



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

Instituto de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

ROBERTA ROCHA MACÊDO

**Avaliação da atividade antitumoral de complexos organometálicos de  
rutênio(II) contendo ligantes  $\beta$ -dicetonas**

UBERLÂNDIA-MG

2023

ROBERTA ROCHA MACÊDO\*

**Avaliação da atividade antitumoral de complexos organometálicos de rutênio(II) contendo ligantes  $\beta$ -dicetonas**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de DOUTORA EM QUÍMICA, área de concentração: QUÍMICA INORGÂNICA.

**Orientador:** Gustavo Von Poelhsitz

\*bolsista CAPES

UBERLÂNDIA-MG

2023

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

M142  
2023

Macêdo, Roberta Rocha, 1991-  
Avaliação da atividade antitumoral de complexos organometálicos de rutênio(II) contendo ligantes beta-dicetonas [recurso eletrônico] / Roberta Rocha Macêdo. - 2023.

Orientador: Gustavo Von Poelhsitz.  
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Química.  
Modo de acesso: Internet.  
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.te.2023.188>  
Inclui bibliografia.

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

CDU: 54



**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 - cpgquimica@ufu.br



### ATA

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Tese de Doutorado Acadêmico, 136, PPGQUI				
Data:	Dois de março de dois mil e vinte e três	Hora de início:	13:15	Hora de encerramento:	19:20h
Matrícula do Discente:	11913QMI008				
Nome do Discente:	Roberta Rocha Macêdo				
Título do Trabalho:	"Avaliação da atividade antitumoral de complexos organometálicos de rutênio(II) contendo ligantes -dicetonas"				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Química Bioinorgânica, Fotoquímica e Fotobiologia				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	"Síntese, caracterização e avaliação da atividade biológica de novos complexos de rutênio(II)".				

Reuniu-se por meio de webconferência, link <https://meet.google.com/vde-pzan-gip>, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta: Professores Doutores: Wendell Guerra, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia; Carolina Gonçalves Oliveira, do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia; Legna Andreina Colina Vegas, do Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Rodrigo de Souza Corrêa, do Departamento de Química da Universidade Federal de Ouro Preto e Gustavo Von Poelhsitz, orientador da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr. Gustavo Von Poelhsitz, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu a 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 Doutor.

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 **Wendell Guerra, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/03/2023, às 08:01, 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 03/03/2023, às 09:00, 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 **Gustavo Von Poelhsitz, Professor(a) do Magistério Superior**, em 03/03/2023, às 09:03, 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 **Legna Andreina Colina Vegas, Usuário Externo**, em 03/03/2023, às 10:27, 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 **Rodrigo de Souza Corrêa, Usuário Externo**, em 03/03/2023, às 16:50, 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 **4287334** e o código CRC **294E78AE**.

"Um cientista no seu laboratório não é apenas um técnico: é, também, uma criança colocada à frente de fenômenos naturais que impressionam como se fossem um conto de fadas."

*Marie Curie*

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a Deus, primeiramente, a mim, pois apesar de inúmeras adversidades, segui resiliente e à minha família por toda força e amor.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, primeiramente, pelo dom da minha vida e por estar me permitindo realizar os sonhos que Ele implantou em meu coração. Por nunca ter me abandonado, mesmo quando mais me senti sozinha, e por ter me fortalecido em momentos em que eu já não conseguia mais ser forte. A Ti, toda honra e toda glória!

Agradeço às minhas famílias, de sangue e do coração. Sobre a família de sangue, agradeço imensamente aos meus pais Josy e Roberto, meus irmãos Ivana e Robertinho, à afilhada dos meus pais Clarinha, ao meu sobrinho Daniel, meu cunhado Márcio e aos meus tios e primos maternos. À minha prima Carlinha, fonte de inspiração na minha vida acadêmica. Minha gata também faz parte, já que na sua “irracionalidade” me deu muito amor e foi minha companheira em diversas situações. Aos amigos de longa data, que apesar da distância continuam de alguma forma presentes torcendo e vibrando pelas minhas conquistas. Gratidão por todo amor, apoio e confiança em mim depositados. Vocês são o meu lar, o meu refúgio. Eu amo muito todos vocês!

Sobre a família do coração, tenho plena consciência que são presentes de Deus, na verdade anjos que surgem no nosso caminhar. Agradeço à minha querida amiga Cris, seu marido William e minha afilhada Alícia. Aos meus vizinhos que me acolheram desde que cheguei em Uberlândia: Dona Austila, seu Antônio, Dalca e suas filhas Carol e Laura, sem esquecer do meu afilhado pet Thor; à dona Maria e seu Juquinha; aos meus amigos Luiz e Ednando juntamente com a minha afilhada pet, a Ariel. Vocês foram fundamentais nessa minha jornada, pois o carinho, cuidado e o afago de vocês minimizaram a saudade das pessoas que amo e que estão distantes. E com vocês aprendi que família está na alma e não no sangue. E que esses laços são mais valiosos e verdadeiros que qualquer parentesco. Obrigada por me valorizarem, por segurarem minha mão e me acolherem. Vocês são muito especiais e eu sou imensamente grata a Deus pela vida de todos vocês!

Ao Prof. Dr. Gustavo Von Poelhsitz, por ter me orientado com paciência, conhecimento e dedicação nessa jornada científica. Agradeço por toda disponibilidade, incluindo infraestrutura e parcerias, com o intuito de enriquecer o trabalho além de toda confiança em mim depositada durante este processo.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química da UFU, em especial aos que participaram da banca examinadora, pelo conhecimento compartilhado e contribuição para minha formação. Agradecimentos à Mayta, que durante o período em que estive na secretaria, sempre me ajudou com prazos e assuntos burocráticos. Que você

se recupere logo! Agradeço também aos que contribuíram para a realização deste trabalho, em especial ao Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista, por disponibilizar a estrutura de seu laboratório, equipamentos e alunos, em especial, a doutoranda Analu Rocha, para os ensaios biológicos; aos Prof. Dr. Pedro Ivo e Prof. Dr. Victor Deflon pelas coletas e refinamento referente às medidas cristalográficas; ao do Dr. Mario Machado Martins pelas análises de espectro de massas; aos técnicos Flaysner Magayver Portela e Roni Marcos dos Santos pelos serviços prestados nas análises de RMN e CHN.

Agradecimentos aos professores coordenadores do LAFOT Prof. Dr. Antônio Otávio Patrocínio, Prof. Dr. Antônio Eduardo da Hora Machado e Prof. Dr. Osmando Ferreira Lopes pelo espaço cedido para realização dos experimentos e concretização do projeto de pesquisa, pela ajuda e pela convivência. Aos amigos que a experiência profissional neste ambiente me trouxe, os ainda presentes: Marcos Eduardo Gomes do Carmo, Gabriela Nunes e a agregada Amanda Beatriz Nascimento; e os que já passaram por este laboratório, mas que ainda permanecem na minha vida: Bárbara Nunes, Higor de Oliveira Alves, Bruno Pontes Caixeta e Josiane Aparecida dos Reis. Obrigada por terem tornado o ambiente agradável e feliz, por estarem nesse processo junto comigo, por dividirem o conhecimento sem medo de competitividade, pela generosidade profissional, pelo acolhimento, pela sinceridade e por principalmente despertarem o que há de melhor em mim nos quesitos amizade e convivência.

À FAPEMIG e ao CNPq pelos recursos financeiros para o desenvolvimento do projeto.

À CAPES pela bolsa concedida.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estrutura química da cisplatina (1) e outros compostos de Pt(II) empregados no tratamento do câncer: carboplatina (2), lobaplatina (3) e oxaliplatina (4). .....	5
<b>Figura 2.</b> Esquema do mecanismo de ação da cisplatina com destaque (círculo vermelho) para etapa similar ao mecanismo proposto dos arenos de rutênio. ....	7
<b>Figura 3.</b> Esquema da ativação redox de complexos de rutênio com ação prófarmaco. ....	12
<b>Figura 4.</b> Mecanismo de ação proposto dos complexos de Ru(III) NAMI-A e KP1019 em células tumorais a partir da interação com a transferrina. ....	14
<b>Figura 5.</b> Estrutura dos complexos de rutênio(III) NAMI-A (1), KP1019/NKP-1339 (2) e RDC11 (3) com atividade antitumoral reconhecida. ....	15
<b>Figura 6.</b> Relação estrutura-atividade do areno $[RuCl(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(L1)(L2)]$ . ....	17
<b>Figura 7.</b> Estrutura do complexo RAPTA-C. ....	19
<b>Figura 8.</b> Organometálicos de rutênio(II) que exibiram resultados satisfatórios de citotoxicidade em diversas linhagens de câncer. ....	19
<b>Figura 9.</b> Mecanismo de hidrólise do complexo de rutênio RAPTA-C no meio intracelular. ....	20
<b>Figura 10.</b> Estrutura química da curcumina. ....	24
<b>Figura 11.</b> Confôrmers da subunidade 1-3 dicetona formação do ânion dicetonato e equilíbrio ceto-enólico. ....	26
<b>Figura 12.</b> Estrutura geral do ligante $\beta$ -dicetona livre. ....	27
<b>Figura 13.</b> Estrutura química da casiopeina III-ia, contendo o ligante acac (círculo azul fúcsia) .....	30
<b>Figura 14.</b> Organometálicos de Ru(II) com potencial atividade biológica frente às linhagens de câncer de ovário CH1 e osteosarcoma MG63 contendo ligantes $\beta$ -dicetona com grupo aril substituído pelo 4-clorofenil (azul), sendo (1) com ligante clorido (vermelho) e (2) com ligante pta (verde) e (3) com grupo aril substituído pelo tta (rosa) também com ligante pta (verde). ....	34
<b>Figura 15.</b> Organometálicos de rutênio(II) com o ligante acac e seus derivados com valores de atividade inibitória frente às linhagens A2780 e A549. ....	35
<b>Figura 16.</b> Representação dos ligantes empregados neste trabalho. ....	40
<b>Figura 17.</b> Espectros UV-Vis dos compostos $[Ru(bta)(p\text{-cim})(py)]PF_6$ (I) (traço verde), <b>Hbta</b> (traço verde claro), <b>py</b> (traço laranja) e <b>Rup-cim</b> (traço preto) em metanol na concentração $1 \times 10^{-5}$ mol L <sup>-1</sup> . ....	61
<b>Figura 18.</b> Espectros de IV entre 4000-250 cm <sup>-1</sup> do precursor <b>Rup-cim</b> e dos complexos I-V. ....	62
<b>Figura 19.</b> Espectros de absorção expandidos na região entre 3300 – 2700 cm <sup>-1</sup> (A) e entre 1400 – 800 cm <sup>-1</sup> (B) do precursor <b>Rup-cim</b> e dos novos complexos I-V. ....	64

<b>Figura 20.</b> Espectros de IV expandidos na região entre 310-250 cm <sup>-1</sup> referente ao estiramento vRu-Cl dos complexos <b>I-V</b> .....	64
<b>Figura 21.</b> Espectros de absorção expandidos em regiões entre 2000-1000 cm <sup>-1</sup> de principais modos vibracionais dos complexos <b>I-V</b> e dos seus respectivos ligantes <b>Hbta, Htta, Htff, Htff</b> e <b>Hbtc</b> .....	65
<b>Figura 22.</b> Espectro de absorção na região entre 1800-1000 cm <sup>-1</sup> dos compostos <b>I, Hbta</b> e precursor evidenciando a coordenação a partir do deslocamento e aparecimento de bandas. ....	66
<b>Figura 23.</b> Espectro com região ampliada entre 870-350 cm <sup>-1</sup> do ligante livre <b>py</b> e dos complexos <b>I-V</b> .....	68
<b>Figura 24.</b> Espectro de RMN- <sup>1</sup> H (400 MHz) obtido em CDCl <sub>3</sub> do complexo <b>I</b> com os hidrogênios identificados. ....	70
<b>Figura 25.</b> Espectros com região expandida referentes aos sinais dos prótons em baixo campo do grupo aromático do precursor presentes em todos complexos.....	77
<b>Figura 26.</b> Espectros com região expandida referentes aos sinais dos hidrogênios do ligante <b>bta</b> presentes no complexo <b>I</b> as respectivas atribuições. ....	78
<b>Figura 27.</b> Espectros com região expandida referentes aos sinais dos hidrogênios do ligante <b>py</b> presentes em todos complexos com as respectivas atribuições.....	79
<b>Figura 28.</b> Espectro de RMN - <sup>13</sup> C { <sup>1</sup> H}, obtido em CDCl <sub>3</sub> e frequência de 100 MHz, do complexo <b>I</b> com os carbonos identificados. ....	81
<b>Figura 29.</b> Estrutura Ortep do complexo <b>III</b> com elipsóides térmicos a 50% de probabilidade. Os átomos de flúor da fração CF <sub>3</sub> estão desordenados em duas posições diferentes a) componente principal com 85,3% de ocupação e b) componente menor com 14,7% de ocupação. ....	85
<b>Figura 30.</b> Estrutura Ortep do complexo <b>IV</b> com elipsóides térmicos a 50% de probabilidade. Os átomos de flúor da fração CF <sub>3</sub> estão desordenados em duas posições diferentes a) componente principal com 50,1% de ocupação e b) componente menor com 49,9% de ocupação. ....	85
<b>Figura 31.</b> (A) Espectro de massa HRESI-MS do complexo <b>I</b> com <i>m/z</i> 530,089 [M-PF <sub>6</sub> ] <sup>+</sup> , com ampliação dos picos isotópicos. (B) Espectro ESI-MS/MS de <i>m/z</i> 530,089 com fragmentação em <i>m/z</i> 451,0457. ....	90
<b>Figura 32.</b> Espectros de absorção UV-Vis em função do tempo para os complexos <b>I-V</b> em solução de tampão PBS diluído 10 vezes (pH= 7,6) e 1% de complexo/DMSO (1 x 10 <sup>-3</sup> mol L <sup>-1</sup> ) e temperatura ambiente. ....	93
<b>Figura 33.</b> RMN de <sup>1</sup> H do complexo <b>I</b> : tempo: 0 min, 6 h, 12 h e 48 h, em DMSO- <i>d</i> <sup>6</sup> , com expansão nas regiões de aparecimento de novos sinais. ....	96
<b>Figura 34.</b> RMN de <sup>1</sup> H do complexo <b>II</b> : tempo: 0 min, 6 h, 12 h e 48 h, em DMSO- <i>d</i> <sup>6</sup> , com expansão nas regiões de aparecimento de novos sinais. ....	97
<b>Figura 35.</b> RMN de <sup>1</sup> H do complexo <b>III</b> : tempo: 0 min, 6 h, 12 h e 48 h, em DMSO- <i>d</i> <sup>6</sup> , com expansão nas regiões de aparecimento de novos sinais. ....	98

<b>Figura 36.</b> RMN de $^1\text{H}$ do complexo <b>IV</b> : tempo: 0 min, 6 h, 12 h e 48 h, em $\text{DMSO-}d^6$ , com expansão nas regiões de aparecimento de novos sinais. ....	99
<b>Figura 37.</b> RMN de $^1\text{H}$ do complexo <b>V</b> : tempo: 0 min, 6 h, 12 h e 48 h, em $\text{DMSO-}d^6$ , com expansão nas regiões de aparecimento de novos sinais. ....	100
<b>Figura 38.</b> Viscosidade relativa do <i>ct</i> -DNA ( $80 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) conjugado aos novos compostos à $25^\circ\text{C}$ , em tampão tris-HCl ( $4,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de Tris HCl, $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ de Tris base e $50 \text{ mmol L}^{-1}$ de NaCl, pH 7,4), onde $\eta$ corresponde à viscosidade do DNA na presença dos complexos de rutênio e $\eta_0$ é a viscosidade do DNA.....	110
<b>Figura 39.</b> Representação esquemática das três morfologias do DNA plasmídeo observadas por eletroforese em gel de agarose. ....	112
<b>Figura 40.</b> Imagem de eletroforese em gel de agarose do plasmídeo pBR322 ( $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) após 150 min de corrida em tampão TAE com diferentes concentrações ( $20$ e $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) dos complexos <b>I-IV</b> (A) e <b>V</b> (B): banda 1: DNA + marcador; banda 2: DNA; bandas 3 e 4: <b>V</b> .....	113
<b>Figura 41.</b> Espectros de supressão de fluorescência da BSA na presença de $[\text{Ru}(\text{bta})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$ ( <b>I</b> ), em solução tampão PBS (pH = 7,3); $\lambda_{\text{exc.}} = 280 \text{ nm}$ . Os espectros foram obtidos a partir da titulação de $3 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BSA com adições de $30$ a $240 \mu\text{L}$ da solução do complexo <b>I</b> $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ , perfazendo as concentrações de $4,9 \times 10^{-6}$ a $3,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em complexo ( $a \rightarrow m = 2,4 \times 10^{-6}$ a $3,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ). ....	118
<b>Figura 42.</b> Espectros de supressão de fluorescência da BSA na presença de $[\text{Ru}(\text{tff})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$ ( <b>IV</b> ), em solução tampão PBS (pH = 7,3); $\lambda_{\text{exc.}} = 280 \text{ nm}$ . Os espectros foram obtidos a partir da titulação de $3 \mu\text{mol L}^{-1}$ de BSA com adições de $30$ a $240 \mu\text{L}$ da solução do complexo <b>IV</b> $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ , perfazendo as concentrações de $2,4 \times 10^{-6}$ a $3,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ em complexo ( $a \rightarrow m = 2,4 \times 10^{-6}$ a $3,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ). ....	119



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Distribuição proporcional dos cinco tipos de câncer mais comuns (casos em 2022 e mortalidade em 2020) por sexo, exceto pele não melanoma. ....	4
<b>Tabela 2.</b> Arenos de rutênio(II) selecionados e seus respectivos alvos biológicos. ....	21
<b>Tabela 3.</b> Atividade biológica de alguns complexos selecionados de Pd(II), Rh(III), Ir(III), Pt(II), Cu(II) e Ni(II) contendo ligantes $\beta$ -dicetonas em suas respectivas esferas de coordenação. ....	30
<b>Tabela 4.</b> Arenos de rutênio(II) selecionados contendo piridina e derivados com potencial atividade carcinogênica. ....	38
<b>Tabela 5.</b> Dados de análise elementar e condutivimétrica dos complexos de Ru(II). ....	56
<b>Tabela 6.</b> Valores de absorvidade ( $\epsilon_{\text{máx}}$ ) do precursor <b>Rup-cim</b> e as transições envolvidas, com as respectivas atribuições. ....	57
<b>Tabela 7.</b> Valores de absorvidade ( $\epsilon_{\text{máx}}$ ) dos ligantes piridina ( <b>py</b> ) e $\beta$ -dicetonas ( <b>Hbta</b> , <b>Htta</b> , <b>Htff</b> , <b>Htff</b> e <b>Hbtc</b> ), com transições envolvidas e respectivas atribuições. ....	57
<b>Tabela 8.</b> Valores de absorvidade ( $\epsilon_{\text{máx}}$ ) dos complexos <b>I-V</b> e as transições envolvidas, com as respectivas atribuições. ....	58
<b>Tabela 9.</b> Atribuições dos principais modos vibracionais dos espectros de absorção na região do infravermelho do precursor <b>Rup-cim</b> e complexos <b>I-V</b> . ....	62
<b>Tabela 10.</b> Modos vibracionais ( $\text{cm}^{-1}$ ) e atribuições do espectro no IV correspondentes às principais bandas referentes às $\beta$ -dicetonas em sua forma livre e nos complexos <b>I-V</b> . ....	67
<b>Tabela 11.</b> Modos vibracionais da piridina livre e nos complexos <b>I-V</b> . ....	69
<b>Tabela 12.</b> Deslocamentos químicos (ppm), atribuições de sinais, valores das integrais e constantes de acoplamento (Hz) dos prótons existentes no complexo precursor <b>Rup-cim</b> , <b>Hbta</b> , <b>py</b> e em seu derivado $[\text{Ru}(\text{bta})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$ ( <b>I</b> ). ....	71
<b>Tabela 13.</b> Deslocamentos químicos (ppm), atribuições de sinais, valores das integrais e constantes de acoplamento (Hz) dos prótons existentes no complexo precursor <b>Rup-cim</b> , <b>Htta</b> , <b>py</b> e em seu derivado $[\text{Ru}(\text{tta})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$ ( <b>II</b> ). ....	72
<b>Tabela 14.</b> Deslocamentos químicos (ppm), atribuições de sinais, valores das integrais e constantes de acoplamento (Hz) dos prótons existentes no complexo precursor <b>Rup-cim</b> , <b>Htff</b> , <b>py</b> e em seu derivado $[\text{Ru}(\text{tff})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$ ( <b>III</b> ). ....	73
<b>Tabela 15.</b> Deslocamentos químicos (ppm), atribuições de sinais, valores das integrais e constantes de acoplamento (Hz) dos prótons existentes no complexo precursor <b>Rup-cim</b> , <b>Htff</b> , <b>py</b> e em seu derivado $[\text{Ru}(\text{tff})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$ ( <b>IV</b> ). ....	74
<b>Tabela 16.</b> Deslocamentos químicos (ppm), atribuições de sinais, valores das integrais e constantes de acoplamento (Hz) dos prótons existentes no complexo precursor <b>Rup-cim</b> , <b>Hbtc</b> , <b>py</b> e em seu derivado $[\text{Ru}(\text{btc})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$ ( <b>V</b> ). ....	75

<b>Tabela 17.</b> Valores de deslocamentos químicos $\delta$ (ppm) de RMN de $^{13}\text{C}$ $\{^1\text{H}\}$ para os complexos <b>I-V</b> .....	83
<b>Tabela 18.</b> Variação de deslocamentos químicos selecionados de RMN $^{13}\text{C}$ em ligantes livres ( <b>Hbta</b> , <b>Htta</b> e <b>Hbtc</b> ) e nos respectivos complexos. ....	84
<b>Tabela 19.</b> Dados cristalográficos obtidos através da análise dos complexos $[\text{Ru}(\text{tfb})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$ ( <b>III</b> ) e $[\text{Ru}(\text{tff})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$ ( <b>IV</b> ).....	86
<b>Tabela 20.</b> Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para os complexos <b>III</b> e <b>IV</b> .....	88
<b>Tabela 21.</b> Valores teóricos e experimentais da razão m/z para os novos complexos de Ru(II). .....	91
<b>Tabela 22.</b> Valores de $\text{IC}_{50}$ do precursor, ligantes, complexos <b>I-V</b> e da cisplatina, com 48h de incubação.....	102
<b>Tabela 23.</b> Índice de seletividade dos complexos de rutênio(II) frente às linhagens de células MCF-7, MDA-MB-231, A549 e A2780-cis.....	106

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1.</b> Cinética das reações de substituição dos complexos $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ e $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ . .....	10
<b>Esquema 2.</b> Etapas da metodologia de síntese dos novos complexos.....	45
<b>Esquema 3.</b> Método geral de síntese, ligantes utilizados e estruturas propostas dos respectivos complexos de Ru(II).....	54

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

**A2780-cis:** linhagem de câncer de ovário resistente à cisplatina

**A549:** linhagem de câncer de pulmão

**acac:** ligante acetilacetato

**ATR:** Reflectância total atenuada

**bta:** 1,3- butanodiona-1-fenil-4,4,4-trifluoro desprotonado

**CHN:** Teor de carbono, hidrogênio e nitrogênio

**CipA:** ligante 7-(4-(decanoil)piperozin-1-il)-ciprofloxacina

**DACH:** diaminociclohexano

**ddd:** duplo duplo dubleto

**DNA:** *Deoxyribonucleic acid*

**FDA:** *Food and Drug Administration*

**FBS:** soro fetal bovino

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

**HeLa:** linhagem de câncer cervical

**Hbta:** 1,3- butanodiona-1-fenil-4,4,4-trifluoro

**Htibr:** 1,3-butanodiona -1-(4-bromofenil)-4,4,4-trifluoro

**Htfc:** 1,3-butanodiona -1-(4-clorofenil)-4,4,4-trifluoro

**Htff:** 1,3-butanodiona-1-(4-fluorofenil)-4,4,4-trifluoro

**Htta:** 2-tenoiltrifluoroacetona

**IC<sub>50</sub>:** Concentração do fármaco empregado para redução de 50% da população de vírus, protozoários ou afins em análise

**IV:** Infravermelho

**INCA:** Instituto Nacional de Câncer

**KP1019:** *trans*-tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III)

**MM:** massa molar

**MCa:** carcinoma mamário

**MCF-7:** linhagem de adenocarcinoma de mama hormônio dependente

**MCF-10A:** linhagem de carcinoma epitelial de mama não tumoral

**MDA-MB-238:** linhagem de adenocarcinoma de mama triplo negativo

**MIC:** Concentração inibitória mínima

**MRC-5:** fibroblasto pulmonar humano não tumoral

**MTT:** brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio

**NAMI-A:** *trans*-tetracloro(dimetilsulfoxido)(imidazol)rutenato(III)

**NKP-1339:** *trans*-tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III) de sódio

**OC:** conformação circular relaxada

**O-O:**  $\beta$ -dicetonato na forma bidentada

**pta:** ligante 1,3,5, triaza-7-fosfatociclodecano

**py:** piridina

***p-cim:*** *p*-cimeno

**RMN <sup>1</sup>H:** Ressonância magnética nuclear de hidrogênio

**RMN <sup>13</sup>C:** Ressonância magnética nuclear de carbono

**RNA:** *ribonucleic acid*

**SC:** superenrolada

**TAE:** Tris-Acetato-EDTA

**tfbr:** 1,3-butanodionato -1-(4-bromofenil)-4,4,4-trifluoro

**ttf:** 1,3-butanodionato-1-(4-fluorofenil)-4,4,4-trifluoro

**tta:** 2-tenoiltrifluoroacetato

**tfcl:** 1,3-butanodionato -1-(4-clorofenil)-4,4,4-trifluoro

**U2SO:** osteossarcoma humano

**u.a:** unidade arbitrária

**UV-Vis:** região do espectro eletromagnético correspondente à luz ultravioleta e visível

**WHO:** *World Health Organization*

**v:** Vibração de estiramento axial ( $v_{as}$ : estiramento assimétrico;  $v_s$ : estiramento simétrico)

**$\delta$ :** Vibração molecular de deformação angular simétrica no plano (“scissors”)

**$\beta$ :** Vibração molecular de deformação angular assimétrica no plano (“rocking”)

**$\omega$ :** Vibração molecular de deformação angular simétrica fora do plano (“wagging”)

**$\gamma$ :** Vibração molecular de deformação angular assimétrica fora do plano (“twist”)

**$\eta^6$ :** hapticidade do ligante *p*-cimeno

**$\epsilon$ :** absorvidade molar

**$\lambda$ :** comprimento de onda

***J*:** constante de acoplamento

## RESUMO

### “AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DE COMPLEXOS ORGANOMETÁLICOS DE RUTÊNIO(II) CONTENDO LIGANTES $\beta$ -DICETONAS”

Nesta tese, são descritas a síntese, caracterização e avaliação de atividade antitumoral de cinco complexos organometálicos de rutênio(II) monocatiônicos contendo ligantes  $\beta$ -dicetona e piridina. Os complexos sintetizados apresentaram como fórmula geral  $[\text{Ru}(\text{O}-\text{O})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$ , sendo (O-O): 1,3-butanodiona-1-fenil-4,4,4-trifluoro (bta) (**I**), 2-tenoiltrifluoroacetona (tta) (**II**), 1,3-butanodiona-1-(4-bromofenil)-4,4,4-trifluoro (tfb) (**III**), 1,3-butanodiona-1-(4-fluorofenil)-4,4,4-trifluoro (tff) (**V**), 1,3-butanodiona-1-(4-clorofenil)-4,4,4-trifluoro (btc) (**V**); *p*-cim:  $\eta^6$ -*p*-cimeno e py: piridina. Os complexos foram analisados por técnicas usuais de caracterização, tais como condutividade molar, CHN, espectroscopia de IV e UV-Vis, RMN ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ ), espectrometria de massas e difração de raios X de monocristal. Além disso, todos os complexos foram estudados quanto às suas estabilidades nos solventes empregados em testes biológicos e foi verificado que os complexos **I** e **III** exibiram melhor perfil de estabilidade em solução. Os ensaios de atividade antitumoral *in vitro* foram realizados frente a linhagens tumorais histologicamente distintas A549, A2780-*cis*, MCF-7 e MDA-MB-231, e frente a linhagens não tumorais, MRC-5 e MCF-10A. Através dos resultados obtidos foi possível inferir que a inserção dos ligantes ao precursor de rutênio promoveu o aumento da atividade biológica, uma vez que Ru(II)/areno foi inativo e os ligantes ativos exibiram citotoxicidade inferior aos respectivos complexos. Nessa série, todos os complexos exibiram bons valores de citotoxicidade frente à linhagem resistente a cisplatina A2780-*cis* ( $\text{IC}_{50} = 5,06 - 10,83 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), MCF-7 ( $\text{IC}_{50} = 10,17 - 34,78 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e MDA-MB-231 ( $\text{IC}_{50} = 8,25 - 46,14 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), ressaltando que o composto **III** foi o mais ativo em todas as linhagens tumorais testadas ( $\text{IC}_{50} = 5,07 - 42,47 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Para a A549, exceto o **II**, os demais complexos exibiram moderada citotoxicidade. Para as linhagens não tumorigênicas os complexos foram menos tóxicos que a cisplatina para MCF-10A, com destaque para o **V**, que foi inativo. Além disso, todos os complexos foram mais seletivos que a cisplatina na A2780-*cis* e, para MCF-7, o **V** exibiu índice de seletividade  $> 6$ . Todos os complexos não interagem com DNA por intercalação nem por ligação covalente, podendo apresentar interações reversíveis e fracas. Os testes preliminares com a BSA demonstraram que os complexos **I** e **IV** interagem com essa proteína, podendo estar associada à farmacocinética desses compostos.

**Palavras-chave:**  $\beta$ -dicetonas, rutênio(II), câncer.

## ABSTRACT

“EVALUATION OF THE ANTI-TUMOR ACTIVITY OF RUTHENIUM(II) ORGANOMETALLIC COMPLEXES CONTAINING  $\beta$ -DIKETONE LIGANDS” In this work, the synthesis, characterization and evaluation of the antitumor activity of five monocationic ruthenium(II) organometallic complexes containing  $\beta$ -diketone and pyridine ligands are described. The synthesized complexes presented the general formula  $[\text{Ru}(\text{O}-\text{O})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$ , being (O-O): 4,4,4-trifluoro-1-phenyl-1,3-butanedione (bta) **(I)**, 2-thenoyltrifluoroacetone (tta) **(II)**, 1-(4-bromophenyl)-4,4,4-trifluoro-1,3-butanedione (tfb) **(III)**, 4,4,4-trifluoro-1-(4-fluorophenyl)butane-1,3-dione (tff) **(IV)**, 1-(4-chlorophenyl)-4,4,4-trifluoro-1,3-butanedione (btc) **(V)**; *p-cim*:  $\eta^6$ -*p*-cymene and *py*: pyridine. The complexes were analyzed by usual characterization techniques, such as molar conductivity, elemental analysis, absorption spectroscopy in the infrared and visible ultraviolet region,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  nuclear magnetic resonance spectroscopy, mass spectrometry and X-ray diffraction. In addition, all complexes were studied regarding their stability in the solvents used in the biological tests and it was verified that complexes **I** and **III** exhibited a better stability profile in solution. The *in vitro* antitumor activity assays were performed against histologically distinct tumor cell lines A549, A2780-*cis*, MCF-7 and MDA-MB-231, and against non-tumor cell lines, MRC-5 and MCF-10A. Through the results obtained, it was possible to infer that the insertion of ligands to the ruthenium precursor promoted an increase in biological activity, since Ru(II)/arene was inactive and the active ligands exhibited lower cytotoxicity than the respective complexes. In this series, all complexes exhibited good cytotoxicity values against the cisplatin-resistant cell lines A2780-*cis* ( $\text{IC}_{50} = 5.06 - 10.83 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), MCF-7 ( $\text{IC}_{50} = 10.17 - 34.78 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) and MDA -MB-231 ( $\text{IC}_{50} = 8.25 - 46.14 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), emphasizing that compound **III** was the most active in all tumor cell lines tested ( $\text{IC}_{50} = 5.07 - 42.47 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). For A549, except for **II**, the other complexes exhibited moderate cytotoxicity. For non-tumorigenic ligands, the complexes were less toxic than cisplatin for MCF-10A, with emphasis on **V**, which was inactive. In addition, all complexes were more selective than cisplatin at A2780-*cis* and for MCF-7, **V** exhibited selectivity index  $> 6$ . All complexes do not interact with DNA by intercalation or covalent binding, and may present reversible interactions and weak. Preliminary tests with BSA demonstrated that complexes **I** and **IV** interact with this protein, possibly being associated with the pharmacokinetics of these compounds.

**Keywords:**  $\beta$ -diketones, ruthenium(II), cancer.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>1.1 Câncer</b> .....	1
1.1.1 Causas e epidemiologia .....	2
1.1.2 Tratamento .....	4
<b>1.2 Aspectos gerais e aplicações biológicas de compostos à base de rutênio</b> .....	9
1.2.1 Química do rutênio .....	9
1.2.2 Vantagens biológicas do rutênio e seus complexos de coordenação .....	10
1.2.3 Organometálicos de rutênio(II) com ênfase em arenos: propriedades químicas e atividade antitumoral .....	16
<b>1.3 A importância dos ligantes na modelagem de fármacos para o desenvolvimento de novos agentes bioativos</b> .....	22
1.3.1 Ligantes β-dicetonas e sua importância farmacológica .....	23
1.3.2 Piridina e sua importância farmacológica .....	36
<b>1.4 Enunciado da hipótese do presente trabalho</b> .....	39
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	41
<b>2.1 Gerais</b> .....	41
<b>2.2 Específicos</b> .....	41
<b>3. METODOLOGIA</b> .....	42
<b>3.1 Materiais e métodos</b> .....	42
3.1.1 Reagentes .....	43
<b>3.2 Síntese dos derivados de <math>[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})]_2</math></b> .....	44
3.2.1 Síntese do complexo precursor $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})]_2$ .....	44
3.2.2 Síntese dos complexos de fórmula geral $[\text{Ru}(\text{O}-\text{O})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$ .....	44
<b>3.3 Caracterização físico-química</b> .....	47
3.3.1 Análise elementar (CHN) .....	47
3.3.2 Condutividade Molar .....	48
3.3.3 Espectroscopia de absorção na região do Ultravioleta Visível (UV-Vis) .....	48
3.3.4 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV) .....	48
3.3.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear .....	48

3.3.6	Difração de raios X por monocristal .....	48
3.3.7	Espectrometria de massa .....	49
<b>3.4</b>	<b>Avaliação da estabilidade, ensaios biológicos <i>in vitro</i> e interação com biomoléculas dos complexos sintetizados</b> .....	<b>49</b>
3.4.1	Avaliação da estabilidade dos complexos .....	49
3.4.2	Ensaio biológico <i>in vitro</i> .....	50
3.4.3	Estudos de interação com biomoléculas.....	51
3.4.3.1	Biomolécula: DNA.....	51
3.4.3.2	Ensaio preliminar com biomolécula: BSA .....	52
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>53</b>
<b>4.1</b>	<b>Aspectos gerais dos complexos de Ru(II) sintetizados</b> .....	<b>53</b>
<b>4.2</b>	<b>Caracterização físico-química</b> .....	<b>55</b>
4.2.1	Análise elementar .....	55
4.2.2	Condutividade Molar.....	56
4.2.3	Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis .....	57
4.2.4	Espectroscopia de absorção na região do infravermelho .....	62
4.2.4	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	69
4.2.4.1	Ressonância Magnética Nuclear de <sup>1</sup> H .....	70
4.2.4.2	Ressonância Magnética Nuclear de <sup>13</sup> C { <sup>1</sup> H} .....	80
4.2.5	Difração de raios X por monocristal .....	84
4.2.6	Espectrometria de Massas .....	89
<b>4.3</b>	<b>Avaliação da estabilidade, ensaios biológicos <i>in vitro</i> e interação com biomoléculas dos complexos sintetizados</b> .....	<b>92</b>
4.3.1	Estudo de estabilidade dos novos complexos.....	92
4.3.2	Avaliação de atividade antitumoral frente às linhagens de células .....	101
4.3.3	Estudos espectroscópicos de interação com o DNA .....	107
4.3.3.1	Estudo hidrodinâmico de viscosidade .....	109
4.3.3.2	Estudo de interação dos complexos com DNA utilizando eletroforese em gel .....	111
4.3.4	Estudos preliminares de interação com albumina sérica bovina (BSA).....	114
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>120</b>



<b>6. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>122</b>
<b>7. ANEXOS .....</b>	<b>154</b>

# 1. INTRODUÇÃO

A parte introdutória descreve sobre alguns tópicos considerados relevantes para compreensão do trabalho realizado, iniciando com a temática pertinente à aplicação biológica de interesse, e finalizando com a hipótese investigada.

## 1.1 Câncer

O termo câncer é geralmente utilizado para denominar um grupo de mais de 100 doenças crônico-degenerativas multifatoriais nas quais as células de uma determinada parte do corpo (órgão ou tecido) crescem exponencialmente sem controle, formando neoplasias ou tumores malignos (INCA, 2022a; WHO, 2022; NCI, 2022). A transformação progressiva da célula normal em uma célula tumoral ocorre a partir do processo de carcinogênese que pode ser dividido em três etapas: iniciação, promoção e progressão; as quais serão detalhadas na seção posterior. A diferenciação das células tumorais das células normais se dá a partir das características particulares, tais como impedimento dos supressores de crescimento, permissão do processo de replicação, resistência à morte celular, indução ao processo de angiogênese, ativação de metástase e invasões, mutação do genoma, dentre outras. As três primeiras características envolvem o processo de proliferação descontrolada no qual há indução da replicação do RNA, o que torna as células tumorais mais suscetíveis aos agentes que têm como molécula alvo o DNA (HANAHAN, 2022). Além disso, eventos como inativação de genes supressores de tumor e relacionados à apoptose, bem como ativação de oncogêneses (PEDRAZA-FARINA, 2006) podem levar ao descontrole do ciclo celular, promovendo o acúmulo de erros no DNA das células em divisão (STRATTON *et al.*, 2009).

Nessa perspectiva, as células alteradas geneticamente passam a ignorar os sinais inibitórios de crescimento, evitar a morte celular, replicar-se sem restrições, além de favorecer a invasão de outros tecidos através de membranas basais e capilares a partir da formação de novos vasos sanguíneos. Essas alterações, que podem ocorrer tanto em células germinativas quanto em células somáticas, resultam na incapacidade do sistema imune em eliminar as células tumorais devido aos efeitos imunossupressores mediados pelas mesmas (BHUTIA; MAITI, 2008; HANAHAN; WEINBERG, 2011). Em se tratando das germinativas que, neste caso, são células reprodutoras que geram outras células, a alteração genética é herdada. Ao contrário das células somáticas, que são adquiridas ao longo da vida a partir do acúmulo de mutações genéticas proveniente de fatores exógenos e endógenos. Por isso, ambos tipos de células são essenciais no que se

refere à predisposição individual ao câncer, o que pode influenciar não apenas na iniciação da patologia, como também na progressão tumoral (BRAY *et al.*, 2018; INCA,2022a).

Deve-se considerar também que a diferenciação do tipo de câncer é decorrente de dois fatores: o tipo de célula do corpo que foi atingida, bem como sua velocidade de multiplicação. Quando o câncer se inicia nos tecidos epiteliais (pele ou mucosas), são denominados carcinomas e os que ocorrem nos tecidos conjuntivos, a exemplo, ossos, músculos ou cartilagem, são definidos como sarcomas. A diferenciação dependente da velocidade de multiplicação é conhecida como metástase, uma das principais causas de morte dessa doença, na qual há o espalhamento das células tumorais para além do sítio primário, sendo disseminada para outros tecidos e órgãos através da corrente sanguínea ou dos vasos linfáticos, promovendo também a angiogênese (INCA,2022a). Vale ressaltar que as células de todos os tumores malignos exibem potencial de invasão e metástase, porém cada neoplasia apresenta características clínicas e biológicas específicas, uma vez que pode envolver fatores diversos (CAIXEIRO *et al.*, 2014).

### **1.1.1 Causas e epidemiologia**

O processo de formação do câncer, a carcinogênese, como citado anteriormente, consiste em três etapas (DE ALMEIDA *et al.*, 2005). Na iniciação, o desenvolvimento do tumor é decorrente da anomalia genética em alguma etapa do ciclo celular, a qual pode promover a danificação no DNA, resultando na disfunção em processos que envolvem destruição e/ou limitação das células anormais existentes. Na promoção, há a proliferação clonal das células, já que as células geneticamente modificadas, a partir de agentes oncopromotores, tornam-se gradualmente células malignas, podendo originar tumores malignos a partir do acúmulo celular e, conseqüentemente, formação de uma massa tecidual (VOGELSTEIN; KINZLER, 2004). A última etapa, a fase progressiva, mais agressiva e irreversível envolve a metástase, uma vez que há a multiplicação descontrolada das células e, a partir de sua evolução, surgem as manifestações clínicas da doença (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Além disso, o processo de formação do câncer pode estar relacionados à fatores endógenos (mutações herdadas ou decorrentes do metabolismo, desordem hormonal e condições imunológicas) ou fatores exógenos, mais relacionados ao estilo de vida do indivíduo (consumo de tabaco e/ou álcool, sobrepeso, sedentarismo, alimentação

inadequada, contato com agentes químicos, físicos ou biológicos, além de infecções tais como hepatite e papiloma vírus humano), que atuando simultaneamente ou em sequência, podem desencadear alterações genéticas que estimulam a mutação progressiva de células normais em malignas (BHUTIA; MAITI, 2008; HANAHAN; WEINBERG, 2011). Outro fator é o envelhecimento, considerando que os mecanismos de reparação celular vão perdendo sua funcionalidade ao longo do tempo (BRASIL, 2022; WHO, 2022).


O câncer tem se tornado um grave problema de saúde pública, sendo uma das quatro doenças responsáveis pelo maior número de mortalidade e incidência, o que é preocupante, já que esses números vêm crescendo exponencialmente no decorrer dos anos (VOKÁČOVÁ *et al.*, 2018; BRAY *et al.*, 2018; YOUSUF *et al.*, 2021). Na pandemia da COVID-19, apesar de ser uma das doenças inseridas no grupo de comorbidade, os tratamentos e diagnósticos transgrediram, o que resultou em um falso declínio no número de casos, corroborando para o diagnóstico em estágio avançado e, conseqüentemente, em uma maior mortalidade (SIEGEL *et al.*, 2022; SUNG *et al.*, 2021)

De acordo com a WHO (*World Health Organization*), a nível global, estima-se que no ano 2030 haverão 27 milhões de novos casos de câncer, 17 milhões de mortes e 75 milhões de pessoas vivas com câncer. Em 2000, dez milhões de pessoas foram diagnosticadas com câncer e esse número total quase dobrou em 2020, com 19,3 milhões de diagnósticos. Segundo as projeções para o futuro, uma em cada cinco pessoas no mundo tende a desenvolver essa doença durante a vida. A mortalidade também aumentou de 6,2 milhões em 2000 para 10 milhões em 2020 (WHO, 2022).

No Brasil, de acordo com dados do controle para a vigilância epidemiológica realizados pelo Instituto Nacional do Câncer, estima-se 704 mil casos novos de câncer para cada ano do triênio 2023-2025 (INCA, 2022c). Em 2020 foram notificados 316.280 novos casos para mulheres e 309.750 novos casos para homens, sendo que 108.318 mulheres e 117.512 homens não resistiram à doença. Na Tabela 1 estão apresentados números de incidência em 2022 e mortalidade em 2020 conforme a localização primária do tumor e sexo. A partir desses dados observa-se que o tipo de câncer de maior incidência em mulheres foi o câncer de mama (30,0%) bem como de maior mortalidade (16,5%), ao contrário do câncer de ovário que exhibe números inferiores (3% de casos e 3,6% de óbitos). Já os tumores de localização primária na traquéia, brônquio e pulmão, é o segundo maior no quesito mortalidade tanto em homens (13,6 %) quanto em mulheres (11,5%). Em se tratando dos homens, o câncer de próstata ainda é o de maior incidência (30,0%) e

mortalidade (13,5%) dentre todos existentes (INCA, 2022b; INCA, 2022c; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022).

**Tabela 1.** Distribuição proporcional dos cinco tipos de câncer mais comuns (casos em 2022 e mortalidade em 2020) por sexo, exceto pele não melanoma.

Localização primária	Casos (%)	Óbitos (%)			Localização primária	Casos (%)	Óbitos (%)
<b>Próstata</b>	71.730 (30,0)	15.841 (13,5)	<b>Homens</b>		<b>Mama feminina</b>	73.610 (30,1)	17.825 (16,5)
<b>Cólon e Reto</b>	21.970 (9,2)	9.889 (8,4)			<b>Cólon e Reto</b>	23.660 (9,7)	10.356 (9,6)
<b>Traqueia, Brônquio e Pulmão</b>	18.020 (7,5)	16.009 (13,6)			<b>Colo do útero</b>	17.010 (7,0)	6.627 (6,1)
<b>Estômago</b>	13.340 (5,6)	8.772 (7,5)			<b>Traqueia, Brônquio e Pulmão</b>	14.540 (6,0)	12.609 (11,6)
<b>Cavidade oral</b>	10.900 (4,6)	6.465 (5,5)			<b>Ovário</b>	7.310 (3,0)	3.921 (3,6)

**Fonte:** MS / INCA / Estimativa de Câncer no Brasil; S / INCA / Coordenação de Prevenção e Vigilância / Divisão de Vigilância e Análise de Situação, 2021.

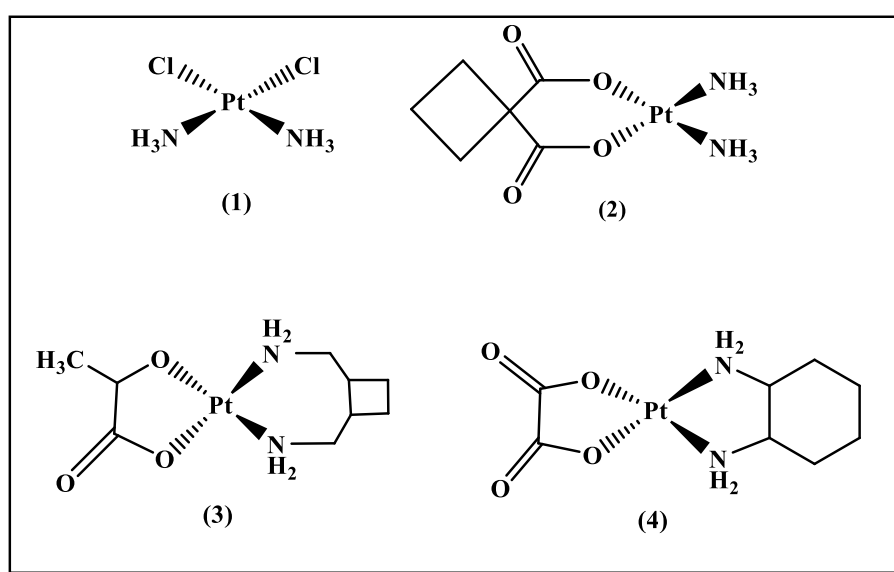
### 1.1.2 Tratamento

O tratamento do câncer segue três abordagens distintas: a cirurgia, a radioterapia, a terapia sistêmica, ou a combinação destes. A escolha do tratamento depende do tipo de câncer do indivíduo, bem como o estágio em que se encontra a doença (CORRIE, 2011; CALEY, JONES 2012). Pacientes que foram diagnosticados no estágio mais precoce da doença, com tumores de baixa ou inexistente capacidade metastática, podem ser curados com a remoção do tumor ou radioterapia (MINNA, 2008; DEVITA *et al.*, 2011). Em casos mais graves, utiliza-se da terapia sistêmica, sendo a quimioterapia mais empregada. Esse método consiste no emprego de fármacos conhecidos como agentes antineoplásicos, que funcionam como destruidores de células que apresentam altas velocidades de divisão, sendo esta uma das principais características da maioria das células tumorais. No entanto, a maioria desses agentes não exibem a seletividade necessária, já que, além de atuar nas células tumorais, também afetam as células saudáveis que possuem mecanismos de reparo

mais eficazes, a exemplo, as células da medula óssea, o trato gastrointestinal e os folículos pilosos (DEVITA *et al.*, 2011).

Ao longo dos anos, diversos estudos na área da química têm sido direcionados para as aplicações médicas, seja em termos de terapêutica ou em diagnósticos. A investigação de novos agentes com potencial antitumoral tem proporcionado um crescimento gradual no conhecimento acerca das causas do câncer, nos mecanismos biológicos associados à mesma, oferecendo a oportunidade de desenvolver estratégias de intervenção na sua progressão, bem como o *design* de novos fármacos. Nesse contexto, para o tratamento dessa doença, os metalofármacos têm sido uma das classes de compostos mais empregadas desde a descoberta do complexo *cis*-diaminodicloroplatina(II), mais conhecido como cisplatina. Esse composto é estudado desde o século XX após Rosenberg descobrir as propriedades antibacterianas contra *Escherichia Coli*, tendo depois estendido para o uso contra o câncer (KALAIARASI *et al.*, 2022). Diante das propriedades antineoplásicas satisfatórias, a cisplatina, o primeiro composto à base de metal a entrar em uso clínico mundialmente para o tratamento de câncer, entre outros compostos de Pt(II) desenvolvidos posteriormente (Figura 1) são bastante usados na prática médica atual (YILMAZ *et al.*, 2018; YADHUKRISHNAN *et al.*, 2020; SUDHINDRA *et al.*, 2020).

**Figura 1.** Estrutura química da cisplatina (1) e outros compostos de Pt(II) empregados no tratamento do câncer: carboplatina (2), lobaplatina (3) e oxaliplatina (4).



Fonte: Autora.

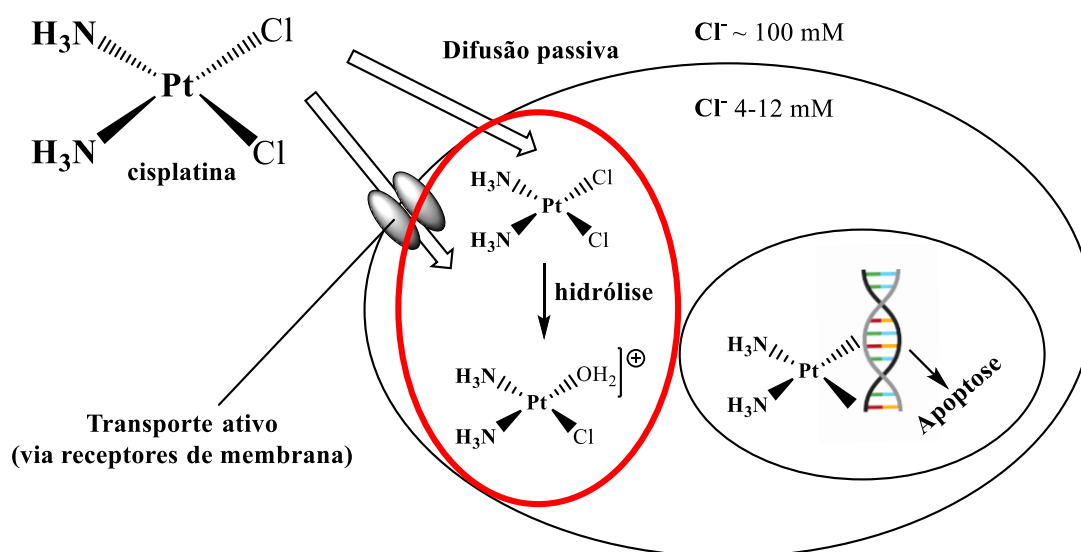
Os compostos carboplatina e oxaliplatina, por exemplo, estão em testes clínicos atualmente, após da aprovação da agência norte-americana FDA (*Food and Drug Administration*) (MJOS, ORVIJ, 2014; NEVES, VARGAS, 2011). Em se tratando da carboplatina (**2**), a primeira escolha no tratamento de câncer de ovário, a síntese foi realizada em 1973 por Cleare e Hoeschele, e patenteada em 1979. A solubilidade deste composto é justificada pela presença do grupo abandonador substituinte dos cloridos, o 1,1-ciclobutanodicarboxilato (dicarboxilato), que influencia diretamente em aspectos farmacológicos, tais como ototoxicidade e nefrotoxicidade. A minimização desses efeitos adversos é atribuída ao efeito quelante do ligante dicarboxilato (anel de seis membros), que resulta numa reação de substituição nucleofílica (por água) mais lenta. A menor labilidade deste ligante quando comparado ao ligante clorido confere, nesse sentido, uma maior inércia do complexo em meio biológico e, além disso, promove a biodisponibilidade ideal, sem acúmulo em grandes quantidades nos plasma (CLEARE, HOESCHELE, 1973; DEZOIZE, MADOULET, 2002).

A oxaliplatina (**4**), por sua vez, só recebeu aprovação da FDA em 2002. Atualmente é empregada no tratamento de câncer colorretal em casos específicos como, por exemplo, o retorno da doença; agravamento do quadro clínico após a utilização de fármacos combinados em uma terapia inicial. A diferença estrutural desse composto quando comparado à cisplatina envolve a presença do ligante carreador diaminociclohexano (DACH) e do grupo abandonador carboxilato. Além disso, foi o primeiro fármaco a exibir atividade frente às linhagens de células resistentes à cisplatina. A formação de adutos a partir da interação deste complexo com o DNA não gera o mesmo fragmento ativo da cisplatina ( $\text{Pt}(\text{NH}_3)_2$ ), por não possuir grupos  $\text{NH}_3$  e, por isso, não são reconhecidos pelo sistema de reparo desta biomolécula (WHEATE *et al.*, 2010). A lobaplatina (**3**), nedaplatina e heptaplatina estão em fases de testes clínicos nos Estados Unidos, entretanto, são comercializados apenas em alguns países (RIXE *et al.*, 1996; MJOS, ORVIJ, 2014)

Bem como a oxaliplatina, a cisplatina (**1**) exibe atividade antitumoral devido à capacidade de interação com o DNA, como exibido na Figura 2, resultando também na formação do aduto, que, neste caso especificamente, ocorre pela interação 1,2-intracadeia entre duas bases guanina adjacentes (SUDHINDRA *et al.*, 2020). Porém, apesar de, atualmente, ser elegível em regime de combinação no tratamento de diversos tipos de câncer (carcinoma do pulmão das células não pequenas; testículo; cabeça e pescoço; ovário e tumor cervical), esse composto exibe alguns aspectos condicionantes na sua

utilização: considerando que a cisplatina se encontra predominantemente ligada às proteínas do plasma, tais como albumina sérica humana (HSA), transferrina e hemoglobina, há uma biodisponibilidade indesejada no organismo humano, já que favorece o seu acúmulo em órgãos como rins, fígado e próstata. A consequência das elevadas concentrações é a existência de efeitos adversos severos (JONES, THORNBACK, 2007).

**Figura 2.** Esquema do mecanismo de ação da cisplatina com destaque (círculo vermelho) para etapa similar ao mecanismo proposto dos arenos de rutênio.



**Fonte:** Adaptado (BROWNING *et al.*, 2017).

Esses efeitos comprometem as atividades comuns do sistema nervoso (neurotoxicidade, nefrotoxicidade), promovem a mielossupressão através da produção de células sanguíneas da medula óssea, causam coagulação do sangue (trombocitopenia), incluindo a resistência, dentre outros efeitos secundários (KILPIN, DYSON, 2013). Ademais, efeitos indesejados, além dos anteriormente citados, são os distúrbios gastrointestinais e perda de cabelo. Todos estes possivelmente estão relacionados com a baixa seletividade da cisplatina para as células tumorais, lesando indiferenciadamente tanto células neoplásicas como células saudáveis que exibem características similares. Folículos capilares, do epitélio gastrointestinal e da medula óssea são exemplos de células saudáveis que exibem crescimento acelerado e que podem ser disfuncionalizadas pelas cisplatina (TRUDU *et al.*, 2015; MEDICI *et al.*, 2015; FREEZA *et al.*, 2010).

Segundo estimativas, em 90% dos casos de pacientes no estágio mais avançado (metástase), a resistência é o principal responsável pelo fracasso do tratamento.



Ressaltando que há dois tipos de resistência a quimioterápicos: intrínseca ou adquirida. No primeiro caso, propõe-se que os fatores promotores da resistência já estejam presentes entre as células componentes do tumor os quais tornaram a terapia ineficaz. Já no outro cenário, de resistência adquirida, propõe-se que as células tumorais, que antes eram sensíveis aos medicamentos, passam por processos mutagênicos, cujo resultado sejam novas vias de sinalização compensatórias, possibilitando que as novas células não respondam mais da mesma forma, dando, portanto, vantagem proliferativa (HOLOHAN et al., 2013).

Através de estudos acerca sobre os possíveis mecanismos de resistência, verificou-se que vários fatores podem influenciar na sensibilidade celular de um determinado fármaco. Dentre os fatores têm-se: o influxo do fármaco, cujos mecanismos limitam a entrada da quantidade do agente quimioterápico, como resultado da diminuição da expressão de alguns canais transportadores; o aumento do efluxo do fármaco para fora da célula causado pelo aumento da expressão de alguns canais de transporte a múltiplos fármacos; inativação de processos envolvidos na ativação do fármaco, a citar, aumento da expressão de glutathione ou de glutathione-S-transferase; alterações que resultam em modificações do alvo biológico, tais como a topoisomerase, o que pode impedir a ligação de inibidores dessa enzima; indução da otimização do processo do dano promovido pelo fármaco (aumento da capacidade de reparo de DNA ocasionados pelo aumento da expressão de genes que possuem relação com reparos por excisão de nucleotídeos); e por fim, modificações epigenéticas como a metilação no promotor de genes relacionados à morte celular por apoptose (HOLOHAN et al., 2013).

Portanto, os desenvolvimentos recentes na terapêutica do câncer envolvendo compostos de coordenação têm sido direcionados para o estudo de novos complexos metálicos, não apenas com características farmacocinéticas mais favoráveis, mas também com novas abordagens de atuação, principalmente no que se refere à resistência. Bioatividades promissoras têm sido verificadas em diferentes espécies à base de metais de transição, apesar de, em alguns casos, os mecanismos de ação não estarem totalmente esclarecidos. Além disso, para além do DNA, a interação com proteínas representa o principal modo de ação da maioria dos compostos, além dos modos de ação completamente novos e desconhecidos. O atual interesse no desenvolvimento de compostos organometálicos de Ru(II) com aplicações no tratamento antitumoral resultou na identificação de novas classes de compostos de coordenação com geometrias e

mecanismos de ação distintos, quando comparados à cisplatina (DKHAR *et al.*, 2020; SIMOVIĆ *et al.*, 2019; FANDZLOCH *et al.*, 2021).

## 1.2 Aspectos gerais e aplicações biológicas de compostos à base de rutênio

### 1.2.1 Química do rutênio

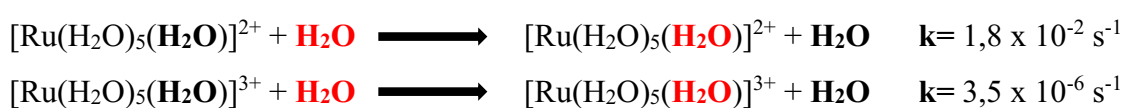
A química dos metais de transição é abordada como a química dos elementos do bloco d com orbitais parcialmente ou totalmente preenchidos, que, por isso, exibem diversos estados de oxidação, bem como dos fenômenos redox relacionados a eles. Uma das espécies que compõe esse grupo e que pode ilustrar muito bem este fato é o rutênio, que direta ou indiretamente é o centro ativo de vários processos redox (SEDDON, 1984). O rutênio é um metal de transição que foi identificado e isolado pelo químico russo Karl Klaus em 1844 (WEEKS, 1932). Na tabela periódica este metal exibe número atômico 44 u e peso atômico 101,07 g mol<sup>-1</sup>. Também designado como congênere do ferro, se encontra como elemento 8 do quinto período. Essa posição na tabela periódica, confere-lhe características singulares que o distingue dos demais metais do seu grupo (SEDDON, 1984; RSC, 2022; MEDICI *et al.*, 2015).

No estado fundamental sua configuração eletrônica é [Kr]4d<sup>7</sup>5s<sup>1</sup> (RSC, 2022). Porém, os estados II e III são mais estáveis e comumente encontrados na maioria dos compostos à base de rutênio (COTTON *et al.*, 1999). Para o Ru(II) a configuração eletrônica é [Kr]4d<sup>6</sup>, gerando normalmente monômeros hexacoordenados diamagnéticos, apesar de também formar um número crescente de monômeros pentacoordenados e dímeros hexacoordenados descritos na literatura. Vale ressaltar que os complexos de Ru(II), além de diamagnéticos, são razoavelmente lábeis e geralmente se estabilizam quando coordenados com ligantes que exibem um bom caráter π-acceptor, como por exemplo, fosfinas e piridinas (SEDDON, 1984; LAWRENCE *et al.*, 2017). Por sua vez, o Ru(III) exibe configuração eletrônica [Kr]4d<sup>5</sup> e gera normalmente monômeros com seis sítios de coordenação e de baixo spin (paramagnético). No geral, são cineticamente mais inertes e melhor estabilizados por ligantes com um grau π- e σ doador considerável, como aminas e haletos, respectivamente (LAWRENCE *et al.*, 2017; SEDDON, 1984; RILAK *et al.*, 2011).

A diferença das propriedades cinéticas existentes entre os complexos de Ru(II) e Ru(III) é bem exemplificada a partir das constantes de velocidade obtidas através de estudos das reações de substituição nos complexos [Ru(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>2+</sup> e [Ru(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup> ao qual

mede-se a velocidade de troca do solvente, neste caso a água, na esfera de coordenação do metal central, conforme mostrado no Esquema 1. Neste caso, o complexo de Ru(II) é quatro ordens de magnitude mais lábil do que o complexo de Ru(III) (COTTON *et al.*, 1999). O baixo potencial redox do par Ru(III)/Ru(II) associado à mudança da labilidade dos ligantes em função do estado de oxidação permite a modulação de complexos de forma que haja a liberação controlada dos ligantes, influenciando diretamente na farmacodinâmica, o que é bastante explorado no desenvolvimento de candidatos a metalofármacos.

**Esquema 1.** Cinética das reações de substituição dos complexos  $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$  e  $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ .



**Fonte:** COTTON *et al.*, 1999.

Na natureza, o rutênio é encontrado quase que exclusivamente em minérios de platina e, devido à sua baixa abundância na crosta, é considerado um elemento bastante raro (EMSLEY, 2003). Em sua forma metálica, exibe coloração branco prateada e quatro formas cristalinas distintas, além de resistência à oxidação pelo ar em condições ambientes normais, sendo, por isso, incluído no grupo dos metais nobres. Vale ressaltar que são conhecidos trinta e quatro radioisótopos e sete isótopos estáveis do rutênio. Por isso, diante de suas propriedades químicas, a investigação de compostos de coordenação de Ru(II) tem sido bastante intensa desde os anos de 1970, sendo, portanto, utilizado em diversas aplicações industriais e biológicas (LOON, 1977; GREENWOOD, EARNSHAW, 1984; BULLOCK *et al.*, 2014).

### 1.2.2 Vantagens biológicas do rutênio e seus complexos de coordenação

Diante das limitações relacionadas com os metalofármacos empregados atualmente, uma das estratégias da química bioinorgânica e medicinal é o desenvolvimento de novos candidatos a partir de diversas espécies metálicas. Quando comparados com compostos orgânicos, os complexos metálicos exibem vantagens, tais como versatilidade estrutural e eletrônica, incluindo a possibilidade de explorar e obter

uma gama de geometrias e estados de oxidação. Essas características são fundamentais para o *design* de novos metalofármacos, de forma que atuem conforme a necessidade terapêutica podendo, nesse sentido, agir diretamente em processos redox, ciclos catalíticos, na inibição de enzimas ou simplesmente como espécies carreadoras de moléculas bioativas (YUFANYI *et al.*, 2020).

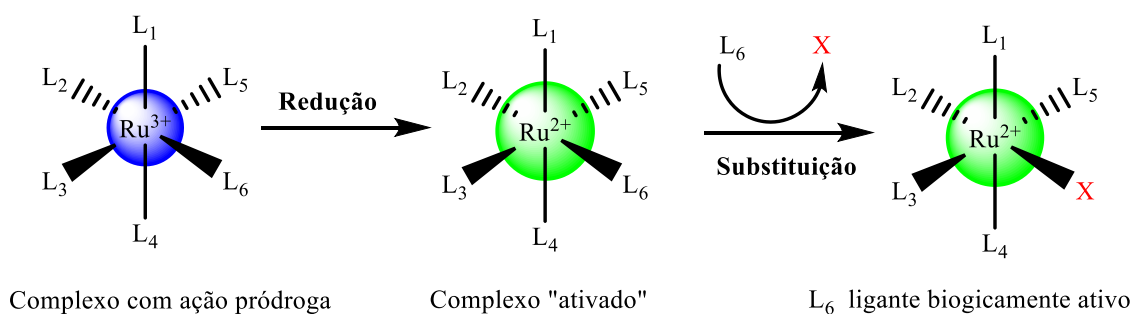
No que se refere à aplicação biológica, o rutênio e seus complexos se tornaram espécies de grande protagonismo no universo da investigação e estudos, visando o desenvolvimento de agentes terapêuticos e/ou espécies que auxiliam no diagnóstico de diversas patologias. Existem diversos trabalhos descritos na literatura que contemplam as capacidades farmacológicas desse metal e seus derivados, como por exemplo, no tratamento de doenças como Alzheimer (MESSORI *et al.*, 2013), tuberculose (PAVAN *et al.*, 2013), atuando como agentes imunoreguladores (SILVEIRA-LACERDA *et al.*, 2010), antibacterianos (GORLE *et al.*, 2014; LI *et al.*, 2015), antifúngicos (YANG *et al.*, 2018; ONG *et al.*, 2019), antiparasitários (DA SILVA *et al.*, 2012; SARNIGUET *et al.*, 2014), sinalizadores cardiovasculares e neurais (MARCHESI *et al.*, 2012) e também em terapias fotodinâmicas (ALBANI *et al.*, 2014; MARI *et al.*, 2015).

Vale salientar que, devido ao sucesso obtido nos estudos dos mecanismos de ação *in vivo* e *in vitro* em distintos modelos celulares, os complexos à base de rutênio têm sido extensivamente avaliados como potenciais substituintes de agentes farmacológicos provenientes de outros metais, principalmente dos derivados de Pt(II) (KOSTOVA, 2006; ANTHONY *et al.*, 2020; CHAN *et al.*, 2017; WEI, RENFREW, 2018; COVERDALE *et al.*, 2019; KENNY *et al.*, 2019). As vantagens adicionais exibidas por esses compostos consistem em: velocidade de troca de ligantes comparável à platina; maior estabilidade estrutural, uma vez que geralmente formam complexos octaédricos, ao contrário da geometria quadrado planar dos complexos de Pt(II) (YUFANYI *et al.*, 2020); acessibilidade e interconversão dos estados de oxidação II, III e IV em condições fisiológicas; e capacidade de mimetizar o ferro em ligações com biomoléculas, tais como a transferrina. Cada uma dessas propriedades citadas será discutida no decorrer do texto (BÉRGAMO *et al.*, 2012; JAKUPEC *et al.*, 2008; SOBRINHO, 2015).

Como mencionado, uma das características fundamentais é a estabilidade que as espécies Ru(II) e Ru(III) exibem em condições fisiológicas, bem como a acessibilidade *in vivo* de pelo menos dois estados de oxidação, podendo atuar de forma direta ou indireta. A atuação de forma direta está relacionada à participação em processos redox, interferências em reações enzimáticas, além de induzir estresse oxidativo. Já no que se

refere à forma indireta, essa mudança de Nox pode afetar a labilidade de determinados ligantes através de um processo denominado ativação redox, o que atribui a essas espécies características de um prófarmaco (Figura 3) (GRAF, LIPPARD, 2012).

**Figura 3.** Esquema da ativação redox de complexos de rutênio com ação prófarmaco.



**Fonte:** Adaptado (GRAF, LIPPARD, 2012).

Além da versatilidade química e estrutural envolvendo os dois estados de oxidação mais estáveis (II e III), a alta reversibilidade na interconversão entre eles é uma característica importante. Esse processo é favorecido pelo fato do potencial redox do par Ru(II)/Ru(III) exibir um valor baixo, o que também permite que a geometria do centro metálico seja mantida sem necessidade de energia extra para rearranjos estruturais (BUCKLEY, MERCER, 1966; GHOSH, CHAKRAVORTY, 1989). O mecanismo de ação proposto para complexos de rutênio(III), por exemplo, envolve o processo de interconversão, para que o fármaco atue efetivamente na célula tumoral. Isso ocorre porque os complexos nesse estado de oxidação normalmente são inertes, e para serem ativados, as espécies devem ser reduzidas no interior das células. Neste caso, as condições ambientes das células tumorais favorecem perfeitamente essa interconversão. A justificativa para tal fato é que os baixos valores de pH, provenientes da produção de ácido láctico no processo bioquímico de glicose anaeróbica somado à anóxia (um agravante da hipóxia, decorrente do consumo irregular dos nutrientes), resultam em um ambiente potencialmente redutor. A ativação do rutênio, neste caso, torna-o capaz de atuar no sistema biológico, podendo ter esse processo reversível a partir do momento em que o composto abandona este ambiente, além de conferir a esses complexos seletividade e, conseqüentemente, maior capacidade em distinguir uma célula saudável de uma célula tumoral, ao contrário dos compostos à base de platina(II) (LIMA, 2010; HARTINGER *et al.*, 2006; BULLOCK *et al.*, 2014; SAVA, 1994).

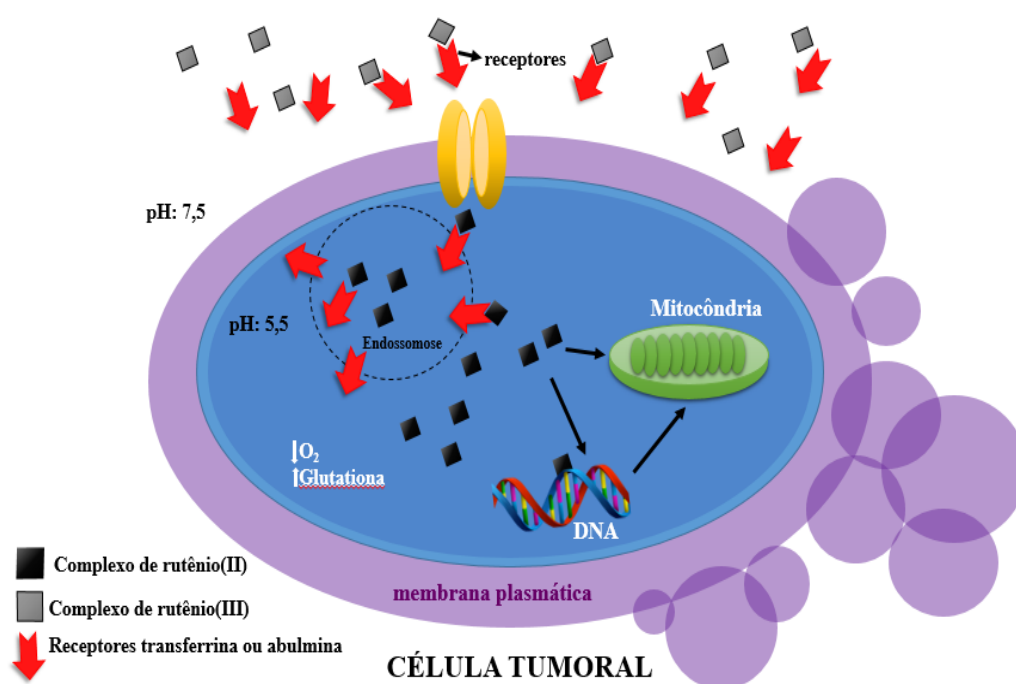
De acordo com estudos, a troca de ligantes é outro fator relevante para os mecanismos biológicos, tendo em vista que poucos metalofármacos são capazes de atingir o alvo biológico sem serem quimicamente modificados. Nesse sentido, uma das justificativas para que a platina atue como um fármaco antineoplásico está diretamente relacionado a parâmetros cinéticos de substituição dos ligantes que, neste caso, pode ocorrer em um período de minutos a dias, o que confere à esta espécie alta estabilidade. Em se tratando da cinética de substituição de ligantes nos complexos de rutênio, a ordem de magnitude da velocidade dessas reações é relativamente lenta, ocorrendo em um intervalo de  $10^{-2}$  a  $10^{-3}$  s<sup>-1</sup> para Ru(II) e Ru(III), respectivamente. Essas velocidades são comparáveis às escalas de tempo em que ocorre a reprodução celular, na etapa da mitose (REEDIJK, 2008; PEREIRA *et al.*, 2019; SITATI *et al.*, 2020). Isso é um aspecto preponderante no que se refere à estabilidade do composto, já que garante que íon metálico permaneça coordenado durante todo o tempo de meia vida da célula, o que minimiza a possibilidade de geração de espécies adversas e que podem causar algum dano ao sistema biológico (SKOCZYNSKA *et al.*, 2017).

Adicionado à boa tolerabilidade *in vivo* e reduzida toxicidade, como mencionado acima, o rutênio é um congênere do ferro em termos de interações com algumas moléculas, outro motivo que o torna elegível para aplicação biológica (DE GRANDIS, 2016; BULLOCK *et al.*, 2014). A semelhança química entre este metal e o rutênio consistem na estabilidade dos estados de oxidação II e III em meio fisiológico; na possibilidade de formação de compostos geralmente octaédricos em ambos estados, além da alta afinidade por certos tipos de ligantes, como polipiridinas e tiolatos (GREENWOOD *et al.*, 1984; ABBASPOUR *et al.*, 2014). Essa similaridade também pode ser confirmada pelos estudos com compostos à base de rutênio que exibiram alta interação com enzimas transportadoras de ferro, como a transferrina (SUN *et al.*, 1999).

Vale destacar que a transferrina é uma molécula modelo bastante empregada na modulação de atividade biológica e a maior afinidade com essa biomolécula está intimamente associada à resultados mais promissores nesse quesito. Isso porque, além de favorecer a entrada dos compostos nas células, a interação com a transferrina minimiza a toxicidade intrínseca dessas espécies metálicas por meio da redução da biodisponibilidade para reações fora do alvo de interesse (LI, QIAN, 2002; BENJAMIN-RIVERA *et al.*, 2020), sendo, portanto, um dos atrativos na escolha dos complexos de rutênio no desenvolvimento de candidatos a metalofármacos, principalmente no desenvolvimento de agentes antitumorais (GUO *et al.*, 2013).

A relação direta entre a atividade antitumoral e a transferrina envolve a necessidade excessiva de ferro que as células tumorais possuem, o que faz expressarem na superfície da membrana celular um alto número de receptores desta. Isto é resultante do aumento do fluxo sanguíneo, favorecido pela angiogênese, para promover maior captação de nutrientes, já que as células não saudáveis necessitam de requerimento nutricional elevado (KEPPLER *et al.*, 1990; ALESSIO *et al.*, 2001). Sendo assim, uma vez em circulação, o complexo de rutênio pode ser carregado até os tecidos e sequestrado pelas células tumorais. Além disso, as condições como baixos teor de oxigênio e pH que estão presentes nos tecidos tumorais, propiciam a redução do rutênio(III), o que constitui uma explicação para a baixa toxicidade sistêmica que os complexos desse metal exibem, já que devido à acessibilidade do potencial de redução do complexo transferrina-Ru em condições fisiológicas, há o favorecimento da liberação dos complexos de rutênio dos sítios da apoproteína (BULLOCK *et al.*, 2014; SAVA, 1994; KOSTOVA, 2006; KEPPLER *et al.*, 1990; ALESSIO *et al.*, 2001). O mecanismo proposto que demonstra a similaridade de interação com a transferrina bem como a atividade anticarcinogênica promovida pela interconversão das espécies Ru(III)/Ru(II) está exibido na Figura 4.

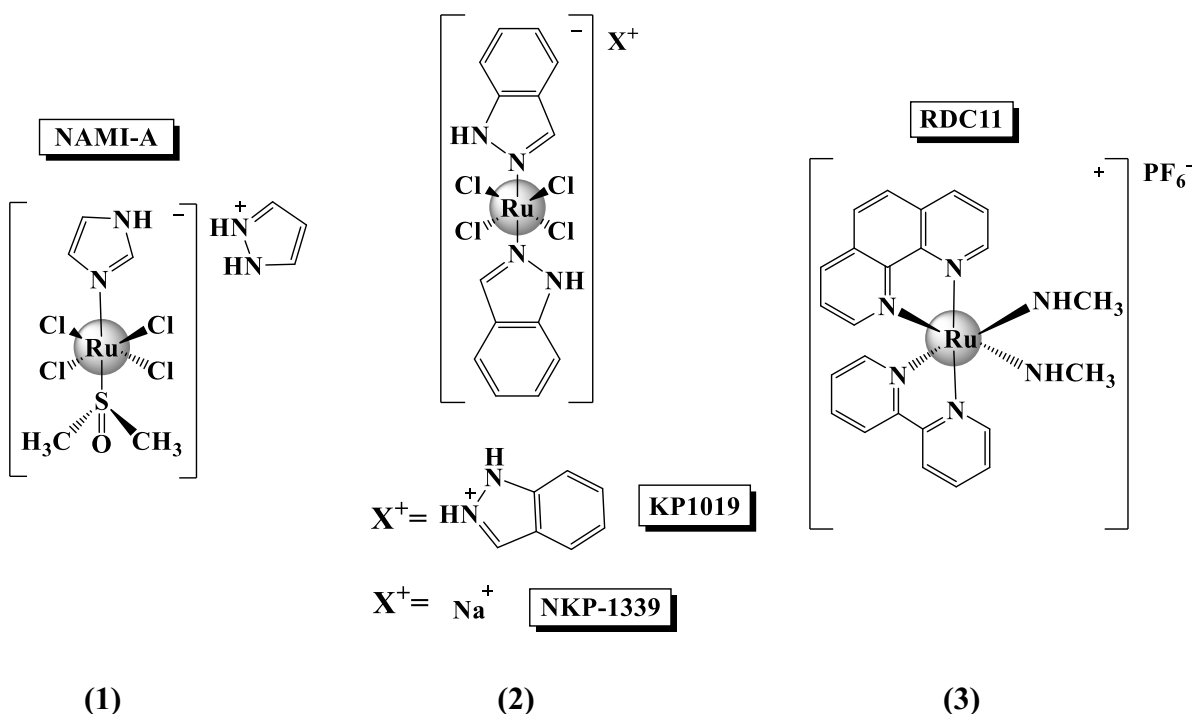
**Figura 4.** Mecanismo de ação proposto dos complexos de Ru(III) NAMI-A e KP1019 em células tumorais a partir da interação com a transferrina.



Fonte: Adaptado (JAKUPEC, M. A., 2008).

Da gama de complexos de rutênio explorados, muitos demonstraram propriedades citotóxicas melhores que a cisplatina e atualmente, três desses compostos de rutênio(III) estão sendo utilizados em testes clínicos. São estes: (NAMI-A): *trans*-tetracloro(dimetilsulfoxido)(imidazol)rutenato(III) com atividade contra carcinoma de Lewis de pulmão, melanoma B16 e carcinoma mamário MCa, além de efeito antimetastático não apresentado pela cisplatina (KEPPLER *et al.*, 1990; HARTINGER *et al.*, 2006); KP1019: *trans*-tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III), com bons resultados contra carcinoma 256 de Walker, melanoma B16, sarcoma 180 e câncer de colorretal (KOSTOVA, 2006; TRONDL *et al.*, 2014); NKP-1339 ou IT-139: *trans*-tetraclorobis(1H-indazol)rutenato(III) de sódio (sal de sódio do KP1019); além de RDC11 (MOHAN, 2018; HAGHDOOST *et al.*, 2017). Apesar da similaridade estrutural, como exibido na Figura 5, em se tratando dos compostos NAMI-A, KP1019 e seu respectivo sal de sódio NKP1339, verificou-se que há desempenho terapêutico distinto entre eles (SCOLARO *et al.*, 2008).

**Figura 5.** Estrutura dos complexos de rutênio(III) NAMI-A (1), KP1019/NKP-1339 (2) e RDC11 (3) com atividade antitumoral reconhecida.



Fonte: Autora.



O NAMI-A, por exemplo, apresenta atividade citotóxica contra células tumorais, porém, apenas para tumores secundários. Já o KP1019 é um agente citotóxico e antimetastático frente a tumores primários e, especificamente, tumores colorretais (DOŁĘGA, *et al.*, 2017). Em se tratando do NAMI-A, essas observações foram feitas a partir dos resultados de testes clínicos da fase I contra câncer de pulmão, no qual o complexo exibiu resultados promissores, porém, na Fase II em que foi empregado em terapia combinada com o agente antineoplásico gemcitabina (LEIJEN *et al.*, 2015), verificou-se que a eficácia do tratamento não era satisfatória, além dos efeitos adversos serem agressivos, o que corroborou para finalizar os ensaios clínicos envolvendo este composto. Com relação ao complexo KP1019, devido a aspectos de solubilidade, os ensaios de Fase I não puderam ser concluídos (HARTINGER *et al.*, 2006) e, desta forma, os estudos foram retomados com uma versão mais solúvel, o NKP1339, obtido a partir da troca do contra-íon indazol pelo sódio. Os ensaios com o sal NKP1339 indicaram a minimização dos efeitos adversos e uma atividade antitumoral moderada e, até onde se tem conhecimento, permanece em fase de testes clínicos (TRONDL *et al.*, 2014; BURRIS *et al.*, 2016).

A partir de estudos de estrutura-atividade, foi relatado que a atividade biológica do complexo NAMI-A pode estar relacionada à liberação progressiva de um ou mais ligante clorido. Já o mecanismo de ação proposto envolve as reações redox de interconversão de Ru(III) a Ru(II), além de provocar a clivagem da fita de DNA. Para o complexo KP1019, ainda não há elucidação total do mecanismo de ação, no entanto, os estudos demonstraram que esse complexo liga-se à proteínas no sangue, tais como albumina e transferrina, responsáveis pelo transporte do fármaco até o alvo biológico (KOSTOVA, 2006).

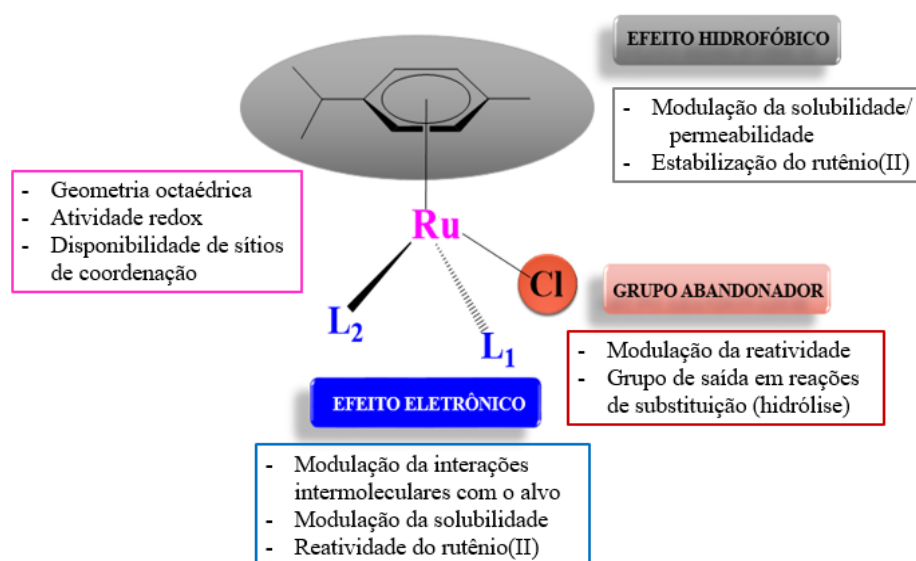
### **1.2.3 Organometálicos de rutênio(II) com ênfase em arenos: propriedades químicas e atividade antitumoral**

Até o início do século XXI, apenas complexos de Ru(III) eram amplamente explorados no desenvolvimento de candidatos a agentes antitumorais. A mudança de cenário se deu a partir dos primeiros estudos envolvendo complexos organometálicos e polipiridínicos de Ru(II) com efeitos anticarcinogênicos promissores (VELDERS *et al.*, 2000; MORRIS *et al.*, 2001; AIRD *et al.*, 2002; HOTZE *et al.*, 2003). Adicionalmente, evidenciaram baixa toxicidade, mecanismos de ação alternativos e um espectro variável

de atividade frente a diversas linhagens celulares (AIRD *et al.*, 2002; YAN *et al.*, 2005). Por isso, o atual interesse no desenvolvimento de compostos organometálicos de Ru(II) com aplicações no tratamento antitumoral resultou na identificação de novas classes de compostos de coordenação com geometrias e mecanismos de ação distintos em relação à cisplatina (LIU *et al.*, 2018; PAITANDI *et al.*, 2017).

Nessa perspectiva, os arenos de rutênio têm sido um dos principais candidatos a fármacos, considerando que relatos da literatura descrevem esses compostos como espécies com distintas atividades biológicas atuando frente a linhagens antitumorais (CHAN *et al.*, 2017); patógenos como bactérias (DEVAGI *et al.*, 2018), vírus e parasitas (DE SOUZA *et al.*, 2015); dentre outros (KONG *et al.*, 2018; ZHANG, SADLER, 2017). A Figura 6 descreve a importância biológica de todos os componentes do precursor areno de rutênio(II) o qual foi utilizado neste trabalho, sendo o grupo aromático, neste caso, o *p*-cimeno (espécie derivada do  $\alpha$ -felandreno, metabólito bastante explorado na área de produtos naturais) (SIQUEIRA, 2010).

**Figura 6.** Relação estrutura-atividade do areno  $[\text{RuCl}(\eta^6\textit{p-cimeno})(\text{L}_1)(\text{L}_2)]$ .



**Fonte:** Adaptado (MOHAN *et al.*, 2018; MARTINEZ-ALONSO *et al.*, 2014).

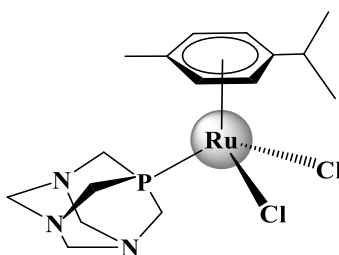
Esses compostos exibem uma geometria pseudo-octaédrica, habitualmente referida como “*piano-stool*”. Comparados com os seus precessores de rutênio(III) e baseado nos estudos de relação estrutura-atividade, é possível prever que os complexos desse tipo possuem atividade biológica associada a uma ação sinérgica entre todos os

seus componentes estruturais (HABTEMARIAM *et al.*, 2006; MURRAY *et al.*, 2016). Desta forma, as presenças do centro metálico, dos ligantes areno, haleto e novas espécies que podem ser inseridas nos outros sítios de coordenação, são simultaneamente necessárias para a modulação das propriedades biológicas observadas. O grupo *p*-cimeno, por exemplo, confere ao rutênio uma estabilidade adicional no estado de oxidação 2+, devido às ligações  $\pi$  existentes, promovendo a inércia necessária em reações de substituição desse grupo e prevenindo a oxidação a rutênio(III). Além disso, o caráter hidrofóbico do ligante areno associado ao caráter hidrofílico do centro metálico resultam em propriedades anfífilas que influenciam diretamente na interação com biomoléculas, uma vez que a hidrofobicidade favorece o transporte da espécie ativa até a molécula-alvo no meio celular (KUMAR *et al.*, 2018; NIKOLIĆ *et al.*, 2015; PASTUSZKO *et al.*, 2016).

Vale salientar que a reatividade dessas espécies provém principalmente da labilidade do ligante clorido. Esse efeito é causado pela característica  $\sigma$ -doadora e  $\pi$ -receptora da ligação Ru-*p*-cimeno, em que ocorre a doação de elétrons do grupo *p*-cimeno para o ácido de Lewis (rutênio), o qual usa seus orbitais 4d. A subsequente retrodoação de elétrons ocorre do rutênio, cujos orbitais estão preenchidos ( $4d^6$ ), para o *p*-cimeno (que usa os orbitais  $\pi^*$  vazios) (PAZINATO, 2014; PAL *et al.*, 2018). Além disso, a fórmula geral dos arenos de rutênio(II) oferece uma gama de oportunidades de funcionalização dos dois sítios de coordenação disponíveis e a possibilidade de derivatizar o hidrocarboneto aromático, tendo assim, impacto direto na bioatividade e reatividade dos fármacos (DYSON, 2007).

Cinco compostos de destaque pertencentes a esse grupo têm sido explorados devido à sua significativa ação antimetastática. O primeiro deles, o RAPTA-C ( $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{pta})]$ ), sendo pta=1,3,5-triaza-7-fosfaticiclododecano), demonstrado na Figura 7, exibiu atuação efetiva na redução do número e tamanho de metástases pulmonares associado a uma boa tolerabilidade sistêmica, tendo também mais avanço em ensaios pré-clínicos *in vivo* (KUMAR *et al.*, 2018; FERREIRA, 2014). Outra vantagem acerca desse metalofármaco é que comparado com agentes aprovados, tais como a cisplatina e oxaliplatina, e que estiveram sob investigação clínica, como o NAMI-A e KP1019, o RAPTA-C apresentou ausência de efeitos adversos severos e resultados antitumorais superiores, especialmente quando combinados com outros compostos (RAUSCH *et al.*, 2019).

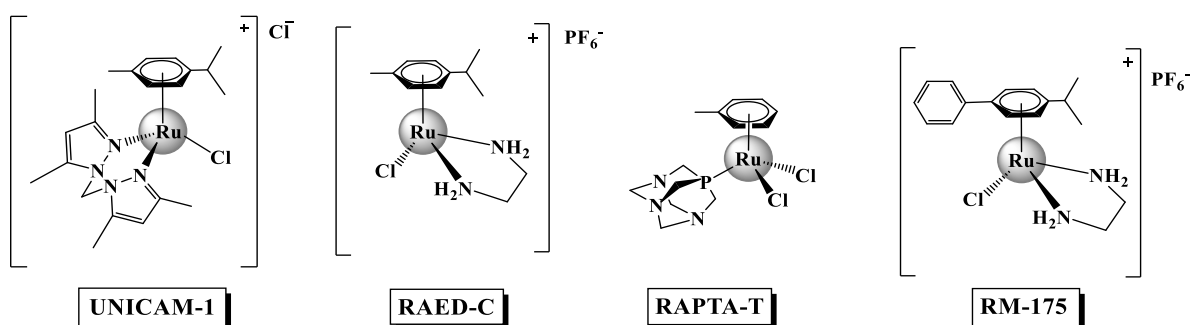
**Figura 7.** Estrutura do complexo RAPTA-C.



**Fonte:** Autora.

O complexo  $[\text{RuCl}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{bis}(3,5\text{-dimetilpirazol-1-il)metano})]\text{Cl}$ , mais conhecido como UNICAM-1, mostrou redução dos efeitos adversos quando comparados com os fármacos NAMI-A e cisplatina, além de excelentes resultados antineoplásicos contra câncer de mama (MONTANI *et al.*, 2016). Tal qual os complexos citados, o RM175 e RAED-C, apresentaram citotoxicidade similar à cisplatina e carboplatina, além atividade frente a linhagens de células tumorais resistentes a estes agentes antineoplásicos (AIRD *et al.*, 2002; YAN *et al.*, 2005) e, por esse motivo, tem avançado nos ensaios pré-clínicos (THOTA *et al.*, 2018). O RAPTA-T apresenta atividade antimetastática, porém, seu mecanismo de ação não está relacionado às interações com DNA, e sim com proteínas superficiais e da matriz extracelular, se assemelhando ao mecanismo do NAMI-A (MONTANI *et al.*, 2016). As estruturas dos compostos citados estão expostas na Figura 8.

**Figura 8.** Organometálicos de rutênio(II) que exibiram resultados satisfatórios de citotoxicidade em diversas linhagens de câncer.

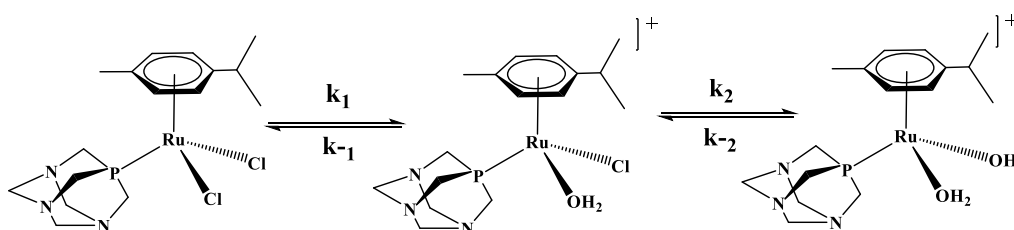


**Fonte:** Autora.

Como mencionado, esses compostos são conhecidos pelo seu potencial antitumoral, e uma das justificativas é o mecanismo de ação proposto similar ao

mecanismo de ação da cisplatina, exibido na Figura 2. Neste caso, o mecanismo envolve diretamente a hidrólise da ligação Ru-Cl, originando espécies ativas com capacidade de interagir com a molécula-alvo. O processo de substituição desse ligante lábil (aquação) é melhor favorecido dentro do meio celular, o que permite a coordenação direta a alvos específicos e pode ser modulada a depender da natureza dos ligantes inseridos nas posições L<sub>1</sub> e L<sub>2</sub>, como demonstrado na Figura 9 (PAL *et al.*, 2018; NAZAROV *et al.*, 2014).

**Figura 9.** Mecanismo de hidrólise do complexo de rutênio RAPTA-C no meio intracelular.



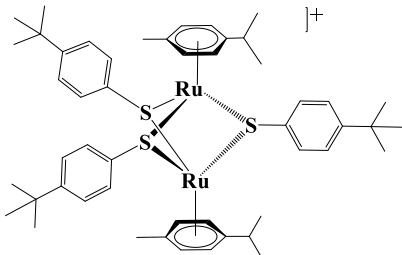
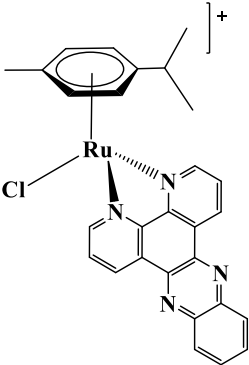
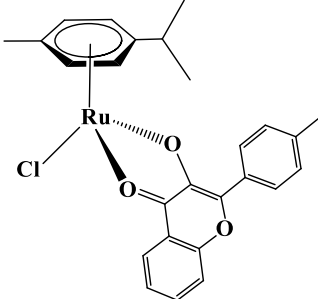
**Fonte:** Adaptado (SCOLARO *et al.*, 2008).

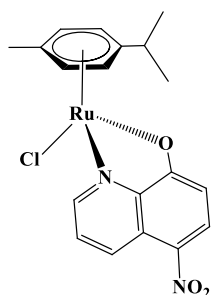
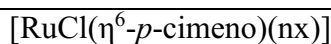
Apesar da similaridade mecanística, tendo em vista a reação de hidrólise que ocorre nos complexos de Pt(II) e Ru(II) citados, o modo de atuação dos compostos RAPTA aparenta ser independente do DNA. Alguns estudos com oligonucleótidos demonstraram que não existe uma correlação direta entre a ligação aos oligonucleótidos e a citotoxicidade apresentada por estes compostos. Ao contrário da maioria dos complexos à base de platina(II), a sua atividade antitumoral parece estar, então, relacionada com a interação que estabelecem com duas proteínas, tioredoxina redutase, que desempenha um papel importante no estado de oxidação celular, enquanto a catepsina B é responsável pela degradação dos componentes da matriz extracelular, com efeito na migração e invasão de muitos tumores humano. Estudos pré-clínicos revelaram que os compostos RAPTA são potentes inibidores da catepsina B enquanto a inibição da tioredoxina redutase parece ser modesta e pouco relevante na sua atividade (CASINI *et al.*, 2008).

Nesse contexto, os complexos de rutênio são capazes de oferecer uma alternativa vantajosa sobre os agentes antineoplásicos de platina, já que apresentam mecanismos de ação e alvos distintos. Além do DNA e enzimas associadas com sua replicação e reparação (KURZWERNHART *et al.*, 2012; SIMOVIĆ *et al.*, 2019), os complexos de

rutênio possivelmente interagem com enzimas associadas a biossíntese de hormônios, processos inflamatórios e metabolismo celular, muitas das quais são superexpressadas em células tumorais (CASINI *et al.*, 2008; KLJUN *et al.*, 2016; MANDAL *et al.*, 2018). Além disso, alguns estudos também predizem que os complexos de rutênio interferem no funcionamento de organelas, como a mitocôndria e o retículo endoplasmático (WANG *et al.*, 2014; WAN *et al.*, 2017). Abaixo está exibida uma tabela com diversos arenos de rutênio bem como os alvos especificados aos quais interagem.

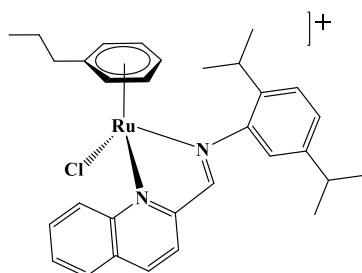
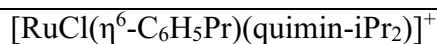
**Tabela 2.** Arenos de rutênio(II) selecionados e seus respectivos alvos biológicos.

Estrutura química	Alvo biológico	Referência
$[\text{Ru}_2(\text{ThioBz})_3(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})]^+$ 	mitocôndria	QIAN <i>et al.</i> (2013)
$[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{dppz})\text{Cl}]^+$ 	DNA por via não covalente	GANESHPANDIAN <i>et al.</i> (2017)
$[\text{RuCl}(\text{HOFlav})(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})]$ 	enzima topoisomerase II	KURZWERNHART <i>et al.</i> (2012)



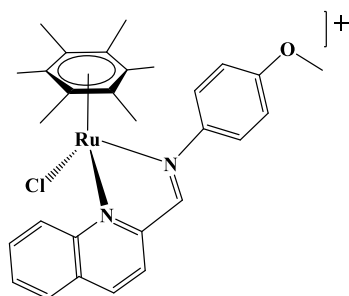
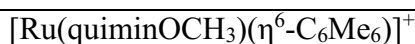
enzima catepsina B

MITROVIC *et al.* (2019)



lisossomos

UANG *et al.* (2015)



retículo  
endoplasmático

CHOW *et al.* (2016)

---

**Fonte:** Dados de revisão bibliográfica.

### 1.3 A importância dos ligantes na modelagem de fármacos para o desenvolvimento de novos agentes bioativos

A química medicinal é uma área que envolve aspectos relacionados às ciências naturais, cujo objetivo principal é o estudo, identificação, planejamento e preparação de compostos biologicamente ativos. O desenvolvimento e estudo desses protótipos nos permite a interpretação de diversas vias bioquímicas fisiológicas, mecanismos de ação a nível molecular, bem como avaliar a relação existente entre a estrutura química das espécies exploradas e sua possível atividade farmacológica, tendo em vista os seus respectivos alvos biológicos (LIMA, 2007; DA SILVA, 2013; BARREIRO, BOLZANI,

2009). Isso porque uma das principais estratégias para a obtenção do protótipo é, primeiramente, identificar o alvo terapêutico, podendo este ser uma enzima, um receptor, proteína, componentes constituintes da parede celular ou até mesmo o DNA. Após essa identificação, desenham-se espécies com estruturas que apresentem afinidade química com esses sítios biológicos, de forma tal que a energia de interação seja máxima (SANT'ANNA, 2002).

Nesse sentido, a racionalização baseia-se na utilização de estruturas privilegiadas e com propriedades terapêuticas notáveis que favoreçam a farmacodinâmica e a farmacocinética, sendo, portanto, um fator fundamental no que se refere ao planejamento e síntese de fármacos. Para isso, várias técnicas são empregadas e dentre elas têm-se a modificação estrutural, que consiste da adição de novas espécies ou fragmentos (bioisómeros) que já possuam potencial biológico, sendo esta modificação clássica no substrato natural e/ou sintético (BARREIRO E FRAGA, 2001; BARREIRO 2002). Porém, há casos em que as espécies, a princípio, não sejam biologicamente ativas, mas que, em sinergia com outras moléculas, como por exemplo, um metalofármaco, sejam capazes de auxiliar no aumento do potencial citotóxico (DA SILVA, 2013).

Através disso, a descoberta de novos agentes bioativos são frutos de inovação tecnológica e um desafio para a comunidade científica, que está sempre em busca de novas entidades químicas com interesse farmacológico que sejam mais eficazes e superem as dificuldades enfrentadas pelas outras já existentes no que se refere à toxicidade, efeitos adversos, resistência ao tratamento, dentre outros. Por isso, os ligantes são de extrema importância no que se refere à racionalização de novos fármacos, uma vez que essas espécies podem ser capazes de influenciar diretamente na atividade biológica, mudando a reatividade química dos complexos aos quais são inseridos à esfera de coordenação, bem como tornando-os mais seletivos e eficazes com o reconhecimento de alvos específicos. Tais aspectos serão discutidos no próximo tópico, onde serão apresentadas características dos ligantes empregados neste trabalho: as  $\beta$ -dicetonas e a piridina.

### **1.3.1 Ligantes $\beta$ -dicetonas e sua importância farmacológica**

Baseado nesses aspectos,  $\beta$ -dicetonas ou 1,3-dicetonas são ligantes que exibem características associadas a diversas atividades farmacológicas (DEEPTHI, VENUGOPALAN, 2016; COUTO ALMEIDA *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2012). Em



laboratório podem ser obtidas a partir da reação de condensação de Claisen, cujos reagentes geralmente são metil cetona e éster etílico apropriados, visando oferecer uma ampla variedade de combinações possíveis, com diferentes estruturas que podem ser moduláveis para as aplicações desejadas (KLJUN, J.; TUREL, 2017). Além disso, o potencial biológico dessas espécies é justificado pela existência de propriedades químicas e estruturais de um dos seus derivados, a curcumina (Figura 10).

A curcumina (1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona) é uma  $\beta$ -dicetona substituída, na qual os grupos terminais R e R' são anéis aromáticos dissubstituídos nas posições meta e para pelos grupos  $-\text{OCH}_3$  e  $-\text{OH}$ , respectivamente (ALBALAWI *et al.*, 2021). Este produto natural é obtido através da cúrcuma (rizoma seco de *Curcuma longa* Linnaeus) e foi isolado por Vogel em 1815, com posterior elucidação estrutural feita por Milobedzka e Lampe em 1910 (GOMES *et al.*, 2002; SUETH-SANTIAGO *et al.*, 2015).

**Figura 10.** Estrutura química da curcumina.



**Fonte:** Elaborado pela autora (Adaptado de KJLUN, TUREL, 2017).

Na prática *ayurvédica* (sistema medicinal característico da Índia Antiga), assim como na medicina popular, a curcumina é bastante utilizada devido às suas características antioxidantes, anti-inflamatórias, digestivas, antimicrobianas, antitumorais, atuando também como antialérgico, carminativo, imunizante, cicatrizante, estimulante, ou ainda pelo seu desempenho em doenças respiratórias (asma, bronquite e alergias) dentre outros transtornos, como anorexia e doenças hepáticas. Relatos na literatura confirmam que este bioproduto exibe, por exemplo, um amplo espectro de ação antiparasitária considerando que alguns derivados da curcumina foram ativos frente à *Leishmania amazonensis* e promastigotas da *Leishmania major*, além de atividade frente a espécies *trypansomoma* (*T. brucei* e *T. evansi*) (ALBALAWI *et al.*, 2021; GOMES *et al.*, 2002a;

GOMES *et al.*, 2002b; CHANGTAM *et al.*, 2010; SUETH-SANTIAGO *et al.*, 2015; ARAUJO *et al.*, 1999).

Estudos também revelaram que a curcumina é um potente inibidor de enzimas lipoxigenase/ciclooxigenase, que participam do metabolismo do ácido araquidônico; além de promover um efeito antioxidante, funcionando como eliminadora de radicais livres tais como as espécies reativas do oxigênio (ERO) (por exemplo, xantina desidrogenase/oxidase) e espécies reativas do nitrogênio (ERN) como óxido nítrico sintase induzida (KOIDE *et al.*, 2002). Recentemente, oncologistas consideraram essa substância como um potencial agente quimiopreventivo de câncer de terceira geração, haja vista a mesma já havia exibido atividade anticancerígena em animais, inibindo não apenas a proliferação e consequente apoptose de timócitos de ratos, mas também células Jurkat humanas (GOMES *et al.*, 2002a; SIKORA *et al.*, 1997).

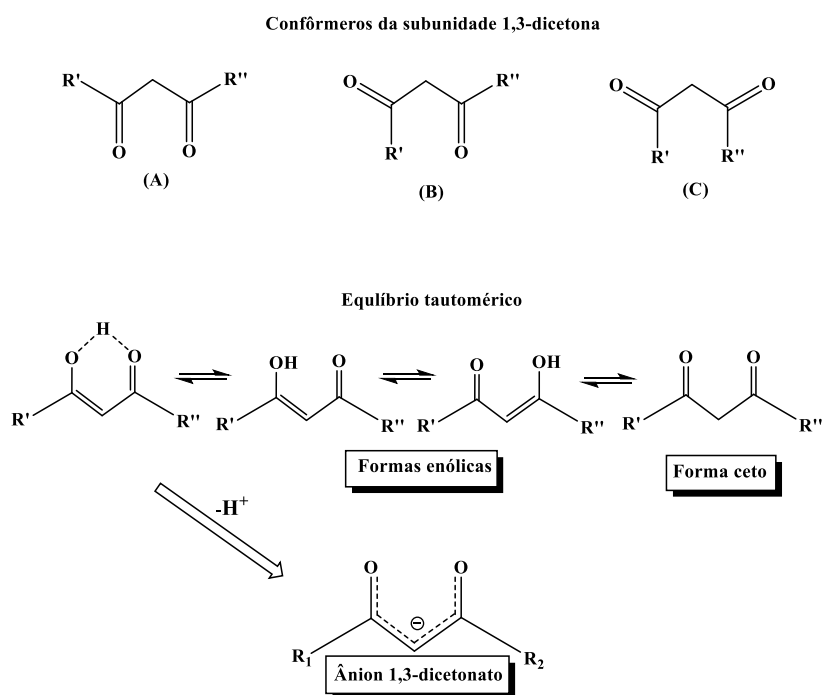
Além disso, segundo ensaios de fase 1, a curcumina e seus derivados exibiram a baixa toxicidade em humanos, mesmo administrado em doses altas (8 g/dia), evidenciando seus efeitos quimioterápicos (FIGUEROA-DEPAZ *et al.*, 2022). Vale salientar que a mesma exibe a capacidade de interagir com o DNA e RNA. A justificativa para tais atuações frente a diversos alvos e mecanismos biológicos é dada pela presença da subunidade 1,3-dicetona bem como a existência de tautomerismo em sua estrutura e que também estão presentes nos ligantes  $\beta$ -dicetonas (LIU *et al.*, 2012; ZSILA *et al.*, 2004; NAFISI *et al.*, 2009).

O equilíbrio tautomérico ocorre entre duas formas: ceto e enol (ARTIGAS *et al.*, 2017), tendendo à formação do enol na maioria dos casos, já que é a forma mais estável, devido não somente à planaridade que favorece a sobreposição dos orbitais  $\pi$  e, conseqüentemente, uma melhor conjugação eletrônica, mas também devido à presença de uma ligação de hidrogênio intramolecular que é uma das interações não covalentes mais importantes em sistemas biológicos e químicos (LOWERY *et al.*, 1971; BROWN *et al.*, 1979; HIBBERT, EMSLEY, 1990; DARUGAR *et al.* 2017). Nesse sentido, a forma 1,3-dicetônica exibe três confôrmeros estruturais, como mostra a Figura 11, sendo o confôrmero termodinamicamente mais estável definido como estrutura C.

A estabilidade está relacionada à orientação em direções opostas das carbonilas quando comparada com a estrutura A, por exemplo, já que essa condição promove maior afastamento entre os orbitais não-ligantes dos átomos de oxigênio (SUETH-SANTIAGO *et al.*, 2015; KOLEV *et al.*, 2005). A ressonância existente entre os orbitais do carbeno e os orbitais das carbonilas também influencia no tautomerismo estrutural. Para ocorrência

deste efeito há a transferência de um próton do carbeno para a formação das ligações  $\pi\text{C}=\text{C}$  e  $\pi\text{C}=\text{O}$  que, neste caso, é favorecida pelo plano de simetria e a conformação adequada da molécula (porção da carbonila possui ortogonalidade frente à ligação  $\sigma\text{C}-\text{H}$ , permitindo assim a deslocalização eletrônica da ligação  $\sigma\text{C}-\text{H}$  para os orbitais vazios da carbonila ( $\pi^*\text{C}=\text{O}$ ) (COSTA *et al.*, 2003).

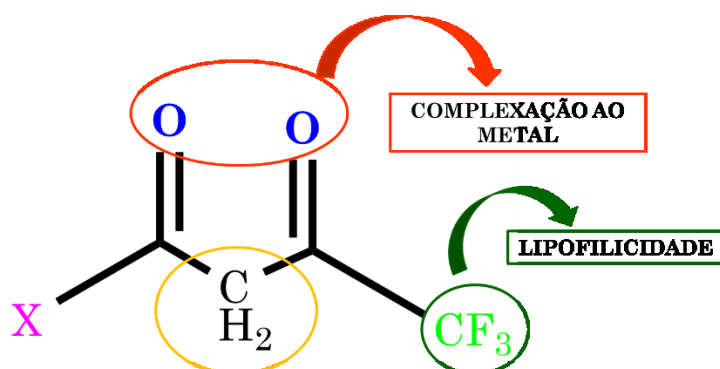
**Figura 11.** Confôrmeros da subunidade 1-3 dicetona formação do ânion dicetonato e equilíbrio ceto-enólico.



**Fonte:** Adaptado de (MEHROTRA *et al.*, 1978).

A estabilidade adicional de ligantes contendo a subunidade mencionada é proveniente da formação de um anel quelato, o qual em sua forma enólica resulta da interação do hidrogênio alfa com as carbonilas, mas em sua forma ceto-aniônica é decorrente da coordenação à uma espécie metálica (VAKILI *et al.*, 2012; BERENJI *et al.*, 2013). Além disso, a estrutura química dessas espécies é composta pelo grupo metileno  $-\text{CH}_2$  presente na posição central da cadeia, separando as duas carbonilas e que, em alguns casos, para favorecer a complexação às espécies metálicas necessita ser desprotonado, formando um carbânion, como mostra a Figura 12.

**Figura 12.** Estrutura geral do ligante  $\beta$ -dicetona livre



**Fonte:** Adaptado de (SERŠEN *et al.*, 2015; VOKÁČOVÁ *et al.*, 2018)

Considerando a posição do grupo metileno e o efeito indutivo das espécies adjacentes (as carbonilas), os hidrogênios metilênicos exibem a acidez desejada para tal desprotonação. Vale ressaltar que a presença das carbonilas também é relevante, já que são os sítios de coordenação via átomos de oxigênio, os quais possuem características doadoras de elétrons, o que, nesse sentido, corrobora para a complexação destes ligantes aos centros metálicos. Geralmente a coordenação ocorre por via bidentada, estando preferencialmente na forma ceto e desprotonado (WANG *et al.*, 2016; SINGH, JOSHI, 2013; MEHROTRA *et al.*, 1978).

A presença do grupo  $-\text{CF}_3$  também desempenha um papel fundamental no *design* de fármacos, tendo em vista a capacidade de interagir com diferentes receptores, a promoção de interações de hidrogênio, além de influenciar no aumento da lipofilicidade, parâmetro importante no que se refere à captação celular e citotoxicidade (ISMAIL, 2002). Relatos na literatura constataram a necessidade da presença desse grupo na estrutura química a partir de estudos utilizando técnicas de modelagem molecular como o bioisosterismo.  $\beta$ -dicetonas contendo esses fragmentos foram comparadas com espécies análogas a partir da substituição do flúor por hidrogênio, sendo observado, portanto, que os compostos contendo o grupo  $\text{CF}_3$  exibiram melhor desempenho biológico do que o seu análogo metila ( $\text{CH}_3$ ), predizendo, portanto suas propriedades farmacofóricas (SERŠEN *et al.*, 2015).

Com base nesses aspectos, os ligantes  $\beta$ -dicetonas e os  $\beta$ -dicetonatos, seus derivados aniônicos, são moléculas orgânicas que exibem propriedades químicas que podem estar associadas a diversas atividades biológicas (DEEPTHI, VENUGOPALAN 2016; COUTO ALMEIDA *et al.* 2015; JOVANOVIĆ *et al.*, 2001; NAKANO *et al.*, 2004; SUN *et al.*, 2002) além de, segundo estudos publicados, interagir satisfatoriamente com

alguns nucleosídeos componentes do DNA, a exemplo, adenosina e guanosina (PETTINARI *et al.*, 2017), atuando efetivamente também como agentes anticarcinogênicos, bloqueadores e antiestrogênicos (SINGH, JOSHI, 2013).

Um dos mais maiores destaques dessa classe de  $\beta$ -dicetonatos biologicamente ativos é o 2-tenoiltrifluoroacetato (tta), um inibidor clássico do fluxo eletrônico das mitocôndrias, organela que desempenha diversas funções essenciais nos mecanismos biológicos, principalmente em mecanismos relacionados à atividade antitumoral (MA *et al.*, 2019; NAGANO *et al.*, 2021; ZHANG, FARISS, 2002). Na literatura foi demonstrada a alta capacidade citotóxica em células do tipo K562 e atividade inibitória do patógeno *Mycobacterium tuberculosis* (agente responsável pela doença tuberculose) de complexos de Pt(II), Pd(II) e Cu(II) contendo o ligante tta em sua esfera de coordenação (Tabela 3), sendo que, apenas na inibição da célula tumoral o ligante em sua forma livre apresentou atividade moderada e após a complexação aos metais de transição citados foi observado um aumento da citotoxicidade. Por outro lado, nos estudos de inibição bacteriana o efeito foi oposto (COUTO ALMEIDA *et al.*, 2014; COUTO ALMEIDA *et al.*, 2015).

Os trabalhos de Lopes *et al.* (2013) descreveram o potencial biológico tanto do ligante tta como de seu respectivo complexo de cobre [Cu(tta)(bipy)(ClO<sub>4</sub>)], cujos resultados demonstraram que ambos foram capazes de inibir o crescimento de células K562, com valores de IC<sub>50</sub> de  $51,5 \pm 2,1 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $28,2 \pm 1,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. Além disso, para comparação foram utilizados resultados biológicos para a carboplatina, comprovando que, tanto o ligante livre quanto o complexo foram mais ativos que o fármaco de referência (IC<sub>50</sub> =  $60 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Outra observação acerca deste trabalho consiste no aumento da atividade biológica após a coordenação ao Cu(II), haja vista, a atividade do complexo foi duas vezes maior que o ligante livre e o padrão farmacológico (LOPES *et al.*, 2013).

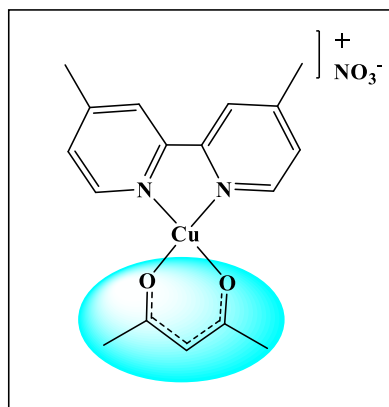
Complexos de cobre(II) contendo tta e seu derivado oligotiofeno também foram descritos na literatura, os quais exibiram atividade antimicrobiana contra os patógenos bacterianos humanos *Escherichia coli* ATCC 25922 (Gram negativa), e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gram positiva), bem como contra o fungo fitopatógeno *Fusarium verticillioides* CGJM 3823, sendo que, nem para esta espécie nem para qualquer fungo filamentosos haviam relatos de atividade inibitória promissora. Estes estudos indicaram que as combinações de cobre(II) com os ligantes  $\beta$ -dicetonas favoreceram a inibição microbiana, sendo o [Cu<sup>II</sup>((CF<sub>3</sub>)COCHCO(C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>S)(C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>S))<sub>2</sub>], o complexo mais promissor (Tabela 3) (MATEYISE *et al.*, 2021). Além disso, estudos de

estrutura/atividade demonstraram que as propriedades biológicas deste ligante são justificadas pela existência do anel tiofeno. Assim, vários derivados contendo este fragmento apresentaram resposta biológica, sendo potencial anticarcinogênico (ARCHNA *et al.*, 2020; SINGH *et al.*, 2020), anti-inflamatório (NAYAK *et al.*, 2020), antidepressivo (MATHEW *et al.*, 2014), analgésico (ASHOUR *et al.*, 2013) antimicrobiano (MISHRA *et al.*, 2018) e anticonvulsivante (AHMAD *et al.*, 2019).

Outro ligante desta classe bastante empregado é o acetilacetato (acac), sendo intermediário chave para a síntese de diversos heterocíclicos com propriedades farmacofóricas, a exemplo, tiazóis, piperazinas, tirazol, etc (KJLUN, TUREL, 2017; RYAN *et al.*, 2021; HERAVI, ZADSIRJAN, 2020) além de influenciar em determinadas atividades biológicas. Complexos contendo este ligante e seus derivados foram descritos na literatura como potenciais agentes antimetastáticos e antibacterianos. Em se tratando de atividade antimetastática, os complexos de Pt(II) apresentaram citotoxicidade frente às células de linhagem HeLa (linhagem de câncer cervical) e U2SO (osteossarcoma humano), apesar de não promoverem a apoptose celular (WILSON, LIPPARD, 2012).

Recentemente, uma classe de compostos de cobre (II), as casiopeinas têm se destacando diante dos resultados biológicos promissores, tais como baixa toxicidade em células normais e significativo efeito antineoplásico *in vitro* e *in vivo*. As fórmulas gerais dos complexos que compõem esse grupo são:  $[Cu(N-N)(O-O)]NO_3$  (Figura 13) e  $[Cu(N-N)(N-O)]NO_3$ , onde N-N é 2,2'-bipiridinas ou 1,10-fenantrolinas contendo ou não outros substituintes (ligantes primários); O-O refere-se ao ligante acetilacetato, mencionado anteriormente, ou salicilaldeídos; e N-O podendo ser aminoácidos ou peptidas (ligantes secundários), sendo que, dentre as citadas uma molécula já está sendo testada em ensaios clínicos de fase 1, no México (CARVALLO-CHAIGNEAU *et al.*, 2007; TREJO-SOLÍS *et al.*, 2005). Adicionalmente, os estudos realizados com esse grupo de compostos também demonstraram a capacidade dessas espécies em induzir apoptose em células mortas através de várias vias, a citar, mecanismos envolvendo processo redox catalítico com agentes redutores endógenos; interação do DNA promovendo a genotoxicidade; disfunção mitocondrial; e superprodução de espécies reativas de oxigênio (ROS) (SOLANS *et al.* 1987; SOLANS *et al.*, 1988; FIGUEROA-DEPAZ *et al.*, 2022).

**Figura 13.** Estrutura química da casiopeina III-ia, contendo o ligante acac (círculo azul fúcsia)



**Fonte:** Autora.

Já em relação à atividade antibacteriana, complexos organometálicos de Rh(III) e Ir(III) exibiram bom desempenho frente à *Mycobacterium smegmatis* (membro não patogênico e de rápido crescimento), porém, alguns derivados não apresentaram a estabilidade desejada em meios biológicos, comprometendo, assim, seu potencial terapêutico. Vale ressaltar que o tipo de metal influenciou diretamente na atividade, uma vez que complexos de ródio exibiram valores de MIC (concentração mínima inibitória) mais promissores que os complexos de irídio (DUCHANE *et al.*, 2018). As estruturas químicas, assim como os valores de IC<sub>50</sub> dos complexos mencionados estão exibidos na Tabela 3.

**Tabela 3.** Atividade biológica de alguns complexos selecionados de Pd(II), Rh(III), Ir(III), Pt(II), Cu(II) e Ni(II) contendo ligantes β-dicetonas em suas respectivas esferas de coordenação.

Metal	Estrutura química	Atividade biológica	Citotoxicidade (μmol L <sup>-1</sup> )	Referência
Paládio(II)		-Antibacteriana	MIC ( <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ) 24,32	(COUTO ALMEIDA <i>et al.</i> , 2014)
		-Antitumoral	IC <sub>50</sub> (K562) 14,3 ± 1,2	

<b>Ródio(III)</b>		-Antimicrobiana	<b>MIC</b> <i>(Mycobacterium smegmatis)</i> 2,30	DUCHANE <i>et al.</i> (2018)
<b>Irídio(III)</b>		-Antimicrobiana	<b>MIC</b> <i>(Mycobacterium smegmatis)</i> 14,49	DUCHANE <i>et al.</i> (2018)
<b>Platina(II)</b>		-Antitumoral	<b>IC<sub>50</sub></b> (HeLa) 2,9 ± 0,7	WILSON,LIPPARD (2012)
		-Antitumoral	<b>IC<sub>50</sub></b> (HeLa) 3,0 ± 1,0 <b>IC<sub>50</sub></b> (U2OS) 1,6 ± 0,5	WILSON,LIPPARD (2012)
<b>Cobre(II)</b>		-Antifúngica -Antimicrobiana	<b>MIC</b> ( <i>S. aureus</i> ATCC 25923) 100 <b>MIC</b> ( <i>E. coli</i> ATCC 25922) 150 <b>MIC</b> ( <i>F. verticillodes</i> CGJM 3823) 250	MATEYISE <i>et al.</i> (2021)



	<p>-Antibacteriana</p> <p>-Antitumoral</p>	<p><b>MIC</b> (<i>S. aureus</i> ATCC 25923)</p> <p>64</p> <p><b>IC<sub>50</sub>(HeLa)</b></p> <p>86,6 ± 12,1</p>	<p>KHAMIDULLINA <i>et al.</i> (2021)</p>	
	<p>- Antitumoral</p>	<p><b>IC<sub>50</sub>(MCF-7)</b></p> <p>22,33 ± 3,25</p>	<p>SOUSA <i>et al.</i> (2020)</p>	
<p><b>Níquel(II)</b></p>		<p>- Antitumoral</p>	<p><b>IC<sub>50</sub>(MCF-7)</b></p> <p>29,94 ± 1,97</p>	<p>SOUSA <i>et al.</i> (2020)</p>

**Fonte:** Dados de revisão bibliográfica.

Existem outros ligantes representantes da classe das  $\beta$ -dicetonas que também foram explorados biologicamente a partir da formação de novos complexos. O X-beta, sendo  $\text{bta} = 4,4,4\text{-trifluoro-1-fenil-1,3-butanediona}$ , ( $\text{X} = \text{H}$  podendo ser substituído por halogênios como flúor, cloro e bromo ou outros grupos orgânicos), é um exemplo representativo de  $\beta$ -dicetona assimétrica que pode ser modificada estruturalmente na posição *para* do anel aromático com o intuito de avaliar a seletividade para alvos biológicos, a lipofilicidade e, conseqüentemente, atividade citotóxica (DARUGAR *et al.*, 2017). Além desses, o ligante 2-acetilciclopentanona complexado aos metais Ni(II) e Cu(II) foi desenvolvido e os estudos realizados demonstraram que os complexos à base deste interagiram com DNA, além de apresentarem citotoxicidade frente à linhas celulares de ascites de linfoma de Dalton *in vitro* e *in vivo* (DEEPTHI, VENUGOPALAN, 2016).

Trabalhos de Khamidullina *et al.* (2021) descrevem complexos de cobre(II) contendo ligantes derivado do bta, contendo o grupo  $-\text{OCH}_3$  (metoxi) na posição *orto* do anel aromático (HL0) e na posição *para* (HL1). Os complexos sintetizados exibiram atividade inibitória contra as bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, além de fungos

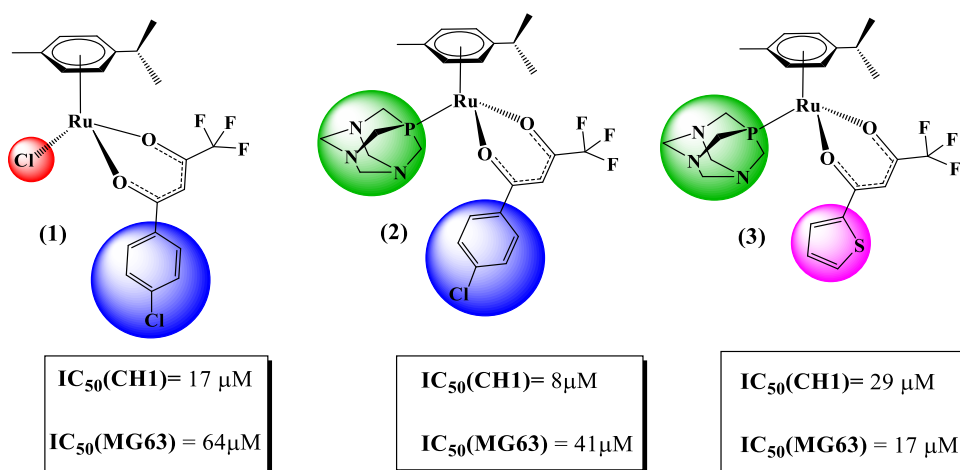
unicelulares oportunistas. Os mesmos compostos também foram testados frente a linhagens de células HeLa e Vero. Em se tratando da atividade inibitória da bactéria Gram-positiva *B. subtilis* ATCC 6633, o ligante em sua forma livre apresentou melhor capacidade inibitória que o seu respectivo complexo *cis*-[Cu(L1)<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>], exibido na Tabela 3. Em se tratando das bactérias Gram-negativa e bactérias fitopatogênicas *E. coli* ATCC 25922, *P. atrosepticum* RCAM 01724 e *P. atrosepticum* 34-1/1 não houve diferença significativa na atividade. No que se refere à atividade anticarcinogênica, os complexos exibiram atividade moderada para a linhagem HeLa e baixa atividade para a linha Vero, sendo que o *cis*-[Cu(L0)<sub>2</sub>(DMSO)<sub>2</sub>] apresentou menor valor de IC<sub>50</sub> que o *cis*-[Cu(L1)<sub>2</sub>(DMSO)] (KHAMIDULLINA *et al.*, 2021).

O potencial citotóxico de complexos de Ni(II) frente a duas linhagens tumorais MCF-7 e MBA-MB-231 foi avaliado por Luana *et al.* (2020). Os ligantes β-dicetonas empregados foram bta, btc = 1-(4-clorofenil)-4,4,4-trifluoro-1,3-butanediona, btf = 4,4,4-trifluoro-1-(2-furil)-1,3-butanediona, juntamente com a fenantrolina (phen), os quais as estruturas estão exibidas na Tabela 3. Neste trabalho foi verificada a capacidade citotóxica do btc livre frente a linhagem MBA-MB-231 (IC<sub>50</sub> = 51,35 ± 0,64 μmol L<sup>-1</sup>) e com atividade similar à cisplatina (IC<sub>50</sub> = 60,24 ± 2,54 μmol L<sup>-1</sup>). A complexação ao Ni(II) potencializou a atividade, de modo que todos os complexos foram eficazes frente a ambas linhagens. O complexo avaliado [Ni(η<sup>2</sup>-NO<sub>3</sub>)(btc)(phen)] foi o mais ativo da série para a linhagem MCF-7 (IC<sub>50</sub> = 22,33 ± 3,25 μmol L<sup>-1</sup>), sendo o complexo [Ni(η<sup>2</sup>-NO<sub>3</sub>)(bta)(phen)] o segundo mais ativo (IC<sub>50</sub> = 29,94 ± 1,97 μmol L<sup>-1</sup>), em contrapartida, para a linhagem MBA-MB-231 foi a espécie mais ativa (IC<sub>50</sub> = 37,30 ± 1,97 μmol L<sup>-1</sup>) (SOUSA *et al.*, 2020).

Além dos metais de transição anteriormente citados, a literatura também evidencia a utilização dessa classe de ligantes com organometálicos à base de rutênio. Segundo trabalhos realizados por Seršen e colaboradores (2015), foi possível observar a atividade variável frente a linhagens de células cancerígenas (ovário – CH1 e osteosarcoma – MG63) a partir da modulação estrutural dos ligantes, bem como do anel de rutênio. Nos β-dicetonatos a substituição foi realizada no grupo aril, sendo que o ligante com o fragmento clorofenil apresentou melhor resposta biológica frente à linhagem CH1 (Figura 14(1)). Em se tratando do precursor de rutênio, realizou-se também a troca do ligante clorido pela espécie pta (Figura 14(2)) e, de acordo com os resultados obtidos, além da capacidade citotóxica promovida pelos ligantes inseridos, os compostos contendo o pta inibiram mais satisfatoriamente os alvos biológicos, principalmente as células

provenientes do osteosarcoma, apesar de que para esse tipo de linhagem o complexo de melhor afinidade biológica foi o que apresentou em sua estrutura organometálica os ligantes tta e pta, como exibido na Figura 14(3) (SERŠEN *et al.*, 2015; VOKÁČOVÁ *et al.*, 2018).

**Figura 14.** Organometálicos de Ru(II) com potencial atividade biológica frente às linhagens de câncer de ovário CH1 e osteosarcoma MG63 contendo ligantes  $\beta$ -dicetona com grupo aril substituído pelo 4-clorofenil (azul), sendo (1) com ligante clorido (vermelho) e (2) com ligante pta (verde) e (3) com grupo aril substituído pelo tta (rosa) também com ligante pta (verde).



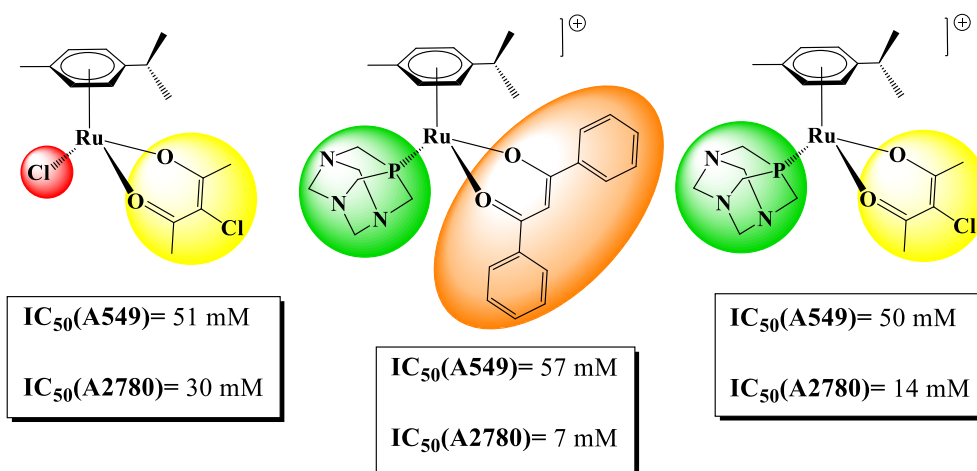
**Fonte:** Autora.

Modificações estruturais na porção areno também foram estudadas por Pettinari e colaboradores (2017) com o intuito de avaliar o efeito que essas espécies causariam no que se refere à citotoxicidade frente às linhagens celulares de mieloma múltiplo humano U266 e RPMI. Os grupos utilizados foram *p*-cimeno, hexametilbenzeno e benzeno. Adicionalmente, o ligante dibenzoilmetano juntamente com seus derivados iônicos e pta também foram inseridos à esfera interna de coordenação do rutênio. À esfera externa, diferentes contra-íons também foram explorados, neste caso,  $PF_6^-$  e  $SO_3CF_3^-$  e, segundo os resultados obtidos, todos os compostos apresentaram resposta biológica satisfatória proveniente não apenas da inserção dos novos grupos, mas principalmente do contra íon utilizado, neste caso,  $SO_3CF_3^-$  (PETTINARI *et al.*, 2017).

Já Vock e colaboradores (2008) exploraram a atividade biológica de organometálicos de rutênio(II) com ligantes fosfitos e derivados do acac ( $\beta$ -dicetona),

como alternativa para o tratamento da equinococose alveolar, conhecida como doença hidática. Essa doença além de rara, é perigosa e possui características muito similares ao câncer. Os complexos investigados de fórmula geral  $[\text{Ru}(\text{tBu}_2\text{acac})(p\text{-cimeno})\{\text{P}(\text{OR})_3\}][\text{BF}_4]$ , sendo  $\text{R} = \text{Et}, \text{iPr}, \text{Ph}$  exibiram valores de  $\text{IC}_{50}$  obtidos a partir de testes *in vitro* semelhantes ao medicamento nitazoxanida empregado no tratamento da doença. Compostos similares, com substituição dos ligantes fosfitos, de fórmulas  $[\text{RuCl}(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})(\text{Me}_2\text{acac-Cl})]$  (**4**),  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})(\text{Ph}_2\text{acac})(\text{pta})]^+$  (**5**) e  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})(\text{Me}_2\text{acac-Cl})(\text{pta})]^+$  (**6**), demonstrados na Figura 15, também foram testados em linhagens de células tumorais, e pelos resultados adquiridos, foram considerados altamente citotóxicos frente às linhagens de câncer de pulmão humano (A549) e em células de câncer de ovário humano (A2780), principalmente. Vale ressaltar que essas linhagens apresentam resistência aos agentes quimioterápicos aplicados (VOCK *et al.*, 2008).

**Figura 15.** Organometálicos de rutênio(II) com o ligante acac e seus derivados com valores de atividade inibitória frente às linhagens A2780 e A549.



**Fonte:** Autora.

Deste modo, através dos relatos da literatura, é possível constatar que os efeitos sinérgicos que as  $\beta$ -dicetonas promovem quando inseridas à esfera de coordenação de diferentes espécies metálicas, visando o aumento do potencial biológico, são promissores. Isso encoraja à comunidade científica na utilização desses compostos orgânicos para o desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que, suas propriedades somadas às espécies metálicas, bem como o efeito eletrônico gerado com a presença de outros

ligantes, corrobora positivamente para aplicações biológicas. Nessa perspectiva, as suas propriedades químicas podem influenciar diretamente em parâmetros fundamentais no que se refere a *design* de novos fármacos, como, por exemplo, lipofilicidade e hidrofobicidade, que são fatores influentes no transporte e capacidade de permeação pelas membranas celulares; na interação seletiva de alvos biológicos como DNA e outras proteínas constituintes do líquido extracelular; além de promover efeito inibitório de diversos patógenos e fatores responsáveis por várias doenças, principalmente o câncer.

### **1.3.2 Piridina e sua importância farmacológica**

A piridina exibe um caráter básico e isso é justificado pela presença do átomo de nitrogênio com dois elétrons livres, o que possibilita a interação com diversos íons metálicos. Geralmente, a existência de um anel piridínico na estrutura de um composto orgânico potencializa o poder quelante do mesmo, o que se torna extremamente importante na formação de complexos mais estáveis. Essa propriedade também pode ser aproveitada na obtenção de novos complexos, cujo objetivo principal seja favorecer a atividade por meio de efeitos sinérgicos entre o ligante e o metal, resultando em compostos com perfis farmacológicos reconhecidos e completamente diferentes dos seus respectivos ligantes livres (RANFORD *et al.*, 1998; BADAR *et al.*, 2020; KONDURI *et al.*, 2021; PATIL *et al.*, 2020; BERGAMASCHI *et al.*, 1997).

Diante disso, a piridina e seus derivados encontram-se não apenas como ligantes orgânicos modificados, mas também como componentes da esfera de coordenação de metais de transição com diferentes propriedades farmacológicas (KONDURI *et al.*, 2021; PATIL *et al.*, 2020). Dando um destaque maior para o metal empregado nesse trabalho, o rutênio(II), que é descrito na literatura compondo diversos complexos com espécies piridínicas (MARSZAUKOWSKI *et al.*, 2019; SONKAR *et al.*, 2021; ISMAIL *et al.*, 2021). Publicações de Grgurić-Šipka e colaboradores (2010) descreveram organometálicos de rutênio(II), contendo derivados da piridina, neste caso, constituídos dos grupos acetil, ácido carboxílico e nicotínico em diferentes posições do anel. Todos os complexos exibiram baixa citotoxicidade, porém, foi observado que o tempo de incubação influencia na atividade, já que, em períodos maiores, os compostos foram mais ativos. Além disso, apenas o complexo contendo o ligante 3-acetilpiridina inibiu três das seis linhagens empregadas (FeMx., MDA-MB-361, e HeLa). A estrutura química, bem como

os valores de citotoxicidade da espécie mais ativa estão dispostos na Tabela 4 (GRGURIĆ-ŠIPKA *et al.*, 2010).

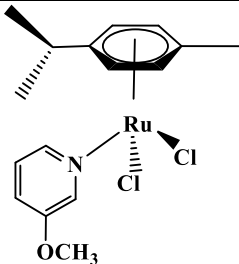
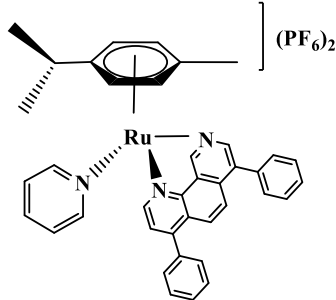
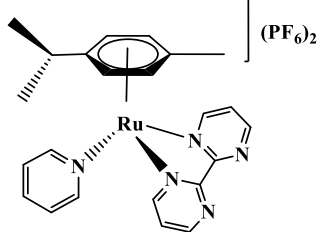
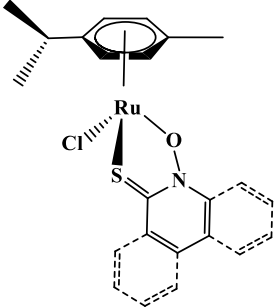
Segundo Betanzos-Lara e colaboradores (2012), complexos utilizando o mesmo precursor de rutênio(II) foram testados contra a linhagem tumoral A2780 (ovário humano). Neste caso, foi avaliada a atividade biológica a partir da modificação do grupo areno (*p*-cimeno, hexametilbenzeno ou indano), assim como da inserção de ligantes piridínicos monodentados e bidentados (2,2'-bipirimidina, fenantrolina e seus derivados). De acordo com os valores de IC<sub>50</sub> obtidos, os complexos apresentam citotoxicidade moderada, porém, o mais ativo é o complexo em que o grupo areno é o *p*-cimeno, e os ligantes piridínicos são 4,7-difenil-1,10-fenantrolina e piridina, sendo os seus valores de IC<sub>50</sub> comparáveis ao da cisplatina nas mesmas condições (Tabela 4). E como tendência geral, observou-se também que os complexos mais ativos têm piridina ou seus respectivos derivados nicotinamida ou metil nicotinato (BETANZOS-LARA *et al.*, 2012).

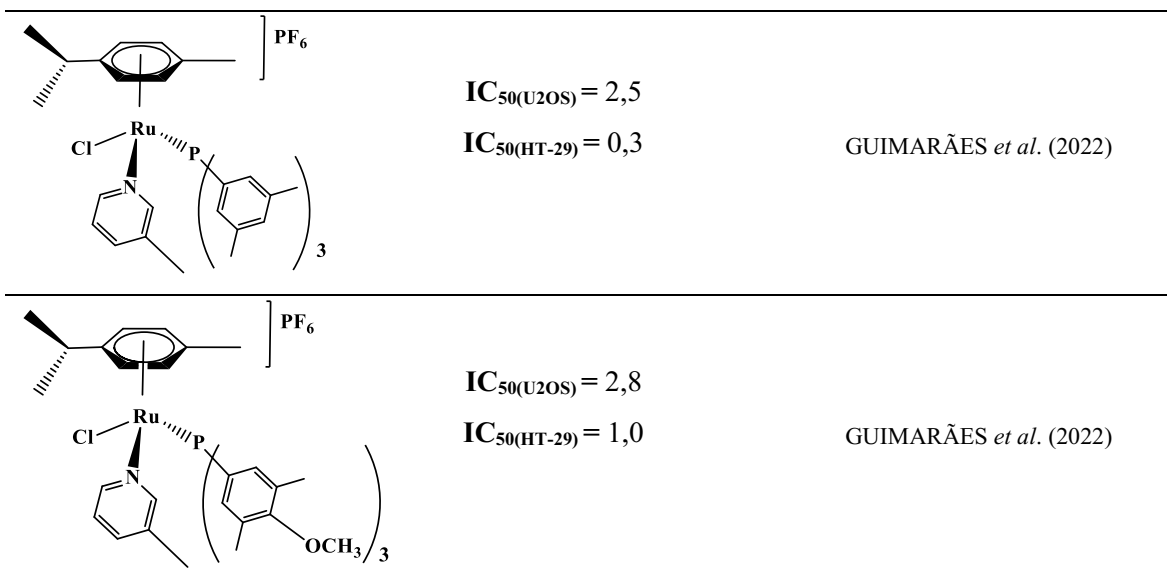
Já o trabalho de Kladnik e colaboradores (2021) descreveu uma nova série de organorutênio(II) com ligantes derivados da piridina, neste caso, as piritionas. Os testes desses complexos foram realizados em 6 linhagens celulares, sendo essas A2780 (ovário), A549 (pulmão), HCT<sub>116</sub> (colorretal), OE<sub>19</sub> (esofágico), HEPG<sub>2</sub> (hepatocelular) e PC<sub>3</sub> (próstata) e, a partir dos valores de IC<sub>50</sub> obtidos, verificou-se que o composto 1a (exibido na Tabela 4), além de apresentar atividade frente a 3 das 6 linhagens empregadas, também exibiu melhor desempenho citotóxico que o fármaco de referência (cisplatina), especificamente em células A2780. Foram realizados também ensaios utilizando linhagens resistentes à cisplatina, como por exemplo, a A2780-*cis*, obtendo assim resultados promissores. Outras considerações a serem feitas são que, não apenas os complexos, mas os seus respectivos ligantes exibiram citotoxicidade moderada e o mecanismo proposto para esses complexos envolve apenas a via do ciclo celular G<sub>1</sub>, sem formação de ROS, o que é esperado para complexos à base de rutênio. E por fim, propriedades inibitórias frente à enzima tioredoxina redutase (TrxR) em um sistema modelo também foram constatadas (KLADNIK *et al.*, 2021).

Adicionalmente, complexos contendo ligantes fosfínicos juntamente com dois tipos de piridina substituídas, uma pelo grupo metil na posição 3 e a outra com mesmo grupo na posição 4 do anel foram avaliados frente às linhagens celulares U2OS e HT-29 (câncer de cólon). Os estudos comprovaram que os compostos mais ativos exibiram em sua estrutura química os ligantes 3-metilpiridina e (PAr<sub>3</sub>), sendo Ar = CH<sub>3</sub>O-3,5-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>- definido como (2) e Ar = 4-CH<sub>3</sub>O-3,5-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>2</sub>-, definido como (3),

como demonstrados na Tabela 4 (GUIMARÃES *et al.*, 2022). Diante do exposto, diversos complexos contendo não apenas o precursor areno de rutênio(II), mas também a piridina e seus derivados, bem como os resultados citotóxicos promissores exibidos na revisão bibliográfica, encoraja e corrobora fortemente para o uso dessas espécies no trabalho em questão.

**Tabela 4.** Arenos de rutênio(II) selecionados contendo piridina e derivados com potencial atividade carcinogênica.

Estrutura química	Citotoxicidade ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Referência
	$\text{IC}_{50(\text{FeMx})} = 290,02 \pm 8,53$ $\text{IC}_{50(\text{MDA-MB-361})} = 220,50 \pm 6,36$ $\text{IC}_{50(\text{HeLa})} = 244,00 \pm 1,91$	GRGURIĆ-ŠIPKA <i>et al.</i> (2010)
	$\text{IC}_{50(\text{A2780})} = 7,4$	BETANZOS-LARA <i>et al.</i> (2012)
	$\text{IC}_{50(\text{A2780})} = 9,0$	BETANZOS-LARA <i>et al.</i> (2012)
	$\text{IC}_{50(\text{A2780})} = 1,0 \pm 0,08$ $\text{IC}_{50(\text{A549})} = 4,5 \pm 0,3$ $\text{IC}_{50(\text{OE19})} = 10,9 \pm 0,2$ $\text{IC}_{50(\text{A2780Cis})} = 1,1 \pm 0,05$	KLADNIK <i>et al.</i> (2021)



**Fonte:** Dados da revisão bibliográfica.

Sendo assim, a utilização da piridina foi determinada nessa tese por alguns fatores importantes, a se iniciar pela elevada afinidade do metal  $Ru^{2+}$  – caracterizado como um ácido mole, segundo o conceito de ácidos e bases de Pearson (1963) – com este grupo que exhibe características básicas, sendo que a maciez é modulada por substituintes existentes no anel. Outra motivação é o efeito eletrônico que este ligante pode exercer na posição substituída do ligante clorido no anel de rutênio, que foi empregado como precursor. Isso porque a labilidade do ligante neste fragmento da molécula (ligação Ru-Cl) é de extrema importância para a atividade biológica, uma vez que, segundo os mecanismos propostos e, como mencionado anteriormente, a partir dessa porção da molécula ocorre a hidrólise na ligação Ru-Cl, o que origina espécies ativas capazes de interagir com diversas moléculas-alvo, além de facilitar o transporte para dentro da célula (PAL *et al.*, 2018; NAZAROV *et al.*, 2014; BENITE *et al.*, 2007). Desta forma, considerando o potencial biológico de complexos organometálicos de Ru(II) e o relevante papel das  $\beta$ -dicetonas e piridina na modulação das propriedades estruturais e eletrônicas, bem como seu possível efeito sinérgico, essas espécies foram utilizadas nesse trabalho visando avaliar o potencial biológico a partir dos estudos descritos acima.

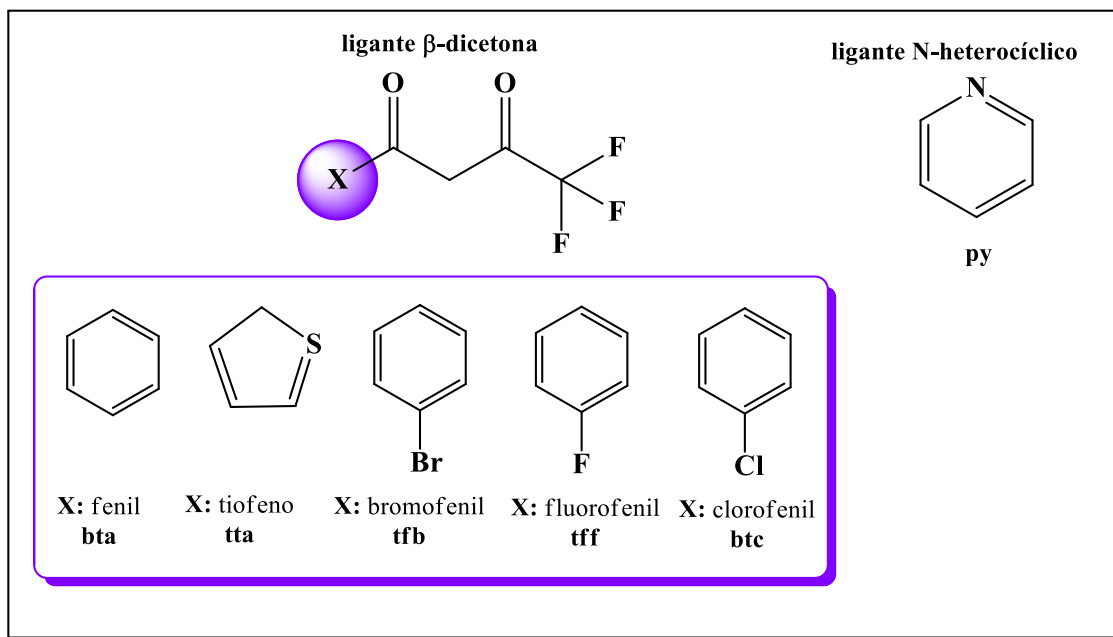
#### 1.4 Enunciado da hipótese do presente trabalho

A presente tese teve como principal proposta avaliar a influência na atividade biológica de ligantes  $\beta$ -dicetonas e piridina nos centros estruturais dos complexos



organometálicos de Ru(II). Para essa finalidade, utilizou-se os ligantes 1,3-butanodiona-1-fenil-4,4,4-trifluoro (Hbta), 2-tenoiltrifluoroacetona (Htta), 1,3-butanodiona-1-(4-bromofenil)-4,4,4-trifluoro (Htfb), 1,3-butanodionato-1-(4-fluorofenil)-4,4,4-trifluoro (Htff), 1,3-butanodiona-1-(4-clorofenil)-4,4,4-trifluoro (Hbtc) e piridina (py), cujas estruturas estão representadas na Figura 16.

**Figura 16.** Representação dos ligantes empregados neste trabalho.



**Fonte:** Autora.

Como descrito na seção anterior, o emprego desses ligantes se baseia em relatos da literatura em que compostos derivados exibiram atividade biológica, e, principalmente, significativa citotoxicidade em determinadas linhagens celulares. Além disso, relata-se também que a inserção dessas espécies na esfera de coordenação de íons metálicos, resulta em compostos promissores como potenciais fármacos, obtendo-se em alguns casos, melhor desempenho biológico quando comparados às espécies orgânicas isoladamente (SOUZA *et al.*, 2020; LOPES *et al.*, 2013; COUTO *et al.*, 2015). Nesse sentido, a pretensão deste trabalho envolve não apenas a avaliação de ligantes  $\beta$ -dicetonas contendo grupos aril distintos, mas também o possível efeito sinérgico dessas espécies juntamente com a piridina no sistema proposto.

Em se tratando do precursor explorado neste projeto, vale salientar que a escolha é justificada por bons resultados relatados na literatura acerca de complexos de

rutênio(II), principalmente no que se refere à atividade antitumoral, comprovada pelo desempenho de compostos anticarcinogênicos, tais como os componentes da família RAPTA, o NAMI-A, NKP1019, dentre outros, o que contribuiu para o estudo de novas espécies à base deste metal, já que o mesmo exibe propriedades físico-químicas que favorecem a sua aplicação no âmbito da química bioinorgânica. Além disso, o grupo de pesquisa do Laboratório de Fotoquímica (LAFOT) desenvolve trabalhos com complexos de rutênio(II) há alguns anos, inclusive, alguns já apresentaram respostas biológicas promissoras com ligantes mercaptoimidazóis, carboxilatos, fosfinas os quais foram verificadas atividades citotóxicas *in vitro* frente a diferentes linhagens do parasita *leishmania* e linhagens celulares tumorais, tais como HepG2 (Carcinoma hepatocelular), MCF-7 (Adenocarcinoma mamário), MO59J (Glioblastoma) (MIRANDA *et al.*, 2018; SOBRINHO, 2015; COSTA *et al.*, 2017; LOPES *et al.*, 2015).

Por esse motivo, com a finalidade de desenvolvimento de novos fármacos com atividade antitumoral mais acentuada e toxicidade diminuída, torna-se interessante verificar a atividade antitumoral de um novo sistema proposto de compostos derivados do organometálico de rutênio(II) contendo os ligantes  $\beta$ -dicetonas e piridina. Dessa forma, visa-se também avaliar como a inserção dessas espécies pode promover diferentes resultados tanto na caracterização estrutural quanto na interação com biomoléculas e, ainda, com relação ao potencial biológico.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Gerais

Em concordância com a hipótese especificada na seção anterior, este trabalho teve como objetivos planejados a síntese, caracterização, estudos de interação com biomoléculas e avaliação de atividade biológica *in vitro* de novos compostos organometálicos de rutênio(II) contendo ligantes  $\beta$ -dicetonas e piridina.

### 2.2 Específicos

Este trabalho teve como objetivos específicos:

- 1) Sintetizar compostos organometálicos de rutênio(II) de fórmula geral  $[\text{Ru}(\text{O}-\text{O})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$ , sendo (O-O): 1,3- butanodionato-1-fenil-4,4,4-trifluoro (bta), 2-tenoiltrifluoroacetato (tta), 1,3-butanodionato-1-(4-bromofenil)-4,4,4-trifluoro (tfb), 1,3-butanodionato-1-(4-fluorofenil)-4,4,4-trifluoro (tff), 1,3-

butanodionato-1-(4-clorofenil)-4,4,4-trifluoro (btc); *p*-cim:  $\eta^6$ -*p*-cimeno e py: piridina.

- 2) Caracterizar os novos complexos sintetizados através das técnicas de análise elementar, condutimétrica, espectroscopia de absorção na região do infravermelho (IV); espectroscopia de ressonância magnética nuclear de próton ( $^1\text{H}$ ) e carbono ( $^{13}\text{C}$ ); espectroscopia de absorção no UV-Vis; espectrometria de massas e difração de raios X;
- 3) Avaliar a estabilidade dos novos compostos através de técnicas de UV-Vis e ressonância magnética nuclear;
- 4) Analisar a interação dos complexos com biomoléculas, sendo estas, o ácido desoxirribonucleico (DNA) utilizando as técnicas de viscosidade e eletroforese em gel, além da proteína albumina sérica bovina (BSA) utilizando complexos selecionados;
- 5) Avaliar a atividade citotóxica *in vitro* do precursor, complexos e ligantes livres frente à diferentes linhagens celulares, linhagens de tecido epitelial mamário (linhagem tumoral de mama triplo-negativo MDA-MB-231, linhagem tumoral de mama MCF-7 estrogênio positivo, linhagem não tumoral de mama MCF-10A), linhagens referentes a tecido pulmonar (linhagem de carcinoma pulmonar A549, e linhagem celular fibroblástica de pulmão MRC-5), e por fim, linhagens de tecido epitelial de ovário (linhagem tumoral de ovário resistente à cisplatina A2780-*cis*).

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 Materiais e métodos

A realização da parte experimental foi dividida em 4 etapas: 1) síntese dos complexos; 2) caracterização físico-química; 3) estudo de interação com DNA e BSA e 4) avaliação antitumoral *in vitro*. Todas as reações bem como algumas caracterizações foram realizadas no laboratório do grupo de pesquisa LAFOT (Laboratório de Fotoquímica).

A espectrometria de massa foi realizada sob a supervisão do Dr. Mario Machado Martins, no Laboratório de Nanobiotecnologia Doutor Luis Ricardo Goulart Filho, da Universidade Federal de Uberlândia, campus Umuarama (IBTC-UFU). Os dados dos feixes de raios X difratados foram coletados no laboratório coordenado pelo Prof. Dr.

Victor Deflon (USP) e refinados por Prof. Dr. Pedro Ivo da Silva Maia, do Instituto de Ciências Naturais, Exatas e Educação da Universidade Federal do Triângulo.

As análises de RMN  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e CHN foram realizadas na Rede de Laboratórios Multiusuário do Instituto de Química da UFU, pelos técnicos Flaysner Magayver Portela e Roni Marcos dos Santos, respectivamente. O estudo de interação com BSA foi realizado no laboratório do LAFOT. Já avaliação citotóxica *in vitro* e estudos de interação com DNA foram realizados no Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos, no grupo de pesquisa do Prof. Dr. Alzir Azevedo Batista.

### 3.1.1 Reagentes

Os solventes e reagentes empregados neste trabalho foram utilizados sem nenhum pré-tratamento.

Os solventes utilizados foram: água destilada, álcool metílico (Neon, P.A 99,8%), álcool etílico (Vetec, P.A 99,5%), éter dietílico (Synth, P.A),  $\alpha$ -felandreno (Sigma Aldrich), trietilamina (Vetec), clorofórmio deuterado (Sigma Aldrich); dimetilsufóxido HPLC (Sigma Aldrich), dimetilsufóxido deuterado (Sigma Aldrich), acetonitrila (Sigma Aldrich), ácido clorídrico (Sigma Aldrich), isopropanol (Sigma Aldrich).

Para a obtenção dos complexos de rutênio(II) foram empregados: o tricloreto hidratado de rutênio (Sigma Aldrich), hexafluorofosfato de amônio (Sigma Aldrich), nitrato de prata (Sigma Aldrich), Hbta: 1,3- butanodiona-1-fenil-4,4,4-trifluoro (Sigma Aldrich), Htta: 2-tenoiltrifluoroacetona (Sigma Aldrich), Htfb: 1,3-butanodiona-1-(4-bromofenil)-4,4,4-trifluoro (Sigma Aldrich), Htff: 1,3-butanodiona-1-(4-fluorofenil)-4,4,4-trifluoro (Sigma Aldrich) Hbtc: 1,3-butanodiona-1-(4-clorofenil)-4,4,4-trifluoro (Sigma Aldrich) e a py: piridina(Sigma Aldrich).

Para os ensaios de estabilidade foram empregados: NaCl (Sigma Aldrich), KCl (Sigma Aldrich),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Sigma Aldrich) e  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (Sigma Aldrich). Para os ensaios de interação com biomoléculas e testes biológicos foram empregados: agarose (Sigma Aldrich), DNA plasmidial pBR322 (Sigma-Aldrich), albumina sérica bovina (BSA) (Sigma-Aldrich), brometo de etídio (Sigma-Aldrich), MTT (brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio), meio de cultura Eagle modificado por Dulbecco (DMEM e DMEM-F12), meio de cultura Instituto Memorial do parque Roswell (RPMI-1640), soro fetal bovino (FBS, Vitrocell), soro de cavalo (HS, Vitrocell), fator de crescimento epidérmico (EGF, Thermo Fisher Scientific), meio DMEM/F-12,

hidrocortisona (Sigma-Aldrich®), penicilina/estreptomicina (Vitrocell), tripsina (Vitrocell), Insulina de pâncreas bovino (Sigma-Aldrich®) e L-glutamina.

### 3.2 Síntese dos derivados de $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})]_2$

#### 3.2.1 Síntese do complexo precursor $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})]_2$

A síntese do precursor  $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})]_2$  (*Rup-cim*) foi realizada a partir da metodologia descrita a seguir: Em um balão de fundo redondo de 150 mL adicionou-se 50 mL de etanol. O solvente foi mantido sob refluxo e agitação a 70°C por um período de aproximadamente 0,5 h e após atingir a temperatura de ebulição, adicionou-se  $\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  (1,00 g, 1,63 mmol) até total dissolução do sal. Em seguida, foram adicionados 5 mL de  $\alpha$ -felandreno à solução etanólica. A mistura reacional permaneceu sob refluxo e agitação por 4 horas. Posteriormente, a solução foi resfriada até a temperatura ambiente, e para obtenção do precipitado de cor laranja, foi realizada uma pré-concentração utilizando um evaporador rotativo. Dessa forma, uma fração do precipitado formado cuja coloração é laranja/avermelhado foi filtrado com auxílio da bomba de vácuo e lavado com éter dietílico. O precipitado remanescente foi obtido através do líquido resultante da filtração, que foi resfriado durante 12 horas e também removido por filtração (JENSEN *et al.*, 1998).

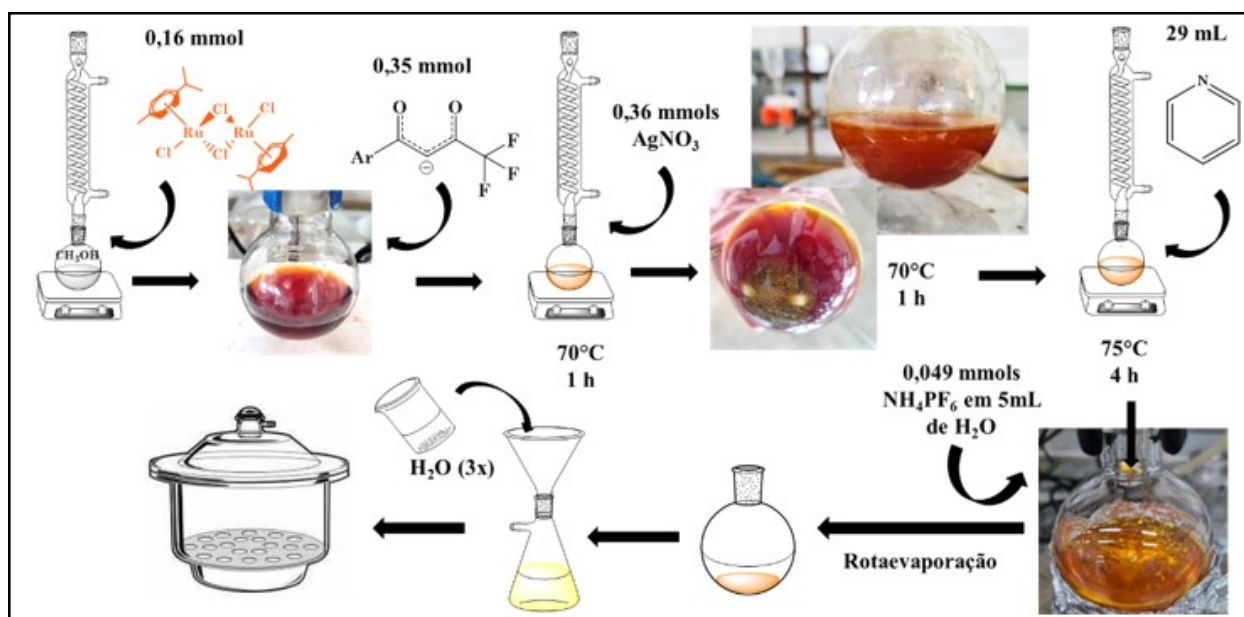
$[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})]_2$ : MM= 612,39 g mol<sup>-1</sup>. Rendimento: 525,50 mg (69,55%). Calculado para C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>Cl<sub>4</sub>Ru<sub>2</sub>: C, 39,23; H, 4,61. Experimental: C, 38,94; H, 4,84.

#### 3.2.2 Síntese dos complexos de fórmula geral $[\text{Ru}(\text{O-O})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$

Os novos complexos foram obtidos através da metodologia já empregada na literatura (HANIF *et al.*, 2014), com algumas modificações (MACÊDO, 2019) como descrito a seguir: Em um balão de fundo redondo (100 mL), adicionou-se metanol (25 mL) e o complexo precursor  $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})]_2$  (100 mg, 0,16 mmol). A mistura foi mantida sob agitação magnética e refluxo à 70°C. Após a dissolução completa dos reagentes sólidos, foi preparada uma solução metanólica (5 mL) contendo excesso do ligante (0,35 mmol) e trietilamina (50 µL, 0,35 mmol) (razão molar ligante/trietilamina 1:1), sendo esta gotejada na solução contendo o precursor. As quantidades em massa dos ligantes utilizados (razão molar precursor/ligante 1:2,2) foram de aproximadamente: 78 mg de Hbta, 80 mg de Htta, 100 mg de Htfb, 84 mg de Htff e 88 mg de Hbtc. A reação

foi mantida sob refluxo e agitação magnética por 1 hora. Após esse período, excesso de  $\text{AgNO}_3$  (61 mg, 0,36 mmol) foi adicionado e a solução permaneceu por mais 1 hora nas condições já descritas anteriormente. O precipitado branco foi filtrado à quente e à solução filtrada foi adicionado piridina (29  $\mu\text{L}$ ). A reação permaneceu em refluxo e agitação por 4 horas. Findado esse tempo, adicionou-se ao sistema uma solução aquosa (5mL) contendo  $\text{NH}_4\text{PF}_6$  (58 mg, 0,049 mmol). A solução final foi pré-concentrada com o auxílio do rotaevaporador e os precipitados foram filtrados em funil de placa sinterizada, lavados com água por três vezes e, em seguida com éter dietílico. Para a secagem completa, os novos materiais foram armazenados em dessecador à vácuo. Os precipitados obtidos exibiram tons de amarelo distintos. O Esquema 2 exibe todas as etapas e mudanças visuais no processo de obtenção dos novos complexos.

**Esquema 2.** Etapas da metodologia de síntese dos novos complexos.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

#### a) Complexo I ou $[\text{Ru}(\text{bta})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$

MM = 674,51  $\text{g mol}^{-1}$ . Rendimento: 161,19 mg (73,03%). Calculado para  $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{F}_9\text{NO}_2\text{PRu}$ : C, 44,52; H, 3,73; N, 2,06. Experimental: C, 44,46; H, 3,31, N, 2,05.  $\Lambda\text{M}$  (metanol,  $\text{S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ ): 71,83. UV-Vis (metanol),  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\epsilon$ ): 263 ( $0,99 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), 305 ( $1,59 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), 330 ( $0,9 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), 366 ( $0,34 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). IV (ATR),  $\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ): 1605, 1595, 1470, 1288, 830, 763, 553, 453, 382.  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,48 (dt,  $J = 5,1, 1,5 \text{ Hz}$ , 2H), 7,94 (m, 2H), 7,86 (tt,  $J = 7,6, 1.5 \text{ Hz}$ , 1H), 7,60

(m, 1H), 7,49 (m, 4H), 6,17 (s, 1H), 5,90 (dd,  $J = 6,1, 1,3$  Hz, 1H), 5,75 (dd,  $J = 6,0, 1,2$  Hz, 1H), 5,70 (dd,  $J = 6,1, 1,2$  Hz, 1H), 5,65 (dd,  $J = 6,0, 1,2$  Hz, 1H), 2,84 (hept,  $J = 7,0$  Hz, 1H), 2,15 (s, 2H), 1,35 (dd, 6H).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  16,71 (s), 21,36 (s), 21,44 (s), 30,09 (s), 76,27 (t), 81,23 (d), 83,69 (d), 91,21 (s), 99,22 (s), 102,65 (s), 116,79 (d,  $^1J_{\text{CF}}$  269 Hz), 125,81 (s), 127,12 (s), 128,45 (s), 133,21 (s), 134,86 (s), 138,82 (s), 151,09 (s), 168,77 (d,  $^2J_{\text{CF}}$  33 Hz), 186,52 (s).

**(b) Complexo II ou [Ru(tta)(*p*-cim)(py)]PF<sub>6</sub>**

MM = 680,55 g mol<sup>-1</sup>. Rendimento: 154,34 mg (69,25%). Calculado para C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>F<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>PRuS: C, 40,59; H, 3,40, N, 2,06. Experimental: C, 40,48, H, 3,34, N, 2,06. (metanol, S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>): 78,63. UV-Vis (metanol),  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\epsilon$ ): 263 (1,12 x 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 330 (2,06 x 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>). IV (ATR),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 1605, 1576, 1469, 1303, 1067, 829, 765, 554, 463, 380.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,42 (d,  $J = 5,6$  Hz, 2H), 7,87 (t,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,74 (m, 2H), 7,48 (t,  $J = 6,8$  Hz, 2H), 7,16 (t,  $J = 4,5$  Hz, 1H), 6,00 (s, 1H), 5,84 (d,  $J = 6,1$  Hz, 2H), 5,73 (d,  $J = 6,1$  Hz, 2H), 5,66 (m, 2H), 2,85 (h,  $J = 7,0$  Hz, 1H), 2,21 (s, 3H), 1,37 (dd, 6H).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  17,39 (s), 22,08 (s), 22,24 (s), 30,85 (s), 77,03 (t), 82,40 (d), 83,99 (d), 91,72 (s), 99,41 (s), 103,42 (s), 118,98 (d,  $^1J_{\text{CF}}$  269 Hz), 126,58 (s), 129,21 (s), 132,14 (s), 135,52 (s), 139,59 (s), 141,55 (s), 151,77 (s), 168,80 (d,  $^2J_{\text{CF}}$  34 Hz), 180,02 (s).

**(c) Complexo III ou [Ru(tfb)(*p*-cim)(py)]PF<sub>6</sub>**

MM = 753,40 g mol<sup>-1</sup>. Rendimento: 176,59 (71,34%). Calculado para C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>BrF<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>PRu: C, 39,86; H, 3,21, N, 1,86. Experimental: C, 39,87; H, 3,24, N, 1,83. (metanol, S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>): 75,61. UV-Vis (metanol),  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\epsilon$ ): 230 (0,80 x 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 263 (0,78 x 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 312 (1,57 x 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> vcm<sup>-1</sup>). IV (ATR),  $\nu$  (cm<sup>-1</sup>): 1601, 1583, 1468, 1292, 835, 761, 557, 473, 463, 380.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8,50 (d,  $J = 5,6$  Hz, 2H), 8,01 (t,  $J = 7,0$  Hz, 2H), 7,87 (t,  $J = 7,6$  Hz, 1H), 7,49 (t,  $J = 6,7$  Hz, 2H), 7,18 (t,  $J = 8,4$  Hz, 2H), 6,09 (s, 1H), 5,93 (d,  $J = 6,1$  Hz, 1H), 5,77 (d,  $J = 6,1$  Hz, 1H), 5,72 (d,  $J = 6,1$  Hz, 1H), 5,63 (d,  $J = 6,0$  Hz, 1H), 2,82 (h, 1H), 2,12 (s, 3H), 1,33 (dd,  $J = 14,4, 6,9$  Hz, 6H).  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  17,40 (s), 22,02 (s), 22,13 (s), 30,77 (s), 76,93 (t), 81,60 (d), 84,66 (d), 91,64 (s), 100,27 (s), 103,34 (s), 118,60 (d,  $^1J_{\text{CF}}$  269 MHz), 126,39 (s), 129,30 (s), 132,25 (s), 132,45 (s), 134,28 (s), 139,36 (s), 151,80 (s), 169,85 (d,  $^2J_{\text{CF}}$  34 MHz), 186,07 (s).

#### (d) Complexo IV ou [Ru(tff)(*p*-cim)(py)]PF<sub>6</sub>

MM = 692,50 g mol<sup>-1</sup>. Rendimento: 167,89 mg (74,10%). Calculado para C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>F<sub>10</sub>NO<sub>2</sub>PRu: C, 43,36; H, 3,49, N, 2,02. Experimental: C, 43,13; H, 3,50, N, 2,00. (metanol, S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>): 77,30. UV-Vis (metanol), λ<sub>max</sub> (ε): 226 (0,99 x 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 260 (0,88 x 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 306 (1,64 x 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>). IV (ATR), ν (cm<sup>-1</sup>): 1610, 1575, 1468, 1288, 835, 792, 764, 556, 500, 378. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,50 (dt, *J* = 5,2, 1,5 Hz, 2H), 8,01 (m, 2H), 7,87 (tt, *J* = 7,7, 1,5 Hz, 1H), 7,49 (ddd, *J* = 7,7, 5,0, 1,5 Hz, 2H), 7,18 (m, 2H), 6,10 (s, 1H), 5,92 (d, *J* = 5,8 Hz, 1H), 5,75 (d, *J* = 5,8 Hz, 1H), 5,71 (d, *J* = 6,1 Hz, 1H), 5,62 (d, *J* = 5,8 Hz, 1H), 2,81 (h, *J* = 7,0 Hz, 1H), 2,11 (s, 3H), 1,32 (m, 6H). <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 16,93 (s), 21,54 (s), 21,66 (s), 30,30 (s), 76,47 (t), 81,14 (d), 84,12 (d), 91,09 (s), 99,70 (s), 102,84 (s), 115,89 (s), 126,02 (s), 130,25 (s), 131,33 (s), 139,04 (s), 151,35 (s), 165,78 (d, <sup>1</sup>J<sub>CF</sub> 256 MHz), 169,05 (d, <sup>2</sup>J<sub>CF</sub> 34 MHz), 185,30 (s).

#### (e) Complexo V ou [Ru(btc)(*p*-cim)(py)]PF<sub>6</sub>

MM = 708,95 g mol<sup>-1</sup>. Rendimento: 92,00 mg (77,60%). Calculado para C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>ClF<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>PRu: C, 42,35 H, 3,41, N, 1,98. Experimental: C, 42,88; H, 3,38, N, 2,00. (metanol, S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>): 76,33. UV-Vis (metanol), λ<sub>max</sub> (ε): 263 (0,99 x 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 310 (1,98 x 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>), 367 (0,5 x 10<sup>4</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>). IV (ATR), ν (cm<sup>-1</sup>): 1603, 1588, 1312, 1295, 1185, 832, 557, 479, 378. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8,51 (d, *J* = 5,1 Hz, 2H), 7,92 (m, 3H), 7,49 (m, 4H), 6,11 (s, 1H), 5,93 (d, *J* = 6,5 Hz, 1H), 5,77 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 5,72 (d, *J* = 6,1 Hz, 1H), 5,64 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 2,82 (h, *J* = 6,9 Hz, 1H), 2,12 (s, 3H), 1,33 (dd, *J* = 16,0, 7,0 Hz, 6H). <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 16,95 (s), 21,56 (s), 21,67 (s), 30,31 (s), 76,52 (t), 99,78 (s), 81,17 (d), 84,18 (d), 91,21 (s), 102,88 (s), 118,41 (d, <sup>1</sup>J<sub>CF</sub> 284 MHz), 126,05 (s), 128,80 (s), 128,99 (s), 133,38 (s), 139,07 (s), 140,09 (s), 151,35 (s), 169,51 (d, <sup>2</sup>J<sub>CF</sub> 34 MHz), 185,45 (s).

### 3.3 Caracterização físico-química

#### 3.3.1 Análise elementar (CHN)

Utilizou-se o analisador CHN modelo Perkin Elmer Precisely – Series II CHNS/O Analizer 2400, pertencente ao Laboratório Multiusuário do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia – UFU.



### 3.3.2 Condutividade Molar

As medidas de condutividade molar foram realizadas utilizando um condutivímetro Tecnopon m-CA 150, equipado com célula de platina, operando com uma constante de célula igual a  $0,9428 \mu\text{S cm}^{-1}$ . As soluções foram preparadas em metanol (Neon, P.A 99,8%), com concentrações na ordem de  $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , à  $25^\circ\text{C}$ . O brometo de tetraetilamônio ( $146,9 \mu\text{S cm}^{-1}$ ) foi utilizado como eletrólito padrão.

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

Os espectros eletrônicos de absorção foram obtidos em um espectrofotômetro UV- 2501 PC Shimatzu, num intervalo de 200 a 800 nm. Foram utilizadas cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm. Para análise, foram preparadas soluções com concentração  $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , utilizando como solvente o metanol.

### 3.3.4 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV)

Os espectros vibracionais foram obtidos no estado sólido, utilizando-se um espectrofotômetro FTIR Frontier Single Range – MIR da Perkin Elmer, na região de  $4000\text{-}220 \text{ cm}^{-1}$ . A análise das amostras foi realizada a partir da Reflectância Total Atenuada, com o auxílio de um cristal de diamante.

### 3.3.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  foram obtidos utilizando-se o espectrofotômetro Ascend 400 Avance III HD de 9,4 TESLA, operado a 400 MHz para as análises dos prótons e a 100 MHz para as análises dos núcleos ativos de carbono. Todas as amostras foram solubilizadas em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) e os respectivos deslocamentos químicos reportados foram relacionados ao sinal do padrão tetrametilsilano (TMS).

### 3.3.6 Difração de raios X por monocristal

A obtenção dos cristais dos complexos  $[\text{Ru}(\text{tfb})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$  (**III**) e  $[\text{Ru}(\text{tff})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$  (**IV**), ambos de coloração amarela/laranja, foi possível através da recristalização em metanol com posterior adição de éter dietílico. O recipiente foi mantido em um sistema refrigerado, em lenta evaporação até a observação das espécies cristalinas. O equipamento utilizado foi o difratômetro BruKER APEX II Duo com radiação Mo-K $\alpha$

( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ), instalado no Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo. Para otimização desses dados, utilizou-se de procedimentos padrão para possíveis correções de absorção. Para calcular os prótons presentes nas estruturas em posições ideais, utilizou-se do “riding model” de SHELXL97. Por fim, a partir do ORTEP-3 para Windows, obteve-se a figura ORTEP.

### 3.3.7 Espectrometria de massa

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. As amostras foram solubilizadas em metanol 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 °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.

## 3.4 Avaliação da estabilidade, ensaios biológicos *in vitro* e interação com biomoléculas dos complexos sintetizados

Foram realizados testes de estabilidade, interação com biomoléculas (DNA e BSA) e ensaios biológicos com os complexos obtidos em sistemas “*in vitro*”.

### 3.4.1 Avaliação da estabilidade dos complexos

A estabilidade dos complexos em meio aquoso foi avaliada por meio das técnicas espectroscopia UV-Vis e RMN de  $^1\text{H}$ . Considerando que todos os testes para avaliar a atividade biológica foram realizados em DMSO, os seguintes sistemas foram utilizados: DMSO/Tampão PBS para UV-Vis e DMSO deuterado para análise de RMN.

#### - Preparo de tampão PBS

Para a solução de tampão PBS foram pesados em uma balança analítica os seguintes sais: NaCl (8 g, 136 mmol), KCl (0,2 g, 2,68 mmol),  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,2 g, 1,47 mmol) e  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (1,15 g, 8,10 mmol). Em seguida, os sais solubilizados em água destilada foram transferidos para um balão volumétrico de 100 mL. Para medir o pH, 10 mL da solução foi utilizado um pHmetro de bancada digital MS TecnoPON– mPA-210.

### **- Análises de UV-Vis e RMN de <sup>1</sup>H**

Para as análises em UV-Vis foram preparadas soluções dos complexos na concentração de  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>. Posteriormente, em um balão volumétrico de 10 mL foram adicionados 100 µL da solução (DMSO/complexo) e 9,9 mL de tampão PBS diluído 10x. A solução final exibe concentração 99% v/v, de pH 7,4. Os perfis espectrais desses complexos foram registrados monitorando os espectros eletrônicos da mistura resultante durante intervalos de tempo (t = 0 h - 72 h). Para a análise em RMN de <sup>1</sup>H, aproximadamente 6 mg dos complexos foram solubilizadas em DMSO-*d*<sup>6</sup> e os espectros monitorados durante intervalos de tempo (t = 0 h - 72 h).

### **3.4.2 Ensaios biológicos *in vitro***

#### **- Linhagens de células tumorais e normais**

Os ensaios de citotoxicidade dos complexos sintetizados foram realizados utilizando as seguintes linhagens celulares: adenocarcinoma de mama triplo negativo humano de fenótipo mesenquimal MDA-MB-231 (ATCC N. HTB-26), adenocarcinoma de mama hormônio dependente MCF-7 (ATCC N. HTB-22), adenocarcinoma epitelial alveolar de células basais de pulmão humano A549 (ATCC N. CCL-185), fibroblasto pulmonar humano não tumoral MRC-5 (ATCC N. CCL-171), carcinoma epitelial de mama não tumoral MCF-10A (ATCC N. CRL-10317) e adenocarcinoma de ovário humano resistente à cisplatina A2780-*cis* (ATCC N. CCL-220).

#### **- Cultivo celular**

As células das linhagens MDA-MB-231, A549 e a MRC-5 (não tumoral de pulmão) foram cultivadas em meio de cultura Meio Dulbecco Modificado (DMEM, do inglês Dulbecco's Modified Eagle Medium), suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS). As linhagens MCF-7 e A2780-*cis* foram cultivadas em meio RPMI 1640 (do inglês Roswell Park Memorial Institute), suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS). A linhagem MCF-10A (não tumoral de mama humana) foi cultivada em meio DMEM/F-12, suplementado com 5% de soro de cavalo, fator de crescimento epidermal humano (EGF) (20 ng mL<sup>-1</sup>), hidrocortisona (0,05 mg mL<sup>-1</sup>), insulina (0,01 mg mL<sup>-1</sup>), penicilina (1%), estreptomicina (1%) e L-glutamina (2 mmol L<sup>-1</sup>). As linhagens celulares foram mantidas em incubadora umidificada com atmosfera de CO<sub>2</sub> (5%) a 37 °C.

### **- Determinação da atividade citotóxica**

A citotoxicidade dos compostos foi determinada empregando-se o método colorimétrico de MTT (brometo de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio). O ensaio consiste na redução enzimática do MTT formando cristais de formazan. Inicialmente, as células foram tripsinizadas para a contagem e ajuste da concentração celular e, em seguida, semeadas em placas de cultura de 96 poços ( $1,5 \times 10^4$  células/poço). As placas foram armazenadas em estufa ( $37^\circ\text{C}$  e  $5\% \text{CO}_2$ ) durante 24 h para a adesão celular. Após este período, adicionou-se os compostos em diferentes concentrações ( $0,048$  a  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), contendo  $0,5\%$  de DMSO, e a placa foi mantida na estufa por mais 48 horas. Em seguida, o meio de cultura foi removido das placas e foram adicionados  $50 \mu\text{L}$  de MTT ( $1,0 \text{mg mL}^{-1}$  em PBS) em cada poço, as quais foram posteriormente incubadas na estufa por um período de 3 horas. Os cristais de formazan formados foram solubilizados pela adição de  $150 \mu\text{L}$  de isopropanol e as medidas de absorbância foram registradas em  $540 \text{nm}$ , usando o leitor de microplacas espectrofotômetro/fluorímetro Synergy/H1-Biotek. As células do controle negativo receberam  $0,5\%$  de DMSO. Os valores de  $\text{IC}_{50}$  (concentração que inibe  $50\%$  da viabilidade celular) dos compostos foram calculados utilizando o software GraphPad Prism 8 e o índice de seletividade foi mensurado a partir da relação da Equação 2.

$$\text{IS} = \text{IC}_{50}(\text{linhagem não tumoral}) / \text{IC}_{50}(\text{linhagem tumoral}) \quad (2)$$

### **3.4.3 Estudos de interação com biomoléculas**

#### **3.4.3.1 Biomolécula: DNA**

##### **- Estudo hidrodinâmico de viscosidade**

As medidas de viscosidade foram realizadas utilizando um viscosímetro de Ostwald, imerso em um banho de água, mantido a  $25^\circ\text{C}$ . As amostras ( $4,0 \text{mL}$ ) foram preparadas em tampão Tris-HCl ( $4,5 \text{mmol L}^{-1}$  de Tris-HCl,  $0,5 \text{mmol L}^{-1}$  de Tris-base e  $50 \text{mmol L}^{-1}$  de NaCl,  $\text{pH } 7,4$ ), contendo  $10\%$  de DMSO. A concentração de DNA em tampão Tris-HCl foi mantida a  $80 \mu\text{mol L}^{-1}$ , constante em todas as amostras, e as concentrações de composto foram aumentadas de  $0$  a  $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ . O tempo de fluxo foi medido por pelo menos 5 vezes com um cronômetro digital e o valor médio foi calculado. Os valores de viscosidade específica  $(\eta/\eta_0)^{1/3}$  foram plotados *versus* a relação molar

[composto]/[DNA], onde  $\eta$  e  $\eta_0$  correspondem à viscosidade relativa do DNA na presença e ausência dos compostos, respectivamente. A viscosidade relativa do DNA foi calculada de acordo com a Equação 1, onde  $t$  e  $t_0$  correspondem ao tempo de fluxo da solução contendo o DNA e o tampão. Vale ressaltar que o padrão de intercalação Tiazol de Laranja também foi analisado nas mesmas condições, para posterior comparação (MOSMANN, 1983).

$$\eta_0 = (t - t_0) / t_0 \quad (1)$$

#### **- Estudo utilizando eletroforese em gel**

Os complexos foram preparados em diferentes concentrações (20 e 40  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), mantendo uma porcentagem fixa de 10% de DMSO. Os compostos **I-V** foram incubados com plasmídeo plasmidial pBR322 (40  $\mu\text{M}$ ) a 25°C por 18h e o complexo **V** incubado por 12 h à 37 °C. Em seguida transferiu-se as amostras para um gel de agarose a 1% com tampão TAE 1x (0,45 mol L<sup>-1</sup> Tris-HCl, 0,45 mol L<sup>-1</sup> ácido acético, 10 mmol L<sup>-1</sup> de EDTA, pH 7,4) e apenas para o **V** as amostras foram coradas com 1  $\mu\text{L}$  de tampão de carga (30 % glicerol, 5 mmol L<sup>-1</sup> xileno cianol). Os parâmetros de corridas das medidas de mobilidade eletroforética foram 50 V e 40 mA por 120 min (**I-V**) e 150 min (**V**), em uma cuba horizontal de eletroforese da Bio-Rad. Os géis foram corados com uma solução de brometo de etídio (1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ), por 15 minutos e revelados em fotodocumentador Gel Doc™ EZ Bio-Rad. As imagens obtidas foram analisadas com uso do Software Image Lab™ 6.0.0.

#### **3.4.3.2 Ensaios preliminares com biomolécula: BSA**

Os ensaios realizados para avaliar a interação com a BSA foram conduzidos mediante a utilização das técnicas espectroscópicas de emissão fluorescente e absorção UV-Vis segundo a metodologia descrita a seguir.

#### **- Preparo da solução de BSA e dos complexos de rutênio(II)**

Para as análises foi preparada solução-teste do insumo de BSA (2mg) em solução aquosa de PBS (3mL, pH 7,3). Já os complexos [Ru(bta)(*p*-cim)(py)]PF<sub>6</sub> (5,7 mg; 8,45  $\mu\text{mol}$ ) e [Ru(tff)(*p*-cim)(py)]PF<sub>6</sub> (5,9 mg) foram solubilizados em DMSO (46% do volume total) e posteriormente adicionados à solução aquosa de PBS (54% do volume

total). As respectivas concentrações das soluções-teste citadas foram  $3 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

#### **- Espectroscopia de absorção eletrônica UV-Vis e Emissão Fluorescente**

Os ensaios de interação foram feitos através de titulação, fixando-se a concentração da solução-teste de BSA, e variando-se a concentração da solução-teste dos complexos. Ou seja, foram adicionadas alíquotas de 30 a 240  $\mu\text{L}$  da solução dos complexos à cubeta contendo  $3 \mu\text{mol L}^{-1}$  de BSA. A cada volume adicionado, a solução-teste de BSA foi submetida à análise absorptiva em UV-vis por meio de varredura na faixa de 200 a 600 nm. Em seguida, a mesma solução foi analisada em um fluorímetro utilizando um feixe de excitação de 280 nm ( $\lambda_{\text{exc}}$ ) e intervalo de emissão entre 300 e 500 nm. As fendas utilizadas nos feixes de excitação e emissão foram de 5 e 1 nm, respectivamente. Os espectros de absorção foram obtidos através do espectrofotômetro UV-2501 PC Shimadzu, em cubetas de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm. Já os dados de emissão estacionária foram adquiridos em um espectrofluorímetro Horiba modelo Fluoromax-4.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os compostos sintetizados neste trabalho foram caracterizados utilizando análise elementar, condutividade molar e as técnicas espectroscópicas: espectroscopia na região do infravermelho (IV), espectroscopia no ultravioleta visível (UV-Vis) e ressonância magnética nuclear de próton (RMN  $^1\text{H}$ ) e carbono (RMN  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ ), além da espectrometria de massas (EMAR).

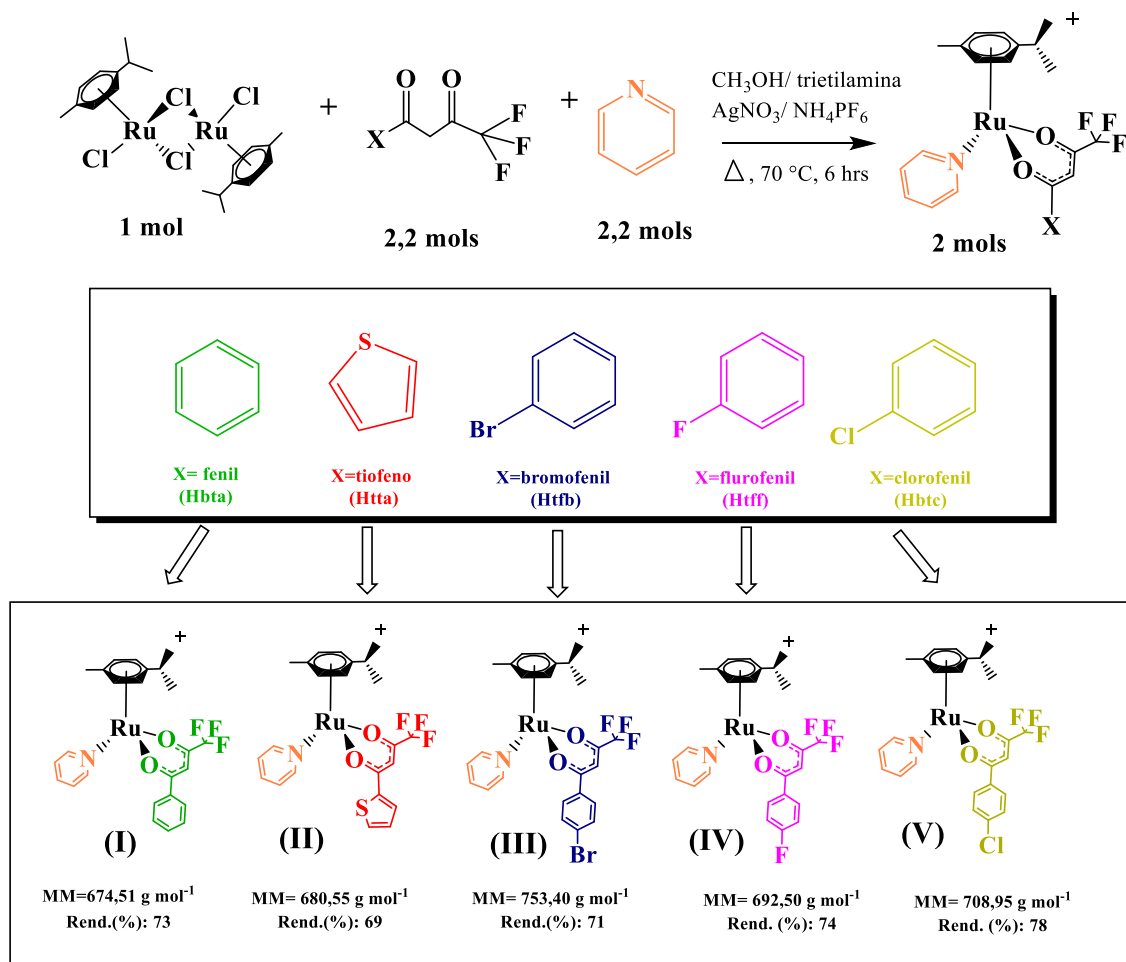
Para maior facilidade de leitura, clareza e comparação, os resultados foram agrupados com as suas respectivas técnicas de caracterização. Além disso, considerando a similaridade dos resultados em todas as técnicas utilizadas, apenas alguns espectros são exibidos, sendo que os demais estão dispostos no Anexo.

### **4.1 Aspectos gerais dos complexos de Ru(II) sintetizados**

Os novos complexos de fórmula geral  $[\text{Ru}(\text{O-O})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$ , sendo py = piridina,  $p\text{-cim} = \eta^6\text{-}p\text{-cimeno}$  e  $\text{O-O} = 1,3\text{-butanodiona-1-fenil-4,4,4-trifluoro}$  (bta),  $2\text{-tenoiltrifluoroacetona}$  (tta),  $1,3\text{-butanodiona-1-(4-bromofenil)-4,4,4-trifluoro}$  (tfb),  $1,3\text{-}$

butanodiona-1-(4-fluorofenil)-4,4,4-trifluoro (tff) e 1,3-butanodiona-1-(4-clorofenil)-4,4,4-trifluoro (btc), foram obtidos através do Esquema 3.

**Esquema 3.** Método geral de síntese, ligantes utilizados e estruturas propostas dos respectivos complexos de Ru(II).



Fonte: Autora.

Os novos complexos foram formados através da substituição dos ligantes cloridos pelos ligantes  $\beta$ -dicetonas e piridina. A reação de substituição é favorecida tendo em vista que os cloridos são bons grupos abandonadores, além da maior afinidade do rutênio aos novos ligantes adicionados. Segundo descrito na metodologia, para favorecer a formação dos complexos com a estrutura proposta, a ordem de adição das novas espécies foi fundamental. Neste caso, a adição do ligante piridínico não pôde ser feita primeiramente, nem *in situ* juntamente com o ligante bidentado, uma vez que, poderia haver a substituição de mais de um sítio de coordenação com este ligante, podendo, nesse sentido, formar

indesejavelmente um novo complexo. Além disso, pelo fato do ligante  $\beta$ -dicetona ser bidentado, conferindo uma estabilidade adicional após a coordenação, a substituição da piridina se torna mais limitada de forma que, apenas uma molécula faça parte da esfera de coordenação.

Outra consideração a ser feita é a visualização de mudança de cor nas etapas de adição dos ligantes, que inicialmente são um indício de que houve coordenação centro metálico. Neste caso, como exibido no Esquema 2 (Seção 3.2.2), o precursor, composto por ligantes de campo fraco (os cloridos), absorve na região do azul (em torno de 500 nm). Após a adição do  $\beta$ -dicetonato, ligante de campo mais forte, a solução que anteriormente era laranja, adquiriu uma tonalidade mais clara, o que resulta em um novo complexo absorvendo em regiões de menor comprimento de onda (compreendidas entre o azul e o violeta). De acordo com a teoria do campo cristalino, isso justifica-se pelo maior desdobramento do campo promovido pela inserção dessa nova espécie e, conseqüentemente maior energia necessária para transições eletrônicas que resultam nas cores refletidas na região do visível. Outra mudança de cor foi observada após a adição da piridina, também caracterizada como ligante de campo forte. Neste caso, a solução adquiriu coloração amarela, promovendo um novo desdobramento do campo cristalino e, por isso, absorvendo em regiões de comprimento de onda menor (região do violeta: entre 300 e 400 nm).

Vale ressaltar que, os cinco complexos catiônicos de arenos de rutênio(II), obtidos no estado sólido com a adição do contra-íon  $\text{PF}_6^-$ , possuem coloração amarelo/laranjada, são estáveis ao ar e à luz. Ademais exibem boa solubilidade em metanol, éter etílico, DMSO, acetona, acetonitrila e clorofórmio; solubilidade parcial em etanol e propanona; e insolubilidade em diclorometano, hexano, n-pentano e água. Sendo assim, as técnicas de caracterização foram utilizadas para confirmar tais indícios, permitindo, nesse sentido, demonstrar a coordenação dos ligantes  $\beta$ -dicetonatos pelo modo bidentado via átomos de oxigênio; e da piridina a partir dos pares isolados no nitrogênio.

## **4.2 Caracterização físico-química**

### **4.2.1 Análise elementar**

Os valores obtidos através da análise elementar estão dispostos na Tabela 5 e a partir dos dados encontrados foi possível sugerir que a composição dos novos complexos está em concordância com as estruturas propostas. Além disso, os graus de pureza foram



satisfatórios, uma vez que os desvios estão de acordo com o valor preconizado (desvio padrão  $\pm 0,5$ ).

#### 4.2.2 Condutividade Molar

Os valores de condutividade molar das soluções ( $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) dos complexos em metanol, à  $25^\circ\text{C}$ , estão compreendidos entre 71,83 e 78,63  $\text{S cm}^2 \text{mol}^{-1}$  para soluções metanólicas, com valores bem próximos dos valores relatados por Geary e Velho para eletrólitos 1:1 em solução metanólica (80-115  $\text{S cm}^2 \text{mol}^{-1}$  e 62–123  $\text{S cm}^2 \text{mol}^{-1}$ , respectivamente) (Tabela 5).

**Tabela 5.** Dados de análise elementar e condutivimétrica dos complexos de Ru(II).

Complexo (Fórmula)	%C <sub>teór.</sub>	%C <sub>exp.</sub>	%H <sub>teór.</sub>	%H <sub>exp.</sub>	%N <sub>teór.</sub>	%N <sub>exp.</sub>	$\Lambda_M$ ( $\text{S cm}^2 \text{mol}^{-1}$ )
<b>Acetanilida</b> (Padrão)	71,13	70,85	6,75	6,63	10,37	10,30	-
<b>Rup-cim</b> ( $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{Cl}_4\text{Ru}_2$ )	39,23	38,94	4,61	4,84	-	-	71,02
<b>I</b> ( $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{F}_9\text{NO}_2\text{PRu}$ )	44,52	44,46	3,73	3,31	2,06	2,05	71,83
<b>II</b> ( $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{F}_9\text{NO}_2\text{PRuS}$ )	40,59	40,48	3,40	3,34	2,06	2,06	78,63
<b>III</b> ( $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{Br F}_9\text{NO}_2\text{PRu}$ )	39,86	39,87	3,21	3,24	1,86	1,83	75,61
<b>IV</b> ( $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{F}_{10}\text{NO}_2\text{PRu}$ )	43,36	43,13	3,49	3,50	2,02	2,00	77,30
<b>Cisteína</b> (Padrão)	29,94	30,15	5,05	5,01	11,61	11,72	-
<b>V</b> ( $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{ClF}_9\text{NO}_2\text{PRu}$ )	42,35	42,88	3,41	3,38	1,98	2,00	76,33

**Fonte:** Dados da pesquisa.

Considerando que o precursor  $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})]_2$  é um dímero no qual, em metanol formam-se 2 espécies de  $[\text{RuCl}(\text{MeOH})(p\text{-cim})]^+$ , o valor de condutividade também condiz para eletrólito 1:1 (GEARY, 1971; VELHO, 2006). Após a complexação

com novos ligantes, há um aumento nos valores de condutividade molar, quando comparados com o precursor, o que, neste caso, sugere que houve a substituição dos ligantes cloridos pelos ligantes ( $\beta$ -dicetonas e piridina) e, conseqüentemente, a mudança do caráter, sendo os derivados espécies catiônicas, consistente com as estruturas propostas.

#### 4.2.3 Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis

Os espectros de absorção na região do UV-Vis foram obtidos através da análise de soluções preparadas em metanol de todos os complexos no intervalo entre 200 e 700 nm. Para melhor compreensão, os espectros do precursor, dos ligantes e dos respectivos compostos sintetizados serão exibidos sobrepostos, a fim de correlacionar as bandas presentes e as possíveis mudanças, de modo a sugerir a coordenação das  $\beta$ -dicetonas e da piridina ao rutênio(II). Como mencionado anteriormente, será exposto nessa seção apenas o espectro do complexo **I**. Os demais estarão dispostos na seção Anexo. As principais transições eletrônicas dos estados excitados na região do UV-Vis, bem como suas contribuições e valores de  $\epsilon_{\text{máx}}$  dos compostos obtidos estão demonstrados nas Tabelas 6, 7 e 8.

**Tabela 6.** Valores de absorvidade ( $\epsilon_{\text{máx}}$ ) do precursor **Rup-cim** e as transições envolvidas, com as respectivas atribuições.

Composto	$\lambda(\text{nm})$	$\epsilon/10^4(\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1})$	Atribuição
<b>Rup-cim</b>	271	0,44	MLCT Ru (4d $\pi$ ) $\rightarrow$ $\pi^*$ <i>p</i> -cimeno
	332	0,22	MLCT Ru (4d $\pi$ ) $\rightarrow$ $\pi^*$ <i>p</i> -cimeno
	432	0,10	MLCT Ru (4d $\pi$ ) $\rightarrow$ 3p $\sigma$ + LMCT Cl(3p $\sigma$ ) $\rightarrow$ Ru (4d $\pi$ )

**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Tabela 7.** Valores de absorvidade ( $\epsilon_{\text{máx}}$ ) dos ligantes piridina (**py**) e  $\beta$ -dicetonas (**Hbta**, **Htta**, **Htff** e **Hbtc**), com transições envolvidas e respectivas atribuições.

Ligantes	$\lambda(\text{nm})$	$\epsilon/10^4(\text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1})$	Atribuição
<b>py</b>	257	0,41	$\pi \rightarrow \pi^*$
<b>Hbta</b>	232	0,77	$\pi \rightarrow \pi^*$

	247	0,95	$\pi \rightarrow \pi^*$
	326	0,76	$n \rightarrow \pi^*$
<b>Htta</b>	259	2,13	$\pi \rightarrow \pi^*$
	285	1,54	$\pi \rightarrow \pi^*$
	347	0,33	$n \rightarrow \pi^*$
<b>Htfb</b>	255	1,16	$\pi \rightarrow \pi^*$
	329	1,44	$n \rightarrow \pi^*$
<b>Htff</b>	246	0,68	$\pi \rightarrow \pi^*$
	324	1,26	$n \rightarrow \pi^*$
<b>Hbtc</b>	255	1,15	$\pi \rightarrow \pi^*$
	329	1,38	$n \rightarrow \pi^*$

**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Tabela 8.** Valores de absorvidade ( $\epsilon_{\text{máx}}$ ) dos complexos **I-V** e as transições envolvidas, com as respectivas atribuições.

Complexos	$\lambda$ (nm)	$\epsilon/10^4$ (L mol <sup>-1</sup> cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
<b>I</b>	263	0,99	ILCT <sub>bta</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$ + ILCT <sub>py</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$ + ILCT <sub>p-cim</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$
	305	1,59	ILCT <sub>bta</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$
	330	0,79	MLCT4d <sub>Ru</sub> $\rightarrow \pi^*$ <sub>py</sub>
	365	0,34	MLCT4d <sub>Ru</sub> $\rightarrow \pi^*$ <sub>bta</sub>
<b>II</b>	263	1,12	ILCT <sub>tta</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$ + ILCT <sub>py</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$ + ILCT <sub>p-cim</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$
	330	2,06	MLCT4d <sub>Ru</sub> $\rightarrow \pi^*$ <sub>py</sub>
<b>III</b>	230	0,80	ILCT <sub>tfb</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$
	263	0,78	ILCT <sub>tfb</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$ + ILCT <sub>py</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$ + ILCT <sub>p-cim</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$
	312	1,57	ILCT <sub>p-cimeno</sub> + ILCT <sub>tfb</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$
<b>IV</b>	226	0,99	ILCT <sub>tfi</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$
	260	0,88	ILCT <sub>tfi</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$ + ILCT <sub>py</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$ + ILCT <sub>p-cim</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$
	306	1,64	ILCT <sub>tfi</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$
<b>V</b>	263	0,99	ILCT <sub>btc</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$ + ILCT <sub>py</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$ + ILCT <sub>p-cim</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$
	310	1,98	ILCT <sub>btc</sub> $\pi \rightarrow \pi^*$
	367	0,51	MLCT4d <sub>Ru</sub> $\rightarrow \pi^*$ <sub>btc</sub>

**Fonte:** Dados da pesquisa.

Estudos teóricos realizados anteriormente para o complexo precursor  $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})_2]_2$ , preveem a existência de três bandas, como listado na Tabela 6. As absorções são observadas em 271 nm e 332 nm, correspondendo à transições do tipo MLCT Ru ( $4d\pi$ )  $\rightarrow$   $\pi^*$   $p$ -cimeno, em que a densidade eletrônica centrada em torno do rutênio(II) se desloca para o ligante aromático  $p$ -cimeno; e, em aproximadamente 432 nm, correspondendo à transição do tipo LMCT Cl( $3p\sigma$ )  $\rightarrow$  Ru ( $4d\pi$ ), sendo que este efeito se dá a partir do ligante clorido, que exibe caráter doador  $\sigma$  e  $\pi$ , para o rutênio(II). As transições d-d de complexos octaédricos distorcidos também ocorrem para este precursor, porém exibem baixa absorvidade molar, como esperado, tendo em vista as regras de seleção (MIRANDA et al., 2018; WANG et al., 2012).

Os compostos orgânicos, tais como a piridina e as  $\beta$ -dicetonas, devido aos grupos cromóforos existentes em suas respectivas estruturas, exibem transições eletrônicas na região do UV-vis. As ligações  $\pi$  provenientes tanto da conjugação C=C do sistema aromático quanto da dupla ligação entre os átomos de carbono e o átomo de oxigênio da carbonila, em se tratando apenas da  $\beta$ -dicetona, neste caso, levam à ocorrência de transições eletrônicas do tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$  e  $n \rightarrow \pi^*$ , ambas permitidas pela regra de seleção e, consequentemente, com valores altos de absorvidade molar ( $\epsilon_{\text{máx}}$ ) (SILVA et al., 2011). Já a piridina, absorve em torno de 250-260 nm, e a banda é atribuída às transições do tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$  proveniente da conjugação da dupla ligação do anel (GOLFETO, 2008; MAŁECKI et al., 2005).

Como exibido na Tabela 7, as  $\beta$ -dicetonas livres apresentam espectros similares entre si, com bandas alargadas e absorção máxima em uma região compreendida entre 200-350 nm. A banda mais energética corresponde às transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  e suas absorções são observadas nas regiões entre 231 nm e 260 nm, dependendo da  $\beta$ -dicetona. As transições de maior comprimento de onda são observadas em torno de 330 nm ( $n \rightarrow \pi^*$ ) (COUTO ALMEIDA et al., 2014). Os indícios da coordenação desses ligantes envolve o deslocamento hipsocrômico em relação aos respectivos ligantes das bandas atribuídas à  $\pi \rightarrow \pi^*$ , sendo este efeito resultado da estabilização dos orbitais  $\pi^*$ . Adicionalmente, ocorre a ausência ou diminuição da intensidade da banda atribuída à  $n \rightarrow \pi^*$ , sugerindo, portanto, que o oxigênio do grupo  $\beta$ -dicetona está envolvido na coordenação (COUTO ALMEIDA et al., 2014). Em contrapartida, o efeito de deslocamento observado na banda atribuída à transição  $\pi \rightarrow \pi^*$  do ligante piridínico é batocrômico (GOLFETO, 2008).

Outro indício de complexação das espécies ao rutênio(II) envolve a comparação entre espectros dos complexos derivados com o espectro do precursor. A ausência da banda atribuída à transição do tipo LMCT, em que a densidade eletrônica se desloca do ligante clorido para o metal, sugere a substituição desse ligante pela piridina e  $\beta$ -dicetonas. Adicionalmente, o deslocamento hipsocrômico das bandas atribuídas às transições MLCT também justifica essa substituição, já que, após a troca do ligante com caráter doador  $\sigma$  e  $\pi$  (clorido) pelas  $\beta$ -dicetonas (ligantes com caráter doador  $\sigma$  e acceptor  $\pi$ ) e piridina (acceptor  $\pi$ ), o rutênio(II) adquire deficiência em elétrons, o que sugere, portanto, a necessidade de um fornecimento maior de energia para que a transição ocorra, resultando em comprimento de onda deslocados para a região do azul. Vale ressaltar que a transição eletrônica MLCT envolvendo o ligante piridina exibe um efeito hipsocrômico mais pronunciado que a MLCT Ru  $\rightarrow$   $\beta$ -dicetona, tendo em vista que, segundo a série espectroquímica, a piridina exibe um caráter pi acceptor mais forte (MOHAN *et al.*, 2016; COUTO ALMEIDA *et al.*, 2014).

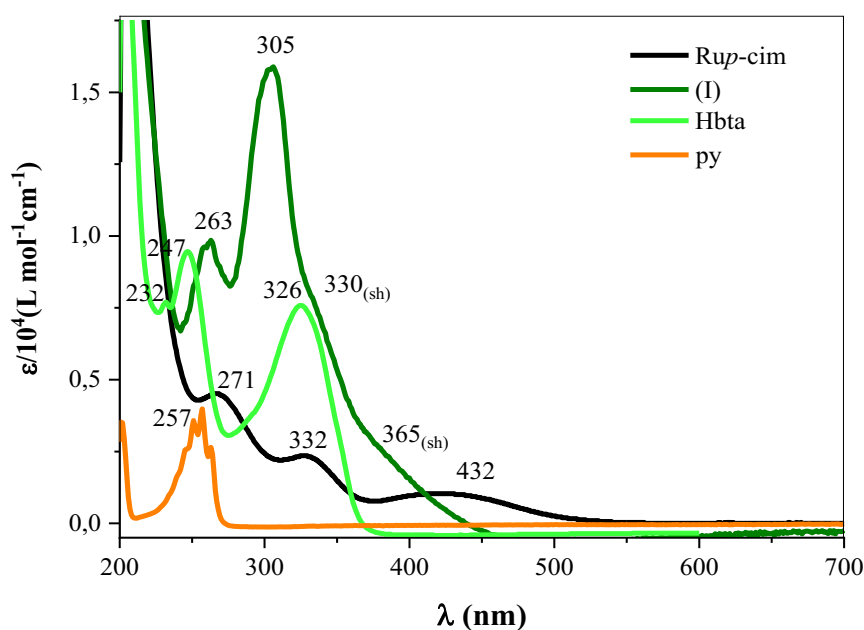
Nessa perspectiva, as bandas de absorção observadas no espectro eletrônico de todos os complexos metálicos na região do UV-Vis são decorrentes de transições envolvendo elétrons entre níveis de energia distintos, tais como transições ILCT  $\pi \rightarrow \pi^*$ , ILCT  $n \rightarrow \pi^*$ , d-d ou bandas de transferência de carga (TOMA, 2016). A Figura 17 exibe os espectros sobrepostos do precursor, do ligante livre bta e do complexo **I**, verificando no novo complexo a presença de duas bandas atribuídas à transição eletrônica ILCT  $\pi \rightarrow \pi^*$ .

A banda próxima à região do vermelho, em 263 para este composto, resulta da deslocalização eletrônica que ocorre no próprio ligante  $\beta$ -dicetona somada à deslocalização eletrônica no anel da piridina, além da contribuição da transferência de carga decorrente no grupo *p*-cimeno, como demonstrado em estudos teóricos anteriores (ROCHA, 2019). Para os complexos **II**, **III**, **IV** e **V**, as bandas observadas para essa transição foram entre 260 e 263 nm. A banda de maior intensidade, em 305 nm, é atribuída à transferência de carga do anel do ligante bta, sendo observada nos complexos **II-V** em 330, 312, 306 e 310 nm, para os seus respectivos ligantes  $\beta$ -dicetonatos.

Ambas as bandas encontram-se deslocadas, sendo que, na primeira o deslocamento é batocrômico quando comparada à absorção dos ligantes livres bta e py, revelando, nesse sentido, a coordenação ao centro metálico de Ru(II). O deslocamento hipsocrômico da banda mais intensa (305 nm) também corrobora para este fato. Para os complexos **I** e **V**, foram verificados indícios adicionais de coordenação a partir do

deslocamento hipsocrômico de bandas com baixos valores de  $\epsilon$  em regiões características de transições MLCT, sendo para o complexo **I** transições do tipo  $\text{MLCT}_{\text{Ru} \rightarrow \text{py}}$ : 330<sub>(sh)</sub> nm e  $\text{MLCT}_{\text{Ru} \rightarrow \text{bta}}$ : 365<sub>(sh)</sub> nm) (Figura 17) e para o **V**,  $\text{MLCT}_{\text{Ru} \rightarrow \text{btc}}$ : 367 nm (Figura A4).

**Figura 17.** Espectros UV-Vis dos compostos  $[\text{Ru}(\text{bta})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$  (**I**) (traço verde), **Hbta** (traço verde claro), **py** (traço laranja) e **Rup-cim** (traço preto) em metanol na concentração  $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .



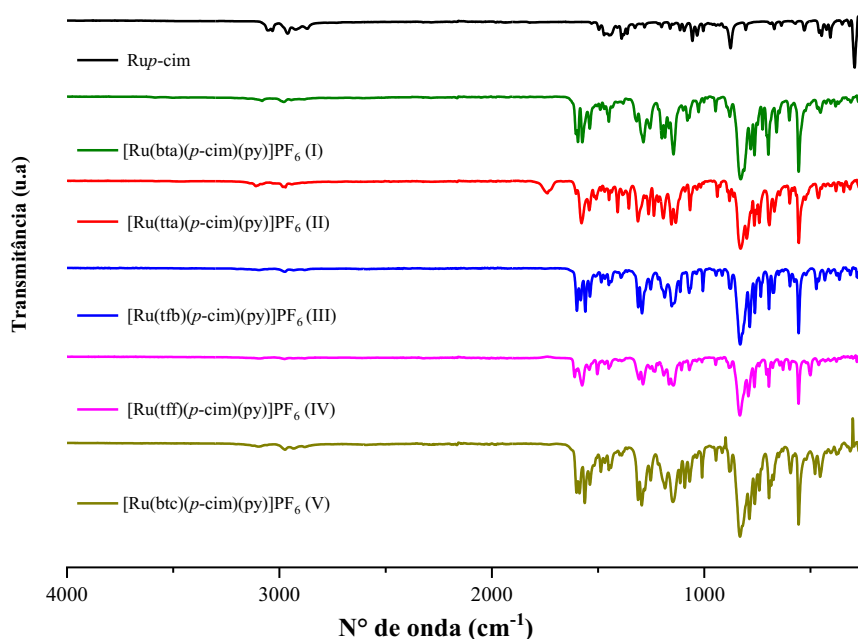
**Fonte:** Dados da pesquisa.

Nos complexos **II-IV**, essas transições ocorrem em regiões próximas à transição eletrônica ILCT dos ligantes  $\beta$ -dicetonas e isso justifica-se pelo alargamento e aumento intensidade da banda em 330, 313 e 306  $\text{cm}^{-1}$  para os complexos **II**, **III** e **IV**, respectivamente. Além disso, os ombros observados em regiões referentes à transição MLCT para esses complexos são pequenos e de difícil definição. Outro fato observado para todos os complexos é a ausência da banda em torno de 400 nm, atribuída às transições envolvendo o ligante clorido. Portanto, em se tratando desses complexos, tanto o efeito batocrômico quanto o efeito hipsocrômico sugerem a quelação dos ligantes ao rutênio(II).

#### 4.2.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

A técnica de espectroscopia na região do infravermelho tem como principal função neste trabalho avaliar os possíveis modos vibracionais característicos, compreendidos na região entre 4000-250  $\text{cm}^{-1}$ , que podem evidenciar a coordenação dos ligantes ao metal, tendo em vista que as vibrações das moléculas em sua forma livre e coordenada ocorrem em frequências distintas. Os espectros na região do infravermelho obtidos para o precursor e seus derivados estão mostrados na Figura 18 e na Tabela 9 estão listadas as principais bandas e atribuições relacionadas ao precursor.

**Figura 18.** Espectros de IV entre 4000-250  $\text{cm}^{-1}$  do precursor **Rup-cim** e dos complexos I-V.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Tabela 9.** Atribuições dos principais modos vibracionais dos espectros de absorção na região do infravermelho do precursor **Rup-cim** e complexos I-V.

Atribuições <sup>a</sup> e Intensidade <sup>b</sup>	Compostos ( $\text{cm}^{-1}$ )					
	Rup-cim	I	II	III	IV	V
$\nu\text{C-H}_{\text{anel}}$ (f)	3052	3082	-	3096	3094	3099
	3032	-	3012	-	-	-

vC-H <sub>metil</sub> (f)	2961	2980	2983	2974	2975	2974
	2926	2943	2972	2934	2935	2933
	2868	2882	2942	2881	2881	2881
δC-H <sub>iso</sub> (f)	1389	1389	1384	1392	1389	1388
	1379	-	1378	1377	1377	1377
δC-H <sub>anel</sub> (f)	870	879	881	875	875	876
vRu-Cl <sub>terminal</sub> (F)	292	-	-	-	-	-
vRu-Cl <sub>ponte</sub> (F)	259	-	-	-	-	-
vP-F (F)	-	830	829	831	832	832
δ <sub>as</sub> P-F (F)	-	556	554	557	557	557

<sup>a</sup>v designa vibração de estiramento;  $\delta$  designa vibração de deformação <sup>b</sup>F:forte, m:média, f:fraca; -: não observado

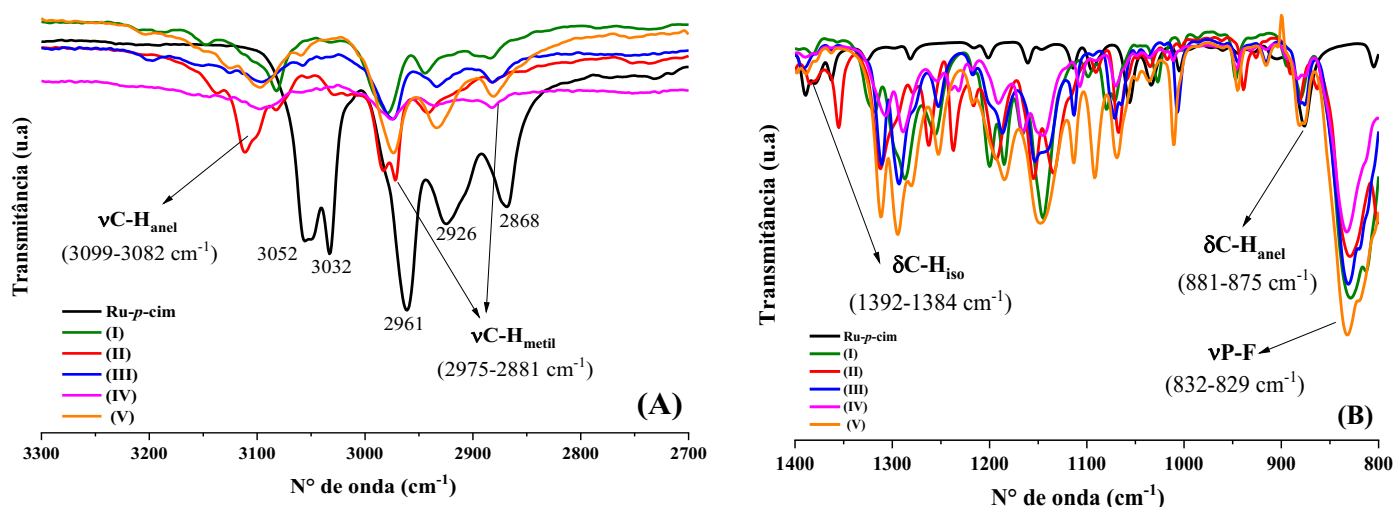
**Fonte:** Dados da pesquisa.

Através da análise dos principais modos vibracionais, observa-se que todos os complexos apresentam bandas de absorção correspondentes ao grupo aromático do *p*-cimeno, evidenciando a inserção de novas espécies sem alteração da unidade Ru-*p*-cim. Nesse sentido, de acordo com a comparação dos espectros exibidos na Figura 19, foi possível observar bandas em regiões compreendidas entre 3096 e 3012 cm<sup>-1</sup> correspondentes ao modo vibracional vC-H<sub>anel</sub>, sendo também verificadas nessa mesma região modos vibracionais característicos da vC-H<sub>metil</sub> (2983 cm<sup>-1</sup> – 2881 cm<sup>-1</sup>). Adicionalmente, estiramentos δC-H<sub>iso</sub> (bandas dispostas na região entre 1392 cm<sup>-1</sup> e 1377 cm<sup>-1</sup>) e δC-H<sub>anel</sub> (bandas dispostas na região entre 881 cm<sup>-1</sup> e 875 cm<sup>-1</sup>) também aparecem nos espectros analisados (SILVERSTEIN, 2005; TOCHER et al., 1983).

Vale ressaltar que a coordenação do metal às novas espécies também foi sugerida através da presença de outras bandas. De acordo com a Figura 20, é possível observar modificações mais significativas no espectro em regiões de baixas frequências compreendidas entre 300 e 260 cm<sup>-1</sup>, cujas vibrações de estiramentos são atribuídas às ligações Ru-Cl, sendo em aproximadamente 290 cm<sup>-1</sup> para vRu-Cl<sub>terminal</sub> e 260 cm<sup>-1</sup> para vRu-Cl<sub>ponte</sub> (NAKAMOTO, 1997; COLINA-VEGAS *et al.*, 2015). A ausência dessas bandas evidencia que os ligantes cloridos foram substituídos pelos ligantes β-dicetonas e piridina.

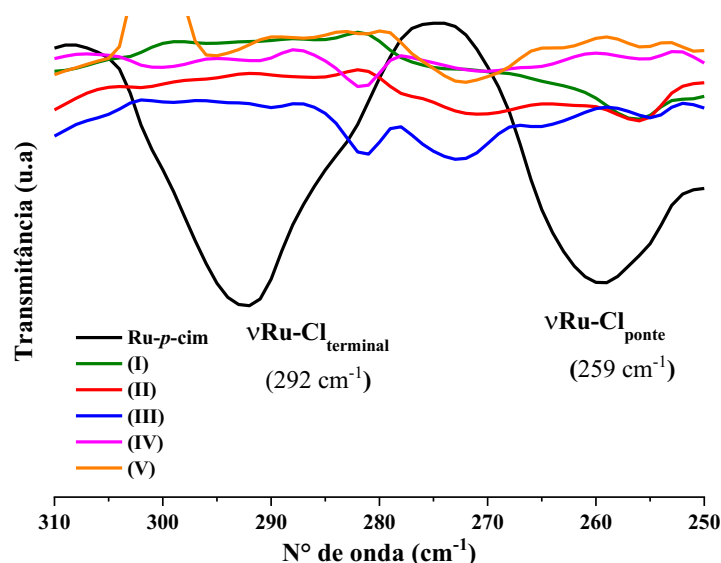


**Figura 19.** Espectros de absorção expandidos na região entre 3300 – 2700  $\text{cm}^{-1}$  (A) e entre 1400 – 800  $\text{cm}^{-1}$  (B) do precursor **Ru-p-cim** e dos novos complexos I-V.



Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 20.** Espectros de IV expandidos na região entre 310-250  $\text{cm}^{-1}$  referente ao estiramento  $\nu\text{Ru-Cl}$  dos complexos I-V.



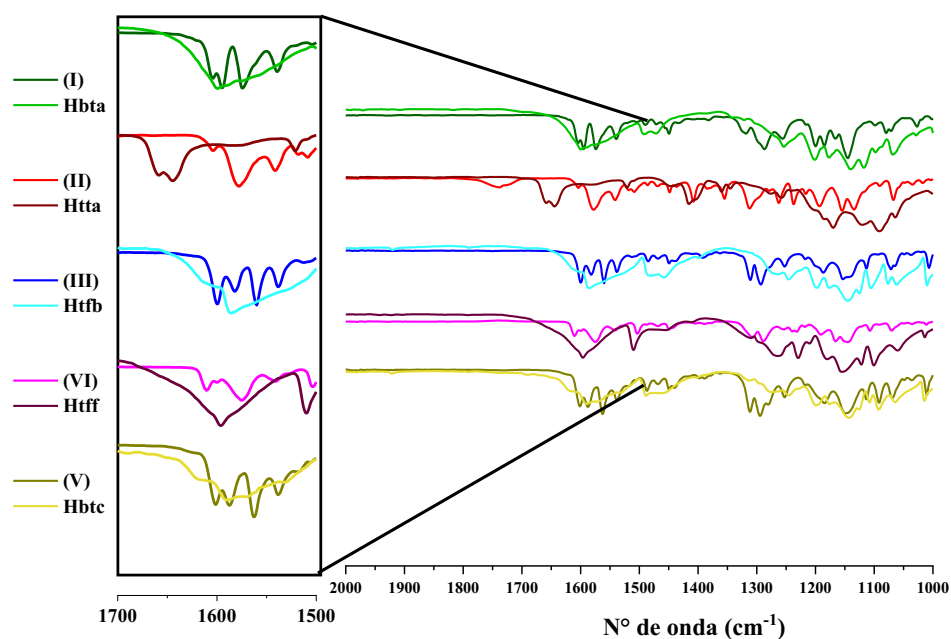
Fonte: Dados da pesquisa.

Os complexos I-V são catiônicos, contendo o contra-íon  $\text{PF}_6^-$  que, de acordo com a literatura, exibe bandas em regiões compreendidas entre 830-840  $\text{cm}^{-1}$  para  $\nu\text{P-F}$  e em torno de 560  $\text{cm}^{-1}$  para a deformação assimétrica ( $\delta_{\text{as}}\text{P-F}$ ) (Tabela 9), cujos modos vibracionais foram observados nos espectros obtidos em regiões compreendidas entre

832-829  $\text{cm}^{-1}$  atribuídos à  $\nu_{\text{P-F}}$  (Figura 19B) e entre 557-554  $\text{cm}^{-1}$  atribuídos à  $\nu_{\text{asP-F}}$  (NAKAMOTO, 1997).

Na Figura 21 são apresentadas as sobreposições dos espectros de absorção dos complexos **I-V** e  $\beta$ -dicetonas livres com a finalidade de comparar o deslocamento de bandas de maior relevância que caracterizam a coordenação dessas espécies ao rutênio(II), neste caso, bandas atribuídas às vibrações C=C acopladas à C=O nas regiões compreendidas entre 1659 a 1600  $\text{cm}^{-1}$ , já que as espécies coordenadas exibem modos vibracionais distintos. Além disso, nessa mesma região também se constatou que os ligantes  $\beta$ -dicetonas livres estão na forma enolato diante da existência de uma banda alargada e intensa (entre 1600 e 1580  $\text{cm}^{-1}$ ) (DEEPTHI; VENUGOPALAN, 2016; SILVERSTEIN, 2005; NEKOEI *et al.*, 2009).

**Figura 21.** Espectros de absorção expandidos em regiões entre 2000-1000  $\text{cm}^{-1}$  de principais modos vibracionais dos complexos **I-V** e dos seus respectivos ligantes **Hbta**, **Htta**, **Htfb**, **Htff** e **Hbtc**.



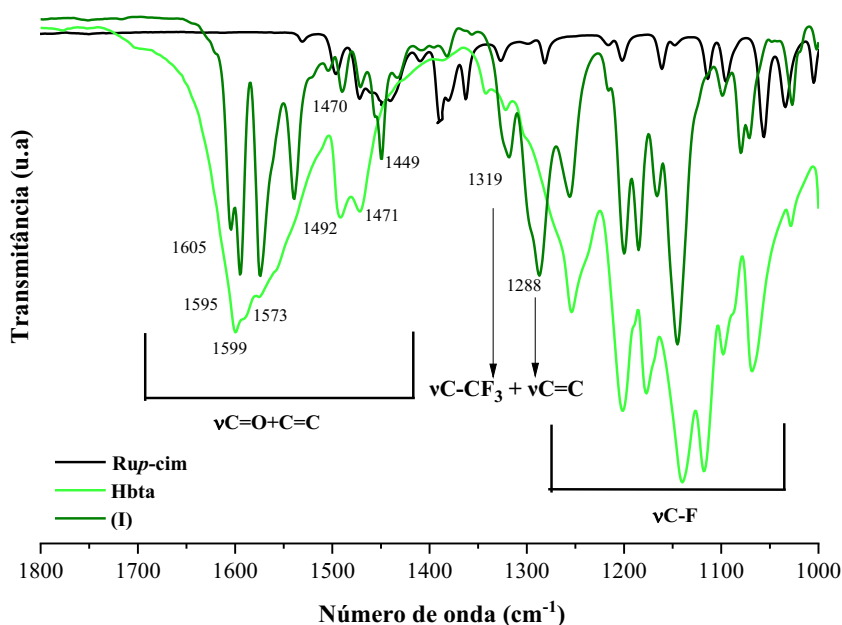
**Fonte:** Dados da pesquisa.

Considerando que os ligantes diferem entre si apenas pelos substituintes aromáticos próximos à carbonila, a absorção da ligação C=O é observada em regiões distintas, tendo em vista que o efeito eletrônico promovido por esses fragmentos resulta em uma maior deslocalização eletrônica. Ou seja, a depender da força dos grupos

retiradores de elétrons inseridos no anel, a exemplo, os halogênios flúor, cloro e bromo, quanto maior a capacidade em retirar os elétrons, menor será a energia de estiramento. Sendo assim, a ordem de deslocamento para esses ligantes é  $bta < tfb \approx btc < tff$  e para os complexos, segue a mesma tendência, como mostra a Figura 21. O ligante tta não pôde ser comparado, uma vez que o grupo aromático que compõe sua estrutura é de 5 membros, o que promove um efeito diferente, tendo em vista que a tensão do anel influenciará nas vibrações de estiramento (SILVERSTEIN, 2005; NEKOEI *et al.*, 2009).

Outras frequências típicas de modos vibracionais de fragmentos das  $\beta$ -dicetonas podem ser observadas como, por exemplo, a banda  $\nu C-F$  entre  $1263$  e  $1000\text{ cm}^{-1}$  do grupo  $CF_3$ , além do surgimento de novas bandas de atribuídas à  $\nu C=C + \nu C-CF_3$ , em regiões compreendidas entre  $1320$  e  $1140\text{ cm}^{-1}$  para todos os complexos (SILVERSTEIN, 2005; COUTO ALMEIDA *et al.*, 2015). Como exibido, no espectro referente ao complexo **I** (Figura 22), o fenômeno de deslocamento de bandas para regiões de maiores frequências atribuídas à vibração de estiramento das ligações C-O acopladas à C-C foi observado em regiões entre  $1605$  e  $1573\text{ cm}^{-1}$ , havendo, portanto, uma variação ( $\Delta$ ) de  $4$  a  $15\text{ cm}^{-1}$  (WANG *et al.*, 2016).

**Figura 22.** Espectro de absorção na região entre  $1800$ - $1000\text{ cm}^{-1}$  dos compostos **I**, **Hbta** e precursor evidenciando a coordenação a partir do deslocamento e aparecimento de bandas.



Fonte: Dados da pesquisa.

Vibrações de estiramento  $\nu\text{C}=\text{C} + \nu\text{C}=\text{O}$  também foram observadas nos demais complexos: entre 1738 e 1576  $\text{cm}^{-1}$  para o complexo **II**; entre 1601 e 1537  $\text{cm}^{-1}$  para o complexo **III**; entre 1610 a 1537  $\text{cm}^{-1}$  para o complexo **IV**; e entre 1603 a 1538  $\text{cm}^{-1}$  para o complexo **V**, como listado na Tabela 10, em que estão detalhadas as principais bandas características e atribuições das  $\beta$ -dicetonas livres e coordenadas. Os espectros dos demais complexos estão demonstrados no Anexo na seção B.

**Tabela 10.** Modos vibracionais ( $\text{cm}^{-1}$ ) e atribuições do espectro no **IV** correspondentes às principais bandas referentes às  $\beta$ -dicetonas em sua forma livre e nos complexos **I-V**.

Atribuições <sup>a</sup> e	$\beta$ -dicetonas livres ( $\text{cm}^{-1}$ )					$\beta$ -dicetonas coordenadas ( $\text{cm}^{-1}$ )				
	Hbta	Htta	Htfb	Htff	Hbtc	I	II	III	IV	V
$\nu\text{C}=\text{O} + \nu\text{C}=\text{C}$ (F)	1599	1659	1613	1625	1622	1605	1738	1601	1610	1603
	1576	1643	1585	1590	1590	1595	1605	1583	1575	1588
	1492	1575	1483	1573	1573	1573	1576	1537	1540	1538
$\nu\text{C}-\text{CF}_3 + \nu\text{C}=\text{C}$ (F)	-	-	-	-	-	1319	1312	1312	1308	1312
	-	-	-	-	-	1288	1303	1292	1288	1295
$\nu\text{C}-\text{F}$ (F)	1264		1263	1265	1277	1257		1252	1256	1254
	1203		1247	1229	1227	1200		1187	1231	1218
	1187		1198	1209	1108	1186		1153	1192	1114
	1140		1145	1153	1064	1146		1140	1145	1069
$\delta\text{C}-\text{F}$ (F)	-	-	-	795	-	-	-	-	792	-
$\delta\text{C}-\text{Br}$ (F)	-	-	469	-	-	-	-	472	-	-
$\nu\text{C}-\text{S}(\text{f})$	-	1064	-	-	-	-	1067	-	-	-
$\nu\text{C}-\text{Cl}(\text{f})$	-	-	-	-	1244	-	-	-	-	1254
	-	-	-	-	1199	-	-	-	-	1185
	-	-	-	-	1144	-	-	-	-	1148
	-	-	-	-	1092	-	-	-	-	1091
$\nu\text{Ru}-\text{O}$ (f)	-	-	-	-		382	380	365	378	378

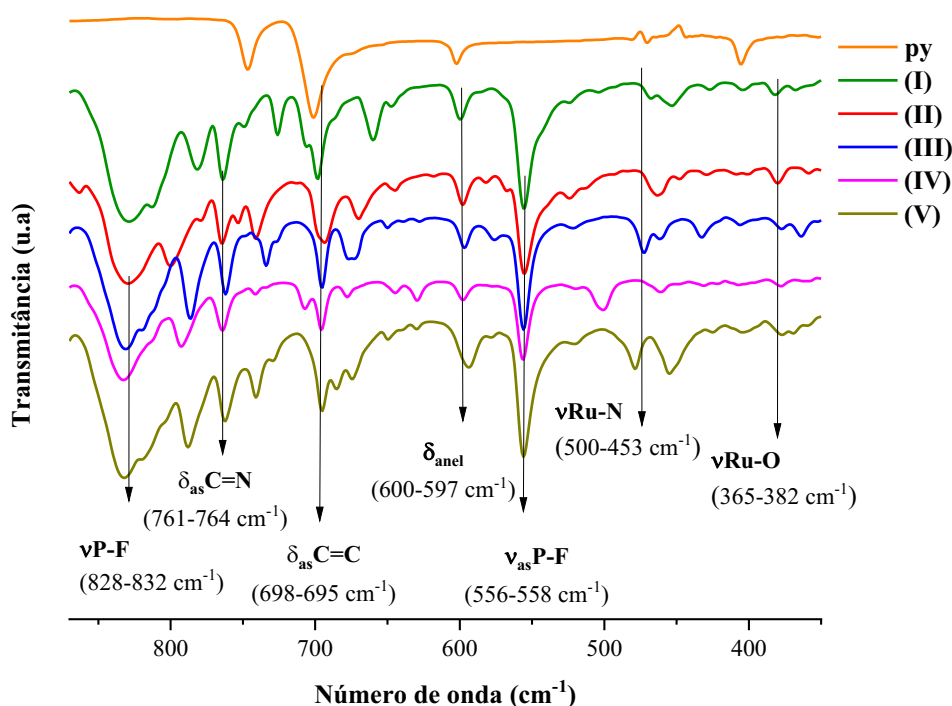
<sup>a</sup> $\nu$  designa vibração de estiramento;  $\delta$  designa vibração de deformação <sup>b</sup>F:forte, m:média, f:fraca; -: não observado

Para os complexos contendo os ligantes tta, tfb, tff e btc, foram observados modos vibracionais específicos e característicos dos substituintes heterocíclicos. A banda de estiramento C-S, característica do tta, foi deslocada para região de maior frequência após

a coordenação ( $\Delta_{\nu_{C-S}} = 3 \text{ cm}^{-1}$ ), por isso, no complexo **II** este modo vibracional foi observado em  $1067 \text{ cm}^{-1}$  (Figura B7A - Anexo). Para os complexos **III** e **IV**, os modos vibracionais  $\delta_{C-Br}$  e  $\delta_{C-F}$  (Figuras B7B e B7C - Anexo) foram observados em  $472 \text{ cm}^{-1}$  e  $795 \text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Para o complexo **V**, as bandas características do btc, atribuídas à  $\nu_{C-Cl}$ , foram observadas entre  $1252$  e  $1091 \text{ cm}^{-1}$  (Figura B7D - Anexo). Exceto para o sistema contendo o ligante tff, majoritariamente, os deslocamentos ocorreram para regiões de menor frequência após a coordenação com variações ( $\Delta$ ) entre  $8$  e  $2 \text{ cm}^{-1}$  (BARBOSA,2007; RAMOS, 2021).

A presença da piridina nos novos complexos também pôde ser sugerida através das análises dos espectros exibidos na Figura 23, em que foram observados deslocamentos de bandas em regiões características, cujas absorções estão relacionadas aos modos de vibração das ligações C-N e C=C, evidenciando a complexação da piridina via átomo de nitrogênio ao rutênio (NAKAMOTO, 1997, SILVERSTEIN, 2005).

**Figura 23.** Espectro com região ampliada entre  $870$ - $350 \text{ cm}^{-1}$  do ligante livre **py** e dos complexos **I-V**.



**Fonte:** Dados da Pesquisa.

Neste caso, bandas atribuídas à  $\delta_{as}C=C$  foram observadas entre  $698$  e  $694 \text{ cm}^{-1}$ , com variação de deslocamento  $\Delta_{\delta_{as}C=C}$ :  $2$ - $5 \text{ cm}^{-1}$  para regiões de menores frequência, além

da banda atribuída à  $\delta_{as}(C=N)$  com deslocamento para regiões de maior frequência, quando comparado ao ligante livre ( $\Delta_{\delta_{as}C=N}$ : 18-14  $cm^{-1}$ ), como listado na Tabela 11. No entanto, os modos vibracionais ( $\nu_s C=C$  e  $\nu_{as} C=C$ ) não foram observados nos espectros, devido a sobreposição às bandas dos  $\beta$ -dicetonatos. Além do efeito de deslocamento, o aparecimento de novas bandas também corrobora para a análise, sendo um indício adicional de complexação. Nesse sentido, também foram encontradas em frequências baixas, bandas referentes aos estiramentos das ligações Ru-O e Ru-N, como demonstrado na Figura 23 (DEEPTHI; VENUGOPALAN, 2016; COUTO ALMEIDA *et al.*, 2014).

**Tabela 11.** Modos vibracionais da piridina livre e nos complexos I-V.

Modos vibracionais da piridina atribuídas ( $cm^{-1}$ )							
Livre	$\delta_{as}(C=C)$	$\delta_{as}(C=N)$	$\nu_s(C=C)$	$\nu_{as}(C=C)$	$\nu_s(C-H)$	$\delta_{anel}$	
	700	747	1148	1481	3075	600	
Complexada	$\delta_{as}(C=C)$	$\delta_{as}(C=N)$	$\nu_s(C=C)$	$\nu_{as}(C=C)$	$\nu_s(C-H)$	$\delta_{anel}$	$\nu_{Ru-N}$
I	698	763	-	-		600	453
II	694	765	-	-		598	463
III	695	761	-	-		597	472
IV	695	764	-	-		597	500
V	695	761	-	-		594	479

$\nu_s$ : Estiramento simétrico/  $\nu_{as}$ : Estiramento assimétrico/  $\delta_{as}$ : dobramento assimétrico

**Fonte:** Dados da pesquisa.

#### 4.2.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

A espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear é uma técnica de ampla aplicabilidade, que tem como intuito a caracterização, visando a compreensão estrutural de compostos orgânicos e inorgânicos que possuem espécies químicas com núcleos ativos (BRANCO *et al.*, 2015). Desta forma, utilizou-se RMN  $^1H$  e RMN  $^{13}C\{^1H\}$  para constatar a presença dos novos ligantes inseridos.

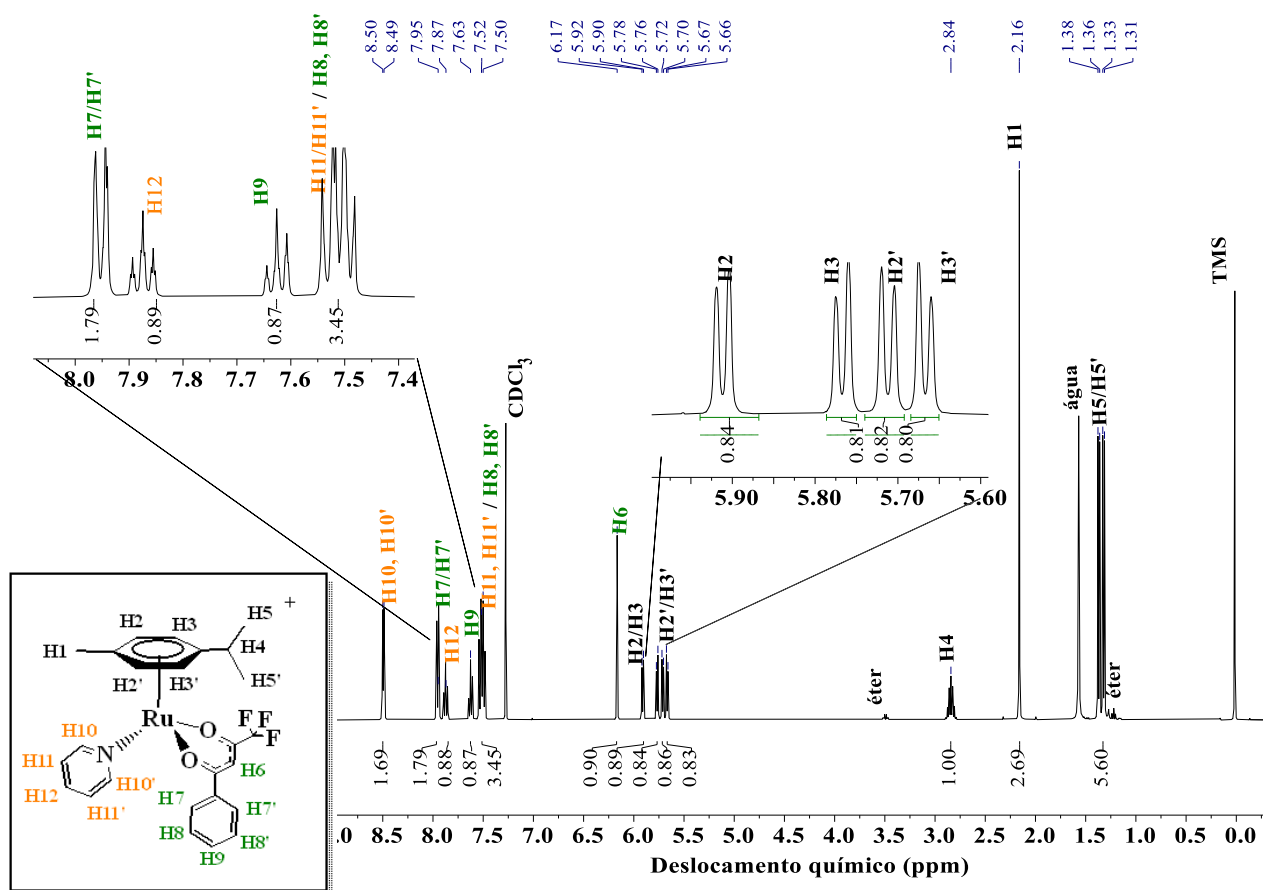
A análise dos espectros permitiu evidenciar a complexação ao metal e, conseqüentemente, a inserção dos  $\beta$ -dicetonatos e piridina. Para isso, as atribuições de sinais foram realizadas a partir das correlações observadas nos espectros e por meio de comparação de valores de deslocamentos químicos dos ligantes livres, além da

comparação com compostos análogos já descritos na literatura (SERŠEN *et al.*,2013; URŠIC *et al.*,2017; ISMAIL *et al.*, 2021).

#### 4.2.4.1 Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$

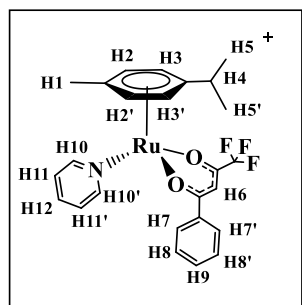
A Figura 24 exibe o espectro do complexo **I**, em que são atribuídos e identificados todos prótons existentes e listados na Tabela 12. Nas Tabelas 13, 14, 15 e 16, estão descritos os dados para **II**, **III**, **IV** e **V**, respectivamente. Além disso, os espectros destes complexos estão demonstrados no Anexo (seção C).

**Figura 24.** Espectro de RMN- $^1\text{H}$  (400 MHz) obtido em  $\text{CDCl}_3$  do complexo **I** com os hidrogênios identificados.



Fonte: Dados da pesquisa.

**Tabela 12.** Deslocamentos químicos (ppm), atribuições de sinais, valores das integrais e constantes de acoplamento (Hz) dos prótons existentes no complexo precursor **Rup-cim**, **Hbta**, **py** e em seu derivado [Ru(bta)(*p*-cim)(py)]PF<sub>6</sub> (**I**).



<b>Rup-cim</b>				<b>Complexo I</b>			
<b>H</b>	$\delta_{\text{H}}$	$\int$	$J_{\text{H-H}}$ (Hz)	<b>H</b>	$\delta_{\text{H}}$	$\int$	$J_{\text{H-H}}$ (Hz)
<b>H1</b>	2,16 (s)	3	-	<b>H1</b>	2,16 (s)	3	-
<b>H2/ H2'</b>	5,48 (d)	2	5,6	<b>H2</b>	5,90 (d)	1	1,3
				<b>H2'</b>	5,70 (d)	1	1,2
<b>H3/H3'</b>	5,34 (d)	2	5,7	<b>H3</b>	5,75 (d)	1	1,2
				<b>H3'</b>	5,65 (d)	1	1,2
<b>H4</b>	2,93 (h)	1	7,0	<b>H4</b>	2,84 (h)	1	7,0
<b>H5/H5'</b>	1,28 (d)	6	6,9	<b>H5/H5'</b>	1,35 (dd)	6	19,2 6,9

<b>Hbta</b>				<b>bta</b>			
<b>H</b>	$\delta_{\text{H}}$	$\int$	$J_{\text{H-H}}$ (Hz)	<b>H</b>	$\delta_{\text{H}}$	$\int$	$J_{\text{H-H}}$ (Hz)
<b>H6</b>	6,58 (s)	1	-	<b>H6</b>	6,17 (s)	1	-
<b>H7/H7'</b>	7,96 (m)	2	-	<b>H7/H7'</b>	7,94 (m)	2	-
<b>H8/H8'</b>	7,51 (m)	2	7,7	<b>H11+H8/H8'</b>	7,49 (m)	4	-
<b>H9</b>	7,63 (m)	1	7,4	<b>H9</b>	7,60 (m)	1	-

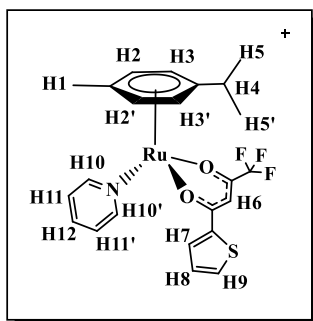
  

<b>py livre</b>				<b>py coordenada</b>			
<b>H</b>	$\delta_{\text{H}}$	$\int$	$J_{\text{H-H}}$ (Hz)	<b>H</b>	$\delta_{\text{H}}$	$\int$	$J_{\text{H-H}}$ (Hz)
<b>H10/H10'</b>	8,54 (dt)	2	4,3 1,7	<b>H10/H10'</b>	8,48 (dt)	2	5,1 1,5
<b>H11/H11'</b>	7,18 (ddd)	2	7,6 4,3 1,5	<b>H11/H11'+H 8/H8'</b>	7,49 (m)	4	-
<b>H12</b>	7,58 (tt)	1	7,6 1,8	<b>H12</b>	7,86 (tt)	1	7,7 1,5

**Fonte:** Dados da pesquisa.



**Tabela 13.** Deslocamentos químicos (ppm), atribuições de sinais, valores das integrais e constantes de acoplamento (Hz) dos prótons existentes no complexo precursor **Rup-cim**, **Htta**, **py** e em seu derivado [Ru(tta)(*p*-cim)(py)]PF<sub>6</sub> (**II**).



<b>Rup-cim</b>				<b>II</b>			
H	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)	H	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)
<b>H1</b>	2,16 (s)	3	-	<b>H1</b>	2,21 (s)	3	-
<b>H2/ H2'</b>	5,48 (d)	2	5,6	<b>H2</b>	5,84 (d)	1	6,1
				<b>H2'</b>	5,73 (d)	1	6,0
<b>H3/H3'</b>	5,34 (d)	2	5,7	<b>H3/H3'</b>	5,66 (m)	2	-
<b>H4</b>	2,93 (h)	1	7,0	<b>H4</b>	2,85 (h)	1	7,0
<b>H5/H5'</b>	1,28 (d)	6	6,9	<b>H5/H5'</b>	1,37 (dd)	6	

<b>Htta</b>				<b>tta</b>			
H	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)	H	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)
<b>H6, H6'</b>	6,45 (s)	2	-	<b>H6</b>	6,00 (s)	1	-
	4,98 (s)		5,0				
<b>H7 + H8</b>	7,21 (ddd)	2	3,9	<b>H7 + H12</b>	7,74 (m)	2	-
			2,6				
<b>H9</b>	7,81 (m)	1	-	<b>H8</b>	7,16 (t)	1	4,5
				<b>H9</b>	7,87 (t)	1	7,6

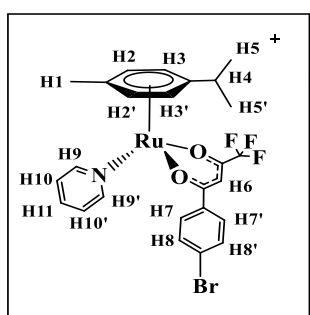
  

<b>py livre</b>				<b>py coordenada</b>			
H	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)	H	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)
<b>H10/H10'</b>	8,54 (dt)	2	4,3	<b>H10/H10'</b>	8,42 (d)	2	5,6
			1,7				

			7,6				
<b>H11/H11'</b>	7,18 (ddd)	2	4,3	<b>H11/H11'</b>	7,48 (t)	2	4,5
			1,5				
<b>H12</b>	7,58 (tt)	1	7,6	<b>H7 + H12</b>	7,74 (m)	2	-
			1,8				

Fonte: Dados da pesquisa.

**Tabela 14.** Deslocamentos químicos (ppm), atribuições de sinais, valores das integrais e constantes de acoplamento (Hz) dos prótons existentes no complexo precursor **Rup-cim**, **Htfb**, **py** e em seu derivado  $[\text{Ru}(\text{tfb})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$  (**III**).

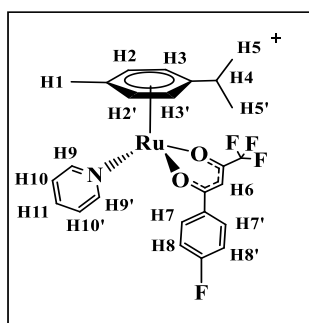


<b>Rup-cim</b>				<b>III</b>			
<b>H</b>	$\delta_{\text{H}}$	$\int$	$J_{\text{H-H}}$ (Hz)	<b>H</b>	$\delta_{\text{H}}$	$\int$	$J_{\text{H-H}}$ (Hz)
<b>H1</b>	2,16 (s)	3	-	<b>H1</b>	2,12 (s)	3	-
<b>H2/H2'</b>	5,48 (d)	2	5,6	<b>H2</b>	5,91 (d)	1	6,1
				<b>H2'</b>	5,77 (d)	1	6,1
<b>H3/H3'</b>	5,34 (d)	2	5,7	<b>H3</b>	5,70 (d)	1	6,1
				<b>H3'</b>	5,62 (d)	1	6,0
<b>H4</b>	2,93 (h)	1	7,0	<b>H4</b>	2,82 (h)	1	-
<b>H5/H5'</b>	1,28 (d)	6	6,9	<b>H5/H5'</b>	1,33 (dd)	6	14,3 6,9
<b>Htfb</b>				<b>tfb</b>			
<b>H</b>	$\delta_{\text{H}}$	$\int$	$J_{\text{H-H}}$ (Hz)	<b>H</b>	$\delta_{\text{H}}$	$\int$	$J_{\text{H-H}}$ (Hz)
<b>H6</b>	6,54 (s)	1	-	<b>H6</b>	6,09 (s)	1	-
<b>H7/H7'</b>	7,81 (m)	2	-	<b>H7/H7'</b>	8,01 (t)	2	7,0
<b>H8/H8'</b>	7,66 (m)	2	-	<b>H8/H8'</b>	7,49 (t)	2	6,7

py livre				py coordenada			
H	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)	H	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)
H9/H9'	8,54 (dt)	2	4,3 1,7 7,6	H9/H9'	8,50 (d)	2	5,6
H10/H10'	7,18 (ddd)	2	4,3 1,5 7,6	H10/H10'	7,18 (t)	2	8,4
H11	7,58 (tt)	1	1,8 7,6	H11	7,87 (t)	1	7,6

Fonte: Dados da pesquisa.

**Tabela 15.** Deslocamentos químicos (ppm), atribuições de sinais, valores das integrais e constantes de acoplamento (Hz) dos prótons existentes no complexo precursor **Rup-cim**, **Htff**, **py** e em seu derivado  $[\text{Ru}(\text{tff})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$  (**IV**).



Rup-cim				IV			
H	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)	H	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)
H1	2,16 (s)	3	-	H1	2,11 (s)	3	-
H2/H2'	5,48 (d)	2	5,6	H2	5,92 (d)	2	5,8
				H2'	5,75 (d)	2	5,8
H3/H3'	5,34 (d)	2	5,7	H3	5,71 (d)	2	6,1
				H3'	5,62 (d)	2	5,9
H4	2,93 (h)	1	7,0	H4	2,80 (h)	1	7,0
H5/H5'	1,28 (d)	6	6,9	H5/H5'	1,32 (dd)	6	6,9
							6,9
<b>Htff</b>				<b>tff</b>			

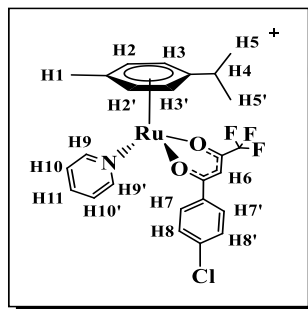
H	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)	H	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)
H6	6,53 (s)	1	-	H6	6,10 (s)	1	-
H7/H7'	7,99 (m)	2	-	H7/H7'	8,01 (m)	2	-
H8/H8'	7,20 (m)	2	-	H8/H8'	7,18 (m)	2	-

py livre				py coordenada			
H	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)	H	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)
H9/H9'	8,54 (dt)	2	4,3	H9/H9'	8,50 (dt)	2	5,2
			1,7				7,7
			7,6				
H10/H10'	7,18 (ddd)	2	4,3	H10/H10'	7,49 (ddd)	2	5,0
			1,5				1,5
			7,6				7,7
H11	7,58 (tt)	1	1,8	H11	7,87 (tt)	1	1,5

Fonte: Dados da pesquisa.

**Tabela 16.** Deslocamentos químicos (ppm), atribuições de sinais, valores das integrais e constantes de acoplamento (Hz) dos prótons existentes no complexo precursor **Rup-cim**, **Hbtc**, **py** e em seu derivado  $[\text{Ru}(\text{btc})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$  (**V**).



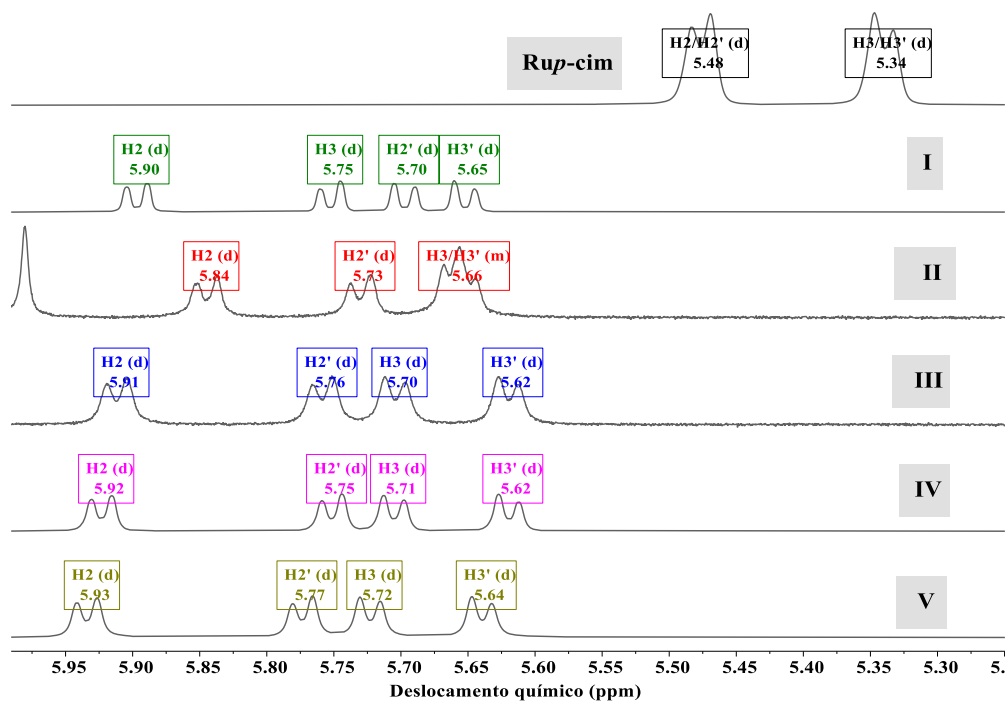
Rup-cim				V			
H	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)	H	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)
H1	2,16 (s)	3	-	H1	2,12 (s)	3	-
H2/H2'	5,48 (d)	2	5,6	H2	5,93 (d)	1	6,5
				H2'	5,77 (d)	1	6,7
H3/H3'	5,34 (d)	2	5,7	H3	5,72 (d)	1	6,1
				H3'	5,64 (d)	1	6,0

<b>H4</b>	2,93 (h)	1	7,0	<b>H4</b>	2,82 (h)	1	6,9
<b>H5/H5'</b>	1,28 (d)	6	6,9	<b>H5/H5'</b>	1,33 (dd)	6	16,0 7,0
<b>Hbtc</b>				<b>btc</b>			
<b>H</b>	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)	<b>H</b>	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)
<b>H6</b>	6,54 (s)	1	-	<b>H6</b>	6,06 (s)	1	-
<b>H7/H7'</b>	7,89 (m)	2	-	<b>H7/H7' + H11</b>	7,85 (m)	3	-
<b>H8/H8'</b>	7,49 (m)	2	-	<b>H8/H8' + H10</b>	7,49 (m)	4	-
<b>py livre</b>				<b>py coordenada</b>			
<b>H</b>	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)	<b>H</b>	$\delta_H$	$\int$	$J_{H-H}$ (Hz)
<b>H9/H9'</b>	8,54 (dt)	2	4,3 1,7 7,6	<b>H9/H9'</b>	8,51 (d)	2	5,1
<b>H10/H10'</b>	7,18 (ddd)	2	4,3 1,5 7,6	<b>H8/H8' + H10/H10'</b>	7,49 (m)	4	-
<b>H11</b>	7,58 (tt)	1	1,8	<b>H7/H7' + H11</b>	7,92 (m)	3	-

**Fonte:** Dados da pesquisa.

A partir da análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$ , foi possível observar deslocamentos característicos do precursor, além dos deslocamentos químicos que evidenciam a existência dos ligantes. O precursor *Rup-cim* apresenta dois grupos distintos de sinais, sendo o primeiro referente aos hidrogênios alifáticos (grupos metila e isopropil) em regiões entre  $\delta$  1,0 e 3,0 ppm, e o segundo referente aos hidrogênios aromáticos (benzeno), que geralmente aparecem por volta de  $\delta$  5,5 ppm. A partir da substituição dos cloridos por novos ligantes, neste caso, as  $\beta$ -dicetonas e a piridina, observou-se que os prótons referentes ao segundo grupo nos complexos **I**, **III**, **IV** e **V** exibiram maior desblindagem quando comparados aos sinais dos prótons do precursor, como demonstrado na Figura 25.

**Figura 25.** Espectros com região expandida referentes aos sinais dos prótons em baixo campo do grupo aromático do precursor presentes em todos complexos



**Fonte:** Dados da pesquisa.

A presença de sinais mais desblindados em regiões referentes aos hidrogênios supracitados, identificados como H2, H2', H3 e H3', pode ser explicada pelo ambiente químico gerado através inserção dos novos ligantes, que possuem elementos com eletronegatividade pronunciada (oxigênio nas  $\beta$ -dicetonas e nitrogênio na piridina), cujo efeito indutor promove a desblindagem dos prótons do anel, diminuindo ainda mais a anisotropia diamagnética (BROWN *et al.*, 2010). Com exceção do complexo **II**, esses sinais foram observados em regiões entre  $\delta$  5,62 e 5,93 ppm (Tabelas 12-16), com desdobramentos em dupletos, e essas novas multiplicidades podem estar relacionadas à quebra de simetria do grupo areno com a coordenação de ligantes assimétricos (ARAUJO NETO, 2020).

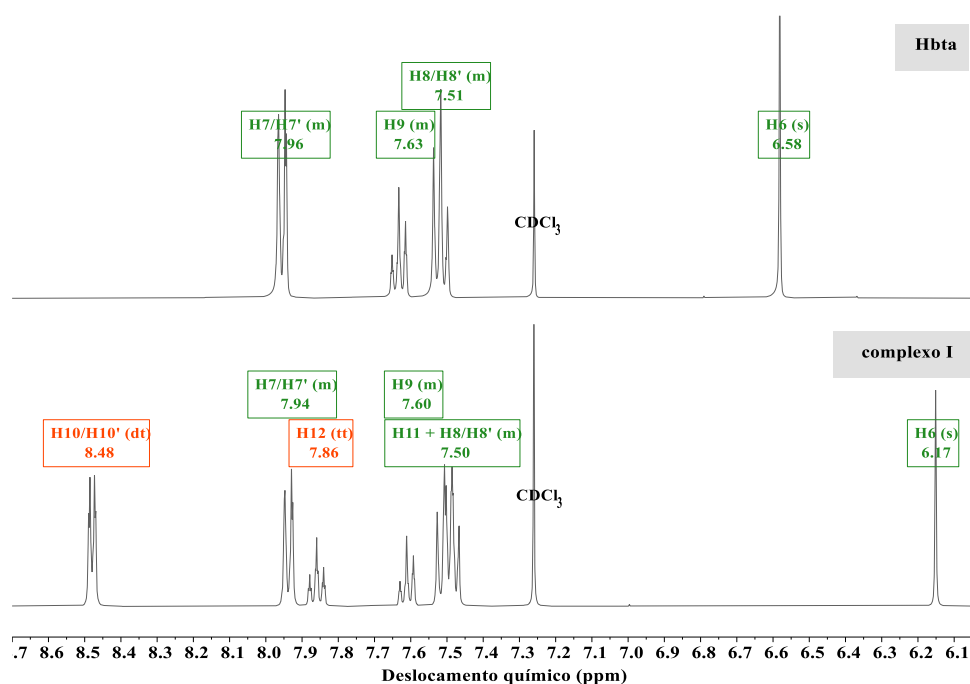
Vale salientar que os hidrogênios alifáticos (H1, H4, H5/H5') não apresentaram mudanças significativas em seus deslocamentos químicos. Os prótons do grupo metil (H1) exibiram multiplicidade singlete(s), por serem quimicamente equivalentes, na faixa entre  $\delta$  2,19 e 2,11 ppm, ao passo que os prótons do grupo isopropil (H4 e H5/H5') com multiplicidade hepteto (h) e duplo duplete (dd), respectivamente, exibiram deslocamentos

químicos entre  $\delta$  2,80 e 2,85 ppm para o H4 e  $\delta$  1,37 e 1,32 ppm para H5/H5' (Figura C5-Anexo) (FONSECA, 2011; SERŠEN *et al.*,2013).

A confirmação da coordenação das  $\beta$ -dicetonas é evidenciada pela presença do sinal identificado como H6, proveniente do hidrogênio germinal do metileno de multiplicidade singlete (s), correspondente a 1H e compreendido em uma região entre  $\delta$  6,06-6,15 ppm para todos os complexos. Ademais, é um forte indício de que o ligante  $\beta$ -dicetona foi desprotonado, tornando o seu caráter aniônico e favorecendo a complexação ao rutênio(II). Outro indício é a presença de sinais de prótons dos substituintes aril (tiofeno, fluorofenil, clorofenil e bromofenil) (SERŠEN *et al.*,2013; URŠIC *et al.*,2017).

Para o complexo **I** foram observados deslocamentos de sinais dos hidrogênios aromáticos do ligante livre bta identificados como H7/H7', H8/H8' e H9 para regiões de campo mais alto. A blindagem desses prótons pode ter sido promovida a partir da maior disponibilidade eletrônica que o rutênio possui com a presença do *p*-cimeno e do ligante piridínico, o que resulta em uma menor competição eletrônica. Isso faz com que a nuvem eletrônica formada a partir da deslocalização eletrônica do anel e que envolve os prótons do ligante mencionado, permaneça praticamente inalterada (Figura 26).

**Figura 26.** Espectros com região expandida referentes aos sinais dos hidrogênios do ligante **bta** presentes no complexo **I** as respectivas atribuições.

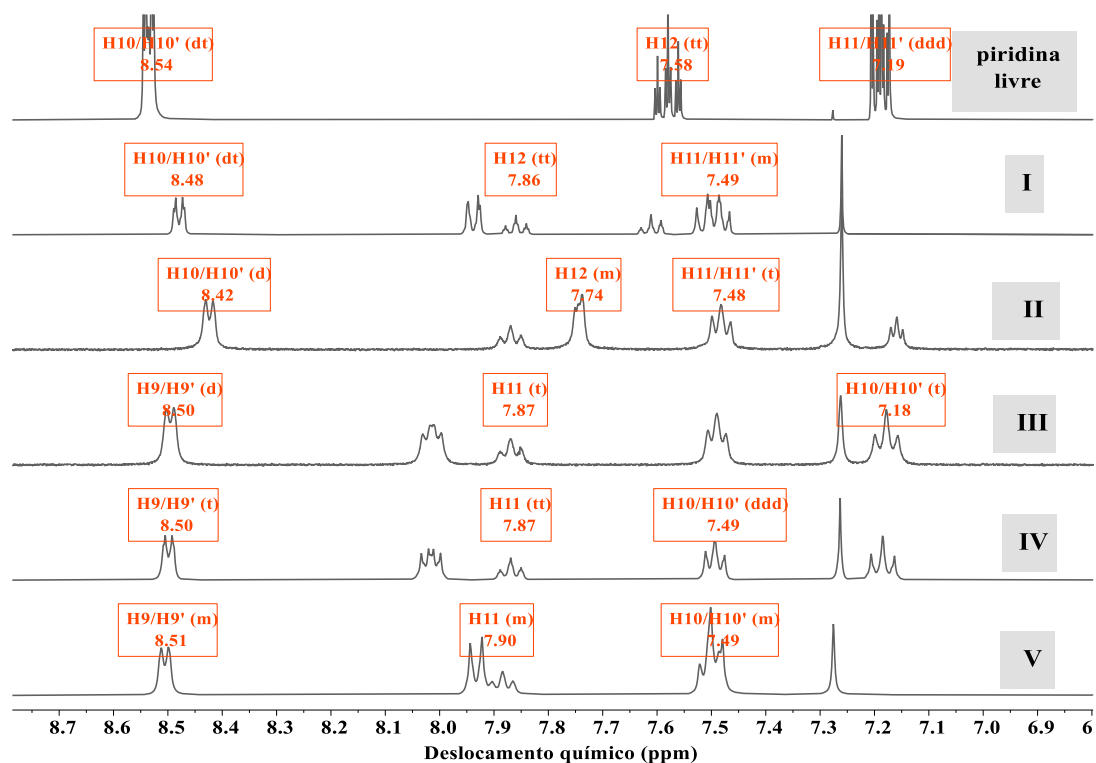


**Fonte:** Dados da pesquisa.

Os deslocamentos químicos exibiram, portanto, multiplicidade multipletto (m) para os prótons H7/H7' em  $\delta$  7,94 ppm, H8, H8' em  $\delta$  7,50 ppm e H9 em  $\delta$  7,60 ppm, como especificado na Tabela 12. Para os demais complexos, também foram observados deslocamentos característicos que confirmam a coordenação do rutênio a essas espécies, cujos sinais e atribuições estão listados nas Tabelas 13 a 16. Os espectros dos complexos II-V e seus respectivos ligantes livres estão dispostos na seção Anexo C (Figura C6-C10).

Por fim, através da comparação do espectro da piridina em sua forma livre com a piridina complexada ao rutênio, considerando a mudança de ambiente químico após a coordenação, foram observados deslocamentos dos sinais atribuídos aos hidrogênios *orto* ( $\delta$  8,48-8,51 ppm), *meta* ( $\delta$  7,90-7,74 ppm), e *para* ( $\delta$  7,49-7,18 ppm), ao nitrogênio da piridina, bem como o desdobramento de alguns desses sinais, como exibido na Figura 27. Todas as integrais e atribuições da piridina, assim como do precursor e das  $\beta$ -dicetonas estão em concordância com a literatura (SERŠEN *et al.*, 2013; URŠIC *et al.*, 2017; GRGURIĆ-ŠIPKA *et al.*, 2010).

**Figura 27.** Espectros com região expandida referentes aos sinais dos hidrogênios do ligante **py** presentes em todos complexos com as respectivas atribuições.



**Fonte:** Dados de pesquisa.



#### 4.2.4.2 Ressonância Magnética Nuclear de $^{13}\text{C} \{^1\text{H}\}$

Os espectros de RMN de  $^{13}\text{C} \{^1\text{H}\}$  dos complexos **I-V** exibiram sinais característicos do grupo *p*-cimeno, cujos deslocamentos químicos atribuídos aos alcanos alifáticos (C1, C4', C5 e C6) foram observados na região entre  $\delta$  30,85-16,71 ppm e os sinais atribuídos aos carbonos aromáticos (C1', C2, C2', C3, C3' e C4) observados em regiões de campo mais baixo, entre 103,42-76,27 ppm. Sinais que evidenciaram a inserção dos ligantes ( $\beta$ -dicetonatos e piridina) também foram exibidos nos espectros e apresentaram deslocamentos químicos regiões acima de  $\delta$  110 ppm. Além disso, todos os sinais, exceto os núcleos próximos aos átomos de flúor, os quais há acoplamento através de uma ou duas ligações ( $^2J_{\text{CF}} = 33$  Hz e  $^1J_{\text{CF}} = 284$  Hz), e os sinais atribuídos aos carbonos do anel do *p*-cimeno, são singletos (SERSĚN *et al.* 2013; SERSĚN *et al.*, 2015).

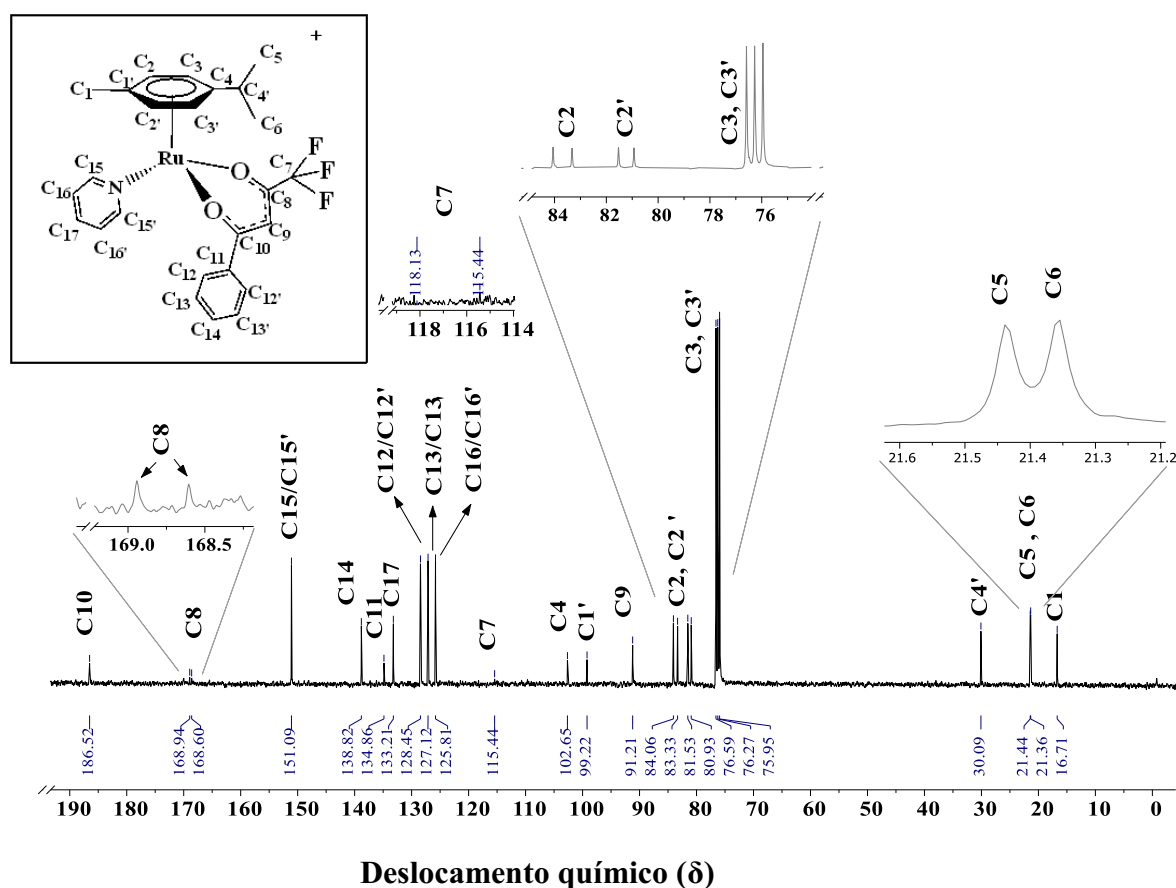
A Figura 28 ilustra o espectro de RMN de  $^{13}\text{C} \{^1\text{H}\}$  para o complexo **I** em que os sinais atribuídos aos carbonos metílicos e isopropílicos do grupo areno exibiram deslocamentos químicos em  $\delta$  16,71 ppm (C1),  $\delta$  30,09 ppm (C4'),  $\delta$  21,44 ppm (C5) e  $\delta$  21,36 ppm (C6). Os carbonos do anel constituinte do mesmo grupo exibiram maior desblindagem, o que já é esperado para espécies que compõem sistemas aromáticos, com sinais em  $\delta$  99,22 ppm (C1'),  $\delta$  83,69 ppm (C2),  $\delta$  81,23 ppm (C2'),  $\delta$  76,27 ppm (C3, C3') e  $\delta$  102,65 ppm (C4). Os sinais atribuídos aos carbonos ligados ao oxigênio (C8 e C10) bem como o carbono metilênico (C9) do ligante bta foram observados em  $\delta$  168,77 ppm,  $\delta$  186,52 ppm e  $\delta$  91,21 ppm, respectivamente. Além disso, C7 e C8 exibem multiplicidade duplete como resultado do acoplamento de núcleos de carbono com núcleos de flúor ( $^1J_{\text{CF}} = 269$  Hz e  $^2J_{\text{CF}} = 33$  Hz, respectivamente).

A diferença de deslocamentos químicos entre estes carbonos envolve a coordenação ao rutênio, considerando que os carbonos C8 e C10 são mais próximos do sítio de coordenação, além do efeito indutivo dos átomos de oxigênio ser mais pronunciado e influenciar na desblindagem. Esse mesmo efeito é observado para os átomos de carbono ligados a heteroátomos com caráter eletronegativo, tal como o C7 (carbono ligado ao flúor), que exibiu sinal em  $\delta$  116,79 ppm. Os carbonos aromáticos C11, C12/C12', C13/C13' e C14 apresentaram sinais em  $\delta$  134,86 ppm,  $\delta$  128,45 ppm,  $\delta$  127,12 ppm e  $\delta$  138,82 ppm, respectivamente.

Além do bta, foi possível verificar a presença de sinais característicos do anel piridínico atribuídos como C15/C15' ( $\delta$  151,09 ppm) para os carbonos na posição *orto*, C16/C16' ( $\delta$  125,81 ppm) para os carbonos na posição *meta* e C17 ( $\delta$  133,21 ppm) para

o carbono na posição *para* ao nitrogênio, cujo maior efeito de desblindagem é observado para os carbonos mais próximos a esse átomo. A comparação dos complexos **I-V** com dados descritos na literatura para complexos similares contendo o ligante clorido (doador sigma ( $\sigma$ ) e pi ( $\pi$ )) permitiu verificar também que os deslocamentos químicos dos ligantes  $\beta$ -dicetonas, bem como do *p*-cimeno, foram menores devido à inserção do ligante piridina aceptor pi ( $\pi$ )), o que corrobora para a confirmação da formação dos compostos propostos. Além disso, todos os sinais e atribuições observados estão em concordância com a literatura (FANDZLOCH *et al.*, 2021; DUCHANE *et al.*, 2018; PETTINARI *et al.*, 2017; SERSĚN *et al.* 2013; VOCK *et al.*, 2006; GRGURIĆ-ŠIPKA *et al.*, 2010). Os espectros dos outros complexos encontram-se no Anexo D.

**Figura 28.** Espectro de RMN  $^{-13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$ , obtido em  $\text{CDCl}_3$  e frequência de 100 MHz, do complexo **I** com os carbonos identificados.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

A Tabela 17 exhibe as atribuições e deslocamentos químicos de todos os complexos, considerando as respectivas representações estruturais. Através das

comparações dos deslocamentos químicos é possível verificar que os ligantes  $\beta$ -dicetonatos com substituintes heterocíclicos distintos induzem a efeitos ligeiramente diferente nos átomos de carbono próximos. Como mencionado anteriormente, substituintes com caráter eletronegativo tendem a reduzir a densidade eletrônica de átomos vizinhos, o que leva à desblindagem dos núcleos. No entanto, esse efeito pode variar a depender da magnitude da eletronegatividade da espécie próxima a determinado núcleo de carbono. Nesse sentido, deslocamentos químicos atribuídos ao mesmo carbono foram comparados entre os quatro complexos e, a partir dessa análise, verificou-se que os carbonos (C10) exibiram deslocamentos químicos na seguinte ordem decrescente: **I>III>V>IV>II**.

A justificativa para tal ordem consiste na competição eletrônica entre os grupos, que pode promover uma blindagem parcial no respectivo núcleo, resultando em deslocamentos químicos menores. No caso do ligante bta, como há presença de ressonância e ausência de substituintes eletronegativos, não há efeito indutivo que promova a blindagem parcial do núcleo atribuído ao C10, tendo este núcleo apenas o efeito de desblindagem promovido pela vizinhança com o oxigênio. Ao contrário dos ligantes tfb, tff e btc, que contém os halogênios bromo, flúor e cloro, respectivamente. A tendência se segue através do caráter doador  $\pi$ , como o bromo é o que exibe esse caráter mais pronunciado e, conseqüentemente, menor efeito indutivo, o núcleo supracitado terá uma desblindagem menos efetiva, já que o bromo competirá com o oxigênio por elétrons. Esse efeito é observado para o cloro, seguido do flúor que, por ser uma espécie doadora  $\pi$  fraca, competirá mais efetivamente por elétrons, resultando um menor deslocamento químico. O complexo **II**, cujo ligante tta possui estrutura distinta dos demais, exibiu o efeito mais pronunciado, tendo em vista que o tiofeno é um substituinte de menor aromaticidade.

Em se tratando dos carbonos atribuídos aos sinais C13/C13' para os complexos **III**, **IV** e **V**, observou-se que os deslocamentos químicos exibiram a seguinte tendência em ordem decrescente: **III>V>IV**, sendo também justificado pela eletronegatividade, já que, quanto mais pronunciada a eletronegatividade, mais blindados ficarão os átomos de carbono da vizinhança. Vale ressaltar que a ressonância do anel aromático também influencia no efeito de blindagem, sendo, neste caso, o fator que corrobora para a blindagem dos núcleos de carbono. O carbono atribuído ao C14 também exibe deslocamentos químicos distintos, tendo em vista o substituinte, mas, neste caso, o complexo **III** exibe comportamento imprevisto, uma vez que o sinal sugere maior

blindagem que o complexo contendo o ligante btc, o que pode ser explicado pelo tamanho do átomo de bromo quando comparado com o tamanho do cloro.

**Tabela 17.** Valores de deslocamentos químicos  $\delta$  (ppm) de RMN de  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$  para os complexos I-V.

Atribuições		$\delta$ (ppm) (multiplicidade, $J_{\text{CF}}$ (Hz)) dos complexos sintetizados				
Ligantes		I	II	III	IV	V
<i>p</i> -cimeno	C <sub>1</sub>	16,71 (s)	17,39 (s)	17,40 (s)	16,93 (s)	16,95 (s)
	C <sub>1'</sub>	99,22 (s)	99,41 (s)	100,27 (s)	99,70 (s)	99,78 (s)
	C <sub>2</sub>	83,69 (d)	83,99 (d)	84,66 (d)	84,12 (d)	84,18 (d)
	C <sub>2'</sub>	81,23 (d)	82,40 (d)	81,60 (d)	81,14 (d)	81,17 (d)
	C <sub>3,C<sub>3'</sub></sub>	76,27 (t)	77,03 (t)	76,93 (t)	76,47 (t)	76,52 (t)
	C <sub>4</sub>	102,65 (s)	103,42 (s)	103,34 (s)	102,84 (s)	102,88 (s)
	C <sub>4'</sub>	30,09 (s)	30,85 (s)	30,77 (s)	30,30 (s)	30,31 (s)
	C <sub>5</sub>	21,44 (s)	22,24 (s)	22,13 (s)	21,66 (s)	21,56 (s)
$\beta$ -dicetonas	C <sub>6</sub>	21,36 (s)	22,08 (s)	22,02 (s)	21,54 (s)	21,67 (s)
	C <sub>7</sub>	116,79 (d, $^1J_{\text{CF}}$ 269)	118,98 (d, $^1J_{\text{CF}}$ 269)	118,60 (d, $^1J_{\text{CF}}$ 269)	165,78 (d, $^1J_{\text{CF}}$ 256)	118,41 (d, $^1J_{\text{CF}}$ 284)
	C <sub>8</sub>	168,77 (d, $^2J_{\text{CF}}$ 33)	168,80 (d, $^2J_{\text{CF}}$ 34)	169,85 (d, $^2J_{\text{CF}}$ 34)	169,05 (d, $^2J_{\text{CF}}$ 34)	169,51 (d, $^2J_{\text{CF}}$ 34)
	C <sub>9</sub>	91,21 (s)	91,72 (s)	91,64 (s)	91,09 (s)	91,21 (s)
	C <sub>10</sub>	186,52 (s)	180,02 (s)	186,07 (s)	185,30 (s)	185,45 (s)
	C <sub>11</sub>	134,86 (s)	141,55 (s)	134,28 (s)	131,33 (s)	139,07 (s)
	C <sub>12,C<sub>12'</sub></sub>	128,45 (s)	139,59 (s)	132,25 (s)	130,25 (s)	128,99 (s)
	C <sub>13,C<sub>13'</sub></sub>	127,12 (s)	129,21 (s)	129,30 (s)	115,89 (s)	128,80 (s)
piridina	C <sub>14</sub>	138,82 (s)	132,14 (s)	139,36 (s)	139,04 (s)	140,09 (s)
	C <sub>15,C<sub>15'</sub></sub>	151,09 (s)	151,77 (s)	151,80 (s)	151,35 (s)	151,35 (s)
	C <sub>16,C<sub>16'</sub></sub>	125,81 (s)	126,58 (s)	126,39 (s)	126,02 (s)	126,05 (s)
	C <sub>17</sub>	133,21 (s)	135,52 (s)	132,45 (s)	130,25 (s)	133,38 (s)

Fonte: Dados da pesquisa.

Dados na literatura de deslocamentos químicos a partir de análise de  $^{13}\text{C}$  dos ligantes bta, tta e btc em sua forma livre foram relacionados com os complexos I, II e V, deste trabalho. Os sinais dos núcleos que participam diretamente da coordenação ao metal, neste caso, C8, C9 e C10 foram comparados e verificou-se que houve variação em

todos deslocamentos químicos selecionados, como listado na Tabela 18, sendo mais um indício de obtenção dos complexos propostos, além de ser verificada uma variação mais pronunciada envolvendo o núcleo de carbono atribuído ao C(8), cuja coordenação, além do efeito indutivo dos átomos de oxigênio e flúor do grupo CF<sub>3</sub>, influenciam diretamente neste quesito. Vale ressaltar que os valores de  $\Delta$  obtidos então similares aos valores relatados na literatura (SERSĚN *et al.* 2013).

**Tabela 18.** Variação de deslocamentos químicos selecionados de RMN <sup>13</sup>C em ligantes livres (**Hbta**, **Htta** e **Hbtc**) e nos respectivos complexos.

Atribuição	Ligante (Complexo) (ppm)			
	Hbta (I)	Htta (II)	Hbtc (V)	
$\delta(^{13}\text{C})$ C8	$\delta_{\text{livre}}^*$	177,5	171,3	177,5
	$\delta_{\text{complexo}}$	168,8	168,8	169,5
	$\Delta = \delta_{\text{complexo}} - \delta_{\text{livre}}$	-8,7	-2,5	-8
$\delta(^{13}\text{C})$ C9	$\delta_{\text{livre}}^*$	92,4	93,7	92,4
	$\delta_{\text{complexo}}$	91,2	91,72	91,2
	$\Delta = \delta_{\text{complexo}} - \delta_{\text{livre}}$	-1,2	-2,0	-1,2
$\delta(^{13}\text{C})$ C10	$\delta_{\text{livre}}^*$	186,3	182,9	185,5
	$\delta_{\text{complexo}}$	186,5	180,0	185,5
	$\Delta = \delta_{\text{livre}} - \delta_{\text{complexo}}$	-0,2	-2,9	0

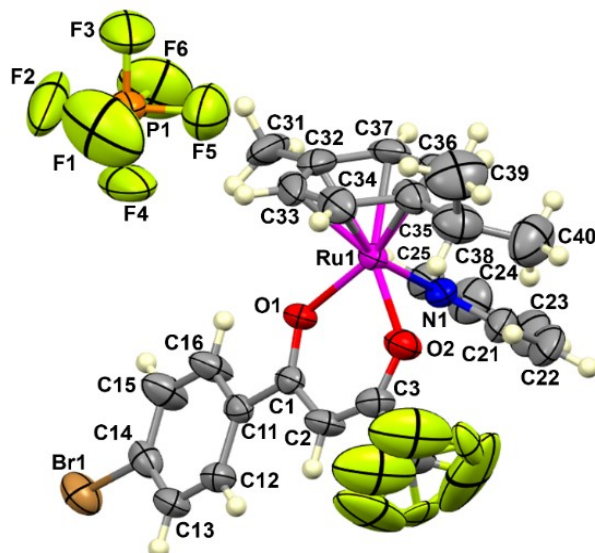
\* SERSĚN *et al.* 2013.

**Fonte:** Dados da pesquisa.

#### 4.2.5 Difração de raios X por monocristal

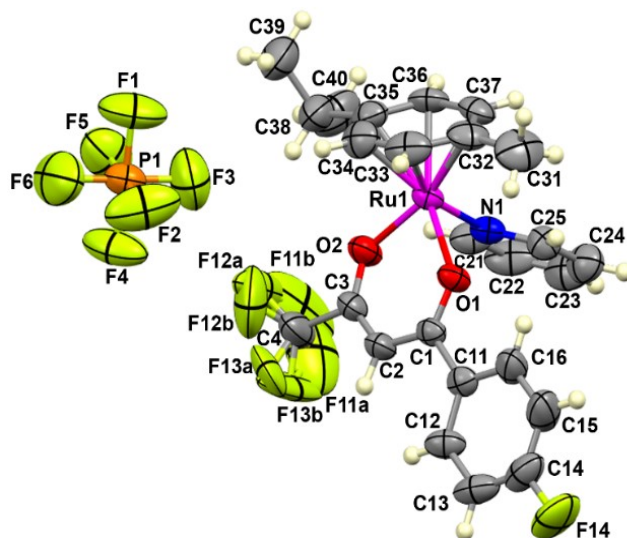
A técnica de difração de raios X, a partir de monocristais de tamanhos adequados provenientes da recristalização dos sólidos dos complexos **III** e **IV**, foi realizada conforme descrito na seção 3.3.6 deste trabalho. Através da análise dos dados, foi possível verificar a estrutura cristalina de ambos complexos exibidos nas Figuras 29 e 30. Os dados cristalográficos estão dispostos na Tabela 19 e os ângulos de ligações, bem como os comprimentos de ligação de maior relevância para a esfera de coordenação do íon rutênio(II), estão exibidos na Tabela 20.

**Figura 29.** Estrutura Ortep do complexo **III** com elipsóides térmicos a 50% de probabilidade. Os átomos de flúor da fração CF<sub>3</sub> estão desordenados em duas posições diferentes a) componente principal com 85,3% de ocupação e b) componente menor com 14,7% de ocupação.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura 30.** Estrutura Ortep do complexo **IV** com elipsóides térmicos a 50% de probabilidade. Os átomos de flúor da fração CF<sub>3</sub> estão desordenados em duas posições diferentes a) componente principal com 50,1% de ocupação e b) componente menor com 49,9% de ocupação.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

A partir dos resultados obtidos pela técnica, demonstrou-se que os complexos **III** e **IV** cristalizam no grupo espacial  $P2_1/c$  do sistema monoclinico, como reportado na Tabela 19. Além disso, os parâmetros geométricos estão de acordo com os valores esperados e concordam com os dados cristalográficos observados para estruturas similares descritas na literatura (MARTÍNEZ *et al.*, 2012; PRAGTI *et al.*, 2021).

**Tabela 19.** Dados cristalográficos obtidos através da análise dos complexos  $[\text{Ru}(\text{tfb})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$  (**III**) e  $[\text{Ru}(\text{tff})(p\text{-cim})(\text{py})]\text{PF}_6$  (**IV**)

Fórmula	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{BrF}_9\text{NO}_2\text{PRu}$ ( <b>III</b> )	$\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{F}_{10}\text{NO}_2\text{PRu}$ ( <b>IV</b> )
Massa Molar ( $\text{g mol}^{-1}$ )	753,40	692,49
Temperatura (K)	296(2)	296(2)
Comprimento de onda	0,71073	0,71073
Mo-K $\alpha$ (Å)		
Sistema Cristalino	Monoclinico	Monoclinico
Grupo Espacial	$P2_1/c$	$P2_1/c$
Parâmetros da Célula	$a = 9,8272(5) \text{ \AA}$	$a = 9,9486(4) \text{ \AA}$
Unitária	$b = 16,1197(8) \text{ \AA}$ $\beta = 91,783(2)^\circ$ $c = 17,9580(10) \text{ \AA}$	$b = 16,0190(6) \text{ \AA}$ $\beta = 91,841(2)^\circ$ $c = 17,3789(8) \text{ \AA}$
Volume ( $\text{\AA}^3$ )	2843,4(3)	2768,2(2)
Z, Densidade (calculada) ( $\text{Mg m}^{-3}$ )	1,760	4, 1,662
Coefficiente de absorção ( $\text{mm}^{-1}$ )	2,096	0,716
F(000)	1488	1384
Tamanho do cristal ( $\text{mm}^3$ )	0,160 x 0,130 x 0,130	0,520 x 0,420 x 0,330
Intervalo de $\theta$ ( $^\circ$ )	1,698 a 26,416 $^\circ$ .	1,729 a 26,430 $^\circ$
Intervalo de $hkl$	$-11 \leq h \leq 12$ $-17 \leq k \leq 20$ $-22 \leq l \leq 22$	$-11 \leq h \leq 12$ $-20 \leq k \leq 19$ $-21 \leq l \leq 16$
Reflexões coletadas	48573	31532
Reflexões únicas [ $R_{\text{interno}}$ ]	5851 [0,0980]	5691 [0,0409]
Integralidade para teta	25,242 $^\circ$ de 100,0 %	25,242 $^\circ$ de 100,0 %

Método de refinamento	Matriz completa de mínimos quadrados em F <sup>2</sup>	Matriz completa de mínimos quadrados em F <sup>2</sup>
F <sup>2</sup>	1,030	1,102
Reflexões observadas R[I > 2σ(1)]; wR	R <sup>1</sup> = 0,0450, wR <sup>2</sup> = 0,1116	R <sup>1</sup> = 0,0450, wR <sup>2</sup> = 0,1144
R (todos os dados); wR	R <sup>1</sup> = 0,0744, wR <sup>2</sup> = 0,1288	R <sup>1</sup> = 0,0588, wR <sup>2</sup> = 0,1290
Parâmetro de estrutura absoluta	386	392
S	6	6
Δρ <sub>máx</sub> ; Δρ <sub>mín</sub> (e, Å <sup>-3</sup> )	0,823; -0,584	0,642; -0,735

**Fonte:** Dados da pesquisa.

As estruturas moleculares exibidas nas Figuras 29 e 30 mostram claramente que ambos os complexos exibem geometria pseudo-octaédrica “*piano stool*” (traduzida do inglês “banco de piano”), característica comumente observada para compostos dessa classe, sendo que o ligante *p*-cimeno ocupa três sítios de coordenação do octaedro a partir de ligações π, formando o “assento do banquinho do piano”. Os sítios de coordenação remanescentes são ocupados pelos ligantes β-dicetonato e piridina, formando neste caso, as pernas do banco. A coordenação das β-dicetonas tfbr para o complexo **III** e tff para o complexo **IV** ao íon rutênio (II) ocorre via átomos de oxigênio (modo bidentado), promovendo uma estabilidade adicional, a partir da formação de um anel quelato de seis membros. Já a piridina se coordena através dos pares isolados do átomo de nitrogênio. Portanto, para ambos complexos, o íon rutênio(II) está em um ambiente de coordenação NOO(η<sup>6</sup>-areno) (SERŠEN *et al.*, 2015; SUBARKHAN *et al.*, 2016, MARTÍNEZ-ALONSO *et al.*, 2014).

Como exibido na Tabela 20, o átomo de rutênio é coordenado aos átomos de carbono a partir de ligações π e pelas distâncias de ligação Ru-C, em se tratando dos carbonos das extremidades do anel (grupo areno), foi possível sugerir a planaridade esperada, já que os valores são muito próximos entre si. Para o complexo **III** as distâncias Ru-C(35) e Ru-C(32) foram 2,175(5) Å e 2,189(5) Å. Para o complexo **IV** as distâncias referentes às mesmas ligações foram 2,185(4) Å e 2,187(4) Å, respectivamente. Além disso, as distâncias de ligação Ru-C estão de acordo com os dados da literatura e variam entre 2,158(5) Å a 2,189(5) Å e 2,160(4) Å a 2,187(4) Å para os complexos **III** e **IV** (FANDZLOCH *et al.* 2021). Adicionalmente, foi observada uma alternância de



comprimentos de ligação entre curtas (numa média de 1,3 Å) e longas (numa média de 1,4 Å) em se tratando das ligações C-C do *p*-cimeno (Apêndice), como demonstrado na literatura para este grupo (SUBARKHAN *et al.*, 2016).

Os comprimentos de ligação Ru-O, assim como Ru-N, têm relação direta com a orientação dos átomos doadores de pares de elétrons referentes aos ligantes, além de serem parâmetro de confirmação para a coordenação dessas espécies ao metal. Nesse sentido, os valores observados de distância de ligação Ru-O(1), Ru-O(2) e Ru-N(1) são 2,079(3) Å, 2,070(3) Å e 2,126(4) Å para o **III**, e para o **IV** as distâncias são 2,080(2) Å, 2,077(3) Å e 2,120(3) Å, ressaltando que, os comprimentos de ligação Ru-O são mais curtos que Ru-N, e isso justifica-se pela forte natureza  $\sigma$ -doadora do átomo de oxigênio (MARTÍNEZ-ALONSO *et al.*, 2014).

As distâncias C-O das carbonilas e C-C ambas dos ligantes b-dicetonatos também corroboram para as informações estruturais, neste caso C(1)-O(1) e C(3)-O(2), apresentam comprimentos variando entre 1,252 Å a 1,283 Å e ligações C-C entre 1,369 Å e 1,421 Å, para ambos complexos. Todas as distâncias observadas através da análise são comparáveis complexos de estruturas similares descritos na literatura (URŠIĆ *et al.*, 2017; SERŠEN *et al.*, 2015; MARTÍNEZ-ALONSO *et al.*, 2014; RYAN *et al.*, 2021; FANDZLOCH *et al.*, 2021).

**Tabela 20.** Comprimentos e ângulos de ligação selecionados para os complexos **III** e **IV**.

Complexo	III	IV
<i>Comprimento de ligação (Å)</i>		
Ru-O(2)	2,070(3)	2,077(3)
Ru-O(1)	2,079(3)	2,080(2)
Ru-N(1)	2,126(4)	2,120(3)
O(1)-C(1)	1,261(5)	1,263(4)
O(2)-C(3)	1,260(5)	1,253(4)
C(1)-C(2)	1,404(6)	1,403(5)
C(3)-C(2)	1,360(7)	1,364(6)
Ru-C(35)	2,175(5)	2,185(4)
Ru-C(32)	2,189(5)	2,187(4)
<i>Ângulos de ligação (°)</i>		
O(2)- Ru-O(1)	87,82(12)	87,68(10)
O(2)- Ru-N(1)	85,05(14)	84,98(13)
O(1)- Ru-N(1)	82,63(14)	83,00(11)

O(2)- Ru-C(32)	159,8(2)	160,35(18)
O(1)- Ru-C(32)	92,54(17)	92,97(14)
N(1)- Ru-C(32)	115,1(2)	114,61(17)
O(2)- Ru-C(35)	88,57(18)	87,99(15)
O(1)- Ru-C(35)	154,88(17)	153,52(14)
N(1)- Ru-C(35)	121,79(18)	122,59(15)
C(32)-C(33)-Ru	71,1(3)	71,3(2)
C(33)-C(34)-Ru	71,9(3)	71,4(3)
C(34)-C(35)-Ru	71,0(3)	70,7(3)
C(35)-C(36)-Ru	71,7(3)	71,9(2)
C(36)-C(37)-Ru	71,1(3)	71,0(2)
C(37)-C(32)-Ru	70,0(3)	70,1(2)
C(38)-C(35)-Ru	125,9(4)	125,8(3)
C(31)-C(32)-Ru	127,0(4)	127,3(3)

**Fonte:** Dados da pesquisa.

Segundo as Figuras 29 e 30, o ligante  $\beta$ -dicetonato liga-se ao centro metálico, promovendo distorção geométrica pseudo-octaédrica com ângulos de mordida com menor tensão O(2)-Ru-O(1) de 87,82(12) e 87,68(10) ° para os complexos **III** e **IV**. Valores que sugerem distorção também foram observados para os ângulos atribuídos à O(2)-Ru-N(1) e O(1)-Ru-N(1). Para o complexo **III**, os ângulos observados são 85,05(14)° e 82,63(14)° e para o complexo **IV**, são 84,98(13)° e 83,00(11)°. Todos os ângulos observados estão consistentes aos dados encontrados para organometálicos à base de rutênio previamente conhecidos envolvendo esses ligantes (MARTÍNEZ-ALONSO *et al.*, 2014; SUBARKHAN *et al.*, 2016).

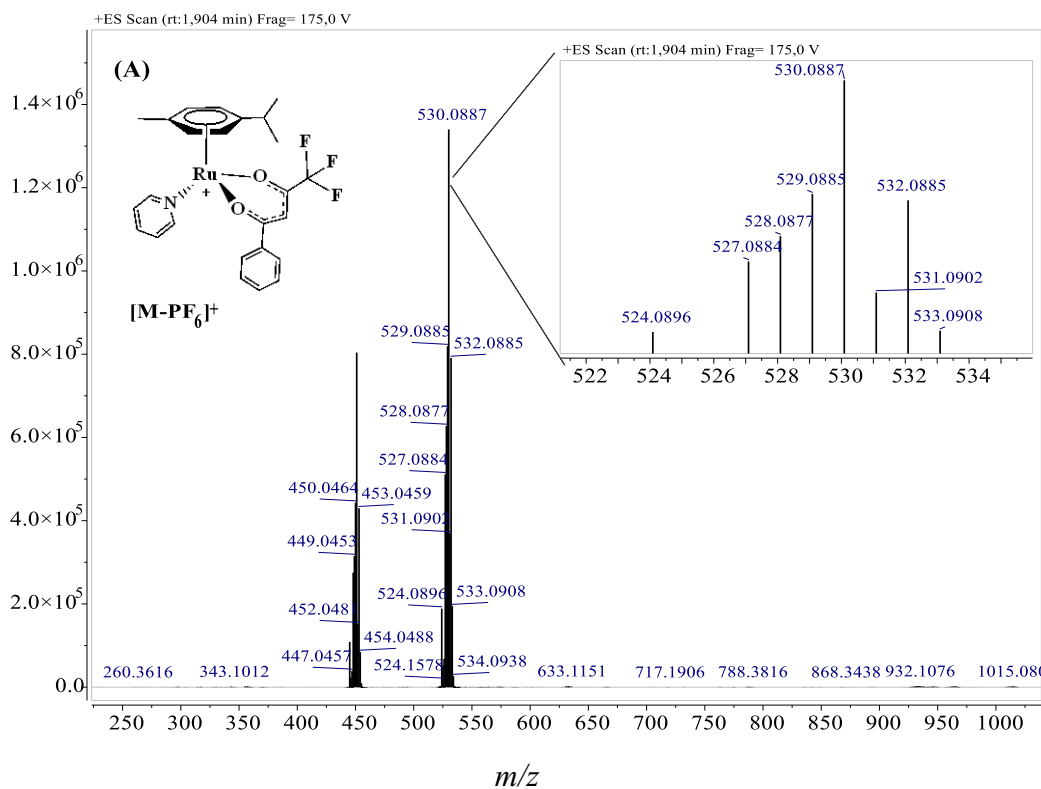
#### 4.2.6 Espectrometria de Massas

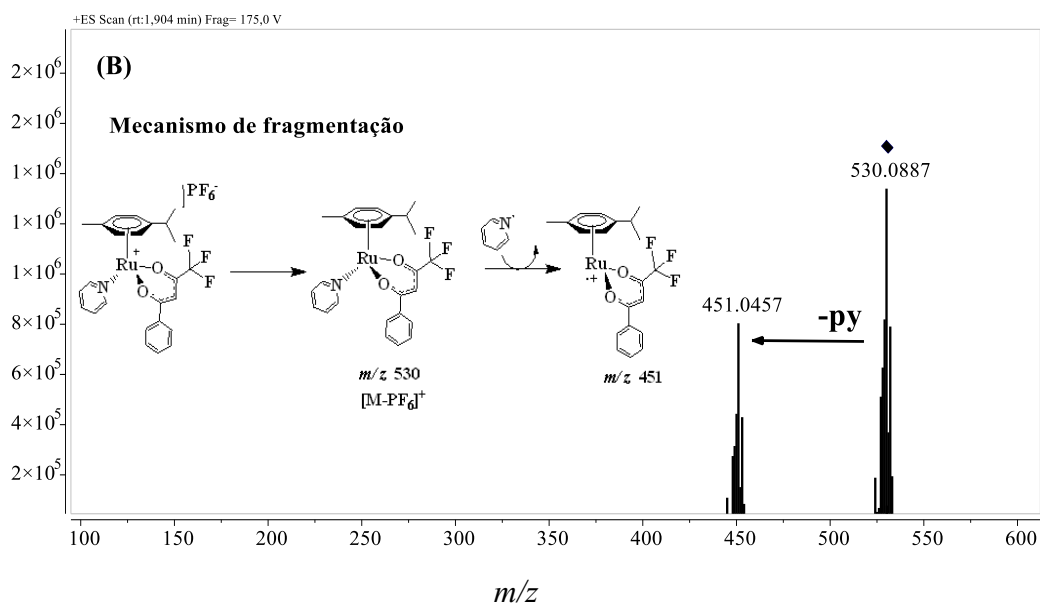
Os complexos **I-V** sintetizados foram analisados por meio da técnica de espectrometria de massas de alta resolução (HRESI-MS), com o objetivo de reforçar a proposição estequiométrica e confirmar a composição dos íons moleculares catiônicos intactos. Os espectros de massa dos novos complexos foram medidos e os dados confirmam o padrão estabelecido, tendo em vista a presença de isótopos típicos do rutênio  $^{104}\text{Ru}$  (18,6%),  $^{102}\text{Ru}$  (31,6 %),  $^{101}\text{Ru}$  (17,1%),  $^{100}\text{Ru}$  (12,6%),  $^{99}\text{Ru}$  (12,7%),  $^{98}\text{Ru}$  (1,9%) e  $^{96}\text{Ru}$  (5,5%), estando as abundâncias dos respectivos nuclídeos entre parênteses. Neste

estudo, os valores de  $m/z$  listados abaixo referem-se ao pico do elemento mais abundante, correspondente ao isótopo  $^{102}\text{Ru}$ .

Considerando a similaridade das vias de fragmentação, apenas os espectros do complexo **I** serão exibidos nessa seção. Os demais estarão no Anexo F. Nesse sentido, para o complexo catiônico  $[\text{Ru}(\text{bta})(\text{py})(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})]^+$  (**I**), o íon complexo  $[\text{M-PF}_6]^+$  foi observado a uma razão  $m/z$  de 530,0887 (Figura 31), ao qual está em concordância com o valor calculado para  $\text{C}_{25}\text{H}_{25}\text{F}_3\text{NO}_2\text{Ru}^+$ , como listado na Tabela 21 que resume os valores experimentais e teóricos de  $m/z$  para todos os complexos sintetizados. Além disso, a partir da medida de dissociação induzida por colisão (CID) no experimento realizado para os complexos **I-V**, utilizando  $\text{N}_2$  como gás ionizante, sob a razão  $m/z$  selecionada para o íon molecular, foi exibido um padrão de fragmentação. O espectro (ESI - MS/MS) do complexo **I**, exibiu uma via de fragmentação com uma perda de 79,0430 u, proposto para a eliminação do ligante neutro piridina, a uma  $m/z$  de 451,0457, a qual foi atribuída a descomplexação do mesmo ao rutênio (Figura 30(B)).

**Figura 31.** (A) Espectro de massa HRESI-MS do complexo **I** com  $m/z$  530,089  $[\text{M-PF}_6]^+$ , com ampliação dos picos isotópicos. (B) Espectro ESI-MS/MS de  $m/z$  530,089 com fragmentação em  $m/z$  451,0457.





Fonte: Dados da pesquisa.

Para o complexo **II**, o íon complexo foi observado a  $m/z$  de 536,0440  $[M-PF_6]^+$ , em concordância com o valor calculado para  $C_{23}H_{23}F_3NO_2RuS^+$ , 536,0445. Além disso, este complexo exibiu o mesmo padrão de fragmentação do complexo anterior, com uma perda inicial do ligante piridina ( $m/z = 869$ ) (Anexo F - Figura F1). Os espectros de massa dos complexos **III**, **IV** e **V** exibiram o pico do íon molecular com relação massa/carga concordante com a fórmula proposta com valores de  $m/z$  de 609,9975, 548,0786 e 564,0536, sendo os valores teóricos iguais a 609,9966, 548,0787 e 564,0492, respectivamente, os espectros obtidos para estes complexos encontram-se no Apêndice C.

**Tabela 21.** Valores teóricos e experimentais da razão  $m/z$  para os novos complexos de Ru(II).

Complexo	$m/z$ Teórico	$m/z$ Experimental	Erro (ppm)
(I)	530,0881	530,0887	1,11
(II)	536,0445	536,0440	0,89
(III)	609,9966	609,9975	1,54
(IV)	548,0787	548,0786	-1,64
(V)	564,0492	564,0536	7,80

Fonte: Dados da pesquisa.

### 4.3 Avaliação da estabilidade, ensaios biológicos *in vitro* e interação com biomoléculas dos complexos sintetizados

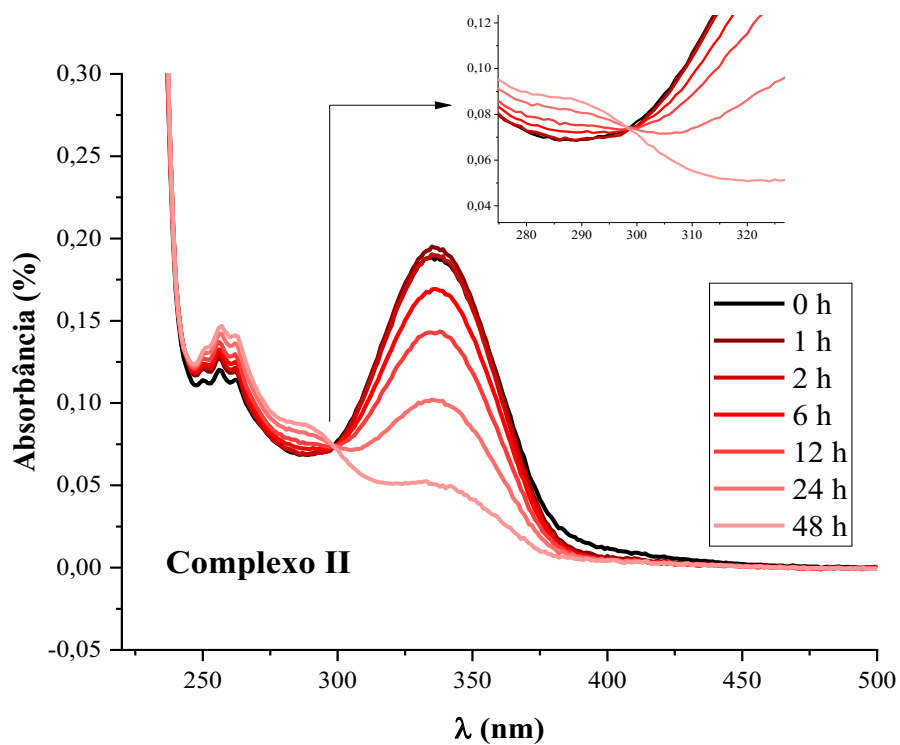
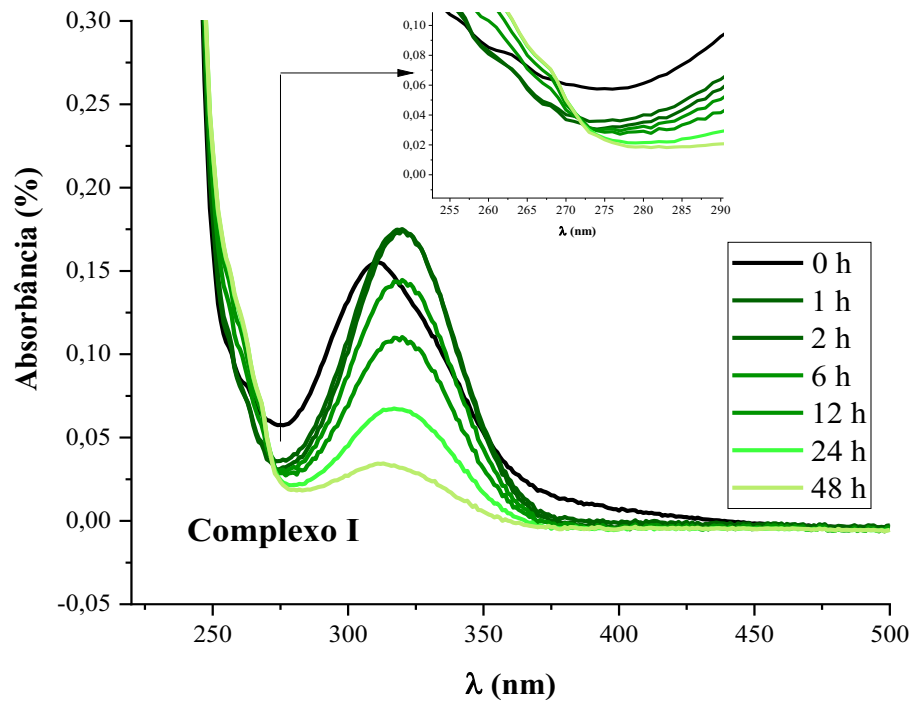
#### 4.3.1 Estudo de estabilidade dos novos complexos

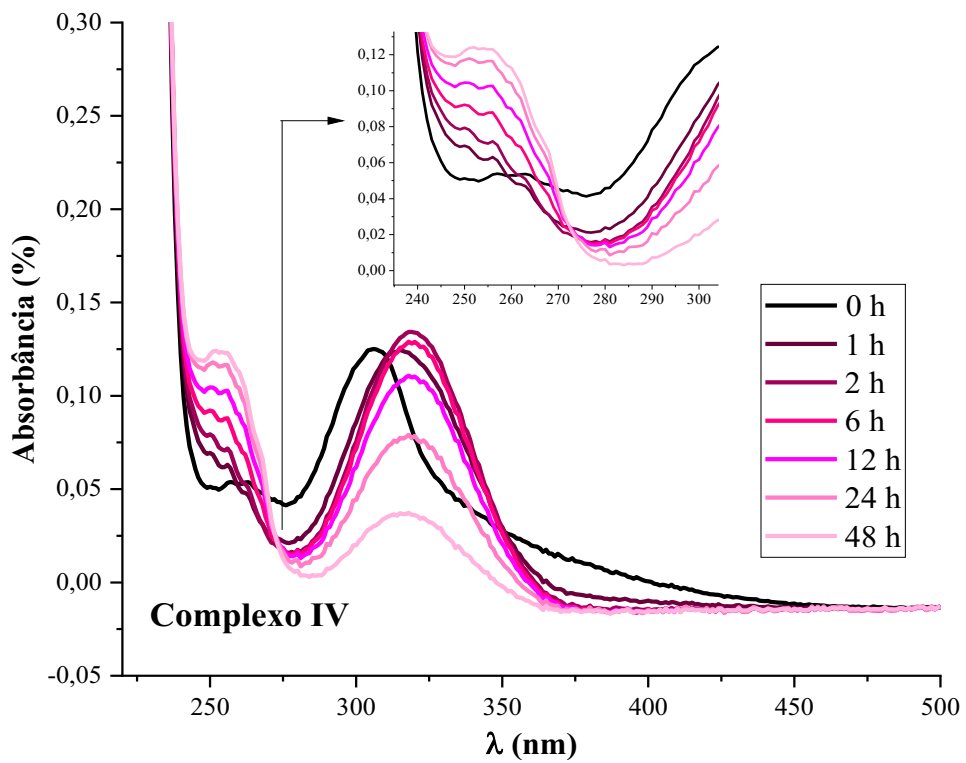
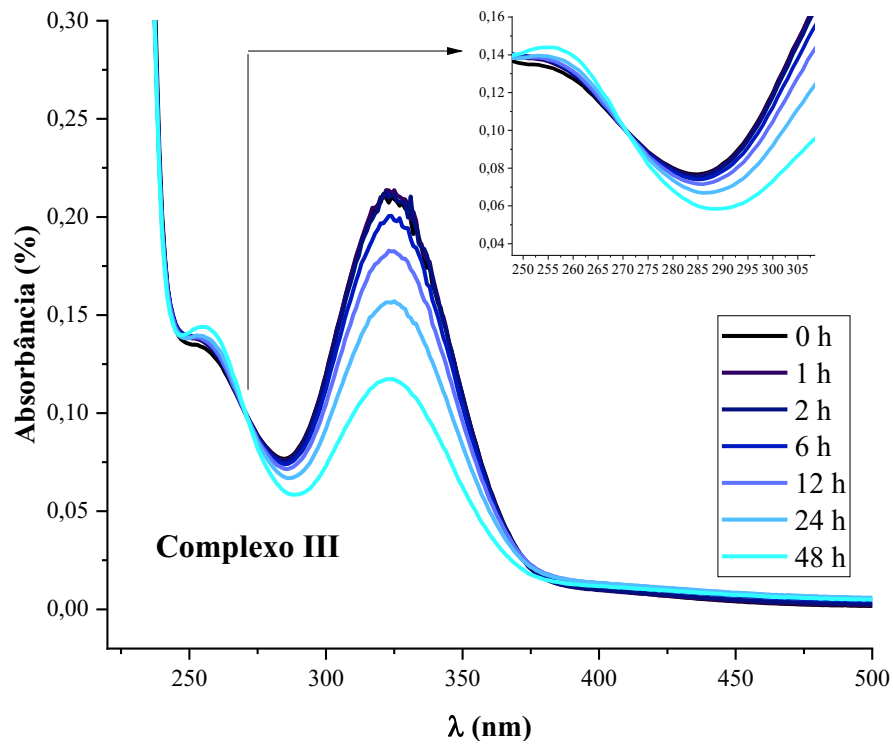
A estabilidade é uma informação importante a ser obtida, quando se trata de complexos empregados em ensaios biológicos que pode, inclusive, auxiliar na compreensão de interações com biomoléculas. A análise é feita visando verificar a possibilidade de geração de espécies em solução, sob determinadas condições. Assim, foi estudada a estabilidade dos complexos de rutênio(II) em DMSO, solvente empregado em todos testes biológicos deste trabalho, utilizando as técnicas de espectroscopia de absorção no UV-Vis e ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$ , como ferramentas para acompanhamento da estabilidade dessas espécies em intervalos entre 0h e 48h, uma vez que possíveis alterações na esfera de coordenação do centro metálico afetariam tanto o espectro quanto o deslocamento químico dos sinais, podendo, ainda promover o surgimento de novas bandas e sinais.

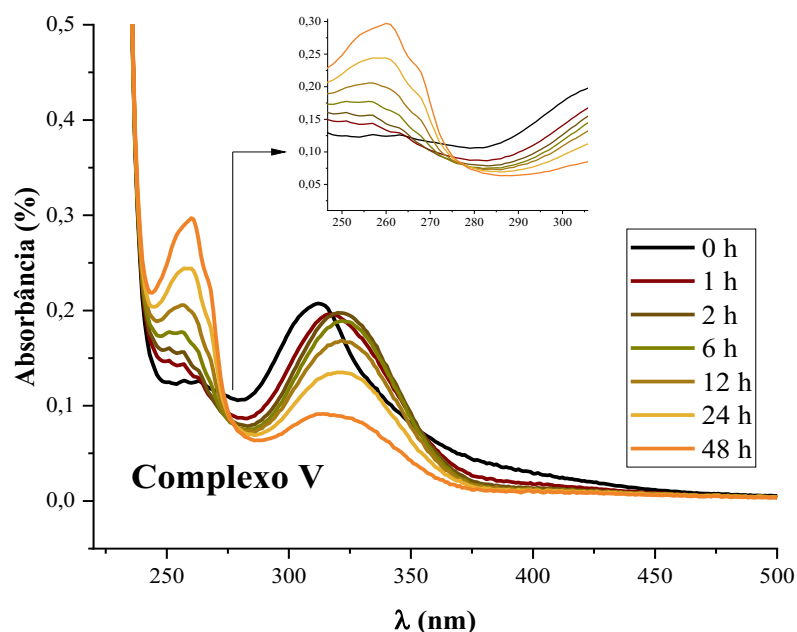
Através da análise de espectros de UV-Vis dos complexos **I-V**, exibidos na Figura 32, verificou-se a presença de um ponto isobéstico na mesma região (em 273 nm, 298 nm, 270 nm, 273 nm e 275 nm para os complexos **I**, **II**, **III**, **IV** e **V**, respectivamente), o que sugere um equilíbrio entre duas espécies, cuja absorbância é a mesma. Além disso, para os complexos **I**, **IV** e **V** verificou-se, ainda, um efeito hipsocrômico na banda atribuída à transição do tipo ILCT da piridina com variação em torno de 7 a 3 nm e, adicionalmente, um efeito batocrômico na banda atribuída à transição do tipo ILCT do ligante  $\beta$ -dicetonato, com variação entre 3 a 12 nm.

Esses deslocamentos sugerem duas hipóteses: a primeira é que os complexos não são estáveis, tendo em vista que esses efeitos são um indício de que possivelmente houve a formação de novas espécies a partir da labilização de ligantes e/ou coordenação do DMSO; a segunda hipótese é que essas pequenas alterações observadas, principalmente nas regiões de maiores energias, podem estar relacionadas a interações entre solvente e soluto, uma vez que há a possibilidade de se estabelecer ligações de hidrogênio, como já verificado em trabalhos anteriores (ROCHA, 2020; ARAUJO NETO, 2020) . Nos complexos **II** e **III**, os efeitos supracitados não foram observados, sugerindo, nesse sentido, que ambos exibem melhor perfil de estabilidade nas condições e tempos avaliados.

**Figura 32.** Espectros de absorção UV-Vis em função do tempo para os complexos I-V em solução de tampão PBS diluído 10 vezes (pH= 7,6) e 1% de complexo/DMSO ( $1 \times 10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>) e temperatura ambiente.







**Fonte:** Dados da pesquisa.

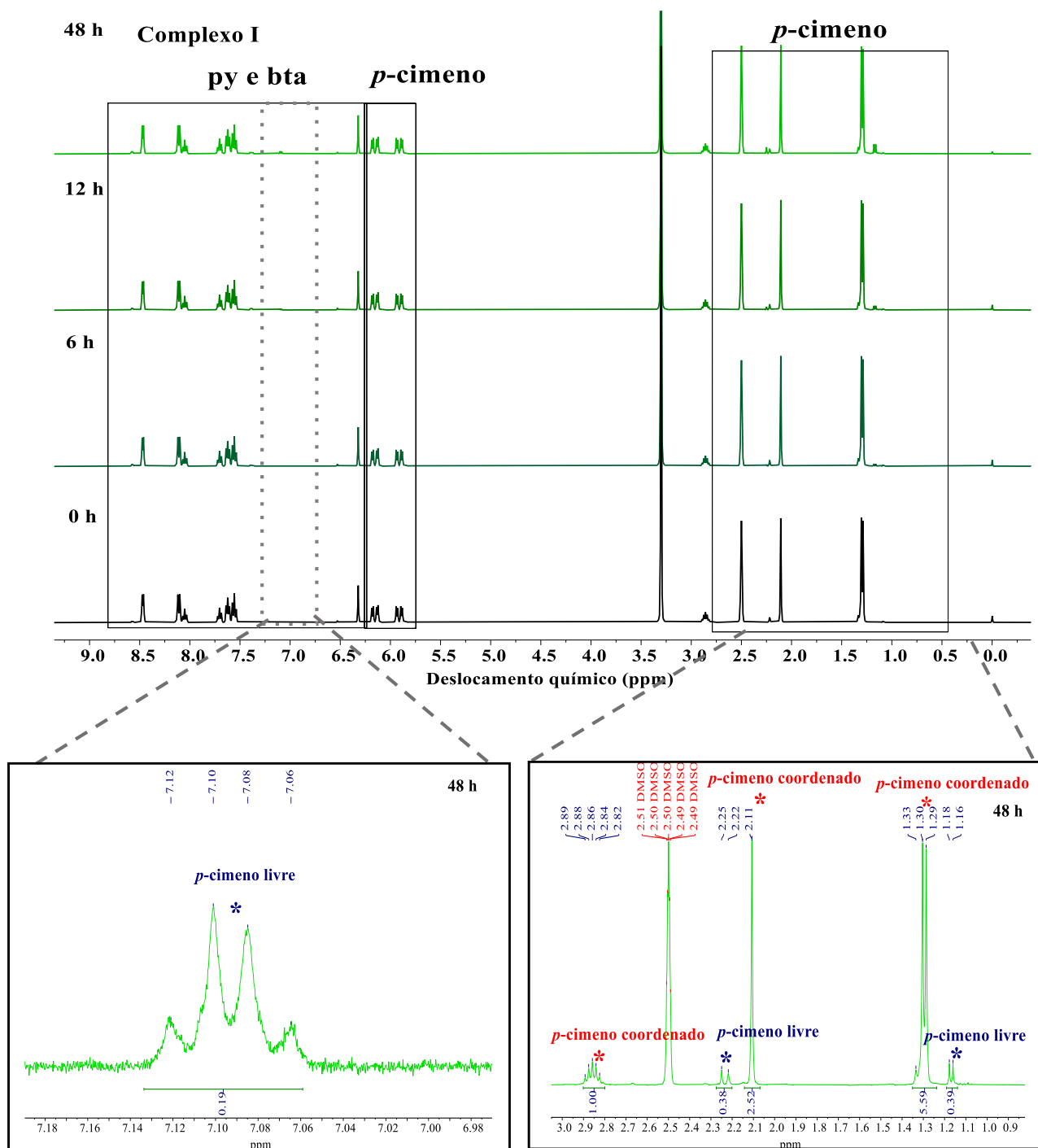
Para averiguar a mudança no ambiente químico dos hidrogênios e, conseqüente modificação estrutural, como os espectros de UV-Vis indicam, todos os complexos foram analisados através de RMN de próton, utilizando como solvente o DMSO deuterado nos mesmos períodos. Através dos espectros obtidos, segundo as Figura 33-37, no intervalo de tempo estudado para os complexos **I**, **IV** e **V** foram observadas mudanças substanciais nos hidrogênios da molécula, principalmente em regiões de alto campo em que se encontram sinais característicos do grupo *p*-cimeno. Para os complexos **II** e **III**, também foi observado o surgimento de novos sinais promovidos pelas mudanças no ambiente químico, no entanto, em menor proporção.

Trabalhos anteriores relatam a labilização do grupo *p*-cimeno, ao qual no período de 6 horas, os sinais atribuídos aos hidrogênios aromáticos deste ligante coordenado desapareciam ( $\delta$  5,8-6,3 ppm), enquanto, sequencialmente surgia um multipletto em  $\delta$  7,1 ppm. Adicionalmente, os sinais referentes ao substituinte isopropil também desapareciam, dando lugar a sinais similares em outros deslocamentos (em aproximadamente 2,26 e 1,20 ppm). Para todos os complexos, foram verificadas algumas mudanças nos espectros, que sugerem a modificação estrutural (Figuras 33-37). No entanto, de acordo com as integrais obtidas, indica-se que houve labilização parcial do grupo *p*-cimeno, além de não ter sido observado o desaparecimento de sinais atribuídos aos hidrogênios aromáticos e alifáticos (grupo isopropil). Sendo assim, para esses compostos há o surgimento de pequenos picos em  $\delta$  2,24 ppm e  $\delta$  1,17 ppm a partir de 6



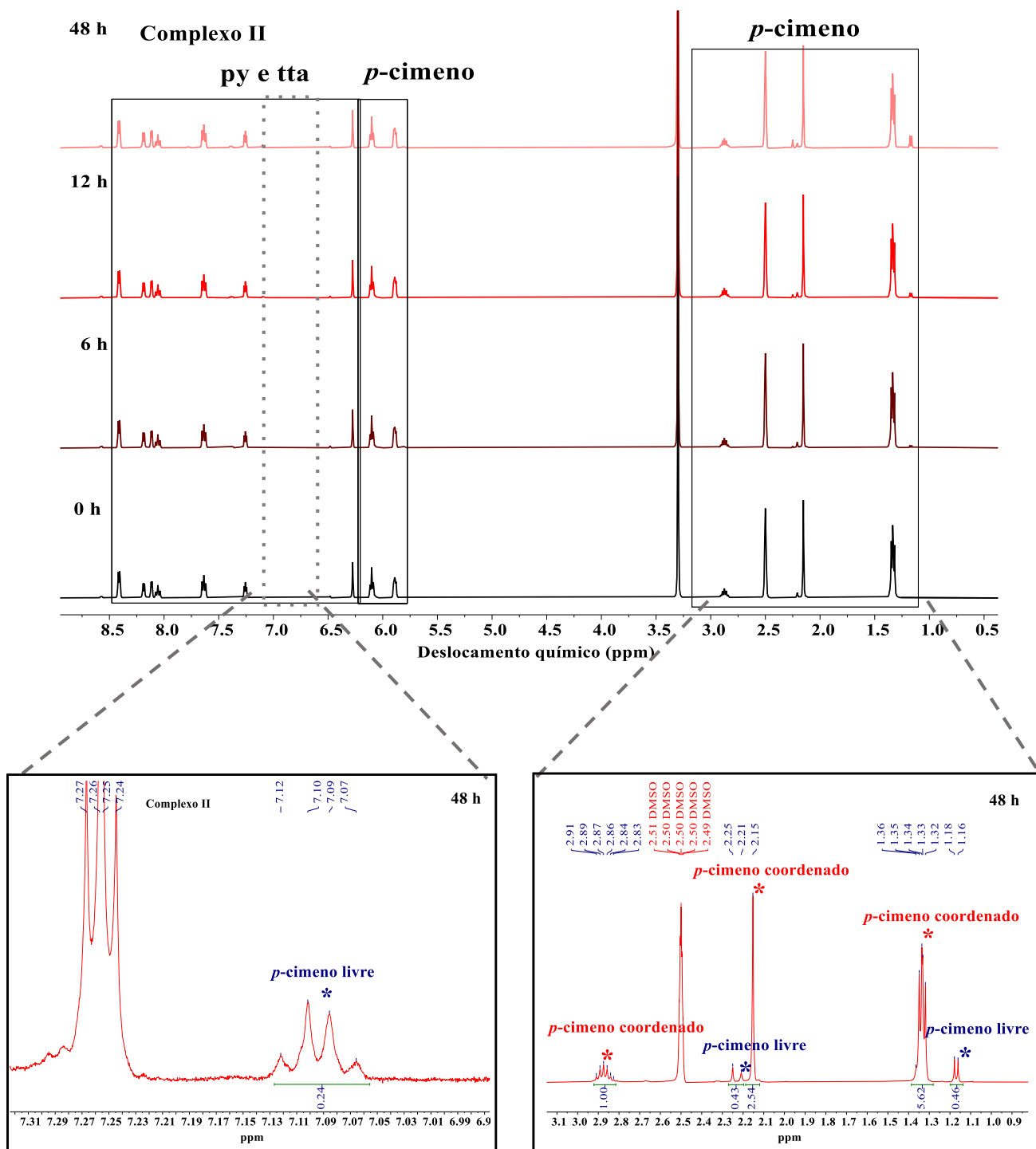
horas. Especificamente, para o complexo **IV**, foi observada a intensificação do sinal em torno de  $\delta$  2,08 ppm, com 6 hidrogênios, segundo a integral, o que também sugere a existência do *p*-cimeno na forma não coordenada, como exibido na Figura 36.

**Figura 33.** RMN de  $^1\text{H}$  do complexo **I**: tempo: 0 min, 6 h, 12 h e 48 h, em  $\text{DMSO-}d^6$ , com expansão nas regiões de aparecimento de novos sinais.



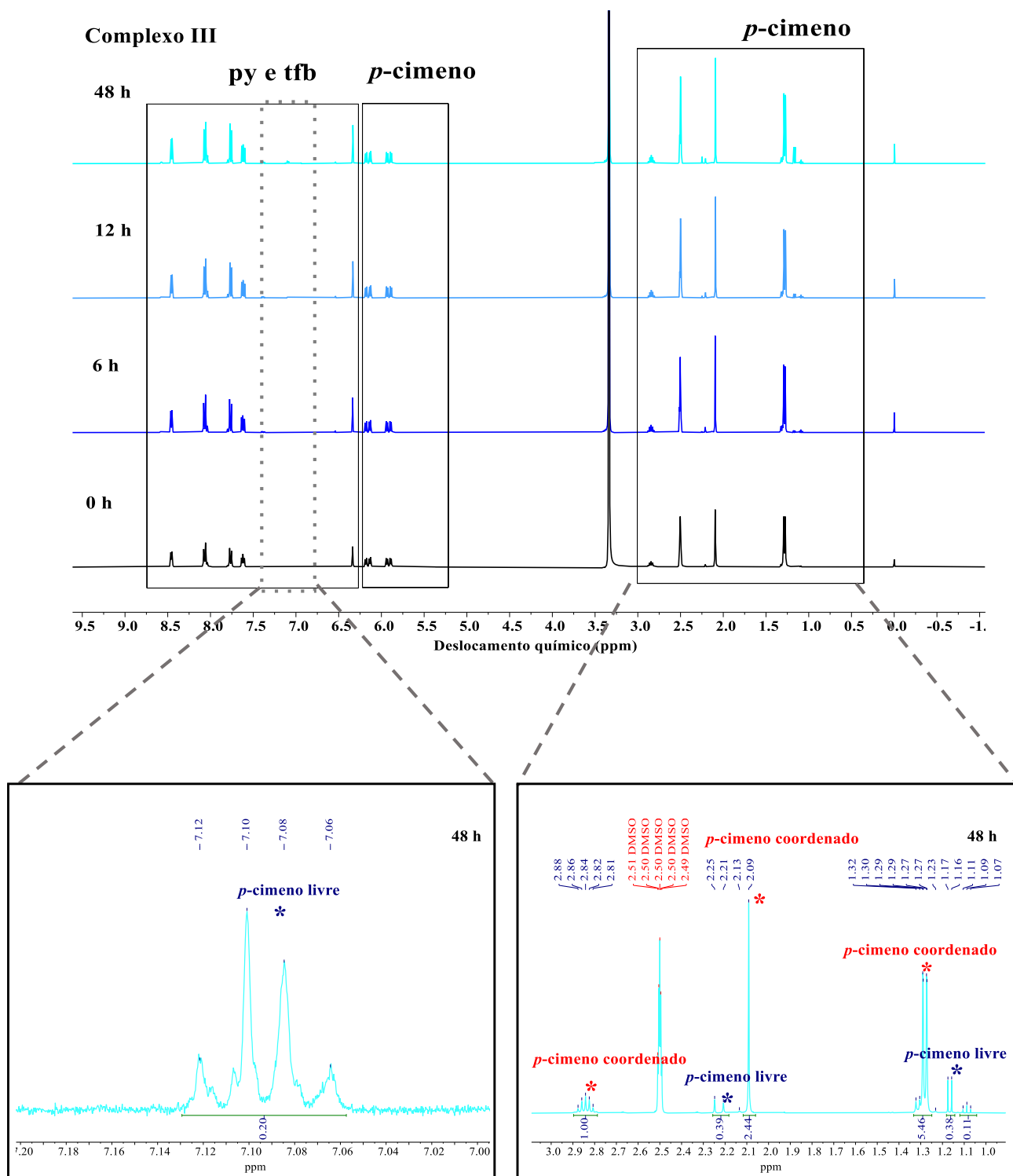
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 34.** RMN de  $^1\text{H}$  do complexo II: tempo: 0 min, 6 h, 12 h e 48 h, em  $\text{DMSO-}d^6$ , com expansão nas regiões de aparecimento de novos sinais.



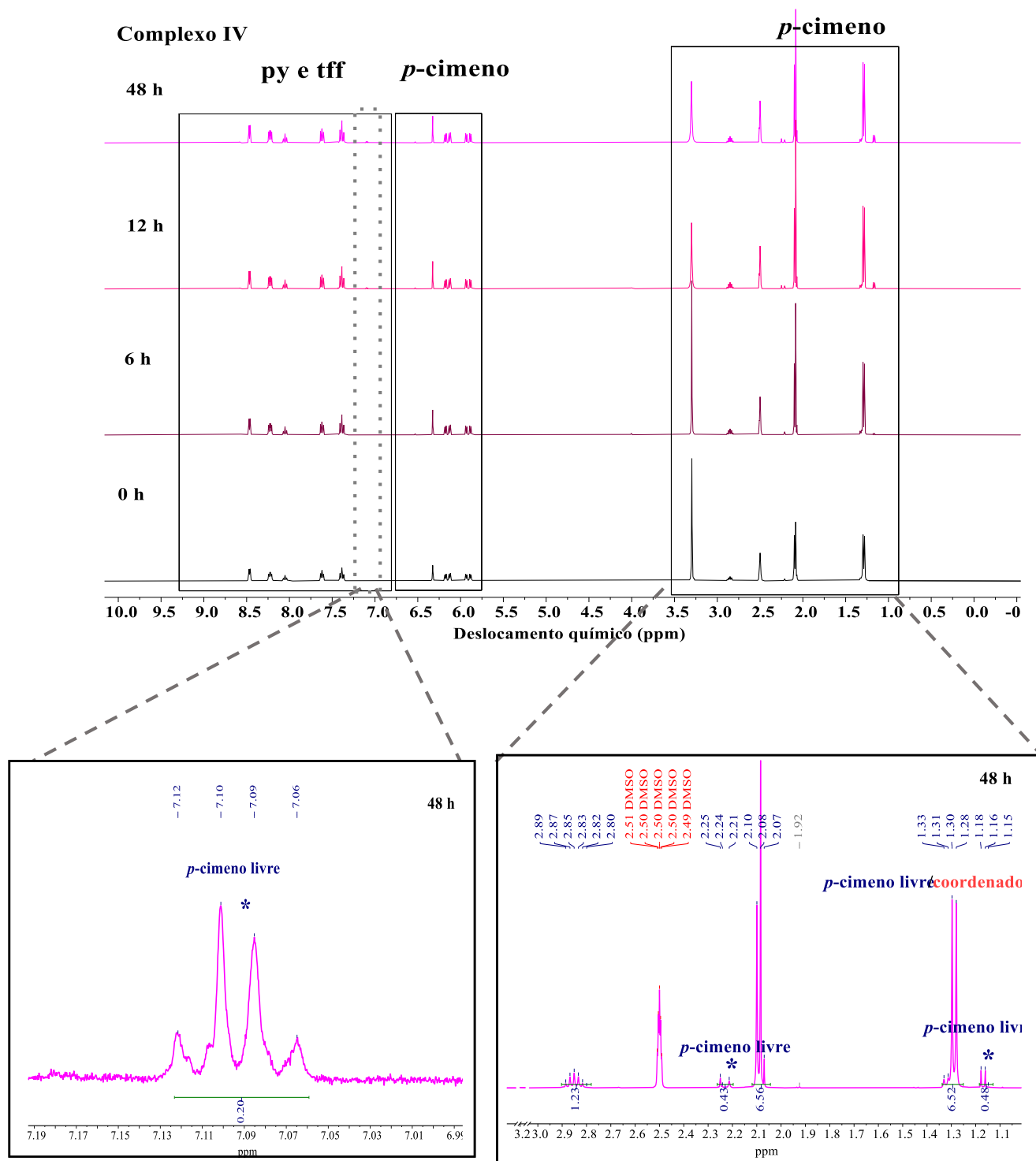
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 35.** RMN de  $^1\text{H}$  do complexo **III**: tempo: 0 min, 6 h, 12 h e 48 h, em  $\text{DMSO-}d^6$ , com expansão nas regiões de aparecimento de novos sinais.



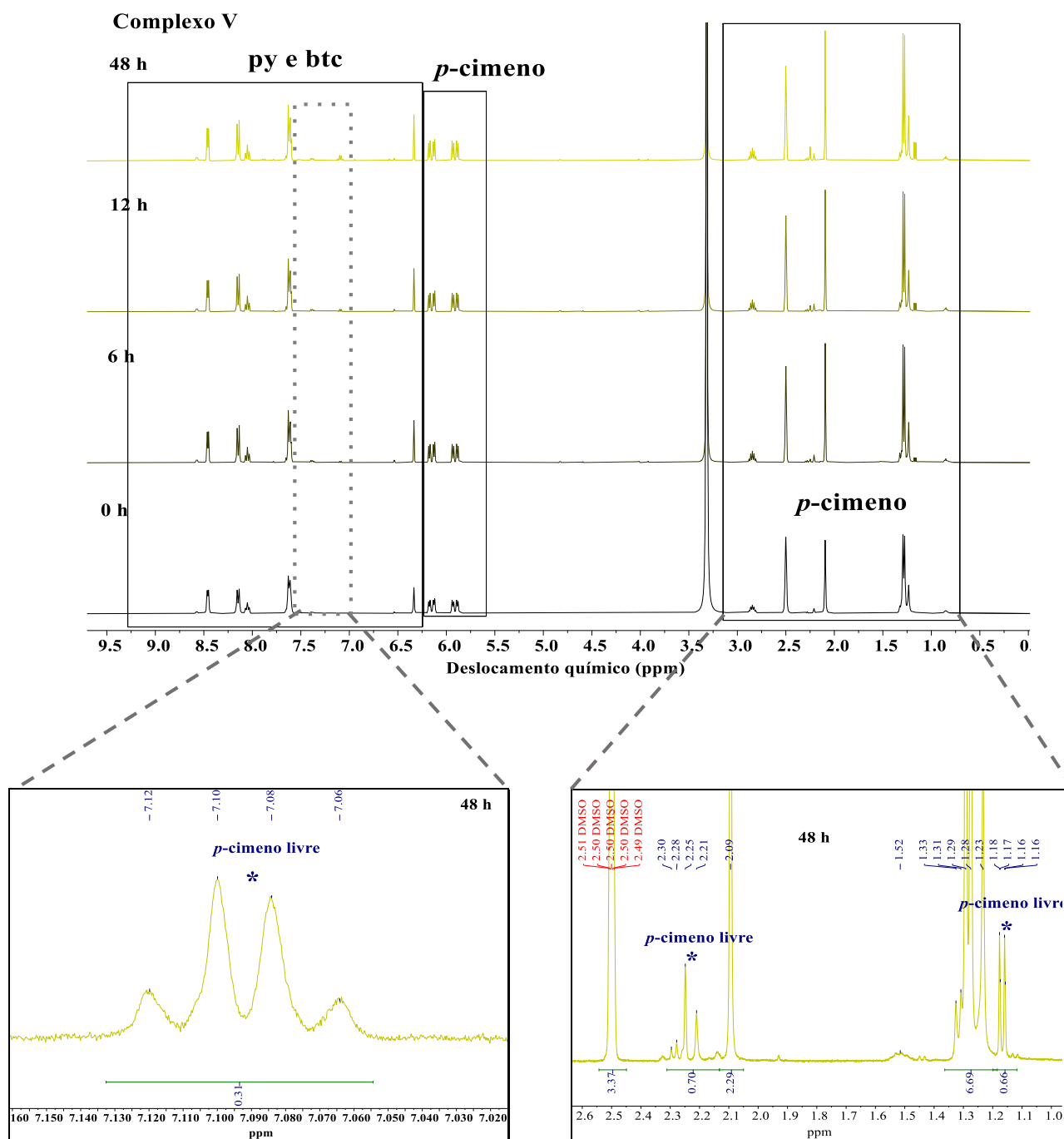
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 36.** RMN de  $^1\text{H}$  do complexo IV: tempo: 0 min, 6 h, 12 h e 48 h, em  $\text{DMSO}-d^6$ , com expansão nas regiões de aparecimento de novos sinais.



Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 37.** RMN de  $^1\text{H}$  do complexo V: tempo: 0 min, 6 h, 12 h e 48 h, em  $\text{DMSO-}d^6$ , com expansão nas regiões de aparecimento de novos sinais.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

Uma das justificativas para tal fato é que, apesar deste complexo ser monocatiônico, como os demais desta série (o que torna a labilidade do grupo *p*-cimeno menos susceptível de ocorrer, desfavorecendo, nesse sentido o ataque nucleofílico de

espécies com caráter polar tal qual o solvente coordenante DMSO), a competição por elétrons dos orbitais  $d\pi$  do metal com ligantes de caráter aceptor  $\pi$ , como é o caso da piridina, pode aumentar consideravelmente a carga positiva do rutênio(II) e conseqüentemente, promover a labilização (ARAUJO NETO, 2020; BETANZOS-LARA *et al.*, 2012; KÜNDIG, 2004; WALTON, WILKINSON, 2018; SHVYDKIY, PEREKALIN, 2020). Neste caso, considerando os ligantes  $\beta$ -dicetonas, para os complexos **I**, **III**, **IV** e **V**, em que há a mudança do caráter doador de acordo com o substituinte no anel, essa competição pode ser favorecida ou não. Sendo assim, a espécie doadora sigma mais forte é o bromo, em contrapartida, a espécie de caráter doador mais fraco é o flúor.

Nesse sentido, o ligante tfb no complexo **III** minimizará o efeito de competição por elétrons e, conseqüentemente, desfavorecerá a labilização do grupo *p*-cimeno, ao contrário do flúor. Isso é comprovado pelos espectros do UV, já que o único complexo que não exibiu alterações significativas foi o **III**. Além disso, para este complexo, as mudanças nos espectros de RMN só foram observadas com sinais mais expressivos entre 12 e 48 horas, diferentemente dos demais cuja mudança é observada em torno de 6 horas. O ligante tta do complexo **II**, que exibe o grupo tiofeno como substituinte, também promoverá o mesmo efeito de minimização da competição eletrônica entre os ligantes da esfera de coordenação. Considerando todas as análises realizadas, observou-se que os complexos propostos são espécies majoritárias em solução de DMSO, já que as integrais calculadas para os novos sinais nos espectros deram menores que 5% quando comparados com sinais provenientes dos complexos originais, conferindo, assim, a estabilidade necessária para os ensaios biológicos.

#### **4.3.2 Avaliação de atividade antitumoral frente às linhagens de células**

Para a obtenção dos valores de  $IC_{50}$  (concentração mínima necessária para inibição de 50% da viabilidade celular), foi utilizado o ensaio colorimétrico MTT, experimento amplamente empregado na literatura, cujo reagente é o brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MOSMANN, 1983). A redução dessa espécie, quando em contato com células viáveis, forma cristais de formazan, sendo que há uma proporção direta entre a quantidade de formazan gerada e o número de células viáveis. Vale ressaltar que, apesar do mecanismo de redução do MTT à formazan não ser totalmente elucidado, há hipóteses que esse reagente seja um medidor de atividade

mitocondrial, através do envolvimento direto ou indireto com NADH (reação de fosforilação oxidativa), desidrogenases mitocondriais ou outras espécies redutoras que podem ser capazes de transferir elétrons para o MTT, promovendo sua redução (RAI *et al.*, 2018; RISS *et al.*, 2004; SUMANTRAN, 2011).

Dessa forma, a ação citotóxica dos complexos I-V foi avaliada em distintas linhagens celulares (tumorais e não tumorais) conforme descrito na seção 3.4.2, em que são detalhadas as condições experimentais. Adicionalmente, ensaios com o precursor e respectivos ligantes também foram feitos nas mesmas condições, para posterior comparação. Os valores de IC<sub>50</sub> obtidos estão exibidos na Tabela 22.

**Tabela 22.** Valores de IC<sub>50</sub> do precursor, ligantes, complexos I-V e da cisplatina, com 48h de incubação.

Compostos	Citotoxicidade, IC <sub>50</sub> (μmol L <sup>-1</sup> )					
	A2780- <i>cis</i>	A549	MDA-MB-231	MCF-7	MCF-10A	MRC-5
precursor	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
Hbta	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	13,32 ± 2,88
I	5,74 ± 0,60	65,25 ± 3,70	18,47 ± 2,15	16,54 ± 2,68	55,30 ± 1,73	11,46 ± 1,84
Htta	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100	> 100
II	8,88 ± 0,74	> 100	29,23 ± 2,74	34,78 ± 1,94	53,70 ± 1,68	15,70 ± 2,12
Htfb	> 100	> 100	> 100	15,32 ± 0,84	> 100	> 100
III	5,06 ± 0,91	42,47 ± 2,01	8,25 ± 0,67	10,17 ± 1,98	21,10 ± 1,55	13,38 ± 2,02
Htff	> 100	> 100	> 100	64,40 ± 1,79	> 100	47,77 ± 10,10
IV	10,83 ± 1,06	57,24 ± 2,21	46,14 ± 2,80	26,05 ± 3,21	59,31 ± 1,69	14,92 ± 2,22
Hbtc	> 100	> 100	> 100	27,62 ± 4,43	> 100	> 100
V	9,45 ± 0,41	50,04 ± 2,15	40,28 ± 3,50	17,42 ± 0,57	> 100	30,88 ± 2,71
Cisplatina	37,02 ± 5,10	14,40 ± 1,40	2,44 ± 0,20	8,91 ± 2,60	23,90 ± 0,70	29,09 ± 0,78

MDA-MB-231 (Adenocarcinoma mamário triplo negativo), MCF-7 (Adenocarcinoma mamário hormônio dependente), A549 (Câncer de pulmão), MCF-10A (Adenocarcinoma mamário não tumoral) e MRC-5 (fibroblasto pulmonar humano não tumoral)

**Fonte:** Dados da pesquisa.

A análise dos dados obtidos permitiu verificar, a princípio, que o precursor de rutênio(II) não exibiu citotoxicidade frente a nenhuma linhagem nas concentrações testadas e dentre os ligantes empregados neste trabalho, o tta também não foi ativo para nenhuma das linhagens em concentrações acima de 100 μmol L<sup>-1</sup>. Já os ligantes Htfb,

Htff e Hbtc foram ativos para a linhagem tumoral MCF-7, com valores de  $IC_{50}$  de  $64,40 \pm 1,79 \mu\text{mol L}^{-1}$ ,  $15,32 \pm 0,84 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $27,62 \pm 4,43 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. Em contrapartida, apenas os ligantes Hbta e Htff foram tóxicos para a linhagem não tumoral MCR-5 ( $IC_{50} = 13,32 \pm 2,88 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $IC_{50} = 47,77 \pm 10,10 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente).

Diante da comparação de citotoxicidade entre os ligantes ativos e seus respectivos complexos para a linhagem tumoral MCF-7, verificou-se que os valores de  $IC_{50}$  dos complexos **III**, **IV** e **V** foram menores que as respectivas espécies livres, sendo a maior discrepância entre os valores observada para o ligante Htff ( $64,40 \pm 1,79 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e o complexo **IV** ( $26,05 \pm 3,21 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Considerando os ligantes que foram inativos para a mesma linhagem, também foi observado aumento da atividade, tendo em vista que os complexos **I** e **II** exibiram  $IC_{50}$  de  $16,54 \pm 2,68 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $34,78 \pm 1,94 \mu\text{mol L}^{-1}$ , como listados na Tabela 22.

Ao comparar a atividade citotóxica dos compostos desta série entre si, se observa que o complexo **III** apresentou melhor resposta biológica frente às linhagens tumorais empregadas neste trabalho. Além disso, todos os complexos exibiram bons resultados citotóxicos na linhagem tumoral de ovário resistente a cisplatina (A2780-*cis*), com valores de  $IC_{50}$  compreendidos entre  $10,8$  e  $5,0 \mu\text{mol L}^{-1}$  e, notoriamente, mais ativos que o composto utilizado como padrão, a cisplatina. Nas linhagens tumorais de mama, MDA-MB-231 e MCF-7, todos os complexos também exibiram citotoxicidade, com destaque para os compostos **I** e **III**.

Segundo os dados dispostos, o complexo **III** estatisticamente não exibe diferença de citotoxicidade com a cisplatina na linhagem MCF-7. Os complexos **I** e **V**, com valores de  $IC_{50}$  bem próximos, foram menos ativos que a cisplatina em uma ordem de aproximadamente 1,8 vezes. Os complexos **II** e **IV** foram 3,9 e 2,9 vezes menos ativos que a cisplatina. Já na linhagem pulmonar A549, todos os complexos apresentaram baixa citotoxicidade (5 a 3 vezes menos ativos que a cisplatina), excetuando-se o complexo **II** que foi inativo nas concentrações testadas. Através da avaliação da atividade dos complexos de forma pontual, foi possível verificar que todos exibiram melhor resposta biológica frente à A2780-*cis*, os complexos **I** e **III** foram mais expressivos com relação às linhagens MCF-7 e MDA-MB-231 e os complexos **III**, **IV** e **V** com a A549.

Através da comparação de valores de  $IC_{50}$  dos complexos **I** e **V** com os valores de complexos à base de níquel(II) relatados na literatura empregando os mesmos ligantes  $\beta$ -dicetonato (bta e btc), cujas estruturas estão exibidas na Tabela 3, verificou-se que, para



a linhagem MCF-7, os complexos deste trabalho exibiram melhor resposta citotóxica. Os valores de  $IC_{50}$  obtidos para os compostos de níquel(II) foram entre  $29,94 \pm 1,97 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $22,33 \pm 3,25 \mu\text{mol L}^{-1}$ , o que sugere a importância do rutênio(II) para a atividade biológica em questão. Além de ser observada a mesma tendência inibitória para a linhagem MDA-MB-231, a qual pode estar relacionada não necessariamente ao metal, mas aos ligantes  $\beta$ -dicetonato (SOUSA *et al.*, 2020).

Complexos de rutênio(II) da classe dos arenos constituídos em sua cerne estrutural com outros ligantes, como o trabalho de Pragti e colaboradores (2021), descreveram espécies ativas para a linhagem MCF-7, com resultados similares aos descritos neste trabalho, a exemplo, o complexo  $[\text{Ru}(p\text{-cym})(2\text{-ampy})\text{Cl}]\text{PF}_6$ , sendo ampy = 2-amino-metilpiridina, cujo valor de  $IC_{50} = 21,30 \pm 2,23 \mu\text{mol L}^{-1}$  (PRAGTI *et al.*, 2021). Outros arenos contendo análogos da purina descritos por Fandzloch e colaboradores (2021) exibiram na mesma linhagem valores de  $IC_{50}$  inferiores ( $716 \pm 50 \mu\text{mol L}^{-1}$  a  $153 \pm 19 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) quando comparados aos complexos menos ativos da série (FANDZLOCH *et al.*, 2021).

Em se tratando das células de linhagens não tumorais, para a MCF-10A, o complexo **V** não exibiu toxicidade, o **III** estatisticamente exibiu toxicidade similar à cisplatina, os demais exibiram menor toxicidade numa ordem entre 2,3 a 2,5 vezes. Para a MCR-5, os compostos foram até duas vezes mais tóxicos que o fármaco de referência, sendo **I** o mais tóxico da série e o **V** com toxicidade similar ao fármaco de referência. De forma geral, os resultados demonstraram que os complexos sintetizados apresentaram efeitos citotóxicos significativos para as linhagens tumorais, principalmente na linhagem de ovário resistente para cisplatina, além de baixa toxicidade frente à linhagem não tumoral MCF-10A, o que já era esperado, tendo em vista que compostos de rutênio da mesma classe dos arenos relatados na literatura exibiram concordância com os dados obtidos (MA *et al.*, 2019; NDAGI *et al.*, 2017).

Considerando a possibilidade de que os arenos de rutênio(II) pudessem seguir uma tendência em exibir altos valores de  $IC_{50}$  frente à linhagem tumoral A549, verificou-se a partir de relatos na literatura que isso não ocorre. Os trabalhos de Ude e colaboradores (2016), por exemplo, descreveram o complexo de estrutura química  $[\text{RuCl}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{CipA-H})]$ , sendo CipA=7-(4-(decanoil)piperazin-1-il)-ciprofloxacina, com  $IC_{50} = 0,25 \pm 0,04 \mu\text{mol L}^{-1}$  frente à linhagem A549. Do mesmo modo, o trabalho de Ismail e colaboradores (2021) descreveu arenos contendo ligantes híbridos

tiofeno-benzazóis com valores de citotoxicidade compreendidos entre 5,72 e 12,25  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . No entanto, resultados similares aos obtidos neste trabalho foram publicados por Sonkar (2021) e Kladnik (2021), já que os complexos descritos exibiram valores de  $\text{IC}_{50}$  entre  $21,62 \pm 1,2$  e  $42,65 \pm 0,23 \mu\text{mol L}^{-1}$  (UDE *et al.*, 2016; SONKAR *et al.*, 2021; ISMAIL *et al.*, 2021; KLADNIK *et al.*, 2021)

Ao analisar os dados, é possível sugerir que a coordenação dos ligantes ao precursor de rutênio(II) contribuiu para o aumento da capacidade de inibição da viabilidade celular dos compostos, principalmente frente a linhagem tumoral de ovário resistente à cisplatina (A2780-*cis*), o que pode ter sido promovido pelo efeito sinérgico entre as espécies do cerne estrutural. Além disso, é possível sugerir também que a distinção entre os valores de citotoxicidade é devido aos diferentes substituintes nos anéis dos ligantes, principalmente os ligantes contendo halogênios, que influencia consideravelmente na lipofilicidade e que pode facilitar o transporte dos mesmos por difusão através da membrana das células. Outra característica marcante destes complexos foram os valores de citotoxicidade consideravelmente similares ou menores do que a grande maioria dos dados obtidos para outros complexos da classe rutênio/areno reportados na literatura (UDE *et al.*, 2016; SONKAR *et al.*, 2021; ISMAIL *et al.*, 2021; KLADNIK *et al.*, 2021; FANDZLOCH *et al.*, 2021).

Além da viabilidade celular, outro fator deve ser considerado para avaliação do potencial desses complexos. O índice de seletividade (IS) é um parâmetro no qual relaciona-se a citotoxicidade dos compostos em células tumorais e células normais, sendo um parâmetro importante para que estudos com compostos ativos sejam continuados. Considerando esse aspecto, a seletividade foi calculada a partir da relação de valores de  $\text{IC}_{50}$  da linhagem não tumoral mamária padrão MCF-10A e os valores de  $\text{IC}_{50}$  das linhagens tumorais MCF-7 e MDA-MB-23, bem como os valores de  $\text{IC}_{50}$  da linhagem não tumoral MCR-5 e os valores de  $\text{IC}_{50}$  das linhagens A549 e A2780-*cis*. Os dados estão exibidos na Tabela 23.

Os complexos foram comparados entre si e os resultados obtidos para o complexo **I** foram 3,34, 2,99, 0,17 e 2,01 correspondendo às linhagens MCF-7, MDA-MB-231, A549 e A2780-*cis*, respectivamente, indicando maior seletividade para as linhagens tumorais de mama e ovário. O complexo **II** exibiu bom perfil de seletividade para a linhagem de ovário e de mama MDA-MB-23. Já o complexo **III** é o terceiro mais seletivo para MCF-7 e o segundo mais seletivo para MDA-MB-231 e A2780-*cis*, embora para a linhagem A549 tenha sido o segundo menos seletivo. O complexo **IV** é o segundo mais

seletivo para a linhagem MCF-7 e o mais seletivo para a A549, ao contrário da seletividade observada para MDA-MB-231 e A2780-*cis*. O complexo **V** é o mais seletivo para as linhagens de ovário e de mama MDA-MB-231 e o segundo mais seletivo para a linhagem MDA-MB-231.

**Tabela 23.** Índice de seletividade dos complexos de rutênio(II) frente às linhagens de células MCF-7, MDA-MB-231, A549 e A2780-*cis*.

Índice de seletividade				
Compostos	(MCF-10A/MCF-7)	(MCF-10A/MDA-MB-231)	(MRC-5/ A549)*	(MRC-5/ A2780- <i>cis</i> )
<b>I</b>	3,34	2,99	0,17	2,01
<b>II</b>	1,54	1,83	0,16	1,78
<b>III</b>	2,07	2,55	0,23	2,68
<b>IV</b>	2,27	1,28	2,02	1,38
<b>V</b>	> 6,00	2,48	0,61	3,26
<b>cisplatina</b>	2,68	9,79	2.52*	0,78

\* (OLIVEIRA *et al.*, 2020)

**Fonte:** Dados da pesquisa.

Comparando a seletividade dos complexos com o fármaco de referência, foi possível verificar que para a linhagem MCF-7, tanto o complexo **V** quanto o complexo **I** exibiram melhor perfil de seletividade quando comparados à cisplatina (IS = 2,68), dando destaque ao **V**, cujo índice foi maior que 6. Para os demais compostos, os valores de seletividade ficaram próximos ao da cisplatina, sendo o **II** o menos seletivo para esta linhagem (IS = 1,54). Em se tratando da linhagem MDA-MB-231 todos os complexos apresentaram um índice muito abaixo do que foi observado na cisplatina e, neste caso, apenas o **I**, **III** e **V** exibiram índices mais próximos deste fármaco. Para a linhagem A549, apenas o complexo **IV** exibiu seletividade similar à cisplatina. Para a linhagem A2780-*cis*, todos complexos da série exibiram melhor seletividade que a cisplatina, o que já se esperava diante dos testes de viabilidade celular.

Nesse sentido, os complexos mais promissores são **I**, **III** e **V**, considerando também que outros compostos possuem índice de seletividade significativos, tendo todos boa seletividade com relação ao composto padrão na linhagem A2780-*cis*, e o contrário se aplica à linhagem A549, avaliada nesse sentido. Além disso, vale ressaltar que o

complexo **I** é um composto elegível para as linhagens de mama MCF-7 e MDA-MB-23 e o complexo **V** para as linhagens MCF-7 e A2780-*cis*.

Diante dos resultados de citotoxicidade e seletividade apresentados, o complexo **I** exibiu bom perfil de seletividade e boa atividade frente a linhagens mamárias e de ovário. O complexo **IV** exibiu atividade citotóxica moderada em todas as linhagens além de bom perfil de seletividade para MCF-7 e A549. Em contrapartida, o complexo mais ativo para a maioria das linhagens tumorais estudadas, com destaque para a A2780-*cis*, foi o **III**, uma vez que foi o segundo mais seletivo para essa linhagem (sendo inferior nesse quesito apenas para o complexo **V**), tendo também IS similar à cisplatina para MCF-7. O complexo **V** exibiu boa atividade frente à A2780-*cis* e MCF-7, além de não ser tóxico para esta linhagem e seletivo para ambas.

Nessa perspectiva, considerando que a unidade Ru-*p*-cim é comum aos complexos deste trabalho e aos da literatura, nota-se que a natureza química dos co-ligantes modula a ação citotóxica. Adicionalmente, a preferência e desempenho biológico frente às linhagens tumorais mamárias, especificamente a MCF-7, e de ovário (A2780-*cis*) tornam todos os complexos (com destaque para **I**, **III** e **V**, os quais exibiu bons resultados de citotoxicidade e seletividade) promissores para uso em testes clínicos, cujo fator de progressão e expressão celular envolva hormônios, como, por exemplo, estrógeno (ABRAMSON, 2015).

#### **4.3.3 Estudos espectroscópicos de interação com o DNA**

A maioria dos fármacos são desenvolvidos tendo como molécula alvo o DNA, uma vez que este apresenta riqueza estrutural que dispõe de vários sítios de ligação, além de influenciar na regulação de funções celulares através de expressão gênica, o que pode causar danos provenientes das alterações patológicas nos organismos vivos ou interferir direta/indiretamente nos processos de replicação, transcrição ou reparação (IHMELS, OTTO, 2005).

O DNA é composto por ácidos nucleicos, que têm como funções principais armazenar e transmitir informações genéticas nas células. Esses ácidos são nucleotídeos de estrutura polimérica e linear unida por ligações fosfodiéster e podem interagir com moléculas orgânicas e inorgânicas (MA *et al.* 2011). A cadeia açúcar/fosfato apresenta propriedade hidrofílica, interagindo com a solução aquosa do meio intracelular, ao contrário das bases nitrogenadas, que apresentam caráter hidrofóbico e, por isso,

orientam-se para o interior resultando em duas cavidades (fendas) maior e menor. Além disso, a estrutura supramolecular da dupla hélice do DNA é mantida por interações do tipo  $\pi$ - $\pi$  entre os anéis aromáticos (caracterizadas como forças não covalentes), por ligações de hidrogênio entre as bases nitrogenadas e atração eletrostática entre as cadeias açúcar/fosfato (de caráter aniônico) e os cátions em solução (HANNON, 2007).

Sendo assim, a interação do DNA com uma variedade de compostos elegíveis a fármacos ocorre por duas vias: covalente ou não covalente. A interação do tipo covalente consiste na ligação direta do DNA ao complexo pela base nitrogenada ou pelo grupo fosfato, o que pode provocar formação de adutos entre os ligantes do metalofármaco ou até alquilação das bases nitrogenadas (SILVESTRI, BRODBELT 2014). Para essa via as ligações de hidrogênio entre as bases podem ser interrompidas e/ou comprometer a estrutura regular helicoidal, promovendo um desenovelamento e interferência na ação das enzimas que se ligam ao DNA, a exemplo, as topoisomerases. Para esse tipo de interação, têm-se a cisplatina, que se tornou um dos fármacos mais empregados no tratamento de câncer (REEDIJK, 2003).

Já a interação definida como não covalente pode ocorrer por três vias distintas: intercalação, interação pelos sulcos ou forças eletrostáticas; o que promove mudanças conformacionais no DNA, clivagem estrutural ou até mesmo inibição da interação proteína-DNA (SLANOGLU, 2006; MÔNICA *et al.*, 2017). Ao passo que a interação eletrostática ocorre na parte externa do DNA, a intercalação e ou interação pelos sulcos podem ocorrer simultaneamente e de diversas formas próxima ou dentro da dupla hélice (EBRAHIMPOUR *et al.*, 2017; HUSAIN *et al.*, 2017; SILVESTRI, BRODBELT 2014).

Em se tratando da interação intercalativa, as espécies bioativas são inseridas dentro da hélice, como já mencionado, e entre os pares das bases, promovendo a alteração da replicação do DNA (AURAS *et al.*, 2018; LAFAYETTE *et al.*, 2017). As ligações ao sulco maior ou menor são estabilizadas predominantemente por ligações de hidrogênio entre as biomoléculas e as bases nitrogenadas ou por interação de van der Waals, o que resulta numa distorção estrutural. Da mesma forma, as ligações eletrostáticas ocorrem a partir da atração entre as cargas positivas de uma determinada molécula e as cargas negativas do grupo fosfato que compõe a dupla hélice na parte externa (MIRZAEI-KALAR, 2018; QAIS, AHMAD, 2017). Ainda nessa perspectiva, considerando as forças intermoleculares existentes, a afinidade de ligação [complexo]/DNA geralmente segue a seguinte ordem: interação eletrostática < interação pelos sulcos < intercalação (ERKKILA, 1999).

Portanto, quando se trata de *design* de fármacos, é de fundamental importância o estudo investigativo das propriedades físicas das interações dessas espécies com o DNA, principalmente para o desenvolvimento biotecnológico e compreensão dos processos intracelulares. Essas investigações geralmente são realizadas através de técnicas espectroscópicas de dicroísmo circular, emissão, UV-vis, bem como técnicas hidrodinâmicas, a exemplo, a viscosidade e eletroforese em gel (ALIZADEH *et al.*, 2018; TIAN *et al.*, 2017). Neste trabalho, foram investigados os modos de interação dos complexos sintetizados utilizando as técnicas de viscosidade e eletroforese em gel, como descrito na sequência.

#### **4.3.3.1 Estudo hidrodinâmico de viscosidade**

Um dos parâmetros utilizado para distinguir e elucidar o modo de interação de complexos metálicos com o DNA é a viscosidade, uma vez que os seus valores refletem em mudanças conformacionais no seu comprimento efetivo. As medidas de viscosidade podem, portanto, predizer se o modo de interação DNA-ligante se dá via interação eletrostática, intercalação ou ligação aos sulcos, segundo as propriedades hidrodinâmicas observadas nesse método (GANESHPANDIAN *et al.*, 2014).

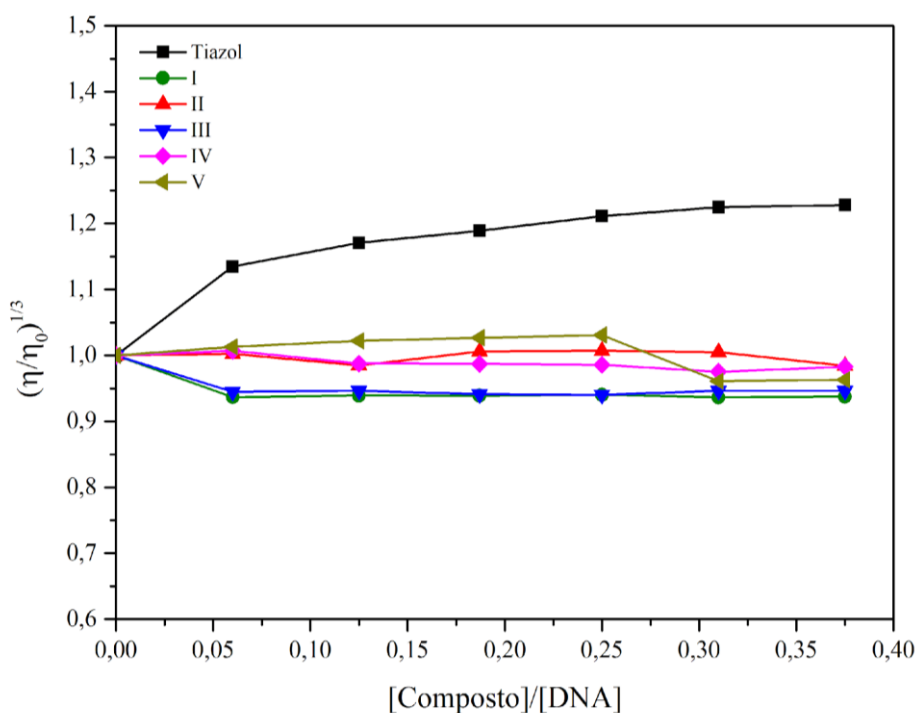
A intercalação clássica, por exemplo, é caracterizada pelo aumento da viscosidade relativa da solução, uma vez que, esse tipo de interação promove alongamento, aumento da rigidez e desenrolamento das hélices do DNA (PARVEEN *et al.*, 2016). Porém, sendo uma intercalação parcial ou não clássica, há um efeito reverso nas mudanças conformacionais (dobra ou torção nas hélices), o que reduz o comprimento efetivo, concomitante a isso, a viscosidade relativa (QAIS, AHMAD, 2017). Caso os complexos interajam pelos sulcos, não é observada nenhuma alteração significativa no comprimento efetivo do DNA, logo, a viscosidade relativa também não muda. Isso porque as interações de Van der Waals ou ligações de hidrogênio não são capazes de provocar nenhum efeito que afete significativamente a conformação da fita. As interações eletrostáticas também resultam na alteração mínima da viscosidade (GUP *et al.*, 2015).

Na literatura, alguns arenos de rutênio(II) utilizando ligantes diferentes dos que foram empregados no trabalho apresentaram modo de interação variados. No trabalho de Colina-Vegas *et al.* (2015) os organometálicos de rutênio(II) com derivados da bipyridina apresentam caráter intercalador na interação com o DNA. Em contrapartida, de acordo com Marszaukowski *et al.* (2019), os complexos contendo derivados da aminopiridina

não exibiram interação covalente nem intercalação parcial ou clássica, sugerindo que os ligantes podem influenciar diretamente no modo de interação das biomoléculas ao DNA (COLINA-VEGAS *et al.*, 2015; MARSZAUKOWSKI *et al.*, 2019).

Para esta análise, os complexos sintetizados foram solubilizados em DMSO juntamente com o DNA (concentração  $80 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e o tiazol de laranja, que se trata de um padrão de intercalação clássico e tem como principal função estabelecer um grau de comparação entre a formação do seu complexo [tiazol]/[*ct*-DNA] com [Complexos]/[*ct*-DNA]. A partir dos dados de viscosidade obtidos (Figura 38), foi possível verificar que todos os compostos apresentaram perfil similar, ou seja, mesmo com o aumento da formação do [Complexos]/[*ct*-DNA], a viscosidade permaneceu praticamente inalterada, além de apresentarem a hidrodinâmica diferente do padrão de intercalação, neste caso, o tiazol laranja, o qual a viscosidade relativa aumenta com o aumento da razão [complexo]/[DNA].

**Figura 38.** Viscosidade relativa do *ct*-DNA ( $80 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) conjugado aos novos compostos à  $25^\circ\text{C}$ , em tampão tris-HCl ( $4,5 \text{ mmol L}^{-1}$  de Tris HCl,  $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$  de Tris base e  $50 \text{ mmol L}^{-1}$  de NaCl, pH 7,4), onde  $\eta$  corresponde à viscosidade do DNA na presença dos complexos de rutênio e  $\eta_0$  é a viscosidade do DNA.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

Sendo assim, considerando que a viscosidade não sofre alteração significativa com o aumento da razão [complexo]/[DNA] e pelo perfil hidrodinâmico observado, sugere-se que todos os complexos interajam pela via não intercalante, neste caso, podendo ser interação não covalente, a exemplo, eletrostática ou pelos sulcos, ou não interajam com o DNA. Para reiterar o que foi observado no estudo de viscosidade e confirmar o tipo de interação existente entre os complexos e o DNA, outras técnicas foram utilizadas.

#### **4.3.3.2 Estudo de interação dos complexos com DNA utilizando eletroforese em gel**

A técnica de eletroforese em gel é um dos métodos de maior eficiência quando se trata de estudos relacionados à interação de complexos com a molécula de DNA. A principal finalidade dessa técnica consiste nas mudanças observadas a partir do deslocamento de bandas do plasmídeo superenovelado do DNA quando em contato com os compostos de interesse. Ou seja, o experimento é fundamentado na diferença de mobilidade eletroforética de moléculas de DNA, tendo em vista a sua forma ou o seu tamanho. Além disso, o princípio é baseado em uma característica intrínseca do DNA: em meios neutros (pH=7) ou alcalinos (pH>8) a molécula possui carga negativa e isso justifica-se pelas bases nitrogenadas presentes em sua estrutura. Por este motivo, quando a mesma é submetida a um campo elétrico, após ser aplicada/imersa em uma matriz de gel, ocorre a migração em direção ao pólo positivo (ânodo) e essa velocidade de migração depende diretamente do tamanho da molécula [Complexo/DNA], o que resulta na presença de fragmentos de tamanhos variados em diferentes pontos da matriz (FLORES *et al.*, 1992; YUNG-SHARP, KUMAR, 1989)

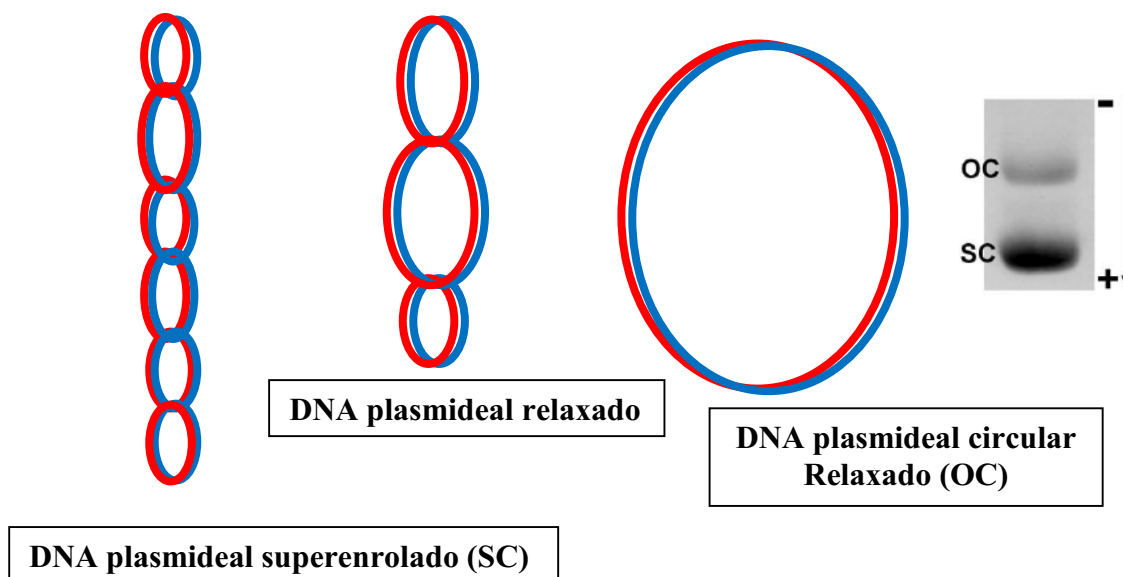
Para a visualização do DNA nos géis utiliza-se o brometo de etídeo (EtBr) de fórmula molecular  $C_{21}H_{20}BrN_3$ . Esse corante, quando intercalado entre as bases nitrogenadas dos ácidos nucleicos, exibe característica fotoquímica fluorescente em regiões específicas (vermelho alaranjado – 590 nm), com exposição à luz ultravioleta. Tendo em vista que a intensidade da fluorescência emitida é proporcional à concentração da molécula de DNA presente na amostra, esse método permite detectar e monitorar uma quantidade igual ou maior que 10 ng de DNA. O brometo de etídeo pode ser empregado de três formas: no tampão da amostra a ser aplicada no gel; após a corrida quando ocorre a submersão do gel na solução do EtBr (forma utilizada neste trabalho); ou a aplicação



pode ser direta no gel (utilização mais frequente) (FLORES *et al.*, 1992; YUNG-SHARP, KUMAR, 1989).

O DNA plasmideal, molécula modelo utilizada nesta análise, apresenta ligações covalentes de maneira a formar um círculo e, por isso, é muito conhecido como forma superenrolada – supercoiled – SC. Essa molécula pode assumir distintas morfologias, sendo que cada uma delas irá percorrer uma distância específica no gel de agarose. As três conformações possíveis estão representadas na Figura 39 (BARRA, NETTO 2015). A depender das condições existentes, uma forma pode ser convertida na outra e isso será refletido na mobilidade eletroforética.

**Figura 39.** Representação esquemática das três morfologias do DNA plasmideal observadas por eletroforese em gel de agarose.



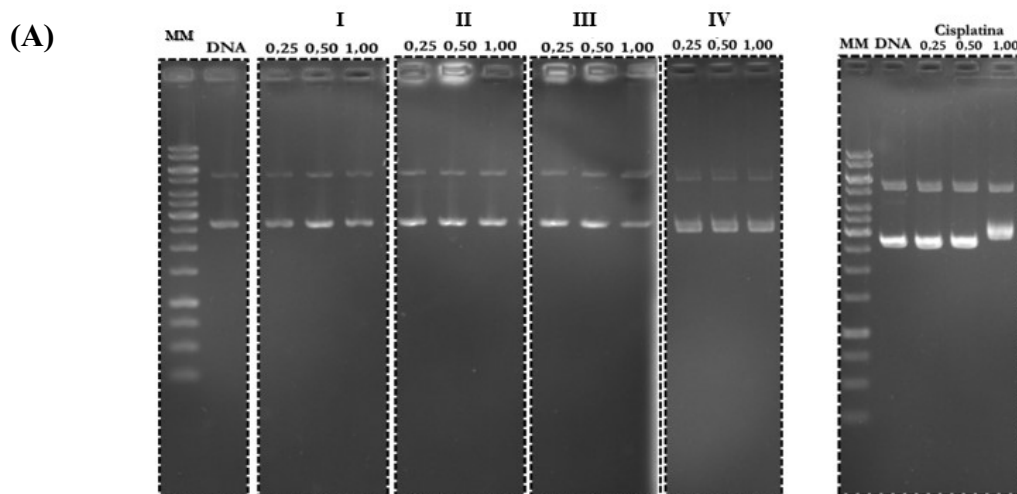
**Fonte:** Adaptado (BARRA, NETTO, 2015).

A conformação circular superenrolada(SC) do DNA apresenta uma maior facilidade em percorrer o gel, justificado pela sua forma mais compacta, o que resulta em uma maior velocidade de migração quando comparada à conformação circular relaxada (OC). Esta morfologia anelar apresenta maior volume, o que reflete na redução de mobilidade no gel e, conseqüentemente, na diminuição da velocidade de migração (CALLADINE *et al.*, 2004). Além disso, a conversão para a conformação mais relaxada é um parâmetro muito importante, podendo sugerir que o composto de interesse interagiu

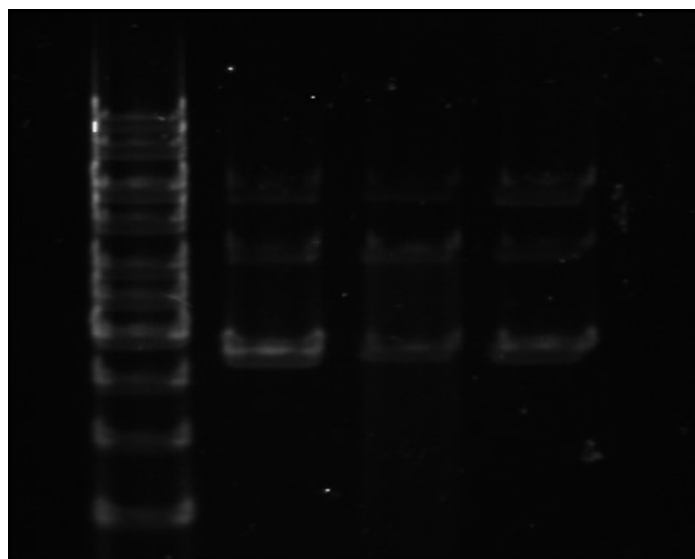
(intercalação ou ligação) com o DNA, modificando o seu tamanho, formato e mobilidade eletroforética. Ou seja, quando em contato com agentes capazes de interagir com o DNA, pode ocorrer a degradação da forma superenovelada, e subsequente conversão na forma circular aberta, o que caracteriza interações intercalativas ou eletrostáticas mais fortes. Em se tratando de interações covalentes, ocorre não somente o desaparecimento da forma superenovelada, mas também a clivagem da forma circular e, em alguns casos até a clivagem da forma linear, resultando no desaparecimento das bandas (KECK, LIPPARD 1992).

Diante disso, o experimento foi iniciado a partir da incubação do DNA plasmídeo pBR322 em que se manteve fixa a concentração do DNA e variou-se as concentrações dos complexos, sendo avaliados os seguintes  $R_i = [\text{Complexo}]/[\text{DNA}]$  0,25; 0,50 e 1,00. A finalidade do procedimento realizado foi confirmar o tipo de interação que os complexos têm com o DNA, a partir das alterações conformacionais. Além disso, considerando o DNA como controle negativo, foi utilizado como controle positivo a cisplatina. A partir dos dados exibidos na Figura 40, após a corrida eletroforética e tendo como parâmetro a cisplatina, que é um padrão de interação covalente, pôde-se inferir que os complexos I-V não se intercalam ou se ligam covalentemente ao DNA nas concentrações utilizadas, uma vez que não houve diferença na velocidade da mobilidade eletroforética ( $R_i$ ), e conseqüentemente, nenhuma alteração na conformação da fita.

**Figura 40.** Imagem de eletroforese em gel de agarose do plasmídeo pBR322 ( $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) após 150 min de corrida em tampão TAE com diferentes concentrações (20 e  $40 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) dos complexos I-IV (A) e V (B): banda 1: DNA + marcador; banda 2: DNA; bandas 3 e 4: V.



**(B)**                    **DNA+ Marcador**    **DNA**            **V (0,50)**    **V (1,00)**



**Fonte:** Dados da pesquisa.

#### **4.3.4 Estudos preliminares de interação com albumina sérica bovina (BSA)**

Um dos parâmetros para o planejamento de metalofármacos é a utilização de modelos que apresentam a capacidade de reproduzir o comportamento químico e interativo com o alvo biológico. Além do DNA, são realizados estudos de interação com proteínas do sangue ou outras biomoléculas que podem influenciar na toxicidade, solubilidade no plasma e diminuição na velocidade de formação de espécies oxidativas (COLINA-VEGAS *et al.*, 2015). A exemplo, têm-se a albumina, a proteína em maior abundância no plasma sanguíneo, que atua principalmente no transporte, armazenamento, metabolismo e excreção de uma gama de biomoléculas que são ligantes exógenos e endógenos (vitaminas, ácidos graxos, metabólitos e fármacos) (MOREIRA *et al.*, 2015)

A albumina ou soroalbumina humana (HSA), como é comumente conhecida, geralmente se acumula nas células cancerígenas, tendo, inclusive, maior capacidade absorviva com esse tipo de célula do que com as células normais, por exemplo. Por esse motivo, esse tipo de biomolécula se torna opção de estudo para o transporte de fármacos antitumorais como paclitaxel e doxorrubicina, sendo bastante utilizado para avaliação de mecanismos farmacocinéticos e farmacodinâmicos (transporte, distribuição e metabolismo) (GUO *et al.*, 2018; HASANZADEH *et al.*, 2017; KANC *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2017; XU *et al.*, 2018). Dentre as opções de albuminas disponíveis no mercado, a BSA (soro bovino) é a mais empregada em diversas áreas de pesquisa. Isso

justifica-se pelo fato de ser uma molécula modelo capaz de substituir a HSA em estudos biomiméticos, inclusive no *design* de medicamentos anticarcinogênicos, tendo em vista a similaridade estrutural, além de apresentar estabilidade e baixo custo (CHRUSZCZ *et al.*, 2013; NAVEENRAJ, ANANDAN, 2013; SLEEP *et al.*, 2013).

Para exemplificar o potencial de interação estudado das citadas albuminas séricas com fármacos e demais substâncias, pode-se aludir o paracetamol (tratamento de febre) (DAHIYA; PAL, 2018), a rosiglitazona (Tratamento de diabetes) (PAWAR; OTTOOR, 2018), o niraparib (tratamento de Câncer de ovário) (GAN *et al.*, 2018), a cloroquina (Tratamento de malária) (MARKOVI *et al.*, 2018), a sitofloxacina (tratamento de infecção bacteriana) (DING *et al.*, 2018), ácidos retinóicos (tratamento de pele) (HUANG *et al.*, 2017), azilsartana (tratamento de hipertensão) (MARTÍNEZ *et al.*, 2018), a procaína ( Tratamento de dor muscular) (XIE *et al.*, 2015a), a vitamina B1 (KAUR *et al.*, 2018), ácido caféico (PRECUPAS *et al.*, 2017) e medicamentos utilizados em tratamentos de doenças cardiovasculares (NIAEI *et al.*, 2018).

Através da comparação da BSA com HSA, é possível observar a similaridade de estrutura terciária em torno de 80% e homologia sequencial em torno de 76% (PETERS, 1995; CARTER, HE, 1990) A HSA é composta 585 aminoácidos, sendo que há 17 grupos tirosina e um fragmento triptofano (Trp-214). Já a BSA possui 582 aminoácidos, sendo 20 grupos tirosina e dois fragmentos de triptofano (Trp-134 e Trp-212) (NAVEENRAJ, ANANDAN, 2013; PETERS, 1985). Essas proteínas exibem regiões de interação preferenciais de fármacos e são classificadas em três domínios: I, II e III. Cada um destes possui dois subdomínios definidos como A e B. As regiões em que há essas ligações preferenciais são as regiões/subdomínios II/A e III/A, comumente conhecidas como sítios I e II de Sudlow, tendo, nesse aspecto, os mesmos sítios de ligação e microambientes similares formados por aminoácidos de caráter hidrofóbico. Um exemplo disso são os fragmentos existentes no subdomínio IIA: O triptofano (Trp) 212 na BSA e o Trp-214 na HSA (PETERS, 1985; ROY *et al.*, 2017; CHAVES *et al.*, 2018; CAMARGO *et al.*, 2018).

Um estudo experimental conduzido por Abdi e colaboradores (2012) utilizando técnicas espectroscópicas, avaliou a interação da BSA com o fármaco antineoplásico 5-fluorouracil, cuja evidência de interação entre ambos foi observada, o que contribuiu significativamente para obtenção de informações relacionadas ao mecanismo de ação do fármaco citado (ABDI, 2012). Nessa perspectiva, a partir das técnicas espectroscópicas são obtidos parâmetros físico-químicos que permitem o monitoramento do metabolismo

e a eficiência farmacológica das espécies estudadas. E um desses parâmetros é a supressão de fluorescência das proteínas que pode ou não ser induzida pela presença de determinadas substâncias (EFTINK *et al.*, 2000).

O efeito de supressão pode ocorrer a partir de diversas vias, como reações no estado excitado, transferência energética, rearranjo molecular, formação de complexo no estado fundamental e colisões. A BSA, por exemplo, quando excitada num comprimento de onda específico (280 nm) apresenta propriedade fluorescente com máximo de emissão em torno de 350 nm. Essa emissão está associada à presença de L-aminoácidos triptofano, tirosina e fenilalanina (EFTINK *et al.*, 2000; PETERS, 1995) e dentre esses três fragmentos a emissão dos resíduos de triptofano da BSA (Trp-134 e Trp-212) é majoritária e a característica emissiva é resultado da natureza química da sub-região (NAVEENRAJ, ANANDAN, 2013).

Para obtenção desse parâmetro pode-se utilizar do mecanismo de supressão de fluorescência de Stern-Volmer. No mecanismo, caso seja considerado dinâmico, o qual possui dependência direta da colisão entre moléculas da espécie supressora (Q), que neste caso, pode ser o fármaco, e da proteína excitada (BSA) (LAKOWICZ, 2006), a equação 3 de Stern-Volmer é empregada para relacionar a intensidade relativa de emissão de fluorescência da BSA com e sem a presença da espécie supressora. Na equação, F é a intensidade de emissão na presença do supressor, podendo ou não observar uma redução, F<sub>0</sub> a intensidade observada na ausência do mesmo e [Q] é a concentração do supressor. Já o termo τ<sub>0</sub> é o tempo de vida das biomoléculas na ausência da espécie supressora, sendo o seu valor geralmente entre 10 e 8 nanosegundos e K<sub>q</sub> a constante de velocidade de supressão bimolecular, uma vez que o produto desses termos (K<sub>q</sub>τ<sub>0</sub>) é conhecido como constante de Stern-Volmer (K<sub>SV</sub>) (MOREIRA *et al.*, 2015).

**Equação:**

$$(F_0/F) = 1 + K_q\tau_0[Q] = 1 + K_{SV}[Q] \quad (3)$$

Além do mecanismo dinâmico, anteriormente citado, pode ocorrer também o processo de supressão estática da fluorescência. Nesse processo, a colisão entre as moléculas pode ocorrer no estado fundamental, o que leva a formação de um complexo [albumina]/[espécie supressora] que não apresenta propriedade fluorescente. Sendo assim, a equação 3 é reescrita, resultando da seguinte forma:

### Equação:

$$(F_0/F) = 1 + K_A [Q] \quad (4)$$

$$K_A = [FQ]/[F][Q]$$

Em que  $K_A$  é a constante de supressão estática, F e Q são o fluoróforo e o supressor, respectivamente. Neste caso, o tempo de vida ( $\tau$ ) não sofre variações como no mecanismo dinâmico, uma vez que o complexo formado (FQ) não é emissivo.

Os mecanismos podem ser distinguidos através dos parâmetros de viscosidade e temperatura, uma vez que os mesmos são dependentes dos valores da constante de supressão. O mecanismo fotoquímico dinâmico caracteriza-se pela relação direta entre a constante e a temperatura, tendo em vista que o aumento da temperatura favorece a difusão do fluorocromo (BSA no estado excitado) à espécie supressora, bem como o aumento da colisão das moléculas e, conseqüentemente, com a elevação da temperatura há o aumento da constante de supressão ( $k_{sv}$ ). Já no mecanismo estático, como o complexo [BSA]/[espécie supressora] não apresenta propriedade fluorescente, a elevação da temperatura desestabiliza o complexo intermediário e, neste caso, como há uma relação inversa entre a temperatura e a constante de supressão, os valores de  $k_{sv}$  diminuirão a partir do aumento da temperatura (LAKOWICZ, 2006).

A partir desses conceitos é possível inferir que a observação de alterações no comportamento emissivo da BSA, seja à temperatura ambiente ou com variação de temperatura pode indicar não apenas a ocorrência da interação, como também o mecanismo fotoquímico existente a partir da formação do complexo biomolécula-fármaco. Além disso, através dessa análise são obtidas informações significativas que evidenciam o modo de interação, além de calcular valores que sugerem maior ou menor afinidade com a biomolécula a partir das constantes de ligação.

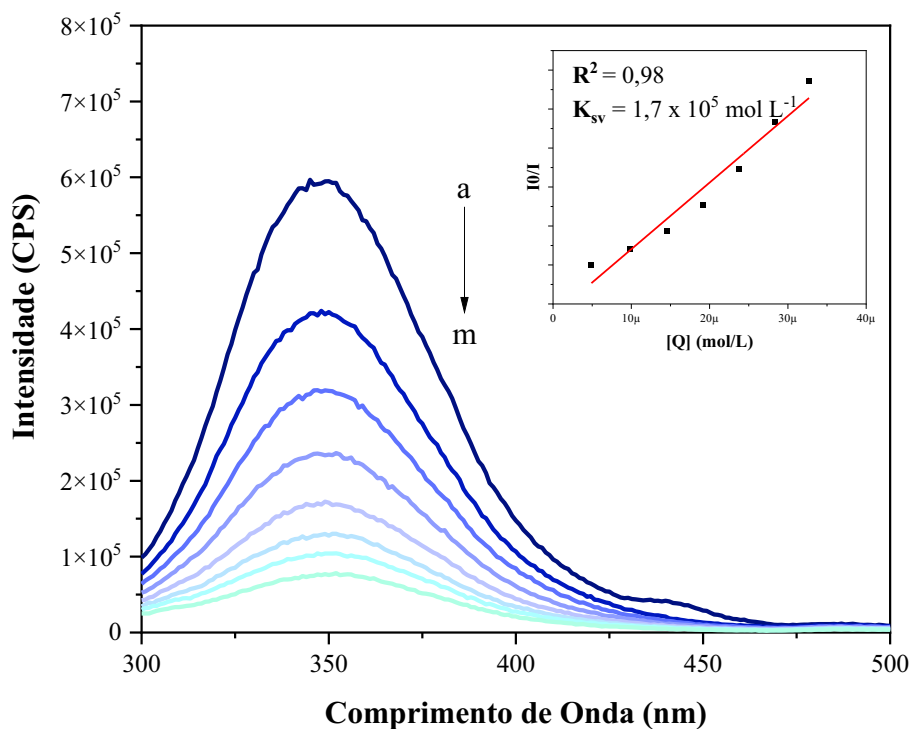
Nesse contexto, diante do potencial biológico de complexos à base de rutênio já descritos na literatura, foi realizado um estudo preliminar com o objetivo de investigar a interação dos complexos **I** e **IV**. Primeiramente, foi realizada a análise da solução da proteína e através dos espectros observou-se que a BSA em sua forma livre exibiu forte emissão de fluorescência centrada em 350 nm, quando excitada em 280 nm, sendo esse efeito fotoquímico promovido pela existência dos resíduos de triptofano nas posições 134 e 212. Já os complexos **I** e **IV** em solução tampão de PBS (pH 7,3; 0,1 mol L<sup>-1</sup>) exibiram emissão em torno de 420 e 550 nm quando excitados em 310 nm, o que permite analisar

a supressão da BSA com maior confiabilidade, uma vez que as regiões de emissão são distintas.

Como foi discutido acima, é necessário a realização de experimentos com variação de temperatura para aferir sobre o mecanismo de supressão em questão. Logo, serão avaliados apenas as constantes de supressão de forma relativa, denominadas neste trabalho como  $K_{sup}$ , de modo que, as variações destas constantes mostrarão maior/menor interação dos complexos (supressor) com a BSA, uma vez que, diante do pequeno ajuste estrutural, não são esperadas mudanças significativas quanto ao mecanismo de interação entre os complexos avaliados e a albumina.

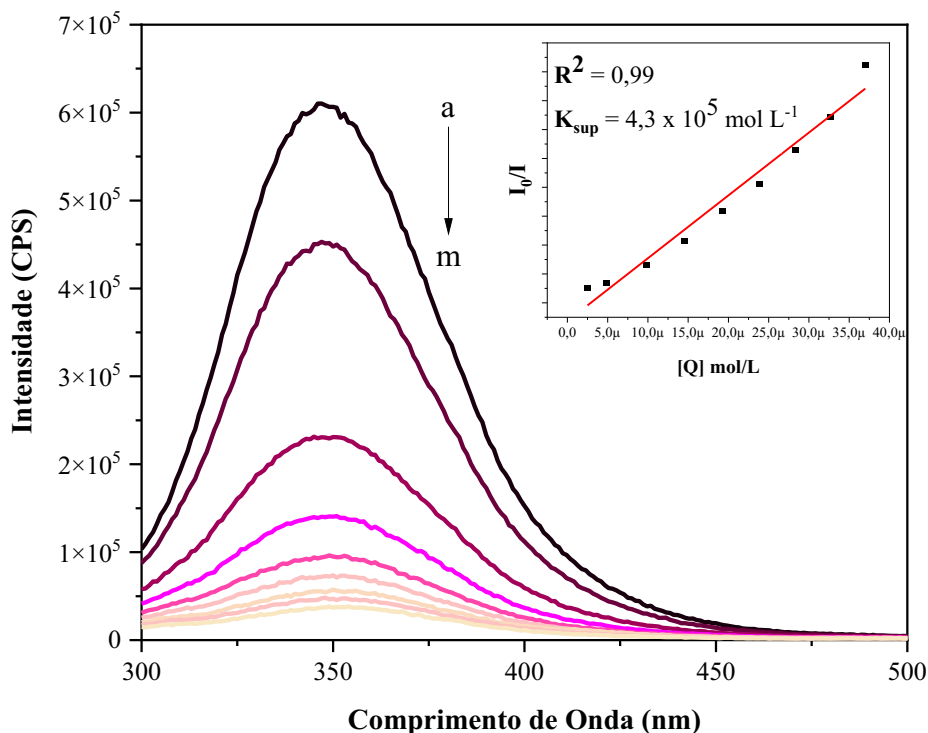
Os espectros obtidos pela análise apresentaram alterações após o aumento da concentração dos complexos de rutênio(II) a partir da adição de alíquotas na solução de BSA, como demonstrado nas Figuras 41 e 42.

**Figura 41.** Espectros de supressão de fluorescência da BSA na presença de  $[Ru(bta)(p-cim)(py)]PF_6$  (**I**), em solução tampão PBS (pH = 7,3);  $\lambda_{exc.} = 280$  nm. Os espectros foram obtidos a partir da titulação de  $3 \mu\text{mol L}^{-1}$  de BSA com adições de 30 a 240  $\mu\text{L}$  da solução do complexo **I**  $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ , perfazendo as concentrações de  $4,9 \times 10^{-6}$  a  $3,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  em complexo (a  $\rightarrow$  m =  $2,4 \times 10^{-6}$  a  $3,7 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ).



Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura 42.** Espectros de supressão de fluorescência da BSA na presença de [Ru(tff)(*p*-cim)(py)]PF<sub>6</sub> (**IV**), em solução tampão PBS (pH = 7,3);  $\lambda_{exc.}=280$  nm. Os espectros foram obtidos a partir da titulação de 3  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de BSA com adições de 30 a 240  $\mu\text{L}$  da solução do complexo **IV** 0,5  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , perfazendo as concentrações de  $2,4 \times 10^{-6}$  a  $3,7 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup> em complexo (a  $\rightarrow$  m =  $2,4 \times 10^{-6}$  a  $3,7 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>).



**Fonte:** Dados da pesquisa.

Essas alterações mostraram que ocorreu a diminuição da emissão da proteína, o que confirma o processo de interação dos complexos **I** e **IV**, indicando, portanto, que ambos foram capazes de extinguir a fluorescência intrínseca da BSA. Considerando relatos da literatura, esse efeito supressor pode ser justificado pelas mudanças conformacionais das microrregiões protéicas que estão próximas aos resíduos de aminoácidos, especificamente, aos fragmentos triptofano, já que o centro metálico pode ser capaz de interagir com esse resíduo via histidina e envolvendo o processo de transferência de energia (MOREIRA *et al.*, 2015; NAVEENRAJ, ANANDAN, 2013; TRYNDA-LEMIESZ *et al.*, 2000).

Pôde-se notar também, de acordo com os valores de  $K_{sup}$  obtidos ( $1,7 \times 10^5$  mol L<sup>-1</sup> e  $4,3 \times 10^5$  mol L<sup>-1</sup> para **I** e **IV**, respectivamente), os complexos exibem considerável interação com a BSA, sendo espécies promissores no que se refere à afinidade com alvos



biológicos. Vale ressaltar que a maior interação dos complexos sintetizados com a BSA neste trabalho pode estar relacionada com a presença dos ligantes, nesse caso a piridina e a  $\beta$ -dicetona. Em se tratando a piridina, especificamente, testes realizados por Ganeshpandian *et al.* (2014) utilizando substituinte piridil exibiram melhores resultados no que se refere à afinidade com BSA, considerando também que o aumento da afinidade era diretamente proporcional ao aumento da quantidade de grupos piridil na estrutura. Isso foi justificado pela hidrofobicidade que essas espécies possuem, o mesmo observado nos ligantes  $\beta$ -dicetona através da presença do grupo  $-\text{CF}_3$  na estrutura dos complexos **I** e **IV** e do fluorofenil apenas no **IV** (GANESHPIANDIAN *et al.*, 2014).

No tocante à capacidade supressora emissiva da fluorescência dos complexos **I** e **IV**, nota-se que o complexo **IV** possui uma  $K_{\text{sup}}$  2,5 vezes maior que o complexo **I**, o que evidencia maior interação com a BSA. Isso porque o complexo **IV**, diferentemente do complexo **I**, exibe em sua estrutura química o ligante  $\beta$ -dicetona composto por um anel heterocíclico (fluorofenil) o que contribui relevantemente com a hidrofobicidade, como mencionado anteriormente, e foi crucial à provocação de mudanças no microambiente protéico da BSA, a partir da formação do complexo BSA-ligante (GANESHPIANDIAN *et al.*, 2014; KARAMI *et al.*, 2017). Ademais, a partir dos resultados foi possível inferir que, neste caso, o processo de interação com a BSA não possui relação direta com a citotoxicidade, tendo em vista que o complexo mais ativo, dentre os empregados nesse estudo preliminar, exibiu menor interação e vice-versa.

## 5. CONCLUSÕES

No presente trabalho foram apresentados os produtos obtidos a partir da combinação dos complexos organometálicos de Ru(II)/areno com ligantes  $\beta$ -dicetonas e piridina, resultando em uma série com 5 novos compostos. Suas estruturas químicas foram elucidadas, adequadamente, através das técnicas de caracterização utilizadas, sugerindo que houve a coordenação dos ligantes ao centro metálico, como proposto. Além disso, as estruturas cristalinas dos complexos, obtidas por difração de raios X, evidenciaram a coordenação bidentada dos  $\beta$ -dicetonatos e monodentada da piridina.

No tocante aos experimentos de estabilidade em solução, todos os complexos exibiram alterações tanto na análise de UV-Vis quanto pelos espectros obtidos pelo RMN  $^1\text{H}$ . O aparecimento de sinais indica a labilização parcial do grupo *p*-cimeno, fato já verificado em compostos Ru(II)/areno de trabalhos anteriores. Porém, através dos valores

de integrais calculados, pode-se considerar que estes compostos permanecem originais como substância majoritária em presença de DMSO, com destaque para os complexos **II** e **III**, os quais exibiram melhor perfil de estabilidade.

Com relação ao potencial citotóxico, foi verificado que a modificação estrutural promoveu alterações significativa neste quesito, uma vez que o precursor é inativo em todas linhagens e, em se tratando dos ligantes  $\beta$ -dicetona que exibiram atividade (exceto o **II**), os valores de  $IC_{50}$  foram superiores aos respectivos complexos. Além disso, todos complexos exibiram boa citotoxicidade para as linhagens celulares de tumor mamário humano (MCF-7 e MDA-MB-231) e de ovário resistente à cisplatina (A2780-*cis*), além de moderada citotoxicidade para linhagem pulmonar A549. No que diz respeito aos estudos de índice de seletividade, a série de complexos exibiu maior seletividade para as linhagens MCF-7 e A2780-*cis*, além dos valores obtidos serem similares e/ou superiores aos valores da cisplatina. Em contrapartida, para linhagem MDA-MB-231, os índices de seletividade foram inferiores, e para a linhagem A549, apenas o complexo **IV** exibiu seletividade  $> 1$ . Por isso, o destaque dessa série são os complexos **I**, **III** e **V**, que exibiram bons valores de citotoxicidade e seletividade, especificamente para as linhagens mamária e de ovário, sendo, agentes promissores para uso em testes clínicos, nos quais o fator de progressão e expressão celular está relacionado aos hormônios, ressaltando também a necessidade de estudos mais detalhados.

Para tentar avaliar um possível mecanismo de interação com alvos biológicos que justifiquem a atividade antitumoral dos novos complexos, outras análises foram feitas. Através das medições de viscosidade, foi possível averiguar que os derivados de rutênio(II) não alteraram a viscosidade relativa do *ct*-DNA, quando comparado às alterações ocasionadas pelo brometo de etídio, uma sonda intercalante, sugerindo que essas espécies exibem um perfil de interação não intercalante. Este fato foi endossado pela técnica de eletroforese em gel, que além de confirmar a propriedade de interação não intercalante, sugeriu que os complexos também não se ligam covalentemente ao DNA, diferentemente da cisplatina.

Os estudos preliminares de interação com a BSA, que também foi empregada neste trabalho, indicaram que os complexos selecionados (**I** e **IV**) exibiram habilidade de suprimir a emissão fluorescente intrínseca da BSA. No entanto, neste trabalho, o processo de interação com essa proteína não possui relação direta com a citotoxicidade, tendo em vista que o complexo **IV**, responsável por valores moderados de  $IC_{50}$ , expressou maior valor de  $K_{sup}$  (constante de supressão), e, conseqüentemente maior interação, ao contrário

do complexo **I**, que apesar da pouca afinidade com a BSA (valor menor de  $K_{sup.}$ ), exibiu maior atividade.

Em geral, pode-se prever que os complexos **I-V** são espécies promissoras, por ter a capacidade de interagir significativamente uma das biomacromoléculas de interesse científico usada nessa pesquisa (BSA), sendo uma classe promissora para estudos relacionados aos tumores de mama e ovário, e nas linhagens resistentes a cisplatina, principalmente os complexos **I**, **III** e **V**, que exibiram os menores valores de  $IC_{50}$  e bons índices de seletividade para as linhagens mencionadas. Os resultados também comprovam que a utilização de organometálicos de rutênio(II) bem como a inserção dos substituintes propostos foram relevantes na contribuição dos efeitos verificados.

## 6. REFERÊNCIAS

- ABBASPOUR, N. *et al.* Review on iron and its importance for human health. **Journal of Research in Medical Sciences**, v. 19, p. 164-174, 2014.
- ABDI, K. *et al.* Interaction of 5-Fluorouracil and its derivatives with bovine serum albumin. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, v. 107, p. 20–26, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2011.11.004>
- ABRAMSON, V. G. *et al.* Subtyping of triple-negative breast cancer: implications for therapy. **Cancer**, v. 121(1), p. 8-16, 2015. <https://doi.org/10.1002/cncr.28914>
- AHMAD, G. *et al.* Synthesis, *in vitro* cholinesterase inhibition, *in vivo* anticonvulsant activity and in-silico exploration of N-(4-methylpyridin-2-yl)thiophene-2-carboxamide analogs. **Bioorganic Chemistry**, v. 92, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103216>
- AIRD, R. E. *et al.* *In vitro* and *in vivo* activity and cross resistance profiles of novel ruthenium (II) organometallic arene complexes in human ovarian cancer. **British Journal of Cancer**, v. 86, p. 1652-1657, 2002. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600290>
- AISHAH E. ALBALAWI. A. Systematic review of curcumin and its derivatives as valuable sources of antileishmanial agents. **Acta Parasitologica**, v. 66, p. 797–811, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11686-021-00351-1>
- ALBANI, B. A. *et al.* Marked improvement in photoinduced cell death by a new tris - heteroleptic complex with dual action: Singlet oxygen sensitization and ligand

- dissociation. **Journal of the American Chemical Society**, v. 136(49), p. 17055–17101, 2014. <http://dx.doi.org/10.1021/ja508272h>
- ALESSIO, E. *et al.* Ruthenium anticancer drugs. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 86(1), p. 21–21, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0162-0134\(01\)00248-3](https://doi.org/10.1016/S0162-0134(01)00248-3)
- ALIZADEH, B H. *et al.* Spectroscopic and molecular docking studies on DNA binding interaction of podophyllotoxin. **Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran**, v. 29(2), p. 121–27, 2018.
- ANTHONY, E. J. *et al.* Metallodrugs are unique: opportunities and challenges of discovery and development. **Chemical Science**, v. 11, p. 12888–12917, 2020. <https://doi.org/10.1039/D0SC04082G>
- ARAUJO, C. A. C. *et al.* Studies on the effectiveness of diarylheptanoids derivatives against *Leishmania amazonenses*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94(6), p. 791–794, 1999. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761999000600015>
- ARAUJO NETO, J. H. Complexos semi-sanduíche de Ru<sup>II</sup>/areno e produtos naturais: uma promissora combinação para novos metalofármacos. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, 2020. <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/13358>
- ARCHNA, A. *et al.* Thiophene-based derivatives as anticancer agents: an overview on decade's work. **Bioorganic Chemistry**, v. 101, p. 104026, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020>
- ARTIGAS, V. *et al.* Syntheses, characterisation and crystal structures of ferrocenyl  $\beta$ -diketones and their Schiff base N-N-O ligand derivatives with 2-picolylamine. **Journal of Molecular Structure**, v. 1129, p. 325–332, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2016.09.009>
- ASHOUR, H.M. *et al.* Synthesis and biological evaluation of thieno [2,3:4,5] pyrimido [1,2-b][1,2,4] triazines and thieno [2,3-d][1,2,4] triazolo [1,5-a] pyrimidines as anti-inflammatory and analgesic agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 62, p. 341–351, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.12.003>
- AURAS, B. L *et al.* Synthesis, Spectroscopic/Electrochemical Characterization and DNA Interaction Study of Novel Ferrocenyl - Substituted Porphyrins. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 32(5), p. 1–12, 2018. <https://doi.org/10.1002/aoc.4318>

- BADAR, A. D. *et al.* Synthesis of isoniazid-1,2,3-triazole conjugates: Antitubercular, antimicrobial evaluation and molecular docking study. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 57, p. 3544-3557, 2020. <https://doi.org/10.1002/jhet.4072>
- BARBOSA, L.C.A. **Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos**. 1ª ed. Viçosa: UFV, 2007.
- BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G. Interações entre complexos antitumorais e o DNA e suas ferramentas de análise: um enfoque nos metalintercaladores. **Revista Virtual Química**, v. 7 (6), p. 1998-2016, 2015. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150118>
- BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos**, Editora ArtMed Ltda.: Porto Alegre, 2001.
- BARREIRO, E. J. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: a descoberta de novo agente cardioativo. **Química Nova**, v. 25(6B), p. 1172-1180, 2002. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000700018>
- BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32(3), 2009. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300012>
- BENITE A. M. C. *et al.* Uma visão da química bioinorgânica medicinal. **Química Nova**, v. 30(8), 2007. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000800045>
- BENJAMIN-RIVERA, J. A. *et al.* Exploring serum transferrin regulation of nonferric metal therapeutic function and toxicity. **Inorganics**, v. 8, 2020. <https://doi.org/10.3390/inorganics8090048>
- BERENJI, A.R. *et al.* Structure and vibrational analysis of methyl 3-amino-2-butenate, **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular**, v. 102, p. 350-357. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2012.10.042>
- BERGAMASCHI, G. *et al.* Organotin complexes with pyrrole-2-carboxaldehyde monoacylhydrazones. Synthesis, spectroscopic properties, antimicrobial activity, and genotoxicity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 68(4), p. 295-305, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0162-0134\(97\)00110-4](https://doi.org/10.1016/S0162-0134(97)00110-4)
- BÉRGAMO, A. *et al.* Approaching tumour therapy beyond platinum drugs: Status of the art and perspectives of ruthenium drug candidates. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 106(1), p. 90-99, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2011.09.030>
- BETANZOS-LARA, S. *et al.* Photoactivatable Organometallic Pyridyl Ruthenium(II) Arene Complexes. **Organometallics**, v. 31, p. 3466–3479, 2012.

<https://dx.doi.org/10.1021/om201177y>

- BETANZOS-LARA, S. *et al.* Bipyrimidine ruthenium(II) arene complexes: structure, reactivity and cytotoxicity. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 17(7), p. 1033-1051, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00775-012-0917-9>
- BHUTIA, S. K.; MAITI, T. K. Targeting tumors with peptides from natural sources. **Trends in Biotechnology**, v. 26(4), p. 210-7, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.01.002>
- BRANCO, F. S. C. *et al.* Ressonância Magnética Nuclear de substâncias organofluoradas: um desafio no ensino de espectroscopia. **Química Nova**, v. 38(9), p. 1237-1246, 2015. <http://doi.org/10.5935/0100-4042.20150139>
- BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Atlas de Mortalidade por Câncer, 2020**. Disponível em: <https://mortalidade.inca.gov.br/MortalidadeWeb/> Acesso 05 set 2022.
- BRAY, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 68(6), p. 394–424, 2018. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>
- BROWN, W. *et al.* **Organic Chemistry**. 6 ed. Belmont, CA, EUA: Brooks/Cole, 2010, 1194 p.
- BROWN, R.S. *et al.* Symmetries of hydrogen-bonded enol forms of diketones as determined by x-ray photoelectron spectroscopy. **Journal of the American Chemical Society**, v. 101, p. 3175-3180, 1979. <https://doi.org/10.1021/ja00506a003>
- BROWNING, R. J. *et al.* Drug Delivery Strategies for Platinum-Based Chemotherapy. **ACS Nano**, v. 11, p. 8560-8578, 2017. <https://doi.org/10.1021/acsnano.7b04092>
- BUCKLEY, R. R.; MERCER, E. E. The potential of the Ruthenium(II)-Ruthenium(III) couple. **Journal of Physical Chemistry**, v. 70, p. 3103-3106, 1966. <https://doi.org/10.1021/j100882a014>
- BULLOCK, J. L. *et al.* **In Ruthenium: Synthesis, Physicochemical Properties And Applications**; Keeler, G. P., Ed.; Nova Science Publishers: New York, 2014; pp 3–11.
- BURRIS, H. A. *et al.* Safety and activity of IT-139, a rutheniumbased compound, in patients with advanced solid tumours: a first-in-human, open-label, dose-escalation phase I study with expansion cohort. **ESMO Open**, v. 1, 2016.

<https://doi.org/10.1136/esmooopen-2016-000154>

CAIXEIRO, N. J. *et al.* Circulating tumour cells--a bona fide cause of metastatic cancer. **Cancer Metastasis Reviews**, v. 33(2-3), p. 747-756, 2014.

<https://doi.org/10.1007/s10555-014-9502-8>

CALEY, A.; JONES, R. **The principles of cancer treatment by chemotherapy**. Surgery (Oxford, v. 30(4), p. 186–190, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2012.01.004>

CALLADINE, C. R. *et al.* **Understanding DNA: the molecule and how it works**, 3a ed, Elsevier: Amsterdam, 2004.

CAMARGO, R. C. *et al.* Spectral and computational features of the binding between riparins and human serum albumin. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 190, p. 81–88, 2018.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2017.08.068>

ČANOVIĆ, P. *et al.* Impact of aromaticity on anticancer activity of polypyridyl ruthenium(II) complexes: synthesis, structure, DNA/protein binding, lipophilicity and anticancer activity. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 22(7), p. 1007-1028, 2017. <https://doi.org/10.1007/s00775-017-1479-7>

CARTER, D.C., HE, X. M. Structure of human serum albumin. **Science**, v. 249(4966), p. 302-303, 1990. <https://doi.org/10.1126/science.2374930>

CARVALLO-CHAIGNEAU, F. *et al.* Casiopeina III-ia induces apoptosis in HCT-15 cells *in vitro* through caspase-dependent mechanisms and has antitumor effect *in vivo*. **BioMetals**, v. 21, p. 17–28, 2007.

<https://doi.org/10.1007/s10534-007-9089-4>

CASINI, A. *et al.* Emerging protein targets for anticancer metallodrugs: inhibition of thioredoxin reductase and cathepsin B by antitumor ruthenium(II)-arene compounds. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 51, p. 6773-6781, 2008.

<https://doi.org/10.1021/jm8006678>.

CHAN, H. *et al.* Photolabile ruthenium(II)– Purine Complexes: Phototoxicity, DNA Binding, and Light-Triggered Drug Release. **European Journal of Inorganic Chemistry**, p. 1679–1686, 2017. <http://dx.doi.org/10.1002/ejic.201601137>

CHANGTAM, C. *et al.* Curcuminoid analogs with potent activity against *Trypanosoma* and *Leishmania* species. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45(3), p. 941–956, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.11.035>

- CHAVES, O. A. *et al.* Synthesis, tyrosinase inhibition and transportation behavior of novel  $\beta$  - enamino thiosemicarbazide derivatives by human serum albumin. **Journal of Molecular Liquids**, v. 254, p. 280–290, 2018.  
<https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.01.083>
- CHOW, M. J. *et al.* Structural tuning of organoruthenium compounds allows oxidative switch to control ER stress pathways and bypass multidrug resistance. **Chemical Science**, v. 7, p. 4117 – 4124, 2016. <https://doi.org/10.1039/C6SC00268D>
- CHRUSZCZ, M. *et al.* Serum albumins-Unusual allergens. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1830(12), p. 5375–5381, 2013.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.06.016>
- CLEARE, M. J.; HOESCHELE, J. D. Studies on the antitumor activity of group VIII transition metal complexes. Part I. Platinum (II) complexes. **Bioinorganic Chemistry**, v. 2(3), p. 187-210, 1973. [https://doi.org/10.1016/S0006-3061\(00\)80249-5](https://doi.org/10.1016/S0006-3061(00)80249-5)
- COLINA-VEGAS, L. *et al.* Cytotoxicity of Ru(II) Piano-Stool Complexes with Chloroquine and Chelating Ligands against Breast and Lung Tumor Cells: Interactions with DNA and BSA. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 153, p. 150 – 161, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.07.016>
- CORRIE, P.G. Cytotoxic chemotherapy: Clinical aspects. **Medicine (Baltimore)**, v. 39(12), p.717–722, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2011.09.012>
- COSTA, P. *et al.* **Substâncias carboniladas e derivados**. Porto Alegre (RS): Bookman, 2003, p.412.
- COTTON, F. A. *et al.* **Advanced Inorganic Chemistry**. 6a ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 1999.
- COUTO ALMEIDA, J. *et al.* Copper(II) complexes with  $\beta$ -diketones and N-donor heterocyclic ligands: Crystal structure, spectral properties, and cytotoxic activity. **Polyhedron**, v. 89, p. 1–8, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2014.12.026>
- COUTO ALMEIDA, J. *et al.* Complexes of platinum and palladium with  $\beta$ -diketones and DMSO: Synthesis, characterization, molecular modeling, and biological studies. **Journal of Molecular Structure**, v. 1075, p. 370–376, 2014.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2014.07.023>
- COVERDALE, J. P. C. *et al.* Designing ruthenium anticancer drugs: what have we learnt from the key drug candidates? **Inorganics**, v. 7, 2019.  
<https://doi.org/10.3390/inorganics7030031>.



- DAHIYA, V.; PAL, S. The effect of paracetamol on 5 fluorouracil and bovine serum albumin interaction: a biophysical study. **AIP Conference Proceedings**, v. 1953(1), 2018. <https://doi.org/10.1063/1.5033187>
- DARUGAR, V.R. *et al.* Tautomerism, molecular structure, intramolecular hydrogen bond, and enol-enol equilibrium of para halo substituted 4,4,4-trifluoro-1-phenyl-1,3-butanedione; Experimental and theoretical studies. **Journal of Molecular Structure**, v. 1150, p. 427-437, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.09.004>
- DA SILVA, L. L. *et al.* Investigação eletroquímica e calorimétrica da interação de novos agentes antitumorais biscatiônicos com DNA. **Química Nova**, v. 35(7), p. 1318–1324, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422012000700007>
- DA SILVA, T. F. Abordagens da Química Medicinal para o Planejamento de Protótipos de Fármacos. **Revista Virtual de Química**, v. 5(5), p. 921-933, 2013. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20130066>
- DE ALMEIDA, V. L. *et al.* Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: Uma introdução. **Química Nova**, v. 28(1), p. 118–129, 2005. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000100021>
- DEEPTHI, T.V.; VENUGOPALAN, P. Synthesis, characterization and biological studies on Ni<sup>II</sup> and Cu<sup>II</sup> complexes of two novel  $\alpha,\beta$ -unsaturated 1,3-diketones related to curcuminoids. **Inorganica Chimica Acta**, v. 450, p. 243–250, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2016.05.045>
- DE GRANDIS, R. A. Avaliação toxicogenética e atividade antitumoral in vitro de complexos heteroléticos de rutênio(II): Atividades citotóxicas, genotóxicas e interação com biomoléculas. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Araraquara, SP, 2016. <http://hdl.handle.net/11449/137906>
- DESOIZE, B.; MADOULE C. *et al.* Particular aspects of platinum compounds used at present in cancer treatment. **Critical reviews in oncology/hematology**, v. 42(3), p. 317-325, 2002. [https://doi.org/10.1016/S1040-8428\(01\)00219-0](https://doi.org/10.1016/S1040-8428(01)00219-0)
- DE SOUZA, N. B. *et al.* Antiplasmodial activity of iron(II) and ruthenium(II) organometallic complexes against Plasmodium falciparum blood parasites.

**Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110(8), p. 981-988, 2015.  
<https://doi.org/10.1590/0074-02760150163>

DEVAGI, G. *et al.* Organometallic ruthenium(II) complexes containing N-S donor Schiff bases: Synthesis, structure, electrochemistry, DNA/BSA binding, DNA cleavage, radical scavenging and antibacterial activities. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 854, p. 1-14, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2017.10.036>

DEVITA, V. T. *et al.* Cancer: **Principles and Practice of Oncology** 6th edition (July 2001): by Vincent T. Devita (Editor), Samuel Hellman, Steven A. Rosenberg (Editor) By Lippincott. Williams & Wilkins Publishers. C & oncology. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins.

DING, X. *et al.* Study of the interaction of broad-spectrum antimicrobial drug sitafloxacin with human serum albumin using spectroscopic methods, molecular docking, and molecular dynamics simulation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 160, p. 397–403, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.07.053>

DKHAR, L. *et al.* Ru, Rh and Ir metal complexes of pyridyl chalcone derivatives: Their potent antibacterial activity, comparable cytotoxicity potency and selectivity to cisplatin. **Polyhedron**, v. 185, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2020.114606>

DOŁĘGA, A. *et al.* Spectroscopic and cytotoxic characteristics of (p-cymene)Ru(II) complexes with bidentate coumarins and density functional theory comparison with selected Pd(II) complexes. **Inorganica Chimica Acta**, v. 456, p. 105–112, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2016.10.036>

DUA, R. *et al.* Pharmacological Significance of Synthetic Heterocycles Scaffold: A Review. **Advances in Biological Research**, v. 5(3), p. 120–144, 2011.

DUCHANE, C. M. *et al.* Synthesis, Characterization, and Antimicrobial Activity of Rh<sup>III</sup> and Ir<sup>III</sup>  $\beta$ -Diketonato Piano-Stool Compounds. **Organometallics**, v. 37, p. 530–538, 2018. <https://doi.org/10.1021/acs.organomet.7b00742>

DYSON, P. J. Systematic design of a targeted organometallic antitumour drug in preclinical development. **CHIMIA International Journal for Chemistry**, v. 61(11), p. 698–703, 2007. <https://doi.org/10.2533/chimia.2007.698>

EBRAHIMIPOUR, S Y. *et al.* Synthesis and structure elucidation of novel salophen-based dioxo-uranium(vi) complexes: *in-vitro* and *in-silico* studies of their DNA/BSA-binding properties and anticancer activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 140, p. 172-186, 2017.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.08.068>.

- EFTINK, M. R. *et al.* **Topics in Fluorescence Spectroscopy: Protein Fluorescence**; J. R. Lakowicz, ed.; Kluwer Academic Publishers, New York, 2000, vol. 6, cap. 1 – 3.
- EJIDIKE, I. P.; AJIBADE, P. A. Synthesis, characterization, anticancer, and antioxidant studies of Ru(III) complexes of monobasic tridentate schiff bases. **Bioinorganic Chemistry and Applications**, 2016. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9672451>
- EMSLEY, J. **Nature's building blocks: an A-Z guide to the elements**. Oxford: Oxford University Press, p. 368 – 370, 2003.
- ERKKILA, K. E. *et al.* Recognition and Reaction of Metallointercalators with DNA. **Chemical Reviews**, v. 99(9), p. 2777-2796, 1999.  
<https://doi.org/10.1021/cr9804341>
- FANDZLOCH, M. *et al.* New organometallic ruthenium(II) complexes with purine analogs – a wide perspective on their biological application. **Dalton Transactions**, v. 50, p. 5557, 2021. <https://doi.org/10.1039/d0dt03974h>
- FERREIRA, F. C. Mecanismo de morte celular induzida por complexos de rutênio em diferentes linhagens tumorais. Tese (Doutorado em Biologia) – Universidade Federal de Goiás (UFG) – Goiânia, GO, 2014.  
[https://pos.icb.ufg.br/up/101/o/Tese\\_Fl%C3%A1via.pdf](https://pos.icb.ufg.br/up/101/o/Tese_Fl%C3%A1via.pdf)
- FIGUEROA-DEPAZ, Y. *et al.* Casiopeínas of Third Generations: Synthesis, characterization, cytotoxic activity and structure–activity relationships of mixed chelate compounds with bioactive secondary ligands. **Molecules**, v. 27(11), p. 3504, 2022. <https://doi.org/10.3390/molecules27113504>
- FLORES, N. *et al.* Recovery of DNA from agarose gels stained with methylene blue. **Biotechniques**, v. 13(2), p. 203-205, 1992.
- FONSECA, J. D. A. *p*-Cymene based ruthenium complexes as catalysts. Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica) – Universidade de Lisboa (ULISBOA), Portugal, PT, 2011.
- FREZZA, M. *et al.* Novel Metals and Metal Complexes as Platforms for Cancer Therapy. **Current Pharmaceutical Design**, v. 16(16), p. 1813–1825, 2010.  
<https://doi.org/10.2174/138161210791209009>
- GAN, N. *et al.* Determination of interactions between human serum albumin and niraparib through multi-spectroscopic and computational methods. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 206, p. 126–134, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.07.100>

- GANESHPANDIAN, M. *et al.* Mixed ligand copper (II) complexes of 2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline: Tridentate 3N primary ligands determine DNA binding and cleavage and cytotoxicity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 140, p. 202–212, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.07.021>
- GANESHPANDIAN, M. *et al.* Ruthenium(II)–arene complexes of diimines: Effect of diamine intercalation and hydrophobicity on DNA and protein binding and cytotoxicity. **Applied Organometallic Chemistry**, v. 32, 2017. <https://doi.org/10.1002/aoc.4154>
- GEARY, W.J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 7(1), p. 81-122, 1971. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)80009-0](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)80009-0)
- GHOSH, B. K.; CHAKRAVORTY, A. Electrochemical studies of ruthenium compounds part I. Ligand oxidation levels. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 95, p. 239 - 294, 1989. [https://doi.org/10.1016/0010-8545\(89\)80027-X](https://doi.org/10.1016/0010-8545(89)80027-X)
- GOLFETO, C. C. Nitrosilo complexos de rutênio: síntese, caracterização e avaliação de suas potencialidades citotóxicas. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, 2008. <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/6423>
- GOMES, D. *et al.* Synthetic derivatives of durcumin and their activity against *Leishmania amazonensis*. **Arzneimittelforschung**, v. 52(2), p. 120–124, 2002a. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1299867>
- GOMES, D. *et al.* Total Synthesis and anti-leishmanial activity of some curcumin analogues. **Arzneimittelforschung**, v. 52(9), p. 695–698, 2002b. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1299953>
- GORLE, A. K. *et al.* Tri- and tetra-nuclear polypyridyl ruthenium(II) complexes as antimicrobial agents. **Dalton Transactions**, v. 43, p. 16713–16725, 2014. <https://doi.org/10.1039/c4dt02139h>
- GRAF, N.; LIPPARD, S. J. Redox activation of metal-based prodrugs as a strategy for drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 993 – 1004, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.01.007>
- GREENWOOD, N. N.; EARNSHAW, A. **Chemistry of the Elements**. 2a ed. Londres: Elsevier, 1984.

- GRGURIĆ-ŠIPKA, S. *et al.* Ruthenium(II)–arene complexes with functionalized pyridines: Synthesis, characterization and cytotoxic activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 1051–1058, 2010.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.11.0>
- GUIMARÃES, I. D. L. *et al.* Synthesis, characterization and anticancer activities of cationic  $\eta^6$ -*p*-cymene ruthenium(II) complexes containing phosphine and nitrogenous ligands. **Polyhedron**, v. 224, p. 115980, 2022.  
<https://doi.org/10.1016/j.poly.2022.115980>
- GUO, X. *et al.* One-pot solid phase pyrolysis synthesis of highly fluorescent nitrogen-doped carbon dots and the interaction with human serum albumin. **Journal of Luminescence**, v. 196, p. 100–110, 2018.  
<https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2017.12.029>
- GUO, W. *et al.* Transferrin serves as a mediator to deliver organometallic ruthenium(II) anticancer complexes into cells. **Inorganic Chemistry**, v. 52, p. 5328–5338, 2013.  
<https://doi.org/10.1021/ic4002626>
- GUP, R. *et al.* Synthesis, structural characterization and DNA interaction of zinc complex from 2,6-diacetylpyridine dihydrazone and {4-[(2E)-2-(hydroxyimino)acetyl]phenoxy} acetic acid. **Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology**, v. 144, p. 42–50, 2015.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2015.02.002>
- 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.  
<https://doi.org/10.1021/jm060596m>
- HAGHDOOST, M. M. *et al.* Lipophilicity-antiproliferative activity relationship study leads to the preparation of a ruthenium(II) arene complex with considerable *in vitro* cytotoxicity against cancer cells and a lower *in vivo* toxicity in zebrafish embryos than clinically approved cisplatin. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 132, p. 282–293, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.029>
- HANAHAHAN, D. Hallmarks of Cancer: new dimensions. **Cancer Discovery**, v. 12(1), p. 31–46, 2022. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
- HANAHAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144(5), p. 646–674, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>

- HANIF, M. *et al.* Ruthenium<sup>II</sup>( $\eta^6$ -arene) Complexes of thiourea derivatives: synthesis, characterization and urease inhibition. **Molecules**, v. 19, p. 8080-8092, 2014. <https://doi.org/10.3390/molecules19068080>
- HANNON, M. J. Supramolecular DNA recognition. **Chemical Society Reviews**, v. 36, p. 280, 2007. <https://doi.org/10.1039/B606046N>
- HASANZADEH, A. *et al.* Multispectral and molecular docking studies on the interaction of human serum albumin with iohexol. **Journal of Molecular Liquids**, v. 248, p. 459–467, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2017.10.096>
- HARTINGER, C. G. *et al.* From bench to bedside - preclinical and early clinical development of the anticancer agent indazolium trans-[tetrachlorobis(1Hindazole)ruthenate(III)] (KP1019 or FFC14A). **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 100(5-6), p. 891-904. 2006. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2006.02.013>
- HERAVI, M. M.; ZADSIRJAN, V. Prescribed drugs containing nitrogen heterocycles: an overview. **RSC Advances**, v. 10, p. 44247–44311, 2020. <https://doi.org/10.1039/D0RA09198G>
- HIBBERT, F.; EMSLEY, J. Hydrogen bonding and chemical reactivity. **Advances in Physical Organic Chemistry**, v. 26, p. 255-379, 1990. [https://doi.org/10.1016/S0065-3160\(08\)60047-7](https://doi.org/10.1016/S0065-3160(08)60047-7)
- HOLOHAN, C. *et al.* Cancer drug resistance: an evolving paradigm. **Nature Reviews Cancer**, v. 13(10), p. 714-726, 2013. <https://doi.org/10.1038/nrc3599>
- HOTZE, A. C. G. *et al.* New cytotoxic and water-soluble bis(2-phenylazopyridine)ruthenium(II) complexes. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46(9) p. 1743-1750, 2003. <https://doi.org/10.1021/jm021110e>
- HUANG, H. *et al.* Highly charged Ruthenium(II) polypyridyl complexes as lysosome-localized photosensitizers for two-photon photodynamic therapy. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 54, p. 14049 – 14052, 2015. <https://doi.org/10.1002/anie.201507800>
- HUANG, H. *et al.* Study on the interaction of retinoic acids to human serum albumin by fluorescence and circular dichroism spectroscopy. **Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 4(2), p. 1–7, 2017. <https://doi.org/10.4172/2380-2391.1000192>

- HUSAIN, M. A. *et al.* Elucidating the interaction of sulindac with calf thymus dna: biophysical and in silico molecular modelling approach. **New Journal of Chemistry**, v. 24, 2017. <http://dx.doi.org/10.1039/c7nj03698a>.
- IHMELS, H. OTTO, D. Intercalation of organic dye molecules into double-stranded DNA –general principles and recent developments. **Topics in Current Chemistry**, v. 258, p. 161–204, 2005. <https://doi.org/10.1007/b135804>
- INCA. **O que é câncer**. Instituto Nacionaldo Câncer (INCA) - Ministério da Saúde. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/o-que-e-cancer/>  
Acesso em: 04 set. 2022a.
- INCA. **Estimativa 2020 Incidência de Câncer no Brasil**. 2022. Instituto Nacional do Câncer (INCA) -Ministério da Saúde. Disponível em:  
<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/>  
Acesso em: 04 set. 2022b.
- INCA. **INCA estima 704 mil casos de câncer por ano no Brasil até 2025**. 2022. Instituto Nacional do Câncer (INCA) -Ministério da Saúde. Disponível em:  
<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/noticias/2022/inca-estima-704-mil-casos-de-cancer-por-ano-no-brasil-ate-2025>  
Acesso em: 13 dez. 2022c.
- ISMAIL F. M. D. Important fluorinated drugs in experimental and clinical use. **Journal of Fluorine Chemistry**, v. 118, p. 27–33, 2002.  
[https://doi.org/10.1016/S0022-1139\(02\)00201-4](https://doi.org/10.1016/S0022-1139(02)00201-4)
- ISMAIL, L. A. *et al.* Hybrid organoruthenium(II) complexes with thiophene-  $\beta$ -diketo-benzazole ligands: Synthesis, optical properties, *ct*-DNA interactions and anticancer activity. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 949, p. 121960, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2021.121960>
- JAKUPEC, M. A. *et al.* Antitumour metal compounds: more than theme and variations. **Dalton Transactions**, v. 2, p. 183-194, 2008. <https://doi.org/10.1039/B712656P>
- JENSEN, S. *et al.* Facile Preparation of  $\eta^6$ -*p*-cymene ruthenium diphosphine complexes. crystal structure of  $[(\eta^6$ -*p*-cymene)Ru(dppf)Cl]PF<sub>6</sub>. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 556, p. 151 – 158, 1998.  
[https://doi.org/10.1016/S0022-328X\(97\)00776-6](https://doi.org/10.1016/S0022-328X(97)00776-6)
- JONES, C.; THORNBACK, J. **In Medicinal Applications of Coordination Chemistry**; RSC Publishing: Cambridge, 2007; pp 1–14.  
<https://doi.org/10.1039/9781847557759>



- JOVANOVIĆ, S.V. *et al.* How curcumin works preferentially with water soluble antioxidants. **Journal of the American Chemical Society**, v. 123(13), p. 3064-3068, 2001. <http://dx.doi.org/10.1021/ja003823x>
- KALAIARASI, G. *et al.* New organoruthenium(II) complexes containing N, X-donor (X = O, S) heterocyclic chelators: Synthesis, spectral characterization, *in vitro* cytotoxicity and apoptosis investigation. **Inorganica Chimica Acta**, v. 535, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2022.120863>
- KANC, B. *et al.* Investigation of neohesperidin dihydrochalcone binding to human serum albumin by spectroscopic methods. **Journal of Luminescence**, v. 155, p. 198–204, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2014.06.032>
- KARAMI, K. *et al.* Synthesis, spectroscopic characterization and *in vitro* cytotoxicities of new organometallic palladium complexes with biologically active  $\beta$ -diketones; Biological evaluation probing of the interaction mechanism with DNA/Protein and molecular docking. **Journal of Molecular Structure**, v. 1154, p. 480–495, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.10.059>
- KAUR, A. *et al.* Probing the binding ability of vitamin B1 with bovine serum albumin: Calorimetric, light scattering, spectroscopic and volumetric studies. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 127, p. 59–70, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2018.07.009>
- KECK, M. V.; LIPPARD, S. J. Unwinding of supercoiled DNA by platinum-ethidium and related complexes. **Journal of the American Chemical Society**, v.114, p. 3386-3390, 1992. <https://doi.org/10.1021/ja00035a033>
- 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. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00271>
- KEPPLER, B. K. *et al.* New tumor-inhibiting metal complexes. **Cancer Treatment Reviews**, v. 17(2-3), p. 261-277, 1990. [https://doi.org/10.1016/0305-7372\(90\)90057-M](https://doi.org/10.1016/0305-7372(90)90057-M)
- KHAMIDULLINA, L. A. *et al.* Unsymmetrical trifluoromethyl methoxyphenyl  $\beta$ -diketones: effect of the position of methoxy group and coordination at cu(II) on biological activity. **Molecules**, v. 26, p. 6466, 2021. <https://doi.org/10.3390/molecules26216466>



- KILPIN, K.J.; DYSON, P.J. Enzyme inhibition by metal complexes: Concepts, strategies and applications. **Chemistry Science**, v. 4, p. 1410–1419, 2013.  
<https://doi.org/10.1039/C3SC22349C>
- KLADNIK, J. *et al.* Organoruthenium complexes with benzo-fused pyridiones overcome platinum resistance in ovarian cancer cells. **Cancers (Basel)**, v. 13(10), p. 2493, 2021. <https://doi.org/10.3390/cancers13102493>
- KLJUN, J.; TUREL, I.  $\beta$ -Diketones as scaffolds for anticancer drug design –from organic building block to natural products and metallodrug components. **European Journal of Inorganic Chemistry**, p. 1655–1666, 2017.  
<https://doi.org/10.1002/ejic.201601314>
- KLJUN, J. *et al.* Pyridione-based ruthenium complexes as inhibitors of aldo–keto reductase 1C enzymes and anticancer agents. **Dalton Transactions**, v. 45, p. 11791–1800, 2016. <https://doi.org/10.1039/C6DT00668J>.
- KOIDE, T. *et al.* Leishmanicidal effect of curcumin *in vitro*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 25(1), p. 131–133, 2002.  
<https://doi.org/10.1248/bpb.25.131>
- KOLEV, T. M. *et al.* DFT and experimental studies of the structure and vibrational spectra of curcumin. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 102, p. 1069–1079, 2005. <https://doi.org/10.1002/qua.20469>
- KONDURI, S. *et al.* Design and Synthesis of "chloropicolinate amides and urea derivatives" as novel inhibitors for *Mycobacterium tuberculosis*. **ACS Omega**, v. 6(2), p. 1657–1667, 2021. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c05690>
- KONG, Y. *et al.* Bioactive Ruthenium(II)-arene complexes containing modified 18 $\beta$ glycyrrhetic acid ligands. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 182, p. 194–199, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.02.004>
- KOSTOVA, J. Ruthenium complexes as anticancer agents. **Current Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 1085–1107, 2006.  
<https://doi.org/10.2174/092986706776360941>
- KÜNDIG, E. P. **Synthesis of transition metal  $\eta^6$ -arene complexes**. Berlin, Springer, p. 3–20, 2004. <https://doi.org/10.1007/b94489>
- KUMAR, R. R. *et al.* 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.  
<https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2018.03.013>

- KURZWERNHART, A. *et al.* Targeting the DNA-topoisomerase complex in a double-strike approach with a topoisomerase inhibiting moiety and covalent DNA binder. **Chemical Communications**, v. 48, p. 4839-4841, 2012.  
<https://doi.org/10.1039/c2cc31040f>
- LAFAYETTE, E. A. *et al.* Synthesis of novel indole derivatives as promising DNA-binding agents and evaluation of antitumor and antitopoisomerase I activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 136, p. 511-522, 2017.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.05.012>
- LAKOWICZ, J. R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. 3a ed., Springer Science, 2006. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-46312-4>
- LAWRENCE *et al.* **Basic Coordination Chemistry of Ruthenium**. In: Browne, W. R. (ed.); Holder, A. A. (ed.); Lawrence, M. A. (ed.); Bullock, J. L. (ed.); Lilge, L. (ed.). *Ruthenium Complexes: Photochemical and Biomedical Applications*. Hoboken: John Wiley & Sons, 2017. p. 25 – 41.  
<https://doi.org/10.1002/9783527695225.ch2>
- LEIJEN, S. *et al.* Phase I/II study with ruthenium compound NAMI-A and gemcitabine in patients with non-small cell lung cancer after first line therapy. **Investigational New Drugs**, v. 33, p. 201 – 214, 2015.  
<https://doi.org/10.1007/s10637-014-0179-1>.
- LI, F. *et al.* Ruthenium complexes as antimicrobial agents. **Chemical Society Reviews**, v. 44, p. 2529–2542, 2015. <https://doi.org/10.1039/c4cs00343h>
- LI, H., QIAN, Z. M. Transferrin/transferrin receptor-mediated drug delivery. **Medical Research Reviews**, v. 22, p. 225-250, 2002. <https://doi.org/10.1002/med.10008>
- LIMA, B. A. V. Avaliação das atividades citotóxicas de alguns complexos fosfínicos de rutênio. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 2010. <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/6465>
- LIMA, L. M. Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira. **Química Nova**, v. 30(6), p. 1456-1468, 2007.  
<https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000600015>
- LIU, B *et al.* *In vitro* study on the interaction of 4,4-dimethylcurcumin with calf thymus DNA. **Journal of Luminescence**, v.166, p.48–53, 2012.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jlumin.2015.04.037>

- LIU, J. *et al.* Harnessing ruthenium(II) as photodynamic agents: Encouraging advances in cancer therapy. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 363, p. 17–28, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2018.03.002>
- LOPES, P.S. *et al.* A new copper(II) complex with 2-thenoyltrifluoroacetone and 2,2-bipyridine: Crystal structure, spectral properties and cytotoxic activity. **Journal of Molecular Structure**, v. 1034, p. 84–88, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molstruc.2012.09.022>
- LOON, J. C. V. Analytical chemistry of the noble metals. **Pure and Applied Chemistry**, v. 49, p. 1495 – 1505, 1977. <https://doi.org/10.1351/pac197749101495>
- LOWERY, A.H. *et al.* Structure of acetylacetone by electron diffraction. **Journal of the American Chemical Society**, v. 93, p. 6399-6403, 1971. <https://doi.org/10.1021/ja00753a011>
- MA, H. *et al.* Echinacoside selectively rescues complex I inhibition-induced mitochondrial respiratory impairment via enhancing complex II activity. **Neurochemistry International**, v. 125, p. 136-143, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2019.02.012>
- MA, D. *et al.* Molecular modeling of drug DNA interactions: Virtual screening to structure-based design. **Biochimie** v. 93(8), p. 1252-1266, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2011.04.002>
- MA, D. L. *et al.* Development of natural product-conjugated metal complexes as Cancer therapies. **International Journal of Molecular Science**, v. 20(2), p. 341, 2019. <https://doi.org/10.3390/ijms20020341>
- MACÊDO, R. R. Síntese, caracterização e estudo das estruturas eletrônicas de complexos à base de rutênio(II) contendo  $\beta$ -dicetonas: avaliação da atividade leishmanicida. 2019. 147 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.  
Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2019.324>.
- MAŁECKI, J. G. *et al.* Synthesis, molecular, crystal and electronic structure of [RuCl<sub>3</sub>(NO)(PPh<sub>3</sub>)(HPz)]. **Polyhedron**, v. 27, p. 359-368, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2004.12.001>
- MANDAL, P. *et al.* Ruthenium(II) arene NSAID complexes: inhibition of cyclooxygenase and antiproliferative activity against cancer cell lines. **Dalton Transactions**, v. 2, p. 517-527, 2018. <https://doi.org/10.1039/C7DT03637J>

- MARCHESI, M. S. P. *et al.* Chemical mechanism of controlled nitric oxide release from trans-[RuCl([15]aneN<sub>4</sub>)NO](PF<sub>6</sub>)<sub>2</sub> as a vasorelaxant agent. **Transition Metal Chemistry**, v. 37(5), p. 475–479, 2012.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s11243-012-9612-5>
- MARI, C. *et al.* Combination of Ru(II) complexes and light: new frontiers in cancer therapy. **Chemistry Science**, v. 6(5), p. 2660–2686, 2015.  
<http://dx.doi.org/10.1039/C4SC03759F>
- MARKOVIĆ, O. S. *et al.* Human serum albumin binding of certain antimalarials. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 192, p. 128–139, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.10.061>
- MARTINEZ-ALONSO, M. *et al.* Derivation of structure–activity relationships from the 87 anticancer properties of Ruthenium(II) arene complexes with 2-aryldiazole ligands. **Inorganic Chemistry**, v. 53, p. 11274–11288, 2014.  
<https://doi.org/10.1021/ic501865h>
- MARTÍNEZ, V. R. *et al.* Azilsartan and its Zn (II) complex. Synthesis, anticancer mechanisms of action and binding to bovine serum albumin. **Toxicology in Vitro**, v. 48, p. 205–220, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2018.01.009>
- MARSZAUKOWSKI, F. *et al.* Ruthenium(II)-arene complexes with monodentate aminopyridine ligands: Insights into redox stability and electronic structures and biological activity. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 881, p. 66–78, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2019.04.002>
- MATEYISE, N. G. S. *et al.* Synthesis, characterization, DFT and biological activity of oligothiophene β-diketone and Cu-complexes. **Polyhedron**, v. 205, p. 115290, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2021.115290>
- MATHEW, B. *et al.* Synthesis, in silico preclinical evaluation, antidepressant potential of 5-substituted phenyl-3-(thiophen-2-yl)-4,5-dihydro-1h-pyrazole-1-carboxamides. **Biomedicine & Aging Pathology**, v. 4, p. 327–333, 2014.  
<https://doi.org/10.1016/j.biomag.2014.08.002>
- MEDICI, S. *et al.* Noble metals in medicine: Latest advances. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 284, p. 329–350, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.08.002>
- MEHROTRA, R. C. *et al.* **Metal beta-diketones and allied derivatives**. New York: Academic Press, VIII, 382 pp., 1978.

- MESSORI, L. *et al.* Promising in Vitro anti-alzheimer properties for a ruthenium(III) complex. **ACS Medicinal Chemistry Letters**, v. 4(3), p. 329–332, 2013. <http://dx.doi.org/10.1021/ml3003567>
- MINISTÉRIO DASAÚDE. **Sistema de Informações Sobre Mortalidade-SIM**. 2022. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defctohtm.exe?sim/cnv/obt10uf.def>  
Acesso em: 2 set. 2022.
- MINNA, J. **Neoplasias de pulmão**. In Harrison: Medicina interna, 1:551–562. 17a ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill. 2008.
- MIRANDA, V. M. *et al.* *In vitro* leishmanicidal activity and theoretical insights into biological action of Ruthenium(II) organometallic complexes containing anti-inflammatories, **Biometals**, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10534-018-0145-z>
- MIRZAEI-KALAR, Z. *In vitro* binding interaction of atorvastatin with calf thymus DNA: multispectroscopic, gel electrophoresis and molecular docking studies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 161, p. 101-109, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.08.033>.
- MISHRA, R. *et al.* Thiophene scaffold as prospective antimicrobial agent: a review. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 55, p. 2019-2034, 2018. <https://doi.org/10.1002/jhet.3249>
- MITROVIC, A. *et al.* Clioquinol–ruthenium complex impairs tumour cell invasion by inhibiting cathepsin B activity. **Dalton Transactions**, v. 45, p. 16913-16921, 2016. <https://doi.org/10.1039/C6DT02369J>.
- MJOS, K.D.; ORVIG, C. Metallodrugs in Medicinal Inorganic Chemistry. **Chemical Reviews**, v. 114, p. 4540-4563, 2014. <https://doi.org/10.1021/cr400460s>
- MOHAN, N. *et al.* Synthesis, structure and anticancer activity of (η<sup>6</sup>-benzene) ruthenium(II) complexes containing aroylhydrazone ligands. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 807, p. 45-51, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2016.01.033>
- MOHAN, N. *et al.* *Synthesis*, antiproliferative activity and apoptosis-promoting effects of arene ruthenium(II) complexes with N, O chelating ligands. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 59, p. 124-131, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2018.01.022>

- MÔNICA, S. *et al.* 2017. DNA binding and topoisomerase inhibition : How can these mechanisms be explored to design more specific anticancer agents? **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p. 1538-1556, 2017.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.11.055>
- MONTANI, M. *et al.* The water soluble ruthenium(II) organometallic compound [Ru(*p*-cymene)(bis(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)methane)Cl]Cl suppresses triple negative breast cancer growth by inhibiting tumorin filtration of regulatory T cells. **Pharmacological Research**, v. 107, p. 282–290, 2016.  
<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.03.032>
- MOREIRA, M. B. *et al.* Investigação da supressão de fluorescência de soro albumina bovina e humana por complexo de rutênio. **Química Nova**, v. 38(2), p. 227-232, 2015. <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20140315>
- MORRIS, R. E. *et al.* Inhibition of cancer cell growth by Ruthenium(II) arene complexes. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, p. 3616-3621, 2001.  
<https://doi.org/10.1021/jm010051m>
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay of cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- MURRAY, B. S. *et al.* The development of RAPTA compounds for the treatment of tumors. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 306, p. 86-114, 2016.  
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2015.06.014>
- NAFISI, S. *et al.* Curcumin binding to DNA and RNA. **DNA and Cell Biology**, v. 28(4), p. 201-8, 2009. <https://doi.org/10.1089/dna.2008.0840>
- NAGANO, T. *et al.* Riboflavin transporter SLC52A1, a target of p53, suppresses cellular senescence by activating mitochondrial complex II. **Molecular Biology of the Cell**, v. 32(10), p. 1–10, 2021. <https://doi.org/10.1091/mbc.E21-05-0262>
- NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds**. 5<sup>a</sup> ed. Nova York: JOHN WILEY & SONS, 1997.
- NAKANO, K. *et al.* Induction of Apoptosis by , beta-diketones in Human Tumor Cells. **Anticancer Reseach**, v. 24, p. 711-718, 2004.
- NAVEENRAJ, S., ANANDAN, S. *et al.* Binding of serum albumins with bioactive substances – Nanoparticles to drugs. **Journal of Photochemistry & Photobiology, C: Photochemistry Reviews**, v. 14, p. 53–71, 2013.  
<https://doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2012.09.001>

- NAYAK, S.G. *et al.* Novel pyrazole-clubbed thiophene derivatives via Gewald synthesis as antibacterial and anti-inflammatory agents. **Archiv der Pharmazie**, v. 12, p. 353, 2020. <https://doi.org/10.1002/ardp.202000103>
- NAZAROV, A. A. *et al.* Opening the lid on piano-stool complexes: An account of ruthenium(II) arene complexes with medicinal applications. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 751, p. 251-260, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2013.09.016>
- NCI, N. C. I. **What Is Cancer?**, 2022.  
Disponível em: <http://www.cancer.gov/aboutcancer/what-is-cancer>  
Acesso em: 06 set 2022.
- NDAGI, U. *et al.* Metal complexes in Cancer therapy – an update from drug design perspective. **Drug Desing Development and Therapy**, v. 11, p. 599–616, 2017. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S119488>
- NEKOEI, A.R. *et al.* Conformation and vibrational spectra and assignment of 2-thenoyltrifluoroacetone. **Journal of Molecular Structure**. v. 932, p. 112-122, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2009.05.045>
- NEVES A.P.; VARGAS M. D. Complexos de Platina(II) na Terapia do Câncer. **Revista Virtual de Quimica**, v.3(3), p. 196-209, 2011. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20110023>
- NIAEI, N. *et al.* Molecular interaction of some cardiovascular drugs with human serum albumin at physiological like conditions: A new approach. **Journal of Molecular Recognition**, v. 31, n. 8, p. 1–9, 2018. <https://doi.org/10.1002/jmr.2715>
- NIKOLIĆ, S. *et al.* Strong *in vitro* cytotoxic potential of new Ruthenium–cymene complexes. **Organometallics**, v. 34, p. 3464–3473, 2015. <https://doi.org/10.1021/acs.organomet.5b00041>
- ONG, Y. C. *et al.* Metal compounds against neglected tropical diseases. **Chemical Reviews**, v. 19, p. 730 – 796, 2019. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00338>.
- PAITANDI, R. P. *et al.* Synthesis, characterization, DNA binding and cytotoxicity of fluoro-dipyrrin based arene Ruthenium(II) complexes. **Inorganica Chimica Acta**, v. 454, p. 117–127, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2016.03.003>
- PAL, M. *et al.* 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. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.03.015>



- PARVEEN, M. *et al.* Biology structure elucidation and DNA Binding specificity of natural compounds from *cassia siamea leaves*: A Biophysical Approach. **Journal of Photochemistry & Photobiology**, **B**, v. 159, p. 218–228, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.03.060>
- PASTUSZKO, A. *et al.* The synthesis, lipophilicity and cytotoxic effects of new ruthenium(II) arene complexes with chromone derivatives. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 159, p. 133–141, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2016.02.020>
- PATIL, P. S. *et al.* Novel isoniazid embedded triazole derivatives: Synthesis, antitubercular and antimicrobial activity evaluation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 30, p. 127434, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127434>
- 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(5), p. 1–10, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064242>
- PAWAR, S.; OTTOOR, D. Spectroscopic and molecular docking study to understand the binding interaction of rosiglitazone with bovine serum albumin in presence of valsartan. **Journal of Luminescence**, v. 197, p. 200–210, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2018.01.017>
- PAZINATO, J. Síntese e caracterização de complexos de  $\eta^6$ -arenorutênio (II) e 2,2'-bisbipiridinarutênio com ligantes baseados em feniletinil-piridina e fenilazopiridina. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2014. <http://hdl.handle.net/1884/3700>
- PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases. **Journal of the American Chemical Society**, v. 85(22), p. 3533-3539, 1963. <https://doi.org/10.1021/ja00905a001>
- PEDRAZA-FARINA, L. G. Mechanisms of oncogenic cooperation in cancer initiation and metastasis. **Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 79(3-4), p. 95-103, 2006.
- PEREIRA, E. S. *et al.* Reduction potential of Ru<sup>III</sup>-based complexes with potential antitumor activity and thermodynamics of their hydrolysis reactions and interactions with possible biological targets: a theoretical investigation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 30, p. 571-584, 2019. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20180206>



- PETERS JR., T. **All About Albumin; Biochemistry, Genetics and Medical Applications**. Academic Press: San Diego, 1995.
- PETERS, T. J. Serum albumin. **Advances in Protein Chemistry**, v. 37, p. 161-245, 1985.  
[https://doi.org/110.1016/s0065-3233\(08\)60065-0](https://doi.org/110.1016/s0065-3233(08)60065-0)
- PETTINARI, R. *et al.* Ruthenium(II)-arene complexes with dibenzoylmethane induce apoptotic cell death in multiple myeloma cell lines. **Inorganica Chimica Acta**, v.454, p.139–148, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2016.04.031>
- PRAGTI *et al.* Modulation of catalytic and biomolecular binding properties of ruthenium(II)-arene complexes with the variation of coligands for selective toxicity against cancerous cells. **Polyhedron**, v. 207, p. 115379, 2021.  
<https://doi.org/10.1016/j.poly.2021.115379>
- PRECUPAS, A. *et al.* Interaction of caffeic acid with bovine serum albumin is complex: Calorimetric, spectroscopic and molecular docking evidence. **New Journal of Chemistry**, v. 41(24), p. 15003–15015, 2017.  
<https://doi.org/10.1039/C7NJ03410E>
- QAIS, F. A., AHMAD, I. *In Vitro* Interaction of cefotaxime with Calf Thymus DNA : insights from spectroscopic, calorimetric and molecular modelling studies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 149, p. 193-205, 2017.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2017.10.016>.
- QIAN, C. *et al.* The induction of mitochondriamediated apoptosis in cancer cells by ruthenium(II) asymmetric complexes. **Metallomics**, v. 5, p. 844 – 854, 2013.  
<https://doi.org/10.1039/c3mt20270d>.
- RAI, Y. *et al.* Mitochondrial biogenesis and metabolic hyperactivation limits the application of MTT assay in the estimation of radiation induced growth inhibition. **Scientific Reports**, v. 8(1), p. 1–15, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19930-w>
- RAMADEVI, P. *et al.* Mixed ligand ruthenium arene complexes containing N-ferrocenylamino acids: Biomolecular interactions and cytotoxicity against MCF-7 cell line. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 833, p. 80-87, 2017.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jorganchem.2017.01.020>
- RANFORD, J. D. *et al.* Dicopper(II) Complexes of the antitumor analogues acylbis(salicylaldehyde hydrazones) and crystal structures of monomeric [Cu<sub>2</sub>(1,3-propanediolbis(salicylaldehydehydrazone))(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>](ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O and Polymeric

- [{Cu<sub>2</sub>(1,6-hexanedioylbis(salicylaldehydehydrazone))(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH)<sub>2</sub>}m], (ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>m, m(C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH). **Inorganic Chemistry**, v. 37, p. 1226-1231, 1998.  
<https://doi.org/10.1021/ic970805g>
- RAUSCH, M. *et al.* Recent Considerations in the application of RAPTA-C for Cancer treatment and perspectives for its combination with immunotherapies. **Advanced Therapeutics**, v. 2, 2019. <https://doi.org/10.1002/adtp.201900042>
- REEDIJK, J. New clues for platinum antitumor chemistry: Kinetically controlled metal binding to DNA. **PNAS**, v. 100, p. 3611-3616, 2003.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0737293100>
- REEDIJK, J. Metal-Ligand Exchange Kinetics in Platinum and Ruthenium Complexes. **Platinum Metals Reviews**, v. 52, 2008.  
<https://doi.org/10.1595/147106708x255987>
- RILAK, A. *et al.* Kinetics and mechanism of the reactions of Ru(II)-arene complex with some biologically relevant ligands. **Polyhedron**, v. 30, p.2339–2344, 2011.  
<https://doi.org/10.1016/j.poly.2011.06.019>
- RISS, T. L. *et al.* Cell Viability Assays. **Advancing Translational Sciences**, 2004.
- RIXE, O. *et al.* Oxaliplatin, tetraplatin, cisplatin, and carboplatin: Spectrum of activity in drug-resistant cell lines and in the cell lines of the national cancer institute's anticancer drug screen panel. **Biochemical Pharmacology**, v. 52, p. 1855-1865, 1996. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(97\)81490-6](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(97)81490-6)
- ROCHA, J. S. Síntese e caracterização de complexos de Prata (I): Investigação da citotoxicidade e interação com o DNA. Dissertação (Mestrado em química) - Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), São Carlos, SP, 2020.  
<https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/13231>
- ROYAL CHEMICAL SOCIETY (RSC), Ruthenium.  
Disponível em: <https://www.rsc.org/periodic-table/element/44/ruthenium>.  
Acessado em: 01 set. 2022.
- ROY, A. *et al.* Underlying molecular interaction of bovine serum albumin and linezolid: A biophysical outlook. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 36, n. 2, p. 387–397, 2017. <https://doi.org/10.1080/07391102.2017.1278721>
- RYAN, R. T. *et al.* Biological Investigations of Ru(II) Complexes with Diverse β-Diketone Ligands. **European Journal of Inorganic Chemistry**, p. 1–12, 2021.  
<https://doi.org/10.1002/ejic.202100468>

- SANT'ANNA, C. M. R. Glossário de termos usados no planejamento de fármacos (Recomendações da IUPAC para 1997. **Química Nova**, v. 25(3), 2002. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000300027>
- SARNIGUET, C. *et al.* Water-soluble ruthenium complexes bearing activity against protozoan parasites. **Biological Trace Element Research**, v. 159(1-3), p. 379–392, 2014. <https://doi.org/10.1007/s12011-014-9964-0>
- SAVA, G. **Ruthenium compounds in cancer therapy - In Metal Compounds in Cancer Therapy**; Fricker, S. P., Ed.; Springer Science + Business Media: Scarborough, 1994; pp 66–87. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-1252-9\\_4](https://doi.org/10.1007/978-94-011-1252-9_4)
- SCOLARO, C. *et al.* Hydrolysis study of the bifunctional antitumour compound RAPTA-C, [Ru( $\eta^6$ -*p*-cymene)Cl<sub>2</sub>(pta)]. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 102, p. 1743–1748, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2008.05.004>
- SEDDON, E. A.; SEDDON, K. R. **The chemistry of ruthenium**. New York: Elsevier, 1984.
- SERŠEN, S. *et al.* Novel organoruthenium(II)  $\beta$ -Diketonates as catalysts for ortho arylation via C–H activation. **Organometallics**, v. 32(2), p. 609–616, 2013. <http://dx.doi.org/10.1021/om3011189>
- SERŠEN, S. *et al.* Structure-related mode-of-action differences of anticancer organoruthenium complexes with  $\beta$ -Diketonates. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, p. 3984–3996, 2015. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00288>
- SHVYDKIY, N. V.; PEREKALIN, D. S. Reactions of arene replacement in transition metal complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 411, p. 213–238, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213238>
- SIEGEL, R. L. *et al.* Cancer Statistics, 2022. **CA: a Cancer Journal for clinicians**, v. 72(1), p. 7–33, 2022. <https://doi.org/10.3322/caac.21708>
- SIKORA, E. *et al.* Inhibition of proliferation and apoptosis of human and rat T lymphocytes by curcumin, a curry pigment. **Biochemical. Pharmacology**, v. 54(8), p. 899 – 907, 1997. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(97\)00251-7](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(97)00251-7)
- SILVA, D. *et al.* Verifying the Competition between haloperidol and biperiden in serum albumin through a model based on spectrofluorimetry. **AIP Conference Proceedings**, v. 1906(1), p. 10–14, 2017. <https://doi.org/10.1063/1.50124051>
- SILVA, P. P. *et al.* Two new ternary complexes of copper(II) with tetracycline or doxycycline and 1,10-phenanthroline and their potential as antitumoral:

- Cytotoxicity and DNA cleavage. **Inorganic Chemistry**, v. 50(14), p. 6414–6424, 2011. <https://doi.org/10.1021/ic101791r>
- SILVEIRA-LACERDA, E. P. *et al.* The ruthenium complex *cis*-(Dichloro)Tetraammineruthenium(III) chloride presents immune stimulatory activity on human peripheral blood mononuclear cells. **Biological Trace Element Research**, v. 133(3), p. 270–283, 2010. <https://doi.org/10.1007/s12011-009-8440-8>
- SILVERSTEIN, R. M. **Spectrometric identification of Organic Compounds**, 7th Ed.; Jonh Wiley e Sons, Inc., 2005.
- SILVESTRI, C., BRODBELT, J. S. Tandem Mass Spectrometry for characterization of covalent adducts of DNA with anti-cancer therapeutics. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 32(4), p. 247–266, 2013. <https://doi.org/10.1002/mas.21363>
- SIMOVIĆ, A. R. *et al.* Chemistry and reactivity of Ruthenium(II) complexes: DNA/protein binding mode and anticancer activity are related to the complex structure. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 398, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.07.008>
- SINGH, S.; JOSHI, Y. C. Synthesis and antimicrobial screening of novel  $\beta$ -diketones containing 2-substituted 2-imidazoline moiety. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5(4), p. 398–404, 2013.
- SINGH, A. *et al.* Thiophene derivatives: a potent multi-targeted pharmacological scaffold. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 57, p. 2658–2703, 2020. <https://doi.org/10.1002/jhet.3990>
- SIQUEIRA, C. A. T. Aspectos químicos e atividade antiprotozoária in vitro de *Annona Coriacea Mart*(*Annonaceae*). Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, 2010. <http://dx.doi.org/10.11606/D.9.2010.tde-31012011-140840>
- SITATI, M. K. *et al.* The rate of substitution from  $\eta^6$ -arene ruthenium(II) complexes. **Transition Metal Chemistry**, v. 45, p. 305–315, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11243-020-00380-1>
- SKOCZYNSKA, A. *et al.* Synthesis, structural analysis, redox properties and in vitro antitumor evaluation of half-sandwich complexes of Ru(II) with aminocoumarins. **Polyhedron**, v. 127, p. 307–314, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.poly.2017.02.011>

- SKOCZYNSKA, A. *et al.* Spectroscopic and cytotoxic characteristics of (*p*-cymene)Ru(II) complexes with bidentate coumarins and density functional theory comparison with selected Pd(II) complexes. **Inorganica Chimica Acta**, v. 456, p. 105–112, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2016.10.036>
- SLANOGLU, M. A. Electrochemical and Spectroscopic Studies of the Interaction of Proflavine with DNA. **Analytical Sciences**, v. 22(3), p. 439-443, 2006. <https://doi.org/10.2116/analsci.22.439>..
- SLEEP, D. *et al.* Albumin as a versatile platform for drug half-life extension. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1830 (12), p. 1–9, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.04.023>
- SOBRINHO, L. L. G. Complexos de rutênio(II) contendo 2-mercaptoimidazol e derivados: Síntese, caracterização e avaliação da atividade biológica. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, MG, 2015. <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/17436>
- SOLANS, X. *et al.* Structure of (1,10-phenanthroline)(salicylaldehydato)copper(II) nitrate. **Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications**, v. 43, p. 428–430, 1987. <https://doi.org/10.1107/S0108270187095507>
- SOLANS, X. *et al.* Structures of chloro(glycinato)(1,10-phenanthroline)copper(II) monohydrate (I) and aqua(1,10-phenanthroline)(L-phenylalaninato)copper(II) nitrate monohydrate(II). **Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications**, v. 44, p. 628–631, 1988. <https://doi.org/10.1107/s0108270187012344>
- SONKAR, C. *et al.* Selective anticancer activities of ruthenium(II)-tetrazole complexes and their mechanistic insights. **Biometals**, v. 34, p. 795–812, 2021. [https://doi.org/10.1007/s10534-021-00308-x\(0123456789](https://doi.org/10.1007/s10534-021-00308-x(0123456789)
- SOUSA, L. M. *et al.* DNA binding, cleavage, apoptosis and cytotoxicity studies of three heteroleptic nickel complexes bearing  $\beta$ -diketones. **Inorganica Chimica Acta**, v. 511, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2020.119824>
- STRATTON, M. R. *et al.* The cancer genome. **Nature**, v. 458 (7239), p. 719-24, 2009. <https://doi.org/10.1038/nature07943>
- SUDHINDRA, P. *et al.* Recent advances in cytotoxicity, cellular uptake and mechanism of action of ruthenium metallodrugs: A review. **Polyhedron**, v. 192, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2020.114827>

- SUBARKHAN, M. *et al.* Derivation of structure–activity relationships from the anticancer properties of Ruthenium(II) arene complexes with 2-aryldiazole ligands. **Inorganic Chemistry**, v. 53, p.11274–11288, 2014.  
<https://dx.doi.org/10.1021/ic501865h>
- SUETH-SANTIAGO, V. *et al.* Curcumina, o pó dourado do açafão-da-terra: introspecções sobre química e atividades biológicas. **Química Nova**, v. 38(4), p. 538-552, 2015. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150035>
- SUMANTRAN, V. N. Cellular Chemosensitivity Assays: An Overview. In **Methods in Molecular Biology**, v. 731, p. 219–236, 2011.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-61779-80-5\\_19](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-80-5_19).
- SUN, H. *et al.* Transferrin as a metal ion mediator. **Chemical Reviews**, v. 99, p. 2817-2842, 1999. <https://doi.org/10.1021/cr980430w>
- SUN, Y.M. *et al.* Theoretical elucidation on the antioxidant mechanism of curcumin: a DFT study. **Organic Letters**, v. 4(17), p. 2909-2911, 2002.  
<http://dx.doi.org/10.1021/ol0262789>
- SUNG, H. *et al.* Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. **CA: a Cancer Journal for clinicians**, v. 71(3), p. 209–249, 2021. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- THOTA, S. *et al.* Ru(II) Compounds: Next-Generation Anticancer Metallotherapeutics? **Journal of Medicinal Chemistry**, 2018.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b01689>
- TIAN, Z. *et al.* Study on the Interaction between Cannabinol and DNA Using Acridine Orange as a Fluorescence Probe. **Journal of Molecular Recognition**, v. 31(2), p. 1-7, 2017. <https://doi.org/10.1002/jmr.2682>
- TOCHER, D. *et al.* Arene ruthenium(II) carboxylates: reactions with ligands and the X-ray structure of the *p*-cymene pyrazine complex [Ru( $\eta$ -*p*-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CHMe<sub>2</sub>)Cl(py<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>. **Dalton Transactions**, p. 1571 – 1581, 1983.  
<https://doi.org/10.1039/DT9830001571>
- TOMA, H. E. **Química de Coordenação, Organometálica e Catálise**. 2a ed. [s.l.] Blucher, 2016. v. 4.
- TREJO-SOLÍS, C. *et al.* Cas IIgly induces apoptosis in glioma C6 cells in vitro and *in vivo* through caspase-dependent and caspase-independent mechanisms. **Neoplasia**, v. 7, p. 563–574, 2005. <https://doi.org/10.1593/neo.04607>

- TRONDL, R. *et al.* NKP1339, the first ruthenium-based anticancer drug on the edge to clinical application. **Chemical Science**, v. 5, p. 2925-2932, 2014.  
<https://doi.org/10.1039/C3SC53243G>
- TRUDU, F. *et al.* Coordination compounds in cancer: Past, present and perspectives. **Journal of Applied Biomedicine**, v. 13(2), p. 79–103, 2015.  
<https://doi.org/10.1016/j.jab.2015.03.003>
- TRYNDA-LEMIESZ, L. *et al.* Studies on the interactions between human serum albumin and trans-indazolium (bisindazole) tetrachlororuthenate(III). **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 78(4), p. 341-346, 2000.  
[https://doi.org/10.1016/s0162-0134\(00\)00062-3](https://doi.org/10.1016/s0162-0134(00)00062-3)
- UDE, Z. *et al.* A novel dual-functioning Ruthenium(II)–arene complex of an anti-microbial ciprofloxacin derivative - Anti-proliferative and anti-microbial activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 160, p. 210–217, 2016.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2016.02.018>
- URŠIĆ, M. *et al.* Synthesis and structural evaluation of organo-ruthenium complexes with  $\beta$ -Diketonates. **Molecules**, v. 22, p. 326,2017.  
<http://dx.doi.org/10.3390/molecules22020326>
- VAKILI, M. *et al.* Conformation, molecular structure, and intramolecular hydrogen bonding of 1, 1, 1-trifluoro-5,5-dimethyl-2, 4-hexanedione. **Journal of Molecular Structure**, v. 1021, p. 102-111, 2012.  
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2012.04.009>
- VELDERS, A. H. *et al.* Strong differences in the *in vitro* cytotoxicity of three isomeric dichlorobis(2-phenylazopyridine)ruthenium(II) complexes. **Inorganic Chemistry**, v. 39, p. 2966-2967, 2000. <https://doi.org/10.1021/ic000167t>
- VELHO, R. G. Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos:um levantamento bibliográfico. 2006. 170 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.
- VOCK, C. A. *et al.* Influence of the diketonato ligand on the cytotoxicities of  $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cymene})(\text{R}_2\text{acac})(\text{PTA})] + \text{Complexes}$  (PTA=1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane). **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2008, p.1661–1671, 2008. <https://doi.org/10.1002/ejic.200701291>
- VOCK, C. A. *et al.* Synthesis, characterization and *in vitro* evaluation of novel ruthenium(II)  $\eta^6$ -arene imidazole complexes. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, p. 552-556. , 2006. <https://doi.org/10.1021/jm060495o>



- VOGELSTEIN, B.; KINZLER, K. W. Cancer genes and the pathways they control. **Nature Medicine**, v. 10(8), p. 789–799, 2004. <https://doi.org/10.1038/nm1087>
- VOKÁČOVÁ, Z. S. *et al.* Exploration of selected electronic characteristics of half-sandwich organoruthenium(II)  $\beta$ -diketonate complexes. **Journal of Molecular Modeling**, v. 24, p. 98, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00894-018-3598-7>
- WALTON, J. W.; WILKINSON, L. A.  $\pi$ -Coordinated arene metal complexes and catalysis. **Organometallic Chemistry**, v. 42, 2018. <https://doi.org/10.1039/9781788010672-00125>
- WAN, D. *et al.* Synthesis and anticancer properties of ruthenium (II) complexes as potent apoptosis inducers through mitochondrial disruption. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 139, p. 180-190, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.07.066>
- WANG, D. *et al.* Synthesis and photoluminescent properties of Eu(III) complexes with fluorinated  $\beta$ -diketone and nitrogen heterocyclic ligands. **Dyes and Pigments**, v. 132, p. 398-404, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dyepig.2016.05.026>
- WANG, H. *et al.* Ruthenium(II)–arene metallacycles: crystal structures, interaction with dna, and cytotoxicity. **European Journal of Inorganic Chemistry**, p. 1792–1799, 2017. <https://doi.org/10.1016/10.1002/ejic.201601226>
- WANG, H. *et al.* Photodissociation of a Ruthenium(II) arene complex and its subsequent interactions with biomolecules: a density functional theory study. **Journal of Molecular Modeling**, v. 18, p. 4675–4686, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00894-012-1467-3>
- WANG, J. *et al.* Mitochondria are the primary target in the induction of apoptosis by chiral ruthenium(II) polypyridyl complexes in cancer cells. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 19, p. 335-348, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00775-013-1069-2>
- WEEKS, M. E. The discovery of the elements. VIII. The platinum metals. **Journal of Chemical Education**, v. 9(6), p. 1017, 1932. <https://doi.org/10.1021/ed009p1017>
- WEI, J; RENFREW, A. N. Photolabile ruthenium complexes to cage and release a highly cytotoxic anticancer agent. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 179, p. 146–153, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2017.11.018>
- WHEATE, N.J. *et al.* The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials. **Dalton Transactions**, v. 39(35), p. 8113-8127, 2010. <https://doi.org/10.1039/c0dt00292e>



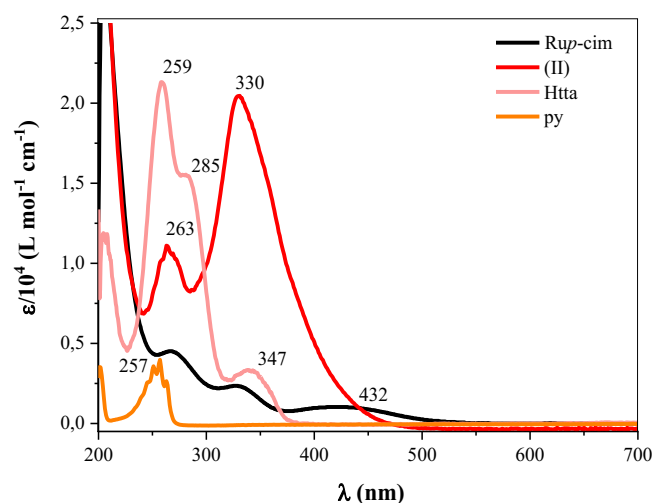
- WHO. **Cancer**. 2020. World Health Organization (WHO). Disponível em: [https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1).  
Acesso em: 02 set. 2020.
- WILSON, J. J.; LIPPARD, S. J. *In Vitro* anticancer activity of *cis*-Diammineplatinum(II) complexes with  $\beta$ -diketonate leaving group ligands. **Journal of Medicinal Chemical**, v. 55, p. 5326–5336, 2012.  
<http://dx.doi.org/10.1021/jm3002857>
- YADHUKRISHNAN, V. O. *et al.* Structurally different domains embedded half-sandwich arene Ru(II) complex: DNA/HSA binding and cytotoxic studies, **Journal of Coordination Chemistry**, 2020.  
<https://doi.org/10.1080/00958972.2020.1782895>
- YAN, Y. K. *et al.* Organometallic chemistry, biology and medicine: ruthenium arene anticancer complexes. **Chemical Communications**, v. 38, p. 4764-4776, 2005.  
<https://doi.org/10.1039/B508531B>
- YANG, Y. *et al.* Recent Advances on Octahedral Polypyridyl Ruthenium(II) Complexes as Antimicrobial Agents. **Polymers**, v. 10, 2018.  
<https://doi.org/10.3390/polym10060650>
- YILMAZ, V. T. *et al.* Synthesis, structures and anticancer potentials of platinum(II) saccharinate complexes of tertiary phosphines with phenyl and cyclohexyl groups targeting mitochondria and DNA. **European Journal of Medicinal Chemistry**. v. 155, p. 609–622, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.06.035>
- YOUSUF, I. *et al.* Advancement of metal compounds as therapeutic and diagnostic metallodrugs: Current frontiers and future perspectives. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 445, p. 15, 2021.  
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.214104>
- YUFANYI, D. M. *et al.* Platinum(II) and Ruthenium(II) complexes in medicine: Antimycobacterial and Anti-HIV activities. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 414, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213285>
- YUNG-SHARP, D; KUMAR, R. Protocols for the visualisation of DNA in electrophoretic gels by a safe and inexpensive alternative to ethidium bromide. **Technique**, v. 1(3), p. 183-187, 1989.
- XIE, L. *et al.* Quantitative investigation of the dynamic interaction of human serum albumin with procaine using a multi-way calibration method coupled with three-

- dimensional fluorescence spectroscopy. **Analytical Methods**, v. 7(16), p. 6552–6560, 2015a. <https://doi.org/10.1039/C5AY00790A>
- XU, Y. *et al.* A fluorescence probe acted on Site I binding for Human Serum Albumin. **Talanta**, v. 185, p. 568–572, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.04.029>
- ZHANG, J.; FARISS M. W. Thenoyltrifluoroacetone, a potent inhibitor of carboxylesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, v. 63(4), p. 751-754, 2002. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(01\)00871-1](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(01)00871-1)
- ZHANG, P.; SADLER, P. J. Advances in the design of organometallic anticancer complexes. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 839, p. 5-14, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jorganchem.2017.03.038>
- ZSILA, F. *et al.* Circular dichroism spectroscopic studies reveal pH dependent binding of curcumin in the minor groove of natural and synthetic nucleic acids. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 2, p. 2902, 2004. <https://doi.org/10.1039/B409724F>

## 7. ANEXOS

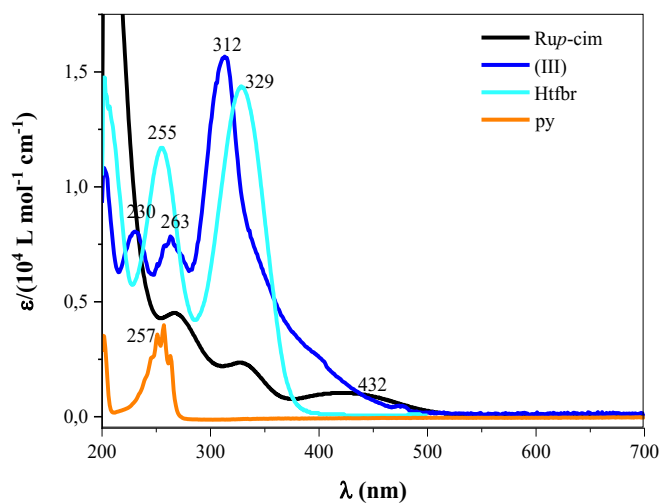
### ANEXO A– ESPECTROS DE ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO UVI-VIS

**Figura A1.** Espectros UV-Vis dos compostos [Ru(tta)(*p*-cim)(py)]PF<sub>6</sub> (**II**) (traço vermelho), **Htta** (traço vermelho claro), **py** (traço laranja) e **Rup-cim** (traço preto) em metanol na concentração  $1 \times 10^{-5}$  M.



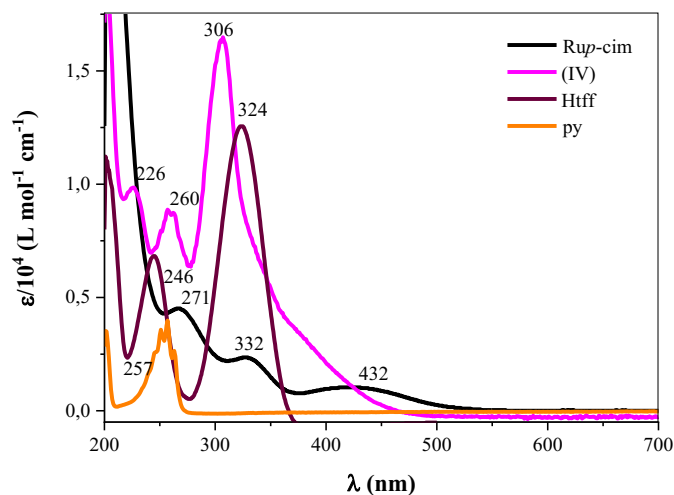
**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura A2.** Espectros UV-Vis dos compostos [Ru(tfb)(*p*-cim)(py)]PF<sub>6</sub> (**I**) (traço azul), **Htfb** (traço azul claro), **py** (traço laranja) e **Rup-cim** (traço preto) em metanol na concentração  $1 \times 10^{-5}$  M.



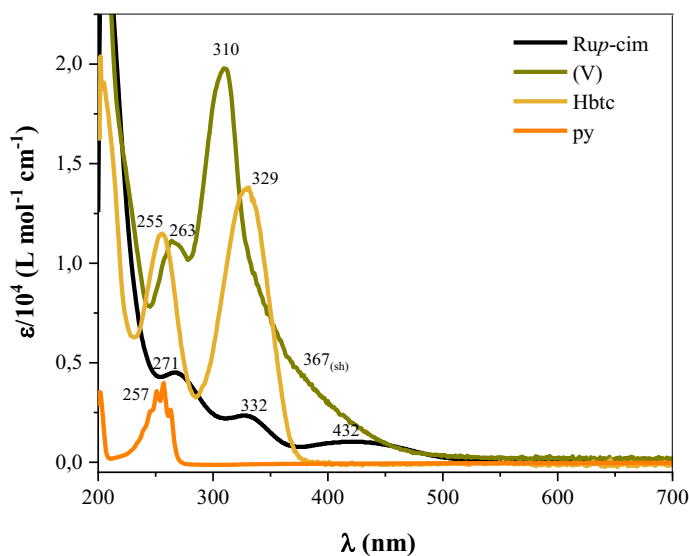
**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura A3.** Espectros UV-Vis dos compostos [Ru(tff)(*p*-cim)(py)]PF<sub>6</sub> (**I**) (traço rosa), **Htff** (traço rosa escuro), **py** (traço laranja) e **Rup-cim** (traço preto) em metanol na concentração  $1 \times 10^{-5}$  M.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

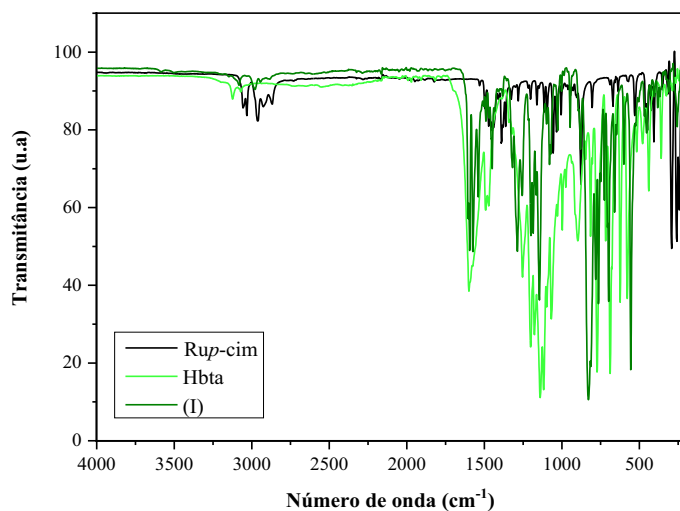
**Figura A4.** Espectros UV-Vis dos compostos [Ru(btc)(*p*-cim)(py)]PF<sub>6</sub> (**V**) (traço amarelo escuro), **Hbtc** (traço amarelo), **py** (traço laranja) e **Rup-cim** (traço preto) em metanol na concentração  $1 \times 10^{-5}$  M.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

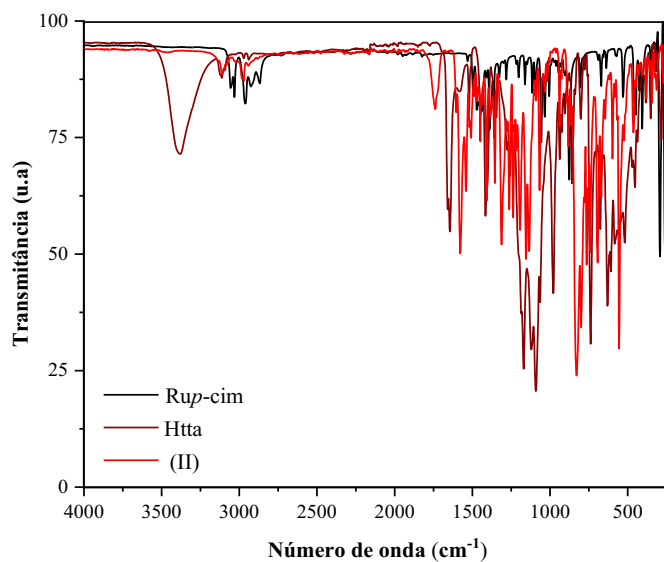
## ANEXO B – ESPECTROS DE ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

**Figura B1.** Espectro no IV do precursor  $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})]_2$  ( traço preto), do ligante livre Hbta (traço verde claro) e do complexo **I** (traço verde).



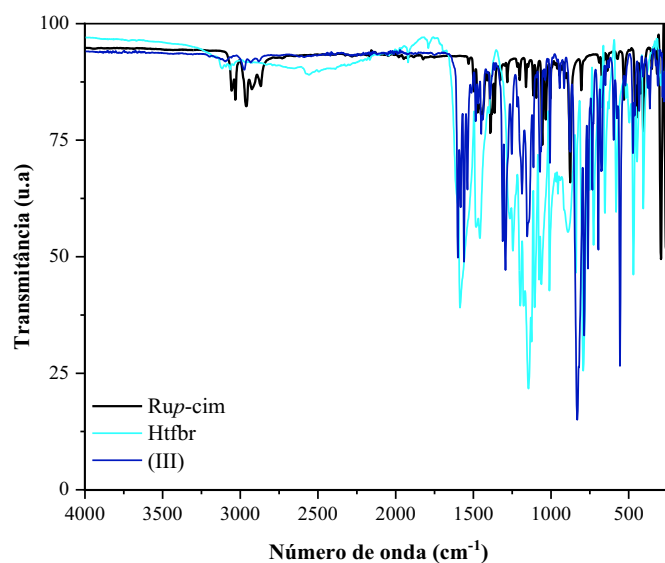
**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura B2.** Espectro no IV do precursor  $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})]_2$  ( traço preto), do ligante livre Htta (traço vermelho escuro) e do complexo **II** (traço vermelho).



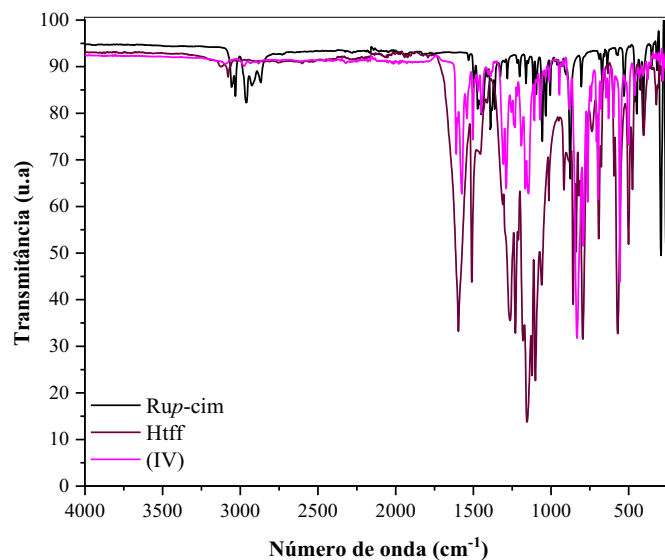
**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura B3.** Espectro no IV do precursor  $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})]_2$  ( traço preto), do ligante livre Htfb (traço azul claro) e do complexo **III** (traço azul).



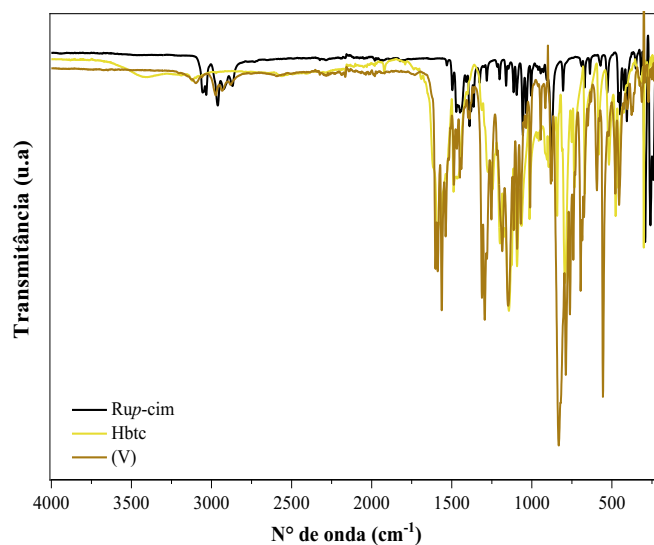
**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura B4.** Espectro no IV do precursor  $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})]_2$  ( traço preto), do ligante livre Htff (traço rosa escuro) e do complexo **IV** (traço rosa claro)



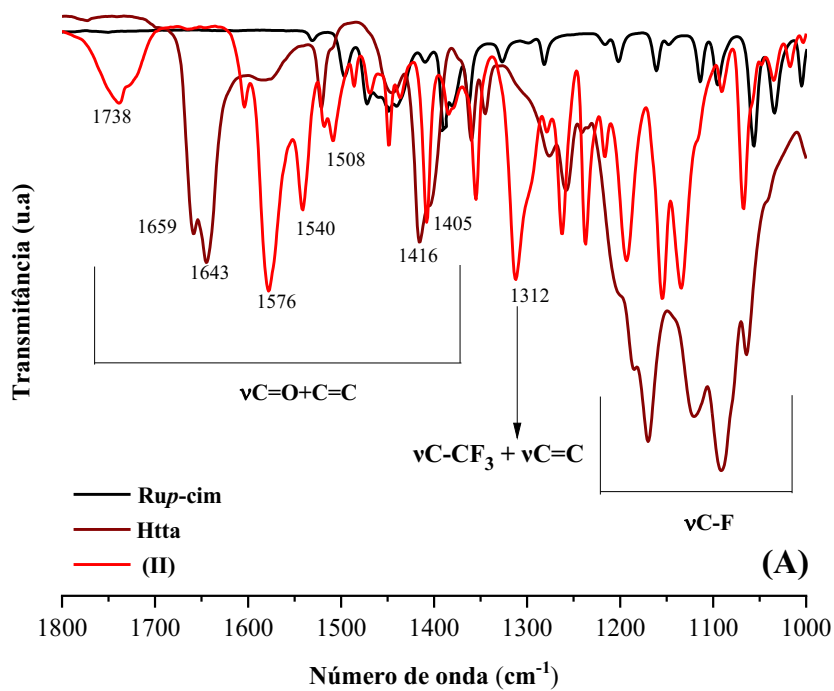
**Fonte:** Dados da pesquisa.

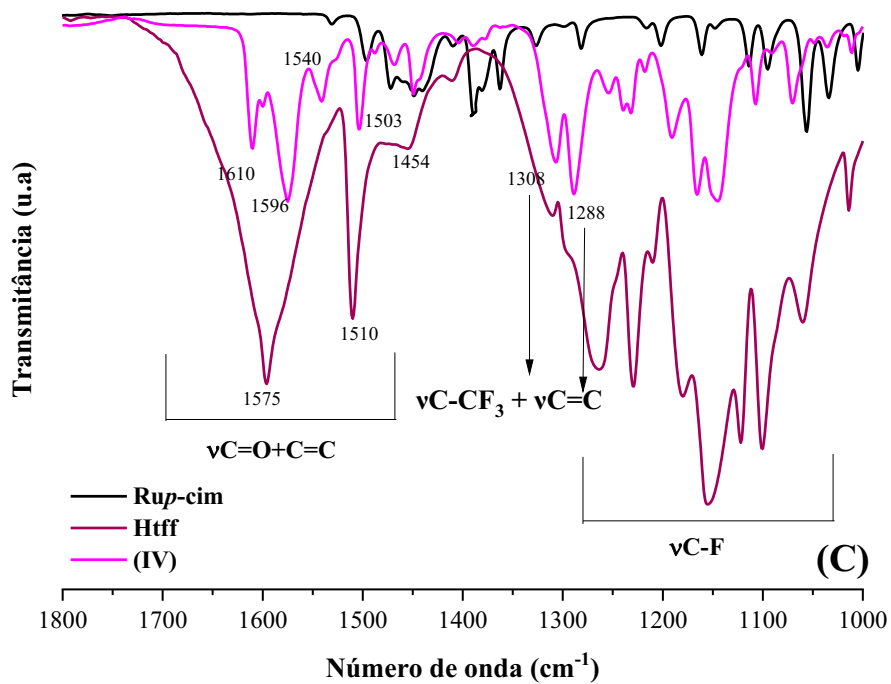
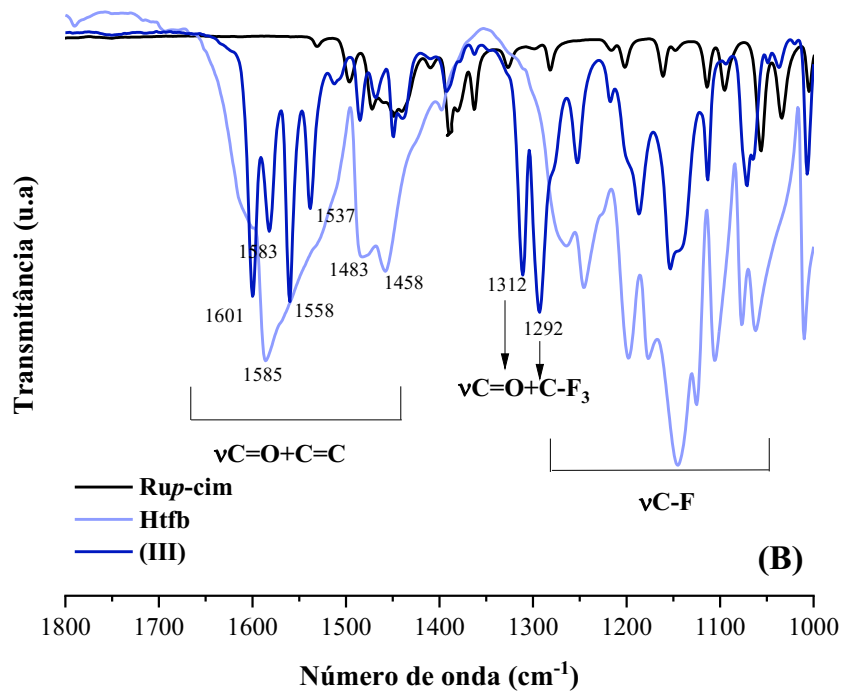
**Figura B5.** Espectro no IV do precursor  $[\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})]_2$  ( traço preto), do ligante livre Hbtc (traço amarelo claro) e do complexo **V** (traço amarelo escuro).



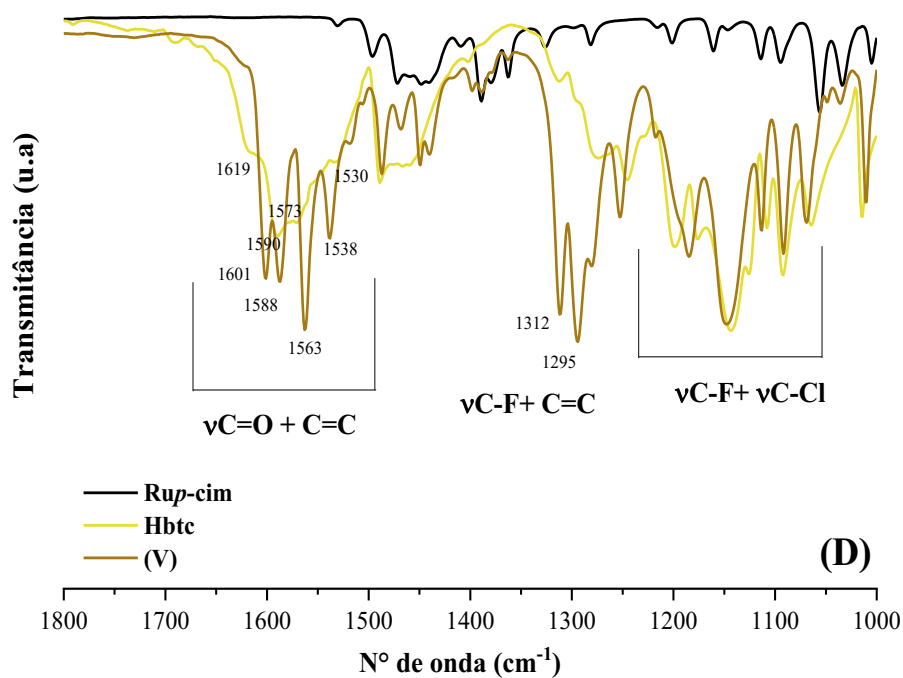
**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura B6.** Espectro de IV expandido na região entre  $1800\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$  do precursor (traço preto) com os complexos **II** (A), **III** (B), **IV** (C) , **V** (D) e seus respectivos ligantes.



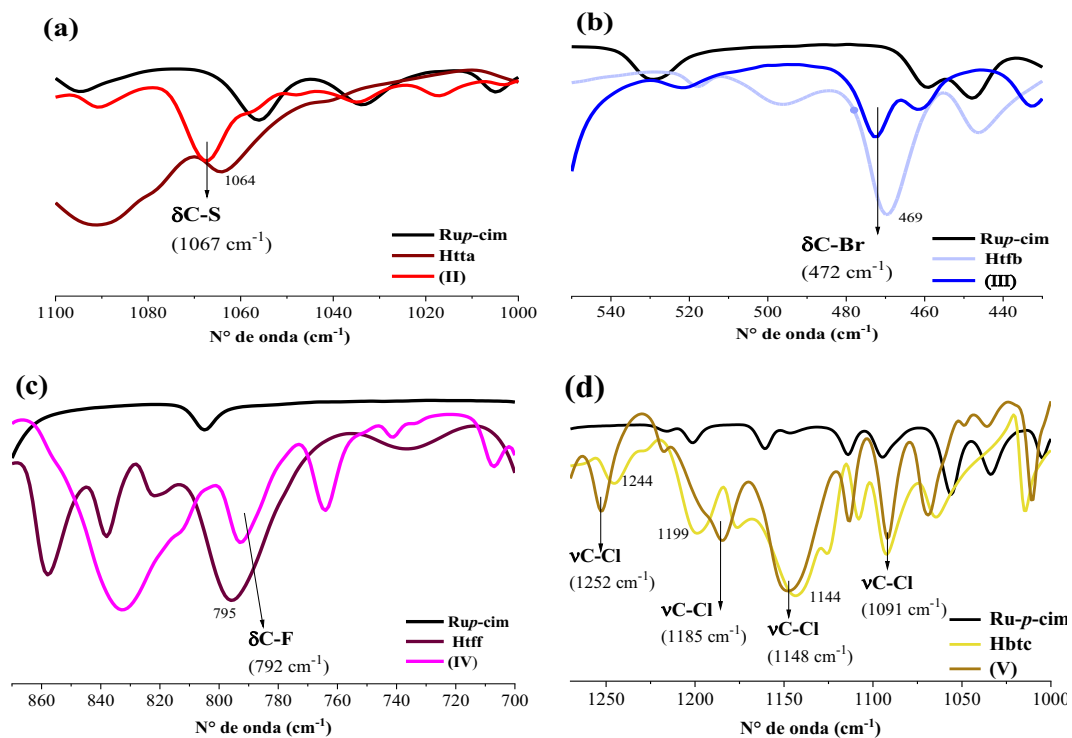






Fonte: Dados da pesquisa.

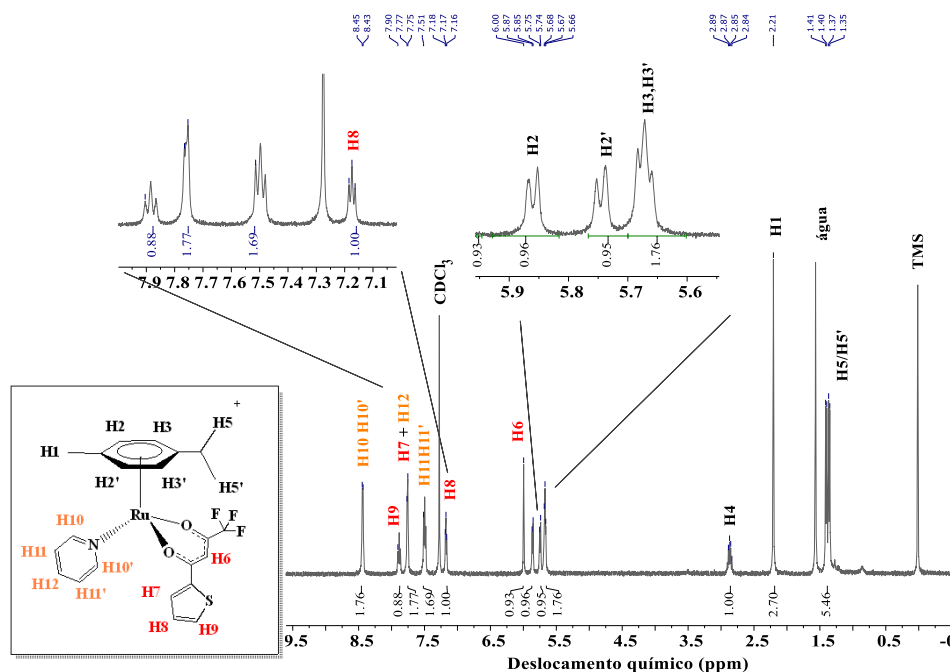
Figura B7. Espectros ampliados em regiões características de absorções específicas dos ligantes Htta (a), Htfb (b) e Htff (c) e Hbtc (d).



Fonte: Dados da pesquisa.

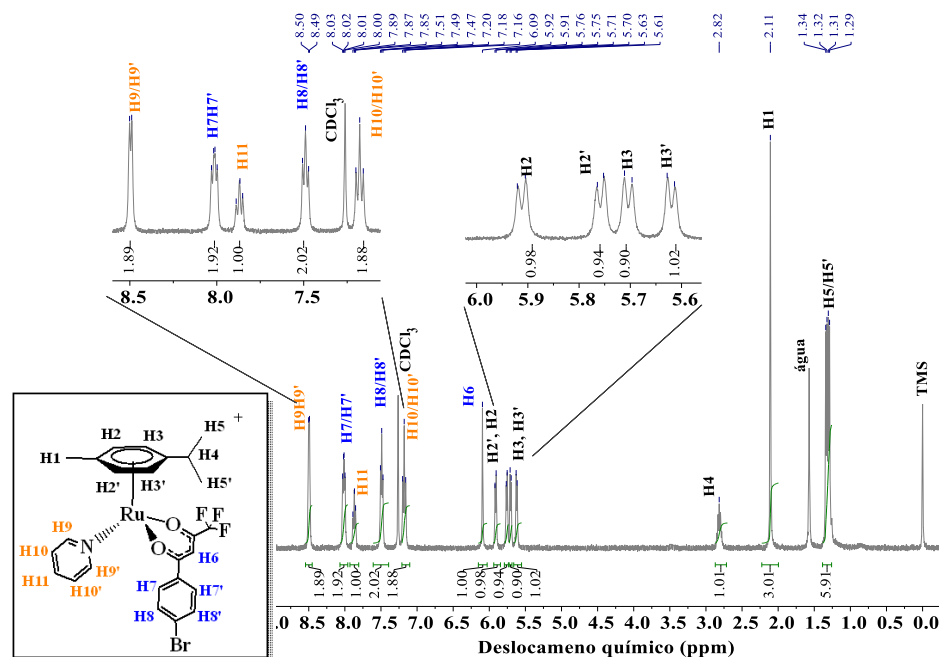
## ANEXO C– ESPECTROS DE RMN $^1\text{H}$

**Figura C1.** Espectro de RMN –  $^1\text{H}$ , obtido em  $\text{CDCl}_3$  e frequência de 400 MHz, do complexo **II** com os hidrogênios identificados.



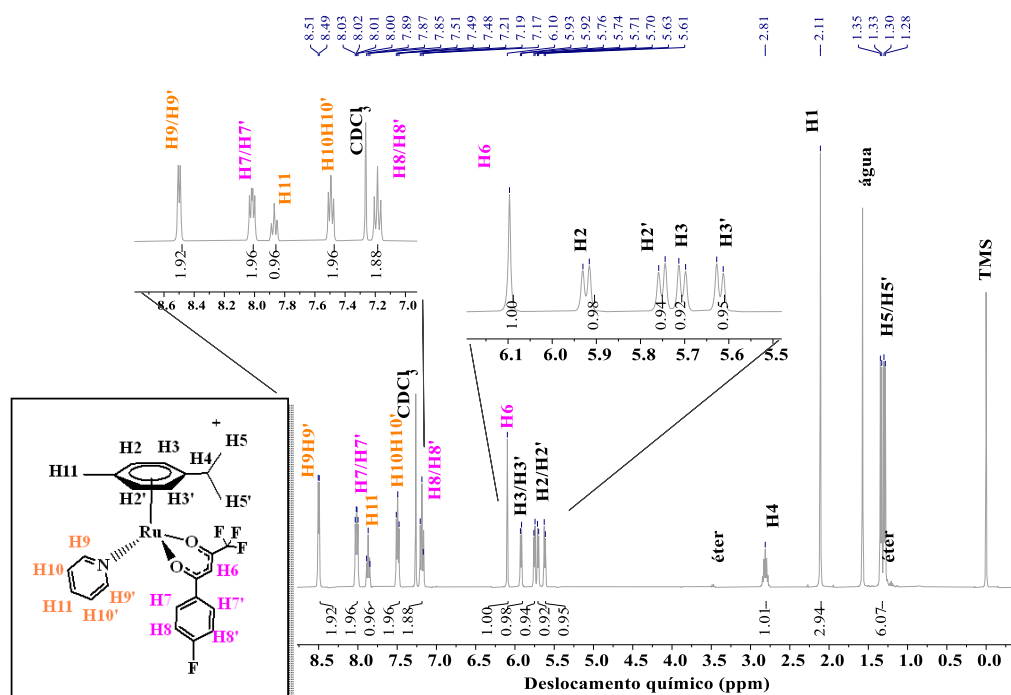
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura C2.** Espectro de RMN –  $^1\text{H}$ , obtido em  $\text{CDCl}_3$  e frequência de 400 MHz, do complexo **III** com os hidrogênios identificados.



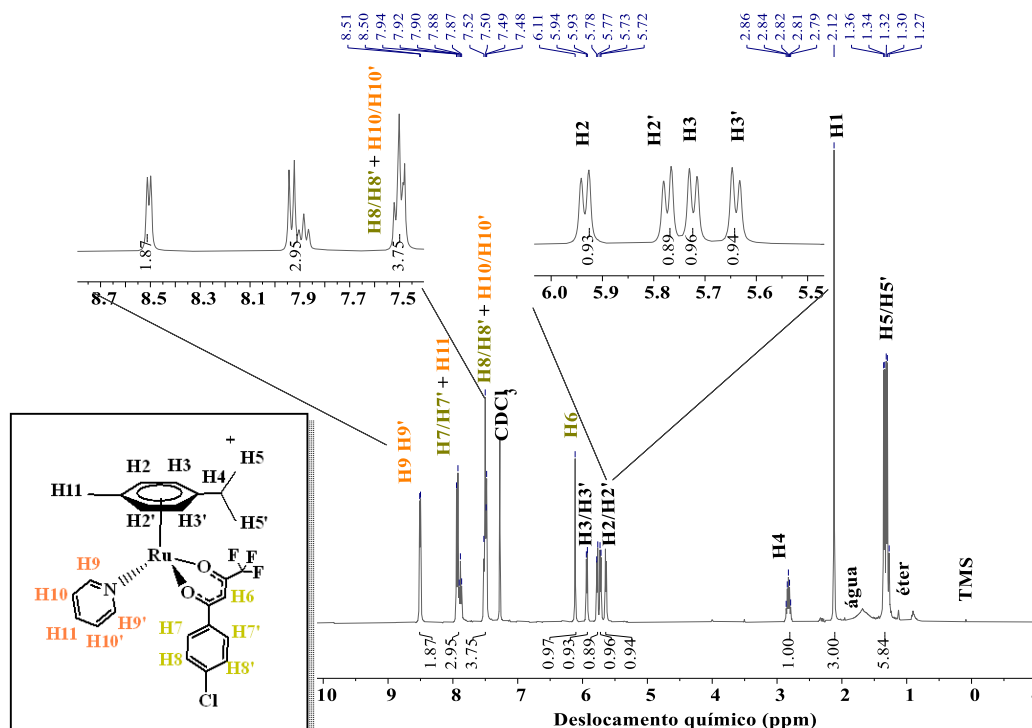
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura C3.** Espectro de RMN –  $^1\text{H}$ , obtido em  $\text{CDCl}_3$  e frequência de 400 MHz, do complexo **IV** com os hidrogênios identificados.



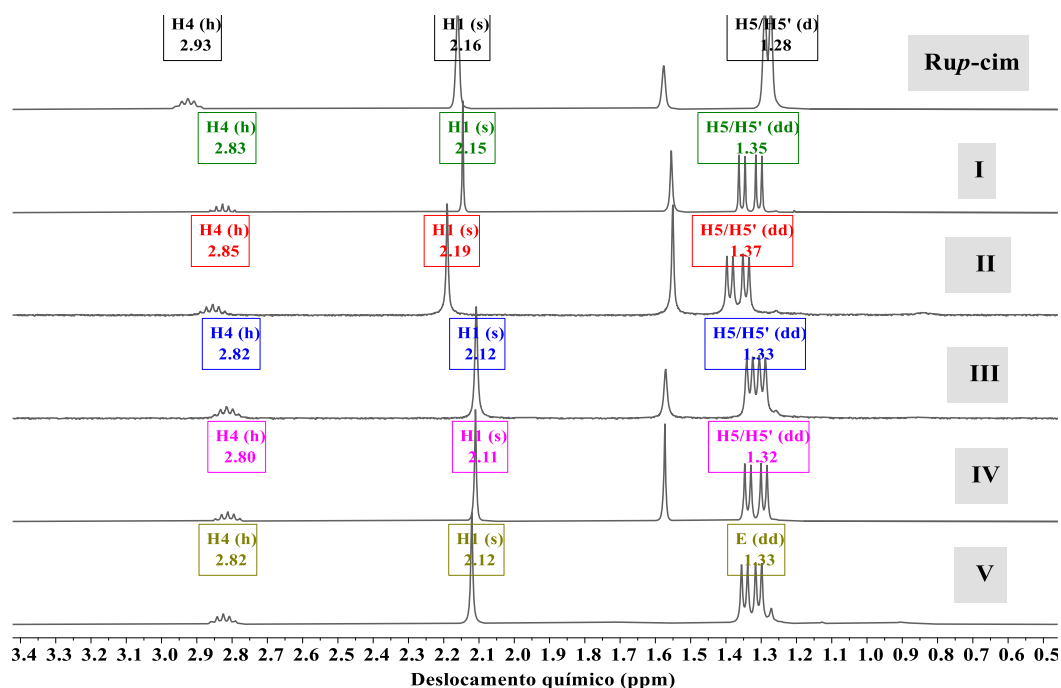
Fonte: Dados da pesquisa.

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



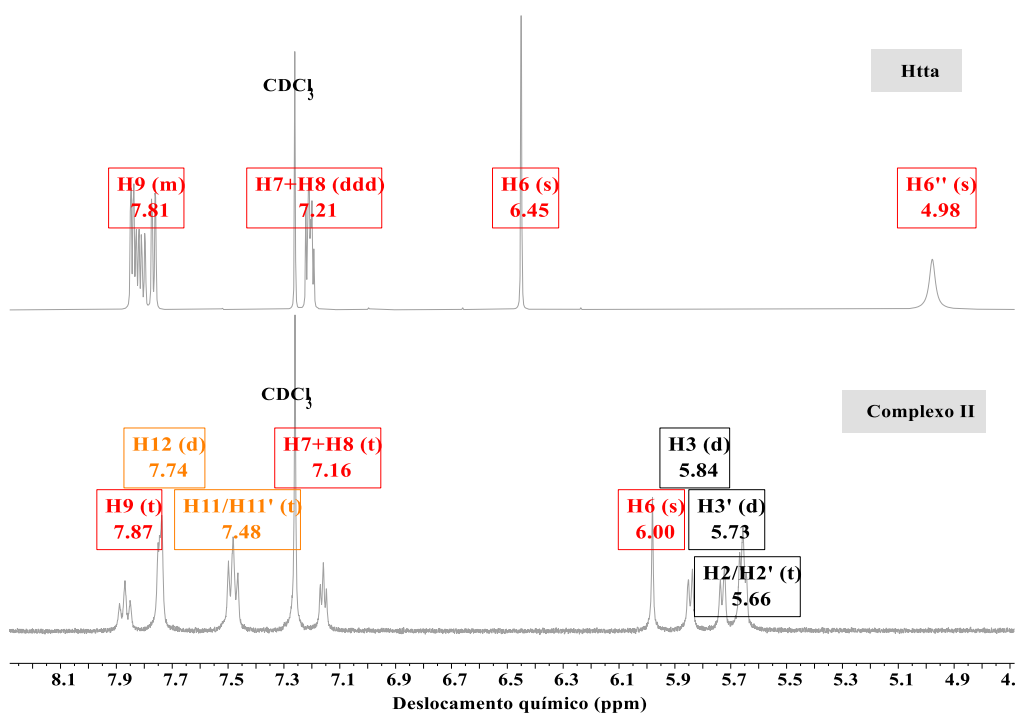
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura C5.** Espectros com região expandida referentes aos sinais dos prótons em alto campo do grupo aromático do precursor presentes em todos complexos



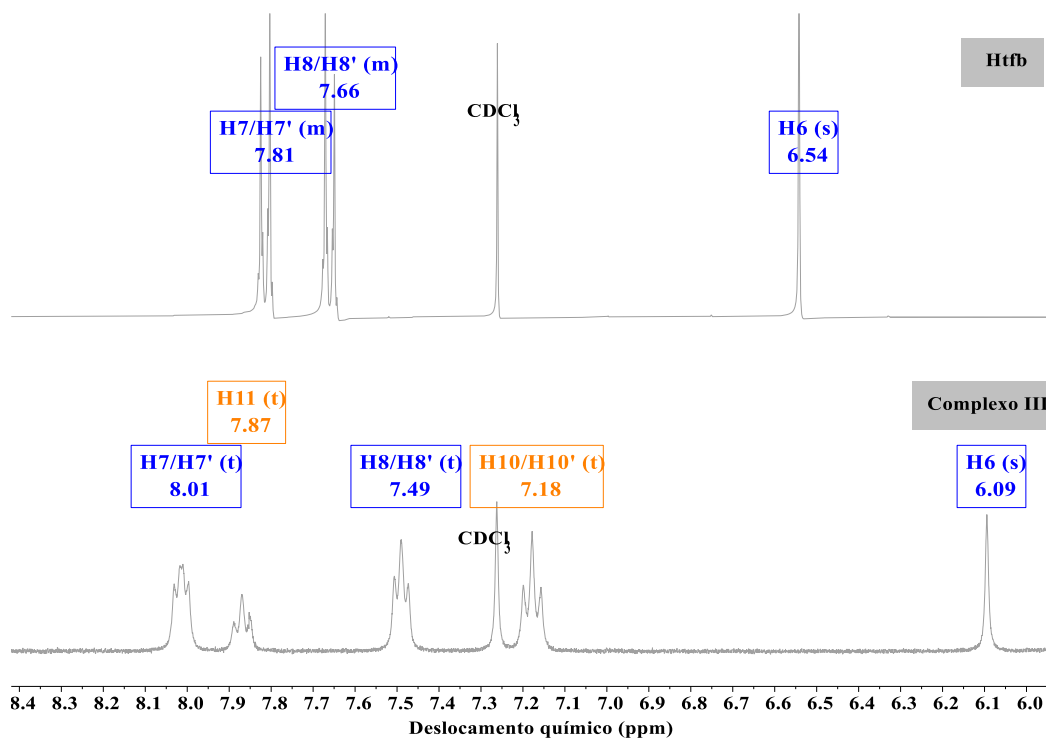
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura C6.** Espectros com região expandida referentes aos sinais dos hidrogênios do ligante **Htta** presentes no complexo **II** as respectivas atribuições.



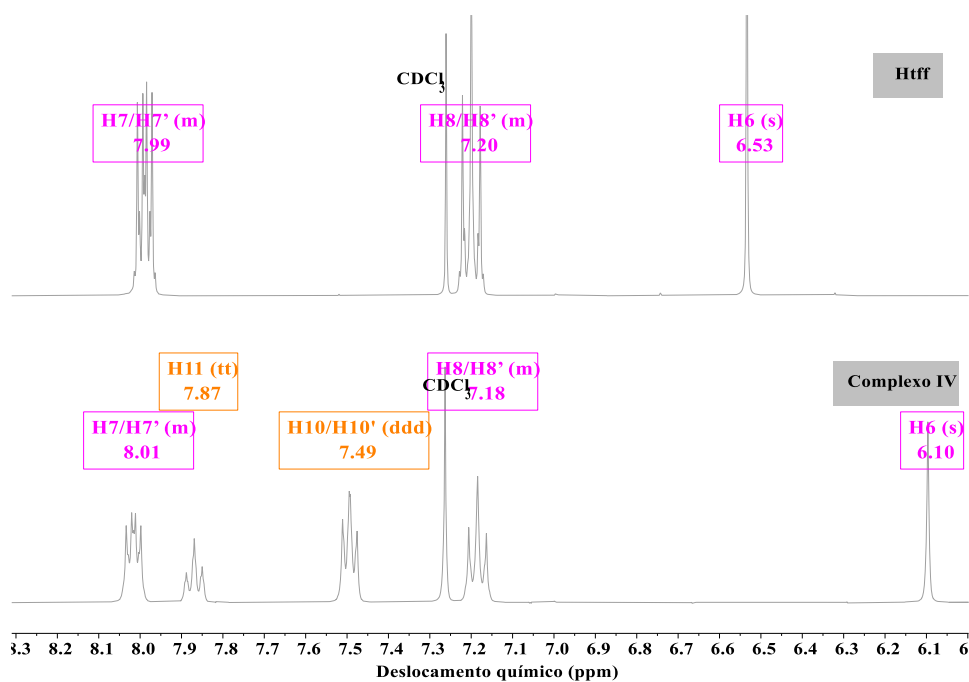
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura C7.** Espectros com região expandida referentes aos sinais dos hidrogênios do ligante **Htfb** presentes no complexo **III** as respectivas atribuições.



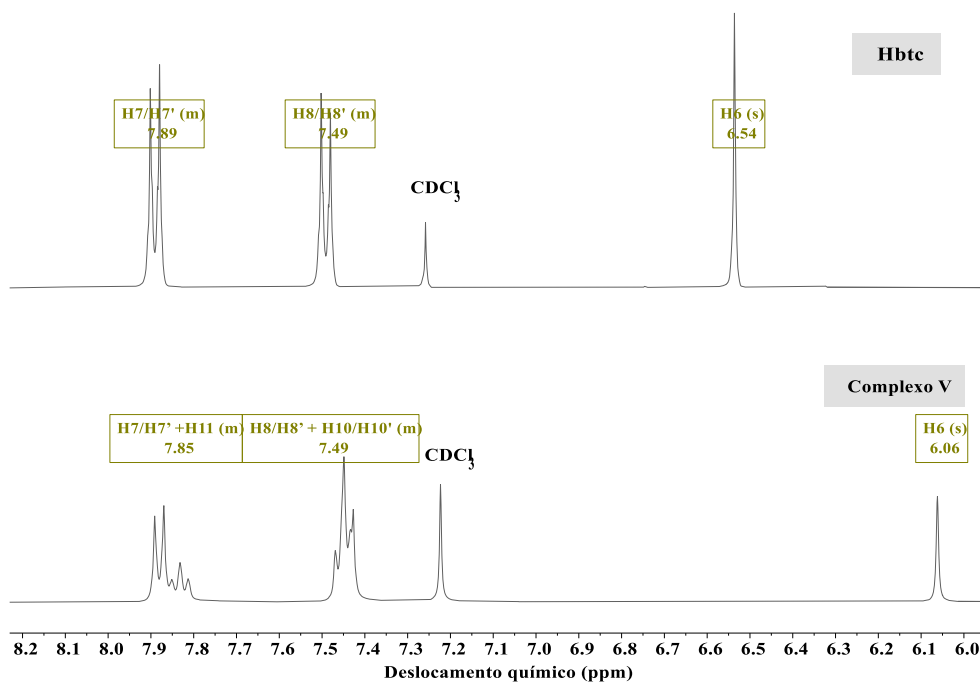
**Fonte:** Dados da pesquisa.

**Figura C8.** Espectros com região expandida referentes aos sinais dos hidrogênios do ligante **Htff** presentes no complexo **IV** as respectivas atribuições.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

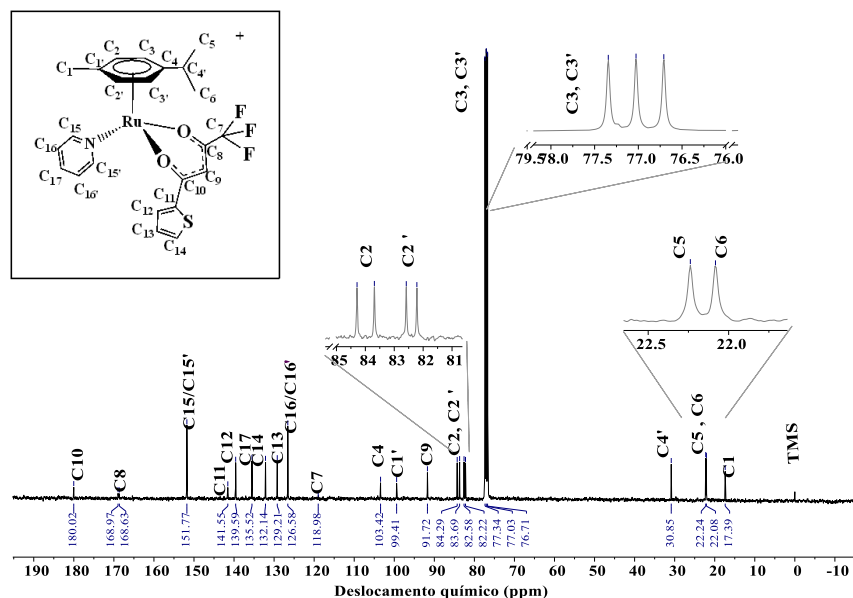
**Figura C9.** Espectros com região expandida referentes aos sinais dos hidrogênios do ligante **Hbtc** presentes no complexo **V** as respectivas atribuições.



**Fonte:** Dados da pesquisa.

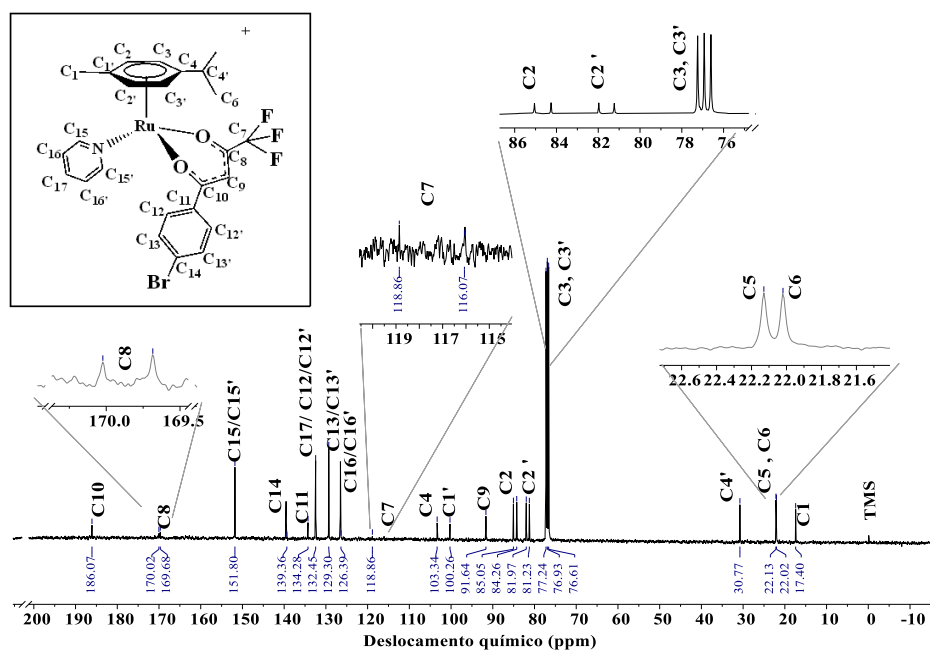
## ANEXO D – ESPECTROS DE RMN $^{13}\text{C}$ $\{^1\text{H}\}$

**Figura D1.** Espectro de RMN  $^{-13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$ , obtido em  $\text{CDCl}_3$  e frequência de 100 MHz, do complexo **II** com os carbonos identificados.



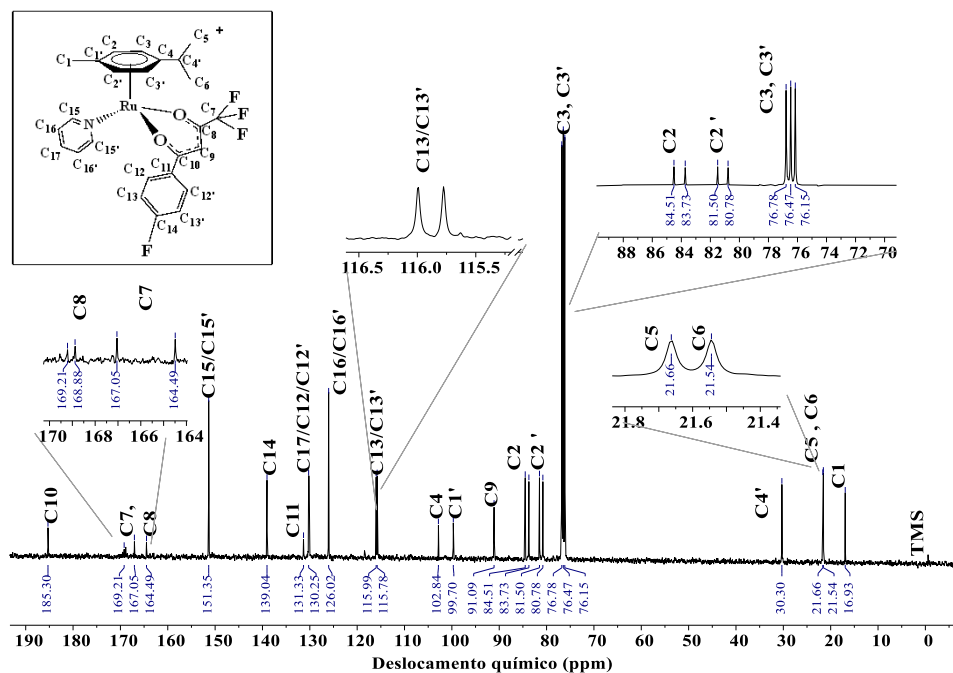
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura D2.** Espectro de RMN  $^{-13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$ , obtido em  $\text{CDCl}_3$  e frequência de 100 MHz, do complexo **III** com os carbonos identificados.



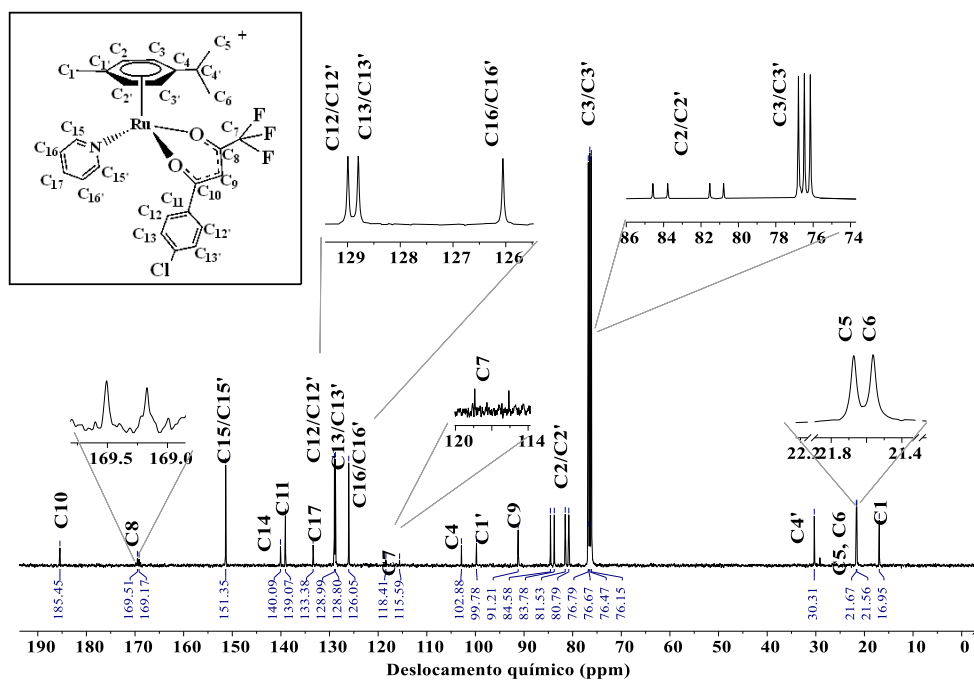
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura D3.** Espectro de RMN  $^{-13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$ , obtido em  $\text{CDCl}_3$  e frequência de 100 MHz, do complexo IV com os carbonos identificados.



Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura D4.** Espectro de RMN  $^{-13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$ , obtido em  $\text{CDCl}_3$  e frequência de 100 MHz, do complexo V com os carbonos identificados.



Fonte: Dados da pesquisa.



## ANEXO E – DIFRAÇÃO DE RAIOS-X POR MONOCRITAL

**Tabela E1.** Comprimentos de ligação a partir da difração de raios x por monocristal dos complexos III e IV.

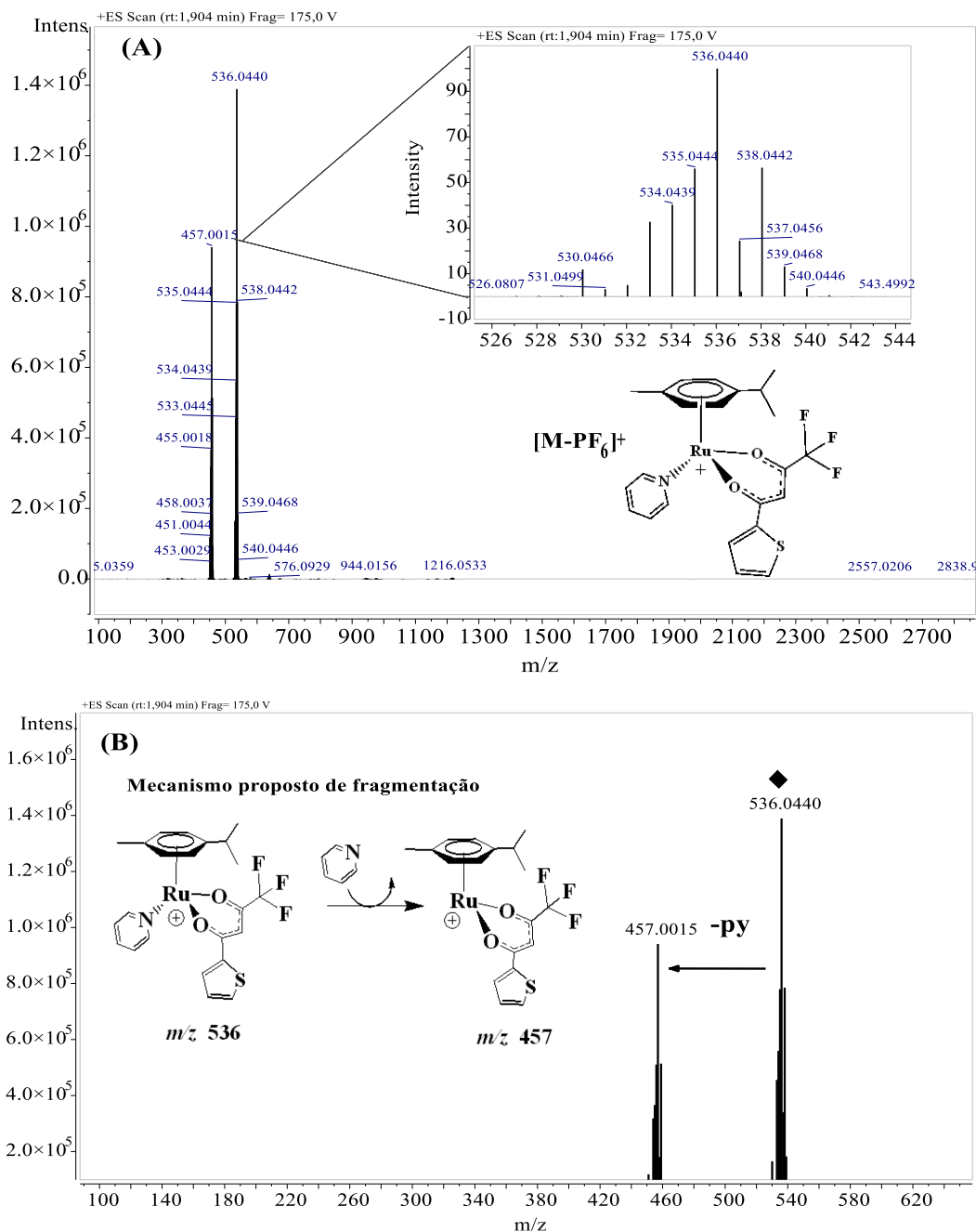
Complexos	III	IV		III	IV
<i>Comprimento de Ligação (Å)</i>					
RU-O(2)	2,070(3)	2,077(3)	C(25)-C(24)	1,391(7)	1,377(6)
RU-O(1)	2,079(3)	2,080(2)	C(25)-H(25)	0,9300	0,9300
RU-N(1)	2,126(4)	2,120(3)	C(2)-H(2)	0,9300	0,9300
RU-C(37)	2,158(5)	2,160(4)	C(35)-C(34)	1,427(8)	1,418(7)
RU-C(36)	2,164(5)	2,168(4)	C(35)-C(38)	1,535(9)	1,535(7)
RU-C(34)	2,179(5)	2,176(5)	C(24)-C(23)	1,353(9)	1,359(8)
RU-C(33)	2,185(5)	2,179(4)	C(24)-H(24)	0,9300	0,9300
RU-C(35)	2,175(5)	2,185(4)	C(22)-C(23)	1,353(9)	1,366(8)
RU-C(32)	2,189(5)	2,187(4)	C(22)-H(22)	0,9300	0,9300
P(1)-F(2)	1,524(5)	1,550(4)	C(13)-C(14)	1,366(7)	1,339(8)
P(1)-F(3)	1,541(5)	1,562(5)	C(13)-H(13)	0,9300	0,9300
P(1)-F(6)	1,557(6)	1,564(5)	C(16)-C(15)	1,376(7)	1,374(6)
P(1)-F(4)	1,544(4)	1,565(3)	C(16)-H(16)	0,9300	0,9300
P(1)-F(1)	1,531(6)	1,566(4)	C(23)-H(23)	0,9300	0,9300
P(1)-F(5)	1,574(5)	1,572(4)	C(34)-C(33)	1,376(9)	1,398(7)
O(1)-C(1)	1,261(5)	1,263(4)	C(34)-H(34)	0,9300	0,9300
O(2)-C(3)	1,260(5)	1,253(4)	C(14)-C(15)	1,373(7)	1,379(8)
N(1)-C(25)	1,333(7)	1,334(5)	C(33)-H(33)	0,9300	0,9300
N(1)-C(21)	1,337(6)	1,338(5)	C(38)-C(39)	1,484(9)	1,490(7)
F(14)-C(14)	-	1,355(5)	C(38)-C(40)	1,520(10)	1,531(9)
C(1)-C(2)	1,404(6)	1,403(5)	C(38)-H(38)	0,9800	0,9800
C(1)-C(11)	1,487(6)	1,484(5)	C(4)-F(12A)	1,257(10)	1,200(14)
C(11)-C(16)	1,382(7)	1,373(6)	C(4)-F(11A)	1,314(9)	1,224(13)
C(11)-C(12)	1,394(6)	1,388(5)	C(4)-F(13B)	1,318(15)	1,237(11)
C(36)-C(35)	1,392(8)	1,402(6)	C(4)-F(11B)	1,24(2)	1,247(14)
C(36)-C(37)	1,416(8)	1,429(6)	C(4)-F(12B)	1,24(2)	1,283(14)
C(36)-H(36)	0,9300	0,9300	C(4)-F(13A)	1,295(8)	1,301(13)
C(12)-C(13)	1,382(7)	1,384(6)	C(15)-H(15)	0,9300	0,9300
C(12)-H(12)	0,9300	0,9300	C(40)-H(40A)	0,9600	0,9600
C(37)-C(32)	1,401(8)	1,403(7)	C(40)-H(40B)	0,9600	0,9600
C(37)-H(37)	0,9300	0,9300	C(40)-H(40C)	0,9600	0,9600
C(3)-C(2)	1,360(7)	1,364(6)	C(31)-H(31A)	0,9600	0,9600
C(3)-C(4)	1,546(8)	1,560(7)	C(31)-H(31B)	0,9600	0,9600

C(21)-C(22)	1.373(8)	1.391(7)	C(31)-H(31C)	0.9600	0.9600
C(21)-H(21)	0.9300	0.9300	C(39)-H(39A)	0.9600	0.9600
C(32)-C(33)	1.430(9)	1.421(8)	C(39)-H(39B)	0.9600	0.9600
C(32)-C(31)	1.506(9)	1.508(7)	C(39)-H(39C)	0.9600	0.9600
BR1-C(14)	1.897(5)	-			

Fonte: Dados da Pesquisa.

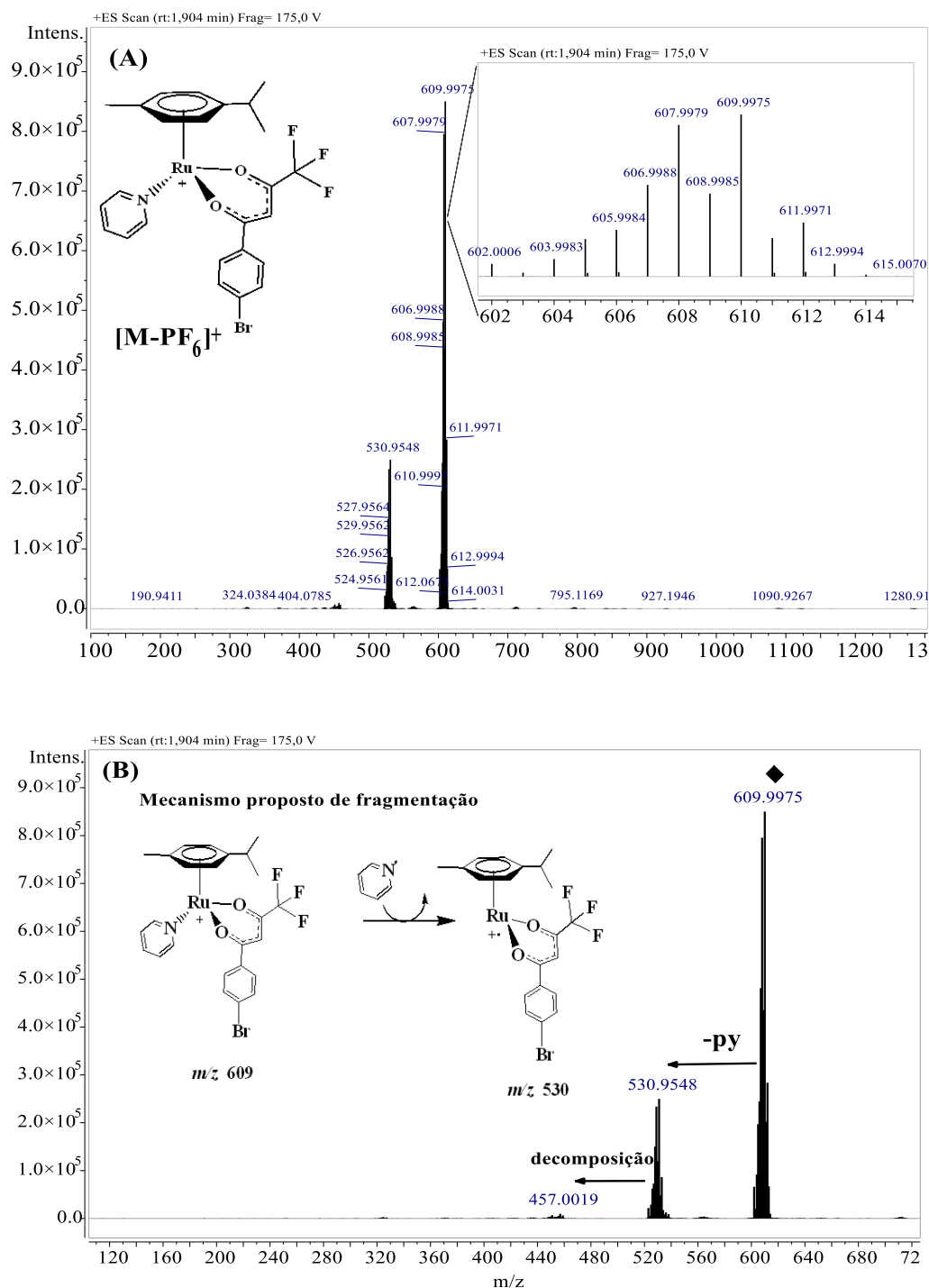
## ANEXO F – ESPECTROMETRIA DE MASSAS

**Figura F1.** (A) Espectro de massa HRESI-MS do complexo **II** com  $m/z$  536,044  $[M-PF_6]^+$ , com ampliação dos picos isotópicos. (B) Espectro ESI-MS/MS de  $m/z$  536,044 cm fragmentação em  $m/z$  457,002.



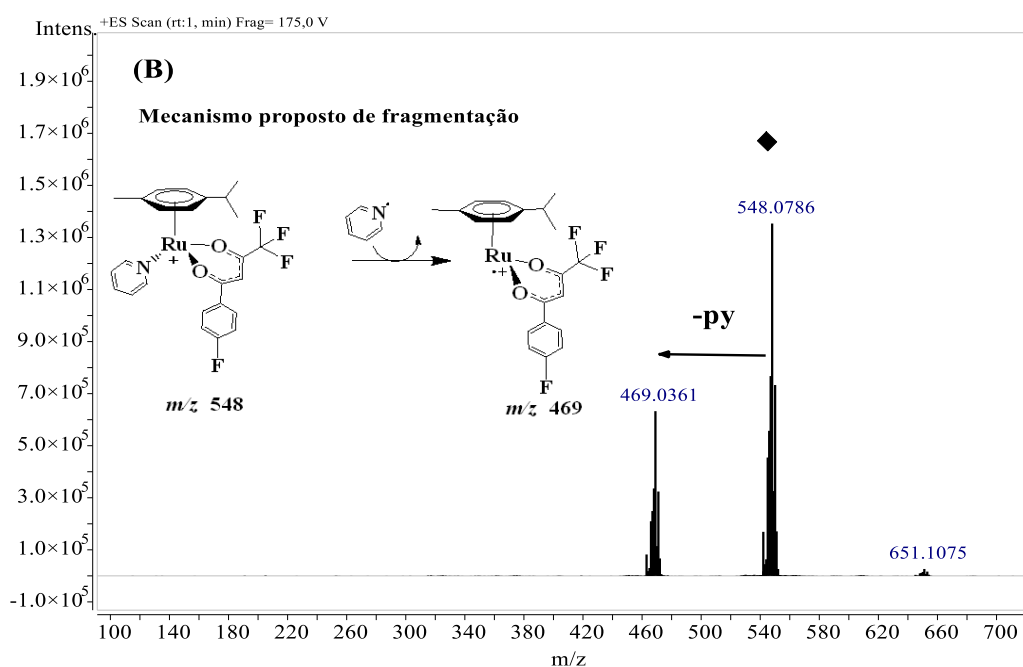
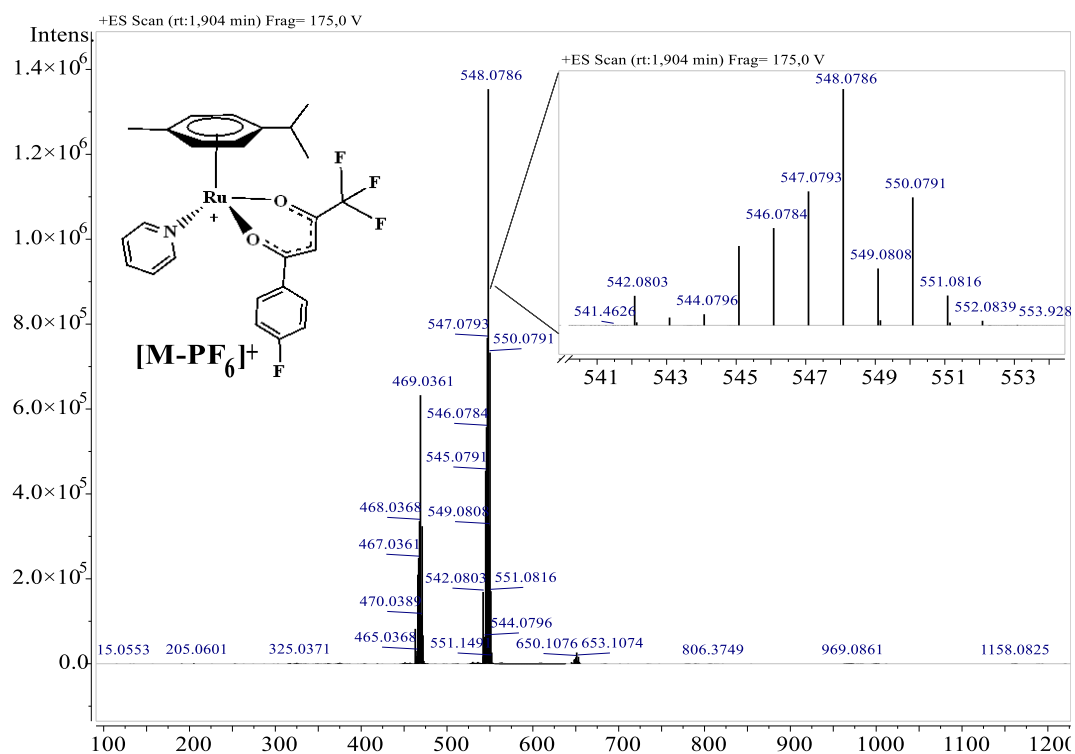
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura F2.** (A) Espectro de massa HRESI-MS do complexo **III** com  $m/z$  609,998  $[M-PF_6]^+$ , com ampliação dos picos isotópicos. (B) Espectro ESI-MS/MS de  $m/z$  609,998 cm fragmentação em  $m/z$  530,955.



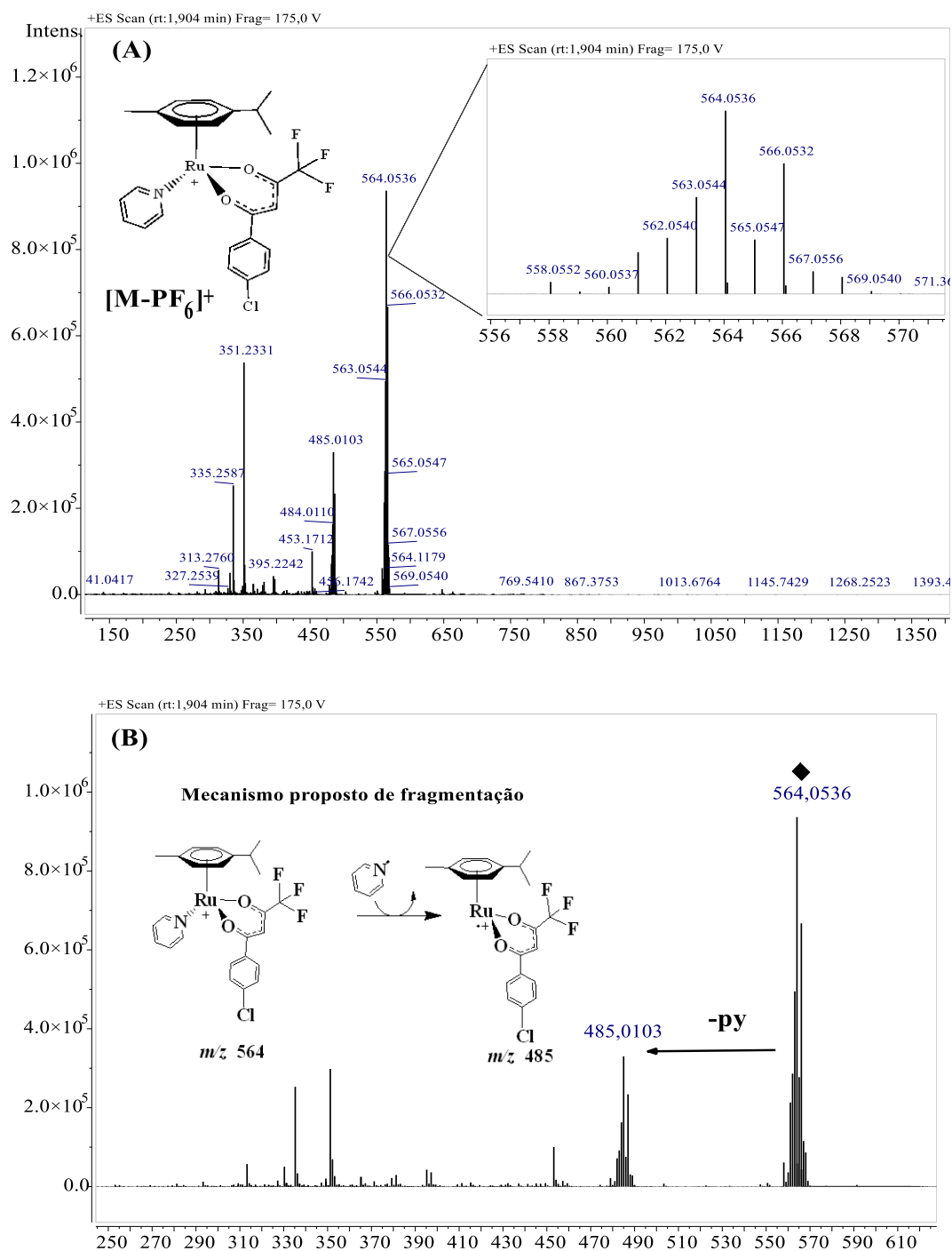
Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura F3.** (A) Espectro de massa HRESI-MS do complexo IV com  $m/z$  548,079  $[M-PF_6]^+$ , com ampliação dos picos isotópicos. (B) Espectro ESI-MS/MS de  $m/z$  548,079 cm fragmentação em  $m/z$  469,036.



Fonte: Dados da pesquisa.

**Figura F4.** (A) Espectro de massa HRESI-MS do complexo **V** com  $m/z$  564,054  $[M-PF_6]^+$ , com ampliação dos picos isotópicos. (B) Espectro ESI-MS/MS de  $m/z$  564,054 cm fragmentação em  $m/z$  485,010.



Fonte: Dados da pesquisa.

**SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF CIS-[Ru(DPPM)<sub>2</sub>(BTA)]PF<sub>6</sub>  
(BTA<sup>-</sup> = 4,4,4-TRIFLUORO-1-PHENYL-1,3-BUTANEDIONATE)****R.R. Macêdo<sup>1</sup>, P.I.S. Maia<sup>2</sup>, V.M. Deflon<sup>3</sup>, G.F. de S.Miguel<sup>4</sup>, A.E.H. Machado<sup>1,5</sup>  
G. Von Poelhsitz<sup>1</sup>**<sup>1</sup>*Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brazil*E-mail: [gustavopoelhsitz@ufu.br](mailto:gustavopoelhsitz@ufu.br)<sup>2</sup>*Instituto de Ciências Exatas Naturais e Educação, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, Brazil*<sup>3</sup>*Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, Brazil*<sup>4</sup>*Departamento de Computação Eletrônica, Universidade Federal do Espírito Santo, Campus São Matheus, São Matheus, ES, Brazil*<sup>5</sup>*Programa de Pós-Graduação em Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Federal de Catalão, Catalão, GO, Brazil**Received*  
02.12.2022*Revised*  
14.02.2023*Accepted*  
20.02.2023

The title complex cis-[Ru(dppm)<sub>2</sub>(bta)]PF<sub>6</sub>, dppm = 1,1-bis(diphenylphosphino)methane; bta<sup>-</sup> = 4,4,4-trifluoro-1-phenyl-1,3-butanedionate, was prepared from the cis-[RuCl<sub>2</sub>(dppm)<sub>2</sub>] precursor in mild conditions. Elemental analysis, spectroscopy (FTIR, <sup>1</sup>H, <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} and <sup>19</sup>F{<sup>1</sup>H} NMR) as well as single-crystal X-ray diffraction were used to characterize the new complex. Electronic structure of the complex was described utilizing TD-DFT analysis. All data indicate a good degree of purity, a cis arrangement for the diphosphines and a distorted geometry for the ruthenium center.

DOI: 10.26902/JSC\_id108210  
EDN: GXZWBH**Keywords:** ruthenium(II) complexes, dppm, β-diketonate, X-ray structure, multinuclear NMR spectroscopy, TD-DFT.**INTRODUCTION**

The coordination chemistry of ruthenium(II) containing chelating diphosphine ligands, particularly with the Ru(P—P)<sub>2</sub> framework, has been highlighted in the last decades due to their application in homogenous catalysis, bioinorganic chemistry as well as electronic and optoelectronics materials [ 1–6 ]. It is well established that phosphine ligands act as π acceptors stabilizing ruthenium(II) [ 7 ] and that the final properties of the designed complexes can be modulated by the phosphine substituents like bite angle, cone angle, cis or trans isomerism and by the judicious choice of the ligands that complete the octahedral coordination sphere of ruthenium [ 8, 9 ]. On the other hand, β-diketones exhibit relevant biological activities and as ligands in coordination chemistry generally coordinate metal ions by dissociation of the enolic proton, acting as chelating O,O-donor forming six-membered chelate rings [ 10, 11 ].

Aiming to develop compounds with relevant biological, in the present work a new heteroleptic ruthenium complex was synthesized by combining β-diketone and diphosphine ligands. Therefore, besi-

des the possibility of measuring  $^{31}\text{P}$  NMR due to the phosphine ligands, a fluorine containing  $\beta$ -diketone ligand ( $\text{bta}^-$ ) was chosen as since  $^{19}\text{F}$  is also a good probe for NMR spectroscopy. The single-crystal structure description and TD-DFT theoretical calculations on the electronic structure of the ruthenium(II) complex  $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{dppm})_2(\text{bta})]\text{PF}_6$  are further reported.

## EXPERIMENTAL

**Materials and physical measurements.** All reagents and solvents were used as received from Sigma-Aldrich.  $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$  was prepared according to reported procedure [ 12 ].

Microanalysis of carbon and hydrogen were performed out by PerkinElmer 2400 Series II CHNS/O elemental analyzer. IR spectra were registered in attenuated total reflectance (ATR) sample holder and diamond crystal equipped on a PerkinElmer FTIR Frontier Single Range – MIR spectrophotometer, in the range of  $4000\text{--}220\text{ cm}^{-1}$ .  $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  and  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  NMR experiments were determined by a Bruker Ascend 400 Avance III HD spectrometer (9.4 T, operating at 400 MHz, 162 MHz and 377 MHz for  $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$  and  $^{19}\text{F}$ , respectively) utilizing  $\text{CDCl}_3$  as solvent. Tetramethylsilane (TMS) was used as reference for  $^1\text{H}$  data and phosphoric acid (85 %) and trichloro-fluoro-methane ( $\text{CFCl}_3$ ) as external references for  $^{31}\text{P}$  and  $^{19}\text{F}$  NMR experiments, respectively.

**Synthesis of  $\text{cis-}[(\text{Ru}(\text{dppm})_2)(\text{bta})]\text{PF}_6$ .** 13.0 mg (0.06 mmol) of the  $\beta$ -diketone 4,4,4-trifluoro-1-phenyl-1,3-butanedione (Hbta) was added to solution of  $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$  (50.0 mg; 0.053 mmol) in methanol (20.0 mL), followed by the addition of 8.4  $\mu\text{L}$  (0.06 mmol) of triethylamine. The resulting solution was stirred under reflux for a 24 h period at room temperature. The final solution was concentrated to ca. 5 mL and 8.0 mg (0.049 mmol) of  $\text{NH}_4\text{PF}_6$  was added. The solution was cooled to  $7\text{ }^\circ\text{C}$ , causing a yellow solid to precipitate, which was filtered off, washed with distilled water and diethyl ether ( $2\times 5\text{ mL}$ ) and dried under vacuum. Yield: 0.040 g (56.3 %). MM = 1229.95 g/mol. Elemental analysis for  $\text{C}_{60}\text{H}_{50}\text{P}_5\text{F}_9\text{O}_2\text{Ru}$  (calcd/found): C 58.58/59.71; H 4.10/4.61. Selected FTIR (ATR,  $\text{cm}^{-1}$ ):  $\nu(\text{C}=\text{O} + \nu\text{C}=\text{C})$  1595, 1571;  $\nu_{\text{as}}(\text{C}-\text{F})$  1204;  $\nu(\text{C}-\text{CF}_3 + \nu\text{C}=\text{C})$  1315, 1292;  $\nu(\text{Ru}-\text{O})$  436;  $\nu(\text{P}-\text{F})$  831;  $\nu(\text{P}-\text{C}_{\text{phenil}})$  1099;  $\nu(\text{P}-\text{C}_{\text{aliphatic}})$  730.  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ( $\delta/\text{ppm}$ ): 4.34 (m, 1H,  $\text{H}_{\text{a,methylene/biph}}$ ), 4.60 (m, 1H,  $\text{H}_{\text{a,methylene/biph}}$ ), 4.78 (m, 1H,  $\text{H}_{\text{a,methylene/biph}}$ ), 5.04 (m, 1H,  $\text{H}_{\text{a,methylene/biph}}$ ), 6.24 (s, 1H,  $\text{H}_{\text{c,BTA}}$ ), 6.34 (2d, 2H,  $\text{H}_{\text{d,phenil/biph}}$ ), 6.60 (2d, 2H,  $\text{H}_{\text{d,phenil/biph}}$ ), 7.00 (t, 2H,  $\text{H}_{\text{c,phenil/biph}}$ ), 7.75 (2d, 2H,  $\text{H}_{\text{d,phenil/biph}}$ ), 7.81 (2d, 2H,  $\text{H}_{\text{d,phenil/biph}}$ ).  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NMR (162 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ( $\delta/\text{ppm}$ ): 0.45 (ddd, 1P), 3.99 (ddd, 1P),  $-13.99$  (ddd, 2P).  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  NMR (377 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) ( $\delta/\text{ppm}$ ):  $-74.20$  (s, 3F,  $\text{FCF}_3\text{-BTA}$ )  $-73.02$  (d, 6F,  $\text{FPF}_6$ ).

**Computational analysis.** The structure of the ruthenium complex was optimized considering the specie solvated in methanol using the conductor-like PCM (CPCM) model [ 13, 14 ], taking as start point the structure resolved by DRX. The optimization was performed using the functional M11 [ 15 ] combined with the DGDZVP basis set. This basis set performed far better than other double-zeta basis sets, and it even outperformed the triple-zeta basis sets [ 16 ]. The theoretical electronic spectrum was obtained using the time-dependent approach of the Density Functional Theory (TD-DFT). It was calculated considering the first 60 singlet excited states using the LC-BLYP functional [ 17 ] in combination with the DGDZVP basis set. In this case, the solvent effect was also considered using the CPCM model. All calculations were performed with Gaussian09 Revision E.01 [ 18 ].

**Structure determination by X-ray crystallography.** Single crystals of the complex  $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{dppm})_2(\text{bta})]\text{PF}_6$  were obtained from slow diffusion of diethyl ether into a saturated methanolic solution of the complex at  $10\text{ }^\circ\text{C}$ . The data was collected on a BRUKER APEX II Duo diffractometer using  $\text{MoK}_\alpha$  radiation ( $\lambda = 0.71073\text{ \AA}$ ). Standard procedures were applied for data reduction and absorption correction [ 19, 20 ]. The structure solution and refinement were performed with the SHELX program package [ 21 ]. All non-hydrogen atoms were refined with anisotropic thermal displacement parameters while the hydrogen atoms were placed at idealized positions with the riding model method using SHELXL-2016. Structural representations were drawn with ORTEP-3 for Windows [ 22 ]. The  $\text{CF}_3$  fragment from  $\text{bta}^-$  ligand was refined over two sites. The crystal data and details of structural determination are presented in [Table 1](#).

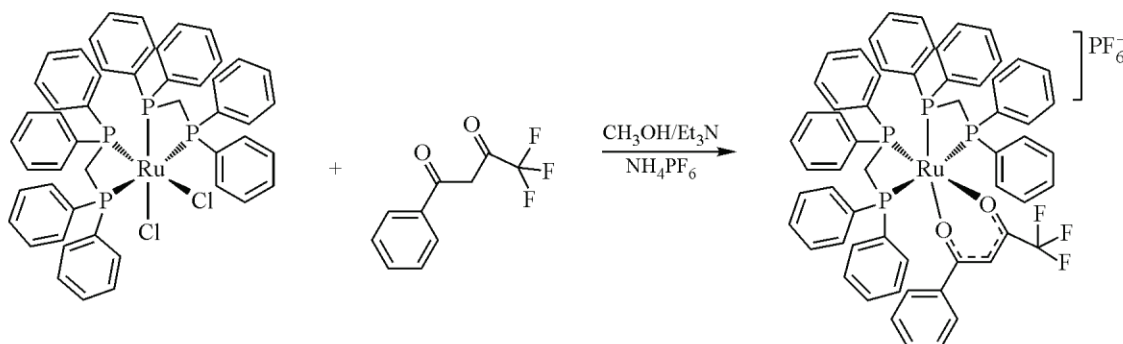


Crystal data and structure refinement for *cis*-[Ru(dppm)<sub>2</sub>(bta)]PF<sub>6</sub>

Parameter	Value
Empirical formula	C <sub>60</sub> H <sub>50</sub> F <sub>9</sub> O <sub>2</sub> P <sub>5</sub> Ru
Formula weight, g/mol	1229.92
Temperature, K	296(2)
Crystal system	Triclinic
Space group	<i>P</i> $\bar{1}$
Unit cell dimensions: <i>a</i> , <i>b</i> , <i>c</i> , Å	11.0966(4), 12.9380(5), 20.0902(8)
$\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ , deg.	82.1520(10), 86.4860(10), 80.3710(10)
Volume, Å <sup>3</sup>	2814.85(19)
<i>Z</i>	2
Calculated density, mg/m <sup>3</sup>	1.451
$\mu$ , mm <sup>-1</sup>	0.493
<i>F</i> (000)	1252
Crystal size, mm	0.310×0.150×0.040
$\theta$ range, deg.	1.610 to 26.408
Index ranges	-13 ≤ <i>h</i> ≤ 13, -16 ≤ <i>k</i> ≤ 16, -25 ≤ <i>l</i> ≤ 25
Max. and min. transmission	0.7454 and 0.7036
Reflections collected / independent	87713 / 11531
Completeness to $\theta = 25.242^\circ$ , %	100.0
Data / restraints / parameters	11531 / 32 / 790
GOOF on <i>F</i> <sup>2</sup>	1.049
Final <i>R</i> indices ( <i>I</i> > 2σ( <i>I</i> ))	<i>R</i> <sub>1</sub> = 0.0388, <i>wR</i> <sub>2</sub> = 0.0867
<i>R</i> indices (all data)	<i>R</i> <sub>1</sub> = 0.0560, <i>wR</i> <sub>2</sub> = 0.0962
Largest diff. peak and hole, e/Å <sup>3</sup>	0.39 and -0.34

## RESULTS AND DISCUSSION

**Synthesis.** The new ruthenium(II) diphosphinic complex containing a  $\beta$ -diketonate ligand synthesized in this work was obtained in good yield and with satisfactory degree of purity by simple chlorido exchange in the presence of a base, as showed in Scheme 1. *cis*-[Ru(dppm)<sub>2</sub>(bta)]PF<sub>6</sub> is air stable, soluble in dichloromethane, chloroform, methanol and DMSO and insoluble in water and diethyl ether.

Scheme 1. Synthesis of the *cis*-[Ru(dppm)<sub>2</sub>(bta)]PF<sub>6</sub> complex

**Infrared spectroscopy.** The FTIR spectra of the new complex showed in Fig. 1 displays vibrational modes corresponding to the dppm ligands at 1485 cm<sup>-1</sup>, 1435 cm<sup>-1</sup>, 1099 cm<sup>-1</sup>, 730 cm<sup>-1</sup> and

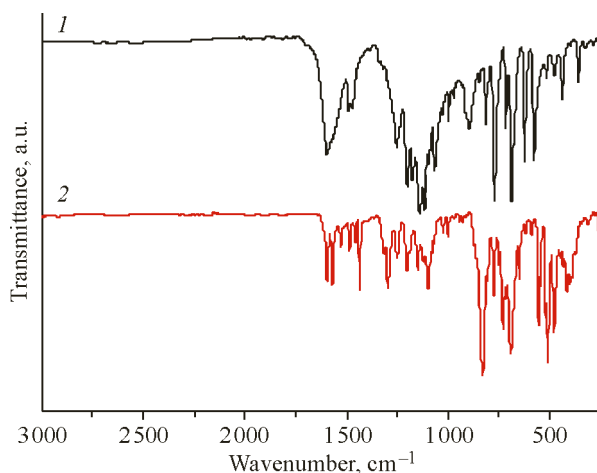


Fig. 1. IR spectra of the  $\beta$ -diketone Hbta (1 line) and  $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bta})(\text{dppm})_2]\text{PF}_6$  (2 line)

$691\text{ cm}^{-1}$ , practically unchanged when compared with the  $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$  precursor. The absence of the Ru—Cl stretching modes close to  $260\text{ cm}^{-1}$  is indicative of chlorido exchange in the product [23]. The coordination of the  $\text{bta}^-$  ligand is confirmed by the characteristic vibrational modes of  $\nu(\text{C}=\text{O})$  coupled with  $\nu(\text{C}=\text{C})$  observed at  $1595\text{ cm}^{-1}$  and  $1571\text{ cm}^{-1}$ ,  $\nu\text{C}-\text{CF}_3$  coupled with  $\nu\text{C}=\text{C}$  at  $1315\text{ cm}^{-1}$  and  $1292\text{ cm}^{-1}$  as well as  $\nu_{\text{as}}\text{C}-\text{F}$  at  $1204\text{ cm}^{-1}$  [24, 25]. The presence of the counter-ion  $\text{PF}_6^-$  is confirmed by the observation of the  $\nu\text{P}-\text{F}$  at  $831\text{ cm}^{-1}$  [23].

**NMR spectroscopy.** The  $^1\text{H}$  NMR spectrum showed all the expected signals for the  $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{dppm})_2(\text{bta})]\text{PF}_6$  as showed in Fig. 2. In this regard, multiplets were observed between 4.30 ppm and 5.04 ppm corresponding to the aliphatic protons of the dppm ligands. Also, the *p*-hydrogen atoms ( $\text{H}_d$ ) of the aromatic rings of dppm are clearly observed as multiplets at 6.34 ppm; 6.60 ppm; 7.75 ppm and 7.81 ppm each one corresponding to two hydrogen atoms. The region between 7.00 ppm and 7.55 ppm is formed by overlapped multiplets corresponding to the *o*- and *m*-hydrogens of the aromatic rings of dppm as well as hydrogens of the aromatic ring of the  $\text{bta}^-$  ligand corresponding to a total of 37 hydrogen atoms. Evidence of the coordination of  $\text{bta}^-$  in its deprotonated form is the singlet at 6.24 ppm integrating to one hydrogen [26].

The analysis of the  $^3\text{P}\{^1\text{H}\}$  NMR spectrum (Fig. 3) showed a typical ABMX spin system confirming the *cis* arrangement of the dppm ligands in the new complex [27]. A set of signals centered at  $-13.99\text{ ppm}$  is attributed to the two phosphorus *trans* to each other. In 0.45 ppm and 3.99 ppm the multiplets observed corresponding to the phosphorus *trans* to oxygen atoms of the  $\text{bta}^-$  ligand, each one integrating to one phosphorus. These chemical shifts are downfield shifted when compared with the observed for the precursor  $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{dppm})_2]$ , triplets at  $-0.84\text{ ppm}$  and  $-27.04\text{ ppm}$ , forming an  $A_2X_2$  spin system. Additionally, a septet signal is observed at  $-144.30\text{ ppm}$  being characteristic of the coupling of the phosphorus atom with the fluorine atoms of the counterion  $\text{PF}_6^-$ .

The  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  NMR spectrum shown in Fig. 4 displayed a singlet signal at  $-74.24\text{ ppm}$  corresponding to the  $-\text{CF}_3$  group of the  $\text{bta}^-$  ligand [28]. In the non-coordinated  $\beta$ -diketone this singlet is slightly more deshielded and resonates at  $-72.62\text{ ppm}$ . Such a variation in chemical shift confirms the coordination of  $\beta$ -diketone to ruthenium. The counterion  $\text{PF}_6^-$  is observed as doublet signal at  $-73.02\text{ ppm}$  ( $J_{\text{P}-\text{F}} = 757\text{ Hz}$ ) [29].

**Structure determination by X-ray crystallography.** The crystal structure of the complex  $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{dppm})_2(\text{bta})]\text{PF}_6$  was determined and its molecular structure with the respective atom numbering scheme are presented in Fig. 5, selected bond lengths and angles are described in the caption. This complex crystallizes in the  $P\bar{1}$  triclinic space group with the octahedron coordination environment of

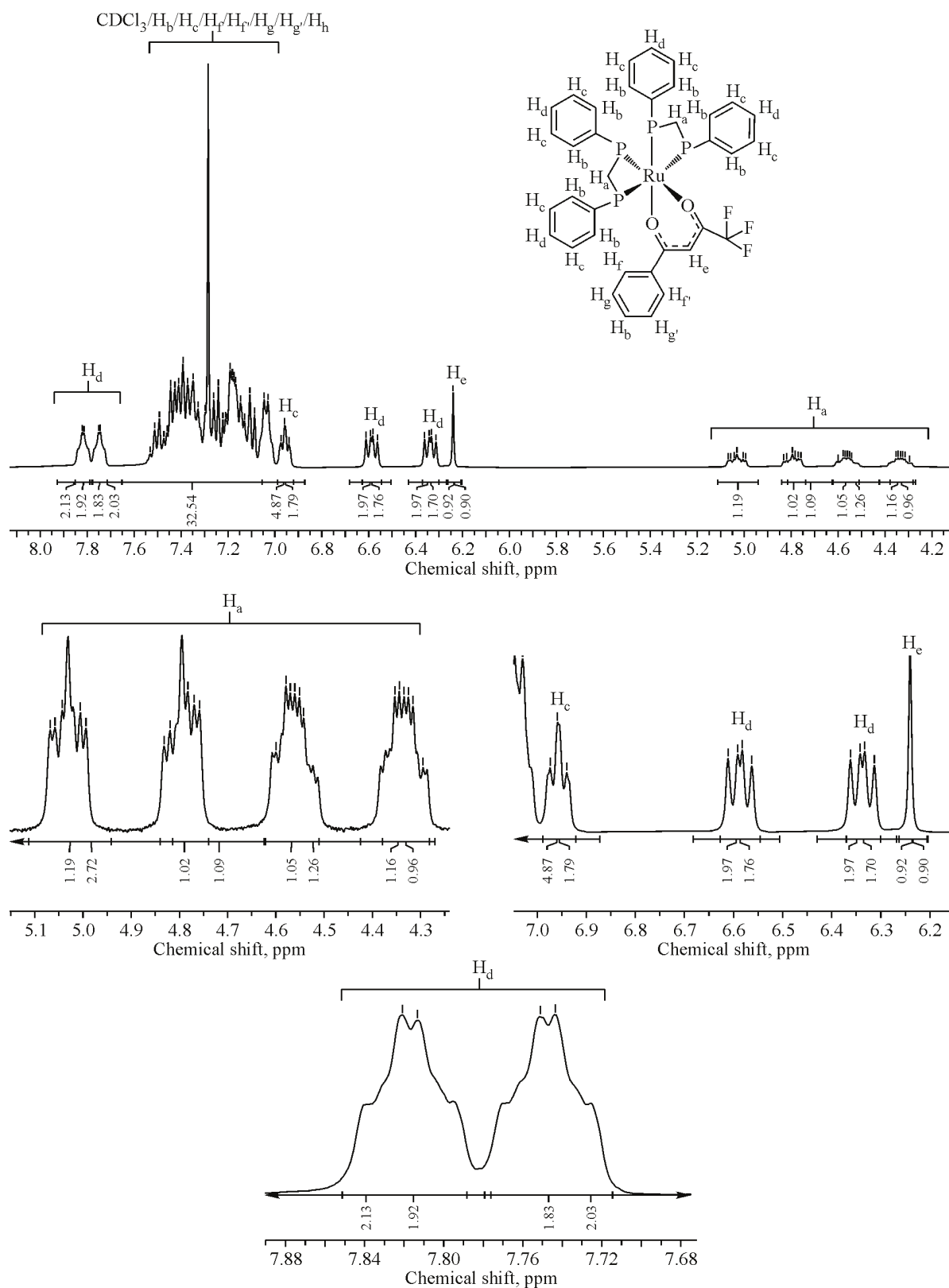


Fig. 2. <sup>1</sup>H NMR spectrum of the cis-[Ru(dppm)<sub>2</sub>(bta)]PF<sub>6</sub> complex (CDCl<sub>3</sub>)

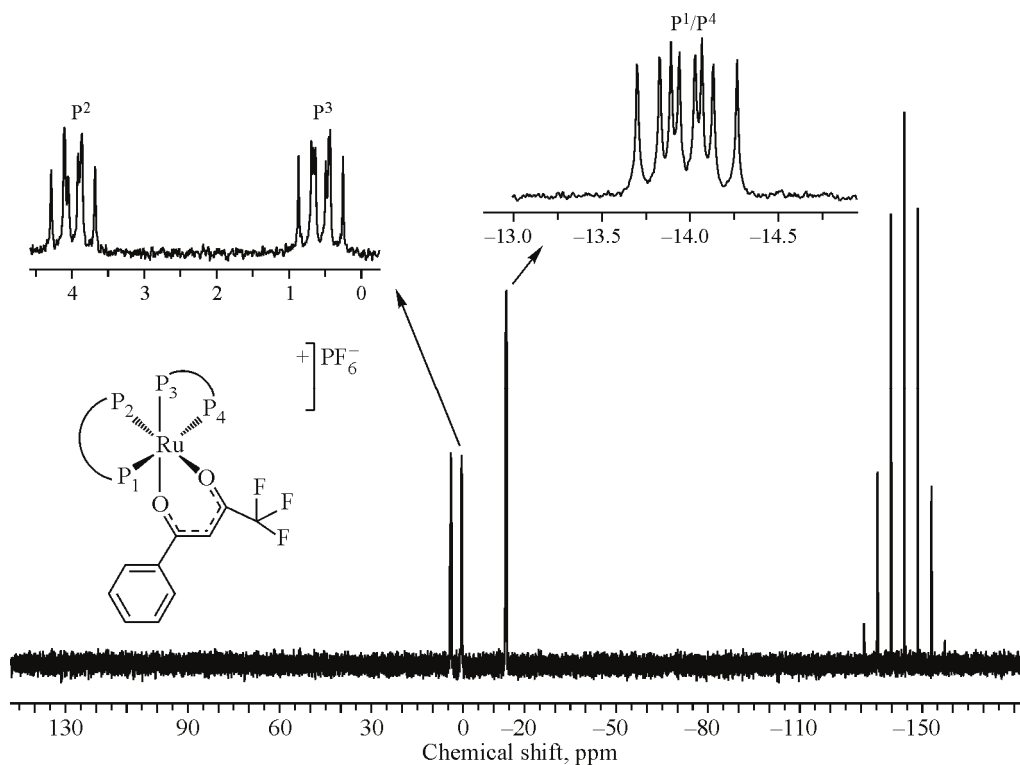


Fig. 3.  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NMR spectrum of the *cis*-[Ru(dppm)<sub>2</sub>(bta)]PF<sub>6</sub> complex

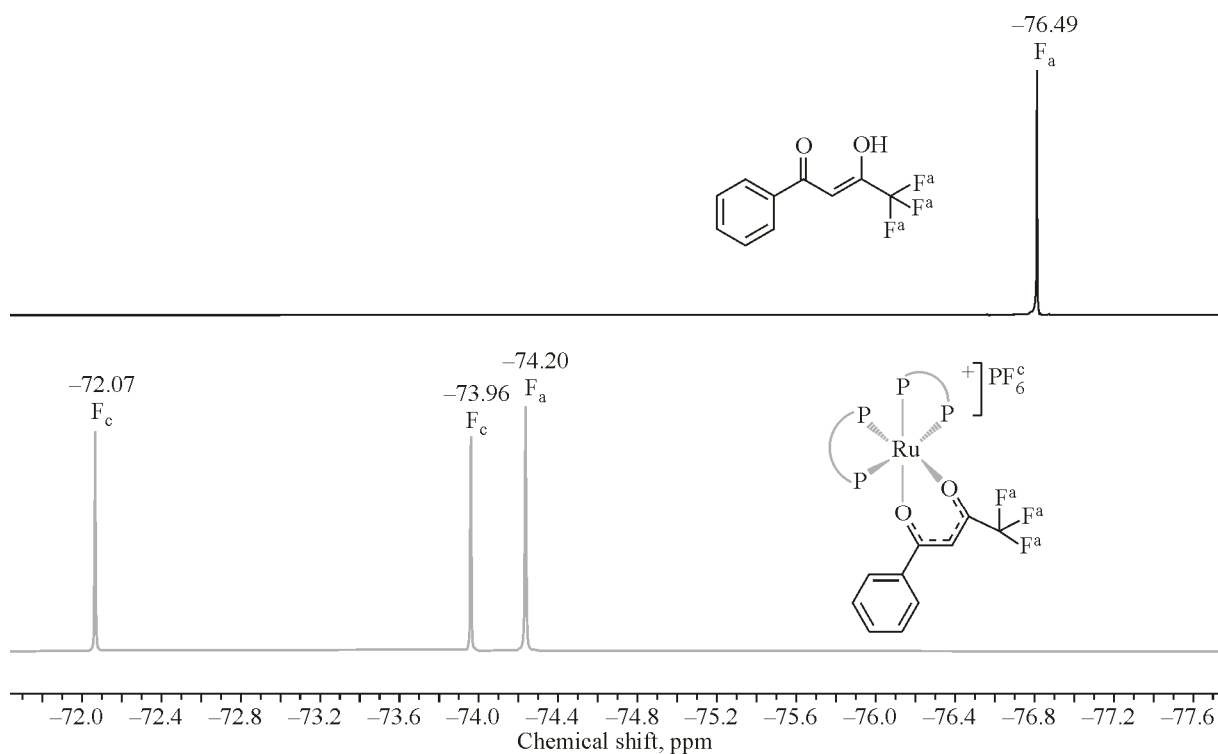


Fig. 4.  $^{19}\text{F}\{^1\text{H}\}$  NMR spectra of the *cis*-[Ru(bta)(dppm)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> complex (green line) and  $\beta$ -diketone Hbta (black line)

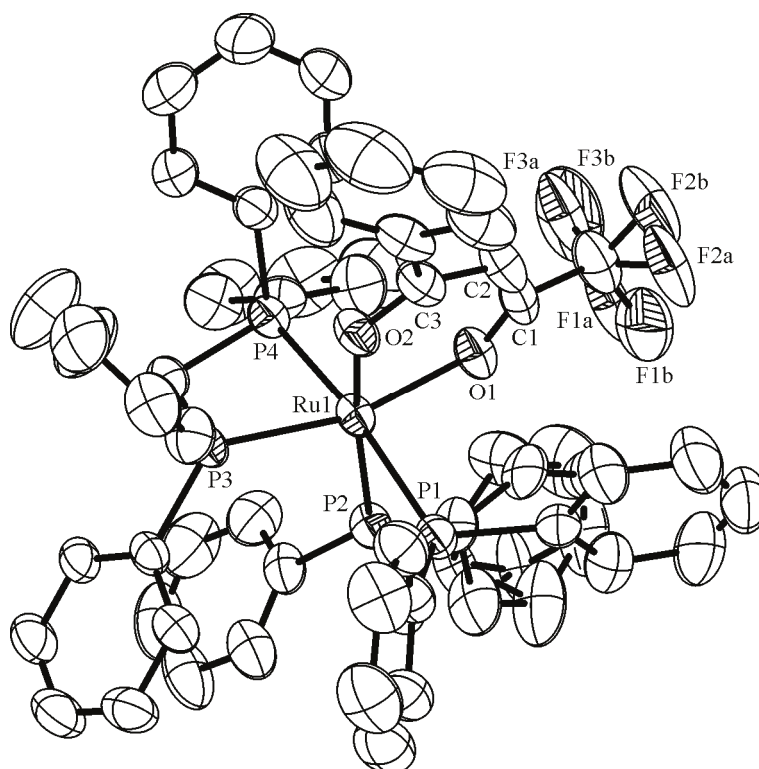


Fig. 5. ORTEP plot of *cis*-[Ru(bta)(dppm)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> showing the atoms labeling with the thermal ellipsoids at the 50 % probability level. Hydrogen atoms and PF<sub>6</sub><sup>-</sup> ion were omitted for clarity. CF<sub>3</sub> group is disordered over two sites (major component A with 89.3 % of occupation and minor component B with 10.7 % of occupation)

ruthenium highly distorted. As predicted by the <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} NMR analysis and illustrated in the molecular structure of the complex (Fig. 5) the two chelating dppm ligands are *cis* positioned with bonding through the P1, P2, P3 and P4 atoms and also the β-diketonate ligand is coordinated in a bidentate mode through the oxygen atoms O1 and O2. Major distortions are due to the acute chelate bite angles of P4—Ru—P3 and P1—Ru—P2 of 71.03° and 71.06°, respectively, imposed by the short methylene bridge [4]. Also the O2—Ru—O1 angle shows some strain (85.81°), being consistent with the values reported for other diketonate ligands forming six-membered rings with the central ruthenium ion [28, 30]. The Ru—P bond lengths vary from 2.3579(8) Å to 2.3740(8) Å for mutually *trans* disposed phosphorus and 2.3051(7) Å to 2.3142(8) Å for those phosphorus *trans* to the β-diketonate oxygen atoms. The Ru—O1 bond is slightly shorter than Ru—O2 bond, 2.1156(18) Å vs. 2.1260(18) Å, respectively, this characteristic is observed for other complexes containing β-diketonates [29]. These data together the obtained in the optimized structure are displayed in table 2. No H-bonds are observed in the crystalline structure of the complex; however, it is stabilized by weak intermolecular of the type C—H···F involving the CH groups and the CF<sub>3</sub> moiety from a neighbouring molecule and the PF<sub>6</sub><sup>-</sup> counter-ion (Fig. 6).

**UV-Vis spectroscopy analysis.** UV-Vis spectrum of the *cis*-[Ru(bta)(dppm)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> complex was measured in methanol, as displayed in Fig. 7. The observed bands around 300–400 nm displayed low molar absorption coefficients, close to 0.3×10<sup>3</sup> L/mol·cm, while bands below 300 are more intense.

The electronic transitions have been assigned based on a TDDFT calculation. The optimized structure in methanol was obtained using Gaussian09 analysis package taking as a starting point the structure of the complex under study, resolved by XRD. The structural agreement has been observed

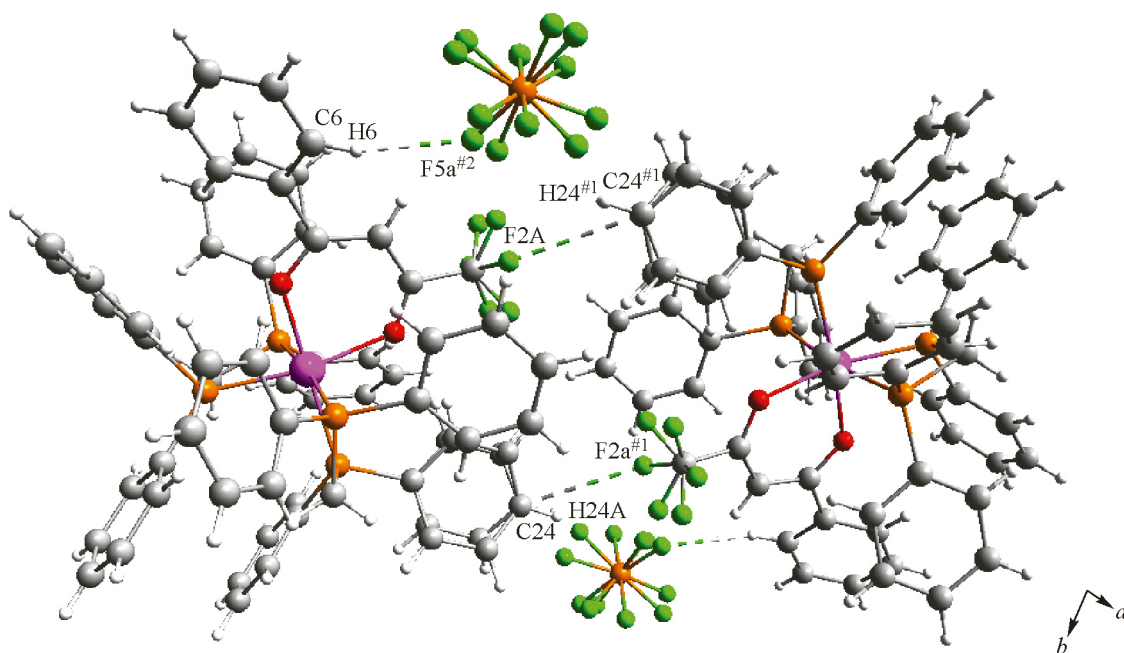


Fig. 6. Short contacts involved in the crystal structure of *cis*-[Ru(bta)(dppm)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>: (C6...F5a = 3.2704(1) Å, C6—H6...F5a = 162.656(3)°, (C24...F2a<sup>#1</sup> = 3.1637(1) Å, C24—H24...F2a<sup>#2</sup> = 127.554(3)°). Symmetry operations used <sup>#1</sup> 1-x, -y, 1-z and <sup>#2</sup> x, -1+y, z

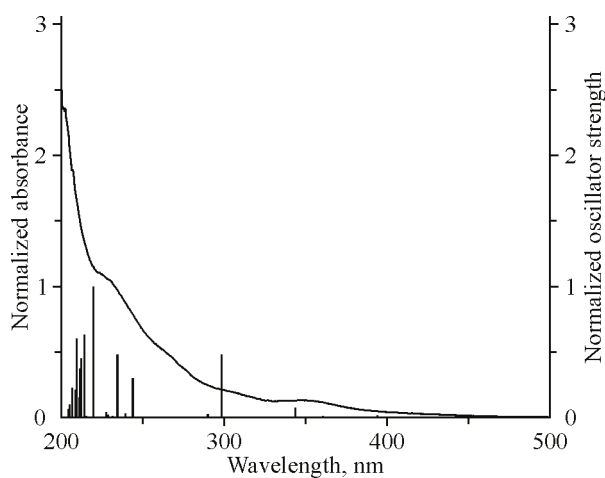


Fig. 7. Experimental UV-Vis spectrum of the *cis*-[Ru(bta)(dppm)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> in methanol compared to excitation energies obtained by TD-DFT. Both spectra were normalized for comparison purposes

from the comparison of bond distances and angles between calculated and X-ray determined structure (Table 2).

Computation of 60 excited states allowed the interpretation of the experimental spectra in the 200–500 nm range. The calculated energies of selected excited states and their respective oscillator strengths (*f*) are shown in Table 3. A weak broad band with peak at 350 nm (343.57 nm – theoretical value), seems to be the result of the combination of a set of 10 configurations (see Supplementary Materials\*), among which stand out, in parentheses the weight of each configuration, HOMO →

\* Supplementary materials are available for this article at doi 10.26902/JSC\_id108210 and are accessible for authorized users.

Table 2

*Selected bond lengths (Å) and bond angles (deg.) for the cis-[Ru(bta)(dppm)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> complex*

Bond lengths	Experimental	Optimized	Bond angles	Experimental	Optimized
Ru—O1	2.1260(18)	2.1774	O2—Ru—O1	85.81(7)	83.09
Ru—O2	2.1156(18)	2.1597	P4—Ru—P3	71.03(3)	70.71
Ru—P1	2.3740(8)	2.4083	P1—Ru—P2	71.06(3)	70.95
Ru—P2	2.3142(8)	2.3317	P4—Ru—P1	171.72(3)	167.98
Ru—P3	2.3051(7)	2.3320	O2—Ru—P2	166.36(6)	170.47
Ru—P4	2.3579(8)	2.3517	O1—Ru—P3	164.14(6)	164.35
O1—C1	1.265(4)	1.2660	O1—Ru—P1	90.88(6)	89.14
O2—C3	1.265(4)	1.2559	P3—Ru—P1	104.35(3)	104.52

Table 3

*Configurations with more relevant weights that make up some of the transitions calculated with  $\lambda > 214$  nm for the complex cis-[Ru(bta)(dppm)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, using the TD-DFT approach*

$\lambda$ , nm ( <i>f</i> )	Major contributions
394.21 (0.0064)	H-3 → L+2 (12.68%); H-3 → L+3 (12.10%); H-3 → L+16 (22.83%)
360.49 (0.0058)	H-10 → L+1 (20.81%); H-10 → L+17 (15.45%); H → L+1 (10.51%); H → L+17 (15.74%)
343.57 (0.0351)	H → L+1 (17.11%); H → L+2 (16.59%); H → L+18 (13.81%); H → L+19 (13.05%)
320.07 (0.0025)	H-11 → L+1 (14.39%); H-11 → L+17 (16.89%); H-3 → L+1 (17.03%); H → L (25.99%)
298.40 (0.2279)	H-1 → L (36.59%), H → L (31.55%);
243.89 (0.1413)	H-3 → L (35.75%), H-2 → L (29.85%); H-1 → L (20.86%)
234.44 (0.2259)	H-10 → L (16.87%); H-9 → L (10.20%); H-1 → L (48.23%)
219.63 (0.4723)	H-1 → L+1 (15.02%); H → L+1 (20.03%); H → L+6 (12.87%)
214.10 (0.2989)	H-9 → L+2 (13.59%); H-8 → L+2 (20.10%); H-4 → L+1 (11.97%); H → L+2 (12.30%)

→ LUMO+1 (17.11 %), HOMO → LUMO+2 (16.53 %), HOMO → LUMO+18 (13.81 %), and HOMO → LUMO+19 (13.05 %). The analysis of these configurations suggests that this band is assigned to MLCT transitions to both dppm and BTA ligands. The band centered at 302 nm involves a set of different transitions as suggest the theoretical calculation, involving the fourth (transition at 320.07 nm) to the seventh excited state (transition at 289.94 nm). These transitions are assigned to MLCT to BTA ligand (see Supplementary Information). The bands in the high-energy side 262 nm (theoretical transitions between 243.89 nm and 234.44 nm, 9<sup>th</sup> to 11<sup>th</sup> excited states), and 228 nm (theoretical transitions between 219.63 nm and 214.10 nm, 20<sup>th</sup> to 22<sup>nd</sup> excited states, are assigned respectively to intraligand (BTA) and interligand (dppm to BTA) transitions.

## CONCLUSIONS

In conclusion, this study reports the synthesis, characterization and structural analysis of a novel cationic ruthenium(II) complex containing two dppm and a  $\beta$ -diketonate as ligands. Spectroscopic data are consistent with the cis disposition of the diphosphine ligands and chelation through oxygen atoms of the bta<sup>-</sup> ligand, also a significant distortion from the octahedral geometry was observed. Electronic spectrum is dominated by MLCT transitions, mainly to BTA ligand, and also intraligand and interligand transitions in the higher energy region of the spectrum.

**Additional information.** CCDC 2218745 contains the supplementary crystallographic data for the complex. The data can be obtained free of charge via <http://www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrie->



ving.html, or from the Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: (+44) 1223-336-033; or e-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk.

**Funding.** This work was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, 311424/2021-0), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG, APQ-01820-21).

## REFERENCES

1. L.A. Miller-Clark, T. Ren. Syntheses and material applications of Ru(II)(bisphosphine)<sub>2</sub> alkynyls. *J. Organomet. Chem.*, **2021**, 951, 122003. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2021.122003>
2. F. Rinaldi-Neto, A.B. Ribeiro, N.H. Ferreira, I.S. Squarisi, K.M. Oliveira, R.P. Orenha, R.L.T. Parreira, A.A. Batista, D.C. Tavares. Anti-melanoma effect of ruthenium(II)-diphosphine complexes containing naphthoquinone ligand. *J. Inorg. Biochem.*, **2021**, 222, 111497. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2021.111497>
3. S.G. Eaves, D.S. Yufit, B.W. Skelton, J.A.K. Howard, P.J. Low. Syntheses, structural characterisation and electronic structures of some simple acyclic amino carbene complexes. *Dalton Trans.*, **2015**, 44(32), 14341–14348. <https://doi.org/10.1039/c5dt01806d>
4. J.M. Lynam, T.D. Nixon, A.C. Whitwood. Solvent and phosphine dependency in the reaction of *cis*-RuCl<sub>2</sub>(P—P)<sub>2</sub> (P—P = dppm or dppe) with terminal alkynes. *J. Organomet. Chem.*, **2008**, 693(19), 3103–3110. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2008.06.021>
5. H.-L. Shek, C.-F. Yeung, L.-H. Chung, C.-Y. Wong. A focused review on the unconventional alkyne activations by ruthenium(II) and osmium(II) complexes supported by 1,2-bis(diphenylphosphino)methane (dppm). *Polyhedron*, **2021**, 197, 115023. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2021.115023>
6. M.S. Costa, Y.G. Gonçalves, S.C. Teixeira, D.C. de O. Nunes, D.S. Lopes, C.V. da Silva, M.S. da Silva, B.C. Borges, M.J.B. Silva, R.S. Rodrigues, V. de M. Rodrigues, G. v. Poelhsitz, K.A.G. Yoneyama. Increased ROS generation causes apoptosis-like death: Mechanistic insights into the anti-*Leishmania* activity of a potent ruthenium(II) complex. *J. Inorg. Biochem.*, **2019**, 195, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2019.03.005>
7. B.P. Sullivan, D.J. Salmon, T.J. Meyer. Mixed phosphine 2,2'-bipyridine complexes of ruthenium. *Inorg. Chem.*, **1978**, 17(12), 3334–3341. <https://doi.org/10.1021/ic50190a006>
8. M. Kranenburg, P.C.J. Kamer, P.W.N.M. van Leeuwen, B. Chaudret. Diphosphines with large natural bite angles lead to the formation of non-classical *cis*-(diphosphine)<sub>2</sub>Ru(H)(H<sub>2</sub>)<sup>+</sup> complexes. *Chem. Commun.*, **1997**, (4), 373–374. <https://doi.org/10.1039/a605635k>
9. C.A. Tolman. Steric effects of phosphorus ligands in organometallic chemistry and homogeneous catalysis. *Chem. Rev.*, **1977**, 77(3), 313–348. <https://doi.org/10.1021/cr60307a002>
10. P.A. Vigato, V. Peruzzo, S. Tamburini. The evolution of β-diketone or β-diketophenol ligands and related complexes. *Coord. Chem. Rev.*, **2009**, 253(7–8), 1099–1201. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.07.013>
11. R.T. Ryan, D. Havrylyuk, K.C. Stevens, L.H. Moore, S. Parkin, J.S. Blackburn, D.K. Heidary, J.P. Selegue, E.C. Glazer. Biological investigations of Ru(II) complexes with diverse β-diketone ligands. *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2021**, 2021(35), 3611–3621. <https://doi.org/10.1002/ejic.202100468>
12. B.P. Sullivan, T.J. Meyer. Comparisons of the physical and chemical properties of isomeric pairs. 2. Photochemical, thermal and electrochemical *cis*–*trans* isomerizations of *M*(Ph<sub>2</sub>PCH<sub>2</sub>PPh<sub>2</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (*M* = Ru<sup>II</sup>, Os<sup>II</sup>). *Inorg. Chem.*, **1982**, 21(3), 1037–1040. <https://doi.org/10.1021/ic00133a033>
13. Y. Takano, K.N. Houk. Benchmarking the conductor-like polarizable continuum model (CPCM) for aqueous solvation free energies of neutral and ionic organic molecules. *J. Chem. Theory Comput.*, **2005**, 1(1), 70–77. <https://doi.org/10.1021/ct049977a>
14. A. Klamt, C. Moya, J. Palomar. A comprehensive comparison of the IEFPCM and SS(V)PE continuum solvation methods with the COSMO approach. *J. Chem. Theory Comput.*, **2015**, 11(9), 4220–4225. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00601>
15. R. Peverati, D.G. Truhlar. Improving the accuracy of hybrid meta-GGA density functionals by range separation. *J. Phys. Chem. Lett.*, **2011**, 2(21), 2810–2817. <https://doi.org/10.1021/jz201170d>
16. A. Siiskonen, A. Priimagi. Benchmarking DFT methods with small basis sets for the calculation of halogen-bond strengths. *J. Mol. Model.*, **2017**, 23(2), 50. <https://doi.org/10.1007/s00894-017-3212-4>
17. S. Dokmaisrijan, N. Kungwan. LC-BLYP calculations of the structures and photophysical properties of [1,3]thiazolo[4,5-*b*]pyrazine derivatives in cyclohexane and methanol. *J. Phys. Chem. A*, **2019**, 123(50), 10685–10693. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.9b09074>
18. Gaussian09, Revision E.01. M.J. Frisch, G.W. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G.A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H.P. Hrath-



- chian, A.F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J.L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J.A. Montgomery Jr., J.E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J.J. Heyd, E. Brothers, K.N. Kudin, V.N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J.C. Burant, S.S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J.M. Millam, M. Klene, J.E. Knox, J.B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R.E. Stratmann, O. Yazyev, A.J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J.W. Ochterski, R.L. Martin, K. Morokuma, V.G. Zakrzewski, G.A. Voth, P. Salvador, J.J. Dannenberg, S. Dapprich, A.D. Daniels, Ö. Farkas, J.B. Foresman, J.V. Ortiz, J. Cioslowski, D.J. Fox. Wallingford, CT, USA: Gaussian, Inc., **2009**.
19. Bruker. SAINT. Madison, Wisconsin, USA: Bruker AXS Inc., **2012**.
20. G.M. Sheldrick. SADABS. Göttingen, Germany: University of Göttingen, **2014**.
21. G.M. Sheldrick. SHELXT – Integrated space-group and crystal-structure determination. *Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Adv.*, **2015**, 71(1), 3–8. <https://doi.org/10.1107/s2053273314026370>
22. L.J. Farrugia. WinGX and ORTEP for Windows: an update. *J. Appl. Crystallogr.*, **2012**, 45(4), 849–854. <https://doi.org/10.1107/s0021889812029111>
23. K. Nakamoto. Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds. Part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry, 6th ed. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, **2008**.
24. D. Wang, Z. Luo, Z. Liu, D. Wang, L. Fan, G. Yin. Synthesis and photoluminescent properties of Eu(III) complexes with fluorinated  $\beta$ -diketone and nitrogen heterocyclic ligands. *Dyes Pigm.*, **2016**, 132, 398–404. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2016.05.026>
25. A.-R. Nekoei, S.F. Tayyari, M. Vakili, S. Holakoei, A.H. Hamidian, R.E. Sammelson. Conformation and vibrational spectra and assignment of 2-thenoyltrifluoroacetone. *J. Mol. Struct.*, **2009**, 932(1–3), 112–122. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2009.05.045>
26. S. Seršen, J. Kljun, F. Požgan, B. Štefane, I. Turel. Novel organoruthenium(II)  $\beta$ -diketonates as catalysts for ortho arylation via C–H activation. *Organometallics*, **2013**, 32(2), 609–616. <https://doi.org/10.1021/om3011189>
27. R.F. Winter, T. Scheiring. Synthesis, structures, ligand substitution reactions, and electrochemistry of the nitrile complexescis-[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>, *t*-Bu, Ph). *Z. Anorg. Allg. Chem.*, **2000**, 626(5), 1196–1204. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1521-3749\(200005\)626:5<1196::aid-zaac1196>3.0.co;2-b](https://doi.org/10.1002/(sici)1521-3749(200005)626:5<1196::aid-zaac1196>3.0.co;2-b)
28. S. Seršen, J. Kljun, K. Kryeziu, R. Panchuk, B. Alte, W. Körner, P. Heffeter, W. Berger, I. Turel. Structure-related mode-of-action differences of anticancer organoruthenium complexes with  $\beta$ -diketonates. *J. Med. Chem.*, **2015**, 58(9), 3984–3996. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00288>
29. M. Uršič, T. Lipeč, A. Meden, I. Turel. Synthesis and structural evaluation of organo-ruthenium complexes with  $\beta$ -diketonates. *Molecules*, **2017**, 22(2), 326. <https://doi.org/10.3390/molecules22020326>
30. M.V. Bykov, Z.D. Abramov, M.V. Pakhomova, T.N. Borodina, V.I. Smirnov, D.S. Suslov. Structure and catalytic properties of palladium(II) (acetylacetonato- $\kappa^2$ O,O')bis(tris(diethylamino)phosphine)tetrafluoroborate. *J. Struct. Chem.*, **2022**, 63(1), 125–139. <https://doi.org/10.1134/s0022476622010139>