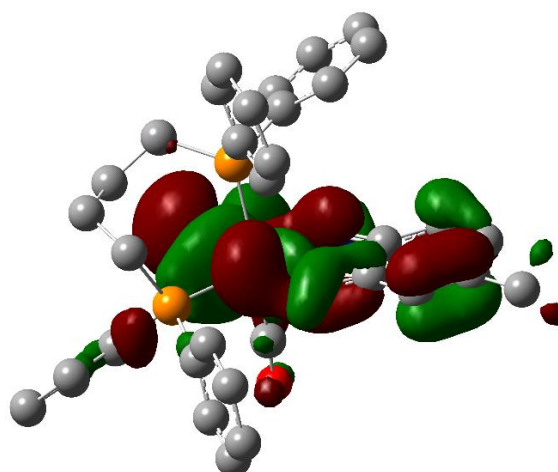
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO C.8 – Complexo Ru-NN-Met-CO

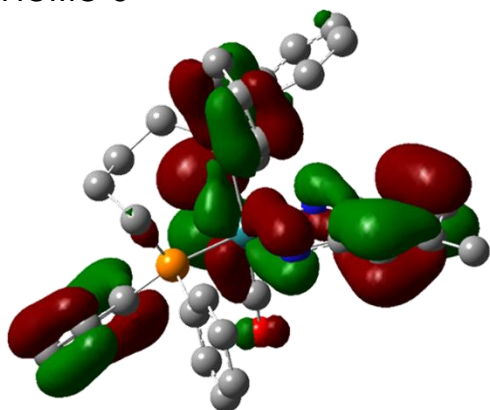
LUMO



HOMO

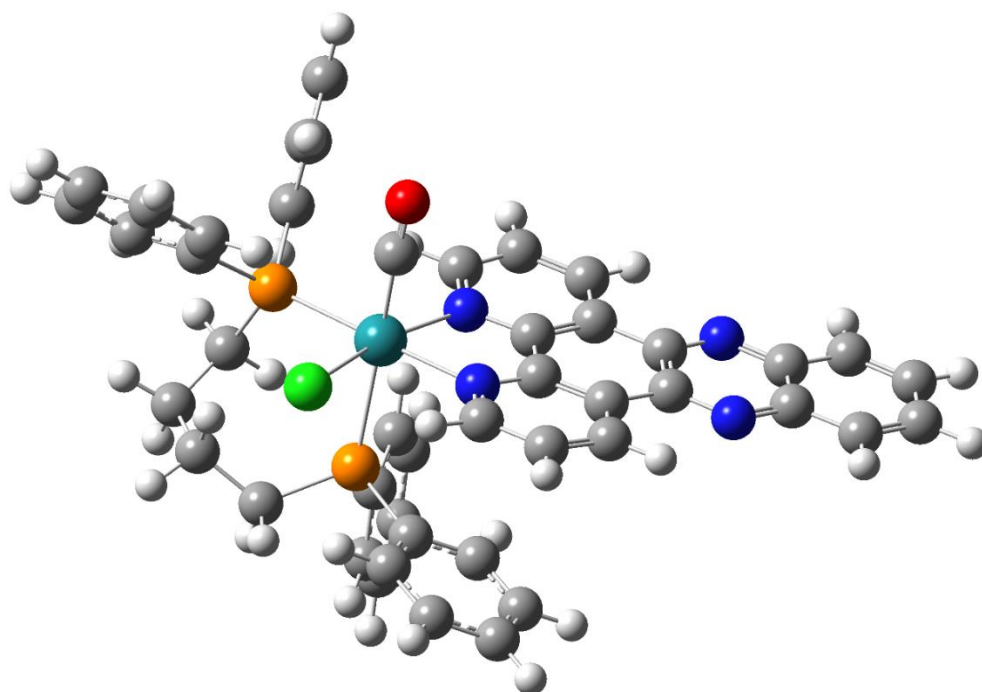


HOMO-6

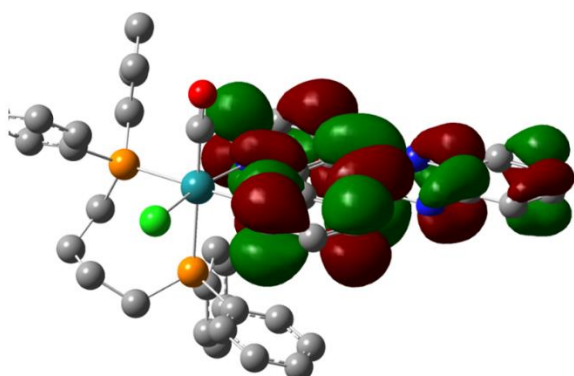


Fonte: Elaborada pelo autor.

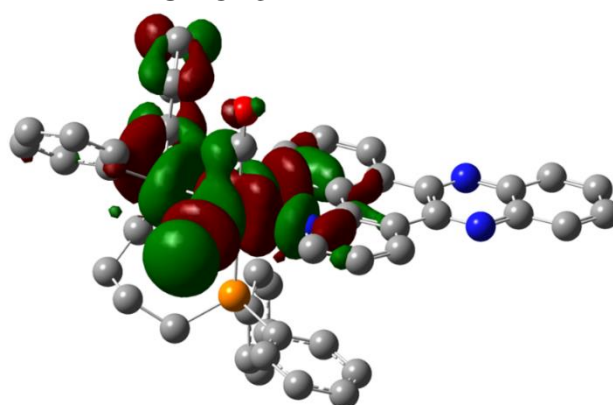
ANEXO C.9 – complexo Ru-DPPZ-CO



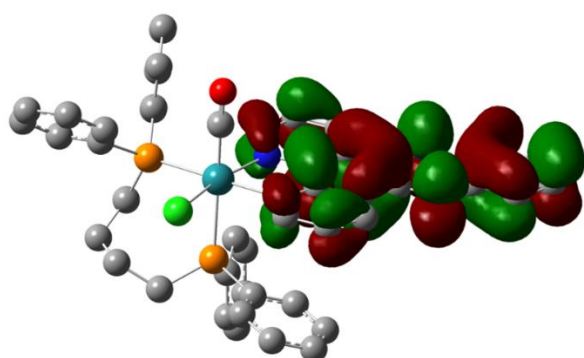
LUMO+2



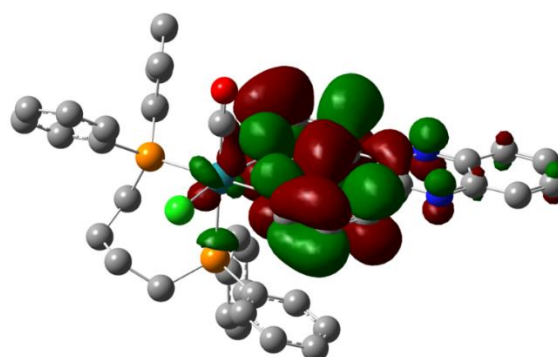
LUMO+3



LUMO

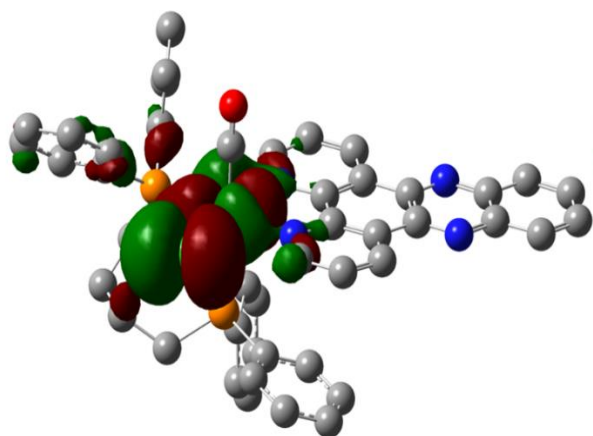


LUMO+1

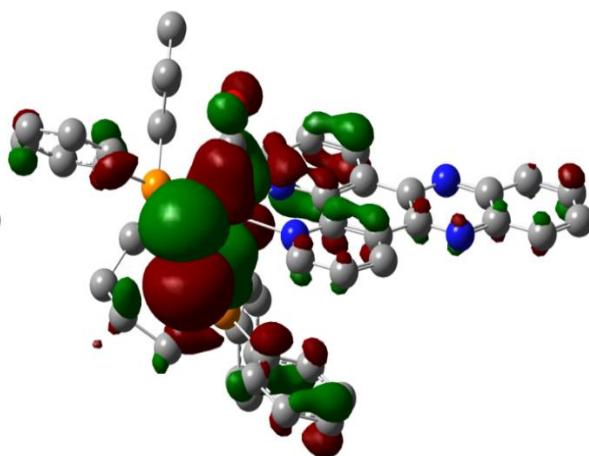


HOMO

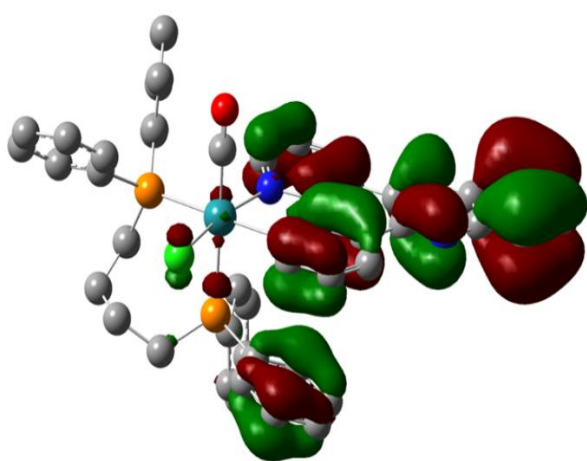
HOMO-1



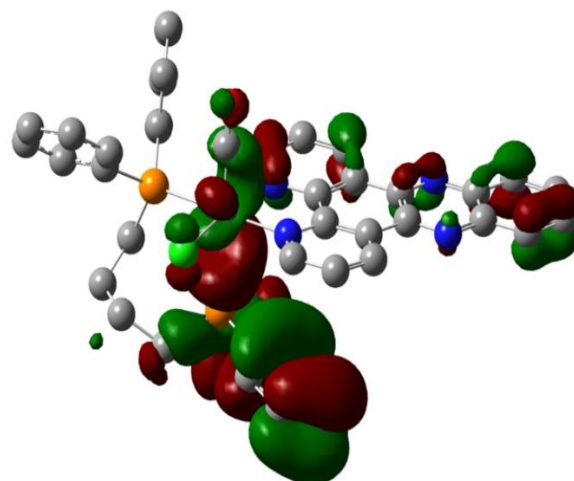
HOMO-2



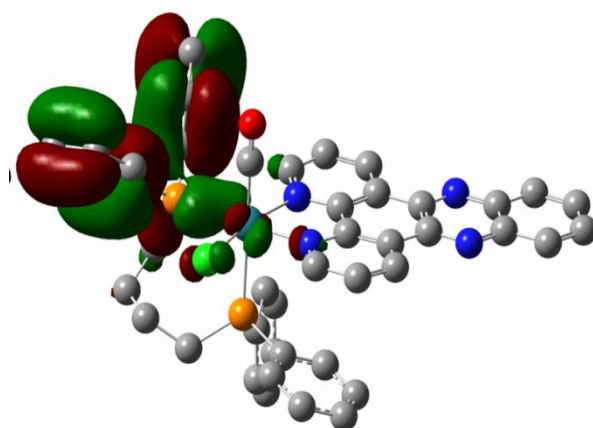
HOMO-3



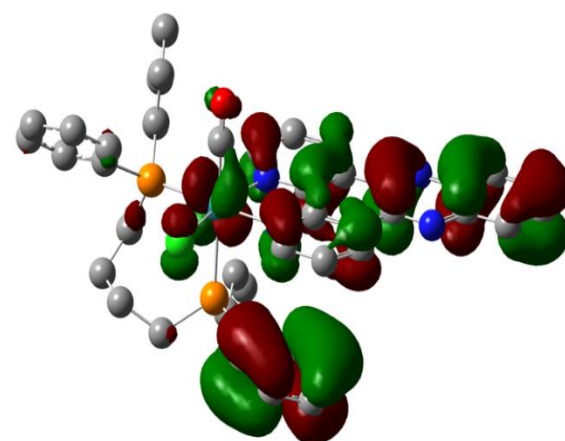
HOMO-4



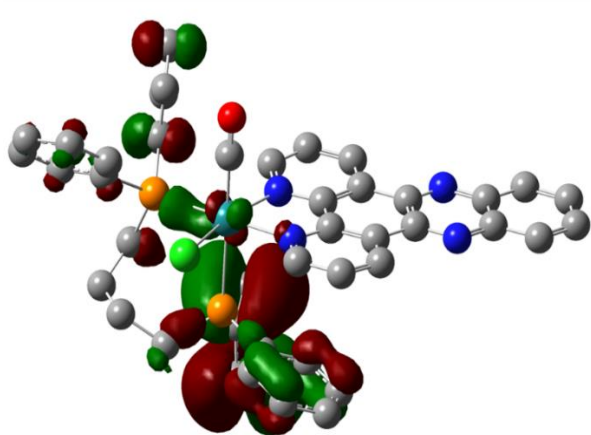
HOMO-5



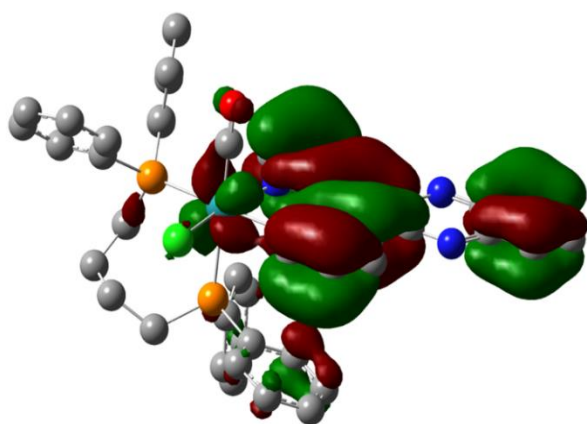
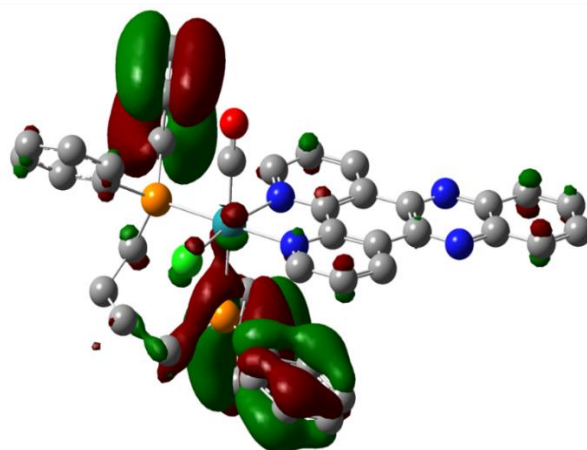
HOMO-2



HOMO-3



HOMO-14

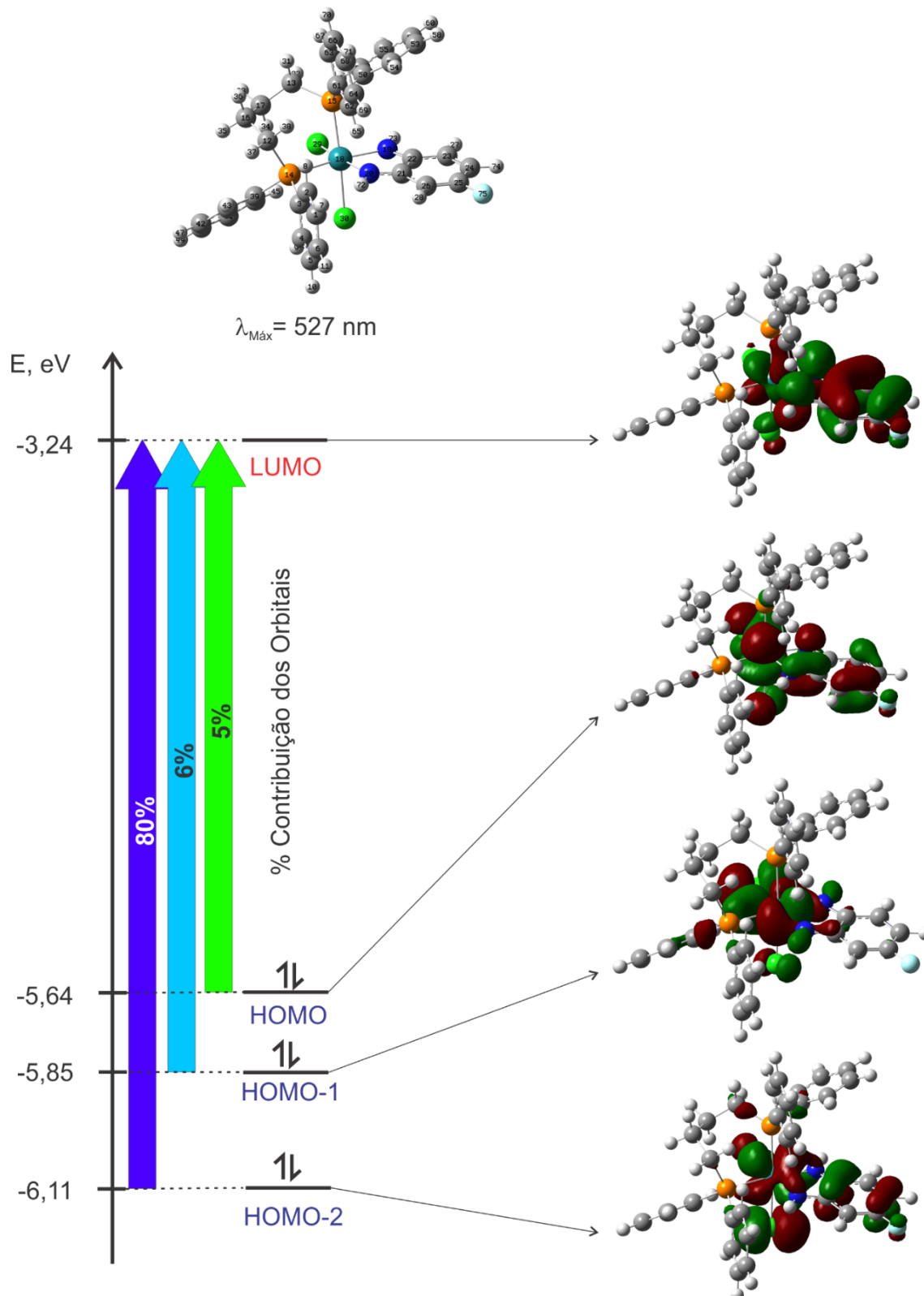


Fonte: Elaborada pelo autor.

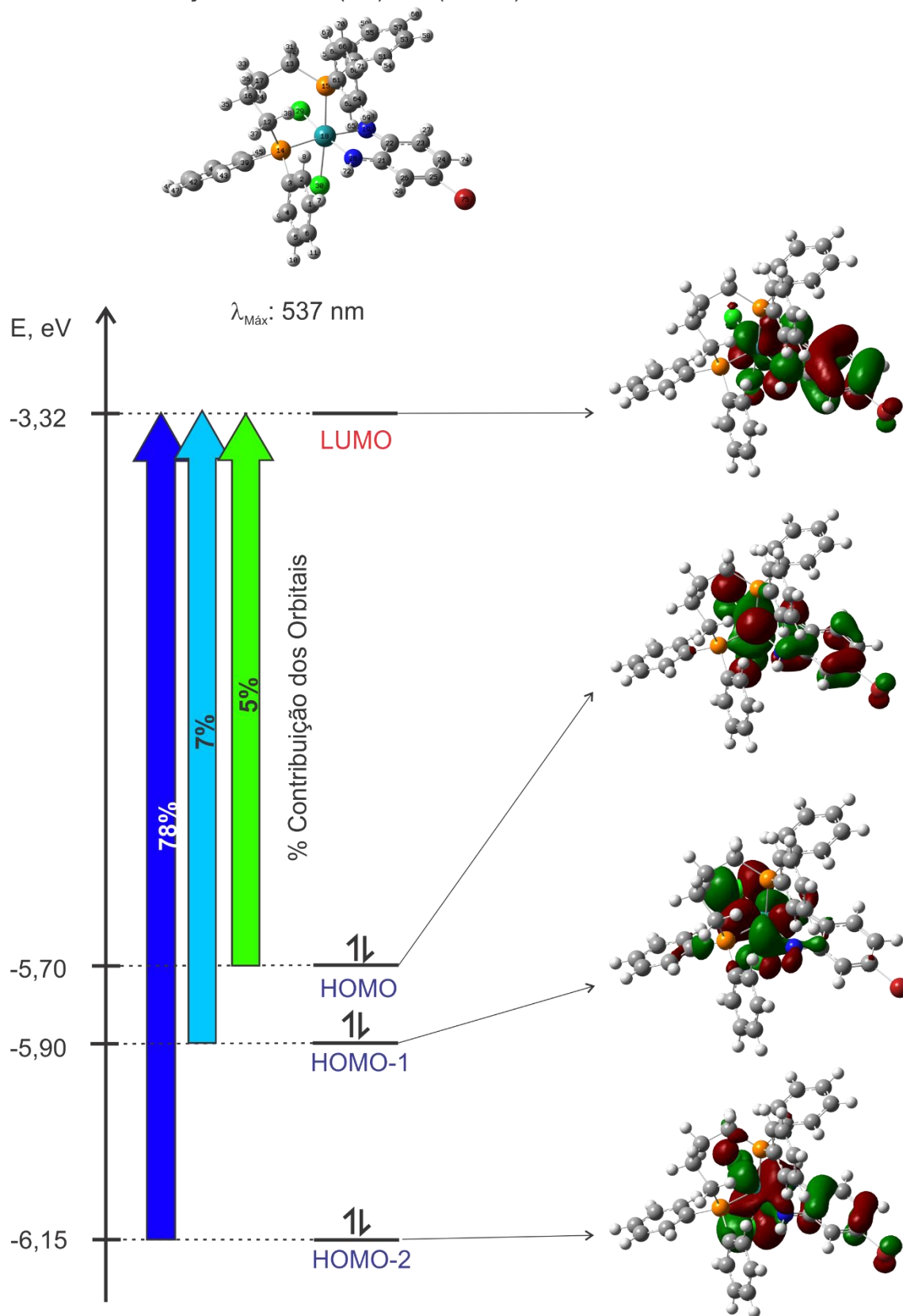
ANEXO D – DIAGRAMA DE ENERGIAS DOS ORBITAIS MOLECULARES CALCULADOS POR DFT, PARA OS COMPLEXOS SINTETIZADOS

ANEXO D.1 – complexo Ru-NN-F

Transição MLCT $d\pi(\text{Ru})-n\pi^*(\text{NN-F})$



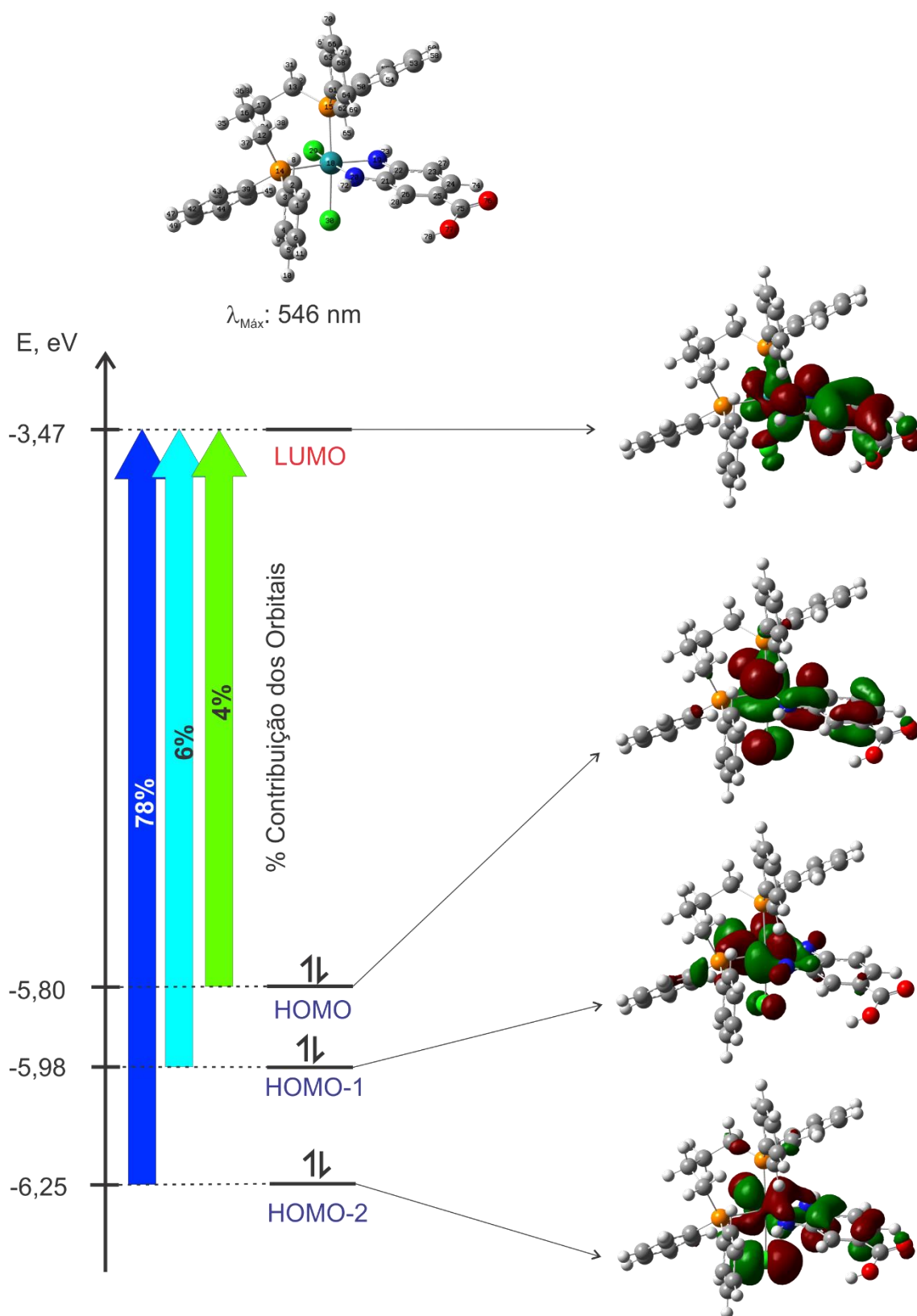
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO D.2 – complexo Ru-NN-BrTransição MLCT $d\pi(\text{Ru})-n\pi^*(\text{NN-Br})$ 

Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO D.3 – complexo Ru-NN-COOH

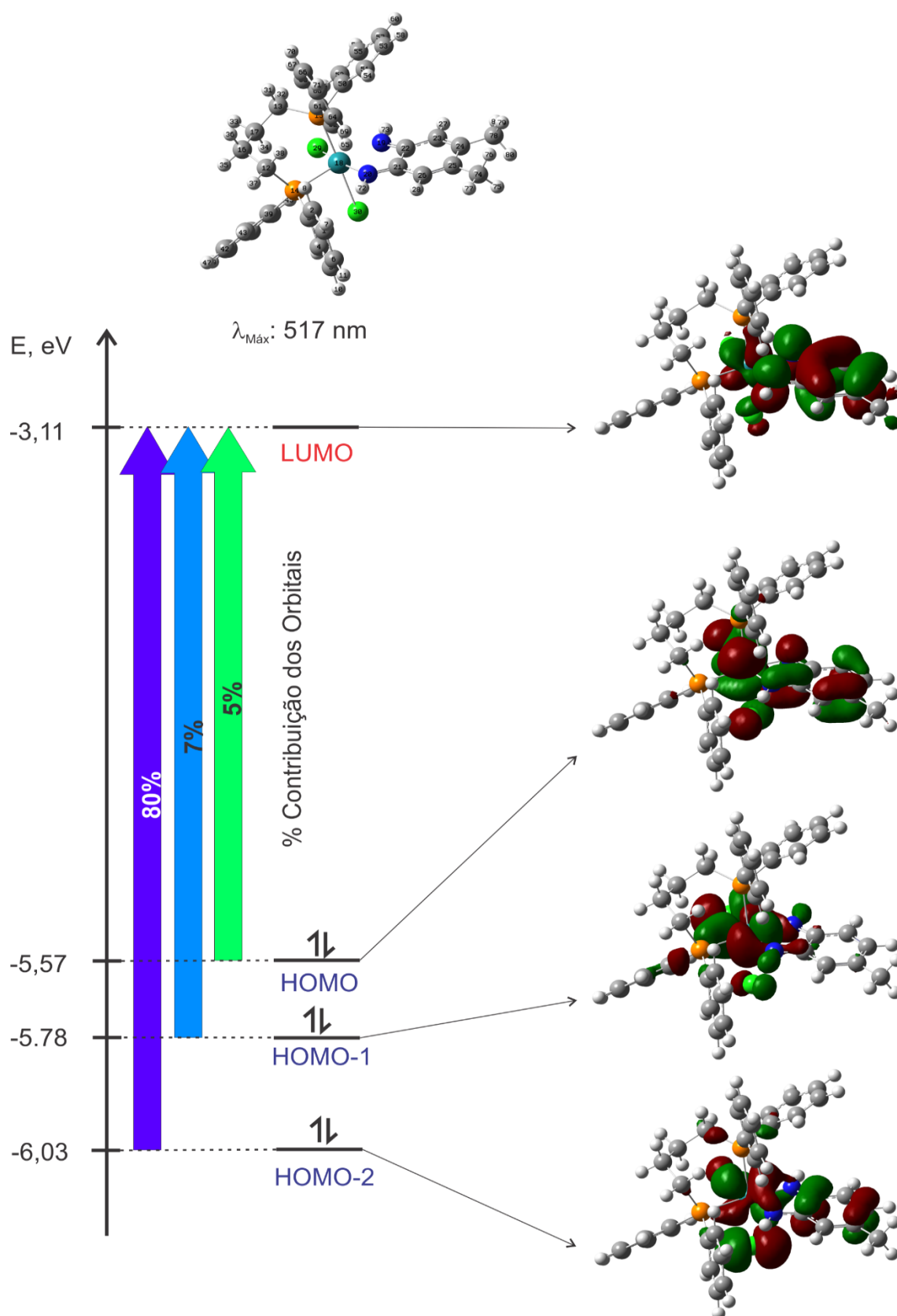
Transição MLCT $d\pi(\text{Ru})-n\pi^*(\text{NN-COOH})$



Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO D.4 – complexo Ru-NN-Met

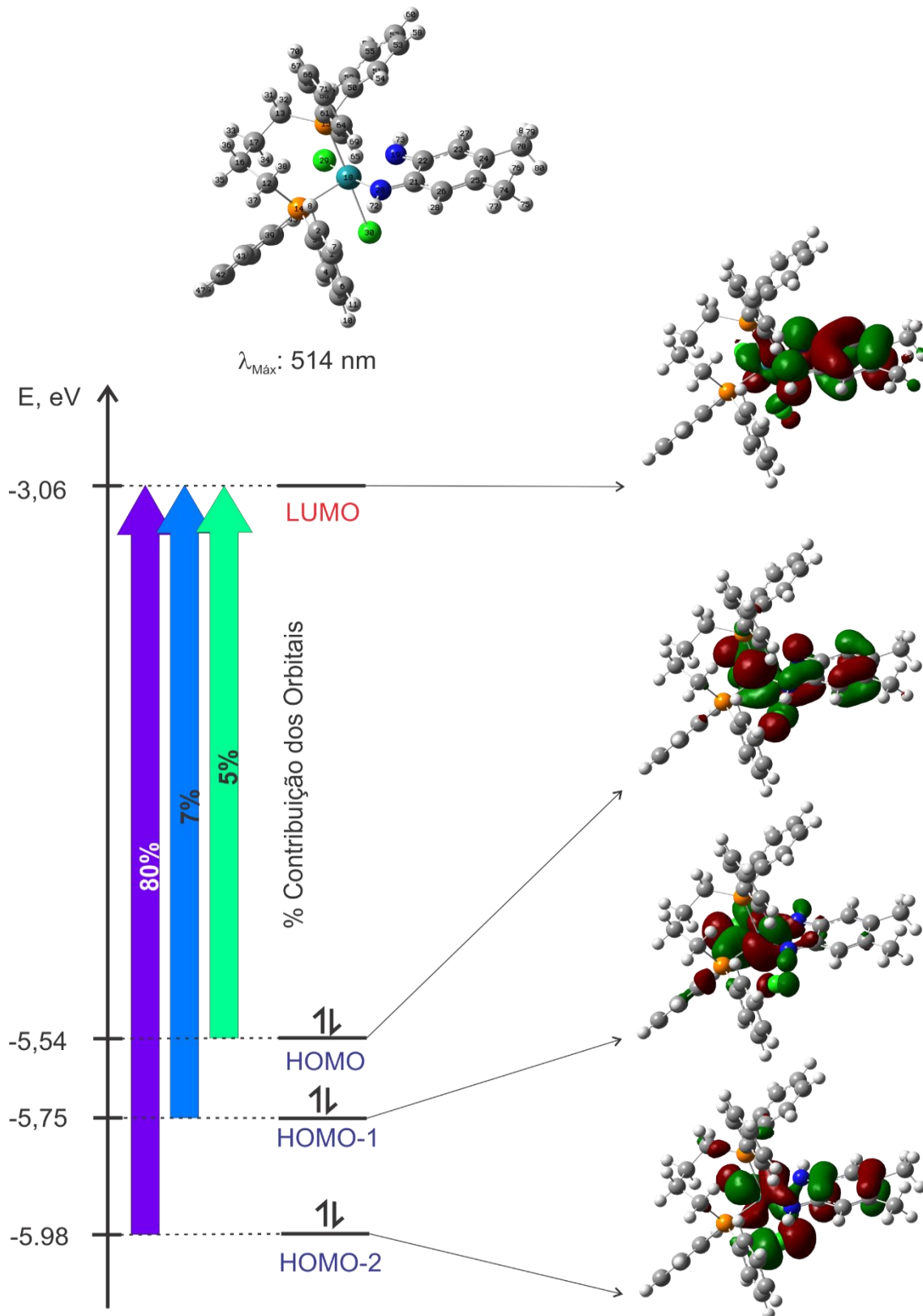
Transição MLCT $d\pi(\text{Ru})-n\pi^*(\text{NN-Met})$



Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO D.5 – Complexo Ru-NN-Dimet

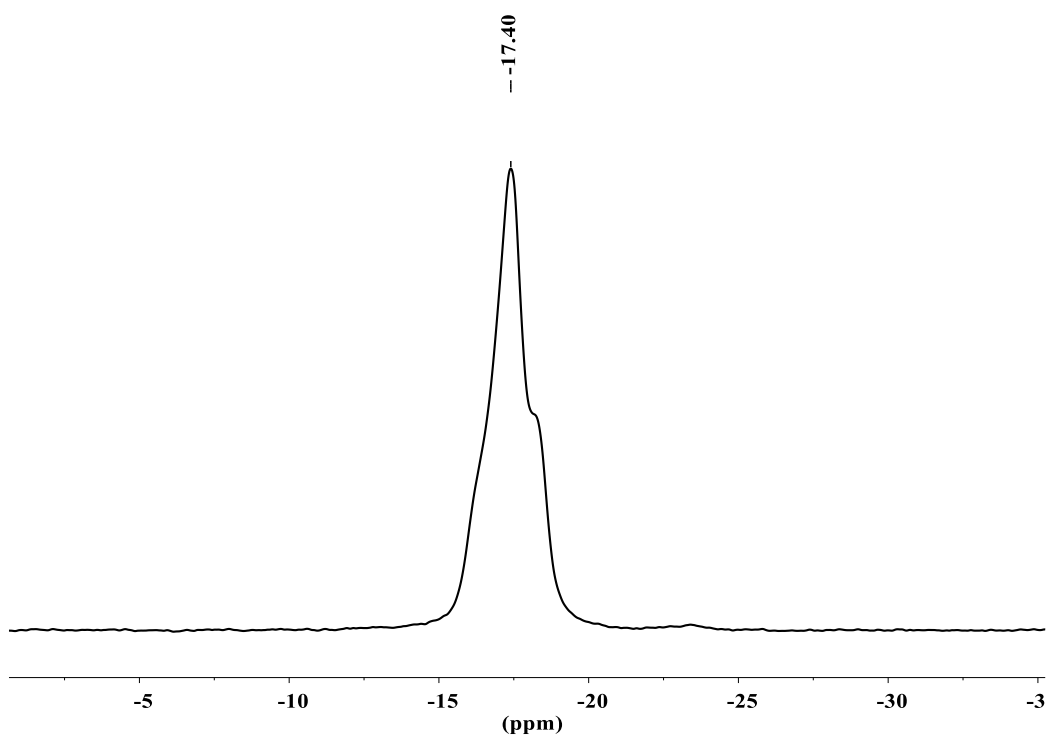
Transição MLCT $d\pi(\text{Ru})-n\pi^*(\text{NN-diMet})$



Fonte: Elaborada pelo autor.

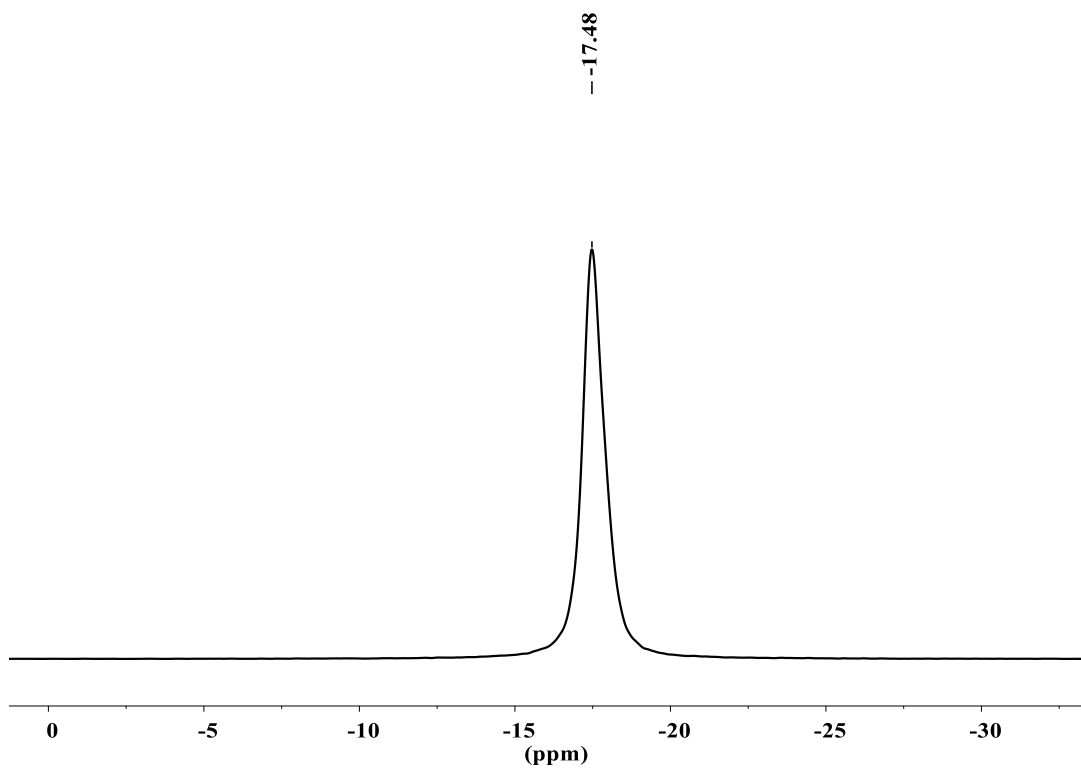
ANEXO E – RMN DA FOSFINA DPPBTS (1,2-Bis[di(m-sodiosulfonatofenil)fosfino]butano)

ANEXO E.1 – RMN da fosfina DPPBTS em H₂O a 60MHz.



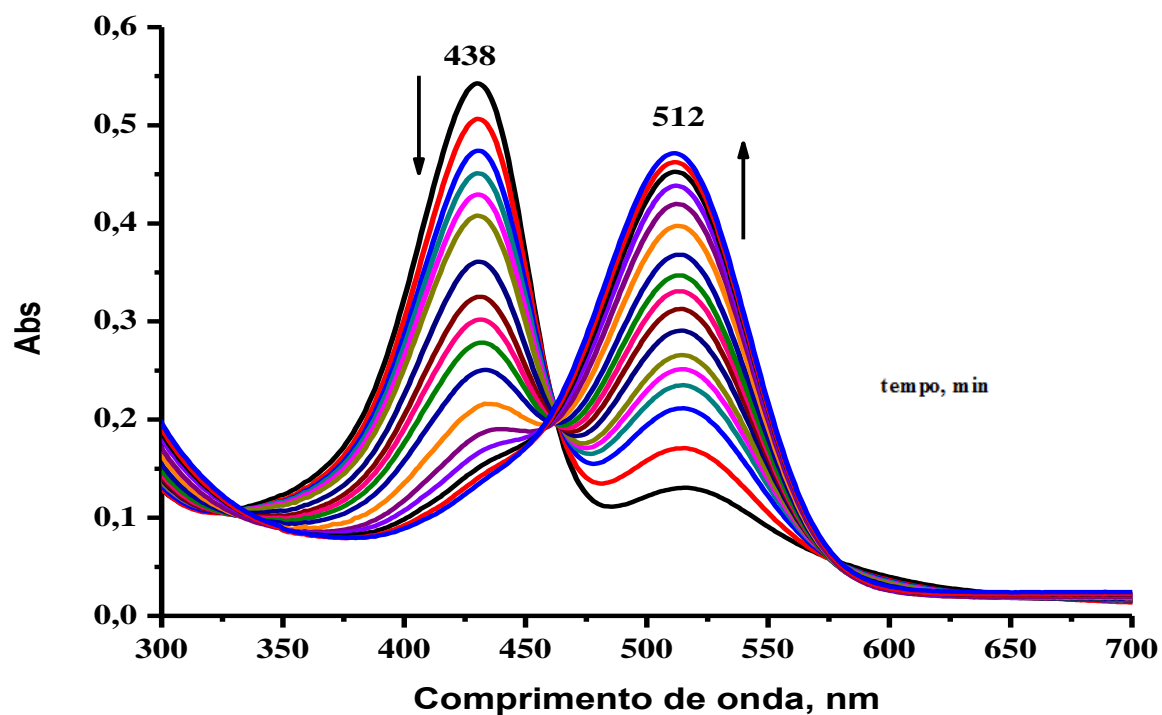
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO E.2 – RMN da fosfina DPPBTS em H₂O em meio básico a 60MHz.



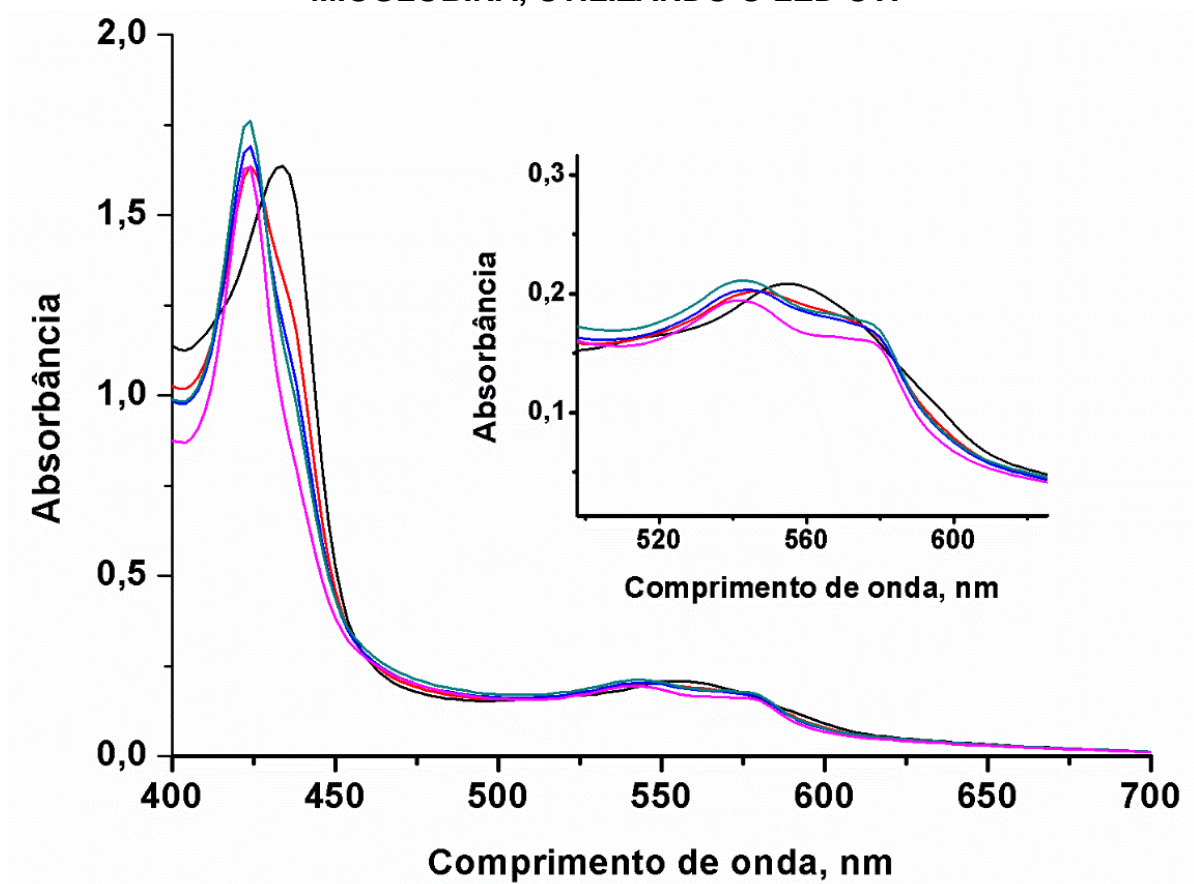
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO F – ACOMPANHAMENTO POR ESPETROSCOPIA UV-VIS DE UMA SOLUÇÃO DO COMPLEXO *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(NN)]PF₆ (7,4X10⁻⁶ MOL.L⁻¹) EM METANOL.



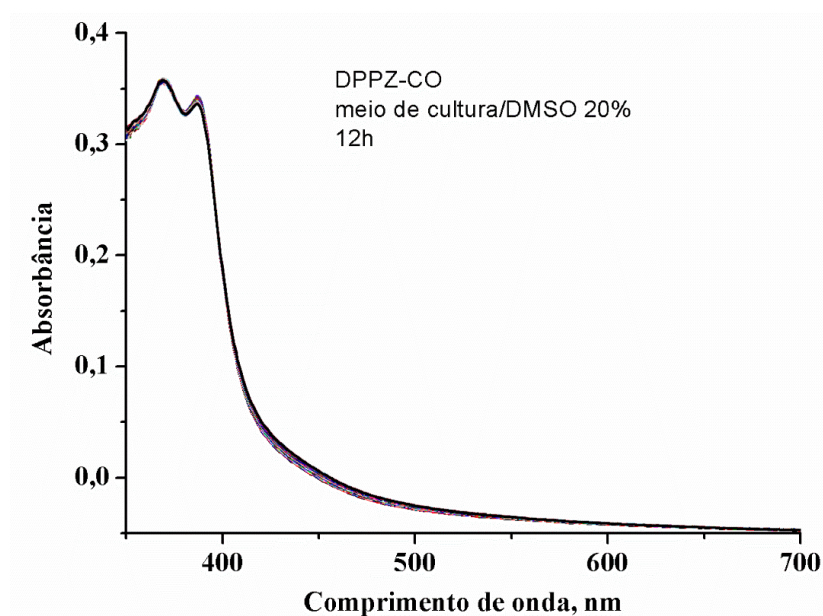
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO G – ENSAIO DE LIBERAÇÃO FOTOQUÍMICA DE CO PARA O COMPLEXO Ru-NN-Dmet-CO MONITORADA PELO POR MEIO DA MIOGLOBINA, UTILIZANDO O LED UV.



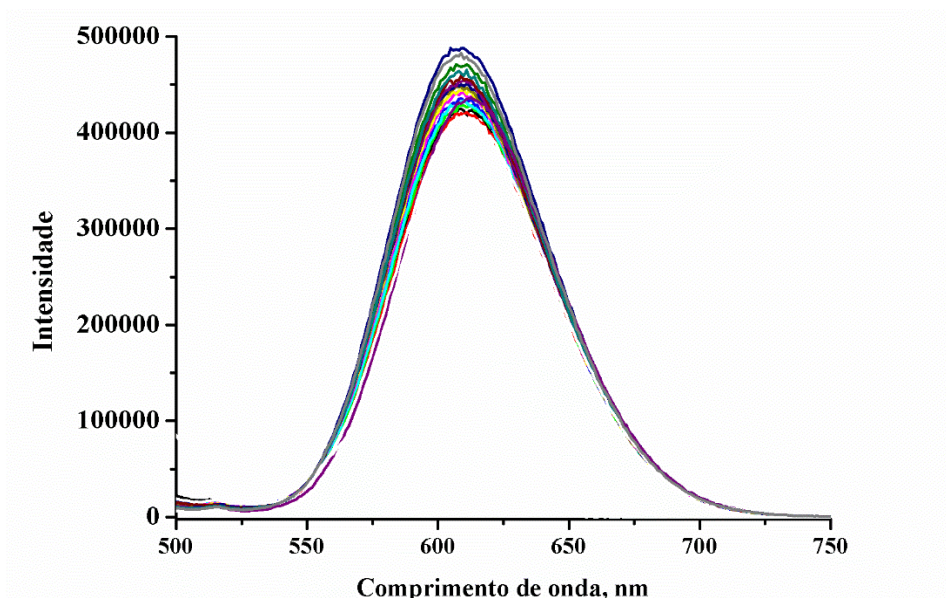
ANEXO H – ESTUDOS COMPLEMENTARES REALIZADOS PARA O COMPLEXO *CIS*-[RUCL(CO)(DPPB)(DPPZ)]PF₆ (RU-DPPZ-CO)

ANEXO H.1 – Acompanhamento por espectroscopia UV-vis de uma solução do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ em meio de cultura/DMSO 20% por um período de 12h.



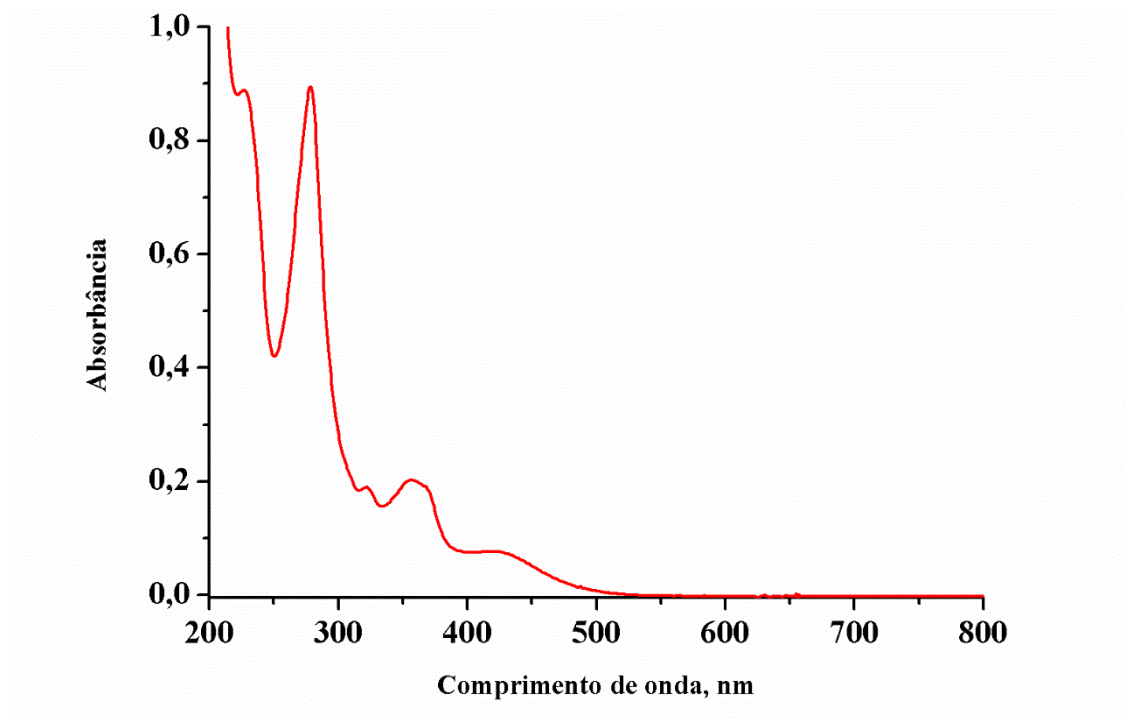
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO H.2 – Tentativa de deslocar o intercalante brometo de etídio (1 μ M) do DNA (100 μ M), por adições sucessivas do complexo Ru-DPPZ-CO (de 0,5-28 μ M).



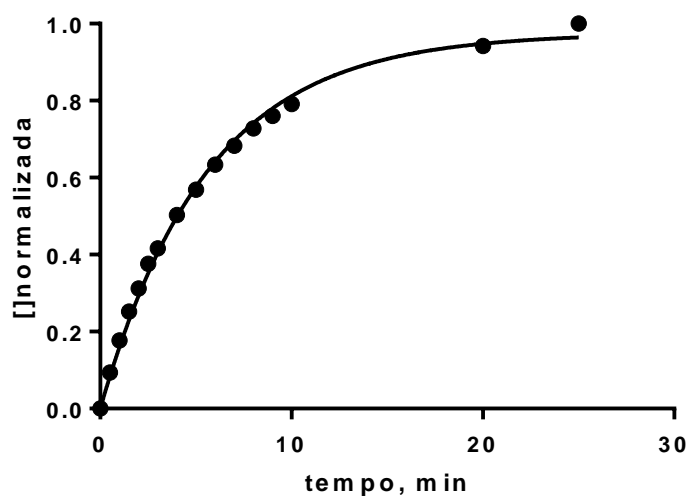
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO H.3 – Espectro eletrônico na região do UV-vis para o complexo *cis*-[RuCl₂(dppb)(dppz)] em acetonitrila.



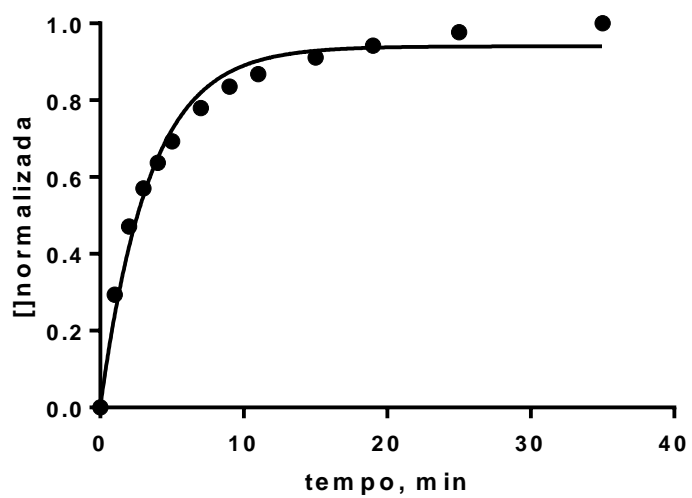
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO H.4 – Traço cinético para o complexo Ru-DPPZ-CO em DMF com irradiação com LED azul.



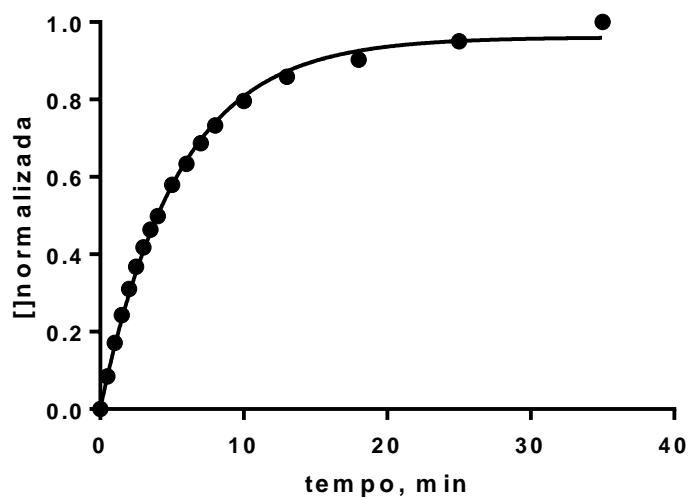
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO H.6 – Traço cinético para o complexo Ru-DPPZ-CO em metanol com irradiação com LED azul.



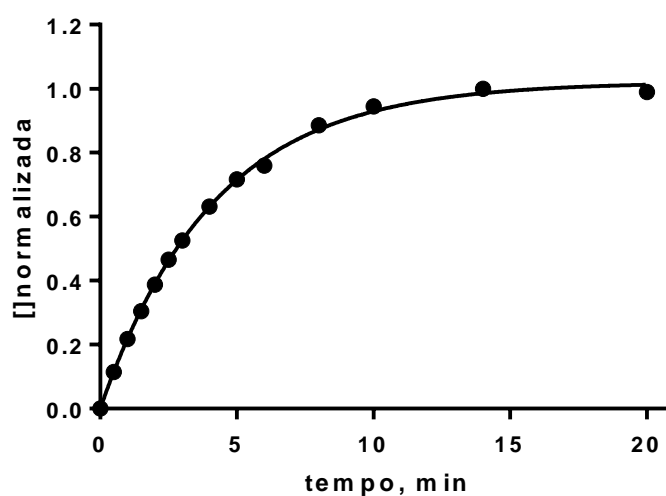
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO H.7 – Traço cinético para o complexo Ru-DPPZ-CO em DMSO com irradiação com LED azul.



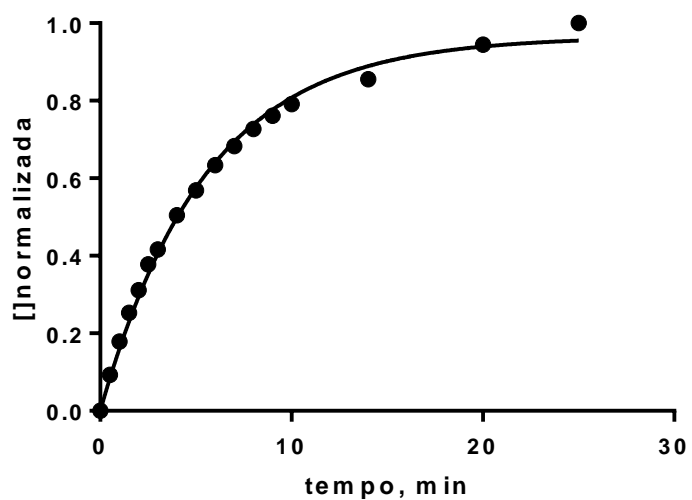
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO H.8 – Traço cinético para o complexo Ru-DPPZ-CO em acetonitrila com irradiação com LED azul.



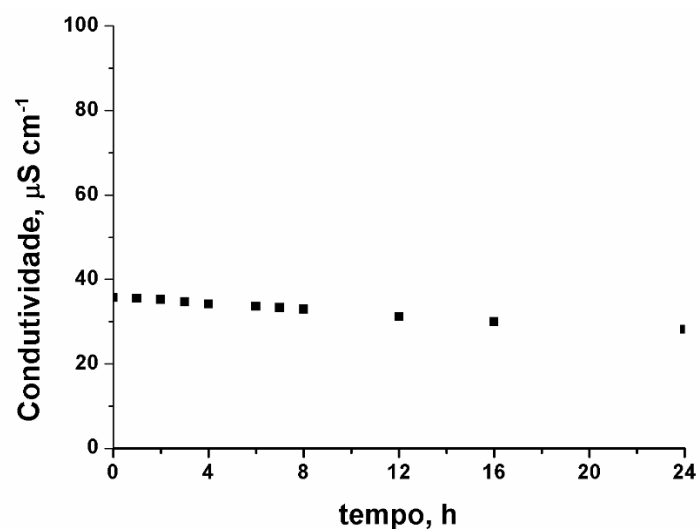
Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO H.9 – Traço cinético para o complexo Ru-DPPZ-CO em PBS/ 20% de DMF com irradiação com LED azul.



Fonte: Elaborada pelo autor.

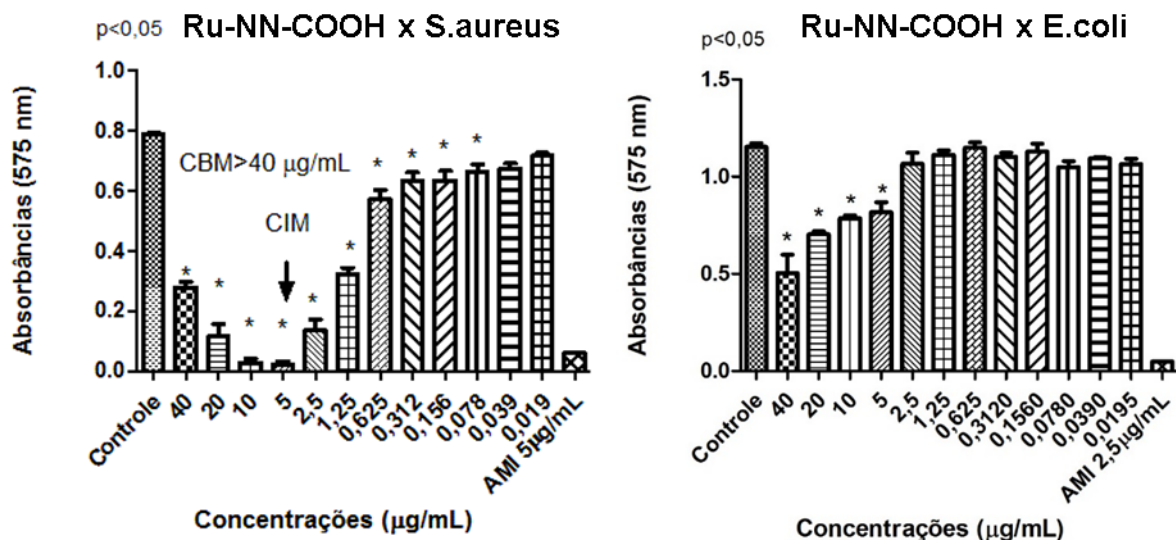
ANEXO H.10 – Acompanhamento da condutividade de uma solução 1 mmol L⁻¹ do complexo *cis*-[RuCl(CO)(dppb)(dppz)]PF₆ em DMSO.



Fonte: Elaborada pelo autor.

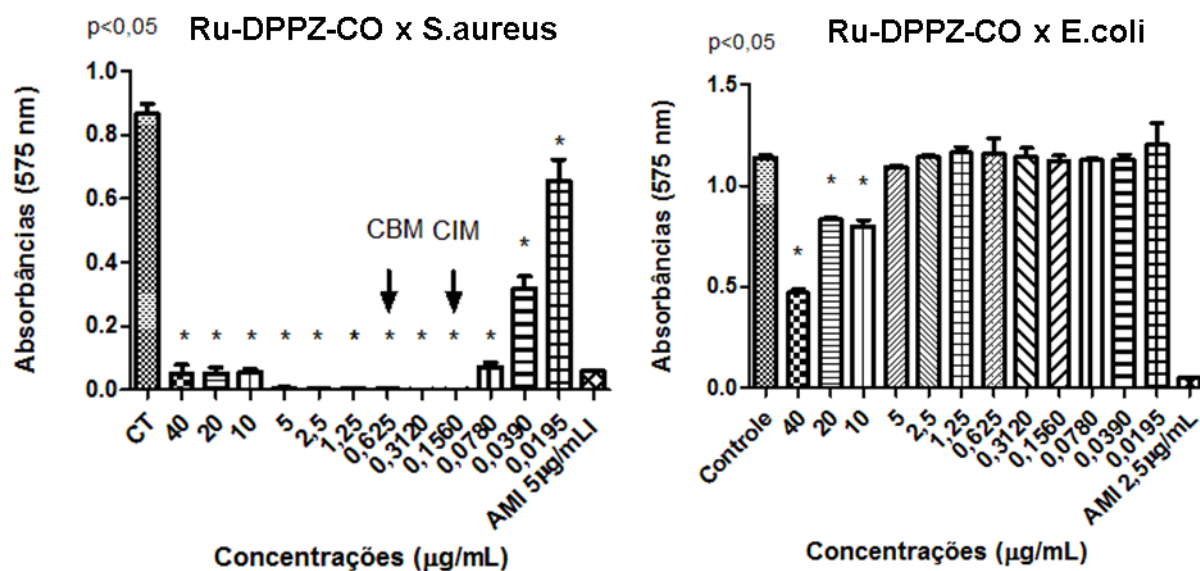
ANEXOS I – Gráficos de ensaios com as cepas de bactérias CIM e CBM

ANEXO I.1 – Gráficos de CI e CM para o complexo Ru-NN-COOH frente as cepas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.



Fonte: Elaborada pelo autor.

ANEXO I.2 – Gráficos de CI e CM para o complexo Ru-DPPZ-CO frente para as cepas *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.



Fonte: Elaborada pelo autor.