



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**Programa de Pós-Graduação em Química**

**YASMIM GARCIA GONÇALVES**

**Efeito citotóxico contra células de câncer de pulmão de novos  
complexos de rutênio(II) contendo ligantes bifosfínicos,  
tiossemicarbazonas e semicarbazonas**

Uberlândia – MG

2020

YASMIM GARCIA GONÇALVES

**Efeito citotóxico contra células de câncer de pulmão de novos complexos de rutênio(II) contendo ligantes bifosfínicos, tiossemicarbazonas e semicarbazonas**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química.

**Orientador:** Prof. Dr. Gustavo Von Poelhsitz

**Área de concentração:** Química Inorgânica

Uberlândia – MG

2020

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU  
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

G635  
2020

Gonçalves, Yasmim Garcia, 1995-  
Efeito citotóxico contra células de câncer de pulmão  
de novos complexos de rutênio(II) contendo ligantes  
bifosfínicos, tiossemicarbazonas e semicarbazonas  
[recurso eletrônico] / Yasmim Garcia Gonçalves. - 2020.

Orientador: Gustavo Von Poelhsitz.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de  
Uberlândia, Pós-graduação em Química.  
Modo de acesso: Internet.  
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2020.635>  
Inclui bibliografia.  
Inclui ilustrações.

1. Química. I. Poelhsitz, Gustavo Von, 1977-,  
(Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-  
graduação em Química. III. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

YASMIM GARCIA GONÇALVES

**Efeito citotóxico contra células de câncer de pulmão de novos  
complexos de rutênio(II) contendo ligantes bifosfínicos,  
tiossemicarbazonas e semicarbazonas**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Química da Universidade  
Federal de Uberlândia, como requisito para a  
obtenção do título de Mestre em Química.

**Orientador:** Prof. Dr. Gustavo Von Poelhsitz

Uberlândia, 25 de Agosto de 2020

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Gustavo Von Poelhsitz – UFU

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Carolina Gonçalves Oliveira – IQ/UFU

---

Prof. Dr. Roberto Santana da Silva – FCFRP/USP





## UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Química  
Av. João Naves de Ávila, 2121, Bloco 5I - Bairro Santa Mônica, Uberlândia-MG, CEP  
38400-902  
Telefone: (34) 3239-4385 - [www.cpgquimica.iq.ufu.br](http://www.cpgquimica.iq.ufu.br) - [cpgquimica@ufu.br](mailto:cpgquimica@ufu.br)



### ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 317, PPGQUI				
Data:	vinte e cinco de agosto de dois mil e vinte	Hora de início:	14:00 h	Hora de encerramento:	17:05 h
Matrícula do Discente:	11812QMI014				
Nome do Discente:	Yasmim Garcia Gonçalves				
Título do Trabalho:	Efeito citotóxico contra células de câncer de pulmão de novos complexos de rutênio(II) contendo ligantes bifosfínicos, tiossemicarbazonas e semicarbazonas				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Química Bioinorgânica, Fotoquímica e Fotobiologia				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Estudo da atividade biológica de novos complexos de rutênio(II)				

Reuniu-se por meio de webconferência, plataforma "Google Meet", link de acesso "[meet.google.com/ebm-fifi-vft](https://meet.google.com/ebm-fifi-vft)", a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: Carolina Gonçalves Oliveira, do Instituto de Química da UFU; Roberto Santana da Silva, da Universidade de São Paulo e Gustavo Von Poelhsitz, orientador(a) do(a) candidato(a).

Iniciando os trabalhos o(a) presidente da mesa, Dr(a). Gustavo Von Poelhsitz, apresentou a Comissão Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovada.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.



Documento assinado eletronicamente por **Gustavo Von Poelhsitz, Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/08/2020, às 13:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Carolina Gonçalves Oliveira, Professor(a) do Magistério Superior**, em 26/08/2020, às 14:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Roberto Santana da Silva, Usuário Externo**, em 26/08/2020, às 15:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://www.sei.ufu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2219695** e o código CRC **2CF1CE69**.

---

*Mitakuye Oyasin!*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus e ao universo por me permitirem essa encarnação e sempre me conduzirem a busca do conhecimento. Aos meus guias e mentores espirituais que me auxiliaram nessa caminhada até aqui, me protegendo e me intuindo a ter resiliência e sabedoria para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Dr. Gustavo Von Poelhsitz, pela oportunidade oferecida e confiança, por dedicar sua experiência e competência profissional na orientação e elaboração deste trabalho.

Aos meus pais Leandra e Weverson, por me gerarem, educarem e estarem sempre presentes com muito amor, dedicação e apoio, fundamentais nesta trajetória. À minha filha, Gaia, que me ensina todos os dias a ter força e resiliência de maneira leve e irreverente. Às minhas irmãs Thainá e Ninna, que são minhas eternas amigas.

Aos colegas de laboratório Sinval, Leandro, Werick, Juliane, Fernando, Breno e Cássio pelo companheirismo, amizade e ajuda ao longo desta trajetória.

A todos os meus queridos e amados amigos, em especial ao Victor, Luiza Samuel, Hellen e Diego Godina que além da sua amizade compartilharam seus conhecimentos para elaboração deste trabalho.

À CAPES pela concessão da bolsa.

À Rede Mineira de Química e ao grupo Grupo de Materiais e compostos Inorgânicos do Triângulo (GMIT).

À professora Dra. Kelly Aparecida Geraldo Yoneyama, à aluna Monica Soares Costa pela realização dos ensaios antitumorais, mas principalmente pela paciência e parceria. Ao professor Dr. Pedro Ivo da Silva Maia da UFTM, ao professor Dr. Victor Deflon e ao aluno Victor Maia Miranda do IQSC-USP pela resolução das estruturas cristalográficas. Ao professor Dr. Eduardo de Faria Franca por me auxiliar na realização dos ensaios teóricos de ancoragem molecular.

A todos os professores e técnicos do Instituto de Química – UFU pela convivência e que de alguma forma contribuíram para este trabalho e para o meu crescimento pessoal e profissional.

À comissão examinadora por dedicarem seu tempo à leitura e estudo deste trabalho.

*“A criação de algo novo é consumada pelo intelecto, mas despertado pelo instinto de uma necessidade pessoal. A mente criativa age sobre algo que ela ama” – Carl Jung*

## RESUMO

O presente trabalho descreve a síntese e caracterização físico-química de quatro complexos de rutênio(II) análogos e inéditos, contendo em suas esferas de coordenação ligantes bifosfínicos (dppm = 1,1-*bis*(difenilfosfina)metano e ligantes das classes tio e semicarbazonas cíclicas (5-metóxi-5,6-difenil-4,5-dihidro-2H-[1,2,4]triazina-3-tiona (**Btsc**) e 5-metóxi-5,6-difeniltriazina-3-ona (**Bsc**), para os complexos **1** e **2**, respectivamente, e dppe = 1,1-*bis*(difenilfosfina)etano e os ligantes **Btsc** e **Bsc**, para os complexos **3** e **4**, respectivamente). Os complexos foram caracterizados pelas técnicas de análise elementar, espectroscopia vibracional na região do infravermelho, espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível, espectroscopia de ressonância magnética nuclear de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  e  $^1\text{H}$ , espectrometria de massas e difração de raios X por monocristal. A estabilidade dos complexos em dimetilsulfóxido (DMSO) foi estudada por meio da obtenção dos espectros de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  em diferentes intervalos de tempo. O estudo sugeriu que as ligações envolvidas na esfera de coordenação do metal, em todos os complexos, permanecem inalteradas durante o intervalo de tempo monitorado. Ensaio antitumorais *in vitro* contra a linhagem de células tumorais A549 e normais BEAS-2B foram realizados para todos os complexos, ambos precursores e ligantes livres e para cisplatina. Todos os complexos testados exibiram efeito citotóxico contra as células de câncer de pulmão, com valores de  $\text{IC}_{50}$  inferiores à cisplatina. Os novos complexos apresentaram valores muito similares na faixa de 0,26 a 0,52  $\mu\text{M}$ , sendo o complexo **4** o mais ativo e mais seletivo dentre eles. Estudos teóricos de ancoragem molecular foram realizados com o intuito de prever e compreender as possíveis interações dos complexos **1-4** com o DNA.

**Palavras-chave:** Complexos de rutênio(II). Câncer de pulmão. Tiosemicarbazonas. Semicarbazonas. Ancoragem molecular.

## **ABSTRACT**

The present work describes the synthesis and physicochemical characterization of four novel and analogous ruthenium(II) complexes, containing in their coordination spheres biphosphine ligands (dppm = 1,1-*bis* (diphenylphosphine)methane and ligands of the cyclic thio and semicarbazone classes (5-methoxy-5,6-diphenyl-4,5-dihydro-2H-[1,2,4]triazine-3-thione (**Btsc**) and 5-methoxy-5,6-diphenyltriazine-3-one (**Bsc**), for complexes **1** and **2**, respectively, and dppe= 1,1-*bis*(diphenylphosphine)ethane, **Btsc** and **Bsc** ligands, for complexes **3** and **4**, respectively). The complexes were characterized by the techniques of elemental analysis, vibrational spectroscopy in the infrared region, absorption spectroscopy in the ultraviolet and visible region,  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  and  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy, mass spectrometry and single crystal X ray diffraction. The stability of the complexes in dimethylsulfoxide (DMSO) was studied by obtaining the NMR  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  spectra in different periods of time. The study suggested that the bonds involved in the metal coordination sphere, in all complexes, remain unchanged during the monitored time interval. *In vitro* antitumor assays against the A549 (tumor cells) and BEAS-2B (normal cells) cells lineage were performed for all complexes, both precursors and free ligands and cisplatin. All evaluated complexes exhibited a cytotoxic effect against lung cancer cells, with  $\text{IC}_{50}$  values lower than cisplatin. The new complexes showed similar values in the range of 0.26 to 0.52  $\mu\text{M}$ , being complex **4** the most active and selective among them. Molecular docking studies were performed to predict and understand possible interactions between complexes **1-4** and DNA.

**Keywords:** Ruthenium(II) complexes. Lung cancer. Thiosemicarbazones. Semicarbazones. Molecular docking.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
1.1 <i>Câncer</i>	1
1.1.1 Tratamentos disponíveis	2
1.1.2 Quimioterapia convencional e moderna	3
1.2 <i>Química Inorgânica Medicinal</i>	5
1.2.1 Potencial farmacológico de complexos metálicos	6
1.2.2 Rutênio e a Química Bioinorgânica	9
1.2.3 Alvos biológicos de complexos de rutênio	14
1.3 <i>Propriedade químicas e biológicas dos ligantes</i>	17
1.3.1 Ligantes bifosfínicos	17
1.3.2 Ligantes das classes tiossemicarbazona e semicarbazona	22
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>25</b>
<b>3. METODOLOGIA</b>	<b>27</b>
3.1 <i>Materiais, solventes e ligantes</i>	27
3.2 <i>Procedimento experimental</i>	27
3.2.1 Síntese dos complexos precursores	27
3.2.2 Síntese dos novos complexos de Ru <sup>II</sup>	27
3.3 <i>Instrumentação</i>	29
3.3.1 Análise elementar (CHN/CHNS)	29
3.3.2 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta e visível	29
3.3.3 Espectroscopia vibracional de absorção na região do Infravermelho	29
3.3.4 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear	30
3.3.5 Espectrometria de massas	30
3.3.6 Difração de raios X por monocristal	30
3.4 <i>Ensaio de estabilidade em DMSO</i>	31
3.5 <i>Ensaio de citotoxicidade in vitro</i>	31
3.5.1 Cultura celular	31
3.5.2 Ensaio citotóxico <i>in vitro</i>	32
3.6 <i>Estudos teóricos de ancoragem molecular</i>	32



<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>34</b>
4.1 <i>Aspectos da síntese dos complexos de Ru<sup>II</sup></i> .....	34
4.2 <i>Caracterizações Físico-Químicas</i> .....	37
4.2.1 <i>Análise dos espectros na região do infravermelho</i> .....	37
4.2.2 <i>Análise dos espectros de ultravioleta e visível</i> .....	40
4.2.3 <i>Análise dos espectros de ressonância magnética nuclear</i> .....	43
4.2.3.1 <i>Espectros de ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup>H</i> .....	43
4.2.3.2 <i>Espectros de ressonância magnética nuclear de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}</i> .....	47
4.2.4 <i>Análise dos espectros de massas</i> .....	55
4.2.5 <i>Estrutura cristalina do complexo 1.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></i> .....	57
4.2.6 <i>Análise da estabilidade dos complexos em DMSO</i> .....	64
4.3 <i>Atividade antitumoral in vitro</i> .....	66
4.4 <i>Estudos teóricos de ancoragem molecular</i> .....	68
 <b>5. CONCLUSÃO .....</b>	 <b>79</b>
 <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	 <b>81</b>
 <b>APÊNDICE .....</b>	 <b>92</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema simplificado da formação de um tumor.....	2
<b>Figura 2.</b> Estruturas dos principais fármacos de primeira escolha utilizados nos últimos 80 anos na quimioterapia do câncer .....	4
<b>Figura 3.</b> Estrutura química da cisplatina e alguns dos seus derivados, com seus respectivos anos de descoberta da atividade biológica.....	6
<b>Figura 4.</b> Evolução dos complexos de rutênio no tratamento do câncer .....	12
<b>Figura 5.</b> Estrutura dos principais complexos de rutênio em estudos pré-clínicos e clínicos .....	13
<b>Figura 6.</b> Estrutura química do composto TLD1433 em estudos clínicos para a terapia fotodinâmica .....	14
<b>Figura 7.</b> Representação da dupla hélice do DNA, com a elucidação dos seus sulcos e bases nitrogenadas .....	15
<b>Figura 8.</b> Modos de interação de complexos de rutênio com o DNA .....	16
<b>Figura 9.</b> Estrutura química de complexos de rutênio que apresentam potencial anti-tuberculose (SCAR5) e leishmanicida (Hmxbato) .....	20
<b>Figura 10.</b> Estruturas dos complexos contendo ligantes bifosfínicos descritos na literatura com atividade antitumoral, sendo <b>(A)</b> $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{SpymMe}_2\text{-N,S})_2]$ , <b>(B)</b> <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{ibu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ , <b>(C)</b> <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{diCl})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ e <b>(D)</b> <i>ct</i> - $[\text{RuCl}(\text{py})(\text{dppb})(4,40\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ .....	21
<b>Figura 11.</b> Estrutura genérica de semicarbazonas e tiossemicarbazonas.....	22
<b>Figura 12.</b> Ligantes tio e semicarbazonas cíclicas de interesse do presente trabalho .....	24
<b>Figura 13.</b> Esquema geral de síntese dos complexos de $\text{Ru}^{\text{II}}$ contendo as tio e semicarbazonas .....	35

<b>Figura 14.</b> Mecanismos de reação possíveis para a coordenação do ligante ao centro metálico .....	36
<b>Figura 15.</b> Espectros no I.V. (ATR) do ligante livre Btsc (traço azul), do precursor <i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (dppm) <sub>2</sub> ] (traço verde) e do complexo <b>1</b> (traço rosa) – com ampliação da região entre 1870-560 e 650-200 cm <sup>-1</sup> , respectivamente.....	37
<b>Figura 16.</b> Espectro na região do UV-vis do complexo <b>1</b> (traço rosa) obtidos em CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> e do ligante <b>Btsc</b> (traço azul) obtidos em DMSO .....	41
<b>Figura 17.</b> Espectro na região do UV-vis do complexo <b>1</b> (traço rosa) e do complexo precursor <i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (dppm) <sub>2</sub> ] (traço verde) obtidos em CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> .....	42
<b>Figura 18.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H obtido em <i>d6</i> -DMSO frequência de 400 MHz, do complexo <b>1</b> com seus hidrogênios identificados, com ampliação na região entre 7,70–6,80 ppm .....	44
<b>Figura 19.</b> Espectro de RMN <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H}, em CDCl <sub>3</sub> , do complexo precursor <i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (dppm) <sub>2</sub> ], com os átomos de fósforo identificados .....	47
<b>Figura 20.</b> Espectro de RMN <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H}, em CDCl <sub>3</sub> , do complexo precursor <i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (dppe) <sub>2</sub> ], com os átomos de fósforo identificados .....	48
<b>Figura 21.</b> Espectro de RMN <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H} em <i>d6</i> -DMSO do complexo <b>1</b> , com ampliação dos sinais ddd entre -0,38 a -1,15; -6,59 a -7,40 e -14,17 a -20,91 ppm .....	50
<b>Figura 22.</b> Espectro de RMN <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H} em <i>d6</i> -DMSO do complexo <b>2</b> , com ampliação dos sinais ddd entre 8,32 a 7,43; 1,21 a 0,29 e -11,34 a -16,29 ppm .....	51
<b>Figura 23.</b> Espectro de RMN <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H} em <i>d6</i> -DMSO do complexo <b>3</b> , com ampliação dos sinais ddd entre 58,39 a 56,05; 53,80 a 51,43 e 51,14 a 48,84 ppm .....	52
<b>Figura 24.</b> Espectro de RMN <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H} em <i>d6</i> -DMSO do complexo <b>4</b> , com ampliação dos sinais ddd entre 60,41 a 58,00; 57,83 a 56,99; 57,00 a 54,86 e 53,89 a 53,65 ppm .....	53
<b>Figura 25. (A)</b> Espectro de massas HRESI-MS do complexo <b>1</b> . <b>(B)</b> Espectro HRESI-MS/MS com padrão de fragmentação do complexo <b>1</b> .....	55

<b>Figura 26.</b> Representação da estrutura do complexo <b>1.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b> , com os átomos de hidrogênio e a molécula de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> omitidos, obtida pelos dados de difração de raios X.....	57
<b>Figura 27.</b> Comparação dos valores das distâncias das ligações no anel triazínico da tiossemicarbazona livre e coordenada. Os valores estão apresentados em Å, sendo as distâncias das ligações na tiossemicarbazona livre foram descritas por Rezaei & Fazlollahi, 2013. Os anéis aromáticos e os grupos alifáticos das bifosfinas estão omitidos para melhor visualização .....	59
<b>Figura 28.</b> Interações intramoleculares, representadas pelas linhas pontilhadas azuis, no empacotamento cristalino do complexo <b>1.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b> .....	61
<b>Figura 29.</b> Interações intermoleculares, representadas pelas linhas pontilhadas azuis, no empacotamento cristalino do complexo <b>1.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b> que envolve o átomo de N3 .....	61
<b>Figura 30.</b> Interações intermoleculares, representadas pelas linhas pontilhadas azuis, no empacotamento cristalino do complexo <b>1.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b> que envolve o átomo de S1. ....	62
<b>Figura 31.</b> Interações intermoleculares, representadas pelas linhas pontilhadas azuis, no empacotamento cristalino do complexo <b>1.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b> que envolve o contra-íon PF <sub>6</sub> <sup>-</sup> .....	62
<b>Figura 32.</b> Espectros de RMN <sup>31</sup> P { <sup>1</sup> H} do complexo <b>1</b> , obtidos nos tempos 0 (vermelho), 6 (amarelo), 12 (verde), 24 (azul) e 48 (roxo) hrs após solubilização no solvente (CD <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO, com os átomos de fósforo identificados.....	65
<b>Figura 33.</b> Estrutura cristalográfica do complexo de referência Λ-[Ru(TAP) <sub>2</sub> (11,12-CN-dppz)] <sup>2+</sup> e o DNA, utilizando o programa DS Visualizer 2019. ....	69
<b>Figura 34.</b> Identificação das interações hidrofóbicas (linha tracejada rosa) entre o complexo <b>1</b> e o DNA, obtidos pelo programa DS Visualizer 2019.....	70
<b>Figura 35.</b> Identificação das ligações de hidrogênio (linha tracejada verde) entre o átomo de S do ligante <b>Btsc</b> e os átomos de hidrogênio da guanina DG9 e o átomo O2 da citosina DC2 do DNA, obtidos pelo programa DS Visualizer 2019.....	70

<b>Figura 36.</b> Identificação das interações $\pi$ -S (linha tracejada amarela) entre o átomo de S do ligante <b>Btsc</b> e a guanina DG9 e a citosina DC2 do DNA, obtidos pelo programa DS Visualizer 2019.....	71
<b>Figura 37.</b> Identificação das ligações de hidrogênio (linha tracejada verde) entre o átomo de N do ligante <b>Bsc</b> do complexo <b>2</b> e o hidrogênio da desoxirribose ligada a guanina DG10 do DNA, obtidos pelo programa DS Visualizer 2019.....	72
<b>Figura 38.</b> Identificação da ligação de hidrogênio (linha tracejada verde) entre o átomo de N do ligante <b>Bsc</b> do complexo <b>2</b> e o hidrogênio da desoxirribose ligada a guanina DG10 do DNA, obtidos pelo programa DS Visualizer 2019.....	72
<b>Figura 39.</b> Identificação interação eletrostática $\pi$ -ânion (linha tracejada laranja) envolvida entre o átomo de O (fosfato) ligado a citosina DC2 e o anel aromático do dppm do complexo <b>2</b> e o DNA, obtidos pelo programa DS Visualizer 2019.....	73
<b>Figura 40.</b> Identificação da interação hidrofóbica (linha tracejada roxa) entre o complexo <b>3</b> e o DNA, obtidos pelo programa DS Visualizer 2019.....	74
<b>Figura 41.</b> Identificação das ligações de hidrogênio (linha tracejada verde) entre o complexo <b>3</b> e o DNA, obtidos pelo programa DS Visualizer 2019.....	74
<b>Figura 42.</b> Identificação das interações hidrofóbicas (linha tracejada rosa) entre o complexo <b>4</b> e o DNA, obtidos pelo programa DS Visualizer 2019.....	75
<b>Figura 43.</b> Identificação das ligações de hidrogênio (linha tracejada verde) entre os átomos de N e O do ligante <b>Bsc</b> do complexo <b>4</b> e os átomos de hidrogênio da guanina DG9 do DNA, obtidos pelo programa DS Visualizer 2019.....	76

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Estrutura dos complexos metálicos com suas respectivas aplicações clínicas .....	8
<b>Tabela 2.</b> Frequências ( $\text{cm}^{-1}$ ) correspondentes aos principais modos vibracionais dos complexos <b>1-4</b> e dos ligantes livres <b>Btsc</b> e <b>Bsc</b> com suas respectivas atribuições do espectro IV dos novos complexos .....	40
<b>Tabela 3.</b> Valores de comprimento de onda, absortividades molares ( $\epsilon$ ) e possíveis transições encontradas nos espectros dos complexos <b>1-4</b> , dos precursores <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$ e <i>cis</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{dppe})_2]$ e dos ligantes livres <b>Btsc</b> e <b>Bsc</b> .....	43
<b>Tabela 4.</b> Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm (multiplicidade, integral) e suas respectivas atribuições para os complexos <b>1-4</b> .....	46
<b>Tabela 5.</b> Valores de deslocamento químico ( $\delta$ ) em ppm para complexos <b>1-4</b> , com suas respectivas atribuições e constantes de acoplamento.....	54
<b>Tabela 6.</b> Valores teóricos e experimentais da razão $m/z$ para os complexos de $\text{Ru}^{\text{II}}$ de <b>1-4</b> e seus respectivos erros experimentais .....	56
<b>Tabela 7.</b> Principais ângulos e distâncias dos átomos coordenados ao $\text{Ru}^{\text{II}}$ no complexo <b>1</b> . $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .....	58
<b>Tabela 8.</b> Valores dos ângulos internos das ligações no anel triazínico da tiossemicarbazona Btsc livre e coordenada .....	60
<b>Tabela 9.</b> Distâncias das interações intramoleculares presentes na estrutura cristalina do complexo <b>1</b> . $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .....	63
<b>Tabela 10.</b> Distâncias das interações intermoleculares presentes na estrutura cristalina do complexo <b>1</b> . $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .....	63
<b>Tabela 11.</b> Valores de $\text{IC}_{50}$ para a linhagem A549 e BEAS-2B, bem como os respectivos índices citotoxicidade seletiva, calculados para os complexos <b>1-4</b> , precursores, ligantes livre e cisplatina.....	66

**Tabela 12.** Estimativas de energia livre de ligação, torsional e respectivas constantes de inibição e valores de RMSD para os complexos **1-4** e o complexo  $\Lambda$ -[Ru(TAP)<sub>2</sub>(11,12-CN<sub>2</sub>-dppz)]<sup>2+</sup> com DNA, código 6G8S ..... 68

**Tabela 13.** Principais distâncias calculadas para as interações intermoleculares entre os complexos **1-4** e o DNA..... 76

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS**

**4,40-Mebipy** – 4,40-dimetil-2,2-bipiridina

**5-FU**– 5-fluorouracil

**A2780** – linhagem celular de câncer ovariano humano

**A549** – linhagem celular de câncer de pulmão humano

**ATR** – Reflectância total atenuada

**B16 Melanoma** – linhagem celular de câncer de pele murino

**BEAS-2B** – células epiteliais brônquicas humanas

**Bsc** – 5-metóxi-5,6-difeniltriazina-3-ona

**Btsc** – 5-metóxi-5,6-difenil-4,5-dihidro-2H-[1,2,4]triazina-3-tiona

**CCD-1059Sk** – linhagem de células fibroblásticas humanas

**CHNS** – teor de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre

**d** – dubleto

**dd** – duplo-dubleto

**dicl** – diclofenaco

**DMEM/F12** – meio de cultura modificado por Dulbecco enriquecido com nutrientes F-12

**DMSO** – dimetilsulfóxido

**DNA** – Ácido Desoxirribonucleico

**dppb** – 1,1-*bis*(difenilfosfina)butano



**dppe** – 1,1-*bis*(difenilfosfina)etano

**dppey** – 1,1-*bis*(difenilfosfina)etileno

**dppm** – 1,1-*bis*(difenilfosfina)metano

**dppe** – 1,1-*bis*(difenilfosfina)propano

**EMT-6** – linhagem celular de carcinoma mamário murinho

**FDA** – Agência federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos, do inglês *Food and Drug Administration*

**FTIR** – Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier

**HIV-AIDS** – vírus da imunodeficiência humana

**ibu** – ibuprofeno

**IC<sub>50</sub>** – Concentração da droga requerida para redução de 50% do crescimento celular

**ICR-KP1418** – complexo [ImH][*trans*-RuCl<sub>4</sub>(Im)<sub>2</sub>], com Im = imidazol

**ICS** – Índice de citotoxicidade seletiva

**HeLa** – linhagem celular imortalizada de câncer de mama humano

**HepG2** – linhagem celular de câncer de fígado humano

**Hmxbato** – *cis*-[Ru<sup>II</sup>(O-O)(dppm)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, com O-O = 3-hidróxi-4-metóxi benzoato

**HSA** – albumina de soro humano, do inglês *Human serum albumin*

**INGEB** – Instituto de Genética e Bioquímica

**IQ-UFU** – Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia

**IS** – Índice de seletividade

**IV** – Infravermelho

$^2J_{P-P}$  – constante de acoplamento entre os átomos de fósforo

**KP1019** – complexo  $[IndH][trans-RuCl_4(Ind)_2]$ , com Ind = indazol

**L1210** – linhagem celular de leucemia linfócita murina

**LAFOT-CM** – Laboratório de Fotoquímica e Ciência de Materiais

**LBTC-UFU** – Laboratório Nanobioteecnologia da Universidade Federal de Uberlândia

**m** – múltiplo

**M-109** – linhagem celular de câncer de pulmão murino

**M5076** – linhagem de células reticulares de sarcoma murino

**MCa** – linhagem celular de carcinoma mamário

**MAC5A** – linhagem celular de carcinoma de cólon de útero

**MCF-7** – linhagem de células tumorais de câncer de mama metastático humano

**MDA-MB231** – linhagem celular de câncer de mama triplo negativo

**MIC** – Concentração mínima de inibição, do inglês *Minimal Inhibition Concentration*

**MO59J** – linhagem celular de glioblastoma humano

**MTB H<sub>37</sub>Rv** – *Mycobacterium tuberculosis* da cepa H<sub>37</sub>Rv

**MTT** – método utilizado para avaliação da viabilidade celular

**NPK-1339** – complexo  $[Na][trans-RuCl_4(Ind)_2]$ , com Ind = indazol

**NAMI-A** – complexo  $[ImH][trans-RuCl_4(DMSO)(Im)]$ , com Im = imidazol

**PBS** – Tampão fosfato-salino, do inglês *Phosphate Buffered Saline*

**py** – piridina

**RMN <sup>1</sup>H** – Ressonância magnética nuclear de próton

**RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$**  – Ressonância magnética nuclear de fósforo – 31 com hidrogênio desacoplado

**RR** – ribonucleotídeo redutase

**RT** – transcriptase reversa

**s** – singleto

**SCAR5** – complexo *cis*-[Ru(pic)(dppe)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, com pic= picolinato

**SFB** – soro fetal bovino

**SpymMe<sub>2</sub>** – 4,6-dimetil-2-mercaptopirimidina

**t** – tripleto

**TLD1433** – complexo *rac*-[Ru(dmb)<sub>2</sub>(IP-3T)]Cl<sub>2</sub>, com dmb= 4,4'-dimetil-2,2'-bipiridina, IP= imidazol [4,5-*f*][1,10]-fenantrolina e 3T=  $\alpha$ -tertienil

**TFD** – Terapia Fotodinâmica

**TMS** – tetrametilsilano

**UFG** – Universidade Federal de Goiás

**UFScar** – Universidade Federal de São Carlos

**USP- São Carlos** – Universidade de São Paulo *Campus* São Carlos

**UFU** – Universidade Federal de Uberlândia

**v** – Vibração de estiramento axial

**$\delta$**  – Vibração molecular de deformação angular simétrica no plano ("scissors")

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Câncer

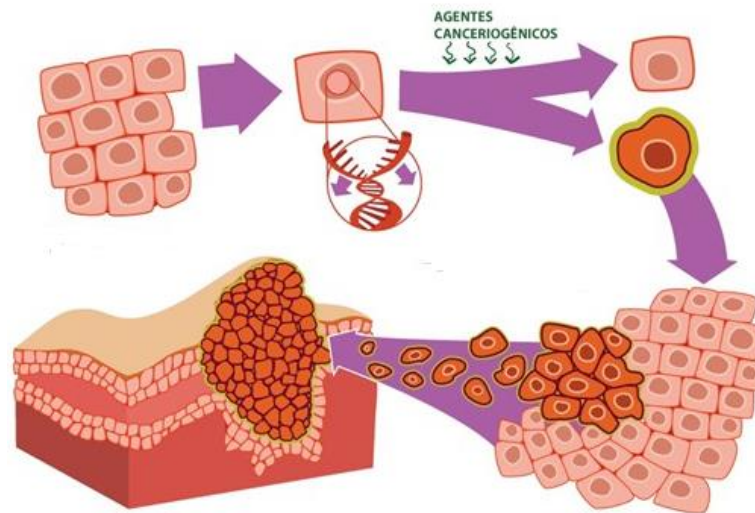
O ser humano possui em sua constituição biológica uma ampla e diversificada gama de células, as quais possuem funções específicas e bem estabelecidas pelas informações genéticas que carregam. A autonomia de cada célula possibilita a proliferação, morfogênese e apoptose, processos de suma importância para a manutenção do organismo como um todo. Porém, essa mesma autonomia pode configurar em uma ameaça à homeostase celular, uma vez que, no momento que a informação genética não é repassada adequadamente, ocorre a mutação genética e consequente geração de células altamente anormais e incompatíveis com as células normais circundantes. Quando essas células anormais se proliferam desenfreadamente, invadindo tecidos adjacentes e até se espalhando por lugares distantes daqueles de origem, é instaurado o processo denominado câncer.<sup>1,2</sup>

A oncogênese, processo de formação do câncer, ocorre pela aparição de uma única célula que sofreu uma sequência de mutações no DNA e alterações epigenéticas, a qual posteriormente multiplica-se e suas descendentes acumulam-se, constituindo assim o tumor, conforme representado na Figura 1. O processo gradual e cumulativo do crescimento dessas células mutadas pode levar décadas, visto que estágios de tumores aparecem em órgãos antes do diagnóstico de tumores malignos totalmente invasivos.<sup>2</sup>

A ocorrência dessas mutações está geralmente associada à fatores externos, relativos aos efeitos cumulativos da constante exposição a agentes cancerígenos – químicos, físicos e/ou biológicos –, ou à fatores internos, associados a regeneração celular pós processos inflamatórios.<sup>1,3</sup> As modificações epigenéticas que caracterizam as células tumorais permitem a compreensão da complexidade dessa doença e são elas a elevada taxa de proliferação, desenvolvimento de estratégias contra o processo de apoptose, instabilidade e mutação genômica, indução a angiogênese, ativação da invasão a tecidos adjacentes e metástase, habilidade de imortalidade replicativa,

resistência a sinais inibitórios de crescimento e modificação no metabolismo energético.<sup>4</sup>

**Figura 1.** Esquema simplificado da formação de um tumor.



**Fonte:** Adaptado de (INCA, 2014).<sup>5</sup>

As neoplasias malignas podem surgir de diferentes tipos de células especializadas e são normalmente categorizadas e denominadas após determinação do órgão de origem.<sup>1</sup> Um exemplo de neoplasia de origem epitelial é o câncer de pulmão, o qual é considerado um dos mais fatais e recorrentes em todo o mundo, sendo a principal causa de morte por câncer desde 1985.<sup>6</sup> Sua epidemiologia está relacionada a fatores de risco, como o tabagismo, poluição atmosférica e exposição à agentes químicos cancerígenos assimilados pelas vias aéreas – tais como radônio, asbesto, arsênico e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos oriundos da combustão incompleta de matéria orgânica em processos industriais.<sup>7</sup> A pré-disposição genética a esse carcinoma e diagnósticos de doença obstrutiva crônica, como o enfisema pulmonar e bronquite, também são apontados como fatores de risco.<sup>6,8,9</sup>

### 1.1.1 Tratamentos disponíveis

O tratamento do câncer é variável e muitas vezes são utilizadas terapias adjuvantes, com o intuito de melhorar a eficácia na redução e extinção do tumor.

Apesar de todo o progresso dos últimos 40 anos nas pesquisas relacionadas ao desenvolvimento e aperfeiçoamento do tratamento dessa doença, são utilizadas as mesmas três abordagens terapêuticas, sendo elas a cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia.<sup>10</sup>

A quimioterapia é definida na oncologia médica como uma terapia sistêmica que é baseada na utilização de um ou combinações pré-estabelecidas de dois ou mais agentes antineoplásicos capazes de inibir o crescimento e proliferação de células tumorais. A primeira terapia experimental realizada para o tratamento de um tumor foi realizada na década de 40 por meio da utilização de mostarda nitrogenada (HN<sub>3</sub>), arma química da Primeira Guerra Mundial, no tratamento de linfoma.<sup>11,12</sup> A partir de então, pesquisas em diversas regiões do planeta estão direcionadas para a busca de novos e mais eficientes candidatos a fármacos antitumorais.

### 1.1.2 Quimioterapia convencional e moderna

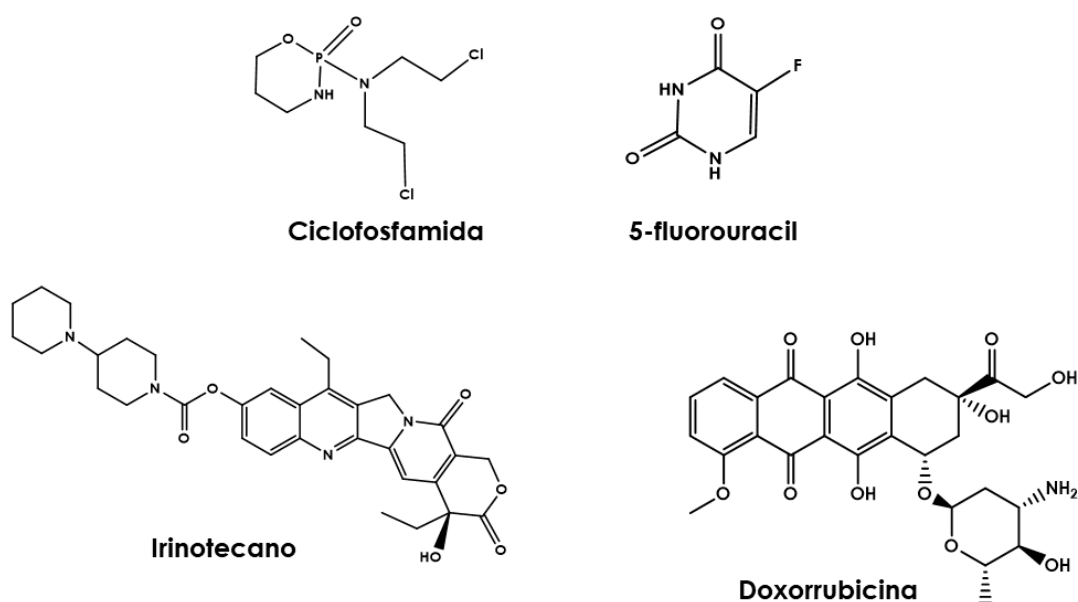
Dentre os quimioterápicos convencionais podem ser citados os agentes alquilantes, os antimetabólitos, os inibidores de topoisomerase e os agentes intercalantes.<sup>13</sup>

Os agentes alquilantes são caracterizados por grupos funcionais com deficiência de elétrons, os quais possuem afinidade para reagir com os grupos nucleofílicos do DNA, proteínas e outras biomoléculas. A ciclofosfamida, cuja estrutura está representada na Figura 2, é um exemplo de agente alquilante empregado no tratamento de linfomas, câncer de mama e leucemia linfoblástica aguda. Os antimetabólitos são capazes de interferir em vias biossintéticas, bloqueando bioquimicamente a síntese do DNA.<sup>2</sup> Um exemplo de antimetabólito comumente utilizado na terapia de variadas malignidades, tais como carcinoma colorretal, mamário e da bexiga, é o 5-fluorouracil (5-FU) (Figura 2).

Como a topoisomerase I e II estão envolvidas intimamente no processo de replicação e transcrição do DNA, o uso de inibidores dessas enzimas constituem uma importante classe de agentes quimioterápicos. Dentre eles, pode ser citado o irinotecano (Figura 2), o qual é administrado em combinação com o 5-FU.<sup>14</sup> Os agentes intercalantes são aqueles compostos cuja estrutura química intercala

reversivelmente entre as bases nitrogenadas das fitas dupla do DNA. Assim, com a formação desse aduto, a estrutura do DNA é modificada induzindo a inibição de processos de replicação e transcrição.<sup>15</sup> A antraciclina doxorubicina (Figura 2) é um agente intercalante aplicado na terapia de tumores mamários, hepáticos e linfáticos. Entretanto, em razão da baixíssima seletividade dos quimioterápicos convencionais comumente utilizados, há a ocorrência de efeitos colaterais adversos, como queda de cabelo, vômito, anemia, perda de apetite e tonturas.<sup>2</sup>

**Figura 2.** Estruturas dos principais fármacos de primeira escolha utilizados nos últimos 80 anos na quimioterapia do câncer.



**Fonte:** A autora.

Novas propostas de terapias têm surgido visando aperfeiçoar os fatores limitantes da quimioterapia convencional. Esses tratamentos buscam eliminar de modo seletivo as células tumorais e conferir ao sistema imunológico a capacidade de reconhecer quaisquer resquícios de tumores.<sup>12,16</sup> Dentre essas terapias promissoras podem ser citadas a terapia fotodinâmica (TFD) e a terapia-alvo. A TFD é baseada na utilização de um fotossensibilizador capaz de absorver radiação luminosa, em um determinado comprimento de onda, no ambiente celular rico em oxigênio molecular, o que resulta na geração de espécies reativas de oxigênio capazes de induzir a morte

da célula tumoral por necrose ou apoptose, e posterior restauração e regeneração completa do tecido.<sup>17</sup> Já a terapia-alvo consiste em medicamentos projetados para interagir especificamente com um alvo molecular, como proteínas que são fundamentais para o crescimento e progressão do tumor.<sup>10</sup>

## 1.2 Química Inorgânica Medicinal

Os metais desempenham funções fundamentais para manutenção da homeostase em sistemas vivos, uma vez que apresentam afinidade por múltiplas moléculas.<sup>18</sup> A Química Inorgânica Medicinal surge como uma área multidisciplinar, que combina desde a Química Inorgânica a Farmacologia, cujo foco principal é investigar e compreender as interações dos metais e seus compostos com os sistemas biológicos, tanto no que diz respeito aos metais essenciais, quanto para o desenvolvimento e melhoramento de compostos metálicos para fins terapêuticos e diagnósticos.

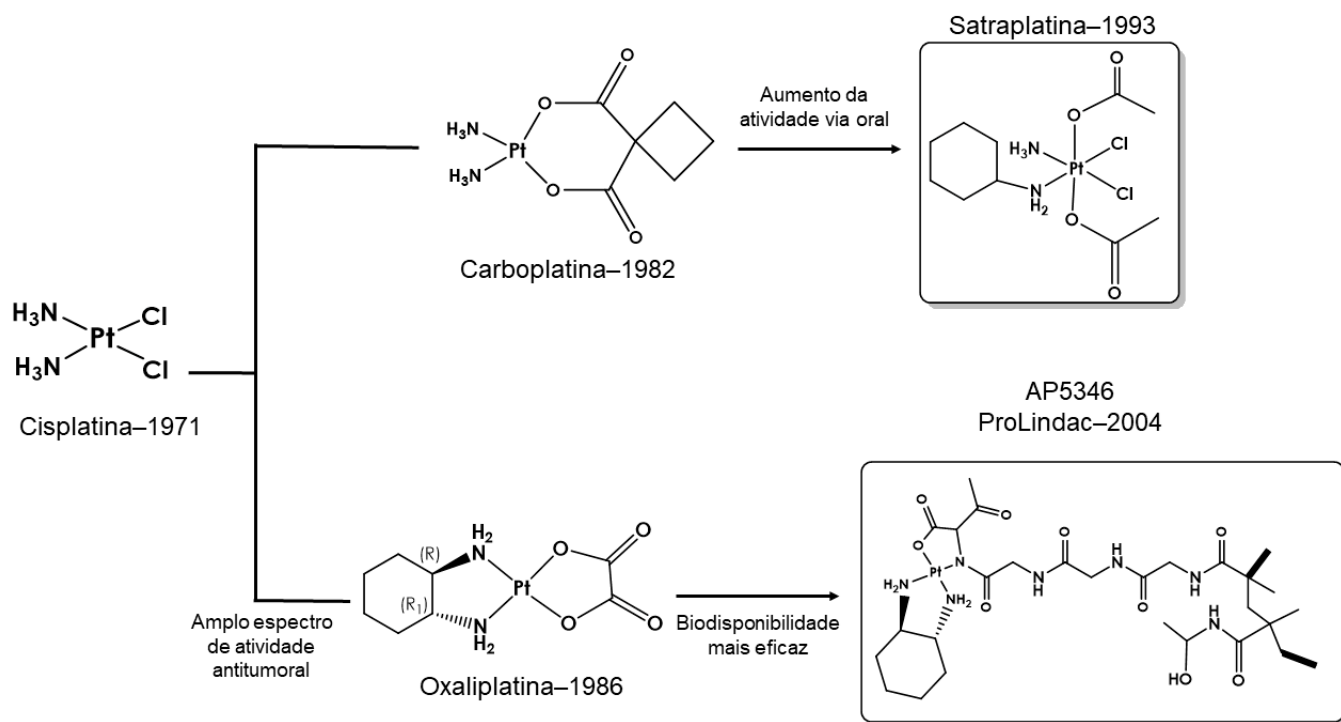
O grande marco da área se deu em 1965 com a descoberta acidental das propriedades biológicas da cisplatina, cuja estrutura está representada na Figura 3, pelos pesquisadores Barnett Rosenberg e Loretta VanCamp, durante seus estudos envolvendo o efeito de uma corrente elétrica na bactéria *Escherichia coli*, em que se constatou a inibição da divisão celular induzida pelo complexo.<sup>19</sup> Sua aplicação clínica para a quimioterapia do câncer ovariano e testicular foi deliberada pela agência federal do Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos (*Food and Drug Administration* (FDA)) em 1978. Como a cisplatina apresentava elevada atividade citotóxica, até então desconhecida, causou considerável impacto na oncoterapia da época. Apesar de induzir a alguns problemas clínicos, que vão desde a resistência adquirida a sérios efeitos colaterais – tais como nefrotoxicidade e neurotoxicidade –, a cisplatina é um dos fármacos de primeira escolha para diversos tumores e é administrada em conjunto com outras drogas, como a bleomicina e o etoposido, para o tratamento de tumores testiculares.<sup>15</sup>

Desde então, compostos análogos à cisplatina, como a carboplatina e a oxaliplatina (Figura 3), foram desenvolvidos afim de aperfeiçoar fatores



farmacocinéticos e farmacodinâmicos e têm sido aplicados no tratamento de diversos tumores.<sup>20,21</sup>

**Figura 3.** Estrutura química da cisplatina e alguns dos seus derivados, com seus respectivos anos de descoberta da atividade antitumoral.



**Fonte:** Adaptado (KELLAND *et al.*, 2007).<sup>22</sup>

A cisplatina e seus derivados passaram, então, a ser utilizados como protótipos em diversas pesquisas para a prospecção de novos candidatos a metalofármacos com bioatividade equivalente ou potencializada e com vias metabólicas mais eficazes para o combate do câncer bem como para outras enfermidades, como diabetes, Alzheimer, malária, leishmaniose e tuberculose, dentre outras.<sup>23-26</sup>

### 1.2.1 Potencial farmacológico de complexos metálicos

Algumas drogas orgânicas não possuem um mecanismo de ação puramente orgânico, sendo modificadas, ativadas ou possuindo efeito direto ou indireto no metabolismo por meio da interação com íons metálicos.<sup>27,28</sup> Com isso, quando se trata do desenvolvimento de potenciais fármacos, os compostos inorgânicos apresentam

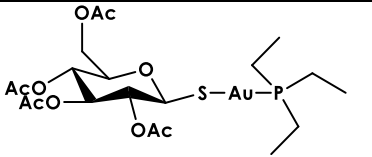
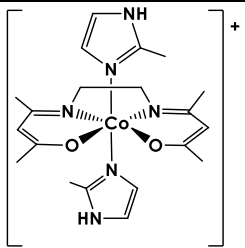
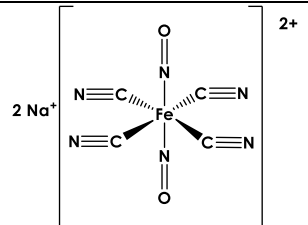
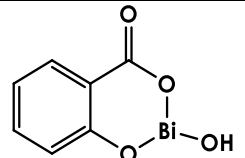
algumas vantagens em relação aos orgânicos, uma vez que possuem arquitetura versátil.

A modificação dos ligantes ao redor do metal, como ocorreu com a nova geração dos complexos da platina (Figura 3), e a mudança do centro metálico constituem estratégias interessantes para a obtenção de complexos metálicos mais potentes do que a cisplatina e seus derivados.

Como o centro metálico possui propriedades singulares, como estado de oxidação e número de coordenação, sua troca possibilita a presença de sítios de coordenação adicionais, além da alteração na afinidade metal-ligante e da cinética de substituição.<sup>29</sup> Esses fatores permitem delinear a atividade biológica desejada, uma vez que a sinergia metal-ligante pode atenuar alguns efeitos colaterais e até mesmo levar a uma significativa redução da resistência celular, já que os mecanismos de resistência que reconhecem um composto orgânico podem não o reconhecer quando complexado a um cátion metálico.<sup>30</sup> Além disso, o centro metálico pode atuar como um carreador de ligantes bioativos afim de não comprometer a sua biodisponibilidade. O metal pode atuar ainda com um catalisador *in vivo*, por meio da produção de espécies reativas que levam a danos celulares.<sup>31</sup> Neste sentido, muitos metais têm sido investigados no desenho de novas moléculas como candidatos a fármacos de diagnósticos e terapêuticos, tais como  $\text{Au}^{\text{I/III}}$ ,  $\text{Ti}^{\text{IV}}$ ,  $\text{Ag}^{\text{I}}$ ,  $\text{V}^{\text{IV/V}}$ ,  $\text{Cu}^{\text{II}}$ ,  $\text{Rh}^{\text{III}}$ ,  $\text{Ru}^{\text{III/II}}$ , etc.<sup>23,25,32,33</sup>

Há metalofármacos disponíveis para uso clínico para uma ampla gama de patologias, que vão desde artrite reumatoide a problemas gastrointestinais.<sup>24</sup> Algumas das estruturas químicas desses metalofármacos estão representadas pela Tabela 1.

**Tabela 1.** Estrutura dos complexos metálicos com suas respectivas aplicações clínicas.

Metalofármaco	Patologia
 <p>Auranofina (Ridaura®)</p>	Artrite reumatoide
 <p>CTC-96 (Doxovir™)</p>	<i>Herpes simplex labial</i>
 <p>Nitroprussiato de sódio (Nitropress®)</p>	Hipertensão
 <p>Subsalicilato de bismuto (Pepto-bismol®)</p>	Problemas gastrointestinais

Fonte: Adaptado de (MJOS & ORVIG, 2014).<sup>24</sup>

A auranofina (Ridaura®) é um composto de ouro(I) que retarda a progressão da artrite reumatoide por meio da inibição de várias enzimas catepsinas envolvidas nessa doença. Esse fármaco foi aprovado pela FDA em 1985 e, apesar de ter apresentado boa resposta terapêutica, o seu uso clínico ao longo dos anos têm causado controvérsias, justamente por sua estrutura química em solução para

administração intramuscular não estar claramente definida e seu modo de ação ainda não está completamente elucidado.<sup>34</sup> O complexo de cobalto(II) denominado CTC-96 (Doxovir™) completou com sucesso os estudos clínicos de fase II para o tratamento de *Herpes simplex labial* tipo 1 (HSV-1). Estudos *in vitro* apontam que esse complexo atua por meio do impedimento da entrada do vírus nas células através da inibição dos processos de fusão de membrana.<sup>35</sup> Em emergências hipertensivas pode ser administrada uma injeção intravenosa de nitroprussiato de sódio (Nitropress®), que é um complexo de ferro(III) que atua como um potente vasodilator. Esse metalofármaco foi aprovado pela FDA em 1988 e atualmente está passando por novas ações reguladoras pela agência por liberar no sistema sanguíneo, paralelamente ao NO, o íon tóxico cianeto (CN<sup>-</sup>).<sup>24</sup> O composto subsalicilato de bismuto (BSS, Pepto-Bismol®) foi desenvolvido em 1901 e é indicado, até os dias atuais, para dores de estômago, sintomas de diarreia, indigestão, azia e náusea. Apesar de seu uso ser disseminado, sua estrutura química e mecanismo de ação ainda não estão totalmente esclarecidos.<sup>24</sup>

Pela complexidade na quimioterapia dos tumores existentes, há um extenso número de pesquisas reportadas na literatura sobre os avanços na compreensão da relação de complexos metálicos com os processos de inibição proliferativa de células tumorais, sendo esse o foco do presente trabalho.<sup>36</sup>

### 1.2.2 Rutênio e a Química Bioinorgânica

O rutênio é um metal de transição do Grupo 8 da Tabela Periódica, o qual apresenta uma química muito versátil, formando compostos de estados de oxidação que variam de 2- a 8+, com exceção de 1-. Esses compostos possuem aplicações que vão desde catalisadores a fotossensibilizadores em células solares e ligas metálicas.<sup>37</sup>

Os estados de oxidação mais explorados em pesquisas de Química de coordenação são 2+ e 3+. Além disso, nesses estados de oxidação, a geometria predominante é octaédrica e, dependendo do ligante que está coordenado, pode exibir a capacidade de retrodoação, propriedade que confere estabilidade adicional aos complexos formados com esse metal. O íon Ru<sup>II</sup> possui configuração eletrônica (t<sub>2g</sub>)<sup>6</sup>(e<sub>g</sub>)<sup>0</sup> e comporta-se como um íon metálico relativamente mole, possuindo, assim,

mais afinidade por ligantes também facilmente polarizáveis e que apresentem orbitais de baixa energia, como  $N_2$ , N-heterocíclicos, tióis, entre outros.<sup>28,37,38</sup>

As propriedades químicas e biológicas intrínsecas do rutênio o tornam um metal atraente nas pesquisas relacionadas a Química Inorgânica Medicinal. Há estudos que descrevem os complexos de rutênio como potenciais agentes terapêuticos no tratamento de doenças como o câncer de múltiplas origens, tuberculose, malária, doença de Chagas e leishmaniose.<sup>39–43</sup>

Quando comparada a geometria quadrática-planar de complexos de  $Pt^{II}$ , a geometria octaédrica exibe maior flexibilidade de síntese, pois oferece sítios de coordenação axiais adicionais, os quais podem ser utilizados para ajustar as propriedades farmacológicas do complexo, como solubilidade e seletividade.<sup>28</sup>

Devido à cinética de troca de ligantes dos complexos de  $Ru^{II}$  e  $Ru^{III}$  ser lenta e similar à escala de tempo da reprodução celular, aproximadamente de  $10^{-2}$  a  $10^{-3} s^{-1}$ , os complexos desse metal possivelmente estabelecem interações com um ou mais componentes celulares. Com isso, podem permanecer ligado durante todo o tempo de vida da célula.<sup>44</sup> Esse fato permite maior abrangência de atuação dos complexos de rutênio no meio intracelular. Caso seja desejável a alteração da seletividade dos compostos frente a células normais, o potencial redox do rutênio pode ser modificado, sendo que os estados de oxidação 2+, 3+ e 4+ são acessíveis em condições fisiológicas.

Como o rutênio possui configuração eletrônica muito similar ao ferro, suas propriedades químicas, como reatividade, também são semelhantes. Sendo assim, no ambiente fisiológico, as biomoléculas transportadoras de ferro, tais como albumina e transferrina, possuem certa afinidade pelo átomo de rutênio. Essa mimetização corrobora para a atenuação da toxicidade e aumento considerável da seletividade.<sup>28,39,45</sup>

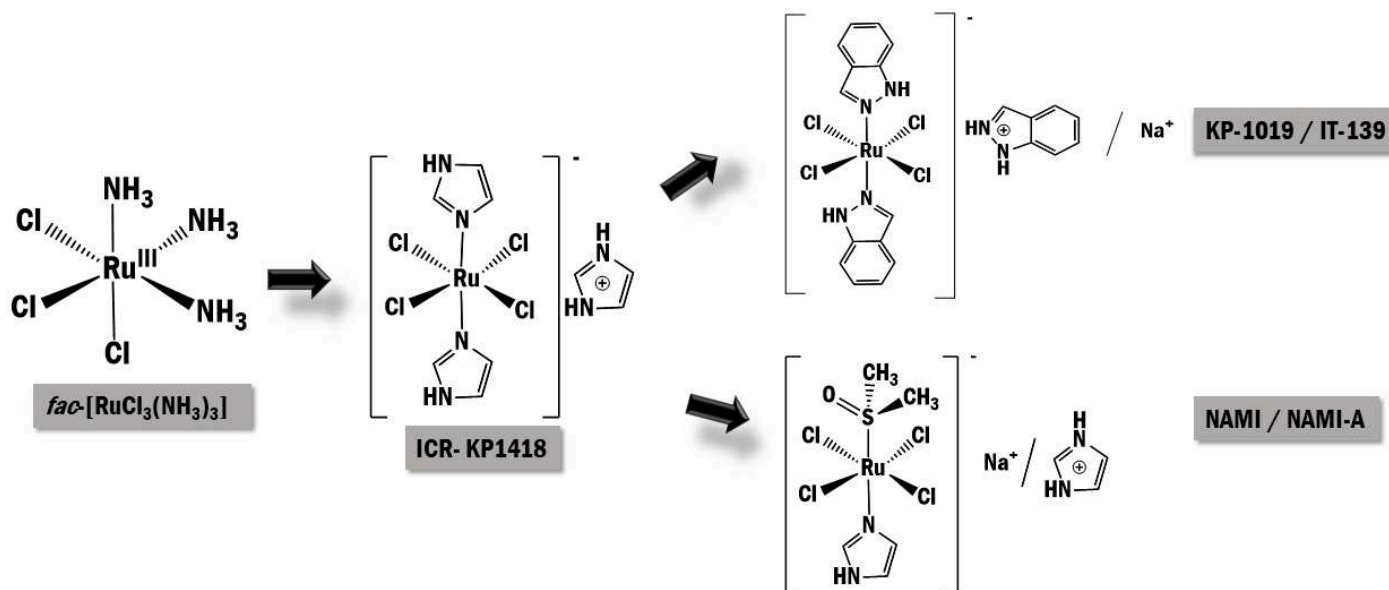
Clarke e colaboradores foram os pioneiros a reportarem a atividade citotóxica *in vitro* de um complexo de rutênio, sendo que o complexo *fac*- $[RuCl_3(NH_3)_3]$  (Figura 4) se mostrou bastante eficaz contra a linhagem de câncer mamário EMT-6 de ratos.<sup>46</sup> No entanto, a sua solubilidade baixa em água prejudicou sua administração, impossibilitando avaliações clínicas adicionais, mas despertou o interesse de muitos

grupos de pesquisa voltados para o desenvolvimento de novos agentes oncoterapêuticos baseados em íons metálicos.

A partir de então, as pesquisas passaram a ser direcionadas para a obtenção de complexos iônicos, principalmente espécies aniônicas com um maior número de ligantes halogenetos, que fossem solúveis em água.<sup>46</sup> Keppler e colaboradores deram início a esses estudos com o composto ICR-KP1418 (Figura 4), o qual apresentou propriedades antitumorais em modelos animais.<sup>47</sup> Esse complexo foi utilizado como modelo para síntese de análogos mais eficazes e promissores, como o KP1019 (Figura 4). Apesar de apresentar resultados *in vitro* e *in vivo* relevantes em tumores colorretais e contra a linhagem de carcinoma de cólon MAC5A, respectivamente, e ainda demonstrar atividade superior a droga de referência, o 5-fluoruracil, o que permitiu sua entrada para a fase I dos estudos clínicos, sua solubilidade também limitou o avanço para os estudos posteriores. Com isso, por meio da troca do contra-íon imizadol pelo íon  $\text{Na}^+$ , o IT-139 (Figura 4) foi escolhido, no ano de 2017, para substituir o KP1019 e dar continuidade aos testes clínicos, os quais estão em andamento.<sup>38,48</sup> Apesar dessa limitação, muitos avanços foram realizados, principalmente no que diz respeito aos mecanismos de ação do KP1019, corroborando para maior compreensão da interação de complexos de rutênio com o meio biológico.

Outro análogo promissor, conhecido como NAMI-A (Figura 4), derivado do ICR-KP1418, foi obtido por Sava e colaboradores. Inicialmente, esse complexo não apresentou atividade biológica *in vitro*, porém nas avaliações pré-clínicas *in vivo* contra o carcinoma de Lewis de pulmão, melanoma B16 e carcinoma mamário MCa, foi observada inibição metastática, o que não ocorreu com a cisplatina.<sup>48</sup> Com isso, esse foi o primeiro complexo metálico baseado em rutênio a passar por estudos clínicos em humanos, sendo bem-sucedido em estudos clínicos de fase I, mas reportado com eficácia limitada na fase II.<sup>38</sup>

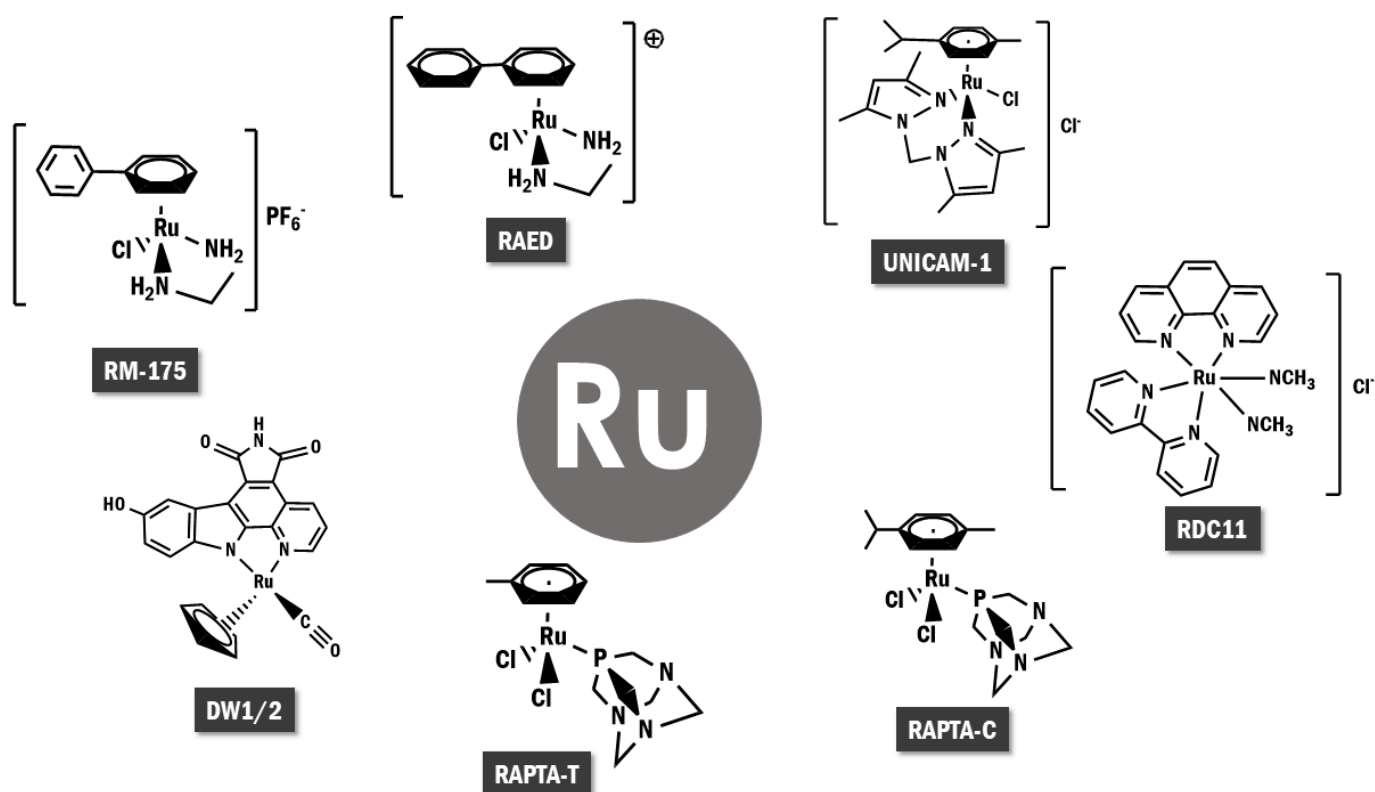
**Figura 4.** Evolução dos complexos de rutênio no tratamento do câncer.



**Fonte:** A autora.

Nas últimas décadas, houveram significativos avanços nas pesquisas de complexos antineoplásicos baseados em rutênio, com um número considerável de complexos que se encontram em estudos pré-clínicos e clínicos.<sup>38</sup> Uma das classes de grande destaque são os complexos organometálicos de rutênio(II), cujo os ligantes areno, além de conferir um caráter hidrofóbico – não avaliado anteriormente para os complexos de rutênio(III)–, possuem a capacidade de estabilizar o íon  $\text{Ru}^{\text{II}}$ .<sup>49–51</sup> Aqueles de maior destaque são o RAPTA-T, RAPTA-C, RAED e RM175 (Figura 5), potenciais agentes antimetastáticos de neoplasias de diferentes origens que se encontram em estágios pré-clínicos de desenvolvimento.<sup>38</sup>

**Figura 5.** Estrutura dos principais complexos de rutênio(II) em estudos pré-clínicos e clínicos.

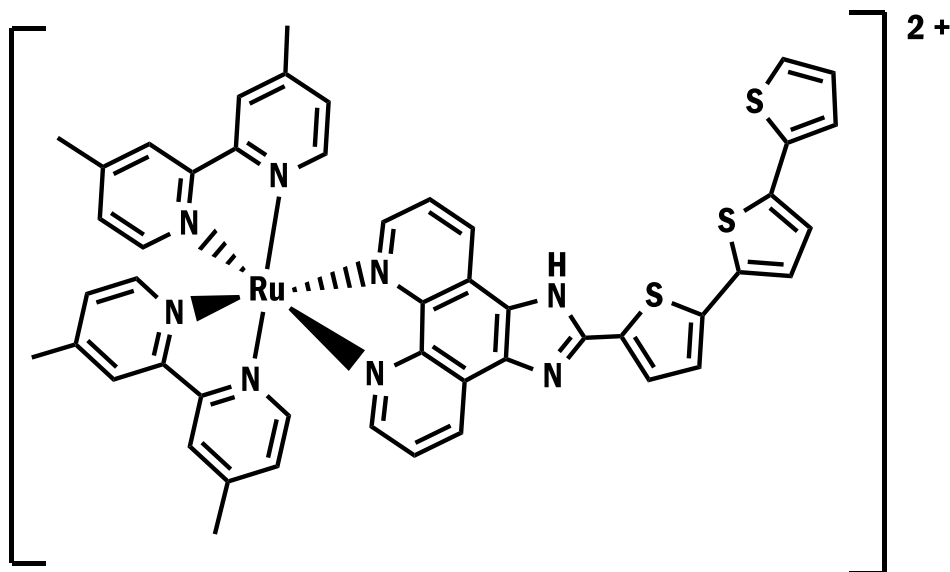


**Fonte:** A autora.

Outra classe relevante de complexos de  $\text{Ru}^{\text{II}}$  aplicada ao tratamento de câncer são os polipiridínicos, os quais possuem estrutura plana e rígida, o que confere a habilidade de se acomodar facilmente nos sulcos do DNA, como o RDC11, que apresentou diminuição crônica da toxicidade e afetou o crescimento de um amplo espectro de cânceres em camundongos, com mais eficácia do que a cisplatina.<sup>38,52–54</sup> O TLD1433 (Figura 6) é outro exemplo dessa classe que entrou na fase I e II dos ensaios clínicos para câncer de bexiga invasor não-muscular para tratamento com TFD.<sup>38</sup> Sendo assim, a prospecção de novos e mais potentes complexos de rutênio como agentes antineoplásicos se torna uma área de pesquisa promissora para a Química Inorgânica Medicinal.



**Figura 6.** Estrutura química do composto TLD1433 em estudos clínicos para a terapia fotodinâmica.



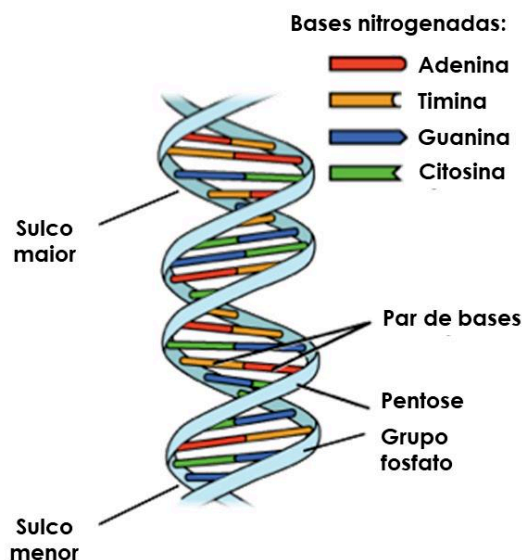
Fonte: Adaptado de (THOTA *et al.* 2018).<sup>38</sup>

### 1.2.3 Alvos biológicos de complexos metálicos de rutênio

No final da década de 80, os processos de regulação e sinalização responsáveis pelo controle de processos celulares primordiais, tais como crescimento, proliferação e vascularização, foram extensivamente estudados e melhor compreendidos. Com isso, alguns alvos biológicos foram associados à interrupção, de modo seletivo, desses processos nas células tumorais.

O DNA do núcleo (Figura 7), biomolécula baseada na sequência de desoxinucleótidos – os quais são estruturados em uma base nitrogenada, uma pentose, e um grupo fosfato–, é um dos principais sítios farmacofóricos primários de diversos medicamentos aprovados pela FDA. Dentre eles, estão os metalofármacos (como a cisplatina, carboplatina, oxaliplatina) e medicamentos oncológicos orgânicos (doxorubicina, gencitabina, 5-fluorouracil).<sup>55</sup>

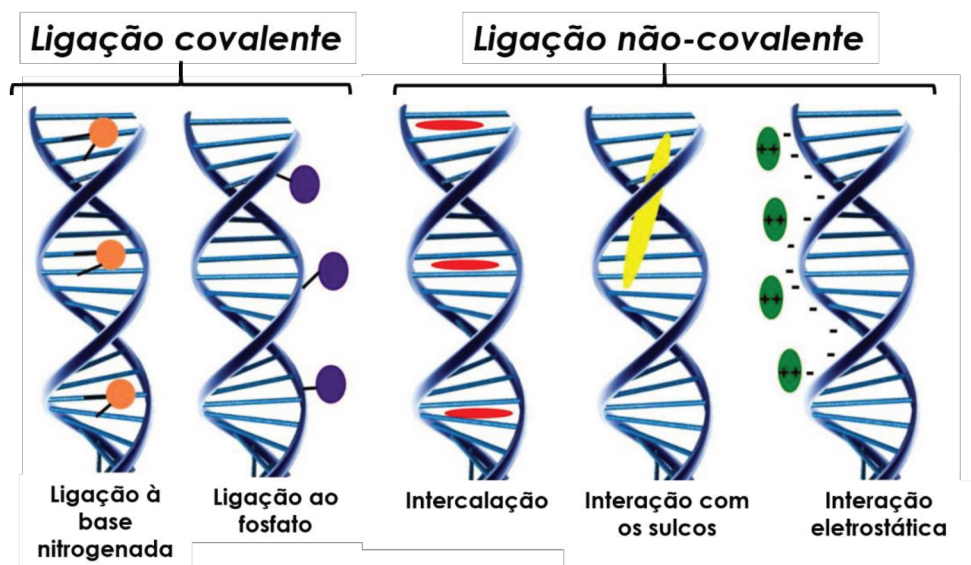
**Figura 7.** Representação da dupla hélice do DNA, com a elucidação dos seus sulcos e bases nitrogenadas.



**Fonte:** A autora.

Os complexos de rutênio(II) demonstram significativa afinidade pelo DNA, podendo interagir de dois modos: covalente e não covalente. As interações covalentes são, de modo geral, irreversíveis e de elevada magnitude, sendo as ligações com o átomo N(7) das bases nitrogenadas guanina e adenina favorecidas. Já as interações não covalentes são classificadas como interações fracas e menos energéticas, quando comparadas as ligações covalentes. Elas podem se dar por meio da intercalação, por interações com os sulcos do DNA – envolvendo ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e eletrostáticas. A Figura 8 destaca os principais modos de interações com DNA descritos na literatura.

**Figura 8.** Modos de interação de complexos de rutênio com o DNA.



**Fonte:** Adaptado de (BARRA & NETTO, 2005).<sup>56</sup>

Alguns estudos revelaram que as proteínas plasmáticas do sangue são relevantes na modulação da biodisponibilidade de alguns medicamentos para o sítio farmacofórico principal.<sup>57,58</sup> Dessa classe de proteínas, muitas pesquisas apontaram que os complexos de rutênio(II) apresentam elevada afinidade pelas proteínas metalotransportadoras do sangue, como albumina de soro humano (HSA) e a transferrina sérica. Além dessas proteínas, as mitocôndrias também são consideradas uma das vias de ação de complexos metálico, uma vez que essas organelas nos tecidos neoplásicos são funcionalmente e estruturalmente diferentes em relação aos tecidos normais, o que as tornam mais vulneráveis às perturbações no potencial mitocondrial da membrana.<sup>59</sup> Pesquisas revelaram que os complexos lipofílicos de rutênio acumulam-se seletivamente nas mitocôndrias.<sup>60,61</sup> Com isso, são responsáveis pela indução de processos apoptóticos, atuando por meio da alteração do potencial mitocondrial da membrana acompanhada pela liberação do citocromo c ou aumento nos níveis de espécies reativas de oxigênio.<sup>59,61,62</sup>

Estudos que buscam a correlação de estrutura/atividade dos principais complexos de rutênio, como o NAMI-A, KP1019, RAPTA-C e RAED, apontaram que suas elevadas toxicidades estão relacionadas ao extenso dano direto ou indireto ao DNA.<sup>47</sup> Acredita-se que o KP1019 e o NAMI-A atuam por meio da hipótese de “ativação por redução”. Esse efeito é baseado no pressuposto de que esses

complexos são redox ativo em condições fisiológicas, o que sugere que sejam reduzidos a espécies de rutênio(II) após a liberação de proteínas na célula. Como o microambiente fisiológico das células tumorais é pobre em oxigênio molecular (hipóxico), o  $\text{Ru}^{\text{II}}$ , por ser mais reativo que o  $\text{Ru}^{\text{III}}$ , acelera as interações com os alvos biomoleculares, como o DNA, nos tecidos malignos.<sup>13,63,64</sup> No caso do KP1019, as lesões no DNA induzidas por esse complexo, após a redução do  $\text{Ru}^{\text{III}}$  para  $\text{Ru}^{\text{II}}$ , são diferentes daquelas promovidas pela cisplatina, isto porque a inibição dos mecanismos de reparo do DNA leva ao aumento da atividade antiproliferativa no KP1019, o que não ocorre para a cisplatina.<sup>47</sup> Já foi proposto que a chegada do KP1019 ao sítio farmacofórico principal só foi possível pela alta afinidade do mesmo com as proteínas séricas albumina e transferrina, sendo que a super expressão dos receptores de transferrina foi observada nas células tumorais, e o acúmulo de albumina no microambiente sólido do tumor, sendo denominado como “efeito de permeabilidade e retenção aprimorada (EPR)”.<sup>65</sup>

Sendo assim, a compreensão das interações com alvos biológicos fundamentais no funcionamento das células tumorais de potenciais agentes antitumorais, como é o caso de complexos de rutênio, é de suma importância para desvendar seus mecanismos de ação e possibilitar um posterior aperfeiçoamento na seletividade desses compostos. Atualmente, estudos teóricos de ancoragem molecular estão sendo uma importante ferramenta para prever essas interações com biomoléculas, sendo que muitos deles estão coerentes com ensaios experimentais.<sup>50,66–69</sup>

### 1.3 Propriedades químicas e biológicas dos ligantes

#### 1.3.1 Ligantes bifosfínicos

As fosfinas são ligantes amplamente estudados na Química de coordenação, uma vez que, nas sínteses envolvendo esses ligantes, há a formação de complexos metálicos com estabilidade adicional. Em sua configuração eletrônica, as fosfinas possuem um par de elétrons livre no átomo de fósforo capazes de formar ligações  $\sigma$  estáveis e orbitais antiligantes de baixa energia, tais como  $3p\sigma^*d\pi$ , disponíveis para

receberem elétrons. Esse fato confere a esses ligantes forte caráter  $\sigma$ -doador e  $\pi$ -receptor.<sup>70</sup>

Dada a afinidade das fosfinas pelos centros metálicos, as propriedades estéricas e eletrônicas dos complexos formados podem ser modificadas pela presença de grupos substituintes R nas fosfinas de fórmula genérica  $PR_3$  ou  $P(OR)_3$ , dependendo da aplicação desejada.<sup>71,72</sup> A presença de substituintes R doadores ou receptores de densidade eletrônica afetam diretamente na reatividade dos ligantes fosfínicos com os metais de transição, sendo que o caráter  $\pi$  receptor da fosfina é intensificado conforme a eletronegatividade do grupo R aumenta – devido à estabilização do orbital molecular  $\pi^*$ . O ângulo de cone de Tolman, ângulo formado entre as ligações R-P-R, dimensiona os efeitos estéricos causados pelo substituinte R, uma vez que este parâmetro é diretamente proporcional às distâncias de ligação M-P e M-L, sendo L o átomo do ligante que completa a esfera de coordenação.<sup>73,74</sup>

As propriedades biológicas das fosfinas também constituem um fator preponderante na sua escolha em sínteses de potenciais metalofármacos. Dentre elas, incluem o efeito *trans* labilizante aliado aos efeitos estéricos, os quais podem favorecer o transporte dos complexos metálicos no meio fisiológico, bem como a seletividade dos mesmos.<sup>75,76</sup> Como a dissociação é facilitada, há disponibilização de sítios de coordenação que podem ser utilizados para estabelecer ligações com biomoléculas de interesse para a atividade biológica desejada.<sup>77</sup>

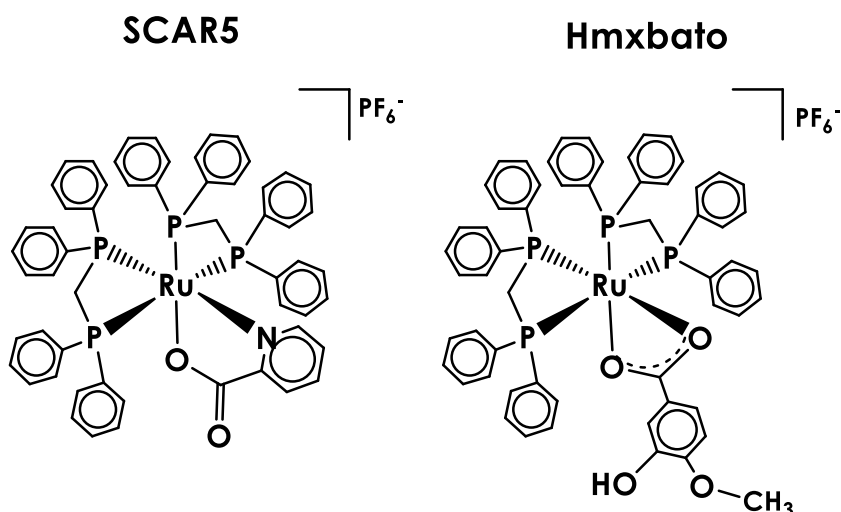
Apesar dos ligantes fosfínicos exibirem atividade biológica na sua forma livre, como o dppe que foi anteriormente reportado com atividade antitumoral *in vivo* e *in vitro*, vários estudos mostram que a espécie coordenada é mais ativa.<sup>76</sup> Além disso, estudos concluíram que a presença do átomo de fósforo é determinante na atividade do complexo metálico, a qual também pode ser modulada pela substituição do grupo R.<sup>78,79</sup> Esses fatos sugerem que as fosfinas são parcialmente responsáveis pela atividade citotóxica do complexo e que há um efeito sinérgico entre o metal e o ligante fosfínico, em que a coordenação ao centro metálico protege o ligante fosfínico da oxidação entregando-o ao alvo biológico, uma vez que a fosfina oxidada não exibe potencial biológico.<sup>78–80</sup> Há ainda a contribuição lipofílica dos ligantes fosfínicos para a estrutura do complexo formado, a qual corrobora para o transporte e permeação pela membrana plasmática, que tem natureza lipoprotéica.<sup>78</sup>

O primeiro complexo fosfínico a passar por testes clínicos e ser introduzido na quimioterapia da artrite reumatóide foi a auranofina (Tabela 1). Mais tarde, Berners-Price e Sadler reportaram o potencial antitumoral contra leucemia murina P388, melanoma B16 e sarcoma de células reticulares M5076 de complexos metálicos contendo *bis*-aril-difosfina de fórmula genérica  $[M(P-P)_2][Cl]$ , sendo  $M = Au^I, Ag^I$  e  $Cu^{II}$ ;  $P-P = dppe, dppp$ : 1,2-*bis*(difenilfosfina)propano e  $dppey$ : 1,2-*bis*(difenilfosfina)etileno.

As propriedades químicas e biológicas tanto dos ligantes fosfínicos quanto do rutênio possibilitam uma versatilidade de síntese impressionante. Com isso, há mais de 40 anos estudos estão sendo realizados com o intuito de desenvolver, aplicar e compreender os possíveis mecanismos de ação de novos complexos de rutênio contendo ligantes fosfínicos, com aplicações biológicas que vão desde o câncer a leishmaniose.<sup>23,25,42</sup>

Pavan e colaboradores reportaram o potencial anti-*Mycobacterium* do complexo SCAR5 (Figura 9), o qual apresentou valores de concentração mínima inibitória (MIC, do inglês *Minimal Inhibition Concentration*) bem próximos a droga de primeira escolha, a Rifampicina, e valores mais baixos do que a droga de segunda escolha, a Capremicina, quando testado contra a linhagem de tuberculose MTB H<sub>37</sub>Rv, bactéria causadora da tuberculose.<sup>43</sup> De estrutura análoga, o complexo Hmxbato (Figura 9) foi reportado por Costa e colaboradores com potencial atividade anti-*Leishmania* contra as promastigotas das espécies *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *Leishmania (Viania) brasiliensis* e *Leishmania (Leishmania) infantum*, apresentando valores de IC<sub>50</sub> na ordem de 380 nM.<sup>81</sup> Além disso, estudos recentes revelaram que este complexo induz a apoptose celular das promastigotas da *Leishmania amazonensis* por meio do aumento da produção de espécies reativas de oxigênio, as quais são responsáveis pelo dano no DNA, alterações morfológicas das promastigostas e alterações no potencial da membrana mitocondrial.<sup>82</sup>

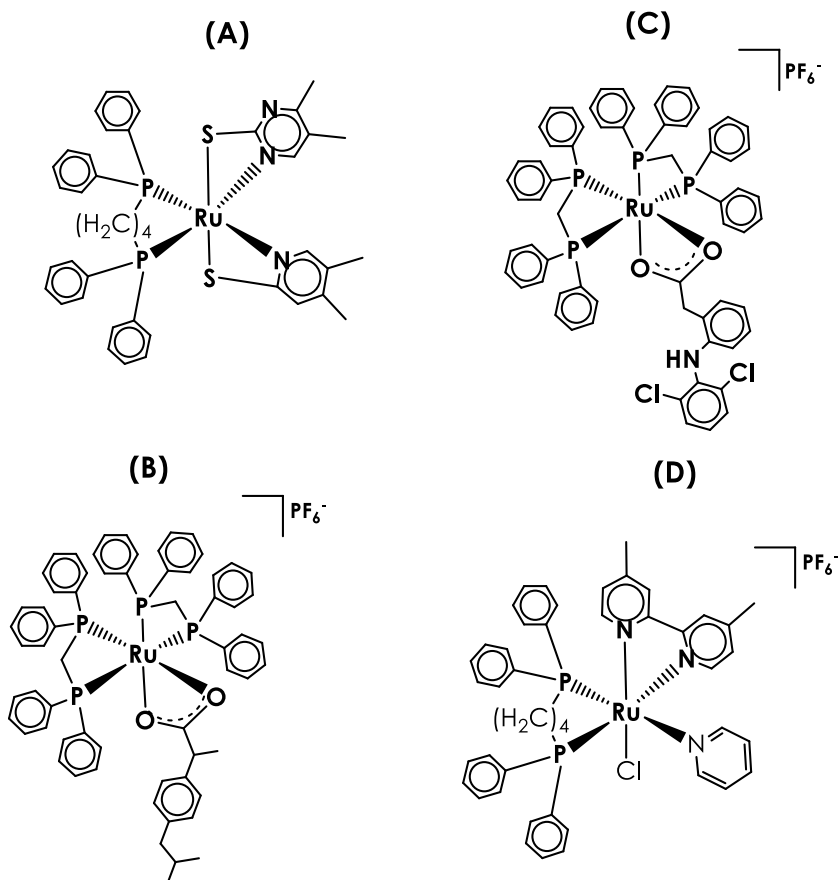
**Figura 9.** Estrutura química de complexos de rutênio que apresentam potencial anti-tuberculose (SCAR5) e leishmanicida (Hmxbato).



**Fonte:** Adaptado de (PAVAN *et al.*, 2013; COSTA *et al.*, 2017).<sup>43,81</sup>

Complexos de rutênio contendo ligantes fosfínicos também são reportados com atividade antitumoral em células de linhagens de câncer de mama (metastático e não-metastático), cólon de útero, fígado e glioblastoma.<sup>78,83–85</sup> Dentre eles, pode ser citado o complexo de fórmula  $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{SpymMe2-N,S})_2]$ , sendo  $\text{dppb}$  = 1,1-*bis*(difenilfosfina)butano e  $\text{SpymMe2}$  = 4,6-dimetil-2-mercaptopirimidina (Figura 10), sintetizado por Do Nascimento e colaboradores, o qual apresentou promissora bioatividade contra linhagens de tumores mamários, MDA-MB-231 e HeLa, como valores de  $\text{IC}_{50}$  menores do que a cisplatina.<sup>86</sup> Há ainda os complexos de fórmula *cis*- $[\text{Ru}(\text{ibu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$  e *cis*- $[\text{Ru}(\text{dicl})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$  (Figura 10), sendo *ibu* = ibuprofeno e *dicl* = diclofenaco, cujos valores de  $\text{IC}_{50}$  variaram entre 5-9  $\mu\text{M}$  frente à células de linhagens tumorais HepG2, MCF-7 e MO59J. Para o *cis*- $[\text{Ru}(\text{dicl})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ , os valores de  $\text{IC}_{50}$  foram similares a cisplatina para todas as linhagens testadas. Já para o *cis*- $[\text{Ru}(\text{ibu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ , a similaridade na citotoxicidade foi observada apenas para a linhagem HepG2.<sup>87</sup>

**Figura 10.** Estruturas dos complexos contendo ligantes bifosfínicos descritos na literatura com atividade antitumoral, sendo **(A)**  $[\text{Ru}(\text{dppb})(\text{SpymMe2-N,S})_2]$ , **(B)**  $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{ibu})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$ , **(C)**  $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{dicl})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$  e **(D)**  $\text{ct-}[\text{RuCl}(\text{py})(\text{dppb})(4,40\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$ .



**Fonte:** Adaptado de (DO NASCIMENTO *et al.*, 2008; LOPES *et al.*, 2015; DA SILVA *et al.*, 2017).<sup>86–88</sup>

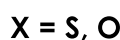
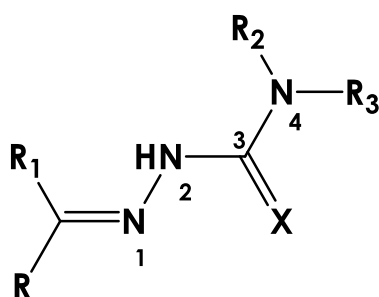
Apesar da restrição do espectro de células tumorais estudados, há vários trabalhos que demonstram a afinidade de complexos de rutênio por biomoléculas como o DNA e a albumina.<sup>58,88</sup> O composto de fórmula  $\text{ct-}[\text{RuCl}(\text{py})(\text{dppb})(4,40\text{-Mebipy})]\text{PF}_6$  (Figura 7), sendo  $\text{py}$ = piridina e 4,40-Mebipy= 4,40-dimetil-2,2'-bipiridina, o qual além de ser ativo contra a linhagem de câncer de mama triplo-negativo MDA-MB231, é capaz de estabelecer interações espontâneas com a proteína albumina de soro humano (HSA) por meio de interações de Van der Waals e ligação de hidrogênio e de interagir com o *ct*-DNA, exibindo uma constante de ligação na ordem de  $1,0 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ .<sup>85</sup>



### 1.3.2 Ligantes das classes tiossemicarbazonas e semicarbazonas

Os demais ligantes do presente trabalho pertencem à classe das tio e semicarbazonas, cuja estrutura genérica está representada pela Figura 11. Esses ligantes despertaram amplo interesse de diversos grupos de pesquisa devido ao seu baixo custo de síntese, à presença de sítios de coordenação versáteis para síntese de novos complexos metálicos com diferentes metais de transição e propriedades farmacológicas relevantes.<sup>89</sup>

**Figura 11.** Estrutura genérica de semicarbazonas e tiossemicarbazonas.



$R, R_1, R_2, R_3 = H, \text{ grupos alquila ou arila}$

**Fonte:** Adaptado de (BERALDO & GAMBINO, 2005).<sup>89</sup>

Dentre as propriedades farmacológicas dessa classe de ligantes, pode-se citar sua ação como inibidores de enzimas por meio da complexação de metais endógenos ou através de reações redox, seja através de interações com o DNA ou da inibição da síntese do DNA. O alvo biológico mais citado na literatura é a enzima ribonucleotídeo redutase (RR), a qual está presente em todas as células catalogadas e apresenta a função de catalisar o passo limitante na síntese dos desoxiribonucleotídeos necessários para a síntese do DNA. Além disso, ao se coordenarem a centros metálicos, as tio e semicarbazonas podem atuar mimetizando a ação de certas enzimas<sup>90,91</sup>

De modo geral, as tiossemicarbazonas são ligantes versáteis tanto na forma neutra quanto na forma aniônica, podendo formar ligação coordenada com metais através do átomo de enxofre e do átomo de nitrogênio presentes em sua estrutura.

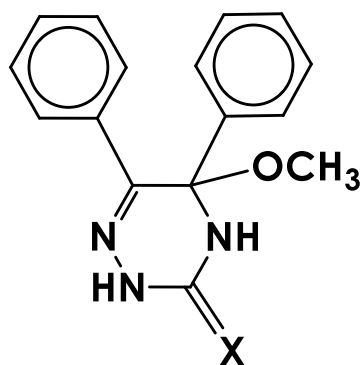
Inicialmente, as tiossemicarbazonas não foram desenvolvidas com foco principal na oncoterapia. No entanto, estudos sobre relações estrutura-atividade revelaram que moléculas que possuem sítios de coordenação *N, N, S* doadores são biologicamente ativos, o que despertou o interesse para a síntese de complexos metálicos com essa classe de ligante. Dentre eles podem ser citados complexos de  $\text{Zn}^{\text{II}}$ ,  $\text{Fe}^{\text{II}}$  e  $\text{Cu}^{\text{II}}$ .<sup>92</sup>

Além disso, as tiossemicarbazonas possuem ação inibitória sobre a enzima transcriptase reversa (RT), presente em vírus do tipo HIV, e contra tipos específicos de células tumorais, tais como carcinoma de fígado M-109, carcinoma de ovário humano A2780 e em ratos apresentando leucemia L1210.<sup>91,93</sup> A ação bactericida, antiviral e antitumoral de complexos metálicos de  $\text{Pt}^{\text{II}}$ ,  $\text{Cu}^{\text{II}}$ ,  $\text{Zn}^{\text{II}}$  e  $\text{Fe}^{\text{II}}$  contendo tiossemicarbazonas foi potencializada quando comparada aos ligantes livres.<sup>94</sup> A classe das semicarbazonas também apresenta amplo perfil farmacológico. Na sua forma livre são descritos como agentes antichagásicos, anticonvulsivantes, hipnóticos, pesticidas e herbicidas, entre outros.<sup>89</sup>

Com isso, as tiossemicarbazonas e semicarbazonas constituem uma importante classe de compostos cujas propriedades têm sido extensivamente estudadas na Química Medicinal e, particularmente, na Química Inorgânica Medicinal, devido à sua capacidade quelante e do papel da coordenação no seu mecanismo bioquímico de ação.

Os ligantes de interesse deste trabalho, cuja estrutura química genérica está representada pela Figura 12, foram sintetizados inicialmente por Arquero e colaboradores.<sup>95</sup> A partir de então, López-Torres e colaboradores exploraram amplamente a versatilidade de coordenação em sínteses desses ligantes com diferentes metais, descrevendo complexos metálicos de  $\text{Hg}^{\text{II}}$ ,  $\text{Zn}^{\text{II}}$ ,  $\text{Pb}^{\text{II/IV}}$ ,  $\text{Co}^{\text{II}}$ ,  $\text{Ni}^{\text{II}}$ ,  $\text{Cd}^{\text{II}}$  e  $\text{Sn}^{\text{IV}}$ .<sup>96–101</sup> Somente Zhang e colaboradores reportam propriedades biológicas para complexos metálicos contendo o ligante tiossemicarbazona de mesma estrutura química, em que descrevem as interações de natureza eletrostática e hidrofóbica de complexos de  $\text{Ag}^{\text{I}}$ ,  $\text{Pd}^{\text{II}}$  e  $\text{Pt}^{\text{II}}$  com a proteína BSA.<sup>102</sup>

**Figura 12.** Ligantes tio e semicarbazonas cíclicas de interesse do presente trabalho.



**X = S ou O**

**Fonte:** Adaptado de (ARQUERO *et. al.*,1998).<sup>95</sup>

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivos gerais:

O presente trabalho teve como objetivo geral o estudo de complexos de rutênio(II) contendo em suas esferas de coordenação ligantes da classe das tio e semicarbazonas cíclicas e ligantes bifosfínicos. A fim de verificar se a sinergia metal-ligante corrobora para potencializar a atividade citotóxica dos complexos, foram investigados o potencial biológico dos mesmos contra linhagens de células de câncer de pulmão.

### 2.2 Objetivos específicos:

Esse trabalho teve como objetivos específicos:

- 1) Sintetizar quatro complexos de Ru<sup>II</sup> contendo em suas esferas de coordenação ligantes bifosfínicos (dppm = 1,1-*bis*(difenilfosfina)metano e ligantes das classes tio e semicarbazonas cíclicas (5-metóxi-5,6-difenil-4,5-dihidro-2H-[1,2,4]triazina-3-ona (**Btsc**) e 5-metóxi-5,6-difeniltriazina-3-ona (**Bsc**), para os complexos **1** e **2**, respectivamente, e dppe = 1,1-*bis*(difenilfosfina)etano e os ligantes **Btsc** e **Bsc**, para os complexos **3** e **4**, respectivamente), utilizando como precursores os complexos de fórmulas *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppm)<sub>2</sub>] e *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>];
- 2) Caracterizar os quatro complexos de Ru<sup>II</sup> pelas técnicas de análise elementar (CHNS) – de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre –, espectroscopia de absorção na região do infravermelho e do ultravioleta e visível, espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio e fósforo, espectrometria de massas e difração de raios X por monocristal;
- 3) Estudar a estabilidade dos complexos de Ru<sup>II</sup> solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) nos tempos de 0, 6, 12, 24 e 48 hrs, por meio da técnica de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de fósforo;
- 4) Estudar o efeito citotóxico dos complexos de Ru<sup>II</sup> contra células de câncer de pulmão humano da linhagem A549 e as células epiteliais brônquicas não

tumorigênicas BEAS-2B, a fim de determinar o índice de seletividade dos complexos.

- 5) Realizar cálculos teóricos de ancoragem molecular com o DNA, com o intuito de prever e compreender as possíveis interações com os novos complexos de rutênio.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 Materiais, solventes e ligantes

Os solventes e os demais materiais deste trabalho não receberam preparo prévio, sendo utilizados como recebidos.

Os solventes utilizados foram álcool metílico (Isofar), diclorometano, álcool etílico, hexano, n-pentano, 1,2-dicloroetano, dimetilsulfóxido e éter etílico (Synth).

Os ligantes bifosfínicos 1,1-*bis*(difenilfosfina)metano e 1,1-*bis*(difenilfosfina)etano, bem como o tricloreto de rutênio ( $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ), utilizados nas sínteses dos complexos precursores foram obtidos da Sigma Aldrich. O sal hexafluorofosfato de amônio ( $\text{NH}_4\text{PF}_6$ ) utilizado como contra-íon para promover a precipitação dos novos complexos também foi obtido da Sigma Aldrich.

Os ligantes tiossemicarbazona (**Btsc**) e semicarbazonas (**Bsc**) cíclicas foram sintetizados pela aluna Ana Cristina Resende Gonçalves do grupo de pesquisa supervisionado pelo Prof. Dr. Pedro Ivo da Silva Maia do Instituto de Ciências Naturais, Exatas e Educação da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, conforme os procedimentos descritos na literatura.<sup>95,101</sup>

#### 3.2 Procedimento experimental das sínteses

##### 3.2.1 Síntese dos complexo precursores

O complexo precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$  foi sintetizado conforme o procedimento descrito na literatura,<sup>103</sup> assim como o complexo precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppe})_2]$ .<sup>104</sup>

##### 3.2.2 Síntese dos novos complexos de $\text{Ru}^{\text{II}}$

Em um balão de fundo redondo, com capacidade para 250,0 mL, contendo aproximadamente 30,0 mL de metanol adicionou-se 100,0 mg (0,11 mmol) do complexo precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$  e 100,0 mg (0,10 mmol) *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppe})_2]$ , o qual foi deixado sob agitação e aquecimento até completa dissolução do complexo.

Em seguida, preparou-se uma solução metanólica dos respectivos ligantes: 34,8 mg (0,012 mmol) e 33,8 mg (0,011 mmol) do ligante **Btsc** para os complexos **1** e **3**; 98,6 mg (0,035 mmol) e 87,0 mg (0,031 mmol) do ligante **Bsc** para os complexos **2** e **4**, respectivamente. Esta solução foi então adicionada à primeira contendo o precursor. A reação foi mantida sob agitação e aquecimento por 4 horas. Após este período, acrescentou-se 19,04 mg (0,012 mmol) de hexafluorofosfato de amônio ( $\text{NH}_4\text{PF}_6$ ), solubilizado em 5 mL de água deionizada. Os complexos **1** e **3** precipitam como sólidos alaranjados, enquanto os complexos **2** e **4** como sólidos amarelos. Os complexos passaram por um processo de filtração à vácuo, com filtro de placa sinterizada, lavados com água destilada e éter etílico e, posteriormente, armazenados no dessecador, sob vácuo, até completa secagem.

***cis*-[Ru(Btsc)(dppm)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> (1)** – MM= 1279,17 g mol<sup>-1</sup>. **Rendimento:** 116,5 mg (78%).  
Análise elementar **exp. (calc)** para C<sub>65</sub>H<sub>54</sub>P<sub>5</sub>SN<sub>3</sub>F<sub>6</sub>Ru: **C** 61,25 (61,03); **H** 4,80 (4,25); **N** 3,76 (3,29); **S** 3,47 (2,51).

***cis*-[Ru(Bsc)(dppm)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> (2)** – MM= 1263,19 g mol<sup>-1</sup>. **Rendimento:** 111,0 mg (81%).  
Análise elementar **exp. (calc)** para C<sub>65</sub>H<sub>54</sub>P<sub>5</sub>ON<sub>3</sub>F<sub>6</sub>Ru: **C** 58,87 (61,81); **H** 4,33 (4,31); **N** 3,25 (3,33).

***cis*-[Ru(Btsc)(dppe)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> (3)** – MM= 1307,19 g mol<sup>-1</sup>. **Rendimento:** 74,4 mg (51%).  
Análise elementar **exp. (calc)** para C<sub>67</sub>H<sub>58</sub>P<sub>5</sub>SN<sub>3</sub>F<sub>6</sub>Ru: **C** 60,46 (61,56); **H** 4,81 (4,47); **N** 4,47 (3,21); **S** 4,08 (2,45).

***cis*-[Ru(Bsc)(dppe)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> (4)** – MM= 1291,22 g mol<sup>-1</sup>. **Rendimento:** 88,9 mg (64%).  
Análise elementar **exp. (calc)** para C<sub>67</sub>H<sub>58</sub>P<sub>5</sub>ON<sub>3</sub>F<sub>6</sub>Ru: **C** 61,10 (62,33); **H** 4,75 (4,53); **N** 3,44 (3,25).

### 3.3 Instrumentação

#### 3.3.1 Análise elementar (CHNS)

As caracterizações dos complexos por meio da análise elementar de CHNS foram feitas em um analisador CHN modelo PerkinElmer precisely – Series II CHNS/O Analyzer 2400, que pertence ao Laboratório Multiusuário do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia (IQ-UFU).

#### 3.3.2 Espectroscopia de absorção na região do Ultravioleta Visível (UV-Vis)

Os espectros eletrônicos de absorção foram obtidos através do espectrofotômetro UV-2501 PCShimatzu, no intervalo de 200 a 800 nm. Foram utilizadas cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm. Para análise, foram preparadas soluções com concentração entre  $5 \cdot 10^{-4}$  e  $5 \cdot 10^{-6}$  dos materiais sintetizados, utilizando como solvente o diclorometano. O equipamento está alocado no Laboratório de Fotoquímica e Ciência de Materiais (LAFOT-CM) da Universidade Federal De Uberlândia.

#### 3.3.3 Espectroscopia vibracional de absorção na região do Infravermelho (IV)

Os espectros vibracionais de absorção na região do infravermelho dos complexos sintetizados foram obtidos no estado sólido utilizando-se um espectrofotômetro FTIR Frontier Single Range–MIR da Perkin Elmer, no intervalo regional de  $4000\text{--}220\text{ cm}^{-1}$ . A análise das amostras foi realizada por meio de um acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR, traduzido do inglês *Attenuated Total Reflectance*), com o auxílio de um cristal de diamante. O equipamento utilizado está alocado LAFOT-CM.



### 3.3.4 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

Todos os espectros de ressonância magnética nuclear foram obtidos utilizando-se do espectrofotômetro Ascend 400 Avance III HD de 9,4 TESLA, operando a 400 MHz e 162 MHz para as análises de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ , respectivamente. O equipamento é pertencente ao Laboratório Multiusuário do IQ-UFU. Todas as amostras foram solubilizadas em dimetilsulfóxido deuterado ( $d^6$ -DMSO). Todos os deslocamentos químicos no RMN  $^1\text{H}$  são reportados relativos ao TMS. Os deslocamentos químicos obtidos por RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ , foram referenciados a partir do  $\text{H}_3\text{PO}_4$  85% (aq).

### 3.3.5 Espectrometria de massas

Os espectros de massas dos complexos sintetizados foram obtidos por meio do espectrômetro de massas de alta resolução QTOF, marca Agilent®, modelo 6520 B, com fonte de ionização por *electrospray* no Laboratório de Nanobiotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia (IBTC-UFU). As amostras foram solubilizadas na mistura metanol/água (4:1) e introduzidas utilizando seringa (100,0  $\mu\text{L}$ ), adaptada a uma bomba de infusão direta com fluxo de 200,0  $\mu\text{L h}^{-1}$ . A ionização foi realizada com gás nebulizador,  $\text{N}_2$ , a 20 psi, o gás secante aquecido a 200  $^\circ\text{C}$  com fluxo de 8,0  $\text{L min}^{-1}$  e no capilar foi aplicado 4,5 kV. Os dados foram adquiridos no modo positivo.

### 3.3.6 Difração de raios X por monocristal

Os cristais do complexo **1** foram obtidos pela evaporação lenta de uma solução de diclorometano/metanol/hexano em temperatura ambiente (25  $^\circ\text{C}$ ). Os dados foram coletados na Central de Análises Químicas do Instituto de Química de São Carlos, da Universidade de São Paulo, através de um difratômetro BRUKER APEX II Duo com radiação  $\text{Mo-K}_\alpha$  ( $\lambda=0,71073$  Å). Os dados foram refinados pelo aluno de mestrado Victor Miranda Maia e pelo Prof. Dr. Pedro Ivo da Silva Maia. Foram aplicados procedimentos padrão para a redução de dados e correção de absorção. As estruturas foram resolvidas por métodos diretos, por meio de software SHELXL 97<sup>105</sup>, e refinados

pelo método dos mínimos quadrados, por meio do software SHELXL 2014<sup>106</sup>. Os átomos não hidrogenóides foram refinados anisotropicamente e os átomos de hidrogênio foram calculados em posições idealizadas utilizando o método “riding model” do programa SHELXL 2014.<sup>105</sup> As representações gráficas da estrutura do complexo **1** foi preparada utilizando o programa MERCURY para Windows.<sup>107</sup>

### 3.4 Ensaios de estabilidade em DMSO

Os ensaios de estabilidade dos complexos de rutênio(II) **1-4** em DMSO foram realizados por meio do acompanhamento dos espectros de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  nos períodos de 0, 6, 12, 24 e 48 hrs após a solubilização no solvente  $\text{d}^6\text{-DMSO}$ . Os ensaios de estabilidade em tampão PBS (tampão fosfato salino, do inglês *phosphate buffered saline*) com concentração máxima de 3% de DMSO forma realizados por meio de experimentos de espectroscopia de absorção na região do UV-vis, no mesmo intervalo de tempo.

### 3.5 Ensaios de citotoxicidade *in vitro*

Os ensaios citotóxicos *in vitro* contra a linhagem celular de câncer de pulmão A549, bem com as células normais BEAS-2B, foram realizados pela aluna de doutorado Mônica Soares Costa do grupo de pesquisa supervisionado pela professora Dra. Kelly Aparecida Geraldo Yoneyama, no Instituto de Genética e Bioquímica (INGEB) da Universidade Federal de Uberlândia – UFU.

#### 3.5.1 Cultura celular

As linhagens celulares tumorais A549 (células epiteliais basais alveolares adenocarcinômicas humanas) e normais BEAS-2B (células epiteliais brônquicas humanas) foram obtidas da American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA). Todas as linhagens celulares foram rotineiramente mantidas em meio Eagle modificado por Dulbecco: meio de mistura de nutrientes F-12 (DMEM/F12) suplementado com soro fetal bovino a 10% (SFB), penicilina a 1% (100 UI  $\text{mL}^{-1}$ ) e

estreptomicina ( $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) – DMEM/F12 completo e incubou-se a  $37^\circ\text{C}$  em uma incubadora com 5% de  $\text{CO}_2$ .

### 3.5.2 Ensaio citotóxico *in vitro*

As células A549 e BEAS-2B ( $2 \times 10^4$  células/poço) foram plaqueadas em placas de cultura de 96 poços contendo DMEM/F12 completo e incubadas a  $37^\circ\text{C}$  em uma incubadora com 5% de  $\text{CO}_2$  por 12 h. Em seguida, as células foram incubadas com meio DMEM/F12 completo na ausência (controle) ou na presença de diferentes concentrações (diluição em série 2 vezes de  $200 \mu\text{M}$  a  $0,097 \mu\text{M}$ ) dos complexos **1-4**, precursores, ligantes livres (**Btsc** e **Bsc**) ou cisplatina (Sigma-Aldrich) por 24 h. Alternativamente, as células também foram tratadas com 0,1% de DMSO. As viabilidades celulares foram avaliadas pelo ensaio MTT de acordo com Mosmann com algumas modificações.<sup>108</sup> A concentração inibitória de 50% ( $\text{IC}_{50}$ ) das células normais e das células tumorais foram determinadas por regressão não linear utilizando o software GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, EUA). Além disso, o índice de citotoxicidade seletiva (ICS) foi definido pela razão da concentração inibitória para 50% das células normais – BEAS-2B sobre os valores de  $\text{IC}_{50}$  das células tumorais – A549. Os dados são apresentados como média  $\pm$  desvio padrão e os experimentos foram realizados em quadruplicata e dois experimentos independentes foram conduzidos.

## 3.6 Estudos teóricos de ancoragem molecular

A estrutura cristalina do DNA utilizado como alvo foi a fita dupla  $\text{d}(\text{CCGGACCCGG}/\text{CCGGGTCCGG})_2$  complexada com  $\Lambda\text{-}[\text{Ru}(\text{TAP})_2(11,12\text{-CN}_2\text{-dppz})]^{2+}$ . Este sistema foi utilizado para validar a eficiência da metodologia de ancoragem molecular para descrever a interação correta entre os complexos de  $\text{Ru}^{\text{II}}$  e o DNA. Os procedimentos de *redock* foram realizados usando a interface AutoDockTools 1.5.6<sup>109</sup>, juntamente com autogrid4 e autodock4 (AD4). Para preparar os complexos ligantes (complexos de rutênio(II) **1**) para a ancoragem molecular, o AutoDockTools 1.5.6 adicionou cargas de Gasteiger e converteu a estrutura cristalográfica do complexo **1** no formato necessário para o AD4. As estruturas dos complexos **2-4** tiveram sua geometria otimizada utilizando o software ORCA 4.2.1.<sup>110</sup>

O funcional híbrido B3LYP foi utilizado juntamente com a função de base LANL2DZ (Los Alamos National Laboratory 2-double- $\zeta$ ), o qual permite uma descrição adequada do metal Ru.<sup>111</sup> A ausência de frequências negativas na análise vibracional confirmou que as geometrias otimizadas são de fato as estruturas de menor energia. As configurações usadas para o algoritmo genético lamarckiano no Autodock foram: 150 indivíduos em uma população; 25.000.000 avaliações de energia máxima; 27.000 gerações máximas; um indivíduo sobrevivendo até a próxima geração; 150 execuções de acoplamento de algoritmos genéticos; e uma análise de cluster classificada foi realizada em cada cálculo de encaixe. A energia livre de ligação do Autodock foi usada como critério para pontuação. Os resultados foram analisados pelo programa Discovery Studio Visualizer 2019.<sup>112</sup> Os estudos foram realizados no Laboratório de Cristalografia e Química Computacional do IQ-UFU, supervisionado pelo Prof. Dr. Eduardo de Faria Franca.

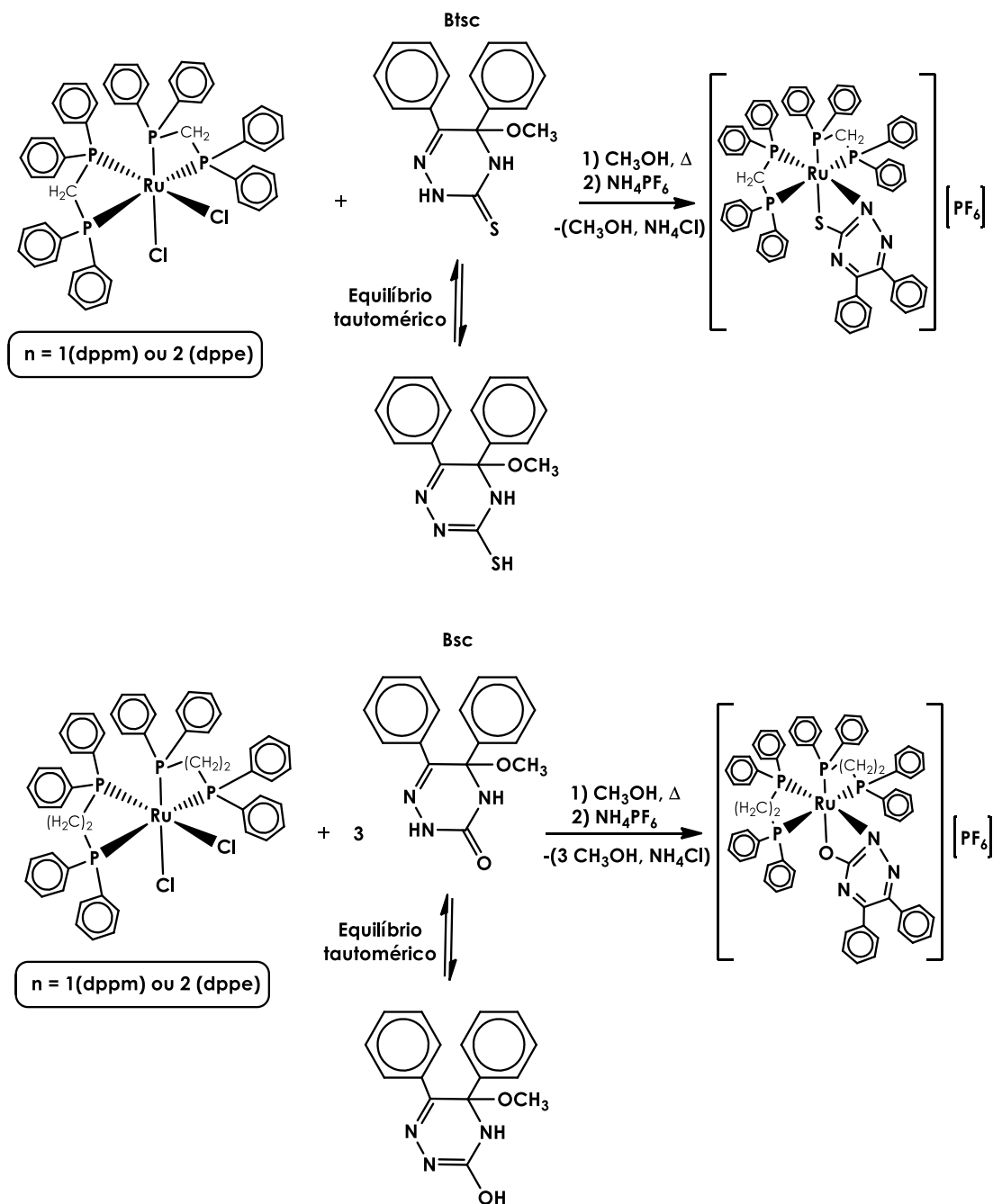
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Aspectos da síntese dos novos complexos de Ru<sup>II</sup>

Os quatro complexos de rutênio(II) estudados neste trabalho foram obtidos a partir dos precursores *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppm)<sub>2</sub>] e *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>], sendo dois de cada precursor. Os complexos são representados pelas fórmulas gerais *cis*-[Ru<sup>II</sup>(N-L)(dppm)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> e *cis*-[Ru<sup>II</sup>(N-L)(dppe)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, com N-L = 5-metóxi-5,6-difenil-4,5-dihidro-2H-[1,2,4]triazina-3-tiona (**1** e **3**, respectivamente) e 5-metóxi-5,6-difeniltriazina-3-ona (**2** e **4**, respectivamente).

Os complexos **1** e **3** apresentaram coloração alaranjada e os complexos **2** e **4** coloração amarela. Os complexos de **1-4** são solúveis em metanol, diclorometano, DMSO, acetonitrila e clorofórmio; parcialmente solúveis em etanol e propanona e pouco solúveis em éter etílico, hexano, pentano e água.

Em ambos os precursores utilizados, a formação dos complexos se deu pela troca dos ligantes cloridos pelos átomos de enxofre e nitrogênio (para **Btsc**) e oxigênio e nitrogênio (para **Bsc**), exibindo o modo bidentado e monoaniônico de coordenação, e posterior precipitação dos complexos com o contra-íon PF<sub>6</sub><sup>-</sup>, conforme o esquema representado pela Figura 13. Para o ligante **Bsc**, a estequiometria da reação foi de 1:3 devido à menor afinidade do rutênio(II) pelo átomo de oxigênio, o qual é uma base de Lewis mais dura do que o enxofre.

**Figura 13.** Esquema geral de síntese dos complexos de Ru<sup>II</sup> contendo as tio e semicarbazonas.**Fonte:** A autora.

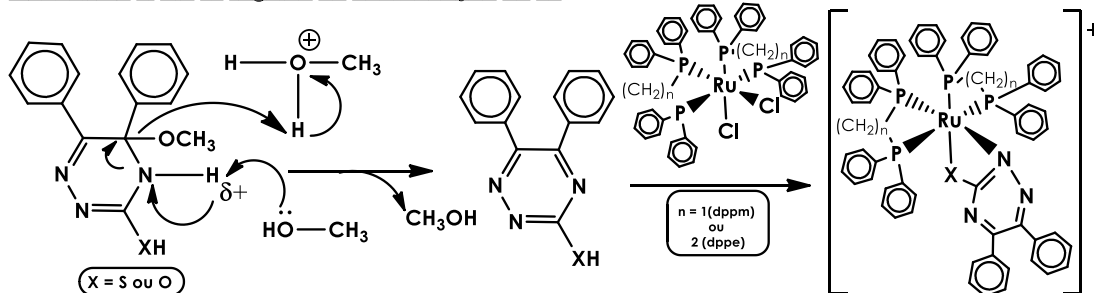
O equilíbrio tautomérico (Figura 13) apresentado pelos ligantes utilizados, aliados às condições reacionais e à presença do centro metálico, favorecem a saída do grupo -OCH<sub>3</sub> e posterior formação de uma ressonância no anel contendo os átomos de nitrogênio.<sup>73,95</sup> A partir de experimentos de RMN <sup>1</sup>H realizados antes e após o refluxo em metanol contendo cada um dos ligantes **Btsc** ou **Bsc** na ausência dos

precursores, foram propostos dois mecanismos possíveis de saída do grupo  $-\text{OCH}_3$ . Os espectros estão apresentados na Figura C8 e C9 do Apêndice C.

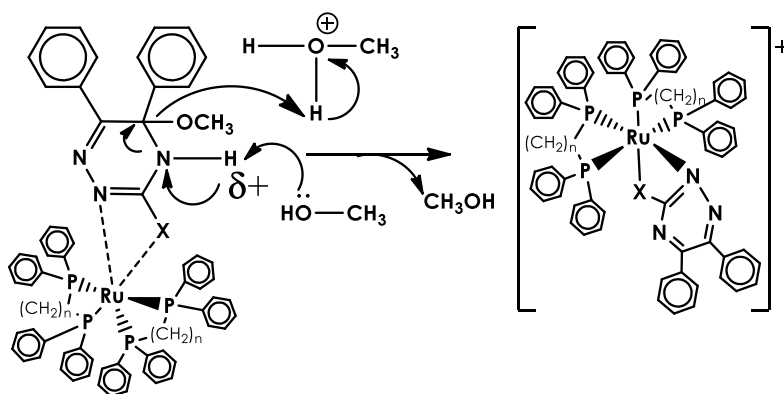
Um dos mecanismos possíveis para a saída desse grupamento é via E2 seguida da coordenação ao  $\text{Ru}^{\text{II}}$ , em que o par de elétrons livre do átomo de oxigênio do solvente  $\text{CH}_3\text{OH}$  captura o átomo de hidrogênio ligado a um dos átomos de nitrogênio da estrutura do ligante, que por sua vez forma a ligação dupla com o átomo de carbono adjacente e favorece a saída do grupo  $-\text{OCH}_3$  como  $\text{CH}_3\text{OH}$ . Posteriormente, com a aproximação do centro metálico, os ligantes cloridos dos precursores são substituídos pelos sítios doadores  $N,S$  ou  $N,O$ . O segundo mecanismo possível é por meio da eliminação E2 catalisada pelo centro metálico, sendo que a aproximação do centro metálico ao ligante diminui a densidade de carga negativa no átomo de hidrogênio ligado a um dos átomos de nitrogênio da estrutura do ligante favorecendo ainda mais a captura desse hidrogênio e a posterior formação da ressonância no anel e saída do grupo  $-\text{OCH}_3$  como metanol. Ambos os mecanismos propostos estão representados pela Figura 14.

**Figura 14.** Mecanismos de reação possíveis para a coordenação do ligante ao centro metálico para os complexos de 1-4.

**Mecanismo 1: Via E2 seguida de coordenação ao Ru**



**Mecanismo 2: Via E2 catalisada pelo Ru**



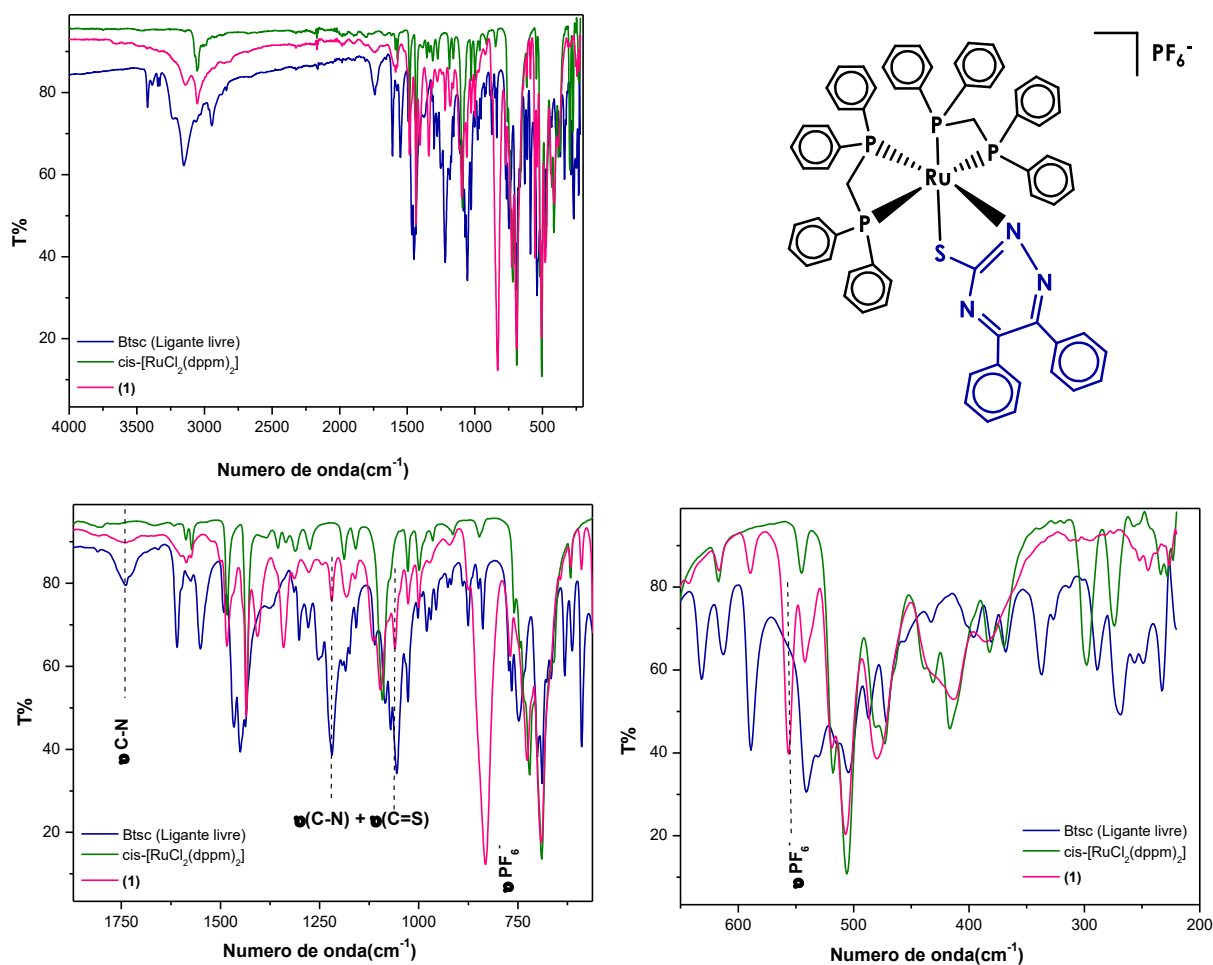
Fonte: A autora.

## 4.2 Caracterizações físico-químicas

### 4.2.1 Análise dos espectros de absorção na região do infravermelho

A comparação entre o espectro de absorção na região do infravermelho dos precursores *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppm)<sub>2</sub>] e *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>] com os espectros dos complexos **1-4** oferece evidências sutis da coordenação dos ligantes ao centro metálico, uma vez que há a aparição de novos modos vibracionais nos espectros dos complexos **1-4** quando comparados aos espectros dos complexos precursores. A Figura 15 representa o espectro de absorção na região do IV para o complexo **1**, com ampliações para melhor visualização. Devido à similaridade do perfil dos espectros dos demais complexos sintetizados neste trabalho, estes encontram-se no Apêndice A.

**Figura 15.** Espectros no I.V. (ATR) do ligante livre Btsc (traço azul), do precursor *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppm)<sub>2</sub>] (traço verde) e do complexo **1** (traço rosa) – com ampliação da região entre 1870-560 e 650-200 cm<sup>-1</sup>, respectivamente.



Fonte: Dados da pesquisa.



Todos os espectros dos complexos de rutênio(II) estudados foram obtidos na região entre 4000-200  $\text{cm}^{-1}$ . Majoritariamente, os modos vibracionais observados são referentes às bifosfinas, presentes em ambos precursores, e que permaneceram praticamente inalterados nos complexos sintetizados, já que, mesmo substituindo-se os ligantes cloridos, as unidades  $[\text{Ru}(\text{dppm})_2]$  ou  $[\text{Ru}(\text{dppe})_2]$  não se alteram. Além disso, foram observadas as duas bandas típicas do contra-íon  $\text{PF}_6^-$  em aproximadamente 828 e 556, para o complexo **1**, 832 e 558, para o complexo **2**, 835 e 556, para o complexo **3**, e 832 e 554  $\text{cm}^{-1}$ , para o complexo **4**.<sup>113</sup>

Na sua forma livre, ambos os ligantes apresentaram em seus espectros vibracionais na região do IV o modo vibracional  $\nu(\text{N-H})$  em 3406  $\text{cm}^{-1}$ , para o ligante **Btsc**, e em 3215  $\text{cm}^{-1}$ , para o ligante **Bsc**, os quais estão ausentes na sua forma coordenada. Houve também a aparição do  $\nu_{\text{as}}(\text{CH}_3)$ , característico do grupo  $-\text{OCH}_3$ , em 2940  $\text{cm}^{-1}$ , para o ligante **Btsc**, e em 3051  $\text{cm}^{-1}$ , para o ligante **Bsc**. Apenas o ligante **Bsc** apresenta o modo vibracional atribuído a deformação angular no plano do grupo  $\text{CH}_3$  em 1180  $\text{cm}^{-1}$ .<sup>114</sup>

O ligante **Btsc** apresenta em sua estrutura o grupo  $-\text{N-C(=S)-N}$ , o qual é o principal responsável pelas bandas características deste ligante que aparecem nos espectros na região do infravermelho. O grupo tiocarbonila ( $\text{C=S}$ ) é um grupo menos polar e sua ligação é mais fraca do que seu análogo contendo oxigênio, a carbonila ( $\text{C=O}$ ). Além disso, o átomo de enxofre possui massa atômica maior quando comparado ao átomo de oxigênio. Como consequência, ao contrário do que se observa para a carbonila, os modos vibracionais referentes ao  $\nu(\text{C=S})$  ocorrem em números de ondas mais baixos e apresentam bandas menos intensas.<sup>114</sup> Sendo assim, o  $\nu(\text{C=S})$  para o ligante livre **Btsc** está na região de 836  $\text{cm}^{-1}$  e o  $\nu(\text{C=O})$  em 1677  $\text{cm}^{-1}$  para o ligante livre **Bsc**.<sup>114,115</sup> Pela ocorrência do equilíbrio tautomérico em ambos ligantes, também é possível observar modos vibracionais característicos do grupo  $\text{O-H}$  para o ligante **Bsc** como o modo vibracional  $\omega(\text{O-H})$  em 635  $\text{cm}^{-1}$ .<sup>114</sup>

Além disso, em ambos os ligantes, ocorrem fortes acoplamentos entre os modos vibracionais e, como resultado, surgem algumas bandas na região de 1570-700  $\text{cm}^{-1}$ , cada uma contém certa contribuição do modo  $\nu(\text{C=O})$  ou  $\nu(\text{C=S})$ . Assim, é possível compreender a dificuldade de identificação desta banda e a diversidade das regiões para as quais ela tem sido atribuída.<sup>73,95</sup> Para o ligante livre **Btsc**, foram observadas os modos vibracionais em 1219 e 1054  $\text{cm}^{-1}$  atribuídos ao acoplamento

entre  $\nu(\text{C-N})$  e  $\nu(\text{C=S})$ . Em relação ao ligante livre **Bsc**, o acoplamento entre  $\nu(\text{C-N})$  e  $\nu(\text{C=O})$  foi observado em 1233 e 1075  $\text{cm}^{-1}$ .

Para o complexo **1**, os modos vibracionais atribuídos ao ligante **Btsc** estão na região de 1740  $\text{cm}^{-1}$ , atribuída ao modo vibracional  $\nu(\text{C=N})$ , 1217  $\text{cm}^{-1}$  e 1063  $\text{cm}^{-1}$ , referentes ao acoplamentos entre os modos vibracionais  $\nu(\text{C-N})$  e  $\nu(\text{C=S})$ .<sup>95,115</sup> O complexo **3** exibiu as bandas em 1184 e 1123  $\text{cm}^{-1}$ , atribuídos ao acoplamento entre os modos vibracionais  $\nu(\text{C-N})$  e  $\nu(\text{C=S})$ . Todas essas bandas estão destacadas nos espectros representados pelas Figuras 15 e A2. Wiles *et al.*(1967) descreve que a região entre 830 a 805  $\text{cm}^{-1}$  é a região mais pura observada para o modo vibracional referente ao estiramento da ligação C=S em tiossemicarbazonas.<sup>115</sup> No entanto, para os complexos **1** e **3** esses modos vibracionais não foram observados pelo fato de coincidir com a mesma região de um dos estiramentos do contra-íon  $\text{PF}_6^-$ , o qual é observado como uma banda alargada e de forte intensidade.

Para os complexos contendo o ligante **Bsc**, apenas o complexo **2** apresentou bandas características do estiramento do grupo C=O, em 1659  $\text{cm}^{-1}$ , e os modos vibracionais resultantes do acoplamento entre os estiramentos de C-N e C=O, em 1221 e 1044  $\text{cm}^{-1}$ . Tanto o complexo **2** quanto o complexo **4** exibiram bandas características da deformação angular no plano do grupo (NCO), na região de 1522 e 1408  $\text{cm}^{-1}$ , para **2**, e 1517  $\text{cm}^{-1}$ , para **4**.<sup>95</sup> Todas essas bandas estão destacadas nos espectros representados pelas Figuras A1 e A3.

A Tabela 2 apresenta todos os modos vibracionais atribuídos aos ligantes **Btsc** e **Bsc**, com suas respectivas frequências.

**Tabela 2.** Frequências (cm<sup>-1</sup>) correspondentes aos principais modos vibracionais dos complexos **1-4** e dos ligantes **Btsc** e **Bsc**, com suas respectivas atribuições.

Atribuição	(1)	(2)	(3)	(4)	Btsc	Bsc
$\nu(\text{N-H})$	-	-	-	-	3406(F)	3215(f)
$\nu_{\text{as}}(\text{CH}_3)$	-	-	-	-	2940(m)	3051(m)
$\nu(\text{C=N})$	1740(f)	-	-	-	1736(m)	-
$\nu(\text{C=O})$	-	1659(m)	-	-	-	1677(F)
$\nu(\text{C-N})$	-	-	-	-	1612(F)	-
$\delta(\text{NCS})$	-	-	-	-	1551(F)	-
$\delta(\text{NCO})$	-	1522(F)	-	1517(F)	-	1432(F)
	-	1408(m)	-	-	-	1365(f)
$\nu(\text{C-N}) + \nu(\text{C=S})$	1217(f)	-	1184(f)	-	1219(F)	-
	1063(f)	-	1123(f)	-	1054(F)	-
$\delta(\text{CH}_3)$	-	-	-	-	-	1180(m)
$\nu(\text{C-N}) + \nu(\text{C=O})$	-	1221(f)	-	1042(f)	-	1233(m)
		1044(f)	-	-	-	1075(F)
$\nu(\text{C=S})$	-	-	-	-	836(f)	-
$\nu\text{PF}_6^-$	828(F)	835(F)	832(F)	832(F)	-	-
$\omega(\text{O-H})$	-	-	-	-	-	635 (m)
$\nu\text{PF}_6^-$	556(m)	558(m)	556(m)	554(m)	-	-

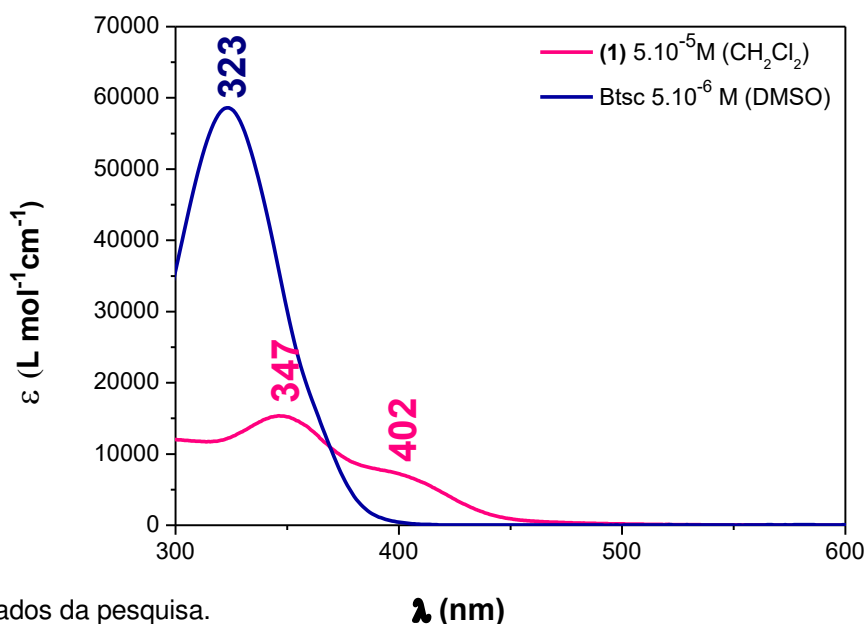
\*F– muito forte; m– média; f– fraca

**Fonte:** Dados da pesquisa.

#### 4.2.2 Análise dos espectros de absorção na região do ultravioleta e visível

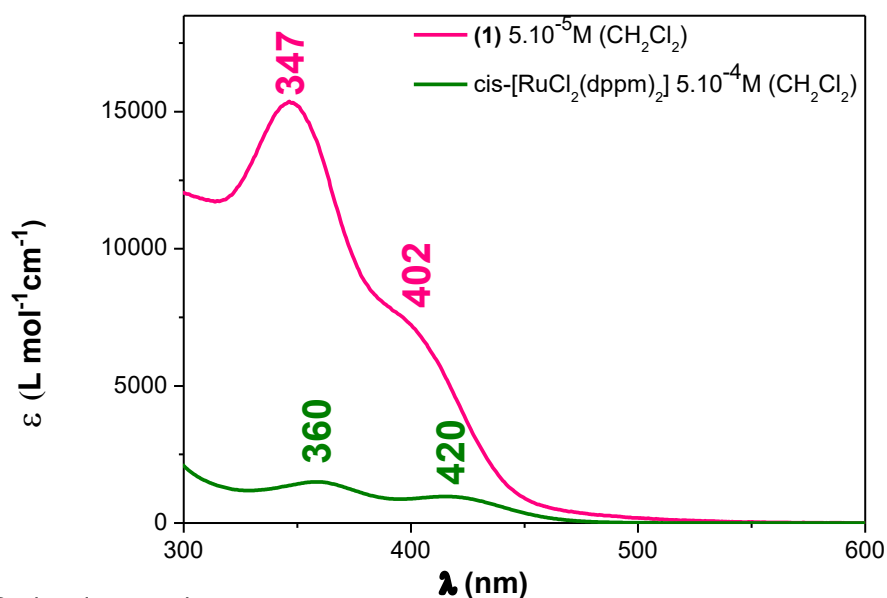
Os espectros de absorção na região do ultravioleta e visível foram obtidos como uma técnica complementar com o intuito de analisar as transições eletrônicas associadas aos complexos **1-4**, complexos precursores *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppm)<sub>2</sub>] e *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>] e aos ligantes livres **Btsc** e **Bsc**. A fim de comparar os espectros dos complexos **1-4** com seus respectivos precursores e ligantes livres, os espectros de cada um foram sobrepostos. As Figuras 16 e 17 representam a sobreposição dos espectros do complexo **1** e do precursor *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppm)<sub>2</sub>] e a sobreposição dos espectros do complexo **1** e do ligante livre **Btsc**, respectivamente. As sobreposições dos demais complexos com seus respectivos precursores e ligantes livres encontram-se no Apêndice B.

**Figura 16.** Espectro na região do UV-Vis do complexo **1** (traço rosa) obtido em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e do ligante **Btsc** (traço azul) obtido em DMSO.



Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 17.** Espectro na região do UV-Vis do complexo **1** (traço rosa) e do complexo precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$  (traço verde) obtidos em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .



Fonte: Dados da pesquisa.

De modo geral, os espectros na região do UV-vis dos complexos **1-4** apresentaram um perfil característico de transições eletrônicas que estão associadas aos seus respectivos precursores. Com isso, as bandas na região entre 250 e 330 nm, atribuídas as transições intraligantes  $IL$  ( $\pi \rightarrow \pi^*$ ) dos anéis aromáticos dos ligantes das classes tio e semicarbazonas, não são observadas nos espectros dos novos

complexos.<sup>95,116</sup> Para o ligante **Btsc** essa banda foi observada em 323 nm, já para o ligante **Bsc** em 280 nm.

Devido às propriedades de retrodoação exibidas pelos ligantes fosfínicos, quando ligadas a metais de baixo estado de oxidação, como o Ru<sup>II</sup>, há a ocorrência de transições de transferência de carga metal-ligante (TCML) ( $d\pi \rightarrow \pi^*$ ).<sup>117</sup> Para o complexo precursor *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppm)<sub>2</sub>], essa banda encontra-se na região de 360 nm e, para o precursor *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>], em 351 nm. Todos os quatro complexos obtidos apresentaram uma banda na região de 350 nm referente à unidade [Ru-bifosfina] dos precursores.

Os complexos precursores apresentam outra banda na região de 400 nm, a qual pode ser atribuída à transição de transferência de carga entre os ligantes cloridos e o Ru<sup>II</sup>. Com a substituição dos ligantes cloridos pelos ligantes **Btsc** e **Bsc** pode haver uma modificação no perfil dessa banda ou a sua ausência. Em relação aos novos complexos, somente o complexo **1** apresenta um ombro centrado em 402 nm atribuída à TCML do rutênio para o ligante **Btsc**.

Na Tabela 3 estão apresentados os comprimentos de onda com as respectivas absorvidades molares ( $\epsilon$ ) e suas possíveis transições encontradas nos espectros dos complexos de rutênio(II) **1-4**, dos precursores *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppm)<sub>2</sub>] e *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>] e dos ligantes livres **Btsc** e **Bsc**.

**Tabela 3.** Valores de comprimentos de onda, absortividades molares ( $\epsilon$ ) e possíveis transições encontradas nos espectros dos complexos **1-4**, dos precursores *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppm)<sub>2</sub>] e *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>] e dos ligantes livres **Btsc** e **Bsc**.

Complexo	$\lambda$ (nm)	$\epsilon$ (10 <sup>3</sup> L mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
<i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (dppm) <sub>2</sub> ]	420	0,98	TCML
	360	1,50	TCML ( $d\pi \rightarrow \pi^*$ )
	402	7,10	TCML
	347	15,38	TCML ( $d\pi \rightarrow \pi^*$ )
	374	7,090	TCML ( $d\pi \rightarrow \pi^*$ )
(1)	404	5,16	TCML
(2)	351	7,89	TCML ( $d\pi \rightarrow \pi^*$ )
<i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (dppe) <sub>2</sub> ]	384	14,35	TCML ( $d\pi \rightarrow \pi^*$ )
	364	23,06	TCML ( $d\pi \rightarrow \pi^*$ )
	323	5,87	IL ( $\pi \rightarrow \pi^*$ )
Btsc	280	1,73	IL ( $\pi \rightarrow \pi^*$ )
Bsc			

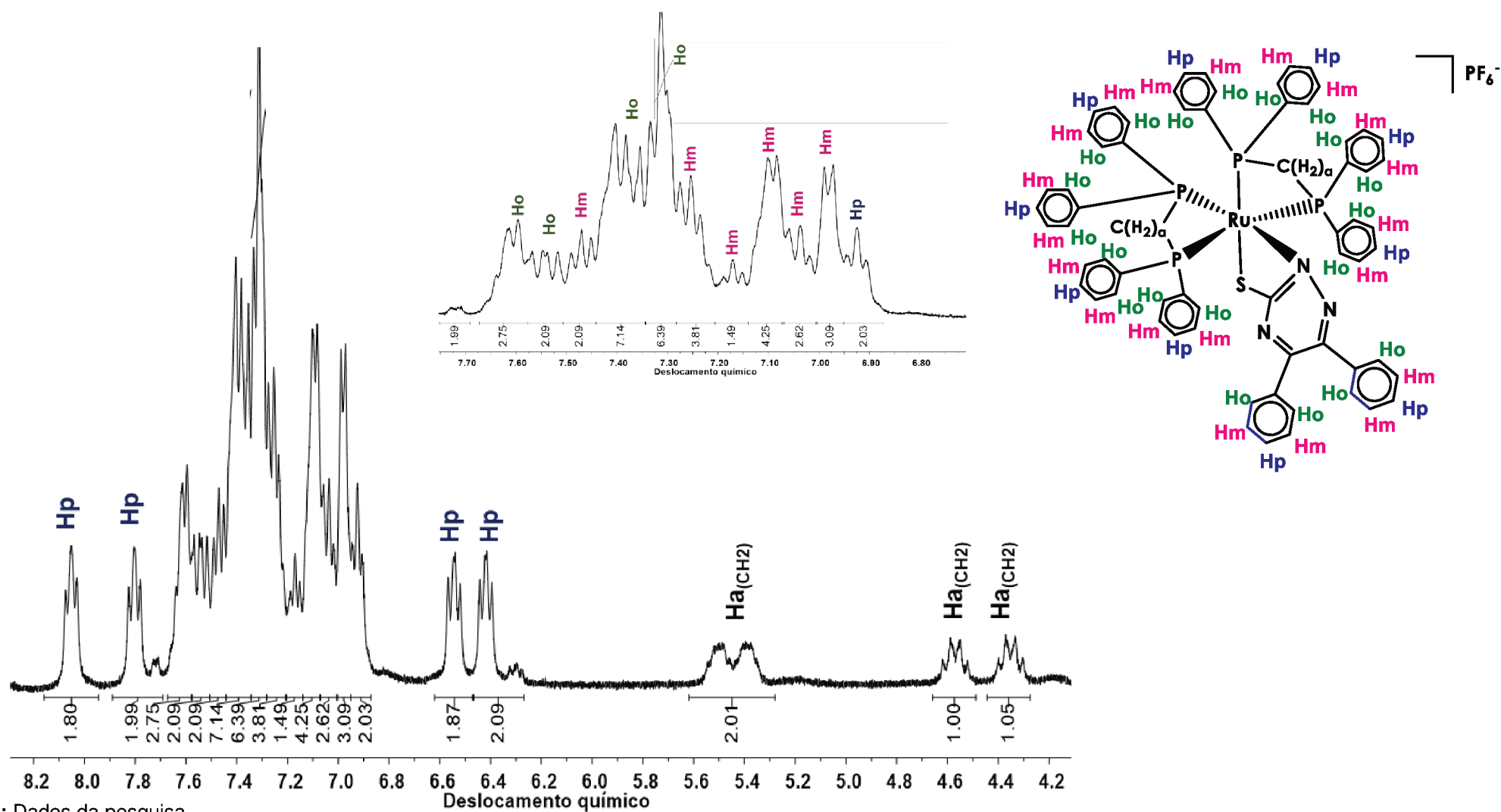
Fonte: Dados da pesquisa.

### 4.2.3 Análise dos espectros de ressonância magnética nuclear

#### 4.2.3.1 Espectros de ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup>H

O espectro de ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup>H do complexo **1** está representado pela Figura 18, com a identificação e atribuição de todos os hidrogênios. Os espectros dos demais complexos, com suas respectivas identificações e atribuições, encontram-se no Apêndice C.

**Figura 18.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  obtido em  $d^6$ -DMSO frequência de 400 MHz, do complexo **1** com seus hidrogênios identificados, com ampliação na região entre 7,70– 6,80 ppm.



Fonte: Dados da pesquisa.

Os complexos analisados apresentam em sua estrutura apenas hidrogênios aromáticos provenientes dos ligantes **Btsc** ou **Bsc**, e hidrogênios alifáticos e aromáticos provenientes dos ligantes bifosfínicos. Sendo assim, todos os ligantes da esfera de coordenação exibem o fator complicador devido ao acoplamento entre os próprios átomos de hidrogênio e o possível acoplamento entre os prótons ( $^1\text{H}$ ) e os átomos de fósforo ( $^{31}\text{P}$ ), o que dificulta a atribuição da multiplicidade de alguns sinais resultantes. Com isso, não foi possível atribuir todas as constantes de acoplamento.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  dos ligantes livres **Btsc** e **Bsc**, representados pelas Figuras C6 e C7, observam-se os sinais em 12,15 e 10,02 ppm para **Btsc** e em 10,88 e 8,34 ppm para **Bsc** atribuídos aos hidrogênios ligados aos nitrogênios do anel triazínico. Observa-se ainda o sinal em torno de 3,25 ppm atribuído aos hidrogênios da metila do grupo  $-\text{OCH}_3$ . Considerando que esses sinais são observados apenas para os ligantes livres, a análise dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  dos complexos evidencia principalmente a desprotonação do átomo de nitrogênio do ligante ao se coordenar ao metal, além da saída do grupo  $-\text{OCH}_3$  e posterior formação da ressonância no anel.

Conforme representado pela Figura 13, observa-se que os sinais referentes aos hidrogênios aromáticos do ligante **Btsc** foram encobertos pelos sinais dos hidrogênios aromáticos presentes na bifosfina, mas por meio do valor da integral foi possível confirmar a existência desses hidrogênios na estrutura do complexo sintetizado. Os hidrogênios alifáticos do grupo metileno das bifosfinas ( $\text{Ha}$ ) foram observados como multipletos na faixa entre 5,45, 4,57 e 4,35 ppm. Os hidrogênios orto ( $\text{Ho}$ ), meta ( $\text{Hm}$ ) e para ( $\text{Hp}$ ) foram encontrados na região de 8,05 a 6,42 ppm e apresentaram multipletos com integrais correspondentes ao número esperado de hidrogênios aromáticos.

Para os demais complexos, o perfil dos espectros é praticamente o mesmo, sendo que para os complexos derivados do precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppe})_2]$ , **3** e **4**, os espectros exibiram, além dos sinais referentes aos hidrogênios aromáticos das bifosfinas entre 8,08 e 5,84 ppm e 7,82 e 6,00 ppm, respectivamente, os sinais atribuídos aos hidrogênio alifáticos do grupo etileno encontrados na região entre 3,44 a 1,63 ppm e 3,54 a 2,38 ppm, respectivamente. Como esses sinais estão encobertos pelo sinal do solvente  $d^6$ -DMSO nos espectros obtidos com esse solvente, no Apêndice C também constam os espectros de RMN  $^1\text{H}$  desses complexos



solubilizados em  $\text{CDCl}_3$ . Os deslocamentos químicos, a multiplicidade e as integrais dos respectivos sinais dos complexos encontram-se na Tabela 3.

**Tabela 4.** Deslocamentos químicos ( $\delta$ ) em ppm (multiplicidade, integral) e suas respectivas atribuições para os complexos 1-4.

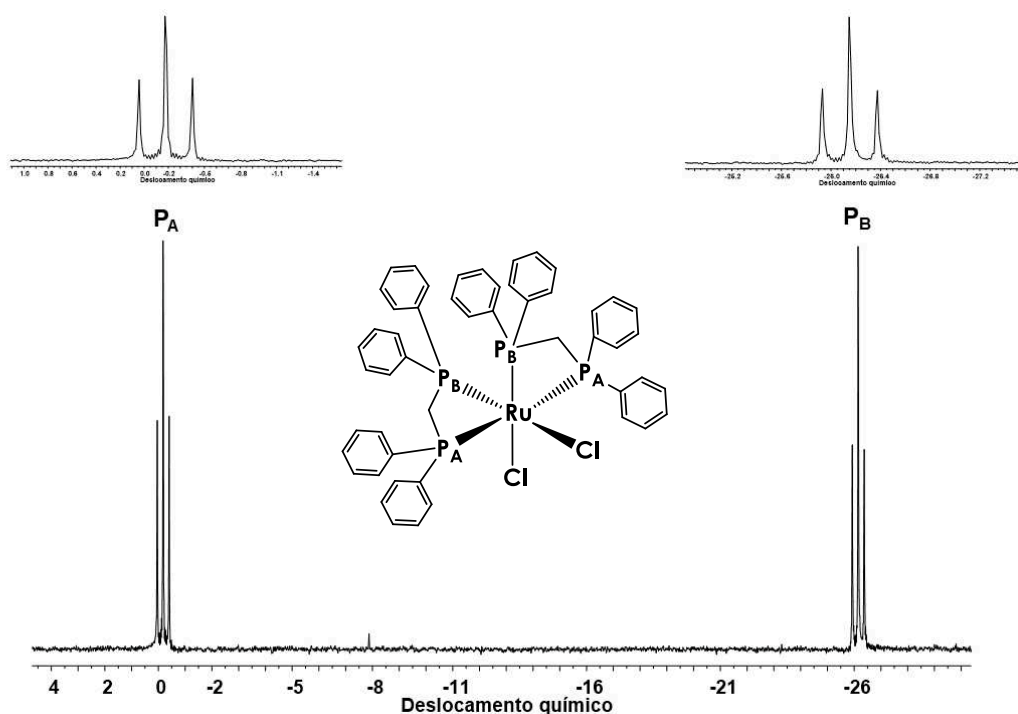
Atribuição					
(1)	Ha(CH <sub>2</sub> )	H <sub>o</sub>	H <sub>m</sub>	H <sub>p</sub>	
	5,45 (m, 2H)	7,61 (m, 3H)	7,47 (m, 2H)	8,05 (t, 2H, <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> 8 Hz)	
	4,57 (m, 1H)	7,54 (m, 2H)	7,25 (m, 4H)	7,80 (t, 2H, <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> 8 Hz)	
	4,35 (m, 1H)	7,39 (m, 8H)	7,17 (m, 3H)	6,92 (t, 2H, <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> 10 Hz)	
		7,31 (m, 7H)	7,10 (m, 5H)	6,54 (dd, 2H, <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> 8 Hz; <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> 12 Hz)	
			7,04 (m, 3H)	6,42 (dd, 2H, <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> 8 Hz; <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> 12 Hz)	
			6,98 (m, 3H)		
(2)	Ha(CH <sub>2</sub> )	H <sub>o</sub>	H <sub>m</sub>	H <sub>p</sub>	
	5,20 (m, 2H)	7,65 (m, 2H)	7,56 (m, 2H)	7,96 (m, 2H)	
	4,15 (m, 2H)	7,40 (m, 18H)	7,27 (m, 4H)	7,80 (t, 4H)	
			7,17 (m, 4H)	6,29 (m, 4H)	
			7,06 (m, 6H)		
(3)	Ha(CH <sub>2</sub> )	H <sub>o</sub>	H <sub>m</sub>	H <sub>p</sub>	H <sub>p</sub> + H <sub>o</sub>
	3,44 (m, 2H)	7,43 (m, 12H)	7,67 (m, 4H)	8,08 (t, 2H, <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> 8 Hz)	6,92 (m, 2H <sub>p</sub> + 2H <sub>o</sub> )
	2,61 (m, 1H)	7,12 (m, 6H)	7,59 (m, 4H)	7,90 (t, 2H, <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> 10 Hz)	
	2,38 (m, 1H)		7,30 (t, 4H)	5,98(t, 2H, <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> 8 Hz)	
	2,10 (m, 2H)		7,23 (m, 4H)	5,84 (t, 2H, <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> 8 Hz)	
	1,63 (m, 2H)		7,01 (m, 4H)		
(4)	Ha(CH <sub>2</sub> )	H <sub>o</sub>	H <sub>m</sub>	H <sub>p</sub>	
	3,54 (m, 2H)	7,34 (m, 12H)	7,56 (m, 5H)	7,82 (t, 2H, <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> 10 Hz)	
	2,87 (m, 2H)	7,19 (m, 8H)	7,47 (m, 5H)	7,74 (t, 2H, <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> 8 Hz)	
	2,68 (m, 2H)		7,10 (t, 2H)	6,81 (t, 2H, <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> 8 Hz)	
	2,38 (m, 2H)		7,05 (m, 2H)	6,44 (t, 2H, <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> 8 Hz)	
			6,96 (m, 4H)	6,00 (t, 2H, <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> 8 Hz)	
		6,87 (m, 2H)			

**Fonte:** Dados da pesquisa.

#### 4.2.3.2 Espectros de ressonância magnética nuclear $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$

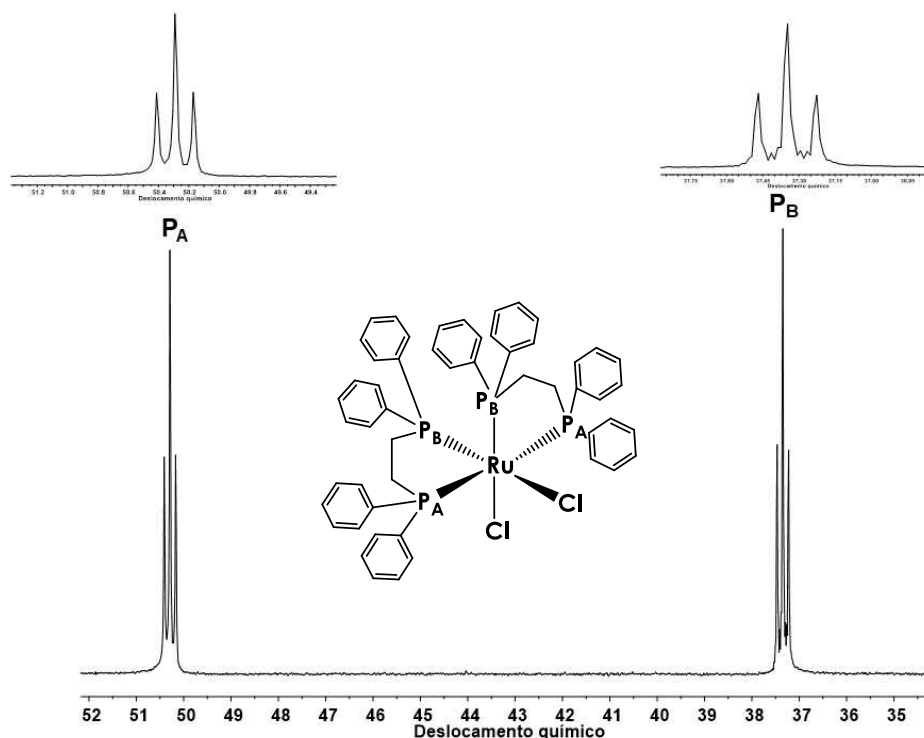
A análise dos dados de deslocamento químico, multiplicidades e constantes de acoplamento entre os átomos de fósforo dos espectros de ressonância magnética nuclear desse núcleo ativo, referente aos complexos sintetizados neste trabalho, possibilitou a elucidação do arranjo stereoquímico dos ligantes na esfera de coordenação dos mesmos. Os espectros dos complexos precursores *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$  e *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppe})_2]$  estão representados pelas Figura 19 e 20, respectivamente.

**Figura 19.** Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ , em  $\text{CDCl}_3$ , do complexo precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$ , com os átomos de fósforo identificados.



Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 20.** Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ , em  $\text{CDCl}_3$ , do complexo precursor  $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppe})_2]$ , com os átomos de fósforo identificados.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

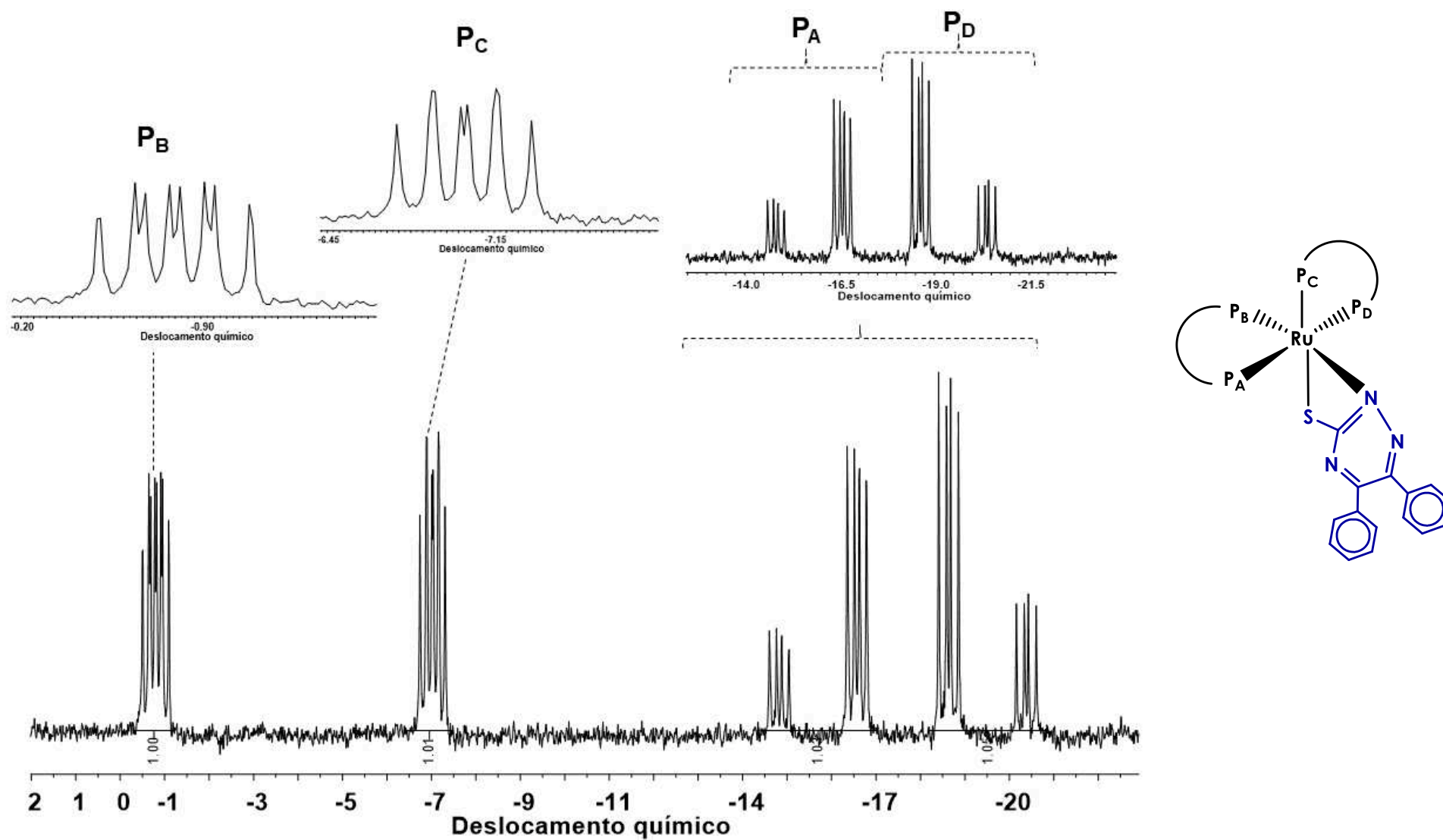
Em ambos os espectros dos complexos precursores, foram observados apenas dois sinais tripletos de integrais equivalentes. Os dois ligantes bifosfínicos, em ambos precursores, encontram-se *cis*-posicionados e dois ligantes cloridos completam a esfera de coordenação do rutênio(II). Sendo assim, os complexos apresentam dois fósforos quimicamente e magneticamente equivalentes,  $\text{P}_\text{A}$ : P *trans* P e  $\text{P}_\text{B}$ : P *trans* Cl, exibindo nos espectros dois sinais tripletos.<sup>118</sup> Para o complexo precursor  $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$ , os deslocamentos químicos foram iguais a -0,22 e -26,13 ppm e, para o precursor  $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppe})_2]$ , os sinais foram observados em 50,32 e 37,32 ppm. No caso do precursor  $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$ , os sinais tripletos estão mais blindados devido ao elevado efeito de desblindagem característico dos núcleos de fósforo nos anéis quelatos de cinco membros, conforme descrito anteriormente na literatura para o ligante dppm.<sup>119</sup>

A substituição dos ligantes cloridos pelos ligantes **Btsc** e **Bsc**, para formação dos complexos estudados neste trabalho, modifica o ambiente químico das bifosfinas e consequentemente o padrão dos espectros também se altera. Neste caso, os átomos que completam a esfera de coordenação são diferentes, sendo eles os átomos de nitrogênio e enxofre, quando a coordenação é com o ligante **Btsc**, e os átomos de

nitrogênio e oxigênio, quando o ligante é o **Bsc**. Com isso, todos os quatro átomos de fósforos são quimicamente e magneticamente não-equivalentes,  $P_A$ : P *trans* P (*cis* a S ou O),  $P_B$ : P *trans* N,  $P_C$ : P *trans* S e  $P_D$ : P *trans* P (*cis* a N), dando origem a um padrão de duplos duplos dubletos (ddd) nos espectros de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ , como constatado nos espectros representados pelas Figuras 21, 22, 23 e 24.<sup>118</sup>

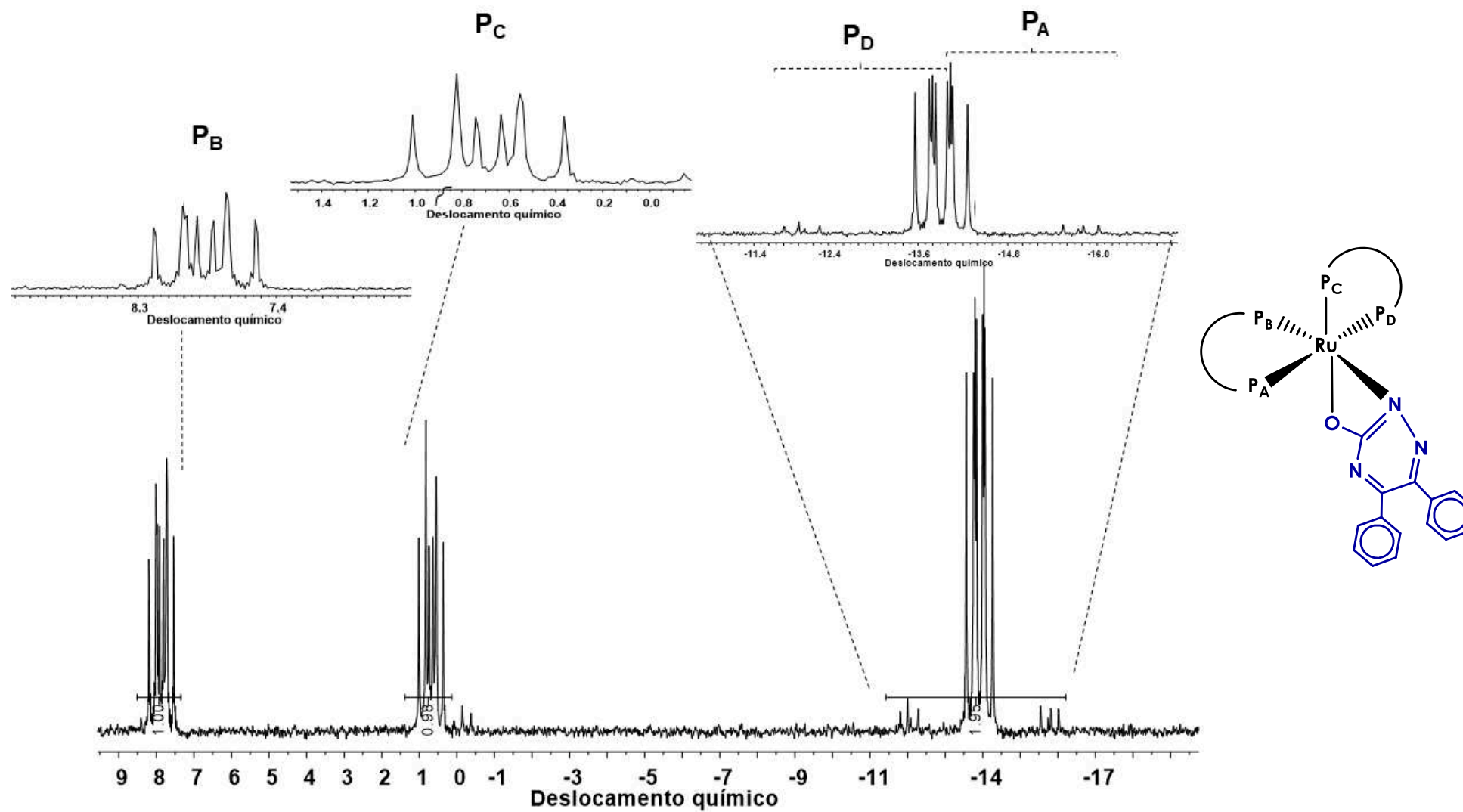
Devido a coalescência de algumas linhas, alguns dos sinais não exibem todas as oito linhas padrão dos duplos duplos dubletos, fazendo com que ao sobreporem apareçam apenas 6 ou até 5 linhas, como se pode observar na ampliação de alguns sinais em todos os complexos. No caso dos átomos de fósforo  $P_A$  e  $P_D$ , posicionados em posição *trans* um ao outro, sofrem maior acoplamento devido ao fato de os orbitais dos átomos de fósforo em posição *trans* interagirem mais fortemente e por isso se desdobram em dois conjuntos de quatro linhas.<sup>118</sup>

**Figura 21.** Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  em  $d^6$ -DMSO do complexo **1**, com ampliação dos sinais ddd entre -0,38 a -1,15; -6,59 a -7,40 e -14,17 a -20,91 ppm.



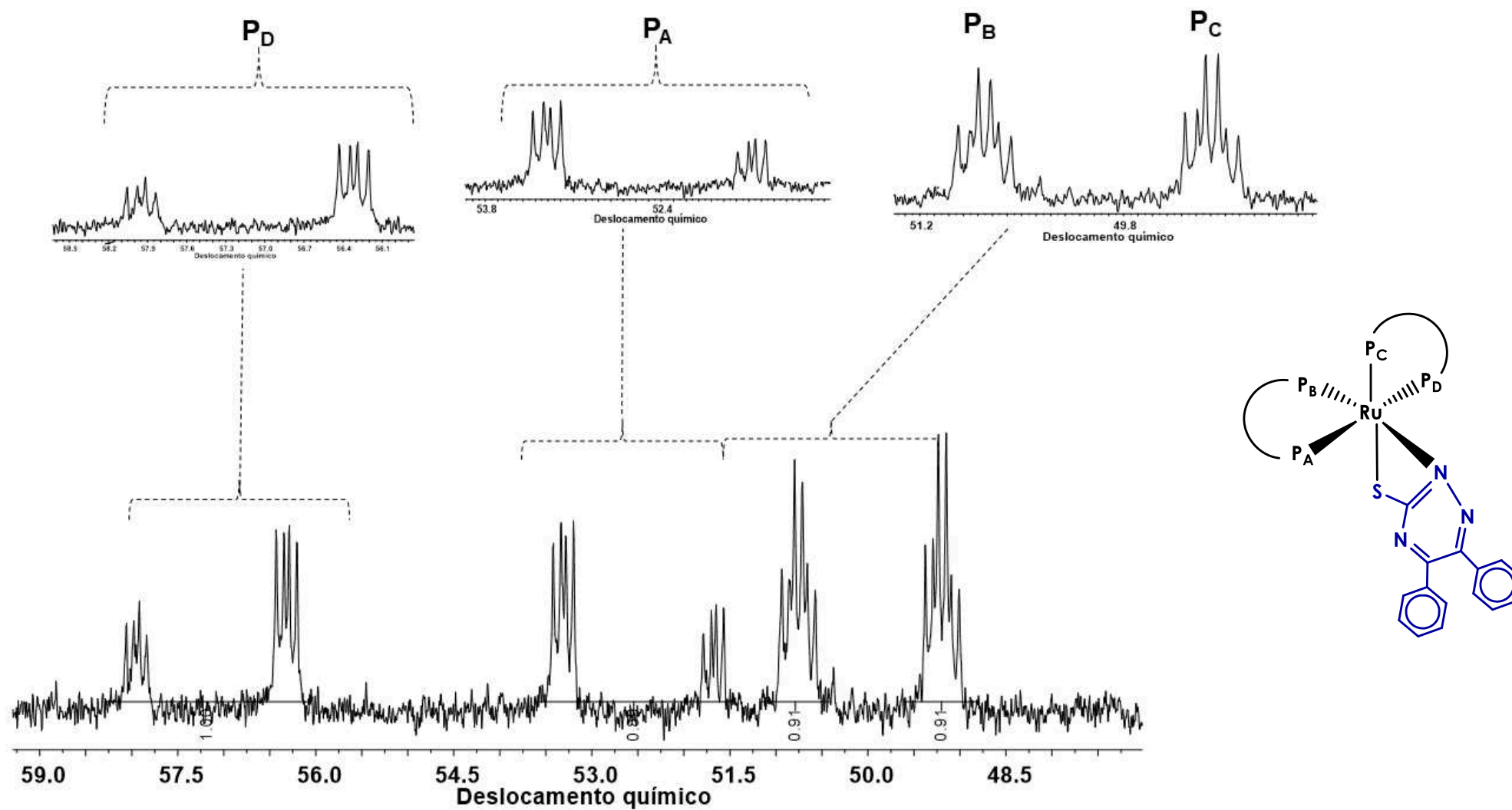
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 22.** Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  em  $d^6$ -DMSO do complexo **2**, com ampliação dos sinais ddd entre 8,32 a 7,43; 1,21 a 0,29 e -11,34 a -16,29 ppm.



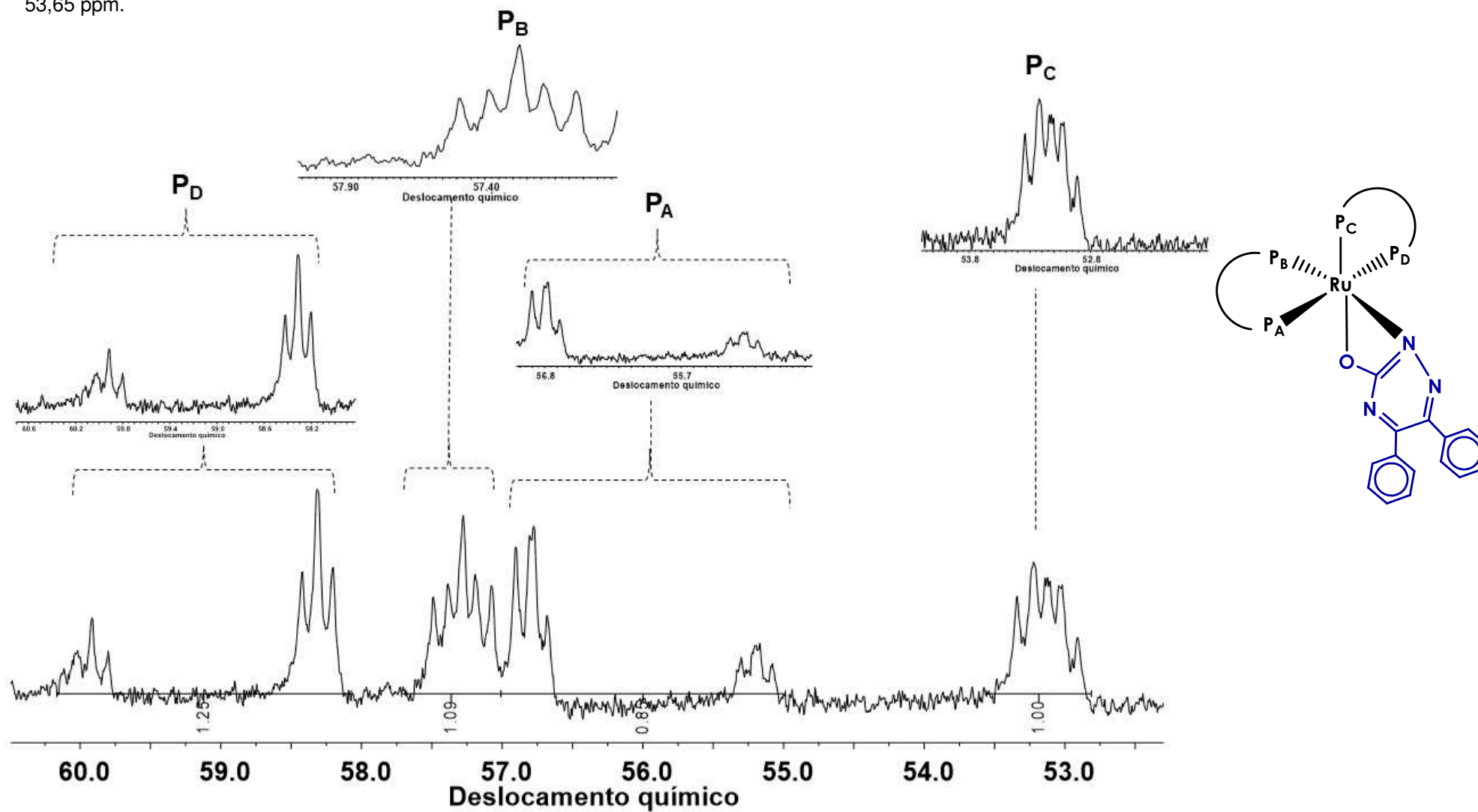
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 23.** Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  em  $d^6$ -DMSO do complexo **3**, com ampliação dos sinais ddd entre 58,39 a 56,05; 53,80 a 51,43 e 51,14 a 48,84 ppm.



Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 24.** Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  em  $d^6$ -DMSO do complexo **4**, com ampliação dos sinais ddd entre 60,41 a 58,00; 57,83 a 56,99; 57,00 a 54,86 e 53,89 a 53,65 ppm.



Fonte: Dados da pesquisa.



O espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo **1**, Figura 21, exibiu os padrões ddd em deslocamentos químicos iguais a -0,79, -7,02, -15,70 e -19,46 ppm atribuídos aos átomos de fósforos  $\text{P}_\text{B}$ ,  $\text{P}_\text{C}$ ,  $\text{P}_\text{A}$  e  $\text{P}_\text{D}$ , respectivamente. Já para o complexo **2**, Figura 22, apesar da mesma sequência de atribuição dos átomos de fósforo, os deslocamentos químicos dos sinais ddd são mais desprotegidos, sendo eles 7,87, 0,70, -13,65 e -14,14 ppm, devido à presença do átomo de oxigênio na esfera de coordenação responsável pela menor blindagem desses átomos.<sup>114</sup> Outro efeito atribuído à presença do átomo de oxigênio é a aproximação dos dois últimos sinais para o complexo **2**, referentes os átomos de fósforo  $\text{P}_\text{A}$  e  $\text{P}_\text{D}$ , quando comparado com o complexo análogo **1**.

Para os complexos **3** e **4**, Figura 23 e 24, os sinais ddd são observados em deslocamentos químicos desblindados quando comparados aos análogos cujo precursor é o *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$ , situados em 49,20 ( $\text{P}_\text{C}$ ), 50,76 ( $\text{P}_\text{B}$ ), 52,46 ( $\text{P}_\text{A}$ ) e 57,22 ( $\text{P}_\text{D}$ ) ppm, para **3**, e 53,17 ( $\text{P}_\text{C}$ ), 56,00 ( $\text{P}_\text{A}$ ), 57,28 ( $\text{P}_\text{B}$ ) e 59,18 ( $\text{P}_\text{D}$ ), para **4**. Há ainda, para esses dois complexos, uma inversão no padrão dos sinais e uma aproximação entre esses sinais, quando comparado aos análogos com o precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$ . A Tabela 5 apresenta os valores de deslocamento químicos para cada sinal ddd e os valores da integral, entre parênteses, dos complexos em questão.

**Tabela 5.** Valores de deslocamento químico ( $\delta$ ) em ppm para os complexos 1-4 com suas respectivas atribuições e constantes de acoplamento.

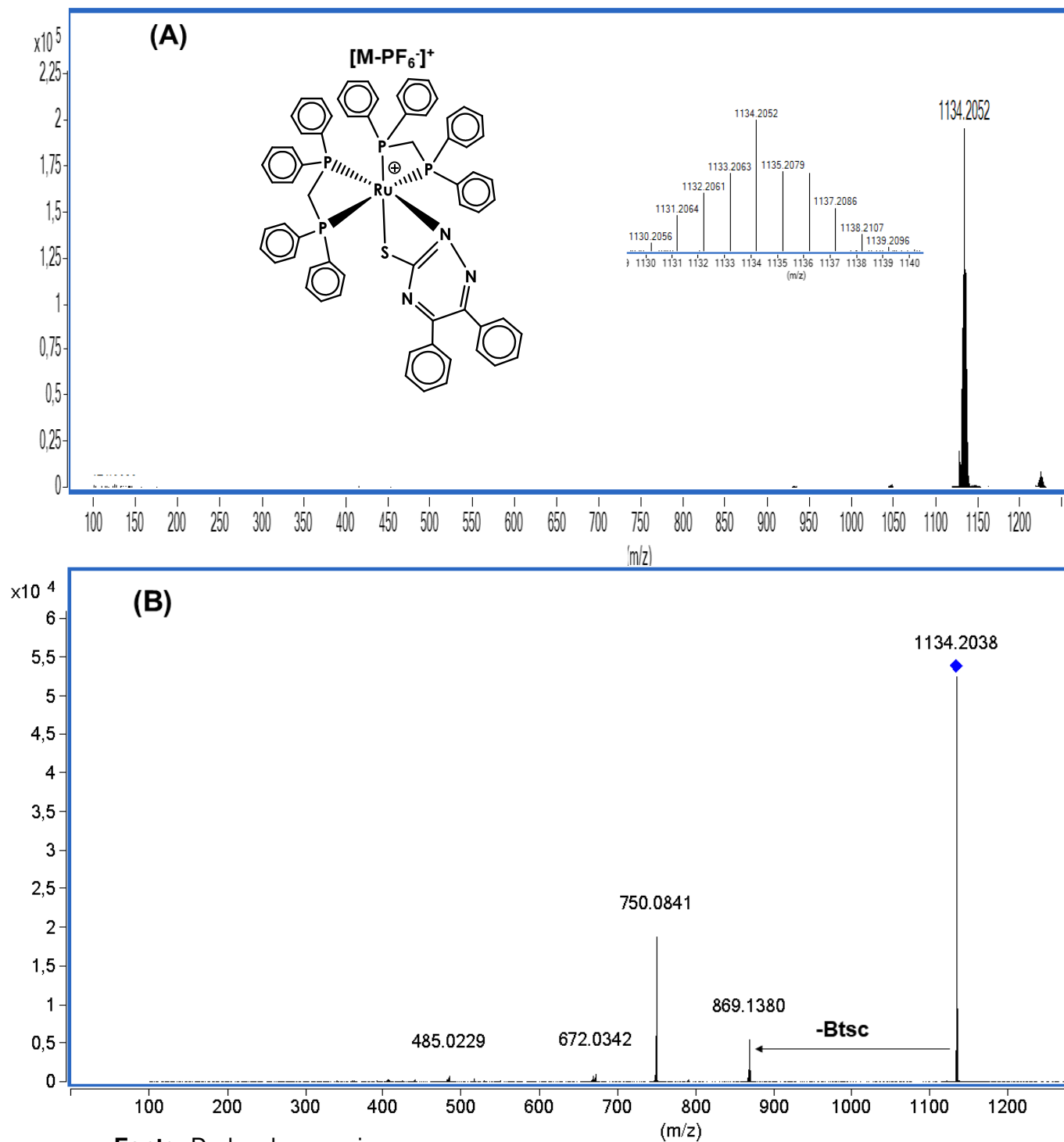
Complexos	$\delta_{\text{ddd}}/\text{ppm} - (\text{Integral})$				$^2\text{JP}_\text{AP}_\text{D}$	$^2\text{JP}_\text{AP}_\text{B}$	$^2\text{JP}_\text{AP}_\text{C}$	$^2\text{JP}_\text{BP}_\text{C}$	$^2\text{JP}_\text{BP}_\text{D}$	$^2\text{JP}_\text{CP}_\text{D}$
	$\text{P}_\text{A}$	$\text{P}_\text{B}$	$\text{P}_\text{C}$	$\text{P}_\text{D}$						
(1)	-15,70 (1P)	-0,79 (1P)	-7,02 (1P)	-19,46 (1P)	281,1	42,52	22,27	21,26	23,89	44,55
(2)	-13,65 (1P)	7,87 (1P)	0,70 (1P)	-14,14 (1P)	-	-	-	29,16	30,37	44,55
(3)	52,46 (1P)	50,76 (1P)	49,20 (1P)	57,22 (1P)	264,9	22,27	11,54	-	-	-
(4)	56,00 (1P)	57,28 (1P)	53,17 (1P)	59,18 (1P)	-	-	-	-	-	-

**Fonte:** Dados da pesquisa.

#### 4.2.4 Análise dos espectros de massas

O espectro de massa de alta resolução do complexo **1** está representado pela Figura 25 e os espectros dos demais complexos encontram-se no Apêndice E.

**Figura 25.** (A) Espectro de massas HRESI-MS do complexo **1**. (B) Espectro HRESI-MS/MS com padrão de fragmentação do complexo **1**.



Fonte: Dados da pesquisa.

O padrão isotópico comumente encontrado dos espectros de massa de compostos contendo rutênio em sua composição é marcado pela presença dos isótopos com suas respectivas abundâncias  $^{96}\text{Ru}$  (5,5%),  $^{98}\text{Ru}$  (1,9%),  $^{99}\text{Ru}$  (12,7%),  $^{100}\text{Ru}$  (12,6%),  $^{101}\text{Ru}$  (17,1%),  $^{102}\text{Ru}$  (31,6 %) e  $^{104}\text{Ru}$  (18,6%). Os espectros de massa de alta resolução (HRESI-MS) dos complexos sintetizados são coerentes com o padrão estabelecido, sendo que os valores de  $m/z$  listados corresponde ao isótopo mais abundante, o  $^{102}\text{Ru}$ .

Para o complexo **1**, o íon complexo foi observado a uma razão  $m/z$  1134,2052  $[\text{M-PF}_6]^+$  (Figura 25(A)), sendo coerente com o valor teórico para  $\text{C}_{65}\text{H}_{54}\text{N}_3\text{P}_4^{102}\text{RuS}$ , 1134,2027. O padrão de fragmentação deste e dos demais complexos foi obtida por meio da medida de dissociação induzida por colisão (CID) no experimento (HRESI-MS/MS), em que o  $\text{N}_2$  foi utilizado como gás de colisão e uma energia crescente foi aplicada sob a razão  $m/z$  selecionada para o íon molecular. Para o complexo (**1**), o espectro (HRESI-MS/MS) exibiu uma via de fragmentação, a partir de  $m/z$  igual a 1134,2038u, com uma perda inicial de 265 u, proposto para a eliminação do ligante em modo mono-aniônico **Btsc** (Figura 25(B)).

De modo análogo, os espectros de massas HRESI-MS dos demais complexos (Apêndice E) apresentaram picos referentes ao íon molecular  $[\text{M-PF}_6]^+$  com  $m/z$  concordantes com os valores de  $m/z$  calculados, conforme apresentado pela Tabela 6. Além disso, todos eles apresentaram o padrão de fragmentação com perdas iniciais do ligante neutro, sendo que para o complexo **2** o valor de  $m/z$  é de 869,1376 u e, para os complexos **3** e **4**, o valor de  $m/z$  é de 897,1711 e 897,1697 u, respectivamente.

**Tabela 6.** Valores teóricos e experimentais da razão  $m/z$  para os complexos de  $\text{Ru}^{\text{II}}$  **1-4** e seus respectivos erros experimentais.

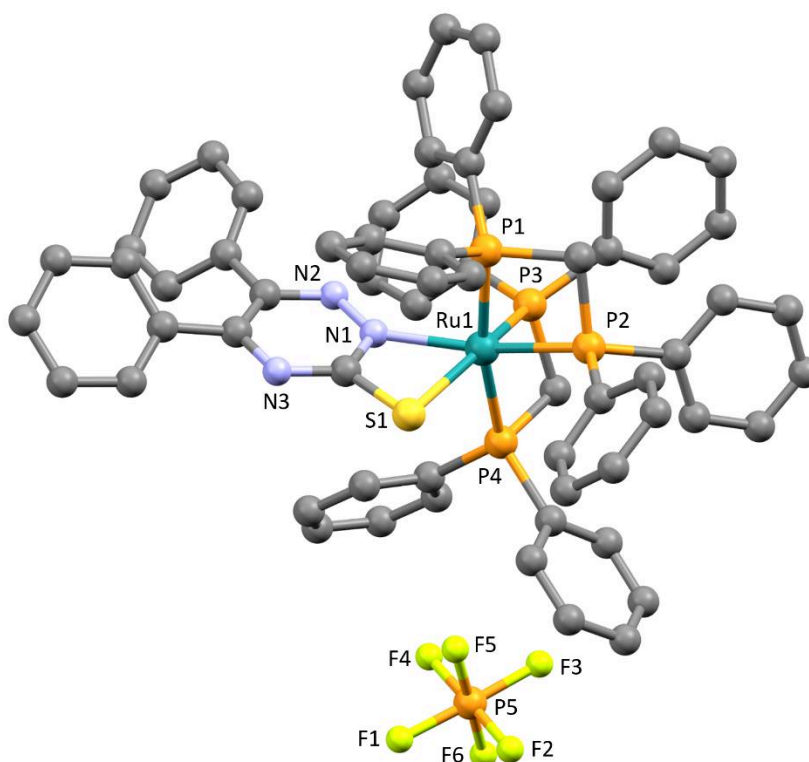
Complexo	$m/z$ Teórico	$m/z$ Experimental	Erro / ppm
(1)	1134,2027	1134,2052	2,20
(2)	1118,2255	1118,2275	1,79
(3)	1162,2340	1162,2355	1,29
(4)	1146,2568	1146,2596	2,44

**Fonte:** Dados da pesquisa.

#### 4.2.5 Estrutura cristalina do complexo $1.\text{CH}_2\text{Cl}_2$

A estrutura cristalina do complexo  $1.\text{CH}_2\text{Cl}_2$  foi obtida por difração de raios X por monocristal, sendo os principais dados cristalográficos apresentados no Apêndice F. O complexo cristalizou no sistema monoclinico, no grupo espacial  $P2_1/c$ , e a representação da estrutura determinada encontra-se na Figura 26.

**Figura 26.** Representação da estrutura do complexo  $1.\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , com os átomos de hidrogênio e a molécula de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  omitidos, obtida pelos dados de difração de raios X.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

Os dados obtidos pela técnica de difração de raios X por monocristal corroboram para a estrutura proposta do complexo **1**, uma vez que estão de acordo com os resultados obtidos nas caracterizações espectroscópicas.

Os ângulos envolvendo os átomos da esfera de coordenação do  $\text{Ru}^{\text{II}}$  confirmam que o complexo possui uma geometria octaédrica distorcida, em que o ligante **Btsc** se coordena de modo bidentado via N-S, formando um anel quelato cujo ângulo  $\text{N}(1)\text{--Ru}(1)\text{--S}(1)$  é  $66,03(9)^\circ$ , e os ligantes bifosfínicos (dppm) estão coordenados ao rutênio de modo *cis* por dois átomos de fósforo de cada ligante dppm, também

formando anéis quelatos. Os ângulos e comprimentos de ligação envolvendo os átomos coordenados ao Ru<sup>II</sup> estão apresentados na Tabela 7.

**Tabela 7.** Principais ângulos e distâncias dos átomos coordenados ao Ru<sup>II</sup> no complexo **1**.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Ligação	Ângulo (°)	Ligação	Distância (Å)
P(1)–Ru(1)–P(2)	71,17(4)	Ru(1)–S(1)	2,4757(11)
P(3)–Ru(1)–P(4)	71,25(4)	Ru(1)–N(1)	2,125(3)
S(1)–Ru(1)–N(1)	66,03(9)	Ru(1)–P(1)	2,3429(11)
S(1)–Ru(1)–P(3)	161,14(4)	Ru(1)–P(2)	2,3402(11)
N(1)–Ru(1)–P(2)	157,22(9)	Ru(1)–P(3)	2,3324(10)
P(1)–Ru(1)–P(4)	169,14(4)	Ru(1)–P(4)	2,3712(10)

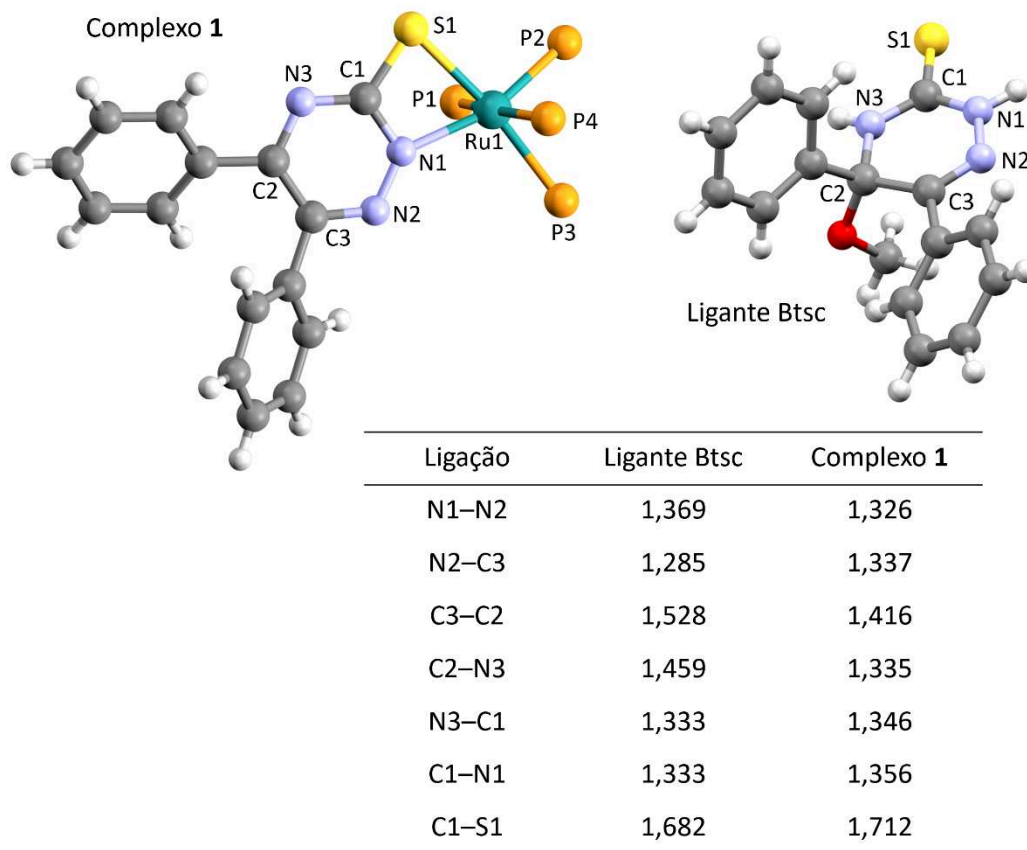
**Fonte:** Dados da pesquisa.

Ao analisar os valores de ângulo das ligações do complexo **1** (Tabela 7), observa-se que o ângulo formado entre os fósforos em posição *trans*, P(1)–Ru(1)–P(4), está levemente inclinado com 169,14(4)°. Além disso, para o complexo **1**, é possível verificar distorções nos ângulos S(1)–Ru(1)–P(3), N(1)–Ru(1)–P(2), P(1)–Ru(1)–P(2) e P(3)–Ru(1)–P(4) com ângulos de 161,14(4), 157,22(9), 71,17(4) e 71,25(4)°, respectivamente. As demais ligações apresentam ângulos com valores próximos a 90°, como esperado.

Os comprimentos de ligação de Ru–P dos átomos de fósforo P *trans* P são maiores do que aqueles em posição *cis*, sendo que as distâncias Ru(1)–P(2) e Ru(1)–P(4) são de 2,3402(11) e 2,3712(10) Å, enquanto as distâncias Ru(1)–P(1) e Ru(1)–P(3) são de 2,3429(10) e 2,3312(11) Å. Essa diferença pode ser explicada pela competição por elétrons  $\pi$  dos átomos de fósforo em posição *trans*, o que resulta nesse leve afastamento entre eles. As diferenças entre as distâncias de ligação entre o centro metálico e os átomos do ligante **Btsc** confirmam a coordenação assimétrica, em que as distâncias Ru(1)–S(1) e Ru(1)–N(1) são igual a 2,4757(11) e 2,125(3) Å, respectivamente.

A Figura 27 apresenta a comparação dos comprimentos de ligação envolvendo o anel triazínico do ligante **Btsc**.

**Figura 27.** Comparação dos valores das distâncias das ligações no anel triazínico da tiossemicarbazona livre e coordenada. Os valores estão apresentados em Å, sendo as distâncias das ligações na tiossemicarbazona livre foram descritas por Rezaei & Fazlollahi, 2013.<sup>120</sup> Os anéis aromáticos e os grupos alifáticos das bifosfinas estão omitidos para melhor visualização.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

Ao analisar os valores das distâncias, apresentados na Figura 27, percebe-se que ocorreu a formação de uma estrutura de ressonância no anel triazínico da tiossemicarbazona quando esta se encontra coordenada ao Ru<sup>II</sup>. A formação dessa ressonância está associada com a eliminação do grupo metóxi simultânea à desprotonação do anel, levando à formação de uma molécula de metanol, conforme os mecanismos apresentados pela Figura 14. Essa observação é embasada pela mudança nos valores das distâncias de ligação obtidas experimentalmente por meio de difração de raios X. Na tiossemicarbazona livre, em comparação com o complexo 1, as ligações C3–C2 (1,528 Å), C2–N3 (1,459 Å) e N1–N2 (1,369 Å) são mais longas enquanto que as ligações N2–C3 (1,285 Å), N3–C1 (1,333 Å) e C1–N1 (1,333 Å) são mais curtas. De acordo com a literatura<sup>116,120</sup>, as distâncias dessas ligações no complexo 1, apresentadas na Figura 27, são intermediárias entre ligações simples e

ligações duplas, confirmando a presença de uma estrutura de ressonância no anel triazínico da tiossemicarbazona coordenada ao complexo **1**.

Os ângulos internos no anel triazínico, apresentados na Tabela 8, também corroboram a formação da estrutura de ressonância no anel no complexo. Os valores desses ângulos para o complexo **1**, os quais são próximos a 120°, indicam a formação de um anel de seis membros muito similar a um hexágono. Por sua vez, os mesmos ângulos na estrutura do ligante livre apresentam uma variação maior do que 120°, especialmente entre as ligações C3–C2–N3 (108,47°), a qual é característica de uma geometria tetraédrica. De fato, a estrutura obtida por difração de raios X indica que o carbono C2, ligado ao grupo metóxi na estrutura do ligante livre, possui uma geometria tetraédrica.<sup>116,120</sup>

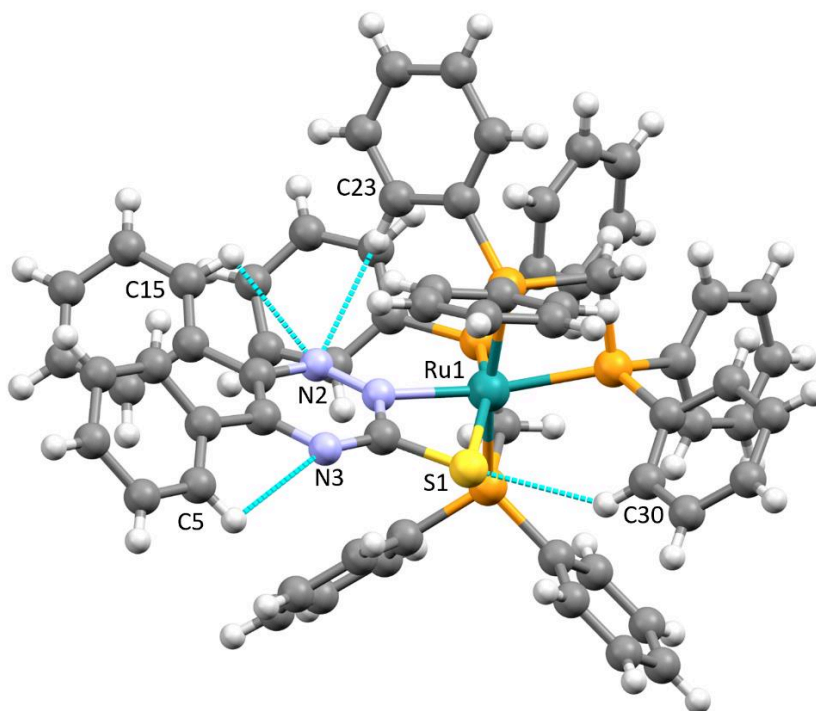
**Tabela 8.** Valores dos ângulos internos das ligações no anel triazínico da tiossemicarbazona Btsc livre e coordenada.

Ângulos	Btsc livre	Btsc coordenada
N1–N2–C3	118,80°	119,11°
N2–C3–C2	123,64°	120,06°
C3–C2–N3	108,47°	120,24°
C2–N3–C1	126,69°	116,83°
N3–C1–N1	115,69°	123,38°
C1–N1–N2	125,98°	120,24°

Fonte: Dados da pesquisa.

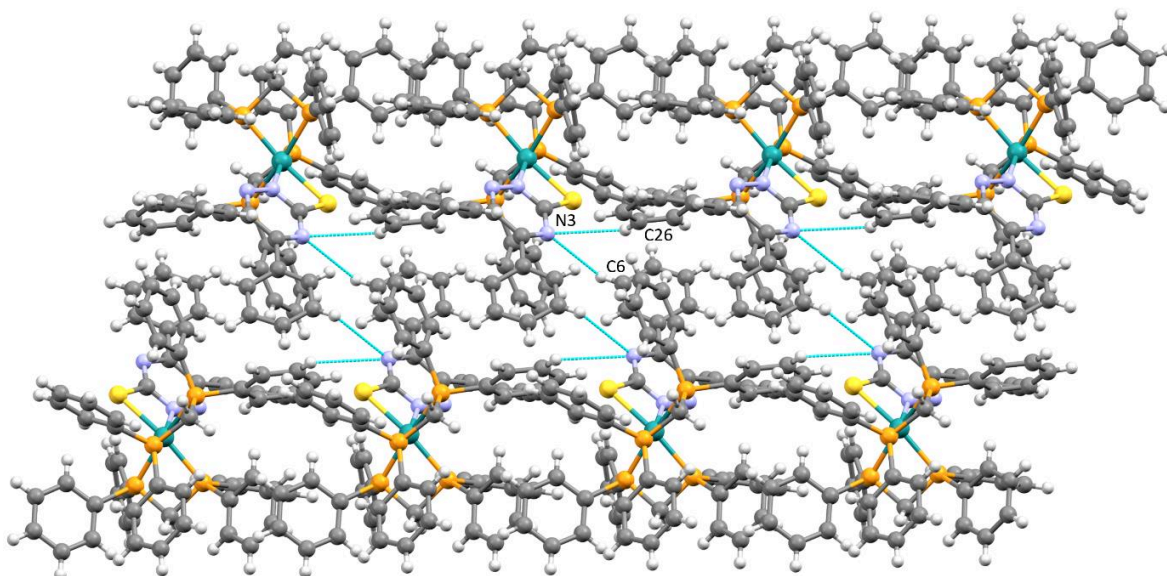
Com relação ao arranjo estrutural dos complexos nas celas unitárias, é possível observar as interações intra e intermoleculares que estabilizam o empacotamento cristalino do complexo **1**, o qual é estabilizado por treze interações, sendo quatro intramoleculares, representadas na Figura 28, e nove intermoleculares, mostradas nas Figuras 29-31. As interações foram analisadas com o software MERCURY.<sup>107</sup>

**Figure 28.** Interações intramoleculares, representadas pelas linhas pontilhadas azuis, no empacotamento cristalino do complexo **1**.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

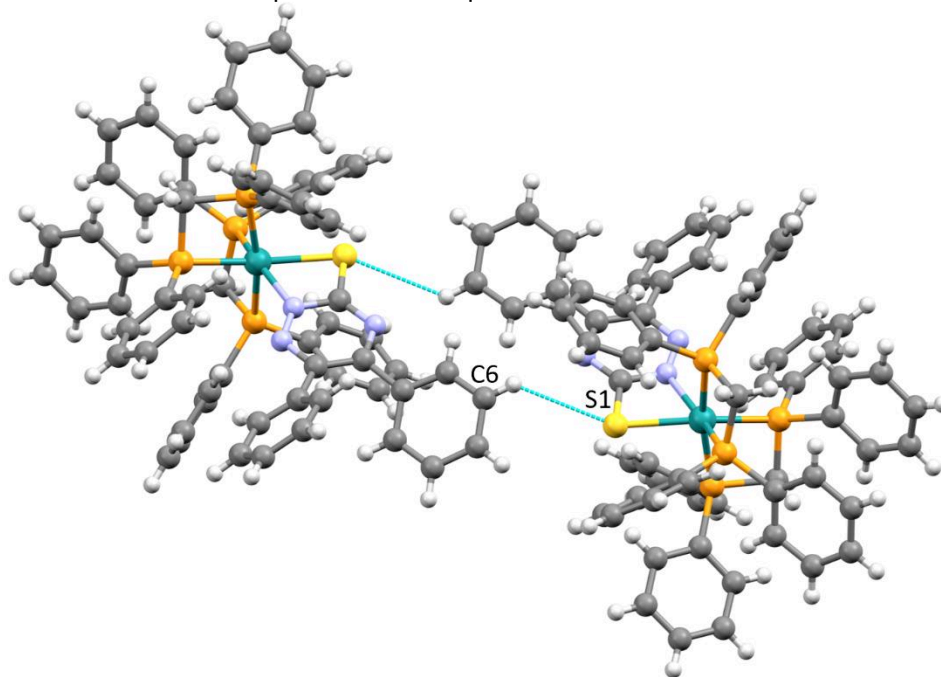
**Figura 29.** Interações intermoleculares, representadas pelas linhas pontilhadas em azul, no empacotamento cristalino do complexo **1**.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> que envolve o átomo de N3.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

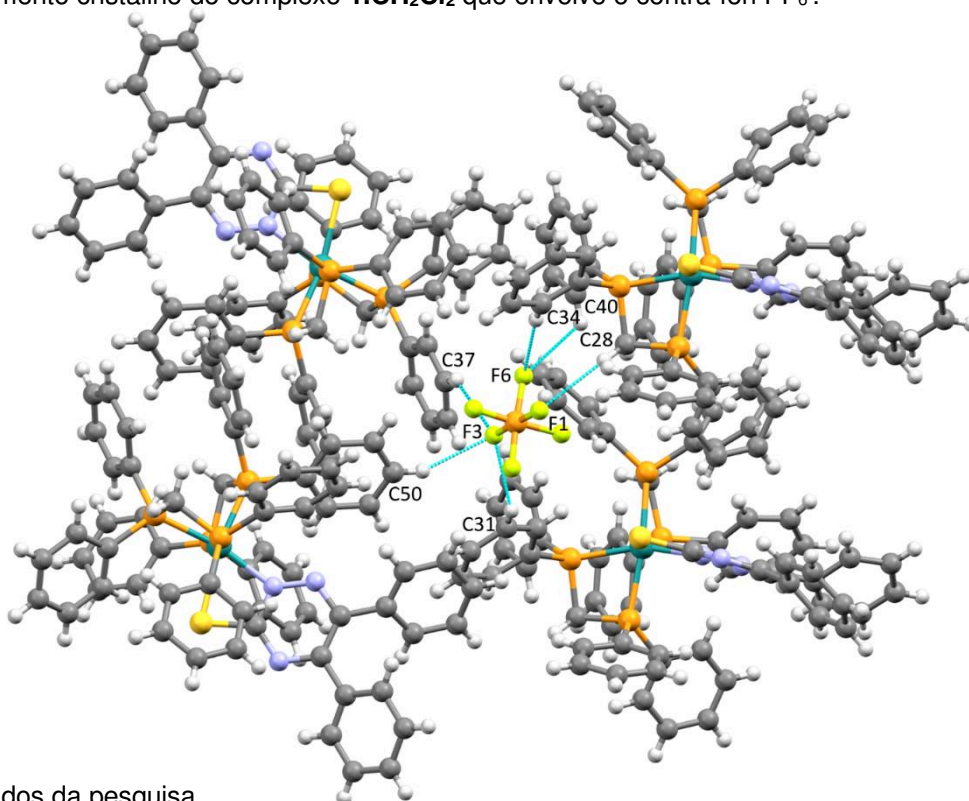


**Figura 30.** Interações intermoleculares, representadas pelas linhas pontilhadas em azul, no empacotamento cristalino do complexo **1**.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> que envolve o átomo S1.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura 31.** Interações intermoleculares, representadas pelas linhas pontilhadas em azul, no empacotamento cristalino do complexo **1**.CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> que envolve o contra-íon PF<sub>6</sub><sup>-</sup>.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

As distâncias das interações intramoleculares estão representadas na Tabela 9 e as distâncias intermoleculares estão resumidas na Tabela 10.

**Tabela 9.** Distâncias das interações intramoleculares presentes na estrutura cristalina do complexo 1. $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

Interação	Distância (Å)
S1...H30–C30	2,640
N3...H5–C5	2,595
N2...H15–C15	2,532
N2...H23–C23	2,546

**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Tabela 10.** Distância das interações intermoleculares presentes na estrutura cristalina do complexo 1. $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

Interação	Distância (Å)	Operador de simetria
N3...H26–C26	3,148	$x, -1+y, z$
N3...H6–C6	3,204	$1-x, 1-y, 1-z$
S1...H6–C6	3,187	$1-x, 1-y, 1-z$
F1...H28a–C28	2,574	$x, -1+y, z$
F3...H31–C31	2,602	$x, y, z$
F3...H37–C37	2,472	$-x, -1/2+y, 1/2-z$
F3...H50–C50	2,507	$x, 3/2-y, -1/2+z$
F6...H34–C34	2,526	$x, -1+y, z$
F6...H40–C40	2,666	$x, -1+y, z$

**Fonte:** Dados da pesquisa.

A presença de interações intramoleculares envolvendo os átomos de N2 e N3 da tiossemicarbazona é uma evidência de sua desprotonação. Essas interações, C15 – H15 ... N2 e C5 – H5 ... N3, são parcialmente responsáveis pela conformação dos anéis aromáticos da tiossemicarbazona **Btsc**, também orientada pelas interações intermoleculares C6 – H6 ... N3 (Figura 23) e C6-H6 ... S1 (Figura 28). A interação C6-H6 ... N3 forma cadeias que se estendem ao longo da direção [010] enquanto as interações C6-H6 ... S1 entre dois complexos relacionados por inversão, gerando anéis do tipo  $R_2^2(16)$ .<sup>121</sup> Em relação às outras interações intermoleculares, elas estão

principalmente relacionadas ao contra-íon  $\text{PF}_6^-$  e ao ligante dppm (Figura 31). Os átomos de flúor orientam os anéis aromáticos do dppm por meio de cinco interações  $\text{C-H}\cdots\text{F}$  e essa é possivelmente a principal contribuição para a estabilização do empacotamento cristalino.

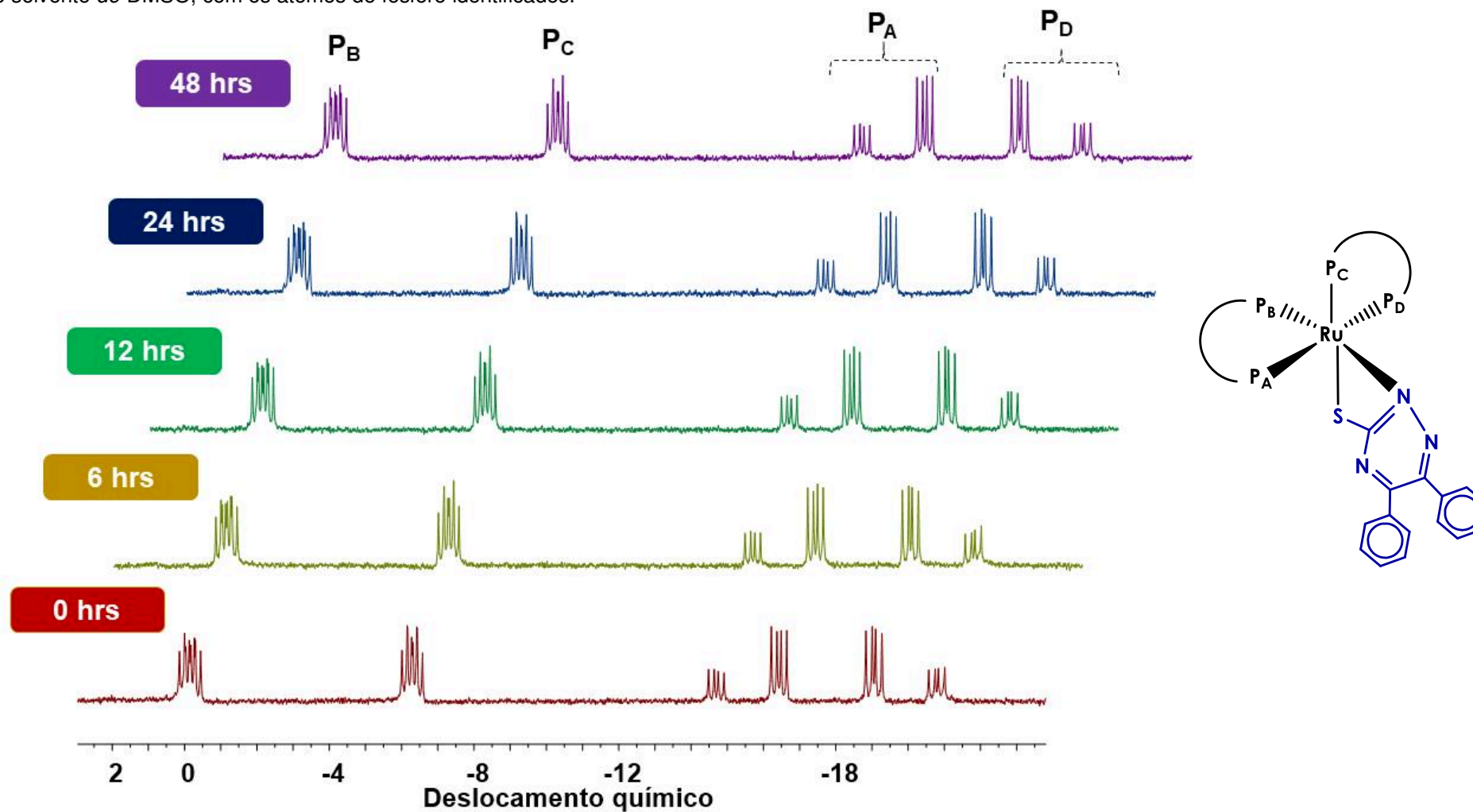
#### 4.2.6 Análise da estabilidade dos complexos de rutênio(II) em DMSO

A estabilidade em DMSO de todos os complexos foi monitorada por meio de experimentos de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  pelo período de 48hrs, nos intervalos de 0, 6, 12, 24 e 48 hrs. Os espectros obtidos do complexo **1** nos diferentes tempos avaliados estão representados pela Figura 32 e os espectros dos demais complexos encontram-se no Apêndice D.

Como pode ser observado na Figura 34, não houve a aparição de nenhum novo sinal durante o intervalo de tempo avaliado e apenas os sinais ddd em -0,79, -7,02, -15,70, e -19,46 ppm foram observados em todos os tempos analisados, os quais são referentes aos quatro fósforos química e magneticamente diferentes discutidos no item 4.2.3.2. Considerando que, nos ensaios citotóxicos *in vitro*, o tempo de incubação das células, tanto normais quanto tumorais, foi igual a 24 hrs pode-se afirmar que o complexo se manteve estável na solução de DMSO durante todo o intervalo de tempo avaliado. Os demais complexos estudados exibiram o mesmo perfil de estabilidade, não havendo nenhuma evidência de alterações estruturais dos complexos.

Não foi possível realizar os ensaios de estabilidade em tampão PBS, com concentração máxima de 3% de DMSO, por meio de experimentos de espectroscopia de absorção na região do UV-vis, no mesmo intervalo de tempo, devido à baixa solubilidade dos complexos **1-4** nesse meio.

**Figura 32.** Espectros de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo **1**, obtidos nos tempos 0 (vermelho), 6 (amarelo), 12 (verde), 24 (azul) e 48 (roxo) hrs após solubilização no solvente *d6*-DMSO, com os átomos de fósforo identificados.



Fonte: Dados da pesquisa.

### 4.3 Atividade antitumoral *in vitro*

Os complexos de Ru<sup>II</sup> **1-4**, bem como seus complexos precursores, os ligantes livres **Bsc** e **Btsc** e a cisplatina, foram submetidos a ensaios de citotoxicidade contra células tumorais de pulmão da linhagem A549 e, para fins de determinação do índice de seletividade dos mesmos, foi analisada a citotoxicidade contra as células epiteliais pulmonares da linhagem BEAS-2B. Os resultados referentes à viabilidade das células normais e tumorais após a ação dos complexos de rutênio estão apresentados na Tabela 11.

**Tabela 11.** Valores de IC<sub>50</sub> para a linhagem A549 e BEAS-2B, bem como os respectivos índices citotoxicidade seletiva calculados para os complexos de **1-4**, precursores, ligantes livres e cisplatina.

Tratamento	IC <sub>50</sub> ± DP (μM*)		<sup>a</sup> ICS
	A549	BEAS-2B	
<b>cis-[RuCl<sub>2</sub>(dppm)<sub>2</sub>]</b>	23,84 ±0,91	12,51 ±0,58	0,52
<b>(1)</b>	0,30 ±0,78	1,05 ±0,53	3,50
<b>(2)</b>	0,51 ±0,18	0,98 ±0,75	1,97
<b>cis-[RuCl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>]</b>	13,95 ±0,61	22,6 ±1,94	1,62
<b>(3)</b>	0,52 ±0,36	1,92 ±1,46	3,69
<b>(4)</b>	0,26 ±0,87	1,30 ±1,04	5,00
<b>Bsc</b> (Ligante livre)	≥ 100	≥100	-
<b>Btsc</b> (Ligante livre)	≥ 100	≥100	-
<b>Cisplatina</b>	26,40 ±1,34	13,38 ±1,08	0,50

<sup>a</sup>IC<sub>50</sub>(BEAS-2B)/IC<sub>50</sub>(A549) \* Valores de IC<sub>50</sub> calculados a partir das concentrações: 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; 0,78; 0,39; 0,19 e 0,097 μM.

**Fonte:** Dados da pesquisa.

A análise dos valores de IC<sub>50</sub> revelou que todos os complexos testados, incluindo os dois precursores, foram ativos contra as células tumorais da linhagem A549, com valores de IC<sub>50</sub> entre 0,26 a 23,84 μM. Os complexos **1-4** apresentaram valores de IC<sub>50</sub> para as células tumorais muito similares, na faixa de 0,26-0,52 μM, sendo o complexo **4** o mais ativo dentre eles.

A substituição dos ligantes cloridos pelos ligantes das classes tio e semicarbazonas cíclicas torna os derivados do precursor *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppm)<sub>2</sub>] até 79 vezes mais ativos do que o precursor – melhora encontrada para **1** –, enquanto os

derivados do precursor *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>] reduzem os valores de IC<sub>50</sub> em 57 vezes – redução observada para **4**. Costa *et al.* atribui essa melhora significativa em derivados de precursores contendo ligantes bifosfínicos à menor disponibilidade dos complexos precursores no meio fisiológico em comparação com seus derivados, devido à labilidade dos ligantes cloridos e possível ocorrência de interação com biomoléculas que não são de interesse para a atividade avaliada.<sup>81</sup>

Apesar da atividade acentuada dos complexos **1-4**, os ligantes **Btsc** e **Bsc** na sua forma livre não apresentaram atividade, exibindo valores maiores que 100 µM nos ensaios realizados, conforme apresentado na Tabela 11.

Os valores de IC<sub>50</sub> para a linhagem BEAS-2B foram calculados para todos os complexos avaliados e variaram entre 0,98 a 22,6 µM, culminando na classificação de citotoxicidade moderada para as células normais. No entanto, ao comparar os resultados para células tumorais e normais constata-se que os valores de IC<sub>50</sub> para todos os complexos, com exceção do *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppm)<sub>2</sub>], frente as células tumorais são menores do que para células normais. Com isso, o cálculo do índice citotoxicidade seletiva (ICS) é fundamental para definir os compostos mais promissores.

O ICS de cada complexo testado foi obtido calculando-se a razão entre o valor de IC<sub>50</sub> das células BEAS-2B e o valor de IC<sub>50</sub> para as células tumorais A549, os quais estão apresentados na Tabela 11. Dentre os complexos avaliados, aquele que apresentou maior atividade citotóxica, com menor valor de IC<sub>50</sub>, foi também o que apresentou maior seletividade, sendo ele o complexo **4**. Por outro lado, o complexo **2** foi o que exibiu efeito citotóxico menos pronunciado e menor índice de citotoxicidade seletiva. Considerando que Polloni e colaboradores classificam tratamentos cujos valores de ICS são iguais ou superiores a 2 como seletivos para células tumorais, apenas o complexo **2** não apresenta predileção a células tumorais dentre os complexos **1-4**.<sup>122</sup>

Os valores de IC<sub>50</sub> para células tumorais e para células normais também foram calculadas, sob as mesmas condições, utilizando como tratamento a cisplatina, a qual compõe um dos principais quimioterápicos utilizados no tratamento do câncer de pulmão e que apresenta resistência para a linhagem celular A549.<sup>123</sup> Os valores encontrados para a cisplatina foram de 26,40 µM, para as células tumorais A549, e 13,38 µM, para as células normais BEAS-2B. Sendo assim, observa-se que os complexos **1-4** exibem maior atividade citotóxica do que a cisplatina, sendo o complexo **4** 100 vez mais ativo do que a cisplatina.

Todos os resultados indicam o evidente potencial antitumoral dos complexos sintetizados nesse trabalho. Testes complementares estão sendo realizados visando elucidar os possíveis alvos biológicos que corroboram para a atividade dos mesmos.

#### 4.4 Estudos teóricos de ancoragem molecular

O sistema ligante-DNA, sendo o ligante o complexo de rutênio(II)  $\Lambda$ -[Ru(TAP)<sub>2</sub>(11,12-CN-dppz)]<sup>2+</sup>, utilizado como ferramenta de referência para a validação da metodologia de ancoragem molecular aplicada neste trabalho apresentou um valor de RMSD (raiz do desvio quadrático médio, do inglês *Root Mean Square Deviation*) igual a 0,499 Å quando comparada com sua estrutura cristalográfica (PDB:6G8S).<sup>124</sup> Com isso, pode-se afirmar que a metodologia está validada para a análise de possíveis interação entre o DNA e complexos de rutênio.

A partir dos estudos teóricos de ancoragem molecular realizado no programa AutoDock 4.0, para o DNA (PDB ID: 6G8S), as vinte conformações que tiveram as melhores energias de ligação foram avaliadas para os complexos **1-4** e para o complexo de referência  $\Lambda$ -[Ru(TAP)<sub>2</sub>(11,12-CN-dppz)]<sup>2+</sup>. A conformação escolhida foi aquela que apresentou menor valor de RMSD, energia livre de ligação ( $\Delta G_{binding}$ ), energia livre torsional ( $\Delta G_{torsional}$ ) e constante de inibição ( $K_i$ ) mais favoráveis, os quais estão apresentados na Tabela 12.

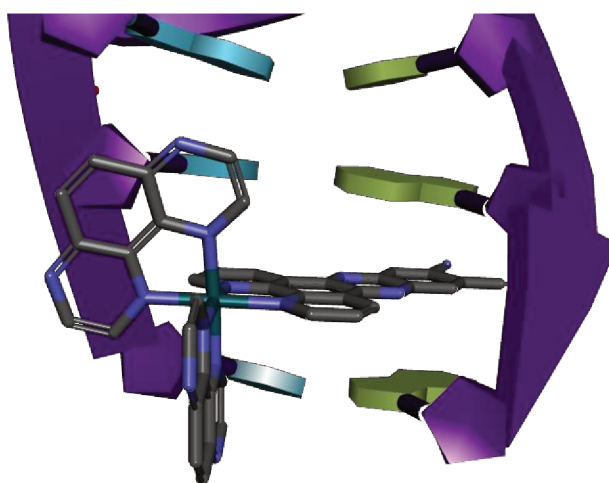
**Tabela 12.** Estimativas de energia livre de ligação, torsional e respectivas constantes de inibição e valores de RMSD para os complexos **1-4** e o complexo  $\Lambda$ -[Ru(TAP)<sub>2</sub>(11,12-CN<sub>2</sub>-dppz)]<sup>2+</sup> com DNA, código 6G8S.

Ligantes	DNA			
	$\Delta G_{ligação}$ (kcal mol <sup>-1</sup> )	$\Delta G_{torsional}$ (kcal mol <sup>-1</sup> )	$K_i$ (μM)	RMSD (Å)
$\Lambda$ -[Ru(TAP) <sub>2</sub> (11,12-CN-dppz)] <sup>2+</sup>	-10,17	+0,5500	0,03500	0,4900
<b>1</b>	-5,840	+2,980	52,27	7,630
<b>2</b>	-7,320	+2,980	4,320	11,69
<b>3</b>	-5,780	+2,980	58,00	8,600
<b>4</b>	-6,700	+2,980	12,37	8,530

Fonte: Dados da pesquisa.

Ao analisar a Tabela 12, observa-se que o ligante  $\Lambda$ -[Ru(TAP)<sub>2</sub>(11,12-CN-dppz)]<sup>2+</sup> apresentou uma energia livre de ligação igual a -10,17 kcal mol<sup>-1</sup> e uma constante de inibição igual a 35 nM, consistindo em valores esperados para drogas com elevada eficiência de interação com seu alvo.<sup>50,67–69,125</sup> Para os complexos de **1-4**, as energias livres de ligação e as constantes de inibição variaram entre -5,78 a -7,32 kcal mol<sup>-1</sup> e 4,320 a 58,00  $\mu$ M, respectivamente. Esses valores sugerem que a formação do complexo ligante-alvo é favorável para os complexos **1-4**. A média da diferença energética entre as energias livres de ligação foi  $3,76 \pm 0,74$  kcal mol<sup>-1</sup> menos favorável para os complexos **1-4** em relação ao complexo de referência  $\Lambda$ -[Ru(TAP)<sub>2</sub>(11,12-CN-dppz)]<sup>2+</sup>. Essa diferença pode ser justificada na maior rigidez e planaridade da estrutura do complexo de referência, apresentada na Figura 33, quando comparada a estrutura dos complexos de **1-4**, o que favorece o modo de interação intercalativo ao DNA.<sup>126</sup> Este fato fica mais evidente quando as energias torsionais apresentadas pelos complexos de rutênio avaliados são comparadas, sendo a diferença entre elas igual a 2,43 kcal mol<sup>-1</sup> (Tabela 12). Sendo assim, a energia torsional calculada para os complexos de **1-4** é resultante do maior grau de liberdade da ligações envolvidas em sua estrutura, o que resultou em uma diminuição na energia de ligação nesta magnitude e consequentemente em um valor de constante de inibição de até 1657 vezes mais alta, valor apresentado pelo complexo **3**, quando comparada ao complexo de referência.

**Figura 33.** Estrutura cristalográfica do complexo de referência  $\Lambda$ -[Ru(TAP)<sub>2</sub>(11,12-CN-dppz)]<sup>2+</sup> e o DNA, utilizando o programa DS Visualizer 2019.



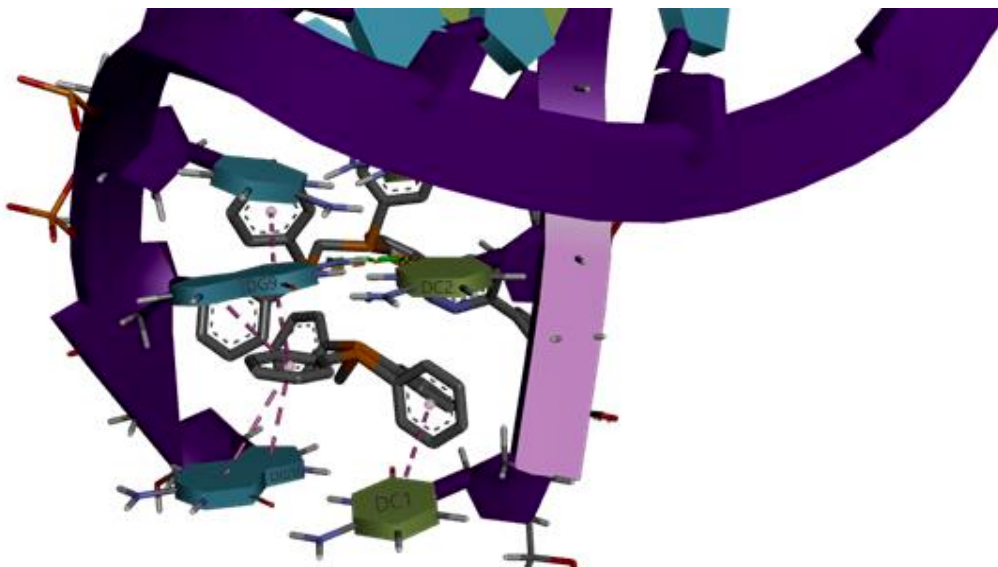
**Fonte:** Adaptado de (MCQUAID et al., 2018).<sup>124</sup>

Com o intuito de analisar as principais interações envolvidas entre os complexos de rutênio(II) de **1-4** e o DNA, o programa Discovery Studio Visualizer 2019<sup>112</sup> foi



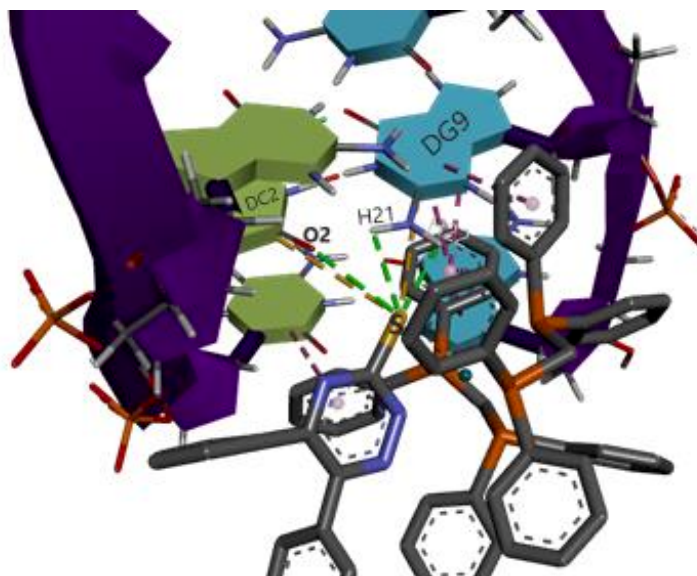
utilizado. As Figura 34-36 apresentam a conformação energeticamente mais favorável para o complexo **1** com o DNA, bem como as principais interações intermoleculares envolvidas.

**Figura 34.** Identificação das interações hidrofóbicas (linha tracejada rosa) entre o complexo **1** e o DNA, obtidos pelo programa DS Visualizer 2019.



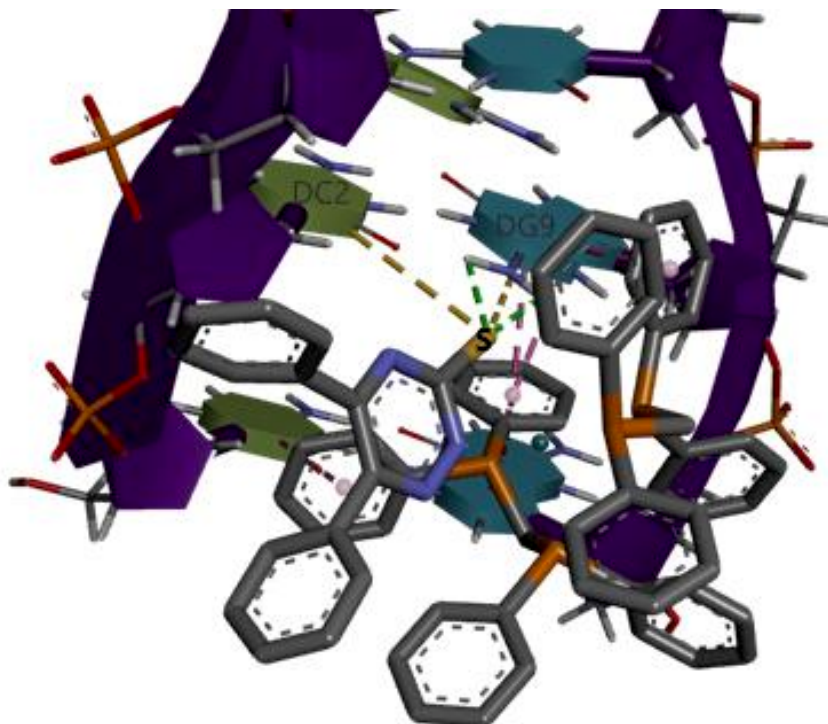
**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura 35.** Identificação das ligações de hidrogênio (linha tracejada verde) entre o átomo de S do ligante **Btsc** do complexo **1** e os átomos de hidrogênio da guanina DG9 do DNA e o átomo O2 da citosina DC2, obtido pelo programa DS Visualizer 2019.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura 36.** Identificação das interações  $\pi$ -S (linha tracejada amarela) entre o átomo de S do ligante **Btsc** do complexo **1** e a guanina DG9 e a citosina DC2 do DNA, obtido pelo programa DS Visualizer 2019.

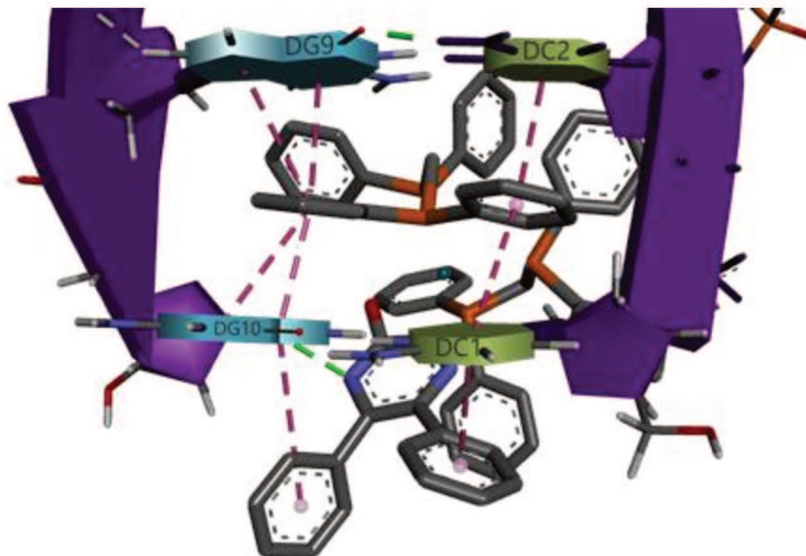


**Fonte:** Dados da pesquisa.

Os resultados mostraram que as principais interações intermoleculares envolvidas entre o complexo **1** e o DNA são três ligações de hidrogênio ( $S\cdots H$  e  $S\cdots O$ ), representadas pela Figura 35, entre o átomo de S do ligante **Btsc** e os átomos de hidrogênio H21 e H22 da guanina DG9, e entre o átomo de S do ligante **Btsc** e o átomo O2 da citosina DC2. Há ainda a existência de seis interações hidrofóbicas ( $\pi$ - $\pi$ ) entre os anéis aromáticos do ligante dppm e as guaninas DG9 e DG10 e a citosina DC1 (Figura 34), e duas interações  $\pi$ -S entre o átomo de S do ligante **Btsc** e os anéis aromáticos da citosina DC2 e a guanina DG9 (Figura 36).

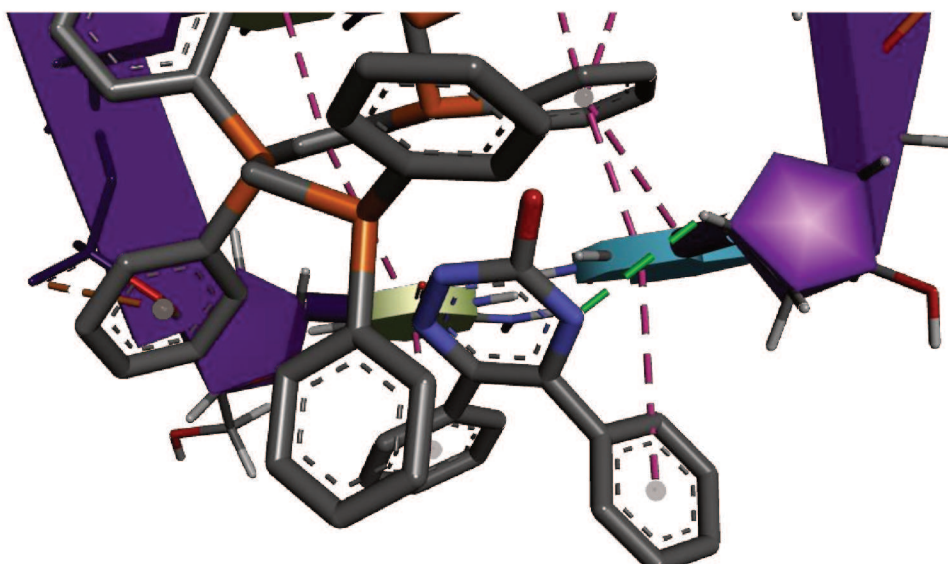
As Figura 37-39 apresentam a conformação energeticamente mais favorável para o complexo **2** com o DNA, bem como as principais interações intermoleculares envolvidas e suas respectivas distâncias das interações.

**Figura 37.** Identificação das interações hidrofóbicas (linha tracejada rosa) entre o complexo **2** e o DNA, obtidos pelo programa DS Visualizer 2019.



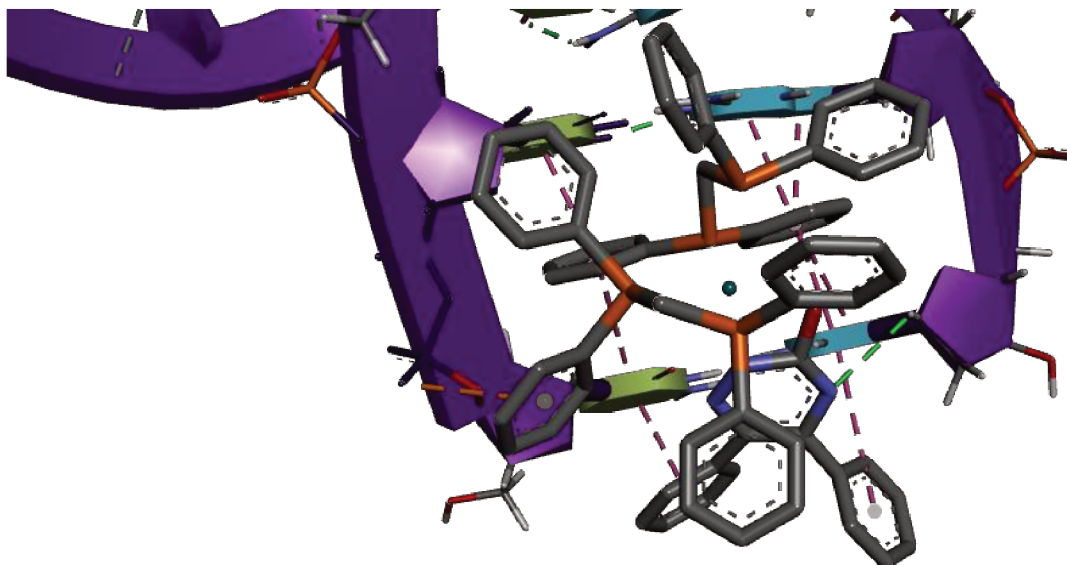
**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura 38.** Identificação da ligação de hidrogênio (linha tracejada verde) entre o átomo de N do ligante **Bsc** do complexo **2** e o hidrogênio da desoxirribose ligada a guanina DG10 do DNA, obtido pelo programa DS Visualizer 2019.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura 39.** Identificação da interação eletrostática  $\pi$ -ânion (linha tracejada laranja) envolvida entre o átomo de O (fosfato) ligado a citosina DC2 e o anel aromático do dppm do complexo **2** e o DNA, obtido pelo programa DS Visualizer 2019.



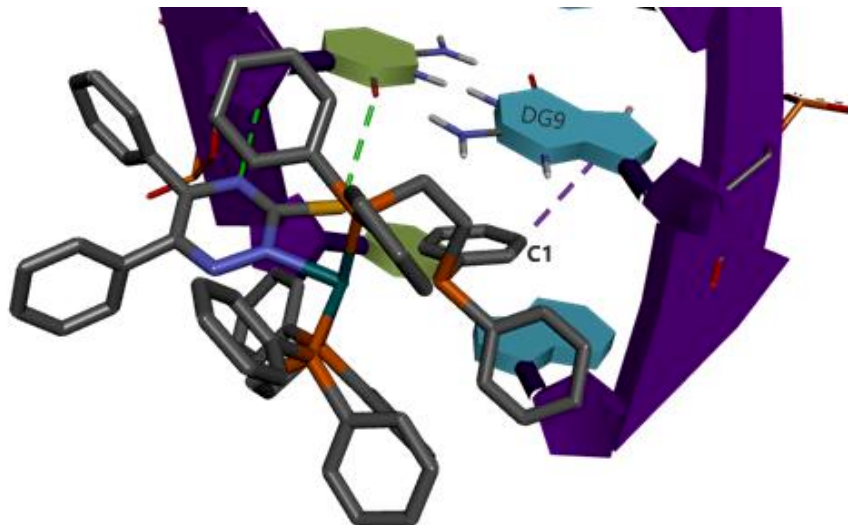
**Fonte:** Dados da pesquisa.

O complexo **2** apresentou, além das oito interações hidrofóbicas ( $\pi$ - $\pi$ ) entre os anéis aromáticos dos ligantes dppm e **Bsc** e as guaninas (DG9 e DG10) e as citosinas (DC1 e DC2), destacadas na Figura 37, a ligação de hidrogênio ( $N\cdots H$ ) entre o átomo de N do ligante **Bsc** e o átomo de hidrogênio da desoxirribose ligada a guanina DG10 (Figura 38). O complexo **2** também apresentou a interação eletrostática  $\pi$ -ânion entre os anéis aromáticos do dppm e o átomo de O (fosfato) da guanina DG10 (Figura 39), que é uma interação mais energética quando comparada as demais existentes nos complexos estudados.

As Figura 40 e 41 apresentam a conformação energeticamente mais favorável para o complexo **3** com o DNA, bem como as principais interações intermoleculares envolvidas.

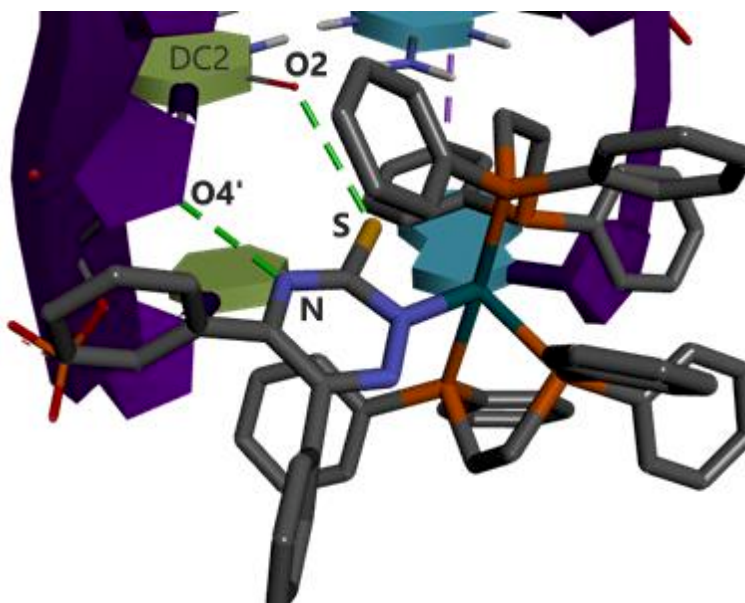


**Figura 40.** Identificação da interação hidrofóbica (linha tracejada roxa) entre o complexo **3** e o DNA, obtidos pelo programa DS Visualizer 2019.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura 41.** Identificação das ligações de hidrogênio (linha tracejada verde) entre o complexo **3** e o DNA, obtidos pelo programa DS Visualizer 2019.

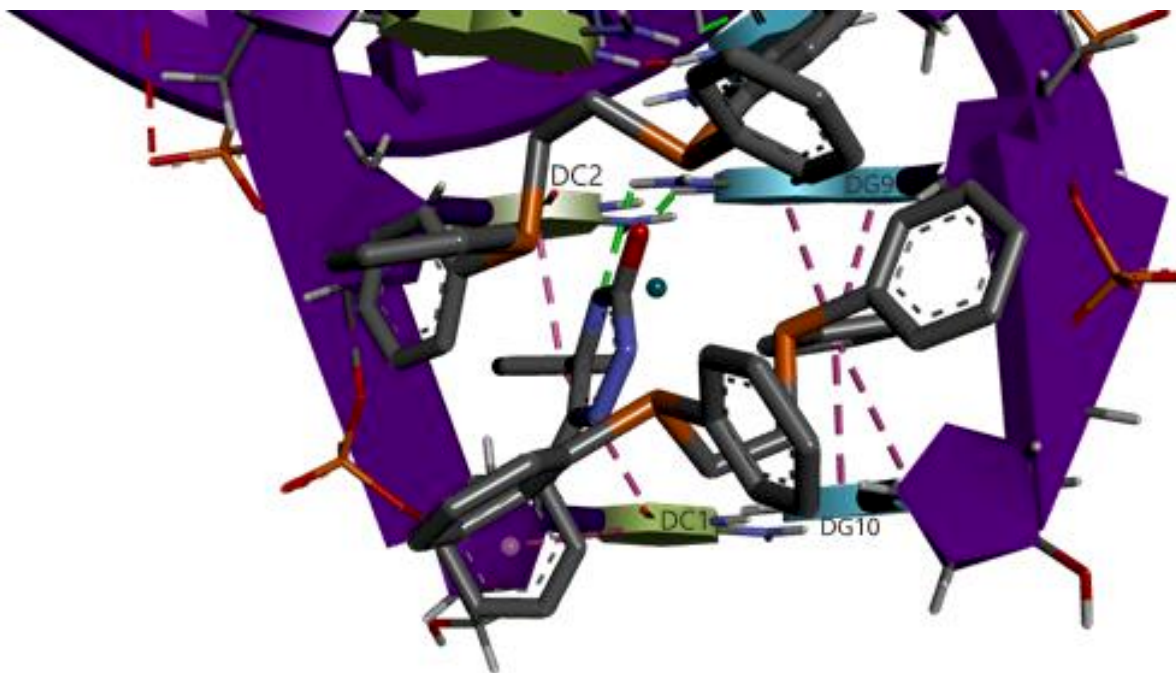


**Fonte:** Dados da pesquisa.

Os estudos teóricos sugerem que complexo **3** apresenta uma interação hidrofóbica de natureza  $\pi$ - $\sigma$  entre o átomo de carbono C1 do anel aromático do ligante dppe e a guanina DG9 (Figura 40) e duas ligações de hidrogênio ( $S \cdots O$  e  $N \cdots O$ ) entre o átomo de S do ligante **Btsc** e o átomo O2 da citosina DC2, e entre o átomo de N do ligante **Btsc** e o átomo O4' da desoxirribose ligada a citosina DC2 (Figura 41).

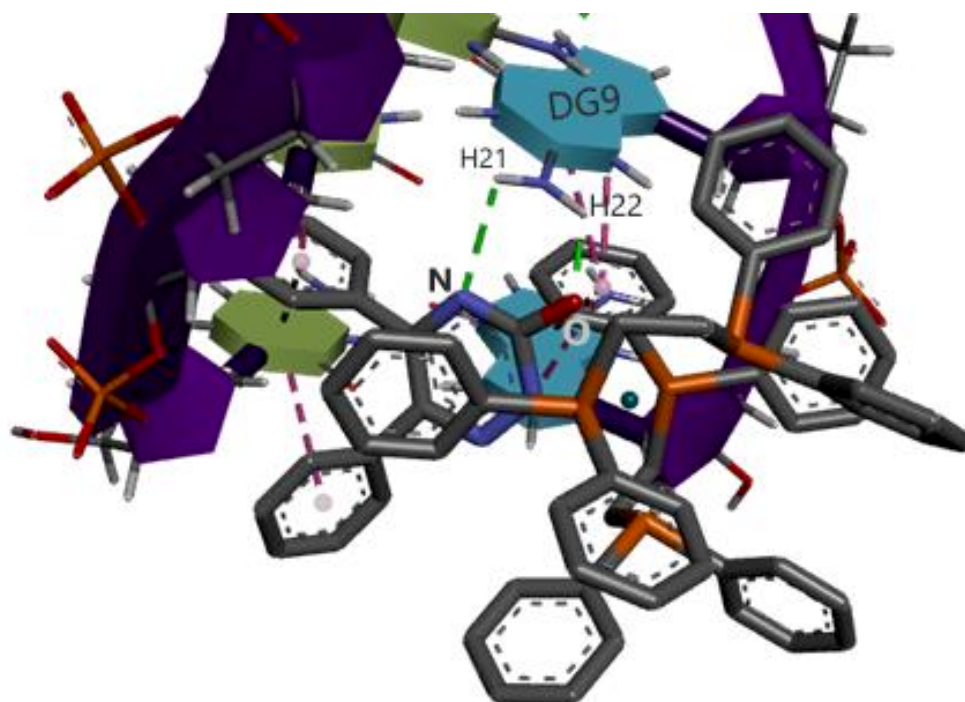
As Figura 42 e 43 apresentam a conformação energeticamente mais favorável para o complexo **4** com o DNA, bem como as principais interações intermoleculares envolvidas.

**Figura 42.** Identificação das interações hidrofóbicas (linha tracejada rosa) entre o complexo **4** e o DNA, obtidos pelo programa DS Visualizer 2019.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura 43.** Identificação das ligações de hidrogênio (linha tracejada verde) entre os átomos de N e O do ligante **Bsc** do complexo **4** e os átomos de hidrogênio da guanina DG9 do DNA, obtidos pelo programa DS Visualizer 2019.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

Por fim, as interações intermoleculares sugeridas envolvendo o complexo **4** e o DNA também foram as interações hidrofóbicas ( $\pi$ - $\pi$ ), representadas pela Figura 42, sendo sete interações dessa natureza, entre os anéis aromáticos dos ligantes dppe e **Bsc** e as guaninas (DG9 e DG10) e as citosinas (DC1 e DC2). Neste caso, o sistema apresentou, além da ligação de hidrogênio (N...H) entre o átomo de N do ligante **Bsc** e o átomo de H da guanina DG9, a ligação de hidrogênio (O...H) entre o átomo de O do ligante **Bsc** e o átomo de H da guanina DG9 (Figura 43).

A Tabela 13 apresenta todos os valores de distância calculadas das principais interações envolvidas entre os complexos de **1-4** e o DNA.

**Tabela 13.** Principais distâncias calculadas para as interações intermoleculares entre os complexos **1-4** e o DNA.

Complexo	Natureza da interação	Interação	Distância (Å)
(1)	Hidrofóbica ( $\pi$ - $\pi$ )	DG10...LIG1:dppm	4,47
		DG10...LIG1:dppm	3,39
		DG10...LIG1:dppm	4,39
		DG9...LIG1:dppm	3,67

		DG9...LIG1:dppm	4,49
		DC1...LIG1:dppm	5,65
	Ligação de Hidrogênio (S...H e S...O)	DG9:H21...LIG1:S	2,73
		DG9:H22...LIG1:S	2,51
LIG1:S...DC2:O2		3,04	
	$\pi$ - S	LIG1:S...DG9	5,58
		LIG1:S...DG9	5,61
(2)	Hidrofóbica ( $\pi$ - $\pi$ )	DG9...LIG2:dppm	4,28
		DG9...LIG2:dppm	3,67
		DG10...LIG2:dppm	4,26
		DG10...LIG2:dppm	3,26
		DG10...LIG2:Bsc	4,74
		DC1...LIG2:Bsc	3,89
		DC1...LIG2:dppm	4,69
		DC2...LIG2:dppm	3,60
Ligação de Hidrogênio (N...H)	DG10:H1'...LIG2:N	2,91	
	Eletrostática ( $\pi$ - Ânion)	DC2:OP1...LIG2:dppm	3,70
(3)	Hidrofóbica ( $\pi$ - $\sigma$ )	LIG3:C1...DG9	3,85
		Ligação de Hidrogênio (S...O e N...O)	LIG3:S...DC2:O2
		LIG3:N...DC2:O4'	3,00
(4)	Hidrofóbica ( $\pi$ - $\pi$ )	DC2...LIG4:Bsc	3,31
		DC1...LIG4:Bsc	4,33
		DC1...LIG4:Bsc	5,55
		DG9...LIG4:dppe	3,88
		DG9...LIG4:dppe	4,12
		DG10...LIG4:dppe	3,35
		DG10...LIG4:dppe	4,18
	Ligação de Hidrogênio (N...H e O...H)	DG9:H21...LIG4:N	2,50
		DG9:H22...LIG4:O	1,90

**Fonte:** Dados da pesquisa.

Por meio da análise dos dados de distâncias teóricas, apresentados pela Tabela 13, é possível calcular a média e o desvio padrão das distâncias das interações hidrofóbicas de natureza  $\pi$ -  $\pi$  para os complexos **1**, **2** e **4**, apresentadas pela Tabela 13, os quais foram iguais a  $4,34 \pm 0,79$ ;  $4,05 \pm 0,53$  e  $4,10 \pm 0,75$  Å, respectivamente. Com



isso, fica evidente que as distâncias dessa interação para o complexo **2** são, em média, mais curtas quando comparadas as distâncias apresentadas pelos complexos **1** e **4**.

Ao comparar a natureza das ligações de hidrogênio e suas respectivas distâncias teóricas (Tabela 13) apresentadas pelos complexos **1-4**, verifica-se que aquele que apresenta interações mais energéticas é o complexo **4**, com ligações de hidrogênio do tipo N...H e O...H com distâncias iguais a 2,50 e 1,90 Å. Somente o complexo **2** apresentou uma interação eletrostática de natureza  $\pi$ -ânion com distância de 3,70 Å, sendo essa uma interação importante para a estabilização do sistema ligante complexo. Ao correlacionar as interações e suas respectivas distâncias com os valores de energia livre de ligação e constante de inibição, observa-se que os menores valores de energia livre e constante de inibição são para os complexos **2** e **4**, cujas distâncias de interação foram mais curtas e de natureza mais energética.

Sendo assim, os estudos teóricos de ancoragem molecular apontam para um modo de interação com o DNA do tipo semi-intercalativo para os complexos, com exceção do complexo **3**, e também eletrostático para o complexo **2**, em que o encaixe possivelmente ocorra no sulco maior. Não foi possível verificar nenhuma ligação covalente envolvendo o Ru<sup>II</sup> e os átomos de N das guaninas, como é descrito na literatura<sup>125</sup>, pois a metodologia empregada não permite avaliar a sobreposição de orbitais moleculares.

A hipótese de que o complexo **4** possui interações mais energéticas, pode ser correlacionada com os resultados dos ensaios antitumorais *in vitro*— discutidos no item 4.3— em que o complexo **4**, além de ser mais ativo, apresentou predileção pelas células tumorais. Sendo assim, o dano no DNA proposto pode dar início a uma série de alterações que culminam na morte celular, dentre elas a crescente geração de espécies reativas de oxigênio.<sup>127–130</sup>

## 5. CONCLUSÃO

Neste trabalho, foram sintetizados quatro complexos de rutênio(II) inéditos de fórmulas gerais *cis*-[Ru<sup>II</sup>(N-L)(dppm)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> (**1**, para L=S, e **2**, para L=O) e *cis*-[Ru<sup>II</sup>(N-L)(dppe)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> (**3**, para L=S, e **4**, para L=O), os quais foram obtidos a partir dos precursores *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppm)<sub>2</sub>] e *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>].

A análise elementar dos complexos confirmou as fórmulas empíricas propostas, uma vez que as porcentagens de CHNS teóricas estão coerentes com os valores experimentais. A presença dos ligantes **Btsc** e **Bsc** na esfera de coordenação foi evidenciada pela aparição de modos vibracionais atribuídos aos ligantes nos espectros de absorção na região do IV, pelas integrais dos sinais da região dos hidrogênios aromáticos dos espectros de RMN <sup>1</sup>H e pelo padrão de fragmentação nos espectros de massas (HRESI-MS/MS) com a saída do ligante neutro em todos os espectros. Além disso, as geometrias *cis* e o modo de coordenação bidentado via N-S e N-O de todos os complexos foram confirmados pela mudança do padrão dos sinais nos espectros de RMN <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} em relação aos precursores. As principais transições eletrônicas dos complexos **1-4** foram evidenciadas pelos espectros de UV-vis. A técnica de difração de raios-X por monocristal confirmou a estrutura do complexo **1**. A análise de estabilidade em DMSO demonstrou que os complexos mantiveram suas estruturas iniciais estáveis nesse solvente durante o intervalo de tempo avaliado (48hrs).

Os ensaios de citotoxicidade *in vitro* frente as linhagens de células tumorais A549 e normais BEAS-2B revelaram que todos os complexos sintetizados neste trabalho, bem como os complexos precursores, exibiram elevada citotoxicidade contra as células tumorais com moderada toxicidade para as células normais. Ao comparar os valores de IC<sub>50</sub> apresentados por ambos precursores e seus respectivos derivados, observou-se que a inclusão dos ligantes tio e semicarbazonas cíclicas na esfera de coordenação foi fundamental para potencializar a atividade, apesar dos ligantes livres não terem apresentado atividade antitumoral relevante. Os complexos **1-4** apresentaram valores de IC<sub>50</sub> próximos a 0,5 µM e muito similar entre eles, sendo mais ativos do que a cisplatina. O complexo **4** apresentou maior potencial antitumoral, com valor de IC<sub>50</sub> na ordem de 260 nM.

Os estudos teóricos de ancoragem molecular sugerem que o DNA seja um dos alvos farmacológicos prováveis dos complexos **1-4**, com valores de energia livre de ligação e constante de inibição teóricos favoráveis para a formação do complexo ligante-alvo. Todos os complexos apresentam interações hidrofóbicas e ligação de hidrogênio, sendo que somente o complexo **2** apresenta interação eletrostática de natureza  $\pi$ -ânion. O modo de interação com o DNA proposto é semi-intercalativo para todos complexos, com exceção do complexo **3**.

Estudos biológicos adicionais estão sendo realizados visando comprovar a interação dos complexos **1-4** com o DNA, além de elucidar os possíveis mecanismos de morte das células tumorais induzido pelos complexos.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- [1] BAUMANN, M.; KRAUSE, M.; HILL, R. Clonogens and cancer stem cells, **Nature Reviews Cancer**, v. 8, p. 990, 2008. DOI:10.1038/nrc2419-c2.
- [2] PECORINO, L. **Molecular Biology of Cancer: Mechanisms, Targets, and Therapeutics**, 3 ed., Oxford: Oxford University Press, 2012. . [http://books.google.com/books?id=tl\\_vcU85QU4C&pgis=1](http://books.google.com/books?id=tl_vcU85QU4C&pgis=1).
- [3] FONTES, A.P.S.; CÉSAR, E.T.; BERALDO, H. A Química Inorgânica na terapia do câncer, **Cadernos Temáticos Química Nova Na Escola**, v. 6, p. 13–18, 2005. . [www.chemcases.com/cisplat](http://www.chemcases.com/cisplat).
- [4] HANAHAN, D.; WEINBERG, R.A. Hallmarks of cancer: The next generation, **Cell**, v. 144, p. 646–674, 2011. DOI:10.1016/j.cell.2011.02.013.
- [5] SILVA, R.C.F. DA Memória Iconográfica do Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva, **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 63, p. 203–218, 2019. DOI:10.32635/2176-9745.rbc.2017v63n3.143.
- [6] SIEGEL, R.L.; MILLER, K.D.; JEMAL, A. Cancer statistics, 2019, **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 69, p. 7–34, 2019. DOI:10.3322/caac.21551.
- [7] ZAMBONI, M. Epidemiologia do câncer do pulmão, **Jornal de Pneumologia**, v. 28, p. 41–47, 2002. DOI:10.1590/S0102-35862002000100008.
- [8] UEHARA, C.; JAMNIK, S.; SANTORO, I.L. Câncer De Pulmão, **Medicina (Ribeirao Preto. Online)**, v. 31, p. 266, 1998. DOI:10.11606/issn.2176-7262.v31i2p266-276.
- [9] BACH, P.B. *et al.* Benefits and harms of CT screening for lung cancer: A systematic review, **JAMA - Journal of the American Medical Association**, v. 307, p. 2418–2429, 2012. DOI:10.1001/jama.2012.5521.
- [10] FELSHER, D.W. Cancer revoked: Oncogenes as therapeutic targets, **Nature Reviews Cancer**, v. 3, p. 375–380, 2003. DOI:10.1038/nrc1070.
- [11] KUIPERS, J.; JAHN, K.; BEERENWINKEL, N. Advances in understanding tumour evolution through single-cell sequencing, **Biochimica et Biophysica Acta - Reviews on Cancer**, v. 1867, p. 127–138, 2017. DOI:10.1016/j.bbcan.2017.02.001.
- [12] DE ANGELIS, C. Side effects related to systemic cancer treatment: Are we changing the Promethean experience with molecularly targeted therapies?, **Current Oncology**, v. 15, p. 33–34, 2008. DOI:10.3747/co.v15i4.362.
- [13] TRONDL, R. **Cellular Studies on Novel Critical Targets of Anti-Tumor Metal Chelators and Complexes**. Dissertação (Doutorado em Ciências Naturais), Universidade de Viena, Viena, 2012.
- [14] GREM, J.L. 5-Fluorouracil: Forty-plus and still ticking. A review of its preclinical and clinical development, **Investigational New Drugs**, v. 18, p. 299–313, 2000. DOI:10.1023/A:1006416410198.

- [15] FLOREA, A.M.; BÜSSELBERG, D. Cisplatin as an anti-tumor drug: Cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects, **Cancers**, v. 3, p. 1351–1371, 2011. DOI:10.3390/cancers3011351.
- [16] URAMOTO, H.; TANAKA, F. Recurrence after surgery in patients with NSCLC, **Translational Lung Cancer Research**, v. 3, p. 242–249, 2014. DOI:10.3978/j.issn.2218-6751.2013.12.05.
- [17] REGINATO, E.; WOLF, P.; HAMBLIN, M. Immune response after photodynamic therapy increases anti-cancer and anti-bacterial effects, **World Journal of Immunology**, v. 4, p. 1–11, 2014. DOI:10.5411/wji.v4.i1.1.
- [18] BERALDO, H. Contribuições da química inorgânica para a química medicinal, **Química Nova Na Escola**, p. 4–6, 2005. .
- [19] DIVISION, C.; PRODUCTS, E.; ELECTRODE, P. Inhibition of Cell Division in *Escherichia coli* by Electrolysis Products from a Platinum Electrode, **Nature**, v. 20, p. 698–699, 1965. .
- [20] CASINI, A. Exploring the mechanisms of metal-based pharmacological agents via an integrated approach, **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 109, p. 97–106, 2012. DOI:10.1016/j.jinorgbio.2011.12.007.
- [21] KELLAND, L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy, **Nature Reviews Cancer**, v. 7, p. 573–584, 2007. DOI:10.1038/nrc2167.
- [22] REIS, J.P.B. **Complexos de rutênio(II) com potenciais atividades antitumorais: Síntese, caracterização e ensaios biológicos**. Tese (Doutorado em Ciências)- Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2013.
- [23] ONG, Y.C. *et al.* Metal Compounds against Neglected Tropical Diseases, **Chemical Reviews**, v. 119, p. 730–796, 2019. DOI:10.1021/acs.chemrev.8b00338.
- [24] MJOS, K.D.; ORVIG, C. Metallodrugs in medicinal inorganic chemistry, **Chemical Reviews**, v. 114, p. 4540–4563, 2014. DOI:10.1021/cr400460s.
- [25] MEDICI, S. *et al.* Noble metals in medicine: Latest advances, **Coordination Chemistry Reviews**, v. 284, p. 329–350, 2015. DOI:10.1016/j.ccr.2014.08.002.
- [26] Savelieff, M.G. *et al.* Development of multifunctional molecules as potential therapeutic candidates for Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and amyotrophic lateral sclerosis in the last decade, **Chemical Reviews**, v. 119, p. 1221–1322, 2018. DOI:10.1021/acs.chemrev.8b00138.
- [27] FARRELL, N. Biomedical uses and applications of inorganic chemistry. An overview, **Coordination Chemistry Reviews**, v. 232, p. 1–4, 2002. DOI:10.1016/S0010-8545(02)00100-5.
- [28] GAMBINO, D.; OTERO, L. Perspectives on what ruthenium-based compounds could offer in the development of potential antiparasitic drugs, **Inorganica Chimica Acta**, v. 393, p. 103–114, 2012. DOI:10.1016/j.ica.2012.05.028.

- [29] SYKES, A.G. **Advances in inorganic chemistry V.49**, Academic Press, 2000.
- [30] INIGUEZ, E. *et al.* Metal-drug synergy: New ruthenium(II) complexes of ketoconazole are highly active against *Leishmania major* and *Trypanosoma cruzi* and nontoxic to human or murine normal cells, **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 18, p. 779–790, 2013. DOI:10.1007/s00775-013-1024-2.
- [31] GIANFERRARA, T.; BRATSOS, I.; ALESSIO, E. A categorization of metal anticancer compounds based on their mode of action, **Dalton Transactions**, p. 7588–7598, 2009. DOI:10.1039/b905798f.
- [32] TAHGHIGHI, A. Importance of metal complexes for development of potential leishmanicidal agents, **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 770, p. 51–60, 2014. DOI:10.1016/j.jorganchem.2014.08.007.
- [33] ANILANMERT, B. **Therapeutic Organometallic Compounds**, IntechOpen, 2012. DOI:10.5772/33858.
- [34] GUNATILLEKE, S.S.; BARRIOS, A.M. Tuning the Au(I)-mediated inhibition of cathepsin B through ligand substitutions, **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, p. 555–563, 2008. DOI:10.1016/j.jinorgbio.2007.10.019.
- [35] REDOX Pharmaceutical Corp., Greenvale, NY, n.d. . <http://www.reduxpharmachem.com/> (accessed July 13, 2020).
- [36] KENNY, R.G.; MARMION, C.J. Toward Multi-Targeted Platinum and Ruthenium Drugs - A New Paradigm in Cancer Drug Treatment Regimens?, **Chemical Reviews**, v. 119, p. 1058–1137, 2019. DOI:10.1021/acs.chemrev.8b00271.
- [37] SEDDON, E.A.; SEDDON, K.R. **The Chemistry of Ruthenium, Volume 19**, Elsevier Science, 2013. .
- [38] THOTA, S. *et al.* Ru(II) Compounds: Next-Generation Anticancer Metallotherapeutics?, **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 61, p. 5805–5821, 2018. DOI:10.1021/acs.jmedchem.7b01689.
- [39] ALLARDYCE, C.S. *et al.* Synthesis and characterisation of some water soluble ruthenium(II)-arene complexes and an investigation of their antibiotic and antiviral properties, **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 668, p. 35–42, 2003. DOI:10.1016/S0022-328X(02)01926-5.
- [40] BARBOSA, M.I.F. *et al.* Antiparasitic activities of novel ruthenium/lapachol complexes, **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 136, p. 33–39, 2014. DOI:10.1016/j.jinorgbio.2014.03.009.
- [41] WANG, X. *et al.* Stimuli-Responsive Therapeutic Metallodrugs, **Chemical Reviews**, v. 119, p. 1138–1192, 2019. DOI:10.1021/acs.chemrev.8b00209.
- [42] ALLARDYCE, C.S.; DYSON, P.J. Metal-based drugs that break the rules, **Dalton Transactions**, v. 45, p. 3201–3209, 2016. DOI:10.1039/c5dt03919c.
- [43] PAVAN, F.R. *et al.* In Vitro and In Vivo Activities of Ruthenium(II)

- Phosphine/Diimine/Picolinate Complexes (SCAR) against *Mycobacterium tuberculosis*, **PLoS ONE**, v. 8, p. 1–10, 2013. DOI:10.1371/journal.pone.0064242.
- [44] GAMBINO, D.; OTERO, L. Design of prospective antiparasitic metal-based compounds including selected organometallic cores, **Inorganica Chimica Acta**, v. 472, p. 58–75, 2018. DOI:10.1016/j.ica.2017.07.068.
- [45] DYSON, P.J. Systematic design of a targeted organometallic antitumour drug in pre-clinical development, **Chimia**, v. 61, p. 698–703, 2007. DOI:10.2533/chimia.2007.698.
- [46] CLARKE, M.J. *et al.* Reduction and Subsequent Binding of Ruthenium Ions Catalyzed by Subcellular Components, **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 12, p. 79–87, 1980. DOI:10.1016/S0162-0134(00)80045-8.
- [47] HARTINGER, C.G. *et al.* KP1019, a new redox-active anticancer agent - Preclinical development and results of a clinical phase I study in tumor patients, **Chemistry and Biodiversity**, v. 5, p. 2140–2155, 2008. DOI:10.1002/cbdv.200890195.
- [48] ALESSIO, E.; MESSORI, L. The deceptively similar ruthenium(III) drug candidates KP1019 and NAMI-A have different actions. What did we learn in the past 30 years?, **Metallo-Drugs: Development and Action of Anticancer Agents**, v. 18, p. 141–170, 2018. DOI:10.1515/9783110470734-005.
- [49] SU, W.; TANG, Z.; LI, P. Development of Arene Ruthenium Antitumor Complexes, **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 787–795, 2016. DOI:10.2174/138955751610160503003937.
- [50] GOPALAKRISHNAN, D. *et al.* Water soluble Ru(II)-arene complexes of the antidiabetic drug metformin: DNA and protein binding, molecular docking, cytotoxicity and apoptosis-inducing activity, **RSC Advances**, v. 7, p. 37706–37719, 2017. DOI:10.1039/c7ra06514k.
- [51] HABTEMARIAM, A. *et al.* Structure-activity relationships for cytotoxic ruthenium(II) arene complexes containing *N,N*-, *N,O*-, and *O,O*-chelating ligands, **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, p. 6858–6868, 2006. DOI:10.1021/jm060596m.
- [52] CHELLAN, P. *et al.* Synthesis and evaluation of new polynuclear organometallic Ru(II), Rh(III) and Ir(III) pyridyl ester complexes as in vitro antiparasitic and antitumor agents, **Dalton Transactions**, v. 43, p. 513–526, 2014. DOI:10.1039/c3dt52090k.
- [53] MISERACHS, H.G. *et al.* Antitumor and antiparasitic activity of novel ruthenium compounds with polycyclic aromatic ligands, **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 150, p. 38–47, 2015. DOI:10.1016/j.jinorgbio.2015.06.007.
- [54] MENG, X. *et al.* A ruthenium-containing organometallic compound reduces tumor growth through induction of the endoplasmic reticulum stress gene CHOP, **Cancer Research**, v. 69, p. 5458–5466, 2009. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-08-4408.

- [55] RAJ KUMAR, R.; RAMESH, R.; MAŁECKI, J.G. Synthesis and structure of arene ruthenium(II) benzhydrazone complexes: Antiproliferative activity, apoptosis induction and cell cycle analysis, **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 862, p. 95–104, 2018. DOI:10.1016/j.jorganchem.2018.03.013.
- [56] BARRA, C.V.; NETTO, A.V.G. Antitumour complexes and DNA interactions and their tools of analysis: An approach to metalointercalators, **Revista Virtual de Química**, v. 7, p. 1998–2016, 2015. DOI:10.5935/1984-6835.20150118.
- [57] MARINHO, F.A. *et al.* The calpain inhibitor MDL28170 induces the expression of apoptotic markers in leishmania amazonensis promastigotes, **PLoS ONE**, v. 9, p. 1–11, 2014. DOI:10.1371/journal.pone.0087659.
- [58] PAL, M.; NANDI, U.; MUKHERJEE, D. Detailed account on activation mechanisms of ruthenium coordination complexes and their role as antineoplastic agents, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 150, p. 419–445, 2018. DOI:10.1016/j.ejmech.2018.03.015.
- [59] OSELLAME, L.D.; BLACKER, T.S.; DUCHEN, M.R. Cellular and molecular mechanisms of mitochondrial function, **Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 26, p. 711–723, 2012. DOI:10.1016/j.beem.2012.05.003.
- [60] PISANI, M.J. *et al.* Mechanism of cytotoxicity and cellular uptake of lipophilic inert dinuclear polypyridylruthenium(II) complexes, **ChemMedChem**, v. 6, p. 848–858, 2011. DOI:10.1002/cmdc.201100053.
- [61] ORRENIUS, S.; NICOTERA, P.; ZHIVOTOVSKY, B. Cell death mechanisms and their implications in toxicology, **Toxicological Sciences**, v. 119, p. 3–19, 2011. DOI:10.1093/toxsci/kfq268.
- [62] SMIRLIS, D. *et al.* Targeting essential pathways in trypanosomatids gives insights into protozoan mechanisms of cell death, **Parasites and Vectors**, v. 3, p. 1–15, 2010. DOI:10.1186/1756-3305-3-107.
- [63] MURA, P. *et al.* Synthesis, structural characterization, solution chemistry, and preliminary biological studies of the ruthenium(III) complexes [TzH][*trans*-RuCl<sub>4</sub>(Tz)<sub>2</sub>] and [TzH][*trans*-RuCl<sub>4</sub>(DMSO)(Tz)] · (DMSO), the thiazole analogues of antitumor ICR and NAMI-A, **Inorganic Chemistry**, v. 43, p. 3863–3870, 2004. DOI:10.1021/ic0354116.
- [64] BUSTAMANTE, F.L.; SOUZA, E.T.; LANZMASTER, M. Complexos ativados por hipóxia: uma estratégia para o combate ao câncer, **Revista Virtual de Química**, v. 1, p. 138–148, 2009. DOI:10.5935/1984-6835.20090016.
- [65] KRATZ, F. Albumin as a drug carrier: Design of prodrugs, drug conjugates and nanoparticles, **Journal of Controlled Release**, v. 132, p. 171–183, 2008. DOI:10.1016/j.jconrel.2008.05.010.
- [66] MILUTINOVIĆ, M.M. *et al.* Newly Synthesized Heteronuclear Ruthenium(II)/Ferrocene Complexes Suppress the Growth of Mammary Carcinoma in 4T1-Treated BALB/c Mice by Promoting Activation of Antitumor Immunity, **Organometallics**, v. 37, p. 4250–4266, 2018.



DOI:10.1021/acs.organomet.8b00604.

- [67] GUPTA, R.K. *et al.* DNA/protein binding, molecular docking, and in vitro anticancer activity of some thioether-dipyrinato complexes, **Inorganic Chemistry**, v. 52, p. 13984–13996, 2013. DOI:10.1021/ic401662d.
- [68] KARAMI, K. *et al.* Synthesis and characterization of two new trans palladium(II) complexes containing benzylamine ligand: DNA/BSA interactions, molecular docking and in vitro cytotoxic activity, **Inorganica Chimica Acta**, v. 471, p. 797–807, 2018. DOI:10.1016/j.ica.2017.02.027.
- [69] NEETHU, K.S. *et al.* Organoruthenium(II) complexes featuring pyrazole-linked Schiff base ligands: Crystal structure, DNA/BSA interactions, cytotoxicity and molecular docking, **Applied Organometallic Chemistry**, v. 33, p. 1–16, 2019. DOI:10.1002/aoc.4751.
- [70] SCHIER, A.; SCHMIDBAUR, H. **P-Donor Ligands**, John Wiley & Sons, 2006. DOI:10.1002/0470862106.ia177.
- [71] PAVAN, F.R. *et al.* Ruthenium(II) phosphine/picolinate complexes as antimycobacterial agents, **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 598–601, 2010. DOI:10.1016/j.ejmech.2009.10.049.
- [72] PRABHAKARAN, R. *et al.* One pot synthesis of structurally different mono and dimeric Ni(II) thiosemicarbazone complexes and N-arylation on a coordinated ligand: a comparative biological study, **Dalton Transactions**, v. 41, p. 9323–9336, 2012. DOI:10.1039/C2DT12231F.
- [73] FRANCO, D.W.; TAUBE, H. Triethyl phosphite as a ligand on ruthenium(II), **Inorganic Chemistry**, v. 17, p. 571–578, 1978. DOI:10.1021/ic50181a011.
- [74] CUNHA, L.V.P. **Complexos fosfínicos de Ru(II) e Ru(III) com fármacos anti-tuberculose e seus derivados**. Dissertação (Mestrado em Química)- Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2012.
- [75] GOLFETO, C.C. **Nitrosilo Complexos De Rutênio: Síntese, Caracterização E Avaliação De Suas Potencialidades Citotóxicas**. Dissertação (Mestrado em Química)- Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos, 2008.
- [76] QUEIROZ, S.L.Q.; BATISTA, A.A. Complexos fosfínicos e suas aplicações na medicina, **Química Nova**, v. 19, p. 651–659, 1996. .
- [77] VALLE, E.M.A. *et al.* Sobre uma degenerescência acidental nos deslocamentos químicos de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  em complexos difosfínicos de rutênio, **Química Nova**, v. 31, p. 807–812, 2008. DOI:10.1590/s0100-40422008000400019.
- [78] RODRÍGUEZ-BÁRZANO, A. *et al.* Synthesis and anticancer activity evaluation of  $\eta^5\text{-C}_5(\text{CH}_3)_4\text{R}$  ruthenium complexes bearing chelating diphosphine ligands, **Dalton Transactions**, v. 44, p. 3265–3270, 2015. DOI:10.1039/c4dt02748e.
- [79] BERNERS-PRICE, S.J.; JARRETT, P.S.; SADLER, P.J. Phosphorus-31 NMR studies of  $[\text{Au}_2(\mu\text{-dppe})]^{2+}$  antitumor complexes. Conversion into  $[\text{Au}(\text{dppe})_2]^+$

- induced by thiols and blood plasma, **Inorganic Chemistry**, v. 26, p. 3074–3077, 1987. DOI:10.1021/ic00265a032.
- [80] JÚNIOR, J.W.C. Complexos fosfínicos de rutênio contendo os ligantes nitro, nitrosilo ou piridinas, com atividades antitumorais e antituberculose, 2010. .
- [81] COSTA, M.S. *et al.* Anti- Leishmania activity of new ruthenium(II) complexes : Effect on parasite-host interaction, v. 175, p. 225–231, 2017. .
- [82] COSTA, M.S. *et al.* Increased ROS generation causes apoptosis-like death: Mechanistic insights into the anti-Leishmania activity of a potent ruthenium(II) complex, **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 195, p. 1–12, 2019. DOI:10.1016/j.jinorgbio.2019.03.005.
- [83] MELLO-ANDRADE, F. *et al.* Antitumor effectiveness and mechanism of action of Ru(II)/amino acid/diphosphine complexes in the peritoneal carcinomatosis progression, **Tumor Biology**, v. 39, p. 1–18, 2017. DOI:10.1177/1010428317695933.
- [84] PEREIRA, F.D.C. *et al.* Cis-[RuCl(BzCN)(N-N)(P-P)]PF<sub>6</sub> complexes: Synthesis and in vitro antitumor activity, **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 149, p. 91–101, 2015. DOI:10.1016/j.jinorgbio.2015.03.011.
- [85] SILVA, H.V.R. *et al.* Phosphine/diimine ruthenium complexes with Cl<sup>-</sup>, CO, NO<sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and pyridine ligands: Pro-apoptotic activity on triple-negative breast cancer cells and DNA/HSA interactions, **Polyhedron**, v. 144, p. 55–65, 2018. DOI:10.1016/j.poly.2018.01.005.
- [86] DO NASCIMENTO, F.B. *et al.* Synthesis, characterization, X-ray structure and in vitro antimycobacterial and antitumoral activities of Ru(II) phosphine/diimine complexes containing the “SpymMe2” ligand, SpymMe2 = 4,6-dimethyl-2-mercaptopyrimidine, **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, p. 1783–1789, 2008. DOI:10.1016/j.jinorgbio.2008.05.009.
- [87] LOPES, J.C.S. *et al.* Ruthenium(II) Complexes Containing Anti-Inflammatory Drugs as Ligands: Synthesis, Characterization and, **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 26, p. 1838–1847, 2015. .
- [88] DA SILVA, E.N. *et al.* Synthesis, Characterization, Cytotoxic Activity, and Interactions with CT-DNA and BSA of Cationic Ruthenium(II) Complexes Containing Dppm and Quinoline Carboxylates, **Bioinorganic Chemistry and Applications**, v. 2017, p. 1–9, 2017. DOI:10.1155/2017/2562780.
- [89] BERALDO, H.; GAMBINO, D. The Wide Pharmacological Versatility of Semicarbazones, Thiosemicarbazones and Their Metal Complexes, **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 4, p. 31–39, 2005. DOI:10.2174/1389557043487484.
- [90] CORY, J.G. Ribonucleotide reductase as a chemotherapeutic target, **Advances in Enzyme Regulation**, v. 27, p. 437–455, 1988. DOI:10.1016/0065-2571(88)90030-1.
- [91] CORY, J.G. *et al.* Inhibitors of ribonucleotide reductase: Comparative effects of amino- and hydroxy-substituted pyridine-2-carboxaldehydethiosemicarbazones,

- Biochemical Pharmacology**, v. 48, p. 335–344, 1994. DOI:10.1016/0006-2952(94)90105-8.
- [92] FRENCH, F.A.; BLANZ, E.J. The Carcinostatic Activity of Thiosemicarbazones of Formyl Heteroaromatic Compounds.1 III. Primary Correlation, **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 9, p. 585–589, 1966. DOI:10.1021/jm00322a032.
- [93] YANG, X. *et al.* Ruthenium methylimidazole complexes induced apoptosis in lung cancer A549 cells through intrinsic mitochondrial pathway, **Biochimie**, v. 94, p. 345–353, 2012. DOI:10.1016/j.biochi.2011.07.025.
- [94] SHIM, J.; JYOTHI, N.R.; FAROOK, N.A.M. Biological applications of thiosemicarbazones and their metal complexes, **Asian Journal of Chemistry**, v. 25, p. 5838–5840, 2013. DOI:10.14233/ajchem.2013.oh105.
- [95] ARQUERO, A. *et al.* Selective access to new semicarbazones and thiosemicarbazones derived from benzil. Study of their conversion reactions, **Tetrahedron**, v. 54, p. 11271–11284, 1998. DOI:10.1016/S0040-4020(98)00667-X.
- [96] LÓPEZ-TORRES, E.; ABRAM, U. Rhenium complexes with triazine derivatives formed from semicarbazones and thiosemicarbazones, **Inorganic Chemistry**, v. 47, p. 2890–2896, 2008. DOI:10.1021/ic702326v.
- [97] LÓPEZ-TORRES, E.; MENDIOLA, M.A. Complexes of a triazine-3-thione ligand with divalent metals: Crystal structure of  $[\text{CdL}_2\text{DMF}]_2 \cdot 2\text{DMF} \cdot 1/4\text{H}_2\text{O}$ , **Polyhedron**, v. 24, p. 1435–1444, 2005. DOI:10.1016/j.poly.2005.03.093.
- [98] LÓPEZ-TORRES, E. *et al.* Diorganotin(IV) complexes of a cyclic thiosemicarbazone ligand: Crystal structures of  $[\text{SnPh}_2(\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{S})\text{Cl}]$  and  $[\text{SnMe}_2(\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{S})_2]$ , **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2, p. 2711–2717, 2003. DOI:10.1002/ejic.200300090.
- [99] LÓPEZ-TORRES, E.; MENDIOLA, M.A.; PASTOR, C.J. Mercury and methylmercury complexes with a triazine-3-thione ligand, **Polyhedron**, v. 25, p. 1464–1470, 2006. DOI:10.1016/j.poly.2005.10.013.
- [100] LÓPEZ-TORRES, E.; MENDIOLA, M.A.; PASTOR, C.J. Crystal structures of triazine-3-thione derivatives by reaction with copper and cobalt salts, **Inorganic Chemistry**, v. 45, p. 3103–3112, 2006. DOI:10.1021/ic052009d.
- [101] CALATAYUD, D.G.; LÓPEZ-TORRES, E.; MENDIOLA, M.A. Diphenyllead(IV) chloride complexes with benzilthiosemicarbazones. The first bis(thiosemicarbazone) derivatives, **Inorganic Chemistry**, v. 46, p. 10434–10443, 2007. DOI:10.1021/ic701490j.
- [102] ZHANG, X. *et al.* Synthesis, characterization of Ag(I), Pd(II) and Pt(II) complexes of a triazine-3-thione and their interactions with bovine serum albumin, **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 68, p. 763–770, 2007. DOI:10.1016/j.saa.2006.12.058.
- [103] 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  $\text{M}(\text{Ph}_2\text{PCH}_2\text{PPh}_2)_2\text{Cl}_2$  ( $\text{M} = \text{Ru}^{\text{II}}, \text{Os}^{\text{II}}$ ), **Inorganic**

- Chemistry**, v. 21, p. 1037–1040, 1982. DOI:10.1021/ic00133a033.
- [104] BAUTISTA, M.T. *et al.* Preparation and spectroscopic properties of the .eta.2-dihydrogen complexes  $[MH(.eta.2-H_2)PR_2CH_2CH_2PR_2]_2^+$  (M = iron, ruthenium; R = Ph, Et) and trends in properties down the iron group triad, **Journal of the American Chemical Society**, v. 113, p. 4876–4887, 1991. DOI:10.1021/ja00013a025.
- [105] SHELDRICK, G.M. SHELXL-97 Program for Crystal Structure Refinement, 1997. .
- [106] SHELDRICK, G.M. Crystal structure refinement with SHELXL, **Acta Crystallographica Section C: Structural Chemistry**, v. 71, p. 3–8, 2015. DOI:10.1107/S2053229614024218.
- [107] MACRAE, C.F. *et al.* Mercury: Visualization and analysis of crystal structures, **Journal of Applied Crystallography**, v. 39, p. 453–457, 2006. DOI:10.1107/S002188980600731X.
- [108] MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays, **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55–63, 1983. DOI:10.1016/0022-1759(83)90303-4.
- [109] MORRIS, G.M. *et al.* AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility, **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, p. 2785–2791, 2009. DOI:10.1002/jcc.21256.
- [110] NEESE, F. Software update: the ORCA program system, version 4.0, **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science**, v. 8, p. 4–9, 2018. DOI:10.1002/wcms.1327.
- [111] CAO, Z.; REN, T. DFT study of electronic properties of 3d metal complexes of  $\sigma$ -geminal diethynylethenes (gem-DEEs), **Organometallics**, v. 30, p. 245–250, 2011. DOI:10.1021/om100870k.
- [112] BIOVIA, D.S. Dassault Systèmes BIOVIA, Discovery Studio Visualizer, DS Vizualizer 2019, San Diego: Dassault Systèmes, 2020., 2020. .
- [113] NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds. 5th ed. New York: JOHN WILEY & SONS**, 5th ed., New York: JOHN WILEY & SONS, 1997. DOI:10.1002/9780470405840.
- [114] SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D.J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos. 7th ed. Rio de Janeiro: LTC**, 2007., 7th ed., Rio de Janeiro: LTC, 2007. .
- [115] WILES, D.M.; GINGRAS, B.A.; SUPRUNCHUK, T. The C=S stretching vibration in the infrared spectra of some thiosemicarbazones, **Canadian Journal of Chemistry**, v. 45, p. 469–473, 1967. DOI:10.1139/v67-081.
- [116] REZAEI, B.; FAZLOLLAHI, M. Synthesis, solvatochromism and crystal structure of 5-Methoxy-5,6-diphenyl-4,5-dihydro-2H-1,2,4-triazine-3-thione, **Chemistry Central Journal**, v. 7, p. 5–9, 2013. DOI:10.1186/1752-153X-7-130.

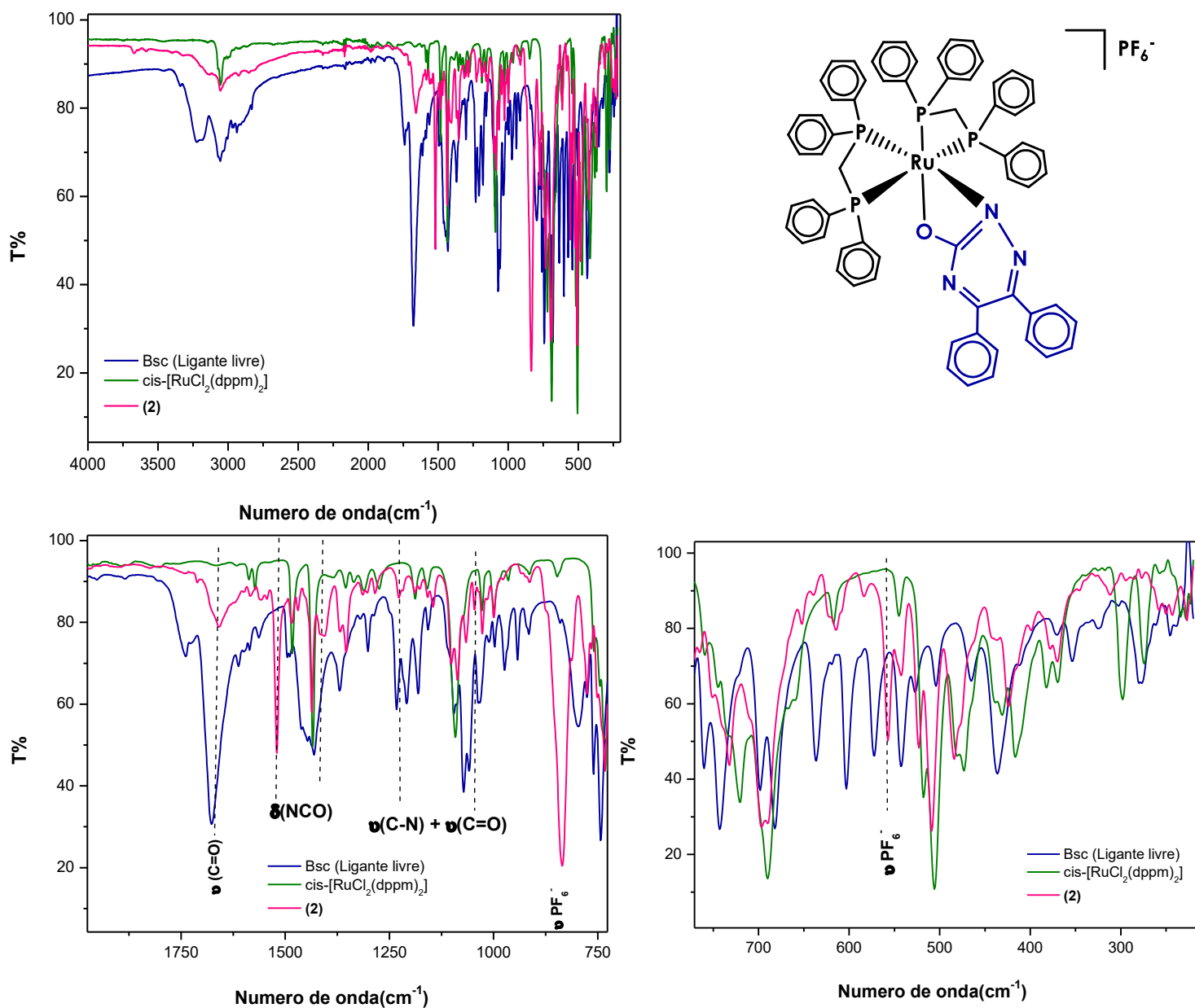
- [117] SOBRINHO, L.L.G. **Complexos de rutênio(II) contendo 2-mercaptoimidazol e derivados: Síntese, caracterização e avaliação da atividade biológica**. Dissertação (Mestrado em Química)- Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2015.
- [118] WINTER, R.F.; SCHEIRING, T. Synthesis, structures, ligand substitution reactions, and electrochemistry of the nitrile complexes *cis*-[Ru(dppm)<sub>2</sub>Cl(NCR)]<sup>+</sup>PF<sub>6</sub><sup>-</sup> (dppm = *Bis*(diphenylphosphino)methane, R = CH<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, tBu, Ph), **Zeitschrift Fur Anorganische Und Allgemeine Chemie**, v. 626, p. 1196–1204, 2000. DOI:10.1002/(SICI)1521-3749(200005)626:5<1196::AID-ZAAC1196>3.0.CO;2-B.
- [119] EXARCHOS, G.; ROBINSON, S.D.; STEED, J.W. The synthesis and characterisation of [Pd(S<sub>2</sub>CNEt<sub>2</sub>){Ph<sub>2</sub>P(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>PPh<sub>2</sub>}]<sup>+</sup> salts of some chlorometallate anions (n = 1, 3, 4): X-ray crystal structures of the salts [Pd(S<sub>2</sub>CNEt<sub>2</sub>){Ph<sub>2</sub>P(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>PPh<sub>2</sub>}]<sub>2</sub>[MCl<sub>4</sub>] (n =1, 4; M = Cd; n =3; M = Hg), **Polyhedron**, v. 19, p. 1511–1517, 2000. DOI:10.1016/S0277-5387(00)00415-0.
- [120] ALLEN, F.H. *et al.* Tables of bond lengths determined by x-ray and neutron diffraction. Part 1. Bond lengths in organic compounds, **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, p. 1–19, 1987. DOI:10.1039/P2987000000S1.
- [121] ETTER, M.C.; MACDONALD, J.C.; BERNSTEIN, J. Graph-set analysis of hydrogen-bond patterns in organic crystals, **Acta Crystallographica Section B**, v. 46, p. 256–262, 1990. DOI:10.1107/S0108768189012929.
- [122] POLLONI, L. *et al.* Action of copper(II) complex with β-diketone and 1,10-phenanthroline (CBP-01) on sarcoma cells and biological effects under cell death, **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 112, p. 108586, 2019. DOI:10.1016/j.biopha.2019.01.047.
- [123] GAO, Y. *et al.* Cisplatin-resistant A549 non-small cell lung cancer cells can be identified by increased mitochondrial mass and are sensitive to pemetrexed treatment, **Cancer Cell International**, v. 19, p. 1–14, 2019. DOI:10.1186/s12935-019-1037-1.
- [124] MCQUAID, K. *et al.* X-ray Crystal Structures Show DNA Stacking Advantage of Terminal Nitrile Substitution in Ru-dppz Complexes, **Chemistry - A European Journal**, v. 24, p. 15859–15867, 2018. DOI:10.1002/chem.201803021.
- [125] CARUSO, F. *et al.* Ruthenium-arene complexes of curcumin: X-ray and density functional theory structure, synthesis, and spectroscopic characterization, in vitro antitumor activity, and DNA docking studies of (p-cymene)Ru(curcuminato)chloro, **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, p. 1072–1081, 2012. DOI:10.1021/jm200912j.
- [126] MCQUAID, K. *et al.* Structural Studies Reveal Enantiospecific Recognition of a DNA G-Quadruplex by a Ruthenium Polypyridyl Complex, **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 58, p. 9881–9885, 2019. DOI:10.1002/anie.201814502.

- [127] CHEN, J. CAN *et al.* Ruthenium(II) salicylate complexes inducing ROS-mediated apoptosis by targeting thioredoxin reductase, **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 193, p. 112–123, 2019. DOI:10.1016/j.jinorgbio.2019.01.011.
- [128] CHEN, J.C. *et al.* Investigation of inducing apoptosis in human lung cancer A549 cells and related mechanism of a ruthenium(II) polypyridyl complex, **Inorganic Chemistry Communications**, v. 69, p. 35–39, 2016. DOI:10.1016/j.inoche.2016.04.025.
- [129] TANG, J.Y. *et al.* Oxidative stress-modulating drugs have preferential anticancer effects - involving the regulation of apoptosis, DNA damage, endoplasmic reticulum stress, autophagy, metabolism, and migration, **Seminars in Cancer Biology**, v. 58, p. 109–117, 2019. DOI:10.1016/j.semcancer.2018.08.010.
- [130] ZHANG, J. *et al.* ROS and ROS-Mediated Cellular Signaling, **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1–18, 2016. DOI:10.1155/2016/4350965.

# **APÊNDICE**

## APÊNDICE A – ESPECTROS DE IV

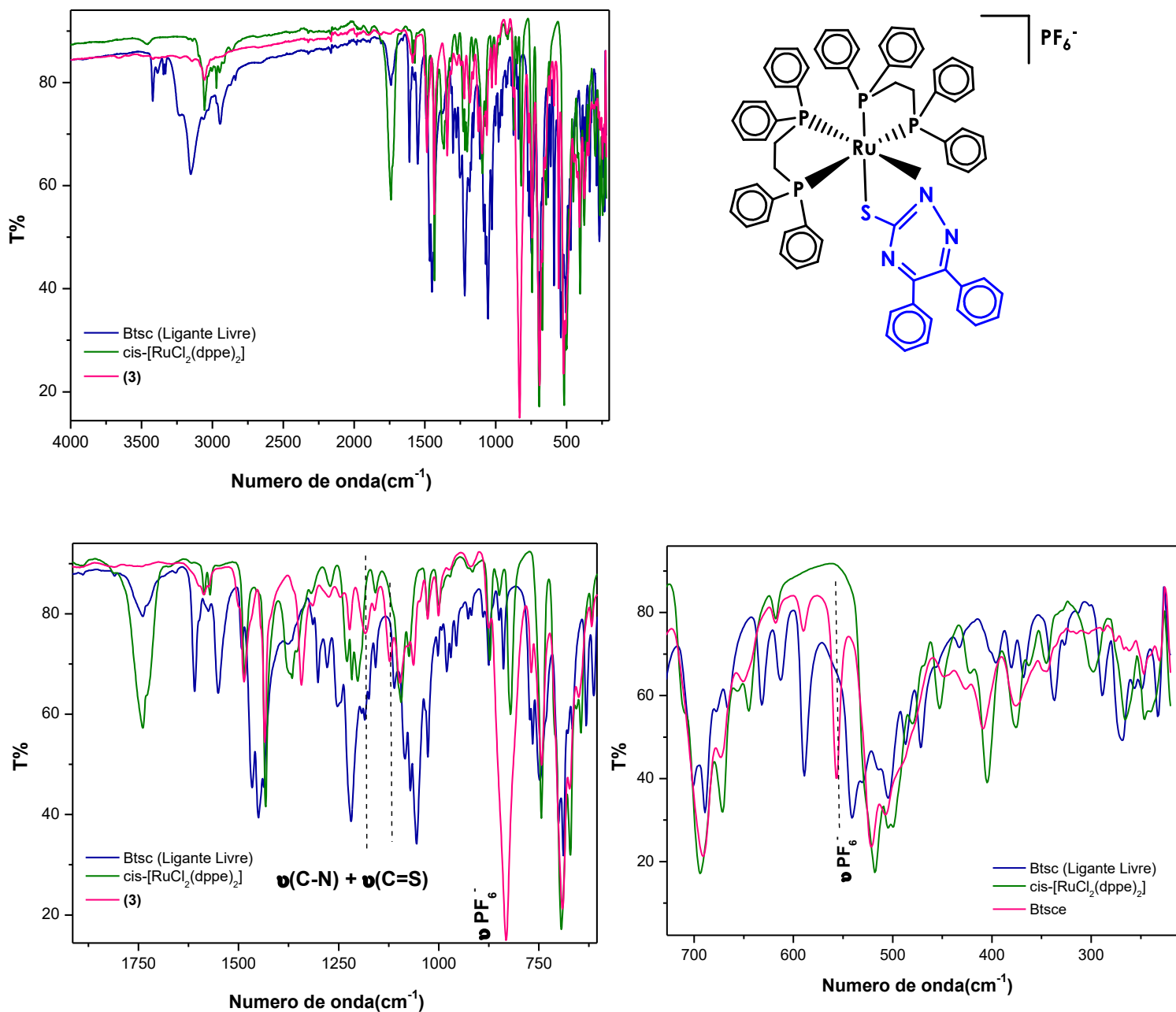
**Figura A1.** Espectros no I.V. (ATR) do ligante livre Bsc (traço azul), do precursor *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppm)<sub>2</sub>] (traço verde) e do complexo **2** (traço rosa)– com ampliação da região entre 1970-720 e 770-200 cm<sup>-1</sup>, respectivamente.



Fonte: Dados da pesquisa.

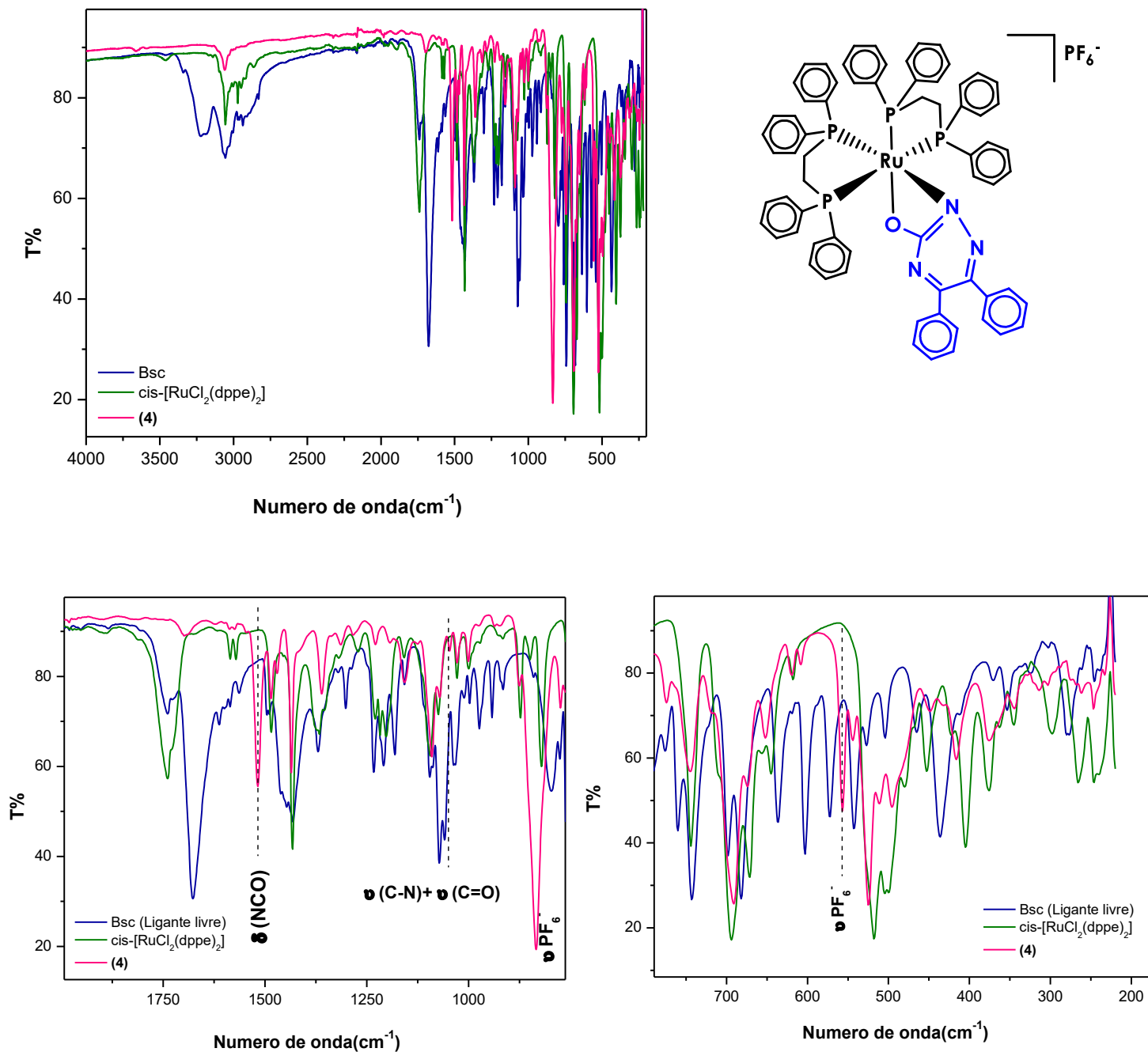


**Figura A2.** Espectros no I.V. (ATR) do ligante livre Btsc (traço azul), do precursor *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>] (traço verde) e do complexo **3** (traço rosa)– com ampliação da região entre 1910-600 e 720-200 cm<sup>-1</sup>, respectivamente.



Fonte: Dados da pesquisa.

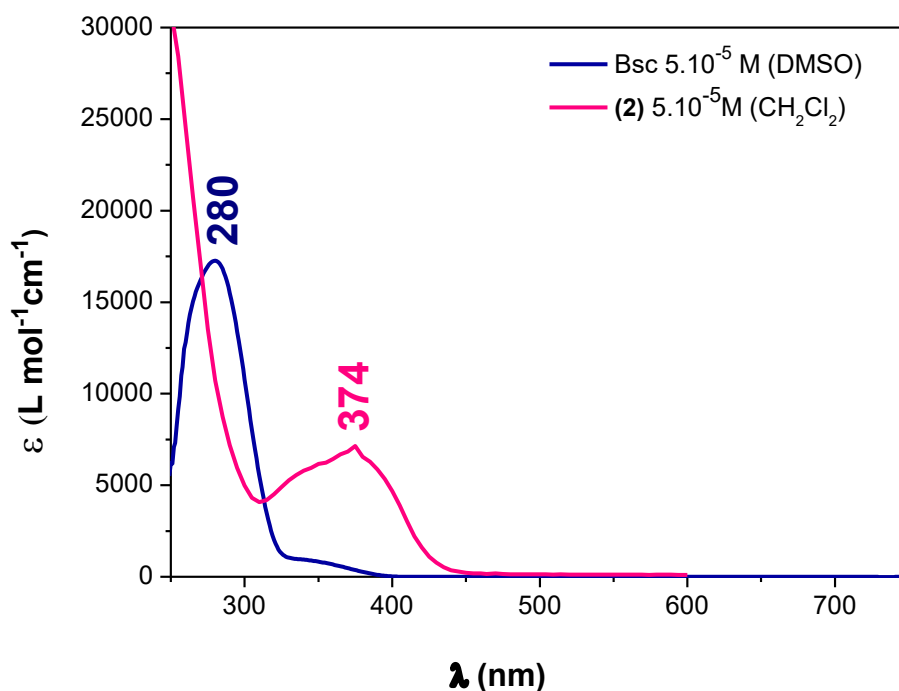
**Figura A3.** Espectros no I.V. (ATR) do ligante livre Bsc (traço azul), do precursor *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>] (traço verde) e do complexo **4** (traço rosa), – com ampliação da região entre 2000-760 e 780-200 cm<sup>-1</sup>, respectivamente.



Fonte: Dados da pesquisa.

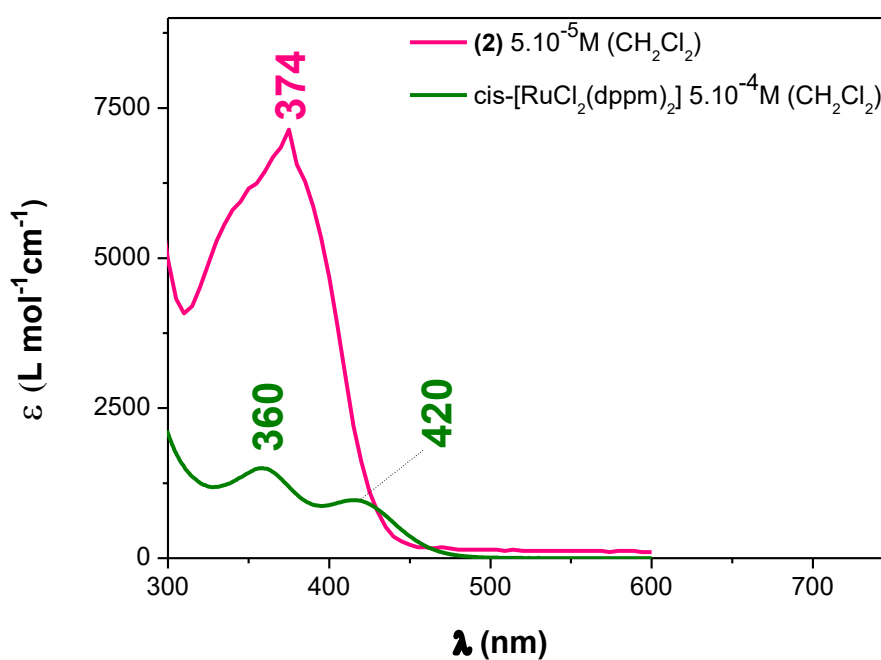
## APÊNDICE B – ESPECTROS DE UV-vis

**Figura B1.** Espectro na região do UV-Vis do complexo **2** (traço rosa) obtido em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e do ligante **Bsc** (traço azul) obtido em DMSO.



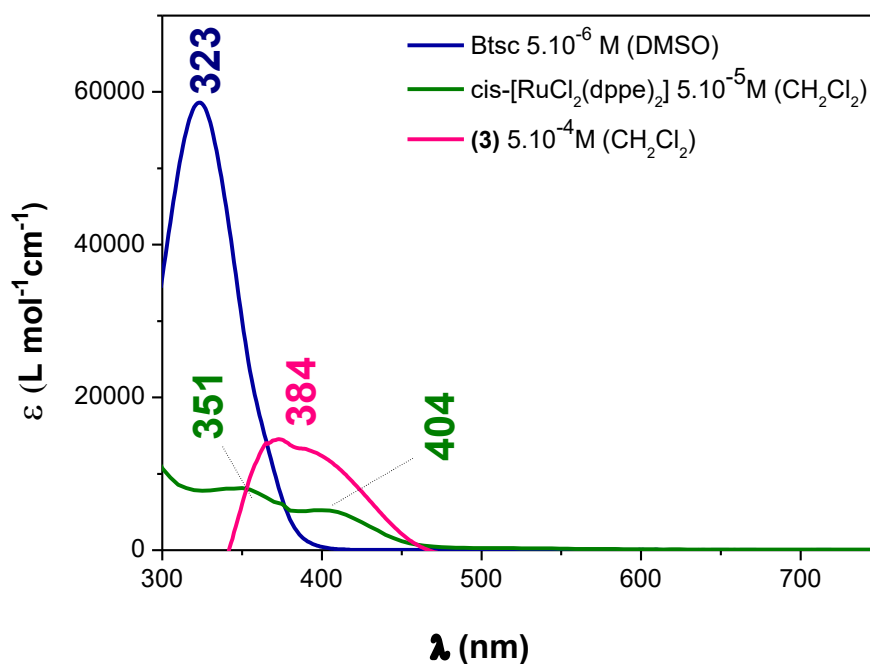
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura B2.** Espectro na região do UV-Vis do complexo **2** (traço rosa) e do complexo precursor *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$  (traço verde) obtidos em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .



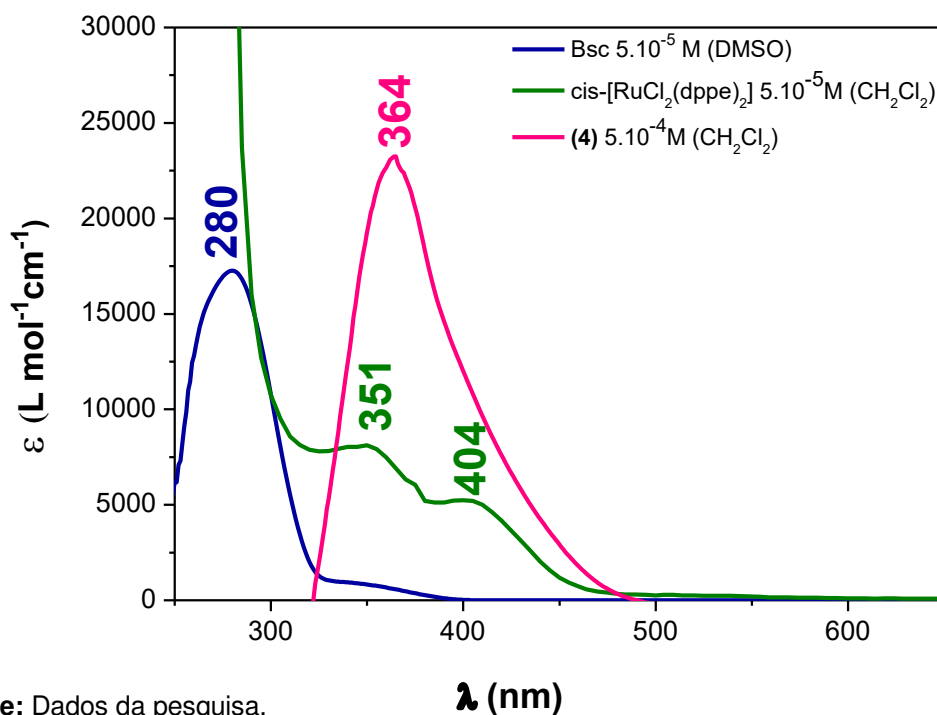
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura B3.** Espectro na região do UV-Vis do complexo **3** (traço rosa) e do complexo precursor *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>] (traço verde) obtidos em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e do ligante **Btsc** (traço azul) obtido em DMSO.



Fonte: Dados da pesquisa.

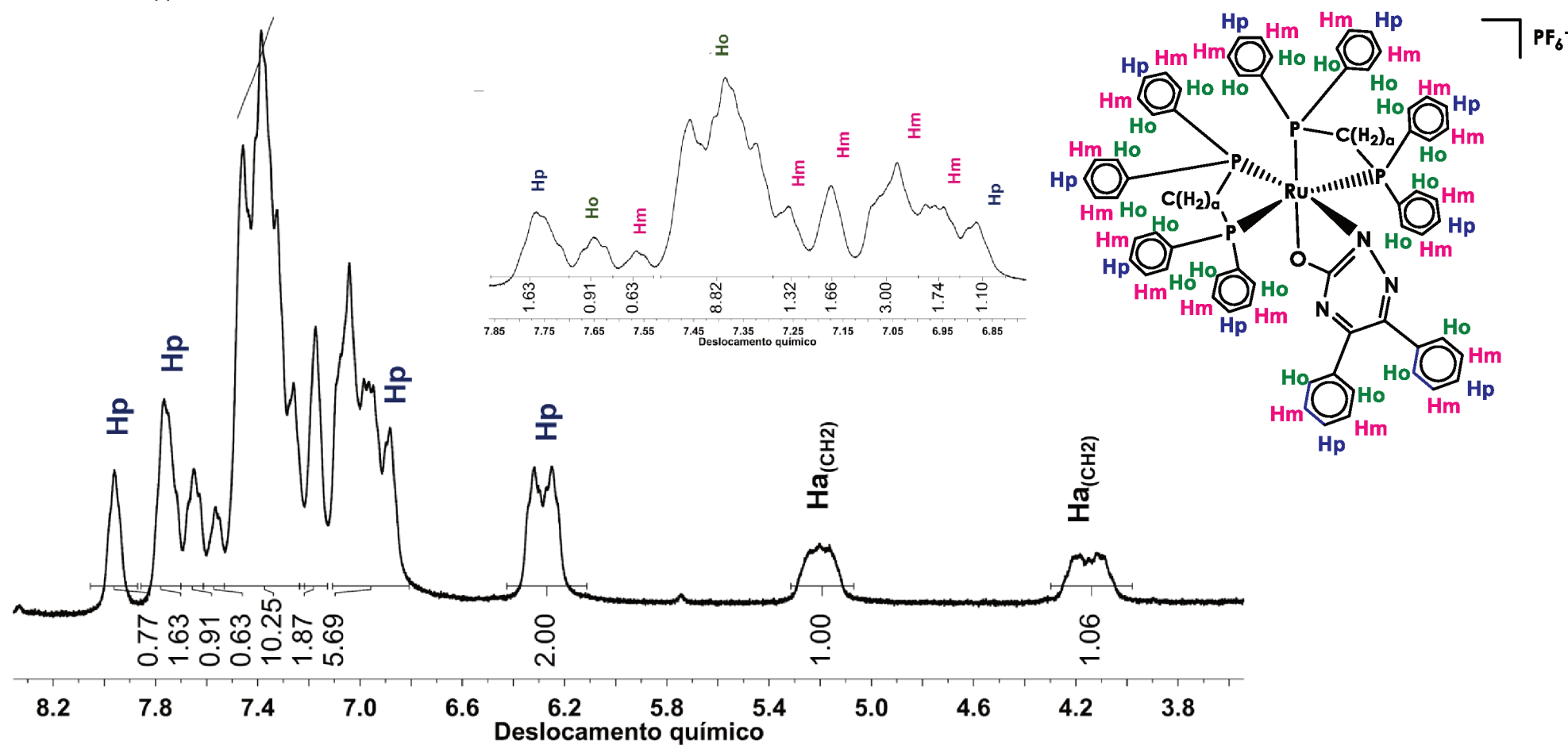
**Figura B4.** Espectro na região do UV-Vis do complexo **4** (traço rosa) e do complexo precursor *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(dppe)<sub>2</sub>] (traço verde) obtidos em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e do ligante **Bsc** (traço azul) obtido em DMSO.



Fonte: Dados da pesquisa.

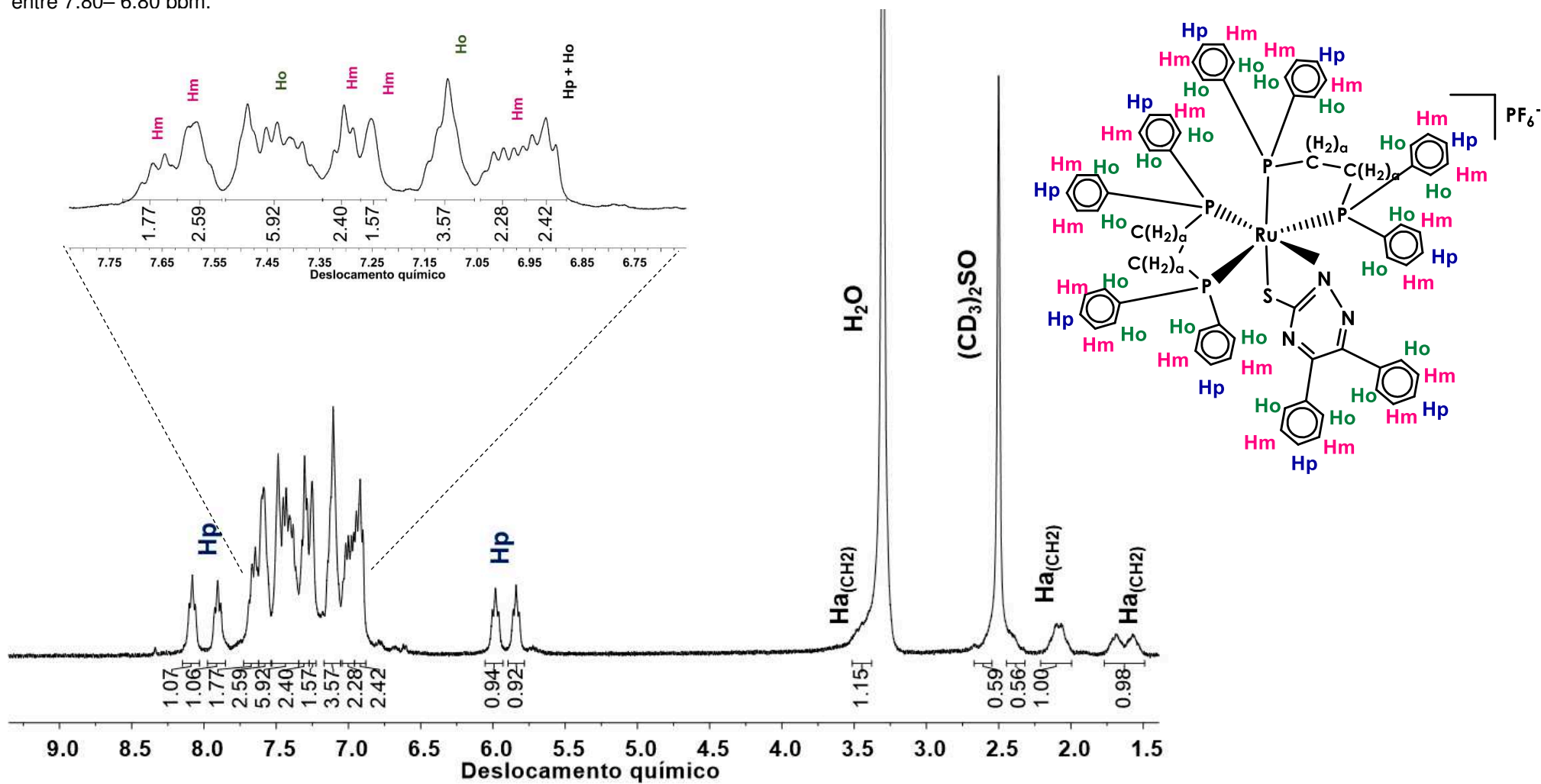
## APÊNDICE C – ESPECTROS DE RMN $^1\text{H}$

**Figura C1.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$ , obtido em  $d^6$ -DMSO e frequência de 400 MHz, do complexo **2** com seus hidrogênios identificados, com ampliação na região entre 7,85– 6,80 ppm.



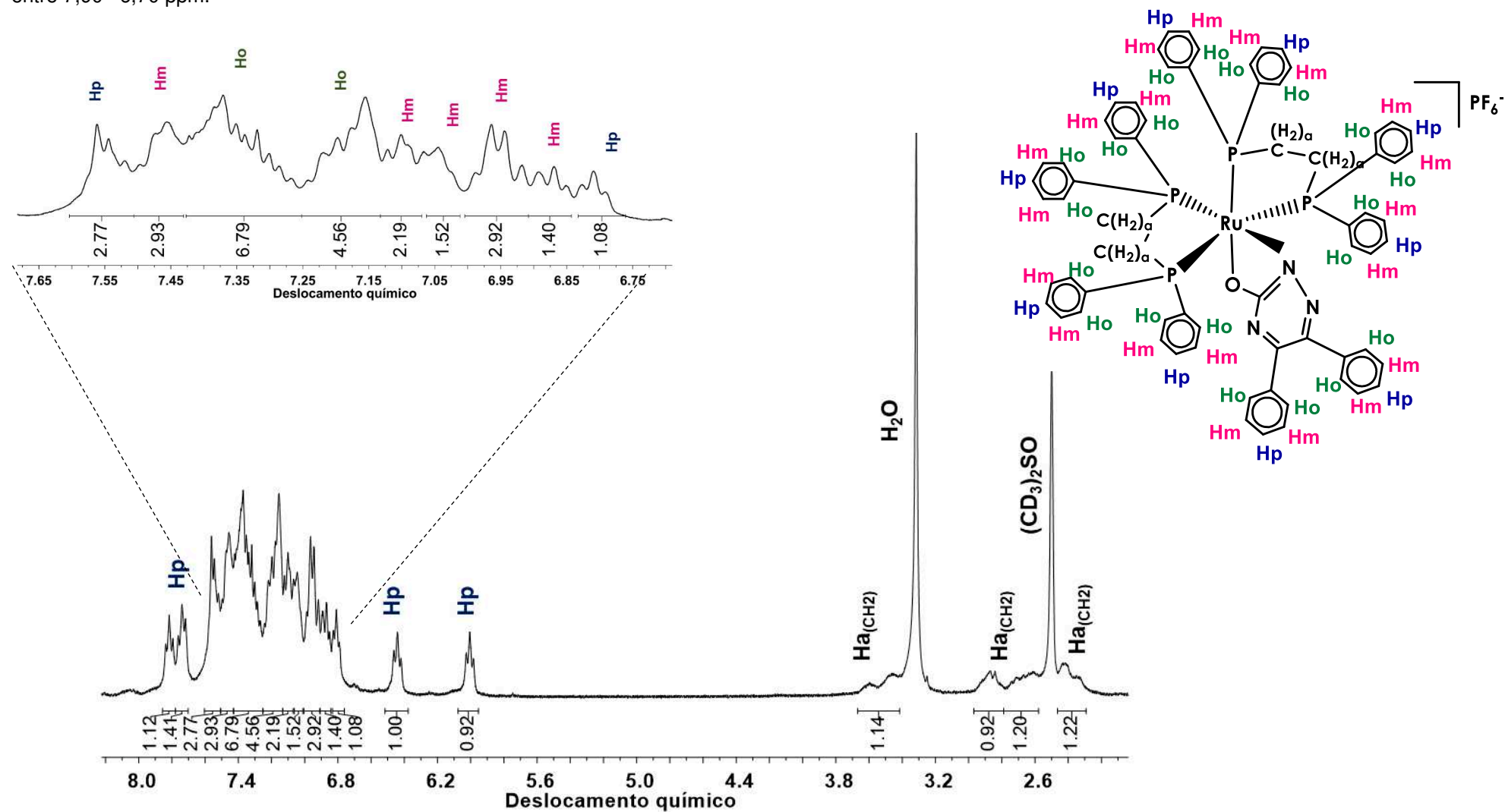
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura C2.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$ , obtido em  $d^6$ -DMSO frequência de 400 MHz, do complexo **3** com seus hidrogênios identificados, com ampliação na região entre 7.80– 6.80 ppm.



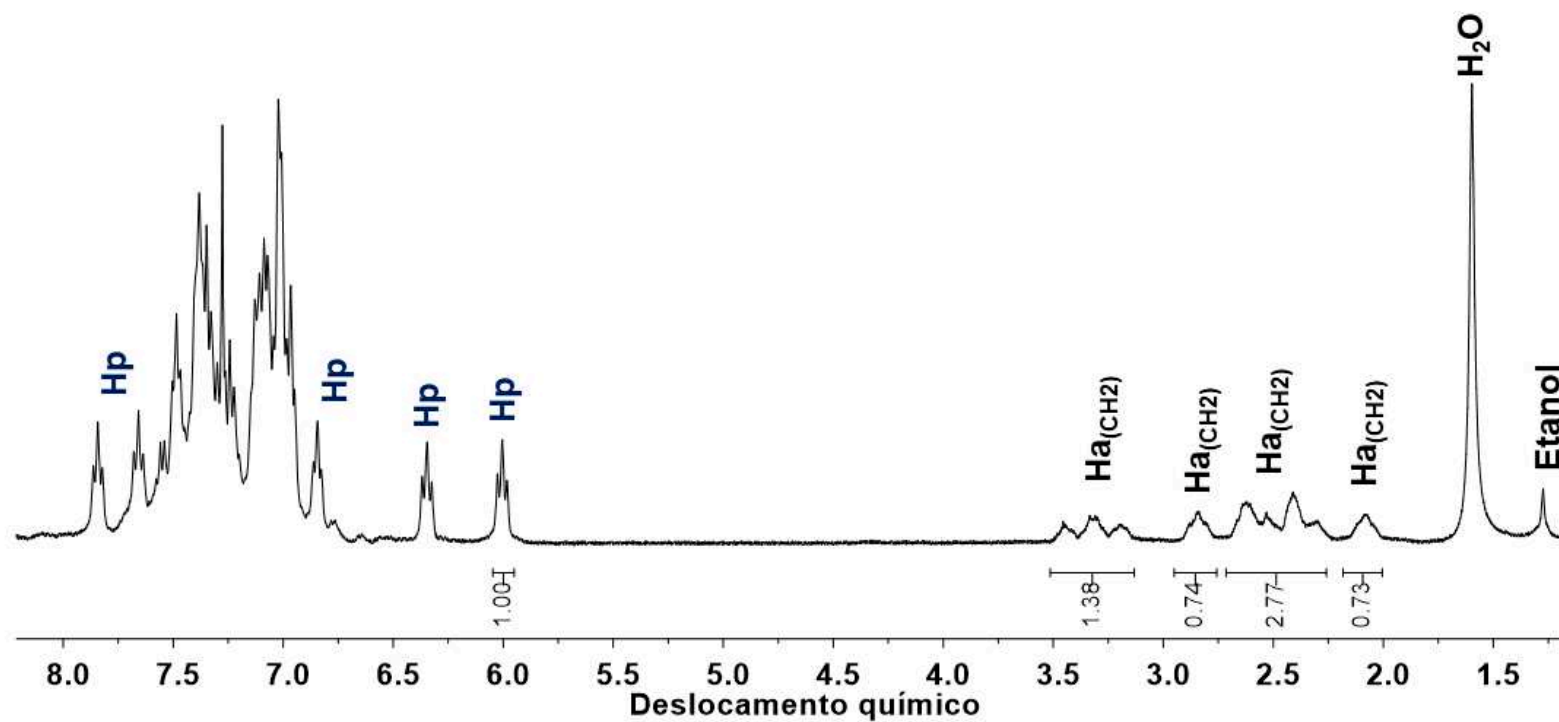
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura C3.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$ , obtido em  $d^6$ -DMSO frequência de 400 MHz, do complexo **4** com seus hidrogênios identificados, com ampliação na região entre 7,90– 6,70 ppm.



Fonte: Dados da pesquisa.

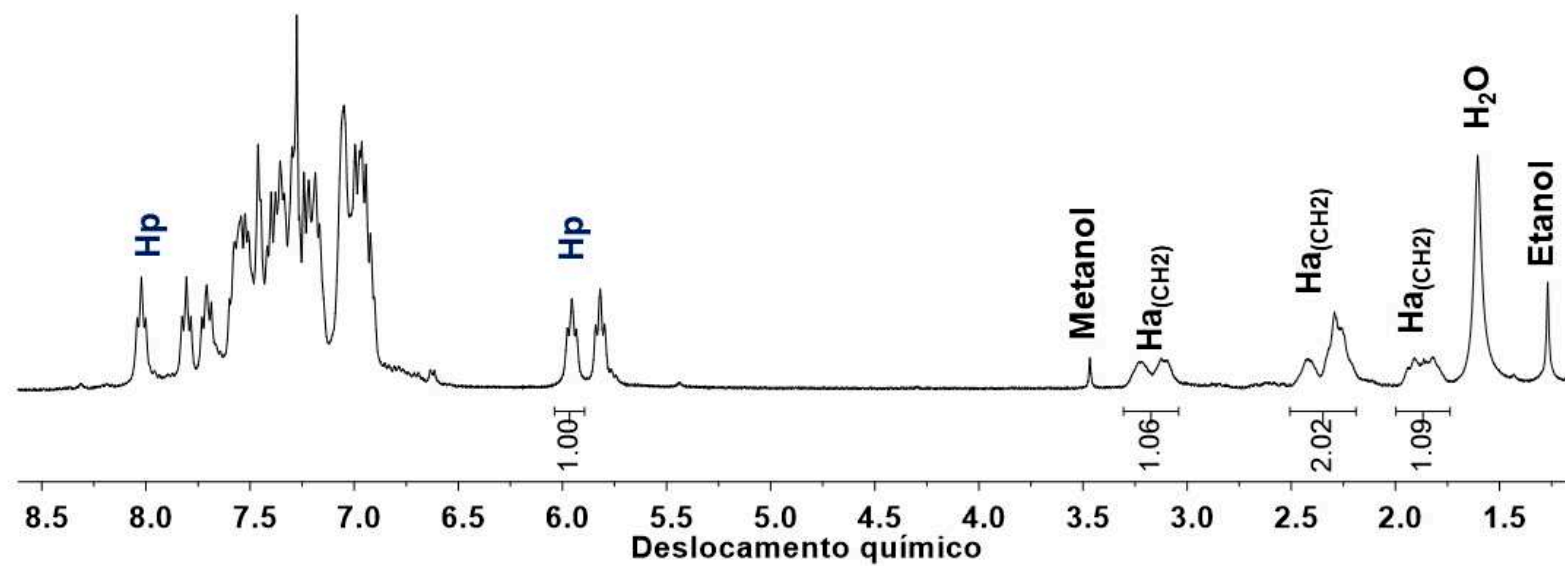
**Figura C4.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$ , obtido em  $\text{CDCl}_3$  frequência de 400 MHz, do complexo **3** com seus hidrogênios identificados.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

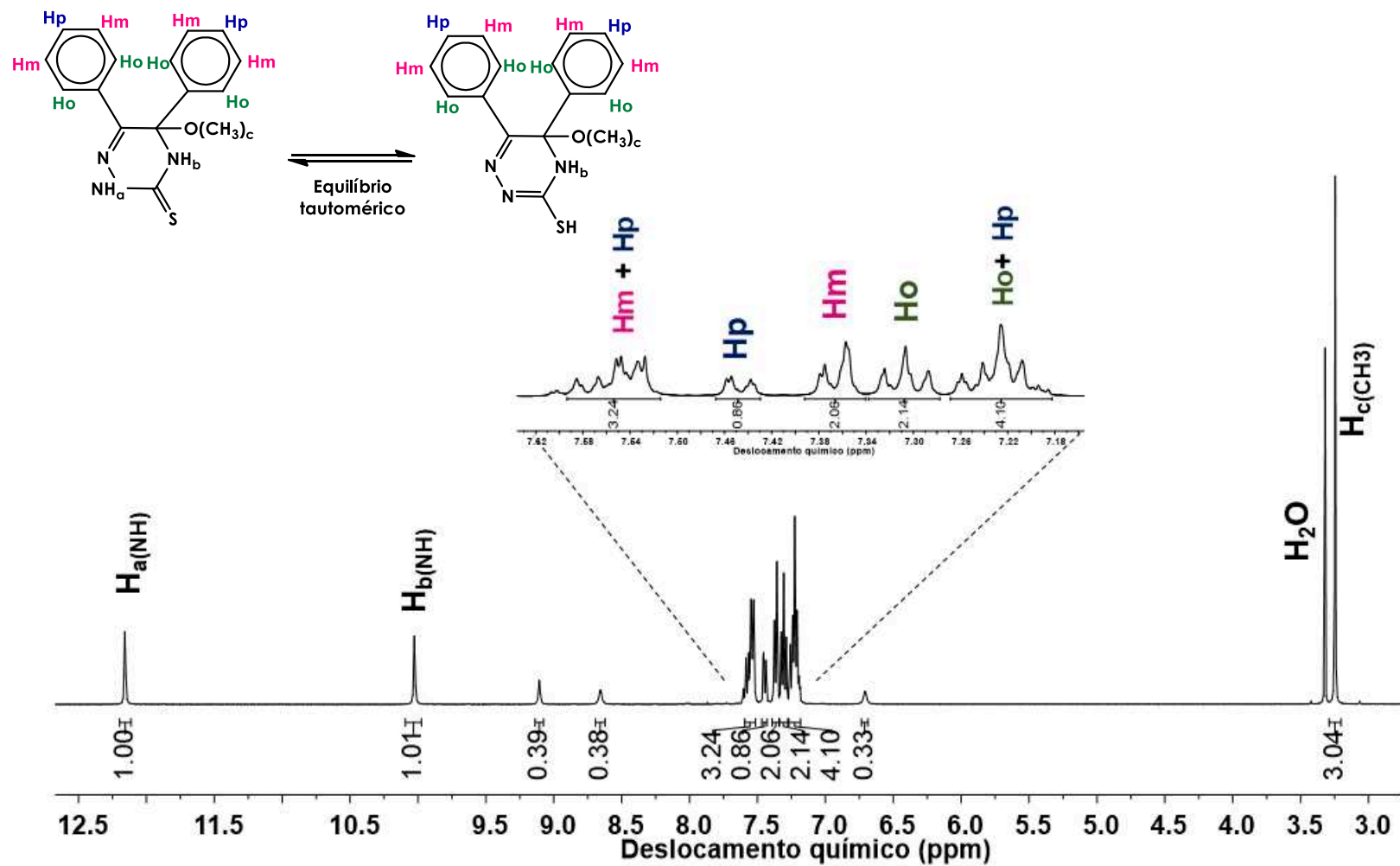


**Figura C5** – Espectro de RMN  $^1\text{H}$ , obtido em  $\text{CDCl}_3$  frequência de 400 MHz, do complexo **4** com seus hidrogênios identificados.



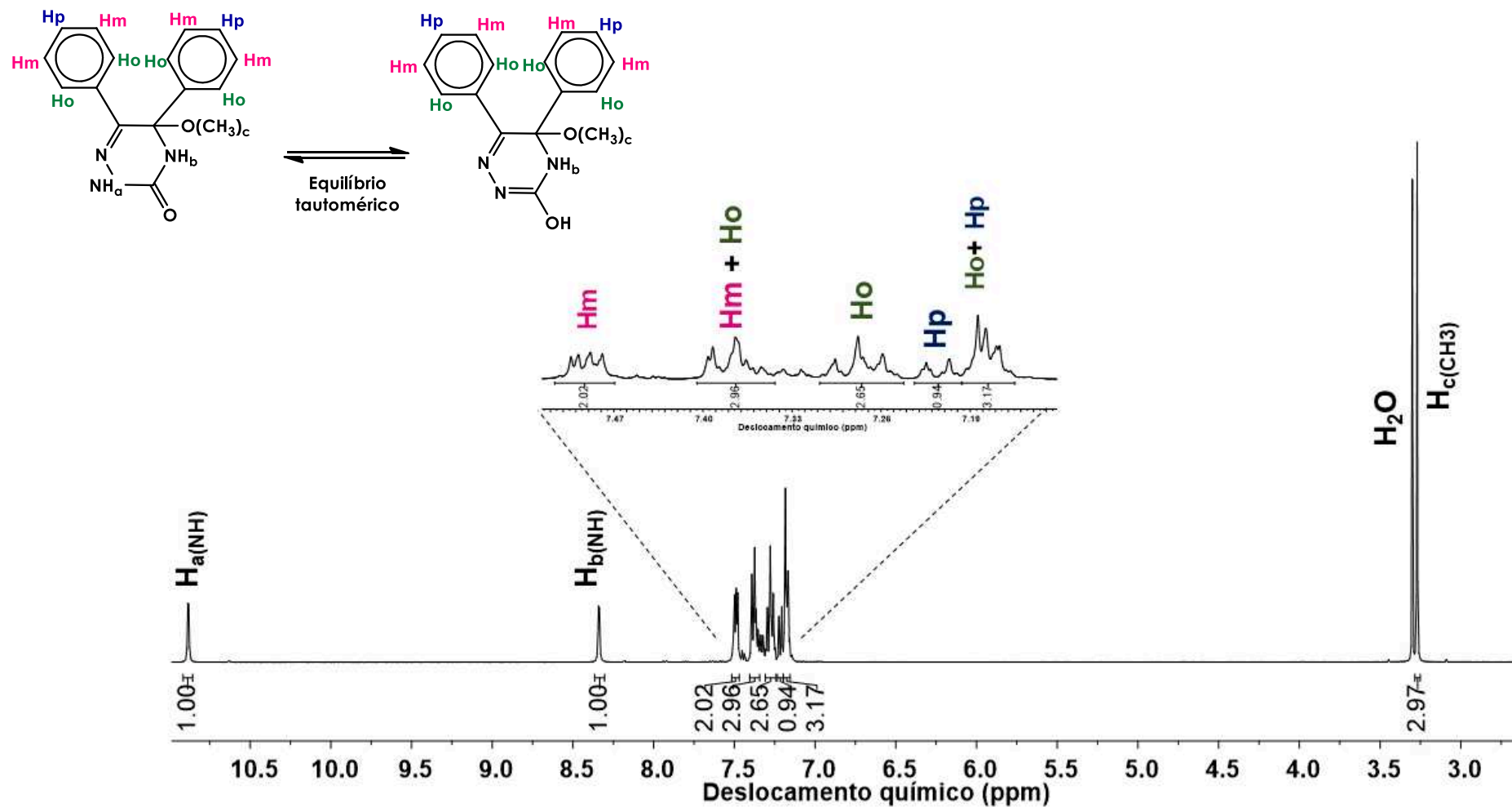
**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura C6.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$ , obtido em  $d^6$ -DMSO e frequência de 400 MHz, do ligante livre **Btsc** com seus hidrogênios identificados, com ampliação na região entre 7,65– 7,10 ppm.



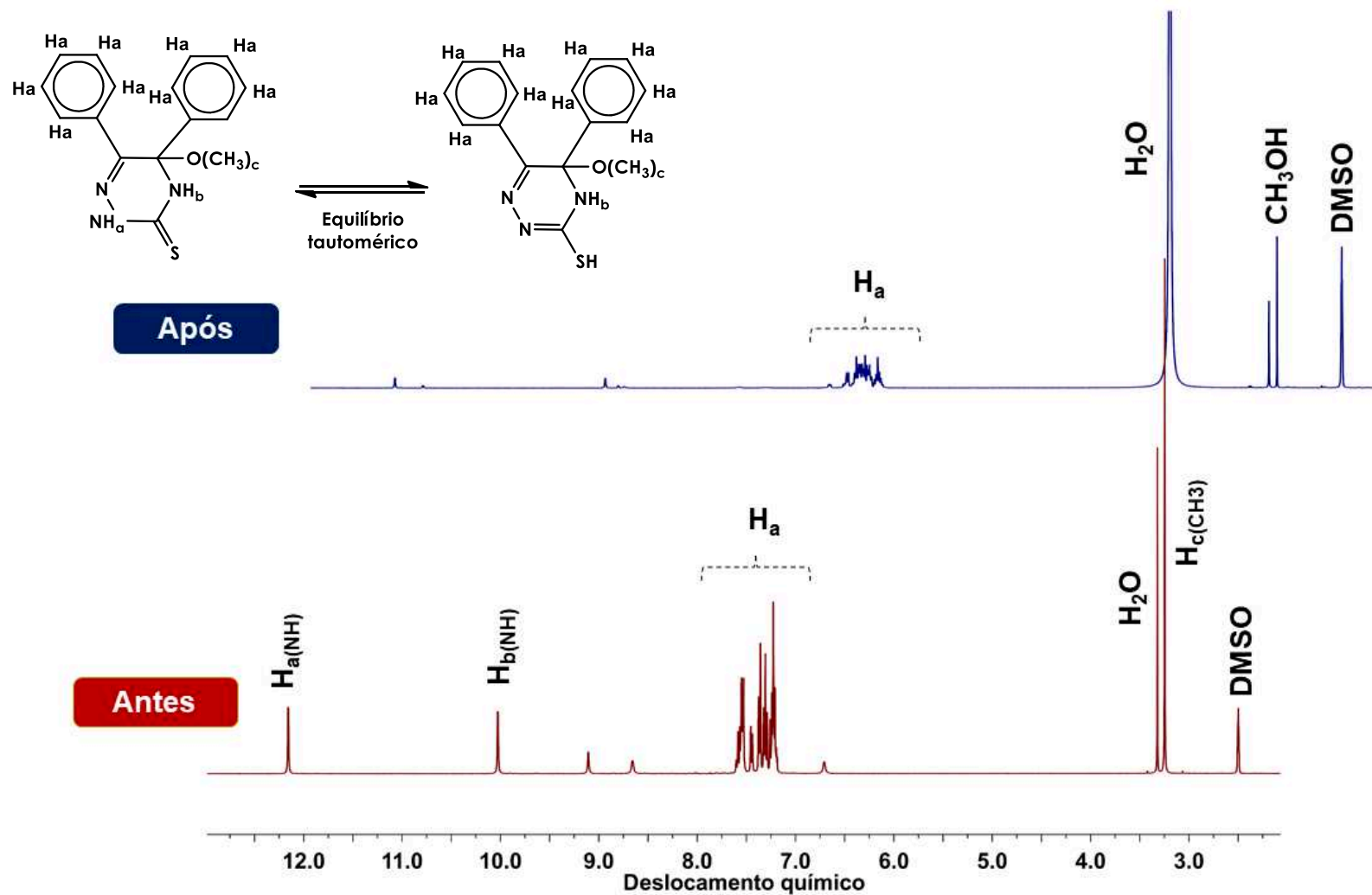
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura C7.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$ , obtido em  $d^6$ -DMSO e frequência de 400 MHz, do ligante livre **Bsc** com seus hidrogênios identificados, com ampliação na região entre 7,60– 7,10 ppm.



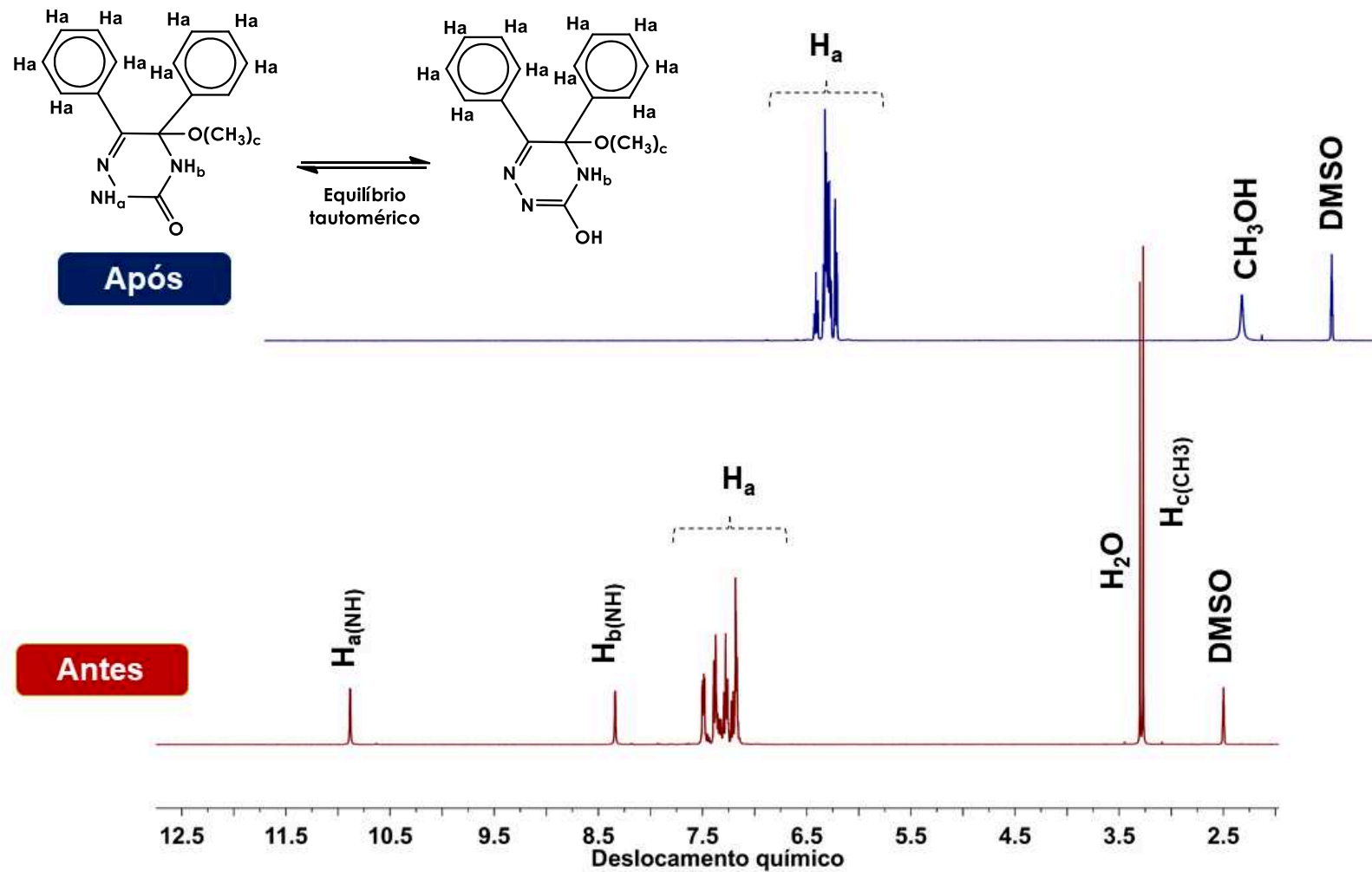
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura C8.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$ , obtido em  $d^6$ -DMSO e frequência de 400 MHz, do ligante livre **Btsc** com seus hidrogênios identificados, antes do refluxo (vermelho) e após o refluxo (azul).



Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura C9.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$ , obtido em  $d^6$ -DMSO e frequência de 400 MHz, do ligante livre **Bsc** com seus hidrogênios identificados, antes do refluxo (vermelho) e após o refluxo (azul).

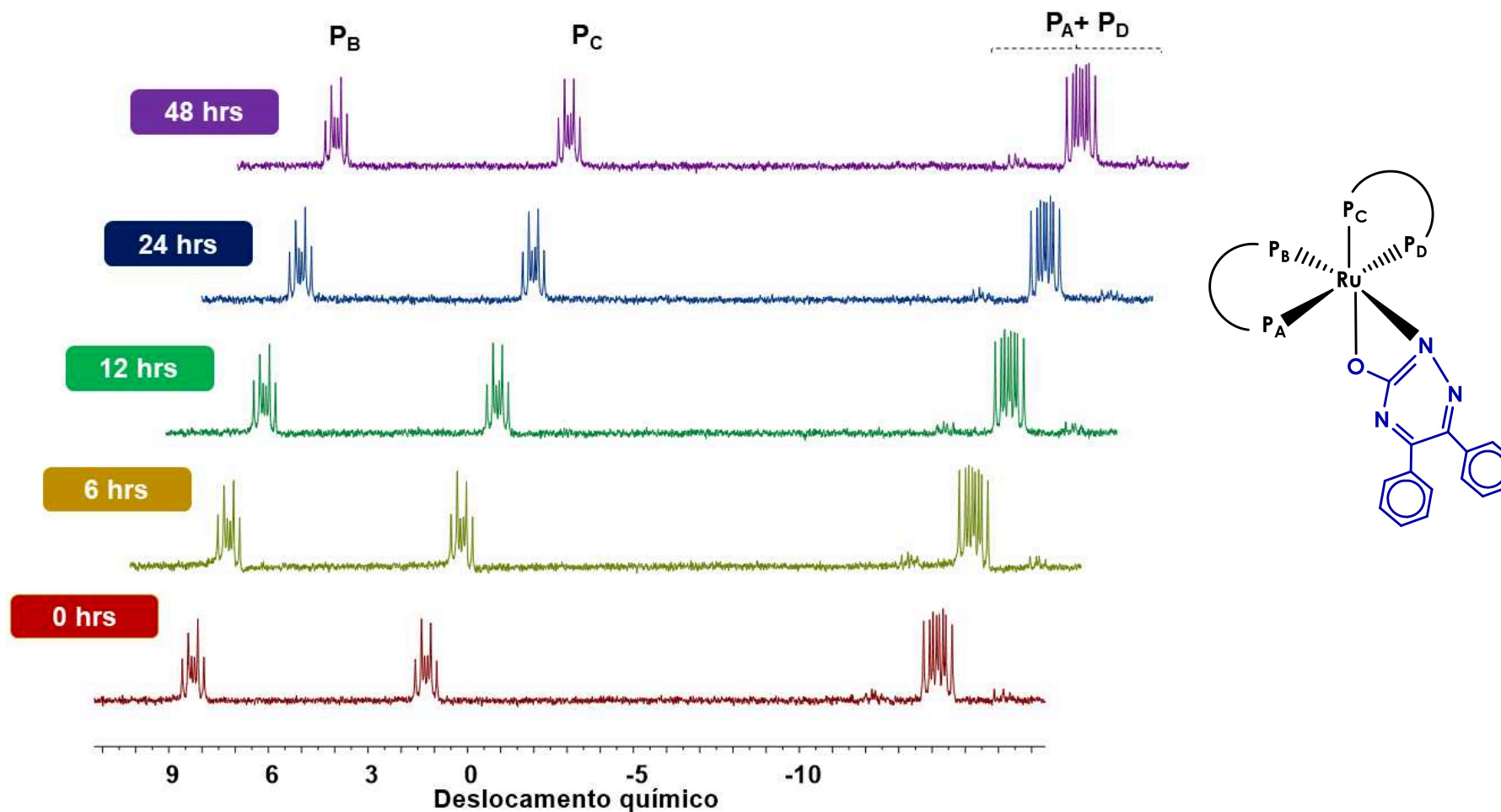


Fonte: Dados da pesquisa.



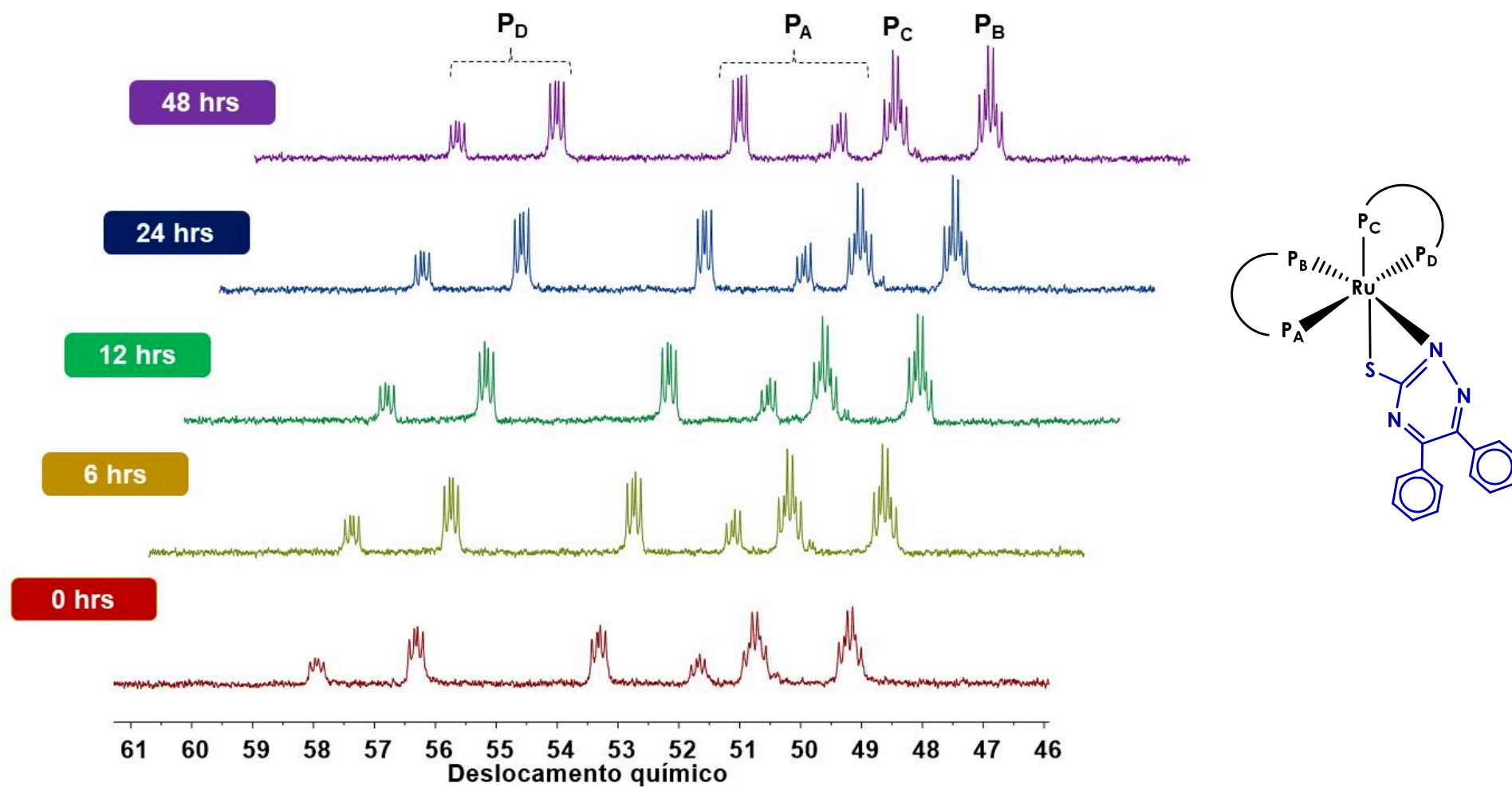
## APÊNDICE D – ESPECTROS DE RMN $^{31}\text{P}$ $\{^1\text{H}\}$ PARA ANÁLISE DA ESTABILIDADE EM DMSO

**Figura D1.** Espectros de RMN  $^{31}\text{P}$   $\{^1\text{H}\}$  do complexo **2**, obtidos nos tempos de 0 (vermelho), 6 (amarelo), 12 (verde), 24 (azul) e 48 (roxo) hrs após solubilização no solvente  $d^6$ -DMSO, com os átomos de fósforo identificados.



Fonte: Dados da pesquisa.

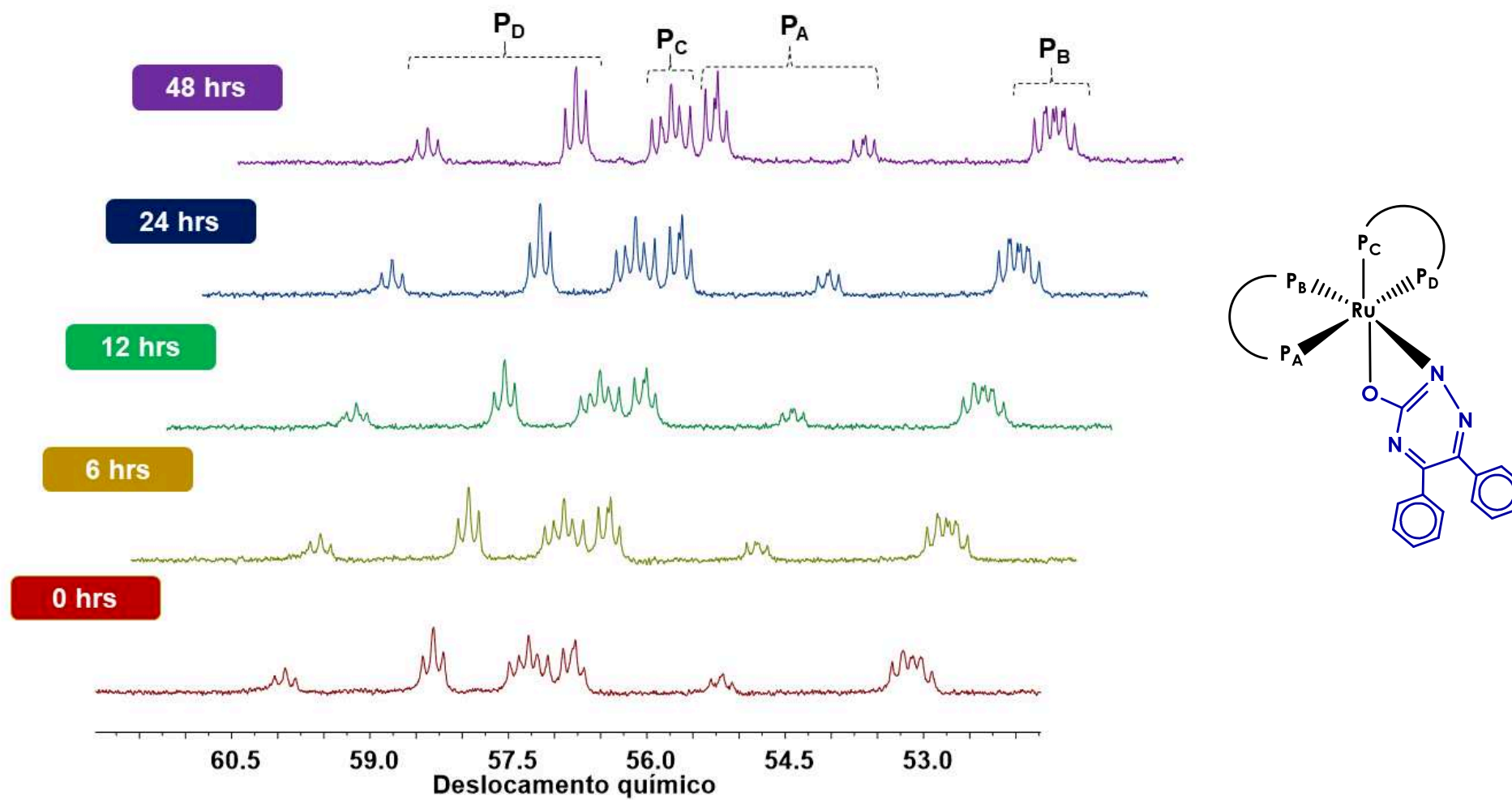
**Figura D2.** Espectros de RMN  $^{31}\text{P} \{^1\text{H}\}$  do complexo **3**, obtidos nos tempos de 0 (vermelho), 6 (amarelo), 12 (verde), 24 (azul) e 48 (roxo) hrs após solubilização no solvente  $d^6$ -DMSO, com os átomos de fósforo identificados.



Fonte: Dados da pesquisa.



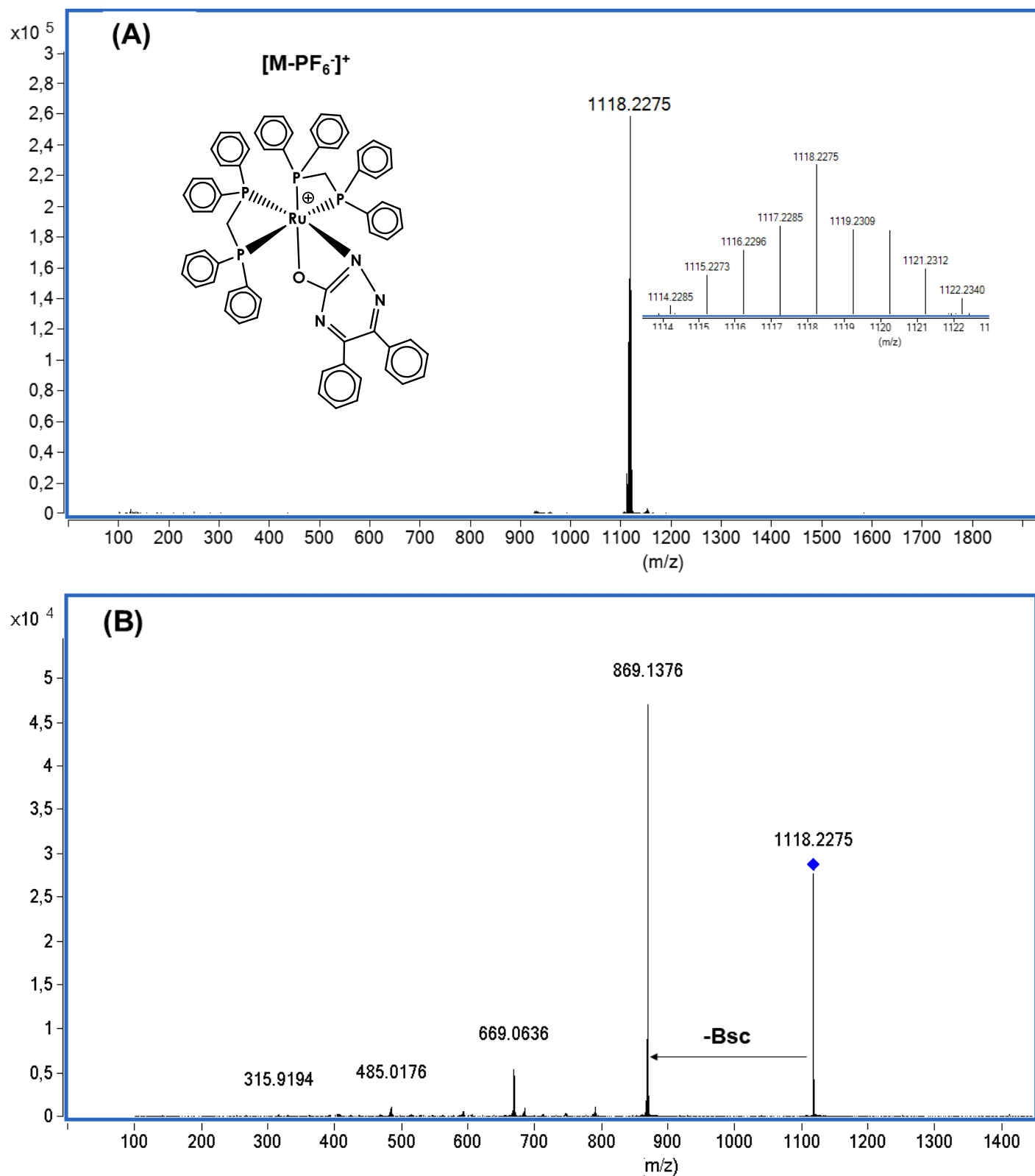
**Figura D3.** Espectros de RMN  $^{31}\text{P} \{^1\text{H}\}$  do complexo **4**, obtidos nos tempos de 0 (vermelho), 6 (amarelo), 12 (verde), 24 (azul) e 48 (roxo) hrs após solubilização no solvente  $d^6$ -DMSO, com os átomos de fósforo identificados.



Fonte: Dados da pesquisa.

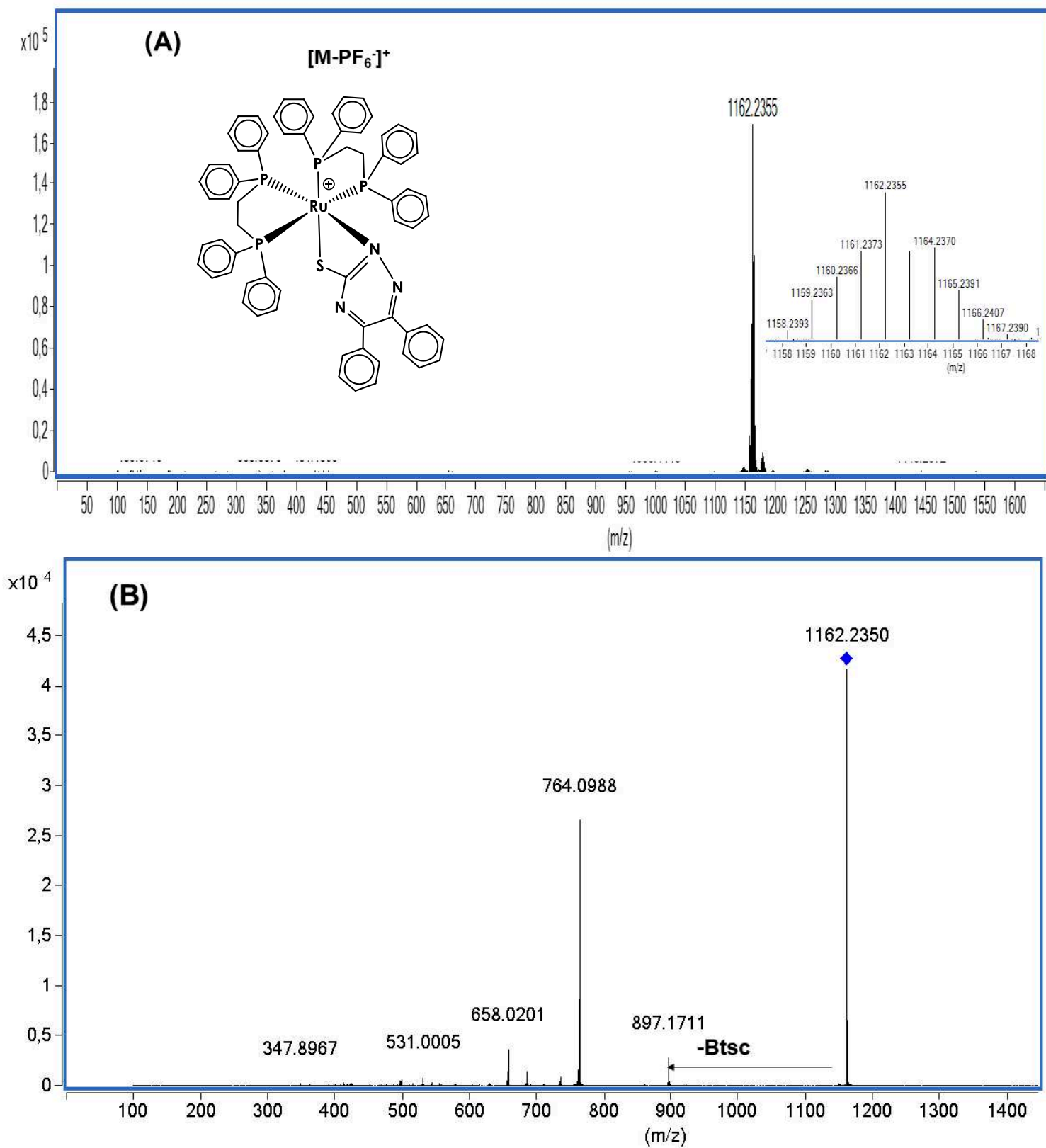
## APÊNDICE E – ESPECTROS DE MASSAS

**Figura E1. (A)** Espectro de massas HRESI-MS do complexo **2** **(B)** Espectro HRESI-MS/MS com padrão de fragmentação do complexo **2**.



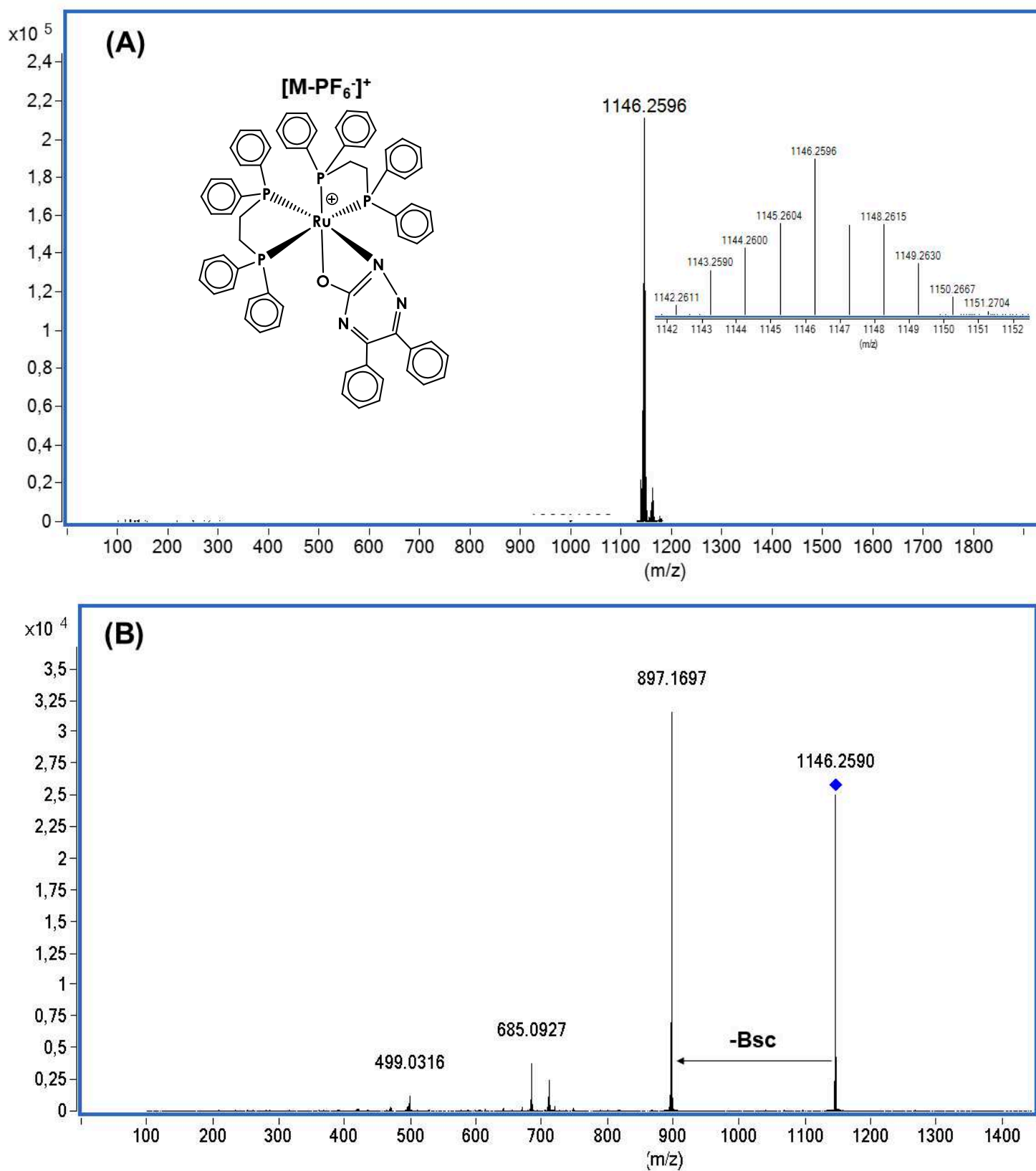
**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura E2. (A)** Espectro de massas HRESI-MS do complexo **3**. **(B)** Espectro HRESI-MS/MS com padrão de fragmentação do complexo **3**.



Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura E3. (A)** Espectro de massas HRESI-MS do complexo **4**. **(B)** Espectro HRESI-MS/MS com padrão de fragmentação do complexo **4**.



Fonte: Dados da pesquisa.

## APÊNDICE F – DADOS CRISTALOGRAFÍCOS DO COMPLEXO 1

**Tabela F1.** Dados cristalográficos e detalhes dos experimentos de difração do complexo 1.

Fórmula empírica	$C_{65}H_{54}P_5SN_3OF_6Ru$	
Massa molar ( $g\ mol^{-1}$ )	1279,09	
Temperatura (K)	296(2)	
Comprimento de onda (Å)	0,71073	
Sistema cristalino	Monoclínico	
Grupo espacial	$P21/c$	
Dimensões da cela unitária	$a = 20,283(2)\ \text{Å}$	$\alpha = 90^\circ$
	$b = 11,3236(10)\ \text{Å}$	$\beta = 104,824(4)^\circ$
	$c = 29,017(3)\ \text{Å}$	$\gamma = 90^\circ$
Volume (Å <sup>3</sup> )	6442,7(12)	
Z	4	
Coeficiente de absorção ( $mm^{-1}$ )	0,458	
Tamanho do cristal ( $mm^3$ )	0,33 x 0,11 x 0,02	
Alcance de $\theta$ (°)	1,452 a 26,365	
Alcances dos índices	$-25 \leq h \leq 25$	
	$-14 \leq k \leq 14$	
	$-36 \leq l \leq 36$	
Reflexões coletadas	159105	
Dados/restrições/parâmetros	13109/5/700	
Correção de absorção	Multi-scan	
<i>Goodness-of-fit</i> em $F^2$	1,023	
Índices R finais [ $I > 2\sigma(I)$ ]	$R_1 = 0,0555$	
	$wR_2 = 0,1331$	
Índices R (dados completos)	$R_1 = 0,0843$	
	$wR_2 = 0,1508$	

**Fonte:** Dados da pesquisa.

# checkCIF/PLATON report

Structure factors have been supplied for datablock(s) shelx

THIS REPORT IS FOR GUIDANCE ONLY. IF USED AS PART OF A REVIEW PROCEDURE FOR PUBLICATION, IT SHOULD NOT REPLACE THE EXPERTISE OF AN EXPERIENCED CRYSTALLOGRAPHIC REFEREE.

No syntax errors found.      CIF dictionary      Interpreting this report

## Datablock: shelx

---

Bond precision:	C-C = 0.0086 A	Wavelength=0.71073
Cell:	a=20.283(2)	b=11.3236(11)      c=29.017(3)
	alpha=90	beta=104.824(4)      gamma=90
Temperature:	296 K	
	Calculated	Reported
Volume	6442.7(11)	6442.7(12)
Space group	P 21/c	P 21/c
Hall group	-P 2ybc	-P 2ybc
Moiety formula	2(C65 H54 N3 P4 Ru S), 2(F6 P), C H2 Cl2	2(C65 H54 N3 P4 Ru S), 2(F6 P), C H2 Cl2
Sum formula	C131 H110 Cl2 F12 N6 P10 Ru2 S2	C131 H110 Cl2 F12 N6 P10 Ru2 S2
Mr	2643.12	2643.10
Dx, g cm-3	1.362	1.362
Z	2	2
Mu (mm-1)	0.500	0.500
F000	2700.0	2700.0
F000'	2699.12	
h, k, lmax	25, 14, 36	25, 14, 36
Nref	13153	13109
Tmin, Tmax	0.936, 0.990	0.709, 0.740
Tmin'	0.848	

Correction method= # Reported T Limits: Tmin=0.709 Tmax=0.740  
AbsCorr = MULTI-SCAN

Data completeness= 0.997      Theta(max)= 26.365

R(reflections)= 0.0552( 9365)      wR2(reflections)= 0.1505( 13109)

S = 1.025      Npar= 764

---

The following ALERTS were generated. Each ALERT has the format

**test-name\_ALERT\_alert-type\_alert-level.**

Click on the hyperlinks for more details of the test.

### ● Alert level C

PLAT214_ALERT_2_C	Atom F2A	(Anion/Solvent) ADP max/min Ratio	5.0	prolat
PLAT220_ALERT_2_C	Non-Solvent Resd 1	C Ueq(max)/Ueq(min) Range	3.9	Ratio
PLAT230_ALERT_2_C	Hirshfeld Test Diff for	C11 --C16	5.6	s.u.
PLAT234_ALERT_4_C	Large Hirshfeld Difference	C12 --C13	0.16	Ang.
PLAT234_ALERT_4_C	Large Hirshfeld Difference	P5 --F5B	0.23	Ang.
PLAT234_ALERT_4_C	Large Hirshfeld Difference	P5 --F6A	0.18	Ang.
PLAT241_ALERT_2_C	High 'MainMol' Ueq as Compared to Neighbors of	C13	Check	
PLAT241_ALERT_2_C	High 'MainMol' Ueq as Compared to Neighbors of	C25	Check	
PLAT241_ALERT_2_C	High 'MainMol' Ueq as Compared to Neighbors of	C105	Check	
PLAT241_ALERT_2_C	High 'MainMol' Ueq as Compared to Neighbors of	C405	Check	
PLAT241_ALERT_2_C	High 'MainMol' Ueq as Compared to Neighbors of	C415	Check	
PLAT242_ALERT_2_C	Low 'MainMol' Ueq as Compared to Neighbors of	C12	Check	
PLAT242_ALERT_2_C	Low 'MainMol' Ueq as Compared to Neighbors of	C26	Check	
PLAT250_ALERT_2_C	Large U3/U1 Ratio for Average U(i,j) Tensor	....	2.5	Note
PLAT342_ALERT_3_C	Low Bond Precision on	C-C Bonds .....	0.00856	Ang.
PLAT906_ALERT_3_C	Large K Value in the Analysis of Variance	.....	4.584	Check
PLAT977_ALERT_2_C	Check Negative Difference Density on	H15	-0.39	eA-3

### ● Alert level G

PLAT002_ALERT_2_G	Number of Distance or Angle Restraints on AtSite	16	Note
PLAT003_ALERT_2_G	Number of Uiso or Uij Restrained non-H Atoms ...	3	Report
PLAT083_ALERT_2_G	SHELXL Second Parameter in WGHT Unusually Large	9.62	Why ?
PLAT171_ALERT_4_G	The CIF-Embedded .res File Contains EADP Records	5	Report
PLAT172_ALERT_4_G	The CIF-Embedded .res File Contains DFIX Records	14	Report
PLAT173_ALERT_4_G	The CIF-Embedded .res File Contains DANG Records	2	Report
PLAT186_ALERT_4_G	The CIF-Embedded .res File Contains ISOR Records	1	Report
PLAT231_ALERT_4_G	Hirshfeld Test (Solvent) P5	--F1A	6.3 s.u.
PLAT231_ALERT_4_G	Hirshfeld Test (Solvent) P5	--F3A	6.7 s.u.
PLAT244_ALERT_4_G	Low 'Solvent' Ueq as Compared to Neighbors of	P5	Check
PLAT300_ALERT_4_G	Atom Site Occupancy of C11	Constrained at	0.5 Check
PLAT300_ALERT_4_G	Atom Site Occupancy of C12	Constrained at	0.5 Check
PLAT300_ALERT_4_G	Atom Site Occupancy of C1S	Constrained at	0.5 Check
PLAT300_ALERT_4_G	Atom Site Occupancy of H1S1	Constrained at	0.5 Check
PLAT300_ALERT_4_G	Atom Site Occupancy of H1S2	Constrained at	0.5 Check
PLAT302_ALERT_4_G	Anion/Solvent/Minor-Residue Disorder (Resd 2 )		86% Note
PLAT302_ALERT_4_G	Anion/Solvent/Minor-Residue Disorder (Resd 3 )		100% Note
PLAT304_ALERT_4_G	Non-Integer Number of Atoms in .....	Resd 3	2.50 Check
PLAT432_ALERT_2_G	Short Inter X...Y Contact F4A	..C1S	2.77 Ang.
		x,y,z =	1_555 Check
PLAT720_ALERT_4_G	Number of Unusual/Non-Standard Labels .....		2 Note
PLAT860_ALERT_3_G	Number of Least-Squares Restraints .....		33 Note
PLAT910_ALERT_3_G	Missing # of FCF Reflection(s) Below Theta(Min).		1 Note
PLAT912_ALERT_4_G	Missing # of FCF Reflections Above STh/L= 0.600		43 Note
PLAT978_ALERT_2_G	Number C-C Bonds with Positive Residual Density.		1 Info

0 **ALERT level A** = Most likely a serious problem - resolve or explain

0 **ALERT level B** = A potentially serious problem, consider carefully

17 **ALERT level C** = Check. Ensure it is not caused by an omission or oversight

24 **ALERT level G** = General information/check it is not something unexpected

0 ALERT type 1 CIF construction/syntax error, inconsistent or missing data

17 ALERT type 2 Indicator that the structure model may be wrong or deficient  
4 ALERT type 3 Indicator that the structure quality may be low  
20 ALERT type 4 Improvement, methodology, query or suggestion  
0 ALERT type 5 Informative message, check

---

It is advisable to attempt to resolve as many as possible of the alerts in all categories. Often the minor alerts point to easily fixed oversights, errors and omissions in your CIF or refinement strategy, so attention to these fine details can be worthwhile. In order to resolve some of the more serious problems it may be necessary to carry out additional measurements or structure refinements. However, the purpose of your study may justify the reported deviations and the more serious of these should normally be commented upon in the discussion or experimental section of a paper or in the "special\_details" fields of the CIF. checkCIF was carefully designed to identify outliers and unusual parameters, but every test has its limitations and alerts that are not important in a particular case may appear. Conversely, the absence of alerts does not guarantee there are no aspects of the results needing attention. It is up to the individual to critically assess their own results and, if necessary, seek expert advice.

### **Publication of your CIF in IUCr journals**

A basic structural check has been run on your CIF. These basic checks will be run on all CIFs submitted for publication in IUCr journals (*Acta Crystallographica*, *Journal of Applied Crystallography*, *Journal of Synchrotron Radiation*); however, if you intend to submit to *Acta Crystallographica Section C* or *E* or *IUCrData*, you should make sure that full publication checks are run on the final version of your CIF prior to submission.

### **Publication of your CIF in other journals**

Please refer to the *Notes for Authors* of the relevant journal for any special instructions relating to CIF submission.

---

**PLATON version of 20/08/2018; check.def file version of 20/08/2018**



