



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNCIA
INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNIVERSIDADE
FEDERAL DE UBERLÂNDIA



EDINALDO NASCIMENTO DA SILVA

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DE COMPLEXOS DE RUTÊNIO(II) CONTENDO DPPM E ÂNIONS DE ÁCIDOS QUINOLINA CARBOXÍLICOS.

UBERLÂNDIA

2015

EDINALDO NASCIMENTO DA SILVA

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DE COMPLEXOS DE RUTÊNIO(II) CONTENDO DPPM E ÂNIONS DE ÁCIDOS QUINOLINA CARBOXÍLICOS.

Dissertação apresentada ao Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Von Poelhsitz

UBERLÂNDIA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

S586s Silva, Edinaldo Nascimento da, 1975-
2015 Síntese, caracterização e estudo da atividade citotóxica de complexos de rutênio contendo DPPM e ânions de ácidos quinolina carboxílicos / Edinaldo Nascimento da Silva. - 2015.
73 f. : il.

Orientador: Gustavo Von Poelhsitz.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Química.
Inclui bibliografia.

1. Química - Teses. 2. Rutênio - Teses. 3. Ligantes (Bioquímica) - Teses. I. Poelhsitz, Gustavo Von. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDU: 54



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia
DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO, NÚMERO 210/PPQUI.

DATA: 6/2/2015

DISCENTE: Edinaldo Nascimento da Silva

MATRÍCULA: 11312QMI002

TÍTULO DO TRABALHO: Síntese, caracterização e estudo da atividade citotóxica de complexos de rutênio(II) contendo dppm e ânions de ácidos quinolina carboxílicos.

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Química


LINHA DE PESQUISA: Química Bioinorgânica

PROJETO DE PESQUISA DE VINCULAÇÃO: Síntese, caracterização e avaliação da atividade biológica de novos complexos de rutênio(II).

Às quatorze horas do dia seis de fevereiro do ano dois mil e quinze, no Auditório B do Bloco 50, no Campus Santa Mônica, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos Professores Doutores Lincoln Lucilio Romualdo, da Universidade Federal de Goiás, André Luiz Bogado, da Faculdade de Ciências Integradas do Pontal e Gustavo Von Poelhsitz, do Instituto de Química da UFU, professor(a) orientador(a) e presidente da mesa. Iniciando os trabalhos, o(a) presidente da mesa apresentou o(a) candidato(a) e a Banca Examinadora, agradeceu a presença do público e discorreu sobre as normas e critérios para a realização desta sessão, baseadas na Norma Interna nº 03/2013/PPQUI. Em seguida, o(a) presidente da mesa concedeu a palavra ao(à) candidato(a) para a exposição do seu trabalho e, em sequência, aos examinadores, em ordem sucessiva, para arguir o(a) apresentador(a). A duração da apresentação e o tempo de arguição e resposta deram-se conforme as normas do Programa. Ultimada a arguição, desenvolvida dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais e A provou o(a) candidato(a). Por sugestão da Banca Examinadora, o título do trabalho será SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA DE COMPLEXOS DE RUTÊNIO(II) CONTENDO DPPM E ÂNIONS DE ÁCIDOS QUINOLINA CARBOXÍLICOS

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O competente diploma será expedido após cumprimento do estabelecido nas normas do Programa, legislação e regulamentação Internas da UFU. As correções observadas pelos examinadores deverão ser realizadas no prazo máximo de 30 dias. Nada mais havendo a tratar, deu-se por encerrada a sessão às 16 horas e 15 minutos e lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.


Dr. Lincoln Lucilio Romualdo
UFG


Prof. Dr. André Luiz Bogado
FACIP/UFU


Orientador(a): Prof. Dr. Gustavo Von Poelhsitz – IQUFU

Dedico este trabalho a todos os meus familiares, em especial à minha esposa e ao meu filho pelo apoio e compreensão durante meu mestrado, por todo amor, carinho e força em toda minha caminhada até aqui. Somente estando ao lado de pessoas do bem, nossos objetivos são alcançados.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me conceder o presente de ter chegado até aqui, oferecendo-me disposição, força, paciência, sabedoria e coragem para enfrentar os obstáculos durante todo o curso.

Ao Prof. Dr. Gustavo Von Poelhsitz pela paciência, humildade, respeito e confiança, pela orientação durante esta caminhada e pela estrutura de trabalho oferecida. Agradeço pela oportunidade de ajudar-me a concretizar um sonho que até a pouco tempo parecia muito distante e agora é realidade. Muitíssimo obrigado.

Aos Prof. Dr. Antonio Otávio, Prof^a. Dra. Sandra Terezinha, Prof^a. Dra. Renata Cristina e Prof. Dr. Wendell Guerra pelos ensinamentos que com certeza vou levá-los comigo para sempre.

Aos Prof. Dr. Newton Martins e Prof. Dr. Reinaldo Ruggiero pela maneira com que conduziram os seminários dos pós-graduandos.

Ao Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista e sua equipe pelo apoio na realização das análises de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$.

Ao Prof. Dr. Waldomiro Borges Neto e seus alunos pelo apoio na realização das análises de (IV).

Ao Prof. Luiz Antônio pelas palavras de motivação no momento certo, palavras essas, que me ajudaram a chegar aonde cheguei.

A Prof^a. Dra. Denise Crispim Tavares e seu grupo de pesquisa da Unifran pelos ensaios de atividade citotóxica.

A prof^a. Maria de Fátima pelas correções feitas nesta dissertação e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Fernando Rogerio Pavan e seu grupo de pesquisa da FCF-Unesp-Araraquara pelos ensaios de atividade antituberculose.

Às minhas colegas de laboratório, Larissa Lorenn e Junaí Lopes pelo companheirismo e pela ajuda no momento em que precisei. Serei eternamente grato a vocês elas por tudo que fizeram por mim. Vou levá-las no meu coração por toda vida. Obrigado por tudo.

Aos colegas de laboratório, Leonardo Ferreira e Sinval Fernandes pelo companheirismo, pela ajuda nos momentos que precisei. O meu muito obrigado.

Ao Roni do laboratório multiusuário pelo apoio, todas as vezes que precisei.

Ao Prof. Dr. Wendell e sua equipe de laboratório pela parceria, que sempre me ajudou nos momentos que precisei.

A Mayta Mamede pelo atendimento quando precisei sempre muito educada, gentil e competente.

À minha esposa Rozelaine e ao meu filho Dielisson pela paciência e compreensão que toda essa luta é para o nosso bem.

A todos os meus familiares que contribuíram para que eu chegasse até aqui: meu irmão Edivaldo, minha querida avó Maria Antônia, minha tia avó Maria de Jesus (mãe Jesus), todos meus tios e em especial minha tia Rosa de Jesus e seu esposo Rogério Melo.

À Universidade Federal de Uberlândia – UFU e ao Instituto de Química – IQUFU pelo apoio e infra-estrutura cedida para a execução dos trabalhos.

A FAPEMIG, Rede Mineira de Química, PROPP-UFU pelo apoio.

RESUMO

Neste trabalho foram sintetizados e caracterizados quatro novos complexos de Ru(II) a partir do precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂], onde dppm = 1,1-*bis*(difenilfosfina)metano, com os ligantes quinolina carboxilatos derivados dos ácidos: quináldico, quinolínico, quinurênico e xanturênico. Os complexos formados apresentam fórmula geral *cis*-[Ru(O-O)(dppm)₂]PF₆ e foram caracterizados por espectroscopia vibracional de absorção na região do infravermelho (IV), espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível, espectroscopia de ressonância magnética nuclear de fósforo – RMN ³¹P{¹H}, análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN) e medidas de condutividade. A partir dos espectros de RMN ³¹P{¹H} foi possível confirmar a coordenação dos ligantes na forma bidentada ao Ru(II) devido à observação de dois sinais tripletos. No espectro IV dos complexos existem estiramentos das bandas do C=N e do COO⁻, característicos dos ligantes quinolina carboxilatos. Os resultados de análise elementar (CHN) mostraram-se compatíveis com as fórmulas propostas, indicando a pureza dos compostos. Os complexos contendo os ânions do ácido quináldico e ácido quinurênico, bem como o precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] e a metalodroga de referência *cis*platina foram avaliados nas linhagens de células tumorais HepG2 (carcinoma hepatocelular humano-fígado), MCF-7 (adenocarcinoma da mama humano) e MO59J (glioblastoma humano - cérebro) e uma linhagem celular normal, a GM07492A (fibroblastos de pulmão humano normal). Os complexos estudados apresentaram resultados promissores frente às células tumorais avaliadas. O *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ foi o que apresentou melhores resultados de atividade citotóxica nas três linhagens tumorais HepG2, MCF-7 e MO59J quando comparado ao precursor e à *cis*platina. Em relação ao precursor, a atividade foi potencializada mais de 10 vezes para as linhagens HepG2 e MCF-7 e cerca de 2 vezes para MO59J. Quando comparado à *cis*platina, observou-se uma diminuição da citotoxicidade em aproximadamente 2 vezes para as linhagens celulares MO59J e MCF-7 e um aumento de 1,6 vezes para a linhagem HepG2. O complexo *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆ apresentou um MIC de 18 µM contra o *Mycobacterium tuberculosis*, valor apenas ligeiramente melhor que o encontrado para o complexo precursor.

Palavras-chave: Complexos de rutênio(II). Quinolina Carboxilatos. Citotoxicidade. dppm. RMN ³¹P{¹H}.

ABSTRACT

In this work were synthesized and characterized four new complexes of Ru(II) from the *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] precursor, dppm = 1,1-*bis*(diphenylphosphino)methane, with the quinoline carboxylate ligands obtained from the acids: quinaldic, quinolinic, kynurenic and xanthurenic. The obtained complexes have the general formula *cis*-[Ru(O-O)(dppm)₂]PF₆ and were characterized by IR, UV-vis and ³¹P{¹H} NMR spectroscopies, elemental analysis of carbon, hydrogen and nitrogen (CHN) and conductivity measurements. From the ³¹P{¹H} NMR spectra was possible to confirm the ligand coordination to the Ru(II) in the bidentate fashion due to the observation of two triplets signals. In the IR spectra of the complexes there are vibrational modes corresponding to C=N and COO⁻ groups characteristic of the quinoline carboxylate ligands. The elemental analysis (CHN) results were consistent with the proposed formulas indicating their purity. The complexes containing the anions of quinaldic acid and kynurenic acid, as well as the *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] precursor and the reference metallodrug *cis*platin were evaluated in the tumor cell lines HepG2 (human hepatocellular carcinoma, liver), MCF-7 (human breast adenocarcinoma) and MO59J (glioblastoma human-brain) and one normal cell line, the GM07492A (normal human lung fibroblasts). The studied complexes have shown promising results in the studied cell lines. The *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ showed the best results of cytotoxicity in the three tumor cell lines HepG2, MCF-7 and MO59J when compared to the precursor and *cis*platin. The activity increased more than 10 times against the cell lines HepG2 and MCF-7 and about 2 times to MO59J when compared with the precursor. When compared with *cis*platin the activity decreased approximately 2 times against the cell lines MCF-7 and MO59J and increased 1.6 times against HepG2. The *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆ complex displayed a MIC of 18 μM against *Mycobacterium tuberculosis*, this value was only slightly better than that found for the precursor complex.

Keywords: ruthenium(II) Complexes. Quinoline Carboxylates. Cytotoxicity. dppm. ³¹P{¹H} NMR.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Os valores de MIC em ($\mu\text{g mL}^{-1}$ e μM) da atividade dos complexos de rutênio(II) e os ligantes livres contra o <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , comparado com o medicamento de referência.....	32
TABELA 2 – Estruturas do precursor, ligantes e complexos sintetizados.....	43
TABELA 3 – Resultados da análise elementar dos complexos sintetizados.....	44
TABELA 4 – Valores de condutividade molar (Λ) para os complexos de Ru(II).....	45
TABELA 5 – Possíveis modos de coordenação do ânion do ácido quináldico ao <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppm) ₂].....	46
TABELA 6 – Valores de deslocamento químico (ppm) e constante de acoplamento ($^2J_{P-P}$) para os complexos de Ru(II).....	48
TABELA 7 – Frequência (cm^{-1}) correspondentes às principais bandas e atribuições dos espectros no (IV) do complexo precursor <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppm) ₂].....	50
TABELA 8 – Principais bandas de absorção observadas nos espectros (IV), dos complexos de Ru(II) obtidos neste trabalho.....	51
TABELA 9 – Dados de espectroscopia de absorção na região do UV-vis dos complexos de rutênio(II).....	54
TABELA 10 – Valores de IC ₅₀ dos complexos de Ru(II) e da <i>cis</i> platina nas linhagens celulares HepG2, MCF-7, MO59J e GM07492A.....	57
TABELA 11 – Índice de seletividade IS dos complexos de Ru(II) e da <i>cis</i> platina nas linhagens celulares HepG2, MCF-7 e MO59J.....	59
TABELA 12 – Os valores de MIC em ($\mu\text{g mL}^{-1}$ e μM) da atividade antimicobacteriana dos complexos de Ru(II), o ligante livre e a droga de referência (<i>isoniazida</i>).....	60

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Representação pela teoria do campo cristalino para os orbitais atômicos do Ru(II).....	16
FIGURA 2 – Representação esquemática da visão clássica de retrodoação.....	17
FIGURA 3 – Estrutura da bifosfina.....	19
FIGURA 4 – Ligantes quinolina carboxílicos.....	19
FIGURA 5 – Complexos de cobre(II), cádmio(II) e rutênio(II) contendo ânions dos ácidos quinolínico, xanturênico e picolínico.....	21
FIGURA 6 – Hidrólise da <i>cis</i> platina intracelular.....	23
FIGURA 7 – Representação esquemática da entrada da <i>cis</i> platina na célula e sua posterior ligação com o DNA no núcleo.....	24
FIGURA 8 – Interações da <i>cis</i> platina com as bases adenina (a) e guanina (b).....	25
FIGURA 9 – Fórmulas estruturais dos complexos de platina. <i>cis</i> platina (a); carboplatina (b); oxaliplatina (c); nedaplatina (d); lobaplatina (e) e heptaplatina (f).....	27
FIGURA 10 – Complexos de rutênio com alta atividade antitumoral: KP-1019 (a) e NAMI-A (b)	28
FIGURA 11 – Possível mecanismo de reação do KP1019 – Keppler (JAKUPEC <i>at al.</i> , 2008).....	30
FIGURA 12 – Complexos de Ru(II) com o picolinato formando o <i>cis</i> -[Ru(pic)(dppm) ₂]PF ₆ e o <i>cis</i> -[Ru(pic)(dppe) ₂]PF ₆	32
FIGURA 13 – Espectro de RMN de fósforo ³¹ P{ ¹ H} do <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppm) ₂], em CH ₂ Cl ₂ /D ₂ O e frequência de 162 MHz.....	46

- FIGURA 14** – Espectro de RMN de fósforo $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ e ampliação na região do PF₆⁻, em CH₂Cl₂/D₂O e frequência de 162 MHz.....47
- FIGURA 15** – Espectro de absorção na região do (IV) do precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂]...49
- FIGURA 16** – Espectro de absorção na região do (IV) do complexo *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ sobreposto ao do precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂].....51
- FIGURA 17** – Espectro de absorção na região do UV-vis do complexo *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ sobreposto ao do precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] em CH₂Cl₂ (5,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹).....53
- FIGURA 18** – Efeito dos complexos de rutênio *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] (A), *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ (B) e *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆ (C) sobre a viabilidade celular das linhagens GM07492A, HepG2, MCF-7 e MO59J avaliado pelo ensaio colorimétrico do XTT após 24 horas.....56

LISTA DE ABREVIATURAS

IV	Infravermelho
f	Banda de intensidade fraca no (IV)
F	Banda de intensidade forte no (IV)
m	Banda de intensidade média no (IV)
M.M	Massa molar
Hz	Hertz, ciclos por segundo
MHz	Mega-hertz
UV/vis	Ultravioleta / visível
s	Singleto (RMN)
t	Tripleto (RMN)
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
dppm	1,1- <i>bis</i> (difenilfosfina)metano
quin	Ânion do ácido quináldico
quinu	Ânion do ácido quinurênico
quino	Ânion do ácido quinolínico
xant	Ânion do ácido xanturênico
IL	Transições inter e intraligantes
M	Átomo de metal central em um complexo
sh	Ombro
IC ₅₀	Concentração da droga requerida para redução de 50% do crescimento celular
IS	Índice de seletividade
TCLM	Transferência de carga ligante - metal
TCML	Transferência de carga metal - ligante
LUMO	Orbital molecular vazio de menor energia
HOMO	Orbital molecular ocupado de maior energia
MIC	Concentração inibitória mínima
M-O	Ligação metal oxigênio
S.cm ² .mol ⁻¹	Condutividade molar
² J _{p-p}	Constante de acoplamento
³¹ P{ ¹ H}	Fósforo-31 desacoplado de hidrogênio (RMN)
XTT	Kit toxicológico de ensaio colorimétrico
pic	Ligante picolinato

LISTA DE SÍMBOLOS

Δ	Variação
β	Vibração de deformação no plano (IV)
ε	Absortividade molar
α	Ângulo de desvio
γ	Vibração de deformação angular assimétrico fora do plano
ν	Vibração de estiramento (IV) ou frequência (cm^{-1})
ν_s	Vibração de estiramento simétrico
ν_{as}	Vibração de estiramento assimétrico
λ	Comprimento de onda (nm)
$\lambda_{\text{máx}}$	Comprimento de onda máximo
π	Ligação pi
σ	Ligação sigma
μ	Micro
Λ	Condutividade molar

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	Características do rutênio.....	16
1.2	Características das fosfinas.....	18
1.3	Ligantes quinolina carboxílatos.....	19
1.4	Modos de coordenação dos ligantes: ânions dos ácidos quinolínico, xanturênico e picolínico.....	20
1.5	Câncer.....	21
1.6	O que causa o câncer.....	21
1.7	Complexos metálicos <i>cis</i> platina no tratamento do câncer.....	22
1.8	Mecanismo de ação da <i>cis</i> platina.....	22
1.9	Ação da <i>cis</i> platina.....	24
1.10	Alguns obstáculos ao uso da <i>cis</i> platina e a busca de novos compostos.....	25
1.11	Complexos de rutênio no tratamento do câncer.....	27
1.12	Química inorgânica no tratamento da tuberculose.....	31
1.13	Complexo de rutênio no tratamento da tuberculose.....	32
1.14	Objetivos.....	33
2	PARTE EXPERIMENTAL.....	34
2.1	Atmosfera inerte.....	34
2.2	Solventes.....	34
2.3	Reagentes químicos utilizados.....	34
2.4	Síntese do precursor <i>trans</i> -[RuCl ₂ (dppm) ₂].....	35
2.5	Síntese do precursor <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppm) ₂].....	35
2.6	Síntese do complexo <i>cis</i> -[Ru(quin)(dppm) ₂]PF ₆	35
2.7	Síntese do complexo <i>cis</i> -[Ru(quinu)(dppm) ₂]PF ₆	36
2.8	Síntese do complexo <i>cis</i> -[Ru(quino)(dppm) ₂]PF ₆	36
2.9	Síntese do complexo <i>cis</i> -[Ru(xant)(dppm) ₂]PF ₆	37
3	INSTRUMENTAÇÃO E TÉCNICAS EXPERIMENTAIS.....	38
3.1	Análise elementar de C, H e N.....	38
3.2	Análise condutimétrica.....	38
3.3	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-vis).....	38
3.4	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear RMN de fósforo ³¹ P{ ¹ H}.....	38
3.5	Espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho (IV).....	39
4	ENSAIO DE CITOTOXICIDADE <i>IN VITRO</i>.....	39

4.1	Linhagem de células tumorais.....	40
4.2	Atividade antiproliferativa.....	40
4.3	A análise estatística.....	41
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	42
5.1	Novos complexos de rutênio(II).....	42
5.2	Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN).....	44
5.3	Dados de condutividade molar (Λ) dos complexos Ru(II).....	44
5.4	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear RMN de fósforo $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$	45
5.5	Espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho (IV).....	48
5.6	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-vis).....	52
5.7	Testes de citotoxicidade <i>in vitro</i>	55
5.8	Atividade antimicobacteriana.....	59
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	61
	REFERÊNCIAS.....	62
APÊNDICE A – Espectroscopia de ressonância magnética nuclear		
	RMN de fósforo $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$	67
APÊNDICE B – Espectroscopia de absorção na região do infravermelho		
	(IV).....	69
APÊNDICE C – Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível		
	(UV-vis).....	71

1 INTRODUÇÃO: QUÍMICA INORGÂNICA & BIOINORGÂNICA.

A Química é conhecida como ciência central que possibilita o estudo da matéria, levando em conta a sua composição, as reações e as transformações sendo fundamental para a existência da vida e garantia do bem estar à humanidade (SHRIVER; ATKINS, 2008).

A Química Inorgânica é uma vertente da química que se ocupa da investigação experimental e interpretação teórica das propriedades e reações dos elementos e seus compostos, exceto os hidrocarbonetos e seus derivados. Os compostos inorgânicos podem ser líquidos e sólidos iônicos, que podem ser descritos pelas aplicações simples da eletrostática clássica, aos compostos covalentes e aos metais (SHRIVER; ATKINS, 2008).

Dois tipos de reações fundamentais ajudam a sistematizar a química inorgânica: as reações de ácidos e bases, resultantes da transferência de um próton ou compartilhamento de pares de elétrons e aquela que ocorre pela oxidação e pela redução (HOUSECROFT; SHARPE, 2013).

Os compostos de coordenação podem ser definidos como sendo aqueles que apresentam um átomo ou íon central, ao qual estão ligados moléculas neutras ou íons, cujo número geralmente excede o número de oxidação ou valência do átomo ou íon central. Nesses compostos, o átomo central é usualmente, um metal de transição. Os complexos metálicos, nos quais o átomo central metálico ou íon está rodeado por vários átomos ou íons, têm um papel importante em química inorgânica, especialmente para os elementos do bloco *d* (HOUSECROFT; SHARPE, 2013).

Grandes áreas da química inorgânica permanecem inexploradas, assim constantemente novos compostos inorgânicos estão sendo sintetizados. A indústria química é fortemente dependente da química inorgânica. Esta é essencial para a formulação e o melhoramento de materiais modernos, como catalisadores, semicondutores (guia de luz), dispositivos ópticos não lineares, supercondutores e materiais cerâmicos avançados (HOUSECROFT; SHARPE, 2013).

Nas últimas décadas, com o crescente desenvolvimento da química bioinorgânica, incluindo-se a química inorgânica medicinal, tem desempenhado um papel de destaque, no desenvolvimento de novos medicamentos. A bioinorgânica tem um papel primordial no estudo dos metais em compostos de coordenação em sistemas biológicos, que tem como objetivo melhorar a qualidade de vida do ser humano e a descoberta de novos fármacos. Também possibilita estudar e avaliar a toxicidade dos metais em compostos de

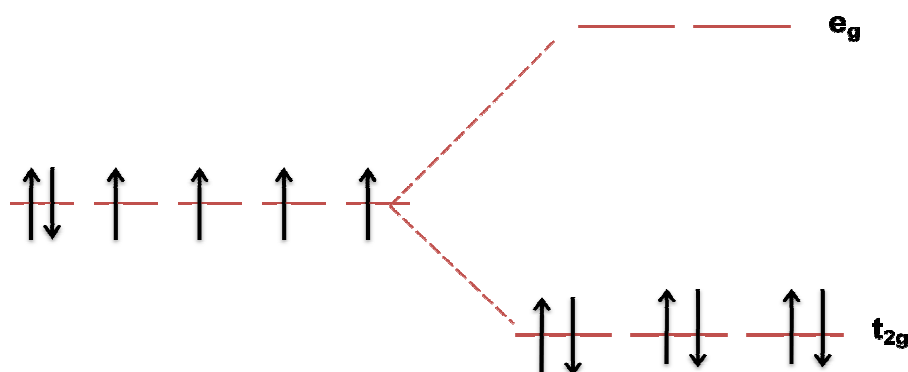
coordenação nos sistemas biológicos. Através da bioinorgânica é possível estudar as funções, metabolismos e aplicações de íons inorgânicos e seus complexos em sistemas biológicos, correlacionando a atividade biológica apresentada por um sistema inorgânico com suas características estruturais e eletrônicas (SHRIVER; ATKINS, 2008).

1.1 Características do rutênio.

O rutênio está entre os metais de transição muito importante na formação de complexos, especialmente nos baixos estados de oxidação, formando complexos de Ru(II) e Ru(III) quase invariavelmente número de coordenação seis, baixo spin e geometria octaédrica. Como tais, os três orbitais t_{2g} orientados para as faces do octaedro, que são totalmente preenchidos nos complexos de Ru(II) (FIGURA 1) e possuem uma vacância eletrônica nos de Ru(III). A diferença de um elétron entre os estado de oxidação II e III afeta de maneira significativa seu comportamento químico (ZIGLER *et al.*, 2008).

O Ru(III) tem configuração t_{2g}^5 e e_g^0 . Geralmente comporta-se como um íon metálico π -receptor, é um ácido com caráter intermediário bastante inerte em relação à troca de ligantes (ZIGLER *et al.*, 2008). De maneira geral, o Ru(III) tem preferência por ligantes saturados (duros), tais com H_2O , NH_3 , OH^- e Cl^- .

FIGURA 1 – Representação pela teoria do campo cristalino para os orbitais atômicos do Ru(II).



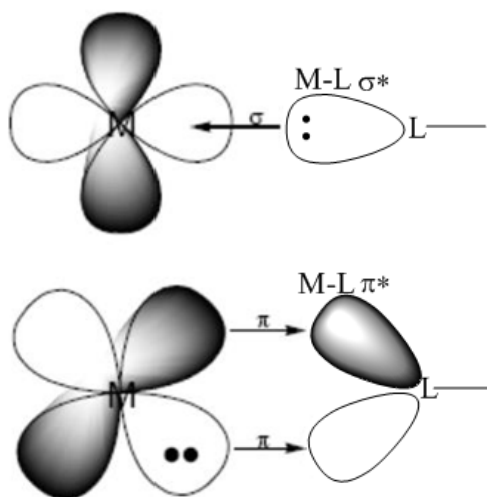
Fonte: Autor (2015).

O Ru(II) tem simetria t_{2g}^6 e e_g^0 comportando-se como um íon metálico π -doador (ácido mole) sendo, portanto, encontrado associado a ligantes insaturados, que apresentam orbitais π^* vazios, tais como: N_2 , CO , organonitrilas, piridinas, fosfitos, NO ,

arsinas dentre outros que aceitam densidade eletrônica do centro metálico. Essa interação que o ligante aceita densidade eletrônica do metal é chamada de retrodoação, onde doação σ e a retrodoação π são sinérgicas, isto é, elas se reforçam. Quanto mais densidade eletrônica é transferida ao metal pela ligação σ , mais densidade é deslocada para o ligante através da ligação π (ZIGLER *et al.*, 2008). Assim, a ligação entre um metal e um ligante tem um caráter de dupla ligação, por isso é bastante forte (FIGURA 2) (SHRIVER e ATKINS, 2008). Isto normalmente ocorre com centros metálicos que possuem densidade eletrônica elevada e os ligantes possuem orbitais atômicos vazios com simetria adequada para interagir com o orbital t_{2g} do metal formando a ligação π (BUGARCIC *et al.*, 2008).

A alta densidade eletrônica sobre o rutênio, devido à coordenação dos ligantes, teria como consequência uma baixa estabilidade termodinâmica do complexo formado. Entretanto, quando o ligante é um receptor de elétrons π , é possível a estabilização do complexo e dessa forma, vários complexos de rutênio com ligantes que os estabilizam tem sido estudados (BURKHEAD *et al.*, 2008).

FIGURA 2 – Representação esquemática da visão clássica de retrodoação.



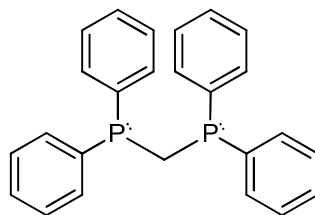
Fonte: Autor. Adaptado de Shriver e Atkins (2008).

1.2 Características das fosfinas.

As fosfinas são ligantes importantes na química dos metais de transição, são extremamente reativas e formam catalisadores versáteis, porém, um processo chamado degradação de fosfinas tende a limitar a sua aplicação industrial (SHUTTLEWORTH *et al.*, 2013). Em geral, há duas propriedades dos ligantes fosfina que são consideradas importantes nas discussões sobre a reatividade dos seus complexos: o volume estérico e a capacidade de doar e receber elétrons (SHUTTLEWORTH *et al.*, 2013). As fosfinas têm um par de elétrons isolado no átomo de P que é apreciavelmente básico e nucleofílico e pode servir como um doador σ . As fosfinas também têm orbitais vazios no átomo de P que podem sobrepor-se com os orbitais ocupados dos íons de metais 3d e comportarem-se como receptores π , ou seja, são capazes de acomodar densidade eletrônica doada pelos centros metálicos. A ligação das fosfinas com um átomo de metal ou íon metálico de transição, é feita por uma ligação σ do ligante para o metal e uma ligação π do metal de volta para o ligante (SHRIVER e ATKINS, 2008).

Existem dois modos de visualizar a retrodoação em ligações M-PR₃. A visão clássica considera que os ligantes fosforados têm orbitais *d* desocupados, de simetria adequada e de baixa energia, para recobrimento com os orbitais *d* preenchidos do centro metálico, e consequentemente, são capazes de receber densidade eletrônica retrodoada pelo centro metálico, como mostra a (FIGURA 2) (SHUTTLEWORTH *et al.*, 2013). A visão mais recente baseada em cálculos da mecânica quântica suporta a retrodoação a partir dos orbitais *d* preenchidos do centro metálico para os orbitais moleculares σ^* das ligações P-R (SHRIVER e ATKINS, 2008).

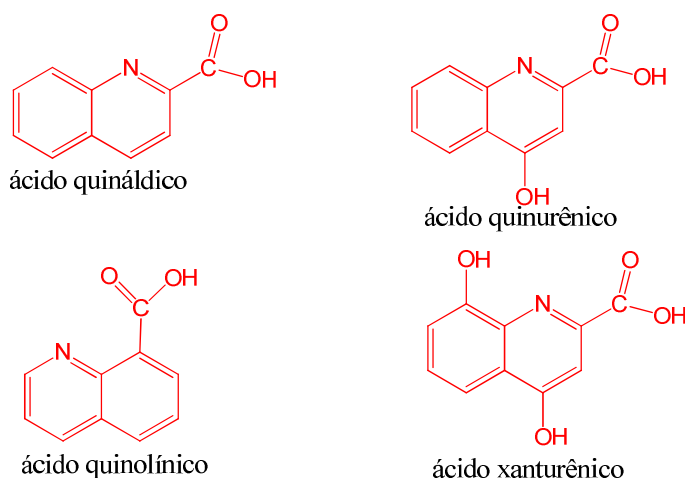
A 1,1-*bis*(difenilfosfina)metano (dppm), (FIGURA 3) é uma fosfina bidentada, onde os átomos de fósforo estão ligados a dois grupos fenílicos e ligados entre si através de um carbono sp³ (-CH₂-). Comporta-se como uma base de Lewis usando o seu par isolado de elétrons para doar densidade eletrônica para um ácido de Lewis. As fosfinas podem formar uma variedade de complexos, com atividades diversas, tanto em processos catalíticos como atividades antitumorais (SHUTTLEWORTH *et al.*, 2013).

FIGURA 3 – Estrutura da bifosfina.

Fonte: Autor (2015).

1.3 Ligantes quinolina carboxílicos.

Os ligantes quinolina carboxílicos são moléculas orgânicas que contêm em sua composição átomos de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio. São ácidos orgânicos que apresentam várias características em comum. Todos apresentam em sua fórmula estrutural dois anéis aromáticos, um átomo de nitrogênio como heteroátomo e um grupo carboxílico. Dois dos compostos estudados apresentam hidroxila em sua composição, (FIGURA 4) (MAŁECKI *et al.*, 2013). Esses ligantes podem coordenar ao centro metálico de maneiras diferentes, que depende da esfera de coordenação existente (MAŁECKI *et al.*, 2013). Quando a esfera de coordenação do centro metálico contém bifosfina, a coordenação ocorre preferencialmente pelo carboxilato (COO^-) e quando a esfera de coordenação possui outros ligantes como: H_2O , PPh_3 , CO e Cl , há outras possibilidades de coordenação que pode ser com o oxigênio e nitrogênio ou para os que possuem hidroxila, como é o caso do ácido xanturênico, pode coordenar oxigênio nitrogênio e hidroxila (MAŁECKI *et al.*, 2013).

FIGURA 4 – Ligantes quinolina carboxílicos.

Fonte: Autor (2015).

Os ligantes quinolínicos são adequados à retrodoação, os mesmos possuem orbitais π^* vazio e pares de elétrons capazes de formar ligações σ fortes podendo estabilizar íons metálicos em estado de oxidação baixo. Um grande número de complexos de Ru(II) com ligantes *N*-heterocíclico tem sido extensivamente estudado, no intuito de avaliar suas citotoxicidades (MAŁECKI *et al.*, 2013).

Os derivados quinolínicos representam uma das principais classes de heterociclos, presente em vários produtos naturais com potencial atividade farmacológica, como por exemplo, atividade antiviral, antitumoral, anti-inflamatória, antileishmania, antifúngica, antimalárica, dentre outras (SOUZA *et al.*, 2009).

1.4 Modos de coordenação dos ligantes: ânions dos ácidos quinolínico, xanturênico e picolínico.

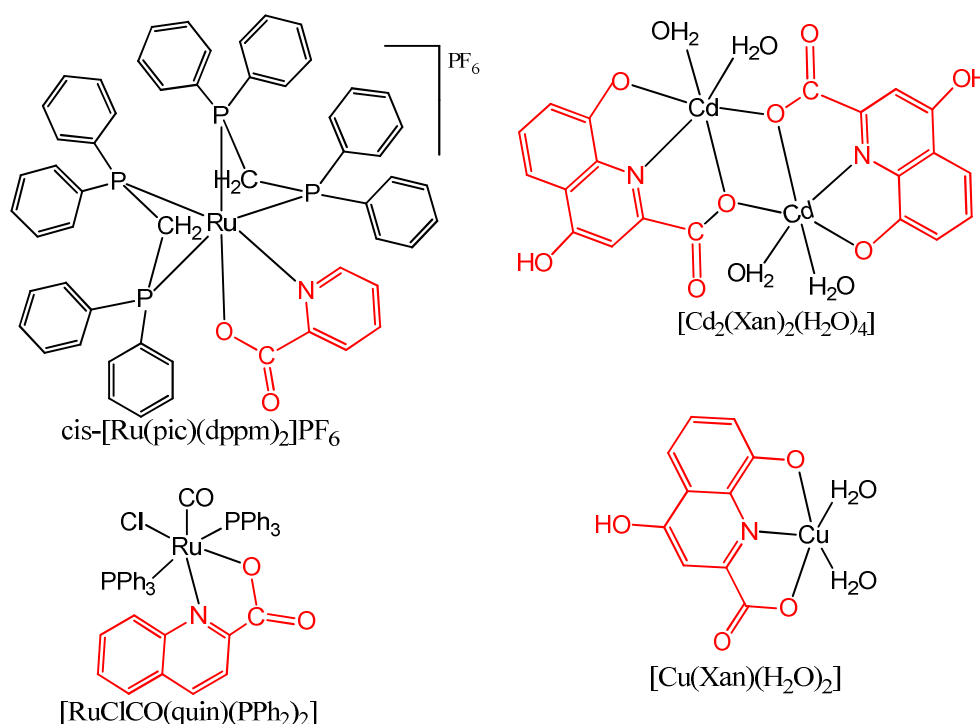
Estudos sobre complexos de cobre(II), mostram-se interessantes pela química diversificada e também pela grande utilidade que estes apresentam com atividade contra uma variedade de tumores (CER-KERČMAR *et al.*, 2012). Há também muitas evidências que alguns complexos de cobre(II) são efetivos agentes antituberculose (CER-KERČMAR *et al.*, 2012).

Os complexos (FIGURA 5) de cobre(II) e cádmio Cd(II) têm sido obtidos e estudados com ligantes quinolina carboxilatos explorando os possíveis diferentes modos de coordenação (TRATAR PIRC *et al.*, 2012). Para o complexo de cobre(II) $[\text{Cu}(\text{Xan})(\text{H}_2\text{O})_2]$, o ambiente de coordenação é constituído por cinco átomos doadores σ : dois átomos de oxigênio de duas moléculas de água e outros três do ligante, sendo dois oxigênios e um nitrogênio que possui uma forma de coordenação tridentada (TRATAR PIRC *et al.*, 2012). Tais coordenações resultam em anéis quelato de cinco membros. Onde os átomos doadores definem os vértices de uma pirâmide quadrada distorcida cujo plano é ocupado pelas duas moléculas de água (FIGURA 5) (TRATAR PIRC *et al.*, 2012).

O complexo $[\text{Cd}_2(\text{Xan})_2(\text{H}_2\text{O})_4]$ é composto por dois átomos de cádmio, ligados por um par de átomos de oxigênio do carboxilato dos dois ligantes Xan. Os ambientes de coordenação dos dois átomos de metal são semelhantes, cada um constituído por dois ligantes Xan e duas moléculas de água. Cada íon metálico se encontra num ambiente de coordenação octaédrico e os seis átomos σ doadores definem os vértices de uma pirâmide pentagonal distorcida (TRATAR PIRC *et al.*, 2012).

Já o ânion do ácido picolínico em um complexo de Ru(II) de fórmula *cis*-[Ru(pic)(dppm)₂]PF₆ coordenou-se na forma bidentada através dos átomos de oxigênio e nitrogênio, como mostrado na FIGURA 5.

FIGURA 5 – Complexos de cobre(II), cádmio(II) e rutênio(II) contendo ânions dos ácidos quinolínico, xanturênico e picolínico.



Fonte: Tratar Pirc (2012) e Pavan (2010).

1.5 Câncer.

O processo de formação de câncer, em geral se dá lentamente, podendo levar vários anos para que uma célula cancerosa prolifere e dê origem a um tumor visível. Esse processo passa por vários estágios antes de chegar ao tumor. No primeiro estágio as células sofrem o efeito dos agentes cancerígenos ou carcinógenos que provocam modificações em alguns de seus genes. Nessa fase as células se encontram, geneticamente alteradas, porém ainda não é possível se detectar um tumor clinicamente. (ALDERTON, 2014).

1.6 O que causa o câncer.

As causas do câncer são variadas, podendo ser externas ou internas ao organismo, estando ambas inter-relacionadas. As causas externas relacionam-se ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios de um ambiente social e cultural. De todos os casos, 80% a 90% dos cânceres estão associados a fatores ambientais. Alguns deles são bem conhecidos: o cigarro pode causar câncer de pulmão, a exposição excessiva ao sol pode causar câncer de pele, e alguns vírus podem causar leucemia. Outros estão em estudo, tais como alguns componentes dos alimentos que ingerimos, e muitos são ainda completamente desconhecidos (ALDERTON, 2014).

Segundo dados do Instituto Nacional do Câncer (INCA), estima-se que cerca de 580 mil casos novos da doença para 2015. De acordo com o Ministério da Saúde, os cânceres mais incidentes na população brasileira no próximo ano serão de pele, melanoma (182 mil), próstata (69 mil); mama (57 mil); cólon e reto (33 mil), pulmão (27 mil) e estômago (20 mil). Ao todo estão relacionados na publicação os 19 tipos de câncer mais incidentes, sendo 14 na população masculina e 17 na feminina (INCA) (ALDERTON, 2014).

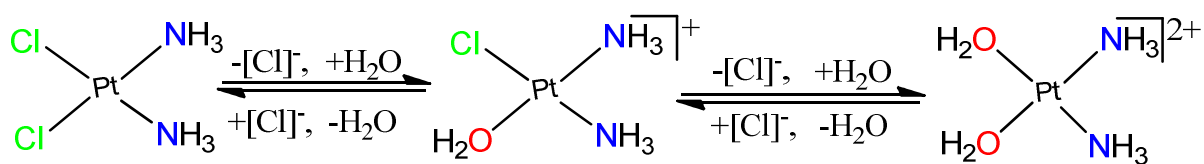
1.7 Complexos metálicos *cisplatina* no tratamento do câncer.

A *cisplatina* *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂], (FIGURA 10 (a)) começou a ser submetido a testes clínicos no início da década de 70, inicialmente em pacientes terminais e posteriormente em tumores localizados, como câncer de testículo e ovário, tendo sido lançado no mercado americano em 1979 (BENITE, 2007). O carcinoma testicular, que era quase sempre letal tornou-se curável em cerca de 90% dos casos quando diagnosticados na fase inicial (CORTES-DERICKS *et al.*, 2014). Atualmente a *cisplatina* é usado em vários outros tipos de neoplasias, como câncer de pulmão, cabeça, esôfago, estômago, linfomas, melanoma, colorretal, pulmão, entre outros, sobretudo em associação com outras drogas, em vários esquemas terapêuticos. (BENITE, 2007). Este foi o medicamento precursor com metal utilizado no tratamento do câncer, aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration), nos Estados Unidos. (CORTES-DERICKS *et al.*, 2014).

1.8 Mecanismo de ação da *cisplatina*.

Esses estudos mostraram que, antes de alcançar as células, *cisplatina* passa por reações de substituição, sendo a mais importante a reação de hidrólise (FIGURA 7) para formar as espécies ativadas $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]^+$ e $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$, que reagem mais rapidamente com os alvos celulares (BENITE, 2007). Do lado externo da célula, no plasma sanguíneo, a concentração dos íons cloretos é alta cerca de (100 mM), o que impede a hidrólise dos ligantes cloretos e mantém a *cisplatina* no estado neutro $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ (CORTES-DERICKS *et al.*, 2014). Após entrar na célula, a concentração de íons cloreto é muito menor (cerca de 4 mM) o que permite a hidrólise do complexo, formando espécies contendo água coordenada (FIGURA 7) (CORTES-DERICKS *et al.*, 2014).

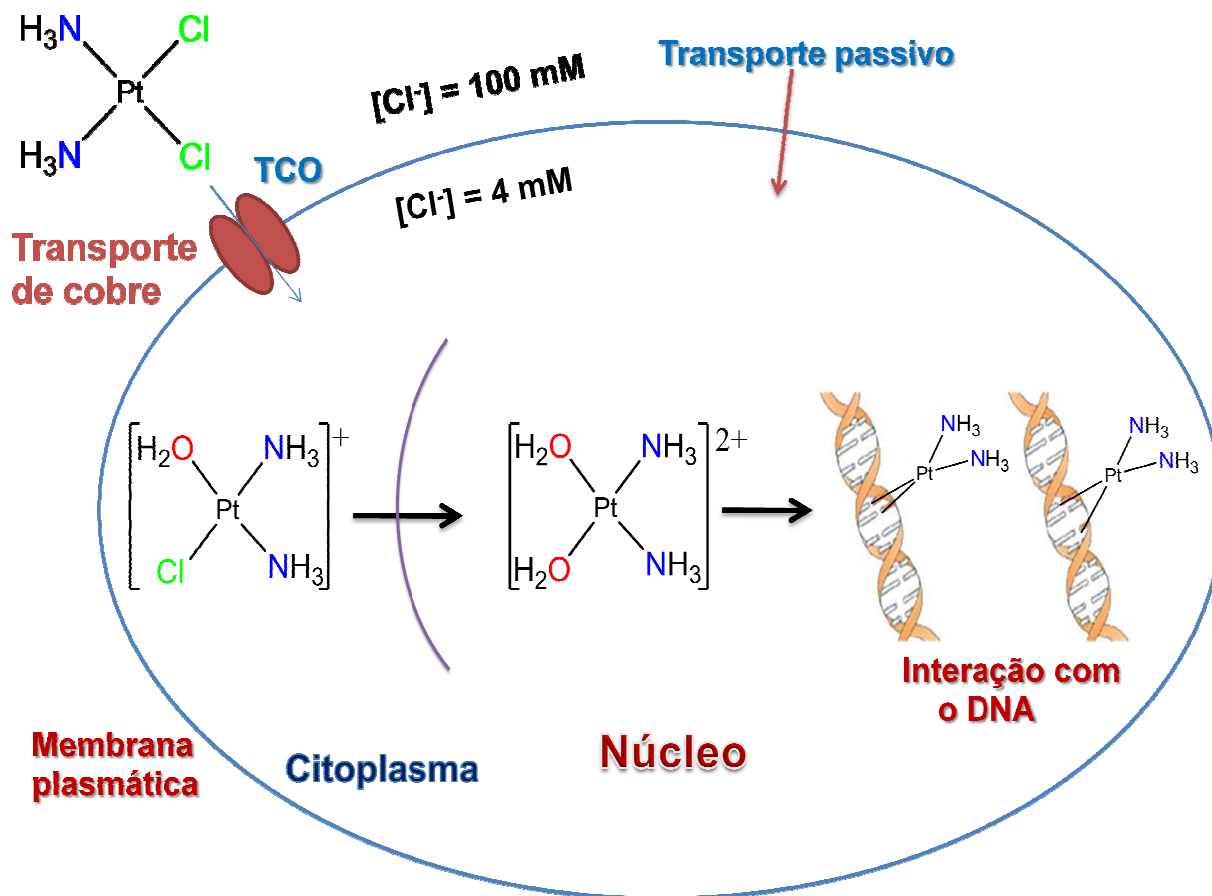
FIGURA 6 – Hidrólise da *cisplatina* intracelular.



Fonte: Autor. Adaptado de Fontes, César e Beraldo (2005).

Após sofrer hidrólise no meio intracelular, uma das questões a ser respondida era a de qual seria o alvo biológico do complexo, já que muitos componentes celulares, como o DNA, o RNA e as proteínas podem interagir com a *cisplatina* (PEREZ-REBOLLEDO, 2005). Os mecanismos bioquímicos envolvidos na entrada da *cisplatina* na célula ainda estão sob investigação, mas a difusão passiva foi, por muito tempo, considerada o principal modo pelo qual esse composto atravessa a membrana celular. Estudos mais recentes apontam a importância da difusão ativa, através da participação de transportadores de cobre e transportadores catiônicos orgânicos (TCO) (FIGURA 8) (PEREZ-REBOLLEDO, 2005).

FIGURA 7 – Representação esquemática da entrada da *cisplatina* na célula e sua posterior ligação com o DNA no núcleo.

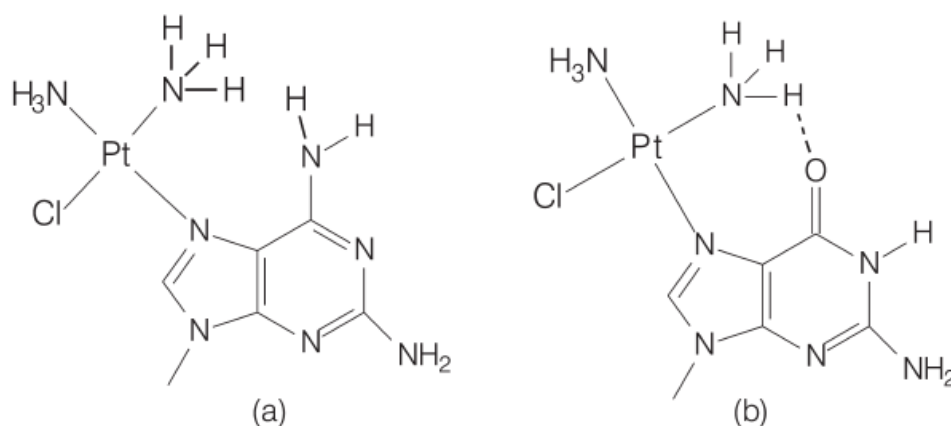


Fonte: Autor. Adaptado de Neves e Vargas (2011).

1.9 Ação da *cisplatina*.

Atualmente, há um consenso de que o alvo principal da *cisplatina* é o DNA, macromolécula constituída por duas fitas, cada uma delas composta por uma sequência de nucleotídeos, os quais por sua vez são formados por três diferentes tipos de moléculas: um açúcar, um grupo fosfato e uma base nitrogenada. As bases nitrogenadas podem ser púricas (guanina e adenina) ou pirimídicas (citosina e timina) (PEREZ-REBOLLEDO, 2005). A ligação da platina com o DNA ocorre preferencialmente através de um dos átomos de nitrogênio de guanina ou de adenina. A interação mais estável é com o nitrogênio da guanina, em razão da possibilidade de formação de ligação de hidrogênio do grupo NH₃ da *cisplatina* com o oxigênio da guanina, conforme a (FIGURA 9). Esta interação não ocorre com a adenina e vários tipos de adutos com o DNA podem ser formados (BERALDO, 2004).

FIGURA 8 – Interações da *cisplatina* com as bases adenina (a) e guanina (b).



Fonte: Fontes, César e Beraldo (2005).

Para a *cisplatina*, o aduto encontrado em maior quantidade é o que corresponde à ligação intrafitá, envolvendo bases guaninas adjacentes, o que sugere ser a formação desses adutos o maior responsável pela sua atividade anticancerígena, uma vez que provoca lesões mais difíceis de serem reparadas. A habilidade da *cisplatina* de se ligar ao DNA e de distorcer sua estrutura sugere que o composto interfere no funcionamento normal desse componente celular (PEREZ-REBOLLEDO, 2005).

Os processos de replicação e de transcrição do DNA são essenciais para a divisão celular e para a produção de proteínas. Qualquer agente que interfira nesses processos pode ser citotóxico. A inibição da replicação do DNA sugere que o composto poderia causar a apoptose das células cancerosas ao bloquear sua habilidade de sintetizar novas moléculas de DNA, necessárias para a divisão celular (BERALDO, 2004).

1.10 Alguns obstáculos ao uso da *cisplatina* e a busca de novos compostos.

Apesar de ser amplamente utilizada como metalodroga a *cisplatina* apresenta alguns problemas, dentre eles: o surgimento de resistência celular, a baixa solubilidade em água e o estreito espectro de atividade, além de graves efeitos colaterais, como neuro-toxidez, nefro-toxidez e toxidez ao trato intestinal, que se manifestam através de náuseas e vômitos intensos (BERALDO, 2004). Os efeitos adversos surgem principalmente pela complexação da *cisplatina* com proteínas e peptídeos, como por exemplo, a glutatona, o que leva ao seu acúmulo no organismo e consequente toxidez. A toxidez renal pode ser reduzida por meio de pré e pós-hidratação intensa do paciente e do

uso de manitol para aumentar a diurese, além da diluição do medicamento em solução salina hipertônica (PEREZ-REBOLLEDO, 2005).

Com o objetivo de se obter compostos mais eficazes e menos tóxicos, cerca de 3000 complexos de platina já foram sintetizados e submetidos a ensaios de atividade antitumoral, mas somente alguns mostraram atividade comparável à da *cisplatina* (BERALDO, 2004).

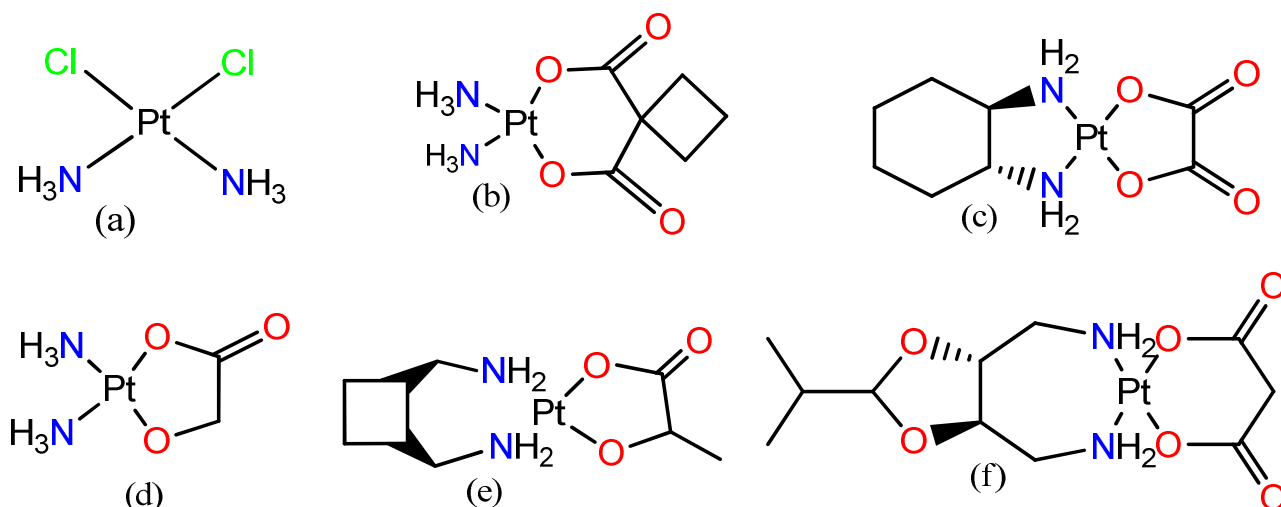
Estudos relacionando estrutura química com atividade biológica mostraram que a atividade antineoplásica de compostos de platina estava relacionada aos isômeros *cis*, já que os correspondentes isômeros *trans* se mostravam inativos (BERALDO, 2004).

Contudo, na literatura já se encontram descritos complexos com geometria *trans* que apresentam alguma atividade. Os complexos devem ser preferencialmente, eletricamente neutros, pois presumem que esses atravessam membrana celular mais facilmente do que aqueles que possuem carga. Como um complexo de platina sofre reações de substituição de ligantes no organismo, ele deve ter em sua estrutura um grupo denominado abandonador, que deve apresentar labilidade moderada, sendo o cloreto (Cl^-) o mais amplamente utilizado (PEREZ-REBOLLEDO, 2005).

Posteriormente uma série de compostos de platina foram sintetizados e tiveram suas atividades antitumorais avaliadas e apresentaram resultados satisfatórios, porém, somente três destes complexos estão sendo atualmente utilizados no tratamento do câncer. A *cisplatina* (*cis*-diamindicloroplatina(II)), carboplatina (diamina(ciclobutano-1,1-dicarboxilato) platina(II)) e oxaliplatina ((*trans*-L-diaminaciclohexano)oxalatoplatina(II)) (FIGURA 10), só foram aprovados para o tratamento de câncer a nível mundial em 1979, 1998 e 2002 respectivamente. No entanto a nedaplatina (*cis*-diamina-glicolatooplatina(II)), a lobaplatina (1,2-diaminometilciclobutano-platina(II)) e a heptaplatina (*cis*-malonatol [(4R,5R)-4,5-*bis*(aminometil)-2-isopropil-1,3-dioxolano] platina(II)) só foram aprovadas com agentes anticâncer no Japão, China e Coréia do Sul (CORTES-DERICKS *et al.*, 2014; TSENG *et al.*, 2014).

Dados recentes apontaram que os compostos de platina, sozinhos ou em combinação com outros fármacos, são usados para tratar de 40 a 80% dos pacientes com câncer, o que comprova a importância destes compostos para o tratamento desta doença, além de encorajar a busca por novos fármacos mais eficientes (NEVES e VARGAS, 2011).

FIGURA 9 – Fórmulas estruturais dos complexos de platina. *cisplatina* (a); *carboplatina* (b); *oxaliplatina* (c); *nedaplatina* (d); *lobaplatina* (e) e *heptaplatina* (f).



Fonte: Autor. Adaptado de Neves e Vargas (2011).

Os fármacos dos complexos de platina, assim como a maioria dos quimioterápicos, possuem efeitos colaterais diversos. Com intuito de diminuir esses efeitos, é que se buscam nos compostos de coordenação, novos complexos com atividades biológicas antitumorais suficientes para combater as neoplasias e que possuam menores efeitos colaterais.

1.11 Complexos de rutênio no tratamento do câncer.

Estudos envolvendo complexos de rutênio como agentes antitumorais iniciaram-se na década de 80, por Clarke, que descobriu as atividades antitumorais dos complexos de Ru(III) contendo aminas. Porém, esses compostos apresentavam inviabilidade para uso clínico, devida sua baixa solubilidade em água. No entanto descobriu-se que a solubilidade talvez não seja um papel decisivo, pois, um dos complexos derivado neutro, o *fac*-[RuCl₃(NH₃)₃], apresentava uma atividade, tão boa quanto à *cisplatina* (ALESSIO *et al.*, 2004).

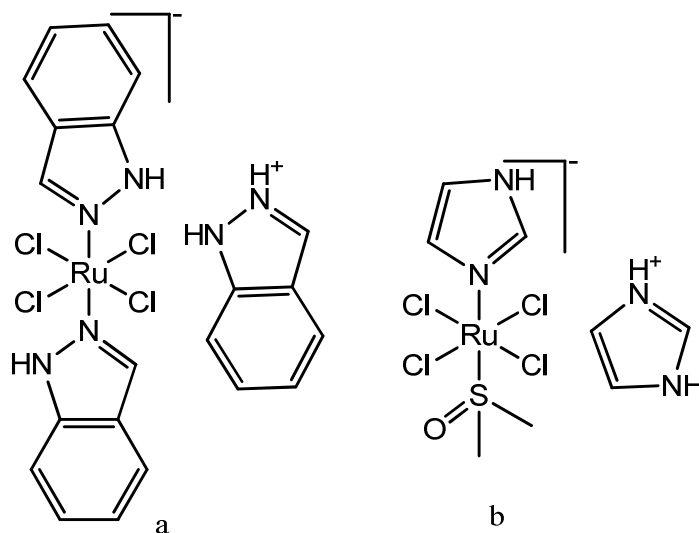
Novos complexos de rutênio têm sido muito estudados e os resultados mostram que os mesmo apresentam boa atividade como agentes anticancerígenos. Alguns complexos possuem atividade anticancerígena superior ao da *cisplatina* (SANTOS *et al.*, 2013).

As vantagens da utilização de rutênio no desenvolvimento de drogas antitumorais têm sido uma alternativa contra o câncer com excelentes resultados. Os benefícios da

exploração de rutênio incluem: uma química de coordenação bem desenvolvida proporcionando novos compostos; uma taxa de troca dos ligantes, muitas vezes comparável ao de platina ou que pode ser adaptado pela coordenação de ligantes auxiliares apropriados; geometria de coordenação octaédrica em contraste com a geometria quadrada planar de platina(II), o que implica numa reatividade e modo de atuação diferente da *cisplatina*; a acessibilidade aos estados de oxidação 2⁺, 3⁺ e 4⁺ sob condições fisiológicas e a capacidade para adaptar as taxas de transferência de elétrons e os potenciais de redox; a capacidade do rutênio de imitar o ferro na ligação com biomoléculas, tais como a transferrina e outras proteínas, o que faz com que os agentes à base de rutênio apresentem menos toxicidade do que as drogas de platina; e aumentar o conhecimento sobre os efeitos biológicos de complexos de rutênio (JAKUPEC *et al.*, 2008).

Atualmente há duas drogas anticâncer em desenvolvimento baseada em complexos de rutênio, NAMI-A de fórmula [ImH][*trans*-RuCl₄(DMSO)(ImH)] e o KP1019 - [ImH][*trans*-RuCl₄(Im)₂], (Im=imidazol), (FIGURA 10) que completaram com sucesso os testes clínicos da fase I, II e estão atualmente em fase III de testes no Instituto do Câncer Netherlands, em Amsterdam (JAKUPEC *et al.*, 2008).

FIGURA 10 – Complexos de rutênio com alta atividade antitumoral: KP-1019 (a) e NAMI-A (b).



Fonte: Autor. Adaptado de Jakupec (2008).

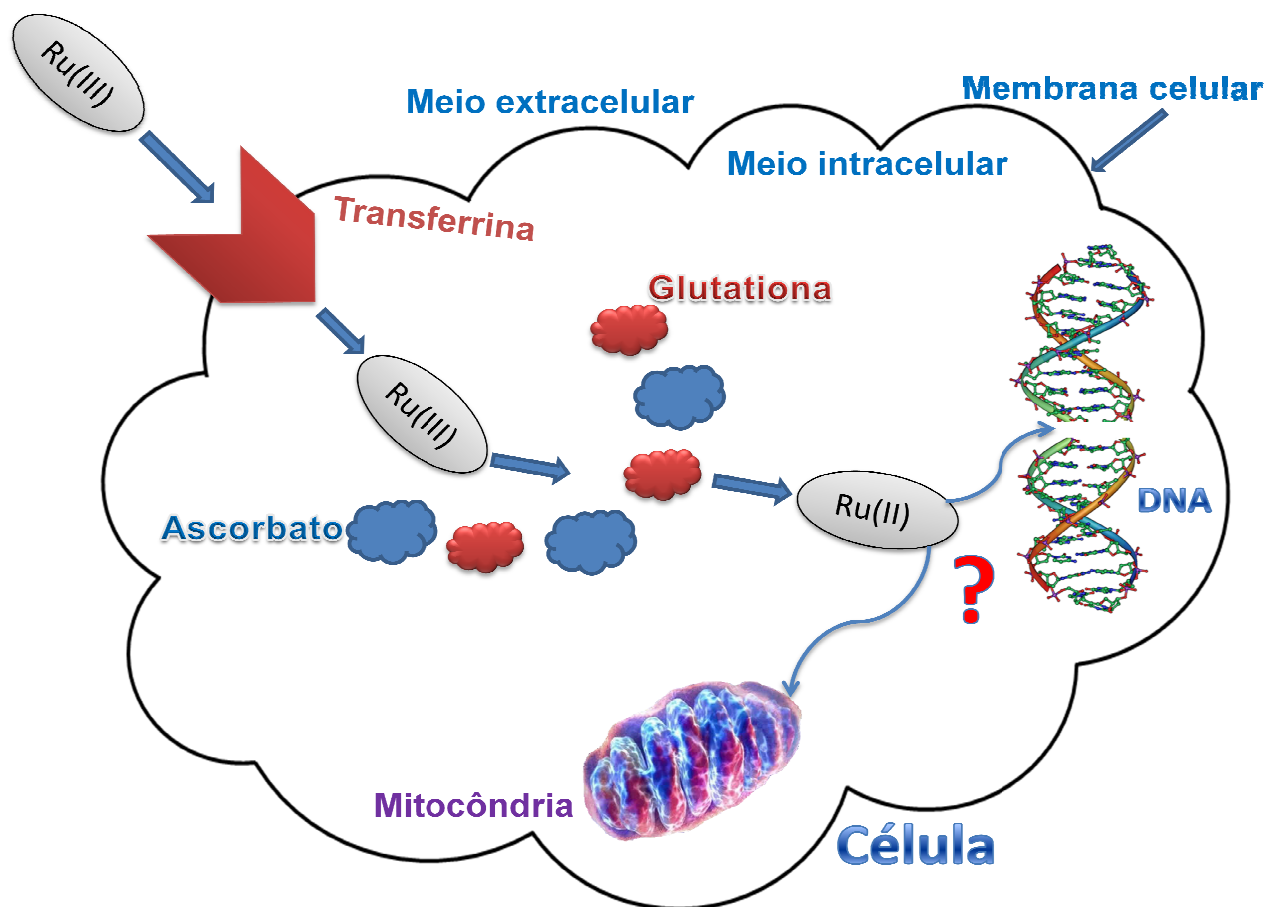
Vale ressaltar que o complexo NAMI-A apresenta baixa citotoxicidade contra células tumorais *in vitro*, porém, *in vivo*, apresenta elevada atividade contra metástase (JAKUPEC *et al.*, 2008).

Em uma suposição inicial simplificada da analogia com as drogas da platina, o DNA tem sido considerado o alvo crítico do KP1019, que foi investigado em vários estudos. Apesar da sua citotoxicidade moderada, exerce efeitos impressionantes em doses não tóxicas numa variedade de tumores. A fase I desse estudo conduzido em pacientes com tumores sólidos avançados produziram atividades biológicas satisfatórias em cinco dos seis pacientes avaliados, apesar dos pacientes não terem sido totalmente curados (JAKUPEC *et al.*, 2008).

Testes clínicos mostram que compostos de rutênio normalmente exibem menos problemas de toxicidade que as metalodrogas baseadas na platina e muitas vezes são ativas contra tumores que desenvolveram resistência à *cisplatina* ou nos quais a *cisplatina* é inativa (GROESSL *et al.*, 2007). O rutênio é um metal muito estável e exibe propriedades farmacológicas interessantes e pode ser administrado oralmente contra vários tipos de tumores como carcinoma pulmonar de Lewis, melanoma B16 e carcinoma mamário M-Ca (MOHTY *et al.*, 2014).

Os mecanismos de ação e alvos biológicos do KP1019 e NAMI-A ainda não estão elucidados (JAKUPEC *et al.*, 2008). Provavelmente suas atividades biológicas estão relacionadas primeiramente pela dissociação do cloreto, por uma redução para o rutênio(II) (BRINDELL *et al.*, 2007); sendo reduzido *in vivo* para se coordenarem mais rapidamente a biomoléculas, como proteínas do soro, tais como albumina e transferrina, apesar de ainda não estar elucidado o modo como essas ligações influenciam no mecanismo de ação desses metalofármacos (JAKUPEC *et al.*, 2008). Sugere-se que os complexos de Ru(III) mantenham o seu estado de oxidação até atingirem o tumor, onde o baixo nível de oxigênio, permite a ativação por redução levando a espécie a Ru(II), que podem provocar a quebra das fitas do DNA (FIGURA 11) (JAKUPEC *et al.*, 2008).

FIGURA 11 – Possível mecanismo de reação do KP1019 – Keppler (JAKUPEC *et al.*, 2008).



Fonte: Autor. Adaptado de Jakupiec (2008).

Um possível mecanismo de ação para o complexo de rutênio(III) NAMI-A, seria sua ativação por redução. Primeiramente, o composto é transportado para dentro da célula através da transferrina e ao chegar à célula, é reduzido a Ru(II) por moléculas redutoras, como glutathiona ou ascorbato, que estão em maior concentração, para só então ocorrer a dissociação do cloreto e interação com o DNA ou alguma outra biomolécula (FIGURA 11) (JAKUPEC *et al.*, 2008). O que favorece a redução do Ru(III) a Ru(II) nos tumores em comparação a tecido normais são as diferenças no metabolismo das células normais e tumorais (MOHTY *et al.*, 2014). A glutathiona e várias proteínas são capazes de reduzir complexos de Ru(III) *in vivo*.

Outros complexos de rutênio também apresentaram atividades promissoras como agentes anticâncer, dentre eles: α -[RuCl₂(azpy)₂] (HOTZE *et al.*, 2000; HOTZE *et al.*, 2003) *mer*-[RuCl₃(terpy)] (NOVAKOVA *et al.*, 2000), [Ru(IV)(cdta=1,2-

ciclohexanodiamintetraacetato]] e complexos organometálicos, do tipo $[\text{RuCl}(\eta^6\text{-arene})(\text{en})]\text{PF}_6$ (en=etilenodiamina) (MORRIS *et al.*, 2001). Complexos de Ru(II) também apresentam atividades antitumorais, como o *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{DMSO})_4]$ (ALDERFER *et al.*, 2014; VERSTOVSEK *et al.*, 2014), que mostra alguma atividade e complexos estabilizados por ligantes heteroaromáticos, que tem significativa atividade citotóxica (GUILHOT *et al.*, 2014; MOHTY *et al.*, 2014).

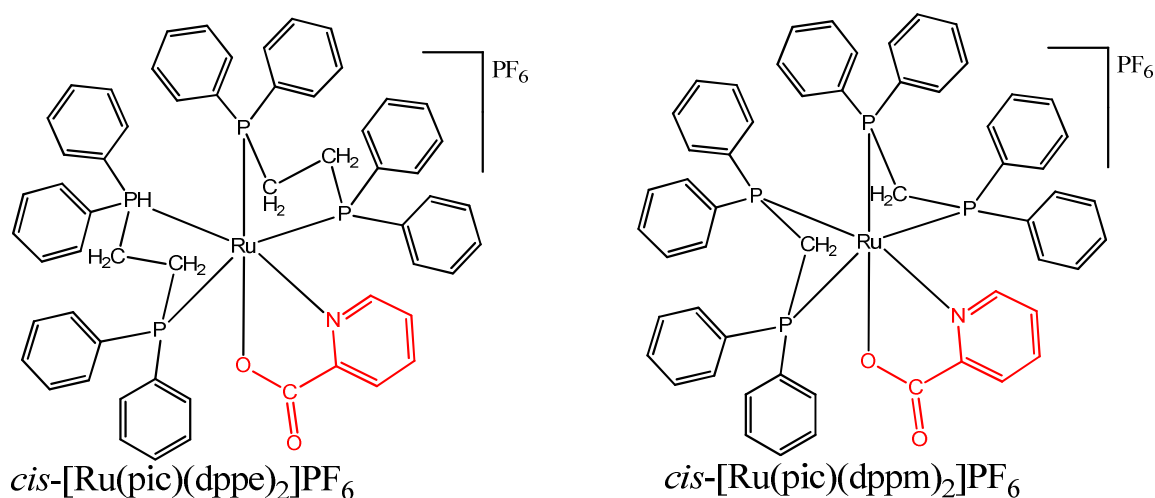
1.12 Química inorgânica no tratamento da tuberculose.

A utilização de complexos metálicos tem sido também uma estratégia utilizada na tentativa de obtenção de novos fármacos no tratamento da tuberculose (COKER *et al.*, 2007). Existe uma grande busca por novos fármacos mais eficazes e que tenham menos efeitos colaterais e baixo custo, para ajudar no tratamento da tuberculose. Vários artigos na literatura mostram a potencialidade dos complexos metálicos como agente antimicobacterianos, mostrando que a atividade biológica é bastante satisfatória, assim a complexação de um bioligante com um íon metálico pode levar a compostos mais ativos que o ligante livre. Já conhecido que a presença do metal é de fundamental importância para a atividade do composto, devido ao acréscimo da lipofilicidade (PAVAN *et al.*, 2011).

1.13 Complexo de rutênio no tratamento da tuberculose.

Existem diversos estudos na literatura sobre complexo de Ru(II), os quais têm mostrado grande potencial como metalodrogas. Trabalhos recentes mostram que complexos de Ru(II) com os ligantes bifosfinas/diiminas e picolinato apresentam atividade *in vitro* contra o *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv, com concentrações inibitórias mínimas (MICs) muito próximas ao da droga de referência (isoniazida) (TABELA 1) (PAVAN *et al.*, 2011). Outros complexos de rutênio que também estão sendo estudados, são os complexos contendo o picolinato formando o *cis*- $[\text{Ru}(\text{pic})(\text{dppe})_2]\text{PF}_6$ e *cis*- $[\text{Ru}(\text{pic})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ (FIGURA 12), e os resultados apresentaram valores melhores ou iguais aos dos fármacos utilizados no tratamento da tuberculose (TABELA 1), assegurando assim a capacidade dos complexos de Ru(II) em combater o bacilo da tuberculose (PAVAN *et al.*, 2010).

FIGURA 12 – Complexos de Ru(II) com o picolinato formando o *cis*-[Ru(pic)(dppm)₂]PF₆ e *cis*-[Ru(pic)(dppe)₂]PF₆.



Fonte: Pavan (2010).

TABELA 1 – Valores de MIC em (μg mL⁻¹ e μM) para o complexos de rutênio(II) e os ligantes livres contra o *Mycobacterium tuberculosis*, comparado com o medicamento de referência (PAVAN *et al.*, 2010).

Compostos	MIC (μg mL ⁻¹)	MIC (μM)
<i>cis</i> -[Ru(pic)(dppm) ₂]PF ₆	0,78	0,69
<i>cis</i> -[Ru(pic)(dppe) ₂]PF ₆	0,256	0,22
[Ru(pic) ₂ (PPh ₃) ₂]	>50	>57
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppm) ₂]	25	26,6
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppe) ₂]	25	25,8
HPic	>50	>406
dppm	25	65
dppe	6,25	15,7
PPh ₃	25	95
isoniazida	0,03	0,36

Fonte: Pavan (2010).

1.14 Objetivos.

- Sintetizar e caracterizar novos complexos de Ru(II) de fórmulas: *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆, *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆, *cis*-[Ru(quino)(dppm)₂]PF₆ e *cis*-[Ru(xant)(dppm)₂]PF₆, a partir do precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂]; quin = ânion do ácido quináldico; quinu = ânion do ácido quinurênico; quino = ânion do ácido quinolínico; xant = ânion do ácido xanturênico.
- Caracterizar os novos compostos por técnicas espectroscópicas (IV, UV-vis, RMN ³¹P{¹H}), análise elementar de carbono, hidrogênio, nitrogênio (CHN) e condutividade molar.
- Avaliar a atividade citotóxica *in vitro* dos novos compostos utilizando linhagens de células tumorais bem como uma linhagem normal, buscando-se compostos com o menor valor possível de IC₅₀ e com bons índices de seletividade.
- Avaliar a atividade biológica dos complexos sintetizados contra o *Mycobacterium tuberculosis*, calculando os valores das concentrações inibitórias mínimas (MICs) comparando com a droga de referência.

2 PARTE EXPERIMENTAL.

2.1 Atmosfera inerte.

A atmosfera inerte foi obtida pela passagem de um fluxo de argônio por um sistema de colunas contendo sílica gel, cloreto de cálcio e catalisador do tipo BTS – R – 3 – 11 (Fluka Chemika), sendo que a última foi mantida a 60 °C para o catalisador permanecer ativado. Esses procedimentos foram necessários para desoxigenar e secar o gás comercial.

2.2 Solventes.

Os solventes utilizados nas sínteses e purificação dos complexos foram: metanol UV-HPLC espectroscópico com teor (99,9%), 1,2-dicloroetano UV-HPLC espectroscópico com teor (99,5%), diclorometano UV-HPLC espectroscópico com teor (99,5%), etanol P. A com teor (99,5%), éter etílico P. A com teor (99,9%) e água destilada.

2.3 Reagentes químicos utilizados.

O composto tricloreto de rutênio hidratado ($\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) de procedência Sigma-Aldrich foi utilizado na síntese do complexo precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$, hexafluorofosfato de amônio (NH_4PF_6) de procedência Sigma-Aldrich.

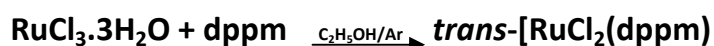
1,1-*bis*(difenilfosfina)metano = dppm de procedência Aldrich, com grau de pureza (97%).

Ácido quináldico com grau de pureza 98%, ácido quinurênico com grau de pureza 98%, ácido quinolínico com grau de pureza 98% e ácido xanturênico com grau de pureza 96%, ambos de procedência Aldrich.

2.4 Síntese do precursor *trans*-[RuCl₂(dppm)₂].

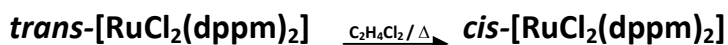
Em um balão de duas bocas (50 mL) foram adicionados 30,0 mL de etanol que foi desaerado sob atmosfera de argônio por 1 hora. Após esse tempo, foi adicionado 0,26 g (1,0 mmol) do sal RuCl₃.3H₂O, mantido sob refluxo por 30 minutos, em seguida foi adicionado 1,153 g (3,0 mmol) da fosfina dppm e novamente mantida em refluxo por 3 horas a uma temperatura de 80 °C.

Essa solução foi resfriada e obtido um precipitado amarelo o *trans*-[RuCl₂(dppm)₂], que foi filtrado e lavado com etanol gelado e éter (CHATT; HAYTER, 1961; SULLIVAN; MEYER, 1982).



2.5 Síntese do precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂].

Em um balão de duas bocas (50 mL) desaerou-se 30,0 mL de 1,2-dicloroetano (para cada 0,5 g de *trans*-[RuCl₂(dppm)₂]) e adicionou-se o composto *trans*-[RuCl₂(dppm)₂] mantendo-se sob refluxo por 10 horas em atmosfera inerte. Ao final desse tempo resfriou-se a solução e a mesma foi gotejada sobre 150 mL de pentano ocorrendo a precipitação do sólido amarelo *cis*-[RuCl₂(dppm)₂]. O sólido foi filtrado, lavado com etanol e éter e colocado para secar (SULLIVAN; MEYER, 1982). Rendimento. 90,6%.



2.6 Síntese do complexo *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆.

Em um balão de 250 mL foram adicionados 31,1 mg (0,033 mmol) de *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] em 70 mL de metanol que ficou em aquecimento e agitação magnética por 20 minutos e em seguida adicionou-se 11,4 mg (0,033 mmol) de ácido quináldico (proporção 1:2) em 10 mL de metanol e 0,014 mL (0,132 mmol) de trietilamina que foi transferida à solução que estava em refluxo. A solução foi mantida em refluxo e agitação magnética por 48 horas. Após esse tempo, a mesma foi rotaevaporada diminuindo seu volume para aproximadamente 10 mL, em seguida, foi resfriada e adicionado 52 mg (0,320 mmol) de hexafluorofosfato de amônio (NH₄PF₆) levando à formação de um precipitado amarelo que foi filtrado, lavado com água destilada e éter etílico.

31,1 mg : 24,6 mg (precursor : ligante); M. M = 1186,973 g mol⁻¹. Cor: Amarelo. Análise elementar para (C₆₀H₅₀F₆NO₂P₅Ru): C = 60,97; H = 4,93 e N = 1,10. Encontrado: C = 60,71; H = 4,24 e N = 1,18. Rendimento: 62,5%.

2.7 Síntese do complexo *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆.

Em um balão de 250 mL foram adicionados 70 mg (0,074 mmol) de *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] em 70 mL de metanol que ficou em aquecimento e agitação magnética por 20 minutos. Em seguida foram adicionados 15,4 mg (0,074 mmol) de ácido quinurênico (proporção 1:2) em 10 mL de metanol e 0,022 mL (0,162 mmol) de trietilamina que foi transferida à solução que estava em refluxo.

A reação foi mantida em refluxo e agitação magnética por 48 horas. Após esse tempo, o solvente foi rotaevaporado até aproximadamente 10 mL. Em seguida, a solução foi resfriada e adicionado 24,2 mg (0,148 mmol) de hexafluorofosfato de amônio (NH₄PF₆) que formou um precipitado amarelo que após filtrado e lavado com água destilada e éter etílico, forneceu o produto.

70 mg : 54,2 mg (precursor : ligante); M. M = 1202,973 g mol⁻¹. Cor: Amarelo. Análise elementar para (C₆₀H₅₀F₆NO₃P₅Ru): C = 59,87; H = 4,68 e N = 1,14. Encontrado: C = 59,90; H = 4,18 e N = 1,16. Rendimento: 60%.

2.8 Síntese do complexo *cis*-[Ru(quino)(dppm)₂]PF₆.

Em um balão de 250 mL foram adicionados 70 mg (0,074 mmol) de *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] em 70 mL de metanol mantido em aquecimento e agitação magnética por 20 minutos. Em seguida foram adicionados 25,8 mg (0,074 mmol) de ácido quinolínico (proporção 1:2) em 10 mL de metanol e 0,016 mL (0,148 mmol) de trietilamina que foi transferida à solução que estava em refluxo.

A solução foi mantida em refluxo e agitação magnética por 48 horas. Após esse tempo, a mesma foi rotaevaporada diminuindo seu volume para 10 mL aproximadamente, em seguida, foi resfriada e adicionado 52 mg (0,320 mmol) de hexafluorofosfato de amônio (NH₄PF₆) formando um precipitado amarelo que foi filtrado lavado com água destilada e éter etílico afim de remover as impurezas presentes no complexo.

70 mg : 56,4 mg (precursor : ligante); M. M = 1186,973 g mol⁻¹. Cor: Amarelo. Análise elementar para (C₆₀H₅₀F₆NO₂P₅Ru): C = 60,71; H = 4,24 e N = 1,18. Encontrado: C = 59,93; H = 4,39 e N = 1,12. Rendimento: 64%.

2.9 Síntese do complexo *cis*-[Ru(xant)(dppm)₂]PF₆.

Em um balão de 250 mL foram adicionados 70 mg (0,074 mmol) de *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] em 70 mL de metanol que ficou em aquecimento e agitação magnética por 20 minutos e foram adicionados 30,5 mg (0,074 mmol) de ácido xanturênico (proporção 1:2) em 10 mL de metanol e 0,020 mL (0,148 mmol) de trietilamina que foi transferida à solução que estava em refluxo.

A solução foi mantida em refluxo e agitação magnética por 48 horas. Após esse tempo, a mesma foi rotaevaporada diminuindo seu volume para 10 mL aproximadamente. Em seguida, foi resfriada e adicionado 36,4 mg (0,223 mmol) de hexafluorofosfato de amônio (NH₄PF₆) formando um precipitado amarelo que foi filtrado lavado com água destilada e éter etílico a fim de remover as impurezas presentes no complexo.

70 mg : 63,3 mg (precursor : ligante); M. M = 1218,972 g mol⁻¹. Cor: Amarelo. Análise elementar para (C₆₀H₅₀F₆NO₄P₅Ru): C = 59,97; H = 4,24 e N = 1,36. Encontrado: C = 59,11; H = 4,13 e N = 1,14. Rendimento: 69%.

3 INSTRUMENTAÇÃO E TÉCNICAS EXPERIMENTAIS.

Os complexos sintetizados foram caracterizados no estado sólido e em solução pelas técnicas descritas abaixo:

3.1 Análise elementar de C, H e N.

As determinações dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio da amostra foram realizadas em um analisador CHN modelo Perkin Elmer Precisely - Series II CHNS/O Analyzer 2400 que pertence ao Departamento de Química da Universidade Federal de Uberlândia – UFU.

3.2 Análise condutimétrica.

As medidas de condutividades molares dos complexos foram realizadas utilizando um condutivímetro modelo mCA - 150 equipado com cela de platina e uma constante igual a $1,03236 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$, em solução de metanol com concentração de $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. O equipamento usado na análise pertence ao laboratório de química inorgânica do Departamento de Química da Universidade Federal de Uberlândia – UFU.

3.3 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis).

As medidas de absorção na região do ultravioleta-visível foram feitas em solução no espectrofotômetro UV-2501 PC Shimadzu em cubetas de quartzo, com um caminho óptico de 1 cm. Os espectros foram obtidos em solução de diclorometano com soluções de concentração na ordem de $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$, que foi diluída para $1,0 \times 10^{-5}$ e $1,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ na faixa de 200 a 800 nm. Os máximos de absorção (λ_{max}) e os valores das absorvidades molares (ϵ_{max}) foram determinadas diretamente dos espectros.

3.4 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear RMN de fósforo $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$.

Os espectros de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ foram obtidos em um espectrômetro BRUKER 9.4 T espectrômetro (400 MHz para frequência do hidrogênio) pertencente ao Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do Departamento de Química da Universidade Federal

de São Carlos – UFSCAR. Os espectros de RMN foram realizados em diclorometano (CH_2Cl_2) e um capilar de D_2O foi introduzido no interior do tubo funcionando como referência externa para a frequência do deutério. Os deslocamentos são reportados relativos ao H_3PO_4 85% (aq).

3.5 Espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho (IV).

Os espectros vibracionais na região do infravermelho (IV) foram obtidos em um espectrofotômetro FT. IR SPECTRUM TWO, na região compreendida entre 4000 e 600 cm^{-1} . Este equipamento pertence ao Departamento de Química da Universidade Federal de Uberlândia – UFU.

4 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE *IN VITRO*.

Antes das células serem utilizadas nos ensaios de citotoxicidade, uma série de procedimentos e materiais foram utilizados como descritos a seguir:

4.1 Linhagem de células tumorais.

As linhagens celulares utilizadas neste trabalho foram; GM07492A (fibroblastos de pulmão humano normal), HepG2 (carcinoma hepatocelular humano - fígado), MCF-7 (adenocarcinoma mamário humano) e MO59J (glioblastoma humano - cérebro). As diferentes linhagens de células foram mantidas em monocamadas em frascos de cultura de plástico (25 cm²) contendo HAM-F10 mais DMEM (1:1 Sigma-Aldrich) ou apenas DMEM, dependendo da linhagem de células, suplementado com 10% de soro fetal bovino (Nutricell) e 2,38 mg mL⁻¹ de Hepes (Sigma-Aldrich), a 37 °C umidificada numa atmosfera de 5% de CO₂. Antibióticos (0,01 mg mL⁻¹ de estreptomicina e 0,005 mg mL⁻¹ de penicilina, Sigma-Aldrich) foram adicionados ao meio para prevenir o crescimento bacteriano.

4.2 Atividade antiproliferativa.

O rastreio para a atividade citotóxica de *cis*-[RuCl₂(dppm)₂], *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆, *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆ e a *cis*platina contra diferentes linhagens de células foram avaliadas utilizando o Kit de XTT toxicológico de ensaio colorimétrico *in vitro* (Roche Diagnósticos). Para as experiências, 1,0 x 10⁴ mol L⁻¹ de células foram semeadas em microplacas com 100 µL de meio de cultura (1:1 HAM F10 + DMEM sozinho ou DMEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino contendo concentrações dos complexos variando 12,5 a 1600 µg mL⁻¹. Negativo (sem tratamento), o solvente (0,02% de DMSO) e positivo (25% de DMSO) foram incluídos controles. O controle positivo utilizado foi à *cis*platina (Sigma-Aldrich, 98% ≥ pureza).

Após serem incubados a 36,5 °C durante 24 horas, o meio de cultura foi removido e as células lavadas com 100 µL de PBS para a remoção do reagente e depois foi adicionado a 100 µL do meio de cultura HAM-F10. Posteriormente, 25 µL de XTT foram adicionados e incubados a 36,5 °C durante 17 horas. A absorbância das amostras foi feita

utilizando um leitor de placas múltiplas (ELISA - Tecan - SW Magellanvs 5.03 STD 2P) nos comprimentos de onda de 450 e 620 nm.

4.3 Análise estatística.

A citotoxicidade foi avaliada usando o parâmetro de resposta de IC_{50} (50% de inibição do crescimento celular) calculada com o programa Graph Pad Prism, traçando a sobrevivência das células contra as respectivas concentrações dos tratamentos. O índice de seletividade foi calculado dividindo-se o valor de IC_{50} em células GM07492-A pelo valor IC_{50} determinado para as células cancerosas.

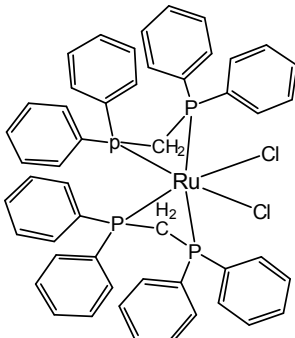
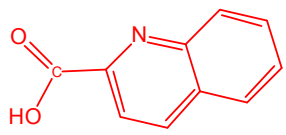
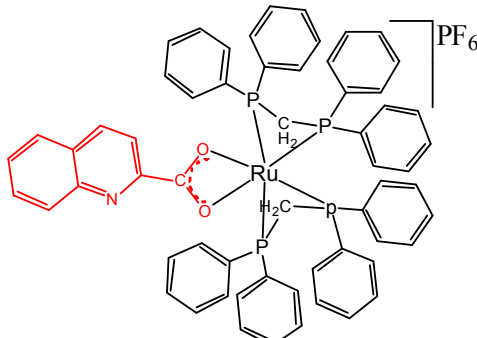
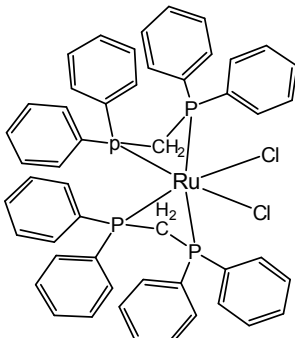
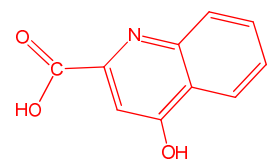
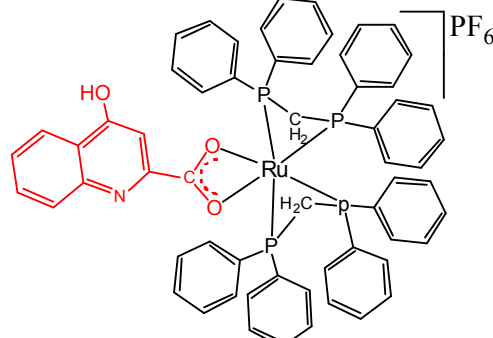
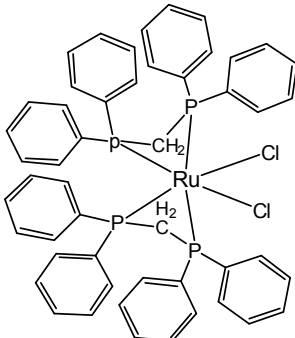
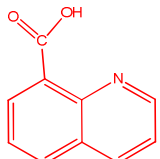
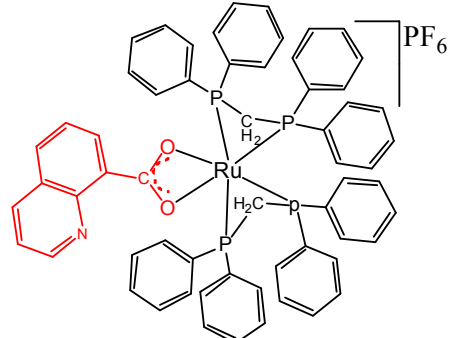
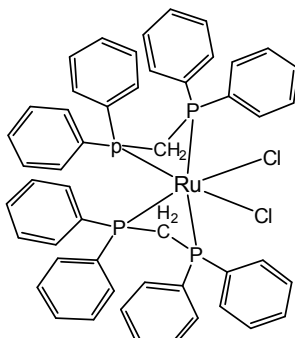
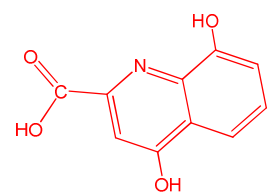
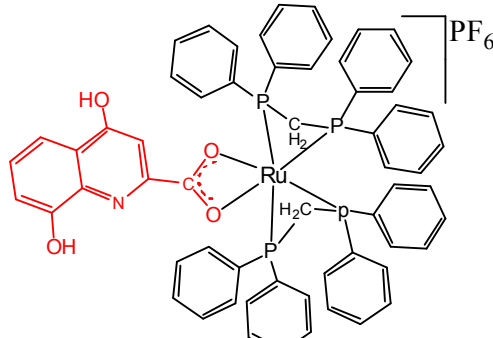
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.

Nesta seção serão apresentados os resultados e discussões dos complexos de Ru(II) que foram caracterizados em solução e no estado sólido, por técnicas espectroscópicas de (IV; U.V-vis; RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$), análise elementar de carbono, hidrogênio, nitrogênio (CHN) e condutividade molar. Dentro de cada uma das técnicas inicialmente será apresentado a caracterização do precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] e posteriormente dos novos complexos de Ru(II): *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆, *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆, *cis*-[Ru(quino)(dppm)₂]PF₆ e *cis*-[Ru(xant)(dppm)₂]PF₆.

5.1 Novos complexos de Ru(II).

Os novos complexos de Ru(II) sintetizados a partir do *cis*-[RuCl₂(dppm)₂], onde os dois cloros foram substituídos por ligantes quinolina carboxilatos na forma bidentada tem suas estruturas mostradas na (TABELA 2). O modo de coordenação foi confirmado pelas técnicas espectroscópicas que serão discutidas a seguir.

TABELA 2 – Estruturas do precursor, ligantes e complexos sintetizados.

PRECURSOR <i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppm) ₂]	LIGANTES (O-O)	COMPLEXOS FORMADOS <i>cis</i> -[Ru(O-O)(dppm) ₂]PF ₆
 <p><i>cis</i>-[RuCl₂(dppm)₂]</p>	 <p>ácido quináldico</p>	 <p><i>cis</i>-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆</p>
 <p><i>cis</i>-[RuCl₂(dppm)₂]</p>	 <p>ácido quinurênico</p>	 <p><i>cis</i>-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆</p>
 <p><i>cis</i>-[RuCl₂(dppm)₂]</p>	 <p>ácido quinolínico</p>	 <p><i>cis</i>-[Ru(quino)(dppm)₂]PF₆</p>
 <p><i>cis</i>-[RuCl₂(dppm)₂]</p>	 <p>ácido xanturênico</p>	 <p><i>cis</i>-[Ru(xant)(dppm)₂]PF₆</p>

Fonte: Autor (2015).

5.2 Análise elementar de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN).

Os complexos de Ru(II) foram obtidos com rendimentos variando de 60 a 69% e a análise dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio (CHN) estão de acordo com as fórmulas propostas, como mostrado na (TABELA 3).

TABELA 3 – Resultados da análise elementar e rendimentos para os complexos sintetizados.

Complexos	Fórmula empírica	%C exp (calc)	%H exp (calc)	%N exp (calc)
<i>cis</i> -[Ru(quin)(dppm) ₂]PF ₆	C ₆₀ H ₅₀ F ₆ NO ₂ P ₅ Ru	60,97	4,93	1,10
		60,71	4,24	1,18
<i>cis</i> -[Ru(quinu)(dppm) ₂]PF ₆	C ₆₀ H ₅₀ F ₆ NO ₃ P ₅ Ru	59,87	4,68	1,14
		59,91	4,18	1,16
<i>cis</i> -[Ru(quino)(dppm) ₂]PF ₆	C ₆₀ H ₅₀ F ₆ NO ₂ P ₅ Ru	59,93	4,39	1,12
		60,71	4,24	1,18
<i>cis</i> -[Ru(xant)(dppm) ₂]PF ₆	C ₆₀ H ₅₀ F ₆ NO ₄ P ₅ Ru	59,97	4,24	1,36
		59,12	4,13	1,15

Fonte: Autor (2015).

5.3 Dados de condutividade molar (Λ) dos complexos Ru (II).

As medidas de condutividade foram feitas em solução de metanol e os valores estão mostrados na (TABELA 4). Os valores de condutividade molar ficaram no intervalo de 66 a 102 S cm² mol⁻¹ sendo coerentes com a formação de eletrólito 1:1 em solução, uma vez que a faixa esperada para este tipo de eletrólito no solvente utilizado situa-se entre 62 e 123 S cm² mol⁻¹ (GEARY, 1971).

TABELA 4 – Valores de condutividade molar (Λ) para os complexos de Ru(II).

Complexos	$\Lambda(\text{S cm}^2 \text{ mol}^{-1})$
<i>cis</i> -[Ru(quin)(dppm) ₂]PF ₆	79
<i>cis</i> -[Ru(quinu)(dppm) ₂]PF ₆	102
<i>cis</i> -[Ru(quino)(dppm) ₂]PF ₆	66
<i>cis</i> -[Ru(xant)(dppm) ₂]PF ₆	79

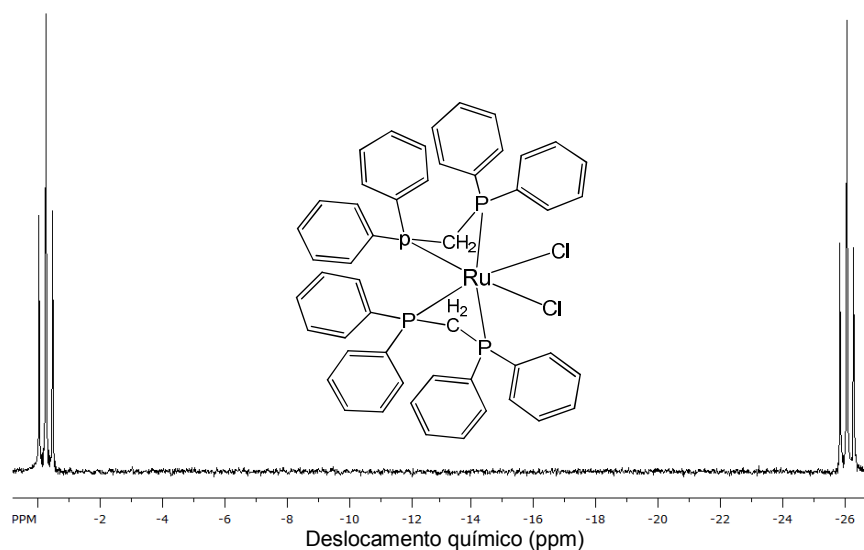
Fonte: Autor (2015).

5.4 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear RMN de fósforo $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$.

A ressonância magnética nuclear RMN de fósforo $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ é um método espectroscópico fundamental para a determinação estrutural de complexos metálicos diamagnéticos contendo ligantes fosfínicos. Particularmente, nesse trabalho a técnica permitiu definir a isomeria *cis* das bifosfinas nos novos complexos bem como definir a coordenação bidentada pelos oxigênios dos grupos carboxilatos dos ânions dos ligantes quinolina carboxilatos. Os ligantes de interesse desse trabalho apresentam mais de uma possibilidade de coordenação ao precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] (TABELA 14) e apenas uma delas leva ao padrão de sinais com multiplicidade do tipo tripleto como observado experimentalmente.

O complexo precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] apresenta dois tripletos em -0,16 e -26,14 ppm indicando que os fósforos são equivalentes dois a dois (fósforo *trans* fósforo e fósforos *trans* a cloros), como mostrado na (FIGURA 13).

FIGURA 13 – Espectro de RMN de fósforo $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$, em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ e frequência de 162 MHz.



Fonte: Autor (2015).

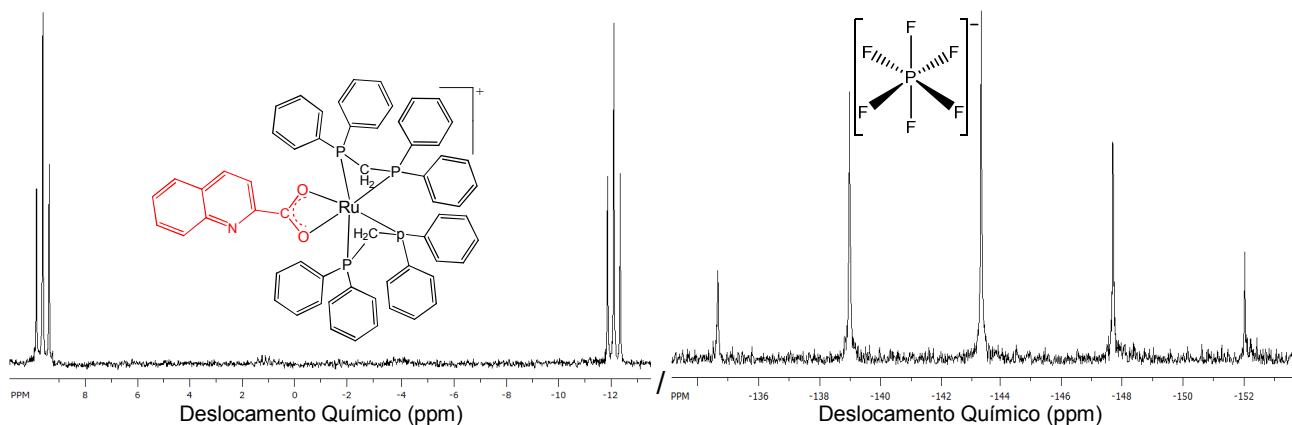
TABELA 5 – Possíveis modos de coordenação do ânion do ácido quináldico ao *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$.

Fórmula molecular	Fórmula estrutural	Padrão de sinais
<i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{quin})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$		Tripleto
<i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{quin})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$		Duplo duplo dubleto

Fonte: Autor (2015).

Os espectros de RMN de fósforo $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ dos complexos de fórmula geral *cis*- $[\text{Ru}(\text{O-O})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$, O-O = ligantes quinolina carboxilatos, apresentaram perfil semelhante entre si pela presença de dois tripletos com deslocamentos químicos próximos a 9 e -12 ppm, além do sinal do ânion PF_6^- centrado em -143 ppm e ($^2J_{\text{P-F}} = 710$ Hz). Na FIGURA 14 está representado o espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{quin})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ e no Apêndice A os espectros dos demais complexos. Os valores de deslocamento químicos e constantes de acoplamento são mostrados na TABELA 6. Ambos os tripletos deslocam-se para campo baixo, ou seja, estão desblindados em relação aos tripletos do precursor. Os fósforos mais blindados deslocam-se cerca de 14 ppm e os fósforos menos blindados cerca de 9 ppm em relação ao precursor. Tais deslocamentos estão relacionados à substituição dos cloros pelos ligantes quinolina carboxilatos e, além disto, é possível afirmar que a coordenação ocorreu via oxigênios do grupo carboxilato uma vez que apenas dois ambientes diferentes para os átomos de fósforos são observados (sinais tripletos).

FIGURA 14 – Espectro de RMN de fósforo $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do *cis*- $[\text{Ru}(\text{quin})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ e ampliação na região do PF_6^- , em $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ e frequência de 162 MHz.



Fonte: Autor (2015).

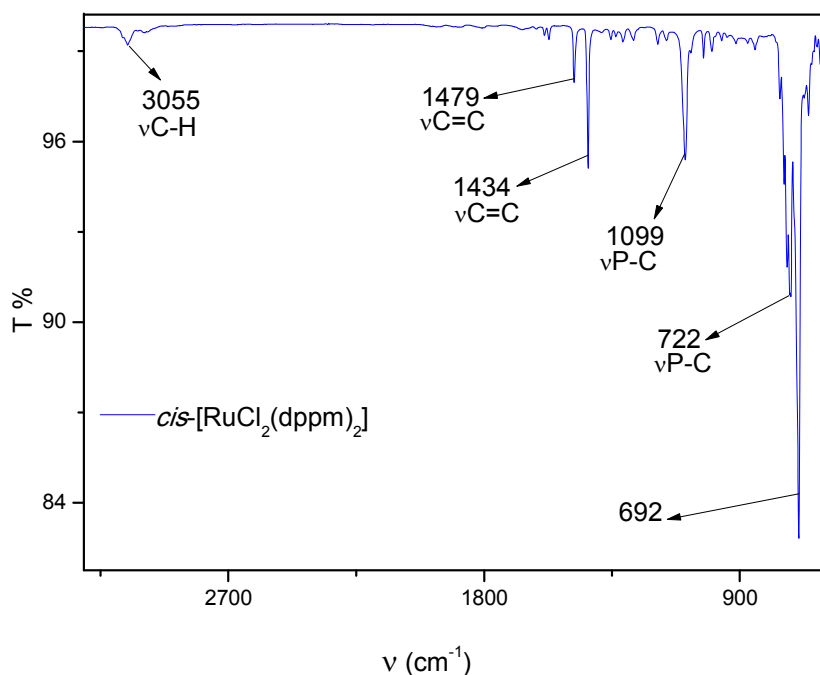
TABELA 6 – Valores de deslocamento químico (ppm) e constante de acoplamento ($^2J_{P-P}$) para os complexos de Ru(II).

Complexos	δP - (ppm)	$^2J_{P-P}$ Hz
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppm) ₂]	-0,16(t); -26,14(t)	36
<i>cis</i> -[Ru(quin)(dppm) ₂]PF ₆	9,70(t); -12,19(t)	39
<i>cis</i> -[Ru(quinu)(dppm) ₂]PF ₆	9,94(t); -12,08(t)	39
<i>cis</i> -[Ru(quino)(dppm) ₂]PF ₆	8,83(t); -12,54(t)	39
<i>cis</i> -[Ru(xant)(dppm) ₂]PF ₆	9,77(t); -12,05(t)	39

Fonte: Autor (2015).

5.5 Espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho (IV).

Nesse trabalho foi utilizado a espectroscopia na região do infravermelho (IV) para identificar os modos vibracionais do precursor e dos ligantes quinolina carboxilatos coordenados bem como a presença do contra-íon hexafluorofosfato (PF₆⁻). A atribuição dos modos vibracionais foi feita pela comparação dos espectros de infravermelho (IV) dos novos complexos com os espectros do precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂], bem como dos ligantes livres, utilizando-se as referências adequadas. Os complexos foram caracterizados pela espectroscopia de infravermelho na região compreendida entre 4000 a 600 cm⁻¹, região suficiente para identificar os principais modos vibracionais do complexo precursor e dos novos complexos. Nas figuras 16 e 17 são apresentados os espectros (IV) do precursor e do *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆, respectivamente. No Apêndice B são mostrados os espectros dos demais complexos.

FIGURA 15 – Espectro de absorção na região do (IV) do precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂].

Fonte: Autor (2015).

Os principais modos vibracionais presentes no precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] estão descritos na (TABELA 7), sendo muitos deles pertencentes aos anéis aromáticos das dppm. No entanto, ficam bem definidos os modos vibracionais mais significantes no espectro. Em 3055 cm⁻¹ ocorrem os modos de estiramentos de intensidade fraca atribuída ao C–H dos grupos fenílicos das fosfinas; 1479 e 1434 cm⁻¹ são atribuídas aos estiramentos C=C dos anéis aromáticos; 1099 e 722 cm⁻¹ representam o estiramento pertencentes ao P–C das fosfinas; em 692 cm⁻¹ os modos vibracionais de deformação angular pertencente aos anéis aromáticos (GUIRGIS *et al.*, 2000; HIREMATH *et al.*, 2007).

No espectro de (IV) do complexo *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ foi possível observar a presença do ligante pelo aparecimento de novos modos vibracionais em 1523 a 1455 cm⁻¹ correspondentes ao estiramentos assimétricos (ν_{as}COO⁻) e simétricos (ν_sCOO⁻) do grupo carboxilato com Δ = 68 cm⁻¹ que está de acordo com proposto por (NAKAMOTO, 1997), que sugere um Δ de 42 a 77 cm⁻¹ para o carboxilato coordenado na forma bidentada. Para os demais complexos o Δ varia de 43 a 64 cm⁻¹ indicando a coordenação na forma bidentada em todos os casos (NAKAMOTO, 1997). Para os complexos *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆ e *cis*-[Ru(xant)(dppm)₂]PF₆ são observado em 3365 e 3385 cm⁻¹

estiramentos simétrico $\nu\text{O-H}$; de 1418 a 1373 cm^{-1} aparecem bandas atribuídas aos modos vibracionais de estiramentos simétricos característico de $\nu\text{C=N}$. Também foi observado o modo vibracional que corresponde ao contra-íon PF_6^- em 840 cm^{-1} . Os modos vibracionais correspondentes à bifosfina dppm permaneceram praticamente inalterados nos novos complexos.

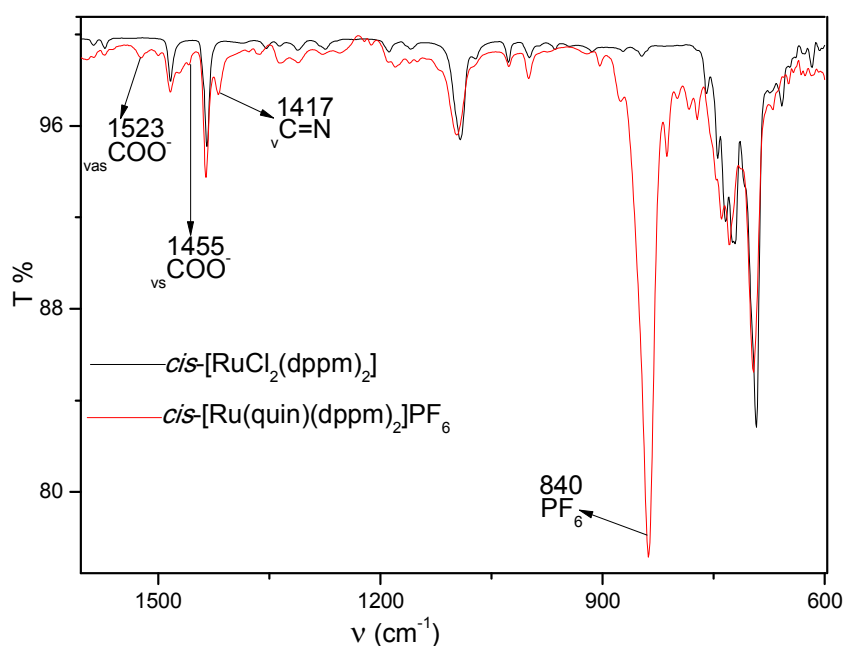
TABELA 7 – Frequência (cm^{-1}) correspondentes às principais bandas e atribuições dos espectros no (IV) do complexo precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$.

Atribuição	<i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$
$\nu\text{C-H}$	3054 f
$\nu\text{C=C}$	1479 f
$\nu\text{C=C}$	1434 m
$\nu\text{P-C}$	1099 m
$\nu\text{P-C}$	722 m
Anéis aromáticos	692 F

Fonte: Autor (2015).

F = forte; m = média; f = fraca; ν = designa uma vibração de estiramento.

FIGURA 16 – Espectro de absorção na região do (IV) do complexo *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ sobreposto ao do precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂].



Fonte: Autor (2015).

TABELA 8 – Principais bandas de absorção observadas nos espectros (IV), dos complexos de Ru(II) obtidos neste trabalho.

Complexos	ν O-H	ν C=N	ν_{as} COO ⁻	ν_s COO ⁻	ν PF ₆
<i>cis</i> -[Ru(quin)(dppm) ₂]PF ₆	--	1417	1523	1455	840
<i>cis</i> -[Ru(quinu)(dppm) ₂]PF ₆	3365	1418	1516	1454	840
<i>cis</i> -[Ru(quino)(dppm) ₂]PF ₆	--	1374	1511	1468	840
<i>cis</i> -[Ru(xant)(dppm) ₂]PF ₆	3385	1373	1516	1452	840

Fonte: Autor (2015).

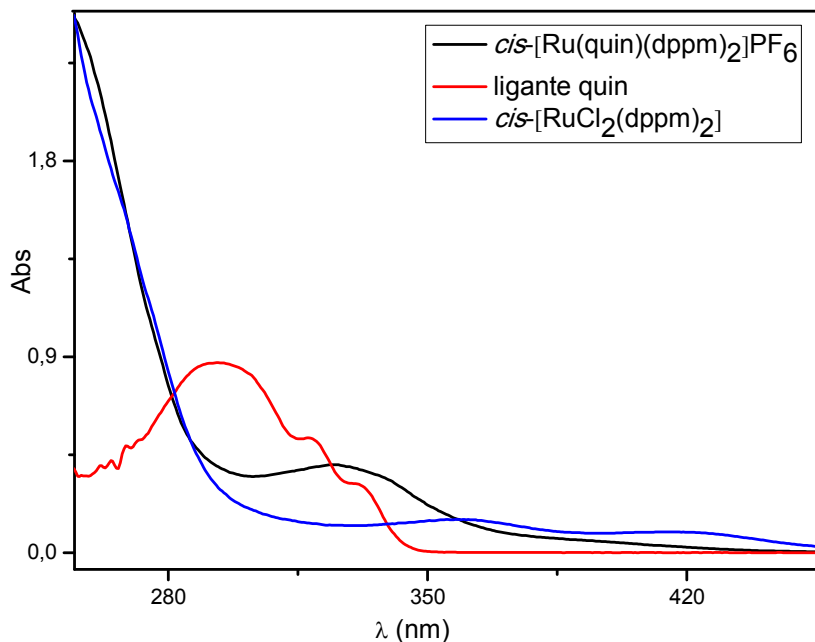
F = forte; m = média; f = fraca; ν = designa um vibração de estiramento.

5.6 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-vis).

Os complexos de metais de transição possuem espectros eletrônicos caracterizados pelo aparecimento de quatro tipos de transições. Uma banda de transições internas dos ligantes proveniente da transição $\pi \rightarrow \pi^*$. Outra banda das transições do campo cristalino, caracterizadas pelo desdobramento dos orbitais d do íon metálico frente a interações eletrostáticas dos ligantes; uma banda de transferência de carga relativa às transferências de elétrons dos orbitais σ e π doadores dos ligantes para orbitais de energia apropriada do metal (TCLM); e uma banda de transferência de carga referente às transferências de elétrons dos orbitais d do metal para os orbitais dos ligantes (TCML) (HOUSECROFT; SHARPE, 2013).

Os espectros eletrônicos dos complexos *cis*-[Ru(O-O)(dppm)₂]PF₆ são muito similares entre si caracterizando-se por uma banda e um ombro, como ilustrado para o complexo *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ na FIGURA 18. A transição em 325 nm é atribuída a uma transferência de carga (TCML) e o ombro em 256 nm uma transição interna dos ligantes ($\pi \rightarrow \pi^*$) pertencente aos anéis aromáticos das bifosfinas. As transições em 293, 318 e 331 nm são transição ($\pi \rightarrow \pi^*$) pertencente ao ligante quinolina carboxilato (quin). O precursor apresenta bandas em 420 e 360 nm, além de ombros na região de 260 nm (FIGURA 18). Quando compara-se o espectro do *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ com o do precursor, nota-se que a banda em 420 nm desaparece e a banda em 360 nm desloca-se para 325 nm no complexo. A banda em 420 nm no precursor envolve a transição ($\pi \rightarrow \pi^*$) do Cl para P, que desaparece no novo complexo que não tem mais os cloros, substituído pelo ligante quinaldato. A banda em 360 nm foi atribuída a transição TCML Ru(II) para o fósforo. O deslocamento de 360 para 325 nm foi relacionado à presença do quinaldato que substitui os cloros do precursor, por isso, o Ru(II) tem menos elétrons disponíveis e a TCML fica mais energética.

FIGURA 17 – Espectro de absorção na região do UV-vis do complexo *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ sobreposto ao do precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] em CH₂Cl₂ ($5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹).



Fonte: Autor (2015).

Na (TABELA 9) estão representados os comprimentos de onda (λ), os valores de absorvidades molares (ϵ) e as transições ($\pi \rightarrow \pi^*$ e TCML) na mesma região indicando uma similaridade entre os complexos. Os complexos apresentam duas bandas de absorção, uma com máximo de absorção em aproximadamente 250 nm e outra de baixa absorvidade com máxima em 354 nm.

TABELA 9 – Dados de espectroscopia de absorção na região do UV-vis dos complexos de rutênio(II).

Complexos	$\lambda(\text{nm})$	Absortividade molar (ϵ) ($5,0 \times 10^{-5} \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)	Transição
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppm) ₂]	287	20720	$\pi \rightarrow \pi^*$
	357	3040	TCML
	416	1920	Cl($p\pi$) \rightarrow P($d\pi$)
<i>cis</i> -[Ru(quin)(dppm) ₂]PF ₆	256	43320	
	293	17400	
	318	10420	IL ($\pi \rightarrow \pi^*$)
	332	6200	
	325	8000	TCML
	249	23800	
<i>cis</i> -[Ru(quinu)(dppm) ₂]PF ₆	330	7100	IL ($\pi \rightarrow \pi^*$)
	344	7440	
	363	4000	TCML
	256	32800	
<i>cis</i> -[Ru(quino)(dppm) ₂]PF ₆	295	16720	
	306	16280	IL ($\pi \rightarrow \pi^*$)
	320	16420	
	319	7220	TCML
	254	33800	IL ($\pi \rightarrow \pi^*$)
<i>cis</i> -[Ru(xant)(dppm) ₂]PF ₆	342	6900	TCML

Fonte: Autor (2015).

5.7 Testes de citotoxicidade *in vitro*.

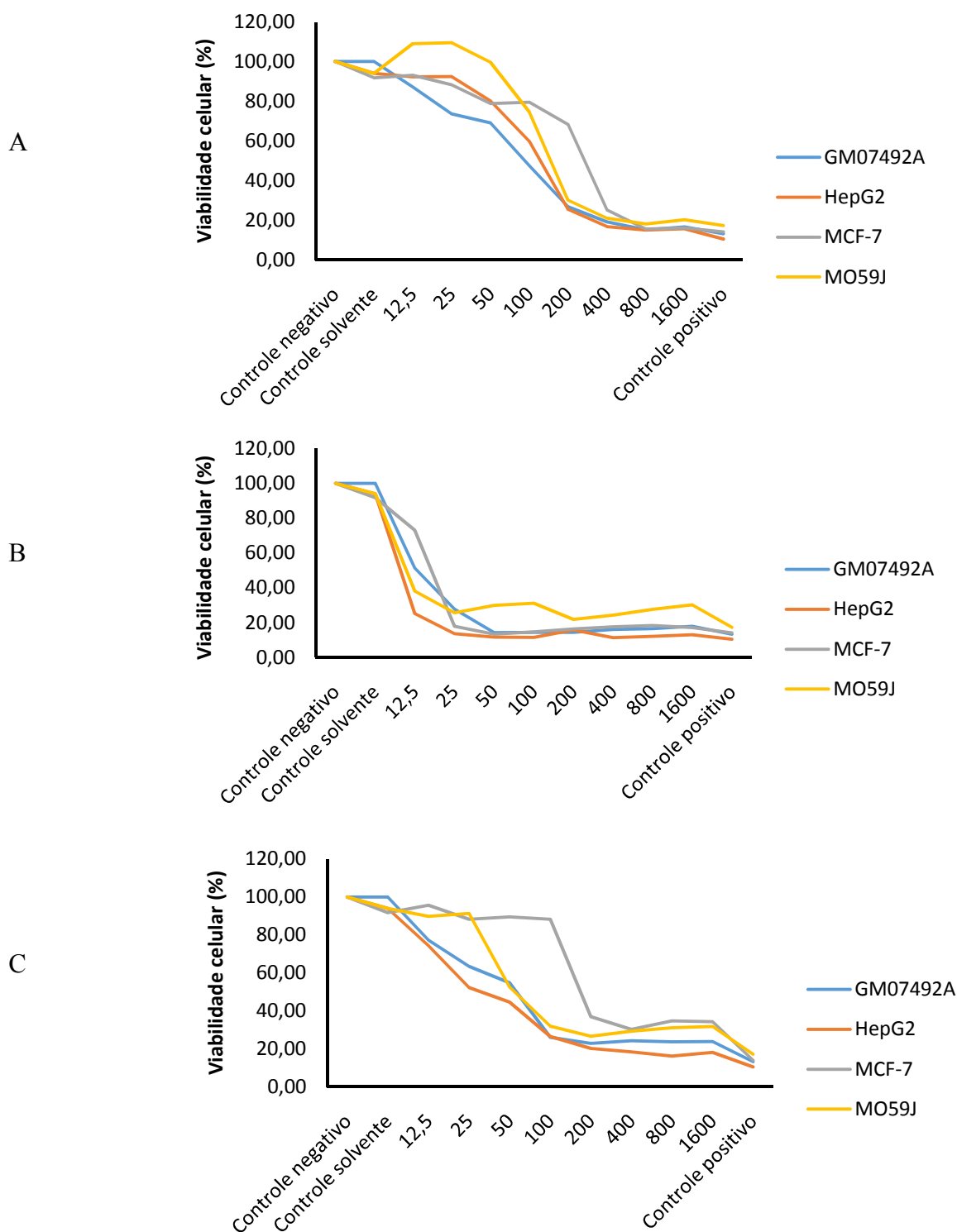
Os complexos *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆, *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆, o precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] e a metalodroga de referência *cis*platina tiveram suas atividades citotóxicas avaliadas *in vitro* utilizando linhagens de células derivadas de tumores humanos HepG2 (carcinoma hepatocelular humano), MCF-7 (adenocarcinoma mamário humano) e MO59J (glioblastoma humano) bem como uma linhagem de células normais, a GM07492A (fibroblastos de pulmão humano normal), para avaliar a citotoxicidade.

A (FIGURA 19) mostra os gráficos de viabilidade celular para cada uma das linhagens celulares utilizadas.

A análise dos gráficos de viabilidade celular permite verificar que em todos os casos há uma grande dependência da porcentagem de viabilidade celular em função da concentração do complexo utilizado, ou seja, são dose-dependentes. Foi possível notar que as viabilidades celulares, correspondentes ao complexo precursor (FIGURA 19 (a)), são menos sensíveis à concentração do complexo, quando comparado com os gráficos dos derivados contendo ácido quináldico (FIGURA 19 (b)) e ácido quinurênico (FIGURA 19 (c)).

Para o complexo *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ (FIGURA 19(b)), observa-se um comportamento similar da viabilidade celular em função da concentração para as quatro linhagens celulares utilizadas, com um grande decréscimo da porcentagem de viabilidade celular ocorrendo aproximadamente na mesma concentração. Tal comportamento não ocorre para o complexo *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆ que apresenta maior atividade para as linhagens celulares HepG2 e GM07492A e uma sensível menor atividade para a linhagem MCF-7.

FIGURA 18 – Efeito dos complexos de rutênio *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] (A), *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ (B) e *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆ (C) sobre a viabilidade celular das linhagens GM07492A, hepG2, MCF-7 e MO59J avaliado pelo ensaio colorimétrico do XTT após 24 horas.



A partir dos gráficos de viabilidade celular foram obtidos os valores de IC_{50} para os complexos (TABELA 10) sintetizados e para a metalodroga utilizada de referência *cisplatina*. Para a comparação da eficiência da atividade citotóxica entre os complexos de rutênio e a *cisplatina* ficar mais fácil de ser observada, os valores de IC_{50} foram convertidos de $\mu\text{g mL}^{-1}$ para $\mu\text{mol L}^{-1}$.

TABELA 10 – Valores de IC_{50} dos complexos de Ru(II) e da *cisplatina* nas linhagens celulares HepG2, MCF-7, MO59J e GM07492A.

Complexos	$IC_{50} - \mu\text{g mL}^{-1} (\mu\text{M})$			
	HepG2	MCF-7	MO59J	GM07492A
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppm) ₂]	102 ± 26	178 ± 13	26 ± 10	62 ± 4
	(108 ± 28)	(191 ± 13)	(27 ± 10)	(66 ± 4)
<i>cis</i> -[Ru(quin)(dppm) ₂]PF ₆	12 ± 1	14 ± 1	13 ± 2	11 ± 1
	(10 ± 1)	(12 ± 1)	(11 ± 2)	(10 ± 1)
<i>cis</i> -[Ru(quinu)(dppm) ₂]PF ₆	31 ± 6	162 ± 14	44 ± 3	45 ± 1
	(26 ± 5)	(135 ± 12)	(36 ± 2)	(37 ± 1)
<i>cisplatina</i>	2 ± 1	10 ± 1	7 ± 1	8 ± 1
	(6 ± 1)	(33 ± 3)	(22 ± 3)	(26 ± 3)

Fonte: Autor (2015).

O complexo precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] apresentou efeito citotóxico menos pronunciado que a *cisplatina* o que pode ser observado pelos maiores valores de IC_{50} quando comparado com as linhagens de células cancerosas.

A atividade citotóxica *in vitro* do *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆ demonstra um aumento da atividade de 4 vezes para a célula de HepG2, atividade ligeiramente melhor para MCF-7 e similar para a linhagem MO59J em relação ao complexo precursor. Quando a comparação é realizada frente à *cisplatina* observa-se que o complexo *cis*-

[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆ possui menor atividade citotóxica nas quatro linhagens celulares estudadas.

O complexo *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ foi o que apresentou melhores resultados de atividade citotóxica nas três linhagens tumorais HepG2, MCF-7 e MO59J. Em relação ao precursor a atividade foi potencializada mais de 10 vezes para as linhagens HepG2 e MCF-7 e cerca de 2 vezes para MO59J que pode ser comprovado pelos valores de IC₅₀. Quando a comparação foi realizada com a *cis*platina foi possível observar diminuição da citotoxicidade em aproximadamente 2 vezes para as linhagens celulares MO59J e MCF-7 e citotoxicidade da mesma magnitude para linhagem HepG2.

Os resultados obtidos a partir dos ensaios de citotoxicidade indicam que os novos compostos são, em geral, moderadamente ativos. Mostram efeitos citotóxicos para os novos complexos. Tal atividade se manteve em uma linhagem celular sadia, a GM07492A (tecido pulmonar humano), de modo que os compostos não são seletivos.

O índice de seletividade dos complexos foi obtido calculando a razão do valor de IC₅₀ obtido no ensaio com linhagem celular GM07492A e os valores de IC₅₀ nas linhagens tumorais (IC₅₀ GM07492A/IC₅₀ HepG2, MCF-7 e MO59J) sendo os resultados apresentados na (TABELA 11). Para o complexo *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ foram encontrados valores de (IS) próximos a 1 para as três linhagens tumorais. Já para o complexo *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆, os valores encontrados são 1,2; 0,3 e 1,0. A falta de seletividade também foi observada para a *cis*platina, com exceção da linhagem HepG2, cujo o (IS) fica próximo a 4.

TABELA 11 – Índice de seletividade IS dos complexos de Ru(II) e da cisplatina nas linhagens celulares HepG2, MCF-7 e MO59J.

Complexos	IS*		
	HepG2	MCF-7	MO59J
<i>cis</i> -[Ru(quin)(dppm) ₂]PF ₆	1,0	0,83	0,91
<i>cis</i> -[Ru(quinu)(dppm) ₂]PF ₆	1,2	0,3	1,0
cisplatina	4,12	0,79	1,18

*IS = IC₅₀ GM07492A/IC₅₀ linhagem tumoral

Fonte: Autor (2015).

5.8 Atividade antimicobacteriana.

A isoniazida é importante fármaco de primeira linha no tratamento da tuberculose. No entanto, devido ao desenvolvimento de bactérias resistentes e super-resistentes, a utilização desse fármaco tem sido comprometida. Nesse contexto, a busca encontrar fármacos mais potentes, com menores efeitos colaterais e redução do tempo de tratamento, que possam combater bactérias resistentes e super-resistentes (SOUZA *et al.*, 2009).

Os derivados quinolínicos representam uma das principais classes de heterociclos, apresentando boa de atividade biológica, como atividade antiviral, antitumoral, anti-inflamatória, leishmania, antifúngica, antimalárica, dentre outras (SOUZA *et al.*, 2009).

TABELA 12 – Os valores de MIC em ($\mu\text{g mL}^{-1}$ e μM) para a atividade antimicobacteriana dos complexos Ru(II), o ligante livre e a droga de referência (*isoniazida*).

Complexos	MIC ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	MIC (μM)
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (dppm) ₂]	25	26,6
<i>cis</i> -Ru(pic)(dppm) ₂]PF ₆	0,78	0,69
<i>cis</i> -[Ru(quinu)(dppm) ₂]PF ₆	21,38	18
<i>Isoniazida</i>	0,03	0,36

Fonte: Autor (2015).

A TABELA 12 mostra os valores da atividade antimicobacteriana dos complexos *cis*-[Ru(pic)(dppm)₂]PF₆ e *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆ comparado com o precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] e a droga de referência (*isoniazida*). Nota-se que o novo complexo *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆ apresentou atividade apenas ligeiramente melhor que o precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂] e muito menor que um composto similar, o *cis*-[Ru(pic)(dppm)₂]PF₆.

Este último apresenta o ligante picolinato (pic) coordenado na forma bidentada N-O formando um quelato de 5 membros com o rutênio, enquanto no *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆ a coordenação do quinu ocorre via O-O formando um anel de 4 membros. Sugere-se que no meio biológico o anel de 4 membros seja mais facilmente rompido levando a uma diminuição da atividade, uma vez que o complexo não atinge os alvos biológicos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.

No trabalho foram sintetizados quatro novos complexos de Ru(II) de fórmula geral *cis*-[Ru(O-O)(dppm)₂]PF₆ a partir do complexo precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂], sendo O-O os ânions dos ligantes ácido quináldico, ácido quinurênio, ácido quinolínico e ácido xanturênico. Todos os complexos obtidos foram caracterizados por técnicas espectroscópicas e dois deles juntamente com o precursor tiveram a citotoxicidade avaliada em linhagens de células tumorais.

As caracterizações realizadas indicaram uma grande similaridade entre os novos complexos, como por exemplo, a observação de dois sinais tripletos no RMN ³¹P{¹H}, indicando que há dois tipos de fósforos e confirmando a coordenação do ligante quinolina carboxilato na forma bidentada através dos oxigênios do carboxilato. Os espectros vibracionais na região do infravermelho apresentaram bandas características da coordenação do carboxilato ν_{as} e ν_s COO⁻ na forma bidentada.

O *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ e *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆ foram avaliados como agentes citotóxicos *in vitro* contra três linhagens de células tumorais, HepG2 (câncer de fígado humano), MCF-7 (câncer de mama humano) e MO59J (câncer de cérebro humano), apresentando-se promissores agentes antitumorais com valores de IC₅₀ na faixa de 10 a 36 $\mu\text{mol L}^{-1}$, com exceção do composto *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆ na linhagem MCF-7 cujo IC₅₀ foi de 135 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O composto *cis*-[Ru(quin)(dppm)₂]PF₆ apresentou atividade citotóxica superior à droga de referência *cis*platina para as linhagens celulares MCF-7 e MO59J com valores de IC₅₀ 12,1 e 11, contra 33 e 22 μM para a *cis*platina. Os novos compostos mostraram-se pouco seletivos uma vez que apresentaram citotoxicidade similar nas células tumorais e na linhagem de células normais GM07492A. Foram encontrados valores de (IS) próximos a 1 para as três linhagens tumorais, já para o composto *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆ os valores encontrados são 1,2; 0,3 e 1,0. Essa falta de seletividade também foi observada para a droga referência *cis*platina, com exceção na linhagem celular HepG2.

O complexo *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆ apresentou atividade *in vitro* moderada contra o *Mycobacterium tuberculosis*. O valor de MIC foi apenas ligeiramente melhor ao encontrado para o precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂].

REFERÊNCIAS

- AHMADI, F. *et al.* Proposed model for in vitro interaction between fenitrothion and DNA, by using competitive fluorescence, NMR $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, NMR, FT-IR, CD and molecular modeling. **Toxicol In Vitro**, New York, v. 27, n. 2, p. 641-650, 2013.
- ALDERFER, M. A. *et al.* Parent decision-making around the genetic testing of children for germline TP53 mutations. **Cancer**, New York, v. 18, n.10, p 240-242, 2014.
- ALDERTON, G. K. *et al.* Tumorigenesis: Why melanoma? **Nat Rev Cancer**, London, v. 14, n. 11, p. 707, 2014.
- ALESSIO, E. *et al.* Ruthenium anticancer drugs. **Met Ions Biol Syst**, New York, v. 42, p. 323-351, 2004.
- ALESSIO, E. *et al.* Ruthenium anticancer drugs. **Met Ions Biol Syst**, New York, v. 42, p. 323-351, 2004.
- ALLEN, G. R., JR. *et al.* 5-Substituted-1-indancarboxylic acids as potential antiinflammatory agents. **J Med Chem**, Washington, v. 15, n. 9, p. 934-937, 1972.
- ALLIX-BEGUEC, C. *et al.* Evaluation and strategy for use of MIRU-VNTRplus, a multifunctional database for online analysis of genotyping data and phylogenetic identification of Mycobacterium tuberculosis complex isolates. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 46, n. 8, p. 2692-2699, 2008.
- BENITE, A. M. C.; MACHADO, S. P.; BARREIRO, E. J. Considerações sobre a química inorgânica medicinal. **Revista eletrônica de Farmácia**, v IV, p. 131-142, 2007.
- BESKER, N. *et al.* Aquation of the ruthenium-based anticancer drug NAMI-A: a density functional study. **J Phys Chem B**, Washington, v. 112, n. 13, p. 3871-3875, 2008.
- BOTTARI, B. *et al.* Nickel(II) 2,6-diacetylpyridine bis(isonicotinoylhydrazonate) and bis(benzoylhydrazonate) complexes: structure and antimycobacterial evaluation. **Part XI. Bioorg Med Chem**, New York, v. 9, n. 8, p. 2203-2211, 2001.
- BROSCH, R. *et al.* Use of a Mycobacterium tuberculosis H₃₇Rv bacterial artificial chromosome library for genome mapping, sequencing, and comparative genomics. **Infect Immun**, Washington, v. 66, n. 5, p. 2221-2229, 1998.
- BUGARCIC, T. *et al.* The contrasting chemistry and cancer cell cytotoxicity of bipyridine and bipyridinediol ruthenium(II) arene complexes. **Inorg Chem**, Washington, v. 47, n. 24, p. 11470-11486, 2008.
- CER-KERČMAR, K. *et al.* Synthesis and characterization of two copper(II) compounds with xanthurenic acid. **Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly**, New York, v. 143, n. 3, p. 413-420, 2012.
- CHATT, J.; HAYTER, R. G.. Some complexes of tertiary phosphines with ruthenium (II) and osmium(II). **J. Chem. Soc.**, p.896-904, 1961.

- COKER, R. J. *et al.* Public health law and tuberculosis control in Europe. **Public Health**, London, v. 121, n. 4, p. 266-273, 2007.
- COKER, R. J. *et al.* Tuberculosis control in Samara Oblast, Russia: institutional and regulatory environment. **Int J Tuberc Lung Dis**, Paris, v. 7, n. 10, p. 920-932, 2003.
- COKER, R. J. *et al.* Tuberculosis recommendations. **Sex Transm Infect**, London, v. 74, n. 4, p. 240-242, 1998.
- COLE, S. T. *et al.* Deciphering the biology of Mycobacterium tuberculosis from the complete genome sequence. **Nature**, London, v. 393, n. 6685, p. 537-544, 1998.
- CONNELLY, P. A. *et al.* The epidermal growth factor receptor and the product of the neu protooncogene are members of a receptor tyrosine phosphorylation cascade. **Proc Natl Acad Sci U S A**, Washington, v. 87, n. 16, p. 6054-6057, 1990.
- CONSTABLE, E. C.; HOUSECROFT, C. E. Coordination chemistry: the scientific legacy of Alfred Werner. **Chem Soc Rev**, v. 42, n. 4, p. 1429-1439, 2013.
- CORTES-DERICKS, L. *et al.* Cisplatin-resistant cells in malignant pleural mesothelioma cell lines show ALDH(high)CD44(+) phenotype and sphere-forming capacity. **BMC Cancer**, v. 14, p. 304, 2014.
- DAASCH, L. W. & SMITH, D. C. *et al.* "Infrared spectra of phosphorus compounds" *Anal. Chem.*, 23: (6), 853, New York, 1999.
- DUCATI, R. G. *et al.* The resumption of consumption - a review on tuberculosis. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 7, p. 697-714, 2006.
- FARRELL, N. Biomedical uses and applications of Inorganic Chemistry. **An overview. Coordination Chemistry Reviews**, v. 232, p. 1-4, 2002.
- FRIEDEN, T. R. *et al.* Directly observed treatment for tuberculosis. **Lancet**, London, v. 353, n. 9147, p. 146; author reply 147-148, 1999.
- FRIEDEN, T. R. *et al.* Tuberculosis control and social change. **Am J Public Health**, London, v. 84, n. 11, p. 1721-1723, 1994.
- FRIEDEN, T. R.; DRIVER, C. R. Tuberculosis control: past 10 years and future progress. **Tuberculosis**, Edinburg, v. 83, n. 1-3, p. 82-85, 2003.
- FRIEDENBERG, K. A. *et al.* Intestinal perforation due to Mycobacterium tuberculosis in HIV-infected individuals: report of two cases. **Am J Gastroenterol**, New York, v. 88, n. 4, p. 604-607, 1993.
- GEARY, W. J. "The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds". **Coordination Chemistry Reviews**, 7: 81, 1971.
- GROESSL, M. *et al.* Structure-activity relationships for NAMI-A type complexes (HL)[trans-RuCl₄L(S-dmso)ruthenate(III)] (L = imidazole, indazole, 1,2,4-triazole, 4-amino-

1,2,4-triazole, and 1-methyl-1,2,4-triazole): aquation, redox properties, protein binding, and antiproliferative activity. **J Med Chem**, Washington, v. 50, n. 9, p. 2185-2193, 2007.

GUILHOT, J. *et al.* Analyzing molecular response in chronic myeloid leukemia clinical trials: Pitfalls and golden rules. **Cancer**, Washington, v.18, n. 10, 2014.

GUIRGIS, G. A. *et al.* Infrared and Raman spectra, conformational stability, barriers to internal rotation, normal-coordinate calculations and vibrational assignments for vinyl silyl bromide. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**, Amsterdam, v. 56, n. 6, p. 1065-1078, 2000.

HIREMATH, C. S. *et al.* FT-Raman and infrared spectra and vibrational assignments for 3-chloro-4-methoxybenzaldehyde, as supported by ab initio, hybrid density functional theory and normal coordinate calculations. **Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc**, Amsterdam, v. 68, n. 3, p. 710-717, 2007.

HOTZE, A. C. *et al.* New cytotoxic and water-soluble *bis*-(2-henylazopyridine)ruthenium(II) complexes. **J Med Chem**, Washington, v. 46, n. 9, p. 1743-1750, 2003.

HOTZE, A. C. *et al.* Synthesis, characterization, and crystal structure of α -[Ru(azpy)₂(NO₃)₂] (azpy=2-(phenylazo)pyridine) and the products of its reactions with guanine derivatives. **Inorg Chem**, Washington, v. 39, n. 17, p. 3838-3844, 2000.

HOUSECROFT, C. E; SHARPE, S. G. **Química inorgânica**. 4^a ed. Rio de Janeiro: LTC, 2013. 2v.

JAKUPEC, M. A. *et al.* Antitumour metal compounds: more than theme and variations. **Dalton Trans**, Cambridge, v. 28, n. 2, p. 183-194, 2008.

JAMIESON, E.R. e LIPPARD, S.J. Structure, recognition, and processing of *cis*platin-DNA Adducts. **Chemical Reviews**, v. 99, p. 2467-2498, 1999.

JESENSKA, A. *et al.* Dehalogenation of Haloalkanes by Mycobacterium tuberculosis H₃₇Rv and Other Mycobacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 1, p. 219-222, 2000.

JESENSKA, A. *et al.* Dehalogenation of Haloalkanes by Mycobacterium tuberculosis H₃₇Rv and Other Mycobacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 66, n. 1, p. 219-222, 2000.

KAYE, K. *et al.* Tuberculosis control: the relevance of classic principles in an era of acquired immunodeficiency syndrome and multidrug resistance. **Epidemiol Rev**, Washington, v. 18, n. 1, p. 52-63, 1996.

KIRSCH-DE MESMAEKER, A. *et al.* Ligand-dependent interaction of ruthenium(II) polypyridyl complexes with DNA probed by emission spectroscopy. **Photochem Photobiol**, Lawrence, v. 52, n. 3, p. 461-472, 1990.

KIRSCH-DE MESMAEKER, A. *et al.* Ligand-dependent interaction of ruthenium(II) polypyridyl complexes with DNA probed by emission spectroscopy. **Photochem Photobiol**, Lawrence, v. 52, n. 3, p. 461-472, 1990.

KLASEN, H. J. *et al.* A historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renewed interest for silver. **Burns**, Amsterdam, v. 26, n. 2, p. 131-148, 2000.

LI, Z. *et al.* Phosphine-catalyzed [3+2] cycloaddition reactions of azomethine imines with electron-deficient alkenes: a facile access to dinitrogen-fused heterocycles. **Chemistry**, Weinheim, v. 20, n. 6, p. 1731-1736, 2014.

MAŁECKI, J. G. *et al.* Ruthenium(II) complexes with quinoline carboxylate as a co-ligand. **Polyhedron**, Paris, v. 62, p. 188-202, 2013.

MOHTY, M. *et al.* The effects of bortezomib on bone disease in patients with multiple myeloma. **Cancer**, New York, v. 120, n. 5, p. 618-623, 2014.

MORRIS, R. E. *et al.* Inhibition of cancer cell growth by ruthenium(II) arene complexes. **J Med Chem**, Washington, v. 44, n. 22, p. 3616-3621, 2001.

NAKAMOTO, K. *Infrared and Raman of inorganic and coordination compounds*, 5^a ed., New York, **Wiley-Interscience**, 1997. 771 p.

NEVES, A. P.; VARGAS, M. D. **Rev. Virtual Química.**, 2011, 3 (3), 196-209. Data de publicação na Web: 5 de setembro de 2011 <http://www.uff.br/rvq>. Platinum(II).

NOVAKOVA, O. *et al.* Modification of natural, double-helical DNA by antitumor cis- and trans-[Cl(2)(Me(2)SO(4))(4)Ru] in cell-free media. **Biochem Pharmacol**, v. 60, n. 12, p. 1761-1771, 2000.

PAVAN, F. R. *et al.* Ruthenium(II) phosphine/diimine/picolinate complexes: inorganic compounds as agents against tuberculosis. **Eur J Med Chem**, Paris, v. 46, n. 10, p. 5099-5107, 2011.

PAVAN, F. R. *et al.* Ruthenium(II) phosphine/picolinate complexes as antimycobacterial agents. **Eur J Med Chem**, Paris, v. 45, n. 2, p. 598-601, 2010.

PEREZ-REBOLLEDO, A.; AYALA, J.D.; DE LIMA, G.M.; MARCHINI, N.; BOMBIERI, G.; ZANI, C.; SOUZAFAGUNDES, E. e BERALDO, H. Structural studies and cytotoxic activity of N(4)-phenyl-2-benzoylpyridine thiosemicarbazone Sn(IV). **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, p. 467-472, 2005.

PIESSEN, G. *et al.* Phase II/III multicentre randomised controlled trial evaluating a strategy of primary surgery and adjuvant chemotherapy versus peri-operative chemotherapy for resectable gastric signet ring cell adenocarcinomas - PRODIGE 19 - FFCD1103 - ADCl002. **BMC Cancer**, London, v. 13, p. 281, 2013.

SANTOS, E. R. *et al.* New ruthenium(II)/phosphines/diimines complexes: Promising antitumor (human breast cancer) and Mycobacterium tuberculosis fighting agents. **Polyhedron**, Paris, v. 51, p. 292-297, 2013.

SHRIVER & ATKINS. *Química Inorgânica*, Bookman, 2008, 4a. Ed. (Tradução da 4^a. ed. - Oxford Univ. Press, 2006 - D.F. Shriver, P.W. Atkins, T. L. Overton, J. P. Rourke, M.T. Weller e F.A. Armstrong).

SHUTTLEWORTH, T. A. *et al.* *bis*-(phosphine)boronium salts. Synthesis, structures and coordination chemistry. **Dalton Trans**, Cambridge, v. 42, n. 36, p. 1217-1225, 2013.

SOUZA, M. V. *et al.* Promising candidates in clinical trials against multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) based on natural products. **Fitoterapia**, Rio de Janeiro v. 80, n. 8, p. 453-460, 2009.

SULLIVAN, B. P.; MEYER, T. J.. Comparisons of the physical and chemical properties of isomeric pairs. 2. Photochemical, thermal, and electrochemical *cis-trans* isomerizations of $M(\text{Ph}_2\text{PCH}_2\text{PPh}_2)_2\text{CL}_2$ ($M = \text{Ru}^{\text{II}}$, Os^{III}). **Inorg. Chem**, v. 21, n. 3, p.1037-1040, 1982.

THIBAUT, V. C. *et al.* Combined multilocus short-sequence-repeat and mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem-repeat typing of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* isolates. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 46, n. 12, p. 4091-4014, 2008.

THOMAS, L. C. *et al.* “**Interpretation of the infrared spectra of organophosphorus compounds**” – Hieden & Son Ltd., London, New York, 1974.

TRATAR PIRC, E. *et al.* Supramolecular framework of a dinuclear cadmium complex with a dianion of xanthurenic acid $[\text{Cd}_2(\text{Xan})_2(\text{H}_2\text{O})_4]$. **Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly**, New York, v. 143, n. 12, p. 1643-1648, 2012.

TSENG, J. *et al.* Thrombotic microangiopathy in metastatic melanoma patients treated with adoptive cell therapy and total body irradiation. **Cancer**, New York, v. 120, n. 9, p. 1426-1432, 2014.

VERSTOVSEK, S. *et al.* A phase 2 study of ruxolitinib, an oral JAK1 and JAK2 Inhibitor, in patients with advanced polycythemia vera who are refractory or intolerant to hydroxyurea. **Cancer**, New York, v. 120, n. 4, p. 513-520, 2014.

WIRTH, T. *et al.* Origin, spread and demography of the *Mycobacterium Tuberculosis* complex. **PLoS Pathog**, San Francisco, v. 4, n. 9, p. 100-160, 2008.

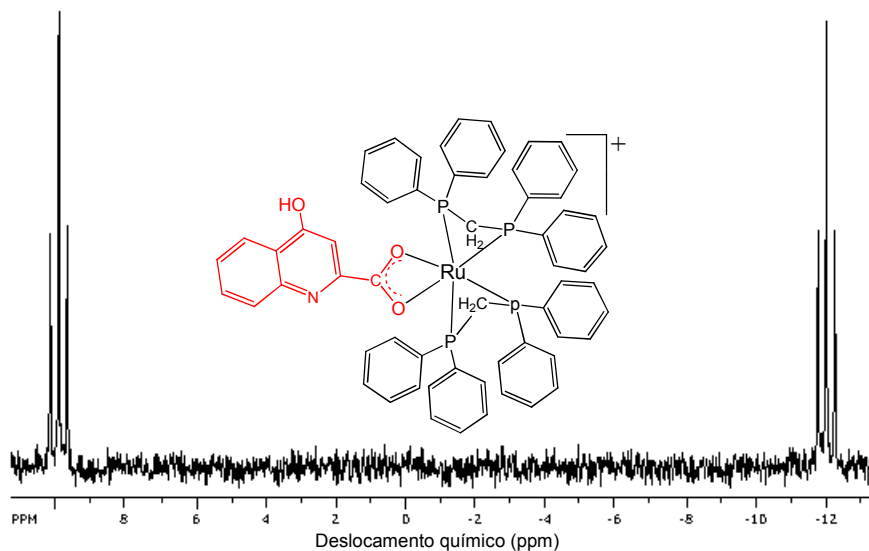
WONG, C. K. *et al.* Health-related quality of life and risk of colorectal cancer recurrence and All-cause death among advanced stages of colorectal cancer 1 year after diagnosis. **BMC Cancer**, London, v. 14, p. 337, 2014.

WONG, T. Y. *et al.* Celecoxib increases miR-222 while deterring aromatase-expressing breast tumor growth in mice. **BMC Cancer**, London, v. 14, p. 426, 2014.

ZIGLER, D. F. *et al.* Ruthenium(II)-polyazine light absorbers bridged to reactive *cis*-dichlororhodium(III) centers in a bimetallic molecular architecture. **Inorg Chem**, Easton, v. 47, n. 23, p. 11342-1150, 2008.

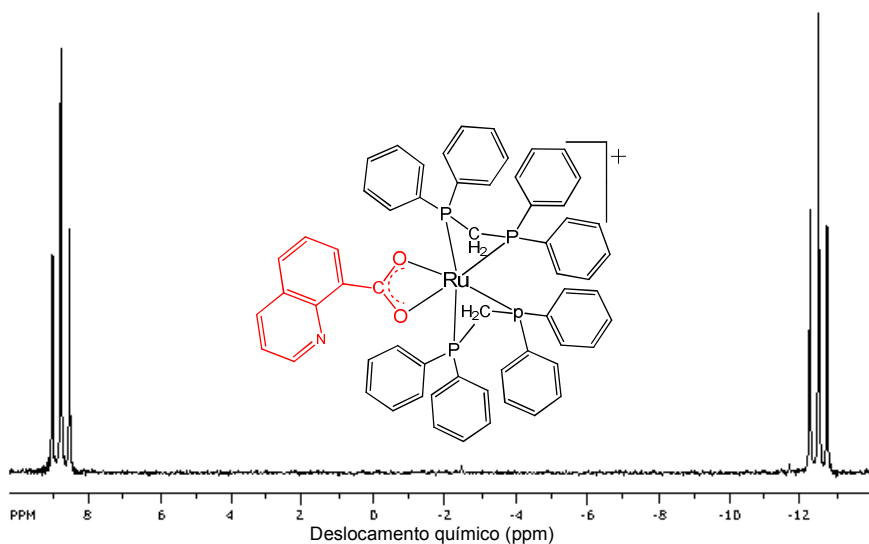
APÊNDICE A – Espectroscopia de ressonância magnética nuclear RMN de fósforo $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$.

FIGURA A1 – Espectro de RMN de fósforo $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]⁺PF₆⁻, em CH₂Cl₂/D₂O e frequência de 162 MHz.



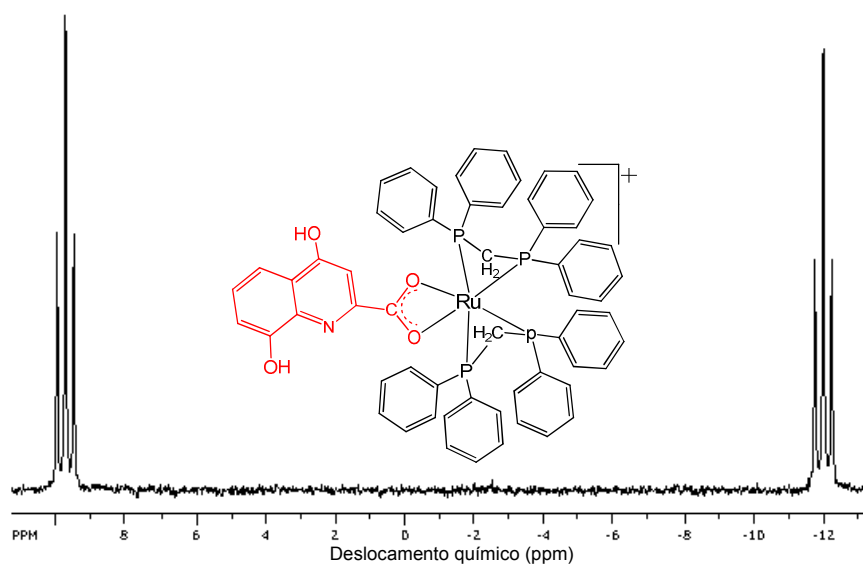
Fonte: Autor (2015).

FIGURA A2 – Espectro de RMN de fósforo $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]⁺PF₆⁻, em CH₂Cl₂/D₂O e frequência de 162 MHz.



Fonte: Autor (2015).

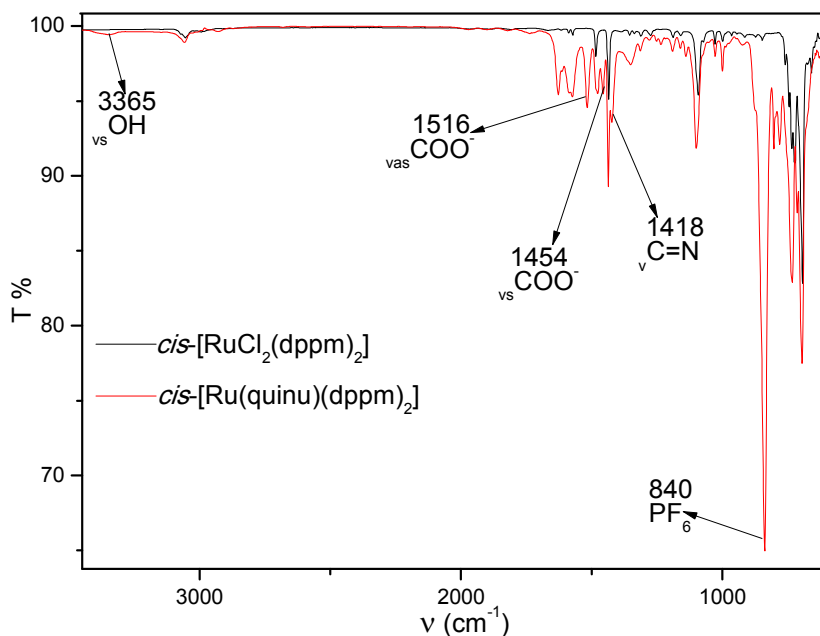
FIGURA A3 – Espectro de RMN de fósforo $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do *cis*-[Ru(xant)(dppm)₂]PF₆, em CH₂Cl₂/D₂O e frequência de 162 MHz.



Fonte: Autor (2015).

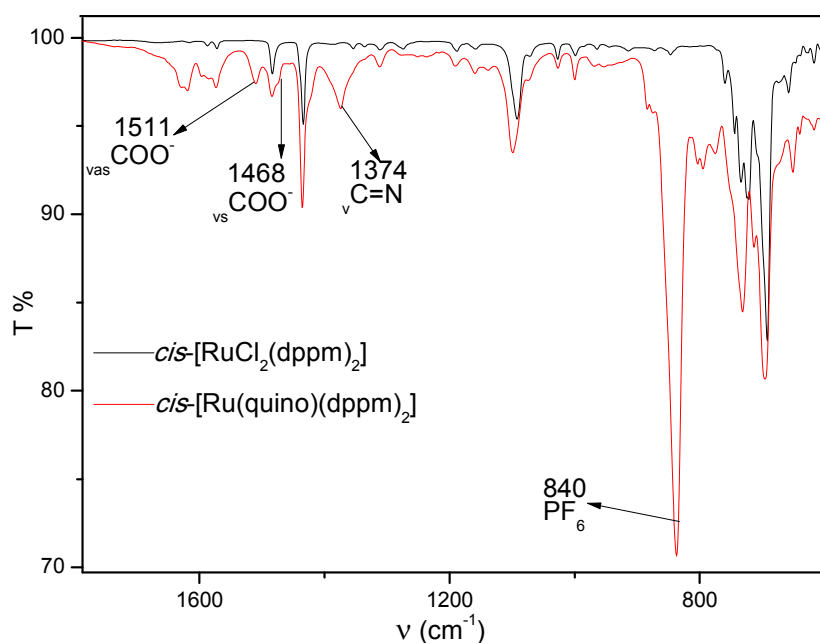
APÊNDICE B – Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV).

FIGURA B1 – Espectro de absorção na região do (IV) do complexo *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆, com o complexo precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂].



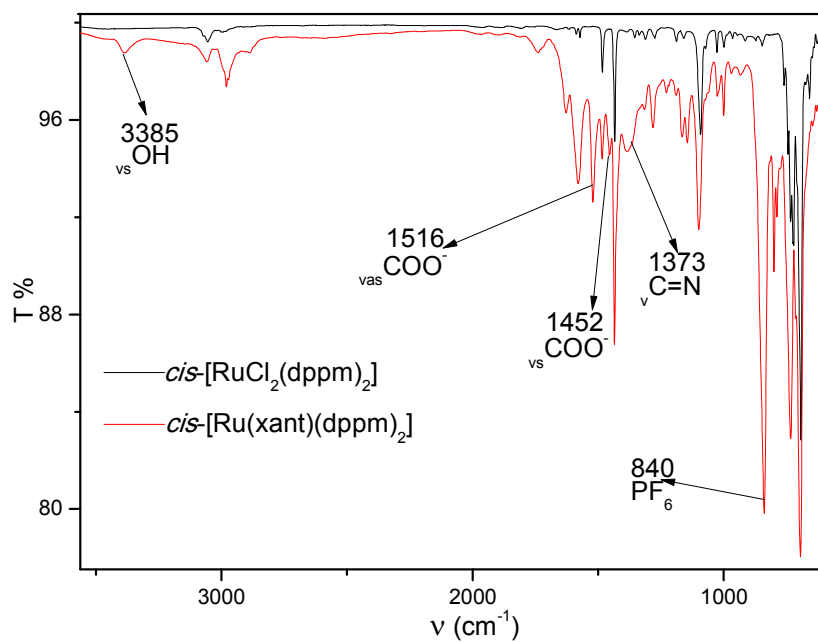
Fonte: Autor (2015).

FIGURA B2 – Espectro de absorção na região do (IV) do complexo *cis*-[Ru(quino)(dppm)₂]PF₆, com o complexo precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂].



Fonte: Autor (2015).

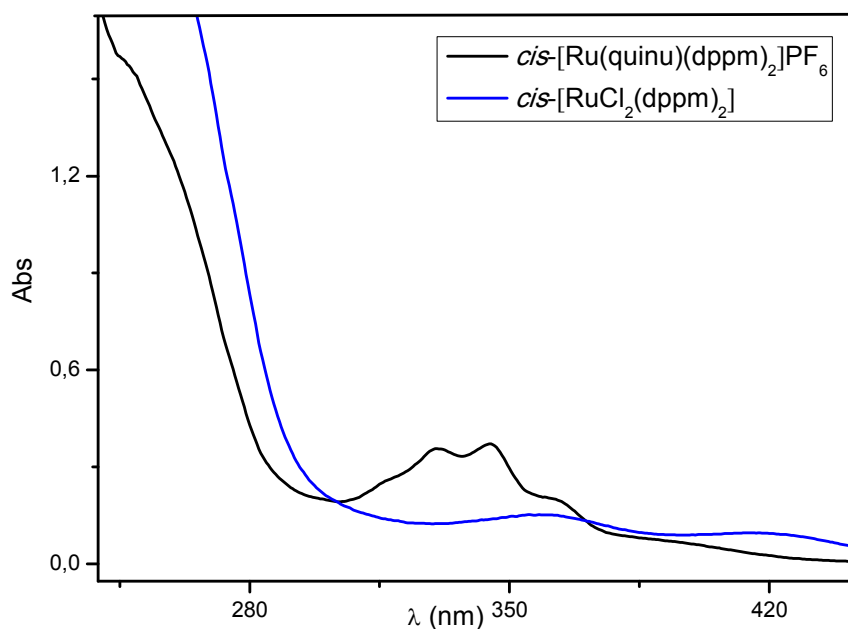
FIGURA B3 – Espectro de absorção na região do (IV) do complexo *cis*-[Ru(xant)(dppm)₂]PF₆, com o complexo precursor *cis*-[RuCl₂(dppm)₂].



Fonte: Autor (2015).

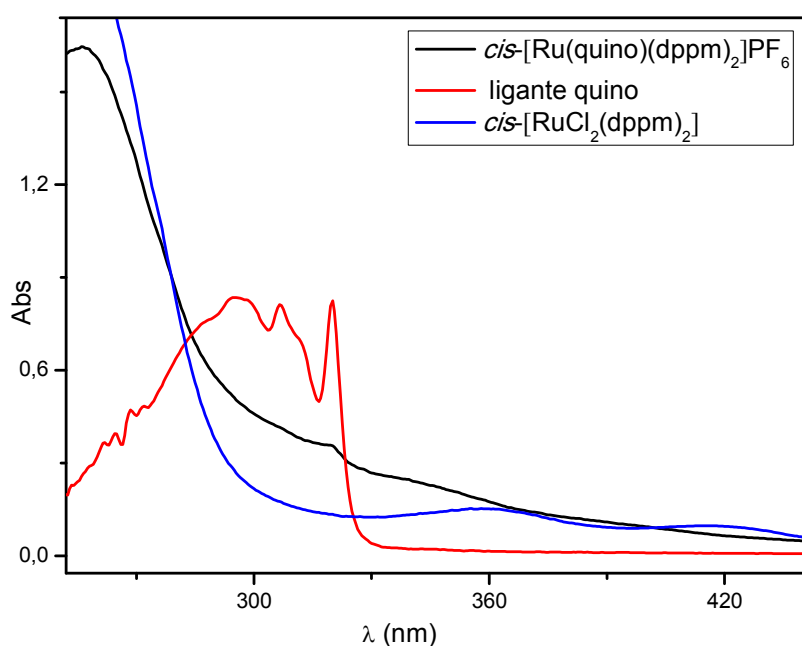
APÊNDICE C – Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-vis).

FIGURA C1 – Espectro de absorção na região do (UV-vis) do complexo *cis*-[Ru(quinu)(dppm)₂]PF₆, obtido em CH₂Cl₂ ($5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹).



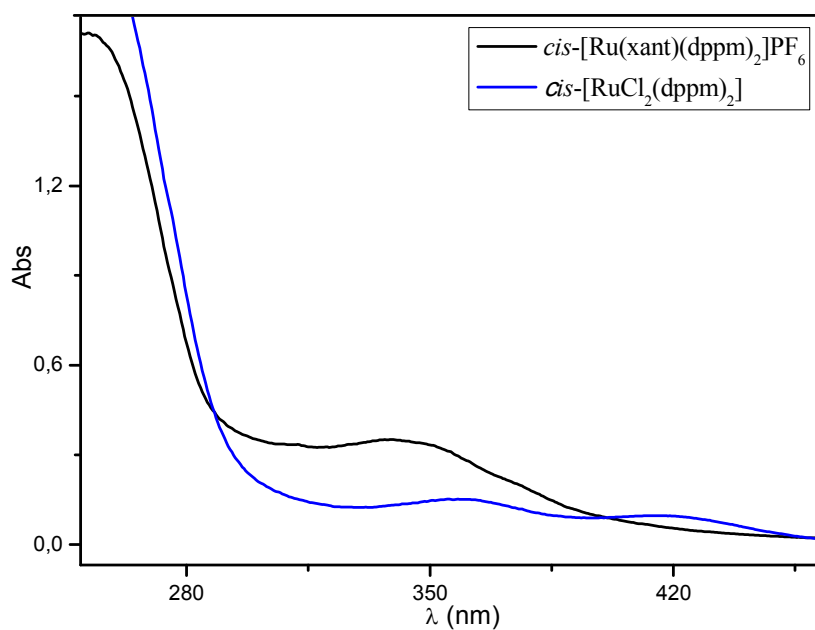
Fonte: Autor (2015).

FIGURA C2 – Espectro de absorção na região do (UV-vis) do complexo *cis*-[Ru(quino)(dppm)₂]PF₆, obtido em CH₂Cl₂ ($5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹).



Fonte: Autor (2015).

FIGURA C3 – Espectro de absorção na região do (UV-vis) do complexo *cis*-[Ru(xant)(dppm)₂]PF₆, obtido em CH₂Cl₂ ($5,0 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹).



Fonte: Autor (2015).