



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



**Reatividade de clorido complexos terpiridina de rutênio (II) coordenados a
ligantes diimina: Estudo cinético e termodinâmico de aquação e interação
com DNA**

Dissertação de Mestrado

Evelyn Christine de Souza Arantes

Orientadora

Profa. Dra. Renata Galvão de Lima

ITUIUTABA/MG

2025

Reatividade de clorido complexos terpiridina de rutênio (II) coordenados a ligantes diimina: Estudo cinético e termodinâmico de aquação e interação com DNA

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

Candidata: Evelyn Christine de Souza Arantes

Orientadora: Profa. Dra. Renata Galvão de Lima

Área de Concentração: Química Bioinorgânica, Fotoquímica e Fotobiologia

ITUIUTABA/MG

2025

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

A662
2025

Arantes, Evelyn Christine de Souza, 2000-
Reatividade de clorido complexos terpiridina de
rutênio (II) coordenados a ligantes diimina: Estudo
cinético e termodinâmico de aquação e interação com DNA
[recurso eletrônico] / Evelyn Christine de Souza
Arantes. - 2025.

Orientadora: Renata Galvão de Lima.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de
Uberlândia, Pós-graduação em Química.
Modo de acesso: Internet.
Disponível em: <http://doi.org/10.14393/ufu.di.2025.193>
Inclui bibliografia.

1. Química. I. Lima, Renata Galvão de, 1975-,
(Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-
graduação em Química. III. Título.

CDU: 54

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2: Gizele

Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091
Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



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 DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Química				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado Acadêmico, 400, PPGQUI				
Data:	Vinte e oito de fevereiro de dois mil e vinte e cinco	Hora de início:	8h30min	Hora de encerramento:	12:05
Matrícula do Discente:	12312QMI008				
Nome do Discente:	Evelyn Christine de Souza Arantes				
Título do Trabalho:	"Reatividade de clorido complexos terpiridina de rutênio (II) coordenados a ligantes diimina: Estudo cinético e termodinâmico de aquação e interação com DNA"				
Área de concentração:	Química				
Linha de pesquisa:	Química Bioinorgânica, Fotoquímica e Fotobiologia				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Entendimento das interações entre albumina humana e complexos de rutênio doadores de óxido nítrico do tipo [RuII(NH.NHq)(tpy)L] ⁿ⁺ , L=NO ⁺ ou NO ₂ : potencialidades na prevenção de alterações feto-placentárias				
ODS	"ODS 3 - Saúde e bem-estar: assegurar uma vida saudável e promover o bemestar para todos, em todas as idades."				

Reuniu-se, _____ por _____
webconferência, pelo _____ *link:*
https://teams.microsoft.com/l/meetupjoin/19%3ameeting_MjExN2M4YjYtMTBhZS00YzlwLWFjNGMtMWVNkMTFjZmE4OTA1%40thread.v2/0?context=%7b%22Tid%22%3a%22cd5e6d23-cb99-4189-88ab-1a9021a0c451%22%2c%22Oid%22%3a%22a7df9d1-81e0-9434-7bf647ddbc79%22%7d, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Química, assim composta pelos professores doutores: **André Luiz Bogado**, da Universidade Federal de Uberlândia - ICENP; **Sofia Nikolaou**, da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto - USP ; e **Renata Galvão de Lima**, orientadora da candidata.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Dr^a. **Renata Galvão de Lima**, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

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

Aprovada.

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

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



Documento assinado eletronicamente por **Andre Luiz Bogado, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/02/2025, às 12:03, 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 **Renata Galvão de Lima, Usuário Externo**, em 28/02/2025, às 12:04, 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 **Sofia Nikolaou, Usuário Externo**, em 28/02/2025, às 12:06, 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, informando o código verificador **5951257** e o código CRC **78212F13**.

Referência: Processo nº 23117.085982/2024-75

SEI nº 5951257

Dedico este trabalho aos meus pais, Vanderlei e Ellen, a quem devo cada passo e cada conquista da minha vida. Se hoje tenho a oportunidade de obter o título de mestre, foi porque houve muito suor derramado e trabalho árduo realizado por eles. Seria insensato ignorar a trajetória que trilharam para que eu e meus irmãos conquistássemos aquilo que a eles não foi proporcionado.

Aos meus irmãos, Eder e Maiara, e à minha sobrinha, Maria Clara, também dedico este trabalho. Vocês são frutos da mesma história construída por Vanderlei e Ellen, e comigo vivenciaram a busca incessante por educação e aprendizado. Cada um à sua maneira, mas sempre sob o cuidado e o exemplo de nossos pais.

Quero ainda dedicar este trabalho a tantos outros corações que fizeram parte da minha história e influenciaram minhas escolhas ao longo do caminho. São incontáveis as contribuições que recebi, mas sei que aqueles que por aqui passarem entenderão minha gratidão e meu reconhecimento, mesmo sem, talvez, ter seu nome aqui mencionado.

Por fim, dedico este trabalho à pequena Evelyn, que um dia sonhou ser tantas coisas e hoje, ao trilhar o caminho da pesquisa científica, percebe que alcançou muito mais do que um dia ousou imaginar. Este trabalho é para os que sonham e não desistem, para os que caem e se levantam, e para os que, mesmo diante das dificuldades, conseguem enxergar e escolher a verdadeira Luz.

AGRADECIMENTOS

A Deus, Autor e Sentido da minha vida e dos meus passos. Se escrevo esse trabalho, muito antes Ele já havia colocado capítulos, parágrafos e vírgulas em minha história. *“Tu me viste antes de eu nascer. Cada dia de minha vida estava registrado em teu livro; cada momento foi estabelecido quando ainda nenhum deles existia.” (Salmo 139:16).* Aquele que constantemente renova meu fôlego de vida, me sonda e me concede todos os meus dons e faculdades. Cada vírgula dessa dissertação, e de toda a minha vida, é graça divina!

À minha orientadora, Renata, que é um exemplo de mulher e pesquisadora e que é fonte de inspiração a mim e a todos que tem a oportunidade de conhecê-la. Obrigada pelo apoio, incentivo e ensinamentos que me trouxe, “ori”! Você é fenomenal!

À minha amiga de alma, Mayara, com quem partilhei as alegrias e os desafios desse mestrado, e a quem eu jamais poderia deixar de evidenciar a minha gratidão. Sua presença aliviou os fardos e alegrou minha rotina. Esse trabalho com certeza tem muito de você!

Aos meus amigos do laboratório e companheiros de pós-graduação, Allysson, Carol, Cida, João Pedro, Marcos, Roberta e Vitória. A trajetória acadêmica com certeza ganhou novo sentido com vocês do lado. Obrigada por todo o auxílio prestado durante a pesquisa e pela amizade tão rica que cultivamos!

Aos integrantes e ex-integrantes do grupo de pesquisa do qual tenho a honra de fazer parte, LABBIO, pela ajuda, o apoio e o companheirismo. Em especial à Ana e à Fabi, com quem tive a honra de ensinar e aprender muita química e ao mesmo tempo semear uma grande amizade. Obrigada minhas “alunas”!

Aos meus amigos (quase irmãos) extra vida acadêmica, Amanda, Ana Luiza, Andrielly, Emilly, Gustavo, Lorraine, Mariana, Pe. Adalberto, Thamires, Valéria e aos integrantes do Setor Diocesano da Juventude. Obrigada pelo apoio e incentivo que vocês sempre me prestam. Tudo se torna mais leve com vocês e isso foi essencial nessa etapa da minha formação!

A todos os professores que fizeram parte da minha formação, do ensino básico até o superior. Em especial aos meus professores do Instituto Federal do Triângulo Mineiro, no curso técnico

em química e meus professores da graduação do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal. Minha gratidão por todo ensinamento, aprendizado e inspiração! A contribuição de cada um de vocês me fez chegar até aqui e despertou no meu coração a paixão pela química, obrigada!

À Profa. Dra. Sofia Nikolaou e ao Prof. Dr. André Luiz Bogado, minha profunda gratidão por aceitarem o convite para compor a banca avaliadora desta dissertação de mestrado. Tê-los nesta etapa tão importante da minha trajetória acadêmica é uma grande honra. A escolha de seus nomes reflete não apenas minha admiração, mas também a influência que seus trabalhos tiveram na minha formação. Agradeço pela disponibilidade, pelas contribuições e pelo compromisso com a ciência, que tanto me inspiram.

Ao Prof. Dr. Gilson de Freitas, pela realização das análises via espectrometria de massas e análise elementar.

Ao Prof. Dr. Celso de Oliveira Rezende Júnior pelas análises de ^1H RMN.

Ao Cromat, em especial ao Prof. Dr. Anizio Marcio de Faria e ao Dr. Allysson pelo auxílio nas análises de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Ao GPMEI, em especial à Dra. Diele, pelo auxílio na realização das análises eletroquímicas.

Ao Prof. Dr. Arthur Henrique Cavalcante de Oliveira e ao técnico André pelos estudos de Espectroscopia de Dicroísmo Circular.

À Profa. Dra. Ana Carolina Jardim e à Natasha Marques Cassani pelos testes em vírus.

Ao Prof. Dr. Diego Fernando da Silva Paschoal pelos cálculos teóricos computacionais.

Aos servidores da Universidade Federal de Uberlândia, Campus Pontal e Campus Santa Mônica.

À CAPES pela bolsa concedida durante a pesquisa.

“Não julgue nada pela pequenez dos começos. Uma vez fizeram-me notar que não se distinguem pelo tamanho as sementes que darão ervas anuais das que darão árvores centenárias.”

São Josemaria Escrivá

RESUMO

Complexos metálicos despertam grande interesse na bioinorgânica devido às suas propriedades químicas e potenciais aplicações biológicas. Em particular, os complexos polipiridil de rutênio(II) destacam-se pela tendência em interagir com DNA, tornando-os promissores para estudos em modelos antitumorais. Além disso, suas notáveis propriedades fotoquímicas e fotofísicas ampliam suas possíveis aplicações. O desenvolvimento desses compostos como candidatos a fármacos demanda a compreensão da influência da geometria e dos co-ligantes em sua reatividade química e atividade biológica. Neste trabalho, foram sintetizados e caracterizados dois complexos do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ – em que tpy = 2,2':6',2"-terpiridina, bd = *o*-fenilenodiamina e bdq = ácido 3,4-diaminobenzóico – e os aqua complexos correspondentes, $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$. Para compreensão da cinética da reação espontânea de aquação dos clorido complexos, foram realizados estudos de variação espectroscópica na região do UV-visível e via CLAE, revelando que $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ possui constante de velocidade maior que o complexo com ligante bdq. Os resultados experimentais foram complementados por cálculos teóricos para determinação das constantes cinéticas de aquação bem como para os parâmetros de ativação. O mecanismo associativo foi proposto para a reação de aquação sendo o efeito estérico do grupo substituinte —COOH influência na entrada do ligante aquo. Na compreensão de sua interação com biomoléculas, estudos espectroscópicos evidenciaram que ambos os complexos interagem com *fs*-DNA por intercalação, com constantes aparentes de ligação de $(2,39 \pm 0,11) \times 10^6$ e $(1,33 \pm 0,33) \times 10^6 \text{ L mol}^{-1}$ para $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, respectivamente. Ensaios antivirais demonstraram maior eficácia de $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ na inibição dos vírus Zika e Chikungunha.

Palavras-chave: complexos de rutênio (II), polipiridil, cinética de aquação, interação com DNA, atividade antiviral, estudos teóricos.

ABSTRACT

Metal complexes have garnered significant interest in bioinorganic chemistry due to their chemical properties and potential biological applications. In particular, ruthenium(II) polypyridyl complexes stand out for their propensity to interact with DNA, making them promising candidates for studies in antitumor models. Furthermore, their remarkable photochemical and photophysical properties expand their potential applications. The development of these compounds as drug candidates requires an understanding of how geometry and co-ligands influence their chemical reactivity and biological activity. In this study, two complexes of the type $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ and $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ — where tpy = 2,2':6',2''-terpyridine, bd = o-phenylenediamine, and bdq = 3,4-diaminobenzoic acid — were synthesized and characterized, along with their corresponding aqua complexes, $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ and $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$. To investigate the kinetics of the spontaneous aquation reaction of the chlorido complexes, spectroscopic variation studies in the UV-visible region and HPLC analyses were performed, revealing that $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ exhibits a higher rate constant than the complex bearing the bdq ligand. Experimental results were complemented by theoretical calculations to determine the aquation rate constants and activation parameters. An associative mechanism was proposed for the aquation reaction, where the steric effect of the $-\text{COOH}$ substituent influences the entry of the aqua ligand. To elucidate their interaction with biomolecules, spectroscopic studies demonstrated that both complexes interact with fs-DNA via intercalation, with apparent binding constants of $(2.39 \pm 0.11) \times 10^6$ and $(1.33 \pm 0.33) \times 10^6 \text{ L mol}^{-1}$ for $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ and $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, respectively. Antiviral assays revealed that $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ exhibited greater efficacy in inhibiting the Zika and Chikungunya viruses.

Keywords: ruthenium(II) complexes, polypyridyl, aquation kinetics, DNA interaction, antiviral activity, theoretical studies.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química dos complexos metálicos Salvarsan (a) e Cisplatina (b).	19
Figura 2. Estrutura de complexos polipiridil de rutênio $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})](\text{PF}_6)_2$ (a), $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bd})(\text{NO})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_3$ (b) e TLD1433 (c) com potencial atividade contra <i>Mycobacterium smegmatis</i> , Zika vírus e câncer, respectivamente.....	21
Figura 3. Representação ilustrativa da reação de aquação da cisplatina no meio intracelular.	22
Figura 4. Esquema apresentando os mecanismos de dissociação (a) e associação (b) para reações de substituição em complexos octaédricos.	24
Figura 5. Representação ilustrativa dos tipos de interações existentes entre complexos metálicos e a molécula de DNA.	27
Figura 6. Ilustração das etapas de um ciclo de replicação viral.	29
Figura 7. Estrutura química dos complexos de rutênio do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{X}(\text{L})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_n$	31
Figura 8. Espectro de massas (MALDI-TOF) para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ experimental (a) e simulação teórica (b)	46
Figura 9. Espectro de massas (MALDI-TOF) para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ experimental (a) e simulação teórica (b)	47
Figura 10. Espectro vibracional na região do infravermelho de 3500 a 400 cm^{-1} para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (—) e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (---) em ATR (a). Ampliação da região entre 1500 e 400 cm^{-1} e suas atribuições (b).	49
Figura 11. Representação da reação redox para os ligantes o-fenilenodiamina (bd, R = H) e ácido 3,4-diaminobenzóico (bdq, R = $-\text{COOH}$).....	51
Figura 12. Ilustração das transições eletrônicas MC(1), TCML (2), TCLM (3) e IL (4) entre os orbitais dos compostos de coordenação.	52
Figura 13. Espectro eletrônico na região do UV-Visível para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (—) e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{L})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (---) em que L=bd (a) ou bdq (b) de soluções com concentração qualitativa em água.	53

Figura 14. Orbitais envolvidos na transição TCML do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$.	56
Figura 15. Orbitais envolvidos na transição TCML do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$.	58
Figura 16. Espectro eletrônico de absorção na região do UV-Visível dos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (a) e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (b) em tampão BR variando o pH de 2 a 12 a 298,15 K.	60
Figura 17. Determinação do pK_a para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (a) e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (b).	61
Figura 18. Diagrama de Energia de Jablonski para o fenômeno de fluorescência.	64
Figura 19. Voltamogramas de pulso diferencial para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (a) e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (b) em tampão fosfato (–) e PBS (–) (pH = 7,40).	67
Figura 23. Esquema reacional da aquação para complexos do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]^{n+}$, em que L = bd (R = H) ou bdq (R = COOH).	68
Figura 24. Espectros eletrônicos na região do UV-Visível para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ preparado em água (a), tampão PBS (b) e tampão Tris (c). Varreduras feitas a cada 30 segundos por 30 minutos. T=310,15 K.	70
Figura 25. Espectros eletrônicos na região do UV-visível para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ preparado em água (a), tampão PBS (b) e tampão Tris (c). Varreduras feitas a cada 30 segundos por 30 minutos. T=310,15 K.	71
Figura 26. Cromatograma obtido para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (a). Composição da fase móvel: Tampão fosfato (pH = 6,95) a 0,1% de TFA:MeOH (75:25 v/v). Tempo após a dissolução do complexo: 0 min (–), 30 min (–), 60 min (–), 90 min (–) e 24 horas (–). T = 310,15 K. Espectros de absorção na região do UV-visível referente aos picos 1 (b) e 2 (c).	74
Figura 27. Cromatograma obtido para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (a). Composição da fase móvel: Tampão fosfato (pH=6,95) a 0,1% de TFA:MeOH (75:25 v/v). Tempo após a dissolução do complexo: 0 min (–), 10 min (–), 20 min (–), 30 min (–) e 24 horas (–). T = 310,15 K. Espectros de absorção na região do UV/Visível referente aos picos 1 (b), 2 (c), 3 (d), 4(e) e 5 (f).	75

Figura 28. Espectro eletrônico para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH})(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ em $\text{NaOH } 0,1 \text{ mol L}^{-1}$	77
Figura 29. Determinação dos parâmetros de ativação para reação de aquação nos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (a) e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (b) considerando a Equação de Eyring.....	79
Figura 30. Determinação da energia de ativação para a reação de aquação nos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (a) e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (b) considerando a Equação de Arrhenius..	81
Figura 31. Esquema reacional e energia de ativação para a reação de aquação do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ sendo $\text{L}=\text{bd}$ (a) ou bdq (b).	82
Figura 32. Esquema de possíveis estruturas para complexos do tipo $[\text{RuX}(\text{bd})(\text{tpy})]^{n+}$ (a) e $[\text{RuX}(\text{bdq})(\text{tpy})]^{n+}$ (b) ($\text{X} = \text{Cl}^-$, OH_2 e OH^-).....	85
Figura 33. Espectro eletrônico para o DNA a $3,06 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão Tris.....	86
Figura 34. Espectro eletrônico na região do UV-visível do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)$ ($50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) em ausência (-) e presença de concentração crescente de fs-DNA com 5 minutos de incubação a $310,15 \text{ K}$. Insert: banda TCML do complexo em 500 nm evidenciando o efeito hipocrômico.	87
Figura 35. Obtenção da constante de interação (K_b) entre o DNA e o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$	88
Figura 36. Espectro de emissão para o sistema brometo de etídio e fs-DNA na ausência (-) e presença do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (a) e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (b) a 3(-), 10 (-), 20 (-), 30 (-), 40 (-), e $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (-). $\lambda_{\text{ex}}=526 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{em}}=605 \text{ nm}$. Janelas 5/10. $T = 310,15 \text{ K}$...	91
Figura 37. Espectro de emissão para o sistema brometo de etídio e fs-DNA na ausência (-) e presença do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (a) e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (b) a 3(-), 10 (-), 20 (-), 30 (-), 40 (-) e $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (-). $\lambda_{\text{ex}}=526 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{em}}=605 \text{ nm}$. Janelas 5/10. $T = 310,15 \text{ K}$	92
Figura 38. Espectro de dicroísmo circular para o fs-DNA ($250 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) em tampão Tris ($\text{pH}=7,4$) em ausência (-) e presença de 25 (-), 62,5 (-) e $87,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ (-) de $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (a) e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (b).	95

Figura 39. Efeito dos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, L= bd e bdq, na viabilidade de células Vero E6 e infectividade do vírus ZIKV.	97
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Reagentes utilizados durante a síntese e caracterização dos complexos e estudos posteriores, com indicação da sua pureza e procedência.....	32
Tabela 2. Porcentagens teóricas e experimentais de carbono, hidrogênio e nitrogênio obtidas para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]^{n+}$	45
Tabela 3. Valores de condutividade molar obtidos para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]^{n+}$ (L = bd ou bdq) a 0,1 mmol L ⁻¹ em ACN, T = 298,15 K.....	48
Tabela 4. Dados espectroscópicos e suas atribuições para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{X}(\text{L})(\text{tpy})]^{n+}$, em que L = bd ou bdq e X = Cl ⁻ ou OH ₂ em solução aquosa.	54
Tabela 5. Valores de comprimento de onda teóricos e experimentais da Transferência de Carga Metal-Ligante para os complexos tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{X}(\text{L})(\text{tpy})]^{n+}$, em que L = bd ou bdq e X = Cl ⁻ ou OH ₂	56
Tabela 6. Valores de constante ácida (K _a /pK _a) para aqua complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{L})(\text{tpy})]^{n+}$ (T= 298 K).	63
Tabela 7. Comprimentos de onda de emissão para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{X})(\text{L})(\text{tpy})]^{n+}$ em diferentes comprimentos de onda de excitação.	66
Tabela 8. Valores de constante cinética de aquação (k _{aq}) e tempo de meia-vida (t _{1/2}) obtidos para soluções dos clorido complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]^{n+}$ em água, PBS e tampão Tris. T = 298,15 K.	72
Tabela 10. Valores de constante cinética de aquação (k _{aq}) para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, L= bd ou bdq, em diferentes temperaturas.....	78
Tabela 11. Parâmetros de ativação para complexos polipiridil de rutênio (II) demonstrando um mecanismo associativo para substituição nucleofílica.	80
Tabela 12. Valores de energia livre de ativação obtidos por cálculo teórico no nível B97-3c/CPCM	82

Tabela 13. Valores de K_{SV} e K_{app} obtidos para os complexos $[Ru^{II}X(L)(tpy)]^{n+}$ ($X = Cl^-$ ou OH_2 , $L=bd$ ou bdq) em tampão Tris, $T=298, 15\text{ K}$ 94

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

^1H RMN	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
ACN	Acetonitrila
ampy	2-(aminometil)piridina
bd	o-fenilenodiamina
bdq	ácido 3,4-diaminobenzóico
BE	Brometo de etídio
biphtpy	4'-bifenil-2,2':6,2''-terpiridina
bpy	2,2'-bipiridina
CD ₃ OD	Metanol deuterado
CHIKV	Vírus Chicungunha
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
Cl-Ph-tpy	4'-(4-clorofenil)-2,2':6',2''-terpiridina
COOH	Carboxilato
dach	1,2-diaminociclohexano
dppz	dipiridofenazina
en	etilenodiamina
<i>fac</i>	facial
<i>fs</i> -DNA	DNA de esperma de peixe
IL	Intraligante
IV	Infravermelho
MALDI	Ionização/dessorção a Laser Assistida por Matriz
<i>mer</i>	meridional
PBS	tampão fosfato salino
phen	1,10-fenantrolina
py	piridina
TCML	Transição de Carga Metal-Ligante
TD-DFT	Time-Dependent Density Functional Theory
tmen	N,N,N',N'-tetrametiletilenodiamina
tpy	2,2':6',2''-terpiridina
UV-Vis.	Ultravioleta-Visível
Vero E6	Tecido renal derivado de um macaco verde africano adulto normal

VPD	Voltametria de Pulso Diferencial
ZIKV	Zika vírus
η^6 -Bip	η^6 -bifenil

LISTA DE SÍMBOLOS

E_a	Energia de ativação
K_{app}	Constante aparente de interação em relação ao brometo de etídio
k_{aq}	Constante cinética de aquação
K_b	Constante de interação complexo-DNA
K_{SV}	Constante de Stern-Volmer
m/z	Razão massa/carga
$t_{1/2}$	Tempo de meia-vida
t_r	Tempo de retenção
$\Delta H^\ddagger$	Entalpia de ativação
$\Delta S^\ddagger$	Entropia de ativação
ε	Absortividade molar
λ_{em}	Comprimento de onda de emissão
λ_{exc}	Comprimento de onda de excitação
Λ_m	Condutividade molar

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
1.1. Complexos de rutênio no âmbito da química bioinorgânica	20
1.1.1. Reatividade dos complexos polipiridil de Ru (II): cinética de substituição	22
1.1.1.1. Reações de substituição em complexos octaédricos.....	23
1.1.2. Interação entre complexos polipiridil de rutênio e a molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA).....	25
1.2. Atividade antiviral de compostos de coordenação	28
1.2.1. Ciclo geral de replicação dos vírus.....	28
2. OBJETIVOS	31
3. MATERIAIS E PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	32
3.1. Reagentes.....	32
3.2. Procedimento experimental	33
3.2.1. Síntese dos complexos terpiridina de rutênio (II).....	33
3.2.1.1. Síntese do complexo precursor $[Ru^{III}Cl_3(tpy)]$	33
3.2.1.2. Síntese do complexo $[Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF_6$	33
3.2.1.3. Síntese do complexo $[Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF_6$	34
3.2.1.4. Síntese dos complexos $[Ru^{II}(OH_2)(bd)(tpy)](PF_6)_2$ e $[Ru^{II}(OH_2)(bdq)(tpy)](PF_6)_2$	34
3.2.2. Caracterização físico-química dos complexos terpiridina de rutênio (II)	34
3.2.2.1. Análise elementar	34
3.2.2.2. Espectrometria de Massas – Ionização/Dessorção à Laser Assistida por Matriz (MALDI) 34	
3.2.2.3. Análise condutimétrica	35
3.2.2.4. Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho (IV)	35
3.2.2.5. Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis.).....	35
3.2.2.6. Determinação espectroscópica dos valores de pK_a dos aqua complexos	36

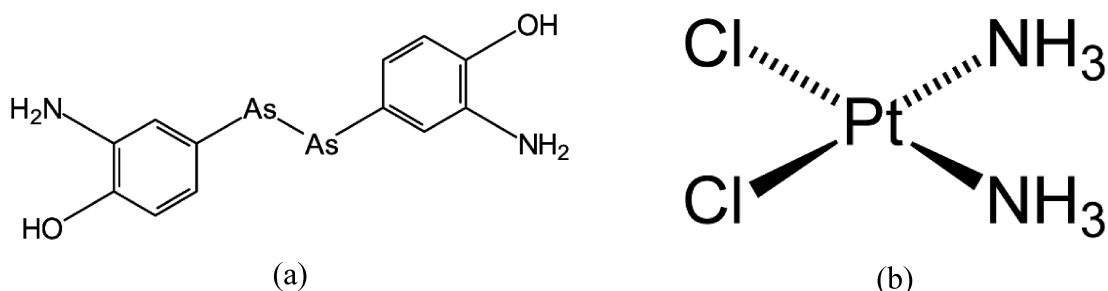
3.2.2.7.	Espectroscopia de fluorescência.....	36
3.2.2.8.	Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) para os complexos terpiridina de rutênio (II).....	36
3.2.2.9.	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (^1H RMN).....	37
3.2.3.	Estudo da reação espontânea de aquação dos clorido complexos.....	37
3.2.3.1.	Avaliação espectroscópica da cinética de aquação dos clorido complexos (T=310,15 K).....	37
3.2.3.2.	Avaliação da reação de aquação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) 38	
3.2.3.3.	Determinação dos parâmetros de ativação da reação de aquação dos clorido complexos.....	38
3.2.4.	Determinação da lipofilicidade.....	39
3.2.5.	Determinação espectroscópica da interação entre os complexos de Ru(II) e a molécula de <i>fs</i> -DNA.....	40
3.2.5.1.	Espectroscopia Ultravioleta-Visível (UV-Vis.)	40
3.2.5.2.	Análise de deslocamento de brometo de etídio (BE) por espectroscopia de fluorescência.....	40
3.2.5.3.	Espectroscopia de dicroísmo circular	41
3.2.6.	Atividade antiviral dos clorido complexos terpiridina de rutênio (II) na replicação do Zika Vírus (ZIKV) e Chicungunha (CHIKV)	42
3.2.6.1.	Cultura de células	42
3.2.6.2.	Ensaio de viabilidade celular	42
3.2.6.3.	Ensaio antivirais	43
3.2.6.4.	Análise estatística	43
3.2.7.	Cálculo computacional e estudos teóricos.....	44
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1.	Caracterização físico-química dos complexos terpiridina de rutênio (II)	45
4.1.1.	Análise elementar	45

4.1.2. Espectrometria de Massas – Ionização/Dessorção à Laser Assistida por Matriz (MALDI)	45
4.1.3. Análise condutimétrica	48
4.1.4. Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho (IV)	49
4.1.5. Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis.)	51
4.1.6. Determinação espectroscópica dos valores de pK_a dos aqua complexos	59
4.1.7. Espectroscopia de fluorescência	64
4.1.8. Voltametria de Pulso Diferencial (VPD)	66
4.2. Estudo da reação espontânea de aquação dos clorido complexos	68
4.2.1. Avaliação espectroscópica da cinética de aquação dos clorido complexos ($T = 310,15\text{ K}$)	69
4.2.2. Estudo da reação de aquação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	73
4.2.3. Determinação dos parâmetros de ativação para reação de aquação dos clorido complexos	78
4.3. Determinação da lipofilicidade	83
4.4. Determinação espectroscópica da interação entre os complexos de polipiridil de Ru(II) e a molécula de DNA	85
4.4.1. Estudo das interações entre <i>fs</i> -DNA e os complexos terpiridina de rutênio (II) via espectroscopia na região do UV-Visível	86
4.4.2. Análise de deslocamento de brometo de etídio (BE) por espectroscopia de fluorescência	90
4.4.3. Espectroscopia de dicroísmo circular	94
4.5. Atividade antiviral de compostos de rutênio na replicação do Zika Vírus (ZIKV) e Chikungunha (CHIKV)	96
5. CONCLUSÃO	100
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101
7. ANEXOS	113

1. INTRODUÇÃO

No âmbito da bioinorgânica, observa-se um crescente interesse no desenvolvimento de fármacos baseados em complexos metálicos. Um marco inicial nesse contexto foi o Salvarsan (Figura 1a), um agente antimicrobiano à base de arsênio desenvolvido por Paul Ehrlich, que, em 1912, publicou resultados promissores sobre seu uso no tratamento da sífilis. Décadas depois, a descoberta da ação antitumoral da cisplatina (Figura 1b) por Rosenberg e colaboradores (1969) marcou outro avanço significativo. Atualmente, a cisplatina é utilizada como agente anticancerígeno contra câncer de testículos, cabeça, bexiga, ovário, pescoço e próstata, o que impulsionou a pesquisa e o desenvolvimento de novos fármacos baseados em complexos metálicos (MJOS & ORVIG, 2014).

Figura 1. Estrutura química dos complexos metálicos Salvarsan (a) e Cisplatina (b).



Fonte: Autora

As estruturas e propriedades adquiridas pelos compostos de coordenação, incluindo sua lipofilicidade e seletividade, permitem modular sua aplicação nos modelos biológicos. Além disso, a possibilidade de variações estruturais, trocas de ligantes, acessibilidade a diferentes estados redox e suas características termodinâmicas e cinéticas tornam os complexos metálicos alvos atrativos para estudos em química bioinorgânica (SINGH, *et al.*, 2023; YANG, LIAO & FU, 2018). Essas propriedades são exploradas no tratamento de diversas patologias, sendo que, atualmente, há um interesse crescente no desenvolvimento de complexos metálicos como agentes terapêuticos em neoplasias, parasitas, bactérias e vírus (SKOCZYNSKA, *et al.*, 2023; SOUTHAM, *et al.*, 2017; RONCONI & SADLER, 2007).

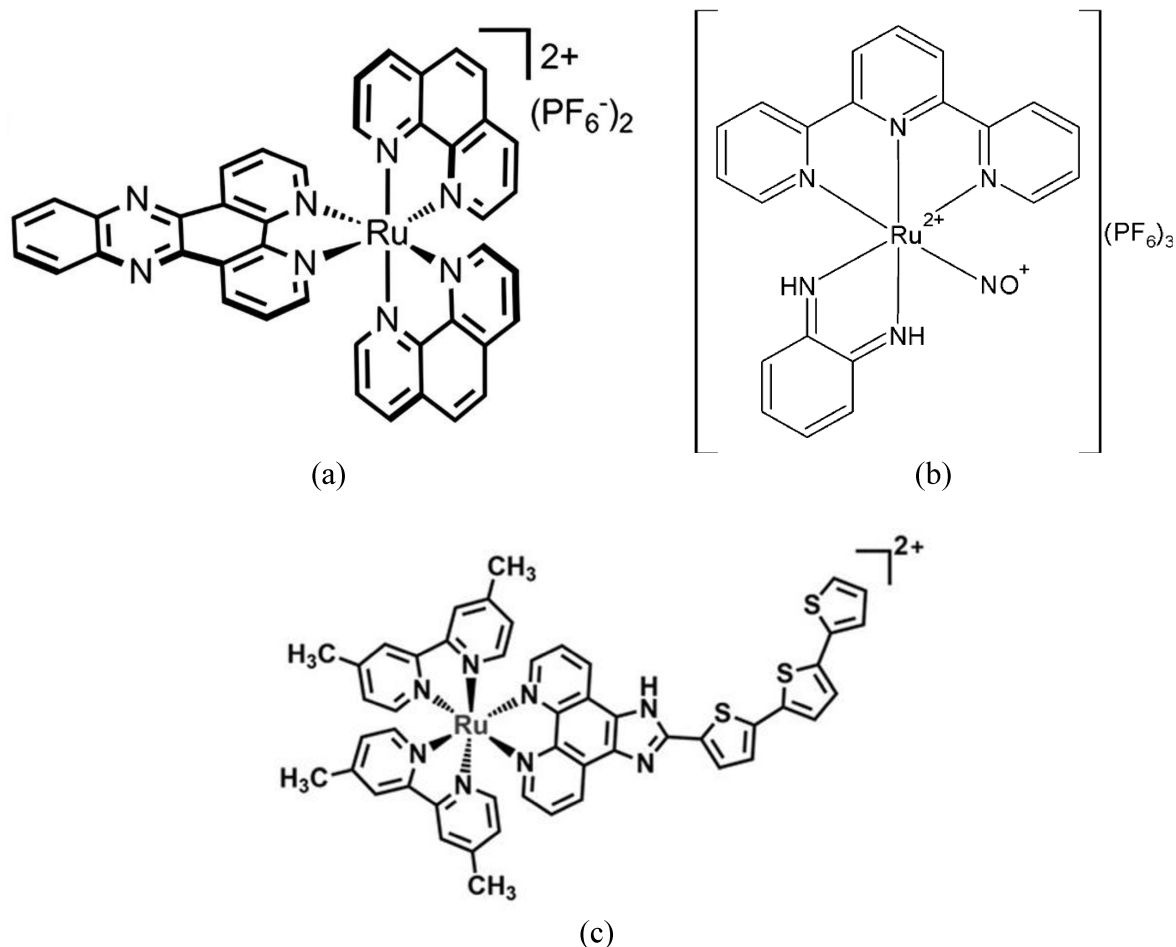
1.1. Complexos de rutênio no âmbito da química bioinorgânica

Entre os compostos de coordenação estudados para finalidades biológicas, destacam-se os complexos de rutênio que, em sua maioria, apresentam geometria octaédrica e exibem predominantemente dois estados de oxidação, Ru(II) e Ru(III), permitindo a formação de compostos com diferentes propriedades estruturais e facilidade na substituição ou modificação de ligantes (YANG, LIAO & FU, 2018; LI, COLLINS & KEENE, 2015). Por essas características, as últimas décadas são marcadas pela síntese e aplicação de complexos de rutênio em relação à sua atividade antimetastática, antioxidante, antimicrobiana e antiviral (D'AMATO, *et al.*, 2023).

Uma série de complexos de Ru(II) proeminentes em aplicações biológicas são os complexos polipiridínicos. Tratam-se de compostos em que o centro metálico está coordenado a ligantes polidentados derivados de piridina que possuem propriedades fotofísicas e fotoquímicas bem estabelecidas. Tais complexos absorvem radiação na região UV-Vis. do espectro e, como resultado, emitem luz em comprimentos de onda nas regiões espectrais da luz vermelha e infravermelha próxima. Além disso, esses compostos apresentam estados excitados de longa duração e podem exibir processos redox reversíveis. A maioria deles também apresenta uma intensa banda de absorção na região do espectro visível, conhecida como banda de Transferência de Carga Metal-Ligante (TCML) (POYTON, *et al.*, 2017; KNOLL & TURRO, 2015).

As características fotofísicas e eletroquímicas, aliadas à versatilidade dos complexos polipiridil de Ru(II) como aceptores e doadores de elétrons e à facilidade de síntese, têm contribuído para o crescimento exponencial do número de publicações científicas sobre esses compostos nos últimos 20 anos, evidenciando sua relevância (MARTIZ-ALONSO & GASSER, 2021). Considerando essa série, Yang, Liao e Fu (2018) apresentaram complexos polipiridil de rutênio do tipo $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})](\text{PF}_6)_2$ (Figura 2a) (dppz = dipiridofenazina) com atividade antimicrobiana contra *Mycobacterium smegmatis*. Braga (2022) reuniu várias estruturas de complexos polipiridil que apresentaram atividade antiparasitária. Complexos do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{L})(\text{NO})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_3$ (L = *o*-fenilenodiamina ou ácido 3,4-diaminobenzóico; tpy = 2,2';6',2"-terpiridina) (Figura 2b) apresentados por Bessas e colaboradores (2024) exibiram atividade antiviral contra Zika e Chicungunha. Monro e colaboradores (2019) ressaltam o complexo TLD1433 (Figura 2c), um complexo polipiridil de Ru(II) que apresentou atividade antitumoral e evoluiu para ensaios clínicos.

Figura 2. Estrutura de complexos polipiridil de rutênio $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{dppz})](\text{PF}_6)_2$ (a), $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bd})(\text{NO})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_3$ (b) e TLD1433 (c) com potencial atividade contra *Mycobacterium smegmatis*, Zika vírus e câncer, respectivamente.



Fonte: Adaptado de (a) Yang, Liao e Fu (2018); (b) Bessas, *et al.* (2024); (c) Monro, *et al.* (2019)

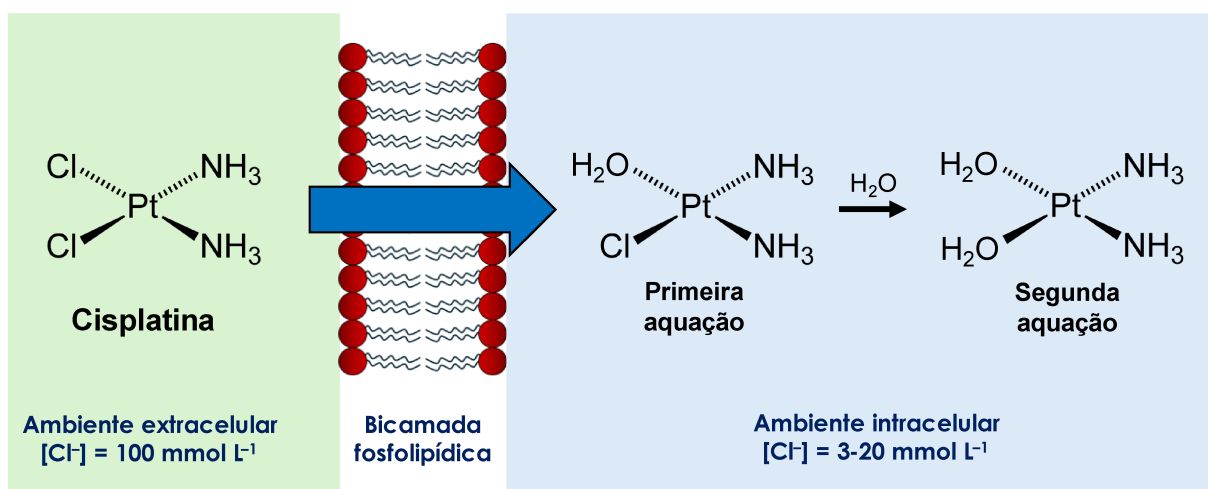
Nesse contexto, o desenvolvimento de compostos polipiridil de Ru(II) com potencial farmacológico, demanda a compreensão da influência da estrutura, seus ligantes e sua reatividade, bem como dos alvos e atividades biológicas desses complexos. De forma geral, um dos mecanismos principais da ação dos complexos de Ru(II) é interagir seletivamente com as biomoléculas do organismo (DNA, proteínas ou enzimas). Em específico para os complexos polipiridil de Ru(II), as principais interações bioquímicas observadas são estabelecidas com as proteínas transferrina e albumina sérica e com o ácido desoxirribonucleico (DNA, do inglês deoxyribonucleic acid) (SKOCZYNSKA, *et al.*, 2023).

1.1.1. Reatividade dos complexos polipiridil de Ru (II): cinética de substituição

É comum que complexos metálicos aplicados a patologias sejam classificados como pró-fármacos, ou seja, compostos inicialmente inativos que, após processos de biotransformação, tornam-se ativos no local alvo ou antes de alcançá-lo. Essa ativação geralmente envolve processos como dissociação ou substituição de um ou mais ligantes, abertura de anéis quelato, ou alterações no estado de oxidação (ou energético) do metal e/ou dos ligantes (ANTHONY, *et al.*, 2020).

O mecanismo de ação da cisplatina é um exemplo clássico de ativação de pró-fármacos (Figura 3). Inicialmente inativa, a cisplatina apresenta ligantes clorido (Cl^-) que, ao serem substituídos por ligantes aqua (OH_2), tornam o complexo biologicamente ativo, permitindo sua interação com o DNA e a consequente inibição da replicação das células cancerosas. Esse processo, denominado aquação, ocorre exclusivamente no ambiente intracelular, onde a baixa concentração de íons cloreto favorece a substituição dos ligantes Cl^- por OH_2 . No ambiente extracelular, a elevada concentração de íons cloreto inibe essa reação, garantindo que a ativação ocorra apenas após a entrada da cisplatina na célula (SIMOVIC, *et al.*, 2019).

Figura 3. Representação ilustrativa da reação de aquação da cisplatina no meio intracelular.



Fonte: Autora

A reação de aquação constitui, portanto, um importante mecanismo a ser considerado em complexos coordenados a ligantes monodentados, como o clorido (Cl^-). Estudos realizados por Canovic e colaboradores (2017) e Simovic e colaboradores (2019) investigaram uma série de complexos do tipo $\text{mer-}[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{tpy})(\text{N}-\text{N})]^+$, com ênfase em análises cinéticas detalhadas da reação de aquação. Nessas investigações, foi observado que tanto a velocidade quanto a

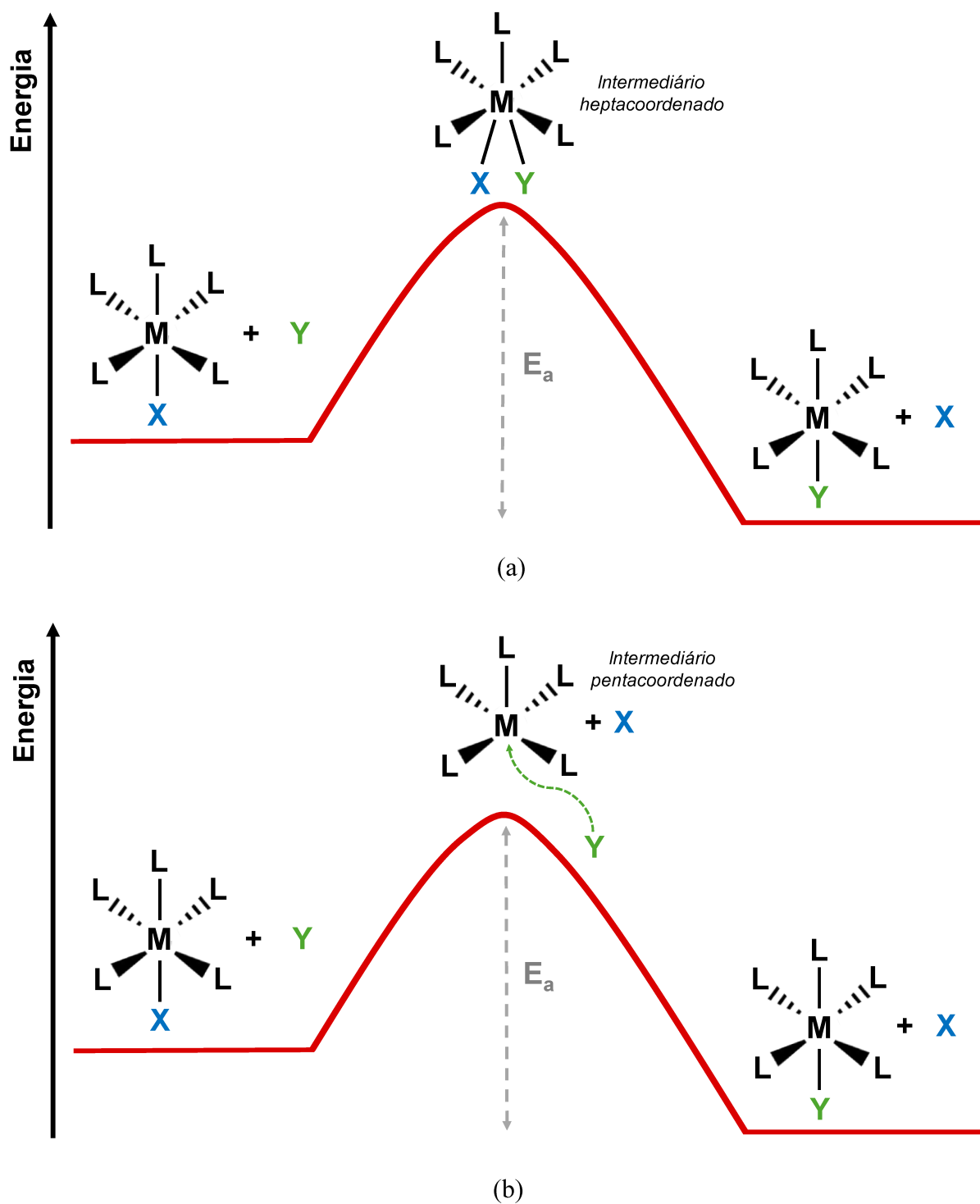
espontaneidade da reação podem ser moduladas pela presença de ligantes quelantes bidentados (N–N). Dependendo da natureza do ligante, os valores da constante cinética de aquação (k_{aq}) apresentaram um aumento significativo. Por exemplo, o complexo $[Ru^{II}Cl(en)(tpy)]^+$ (en = etilenodiamina) exibiu maior reatividade em todas as reações de aquação e substituição avaliadas, em comparação com $[Ru^{II}(bpy)Cl(tpy)]^+$. Esses resultados indicam que a natureza do ligante quelante exerce influência direta na afinidade do centro Ru(II) pelo ligante clorido (Cl^-) (CHRZANOWSKA, *et al.*, 2018).

1.1.1.1. Reações de substituição em complexos octaédricos

Além da influência exercida pelo ligante bidentado na estrutura do complexo, a cinética da reação de aquação também é significativamente afetada pelo mecanismo de substituição predominante. Em complexos de coordenação octaédricos contendo um metal central coordenado a cinco ligantes inertes (L) e um ligante lábil (X), suscetível de ser substituído por outro ligante (Y), a reação pode ocorrer por duas vias distintas: por mecanismo dissociativo (D) ou mecanismo associativo (A) (WELLER, *et al.*, 2017).

O mecanismo dissociativo é marcado pela saída do ligante X, produzindo um intermediário pentacoordenado (ML_5) com sequencial entrada do ligante Y. Nesse caso a etapa da dissociação é mais lenta e é determinante na velocidade da reação. No mecanismo associativo, por sua vez, o ligante Y é coordenado ao centro metálico antes da saída do ligante X, formando um intermediário heptacoordenado, ML_5XY . Nesse caso, a entrada do ligante Y é a etapa determinante na velocidade de reação (RODGERS, 2016). A Figura 4 apresenta um esquema ilustrando os mecanismos descritos e evidenciando sua etapa mais energética.

Figura 4. Esquema apresentando os mecanismos de dissociação (a) e associação (b) para reações de substituição em complexos octaédricos.



Fonte: Autora

Muitos estudos de substituição em complexos octaédricos ressaltam a ideia de que essas reações ocorrem predominantemente por mecanismo dissociativo. Entretanto, as reações de

complexos octaédricos podem adquirir um evidente caráter associativo no caso de metais centrais grandes (como nos períodos 4d e 5d) ou quando a população de elétrons d no metal for baixa (para os primeiros membros do bloco d). A existência de mais espaço para o ataque ou uma menor densidade eletrônica nos orbitais π^* parece facilitar o ataque nucleofílico e, conseqüentemente, permitir a associação (WELLER, *et al.*, 2017).

Em complexos de rutênio (II) as reações de aquação podem ocorrer por ambos os mecanismos conhecidos, porém há uma predominância de relatos evidenciando a via associativa. Wang e colaboradores (2003) descreveram complexos areno de rutênio (II) que sofrem aquação por mecanismo associativo, assim como os complexos $[\text{Ru}([\text{9}] \text{aneS}_3)(\text{en})\text{Cl}]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}([\text{9}] \text{aneS}_3)(\text{bpy})\text{Cl}]\text{PF}_6$, investigados por Simovic e colaboradores (2019). De forma similar, os complexos polipiridínicos estudados por Milutinović e colaboradores (2017) substituem o ligante halogenado pelo ligante aqua também por meio de um mecanismo associativo.

Para todos os casos, a determinação do mecanismo baseia-se nos parâmetros de ativação das espécies envolvidas, especialmente nos valores de entalpia ($\Delta H^\ddagger$) e entropia de ativação ($\Delta S^\ddagger$). Baixos valores de $\Delta H^\ddagger$ e valores de $\Delta S^\ddagger$ negativos indicam que o processo de ativação, isto é, a etapa lenta da reação, é dominado pela formação de ligações e que o estado ativado tem menor entropia que o estado inicial do complexo, corroborando a hipótese do mecanismo associativo. Em contrapartida, valores positivos de $\Delta S^\ddagger$ indicam que o estado de transição tem maior entropia que o estado inicial do composto, o que é explicado pela formação do intermediário pentacoordenado no mecanismo dissociativo (MILUTINOVIĆ, *et al.*, 2017).

1.1.2. Interação entre complexos polipiridil de rutênio e a molécula de ácido desoxirribonucleico (DNA)

O DNA é uma macromolécula constituída por duas fitas formadas por uma sequência de nucleotídeos ligados entre si de maneira covalente por ligação fosfodiéster. Cada nucleotídeo é uma combinação de um açúcar (pentose), um grupo fosfato e uma base nitrogenada, seja ela púrica (guanina ou adenina) ou pirimídica (citosina ou timina). Essas fitas estão unidas entre si através de ligações de hidrogênio entre as bases nitrogenadas complementares (adenina com timina e citosina com guanina), formando a estrutura de dupla hélice, que é também estabilizada por interações de empilhamento π - π entre os anéis aromáticos das bases adjacentes. De fora da dupla hélice encontram-se os grupos açúcar-fosfato, sendo, portanto, uma área aniônica (WATSON & CRICK, 1953; ANDREZÁLOVÁ & ORSZÁGHOVÁ, 2021).

A estrutura da molécula de DNA e suas características possibilitam diferentes tipos de interação com os complexos metálicos. De maneira geral, complexos podem interagir com o polinucleotídeo covalente ou não covalentemente. Na ligação covalente, o complexo se liga diretamente a um átomo da molécula de DNA, o que pode ocorrer tanto com os átomos de nitrogênio das bases nitrogenadas quanto com os grupos fosfatos da biomolécula. A ligação covalente é considerada irreversível, mas a interação complexo-DNA pode ainda ocorrer de forma reversível por interações eletrostáticas, interação com o sulco e intercalação. Para os complexos metálicos que apresentam diferentes grupos ligantes, a interação com DNA pode se dar de maneira a incluir um ou mais dos modos de interação citados. (REHMAN, *et al.*, 2015; BRABEC & KASPARKOVA, 2018).

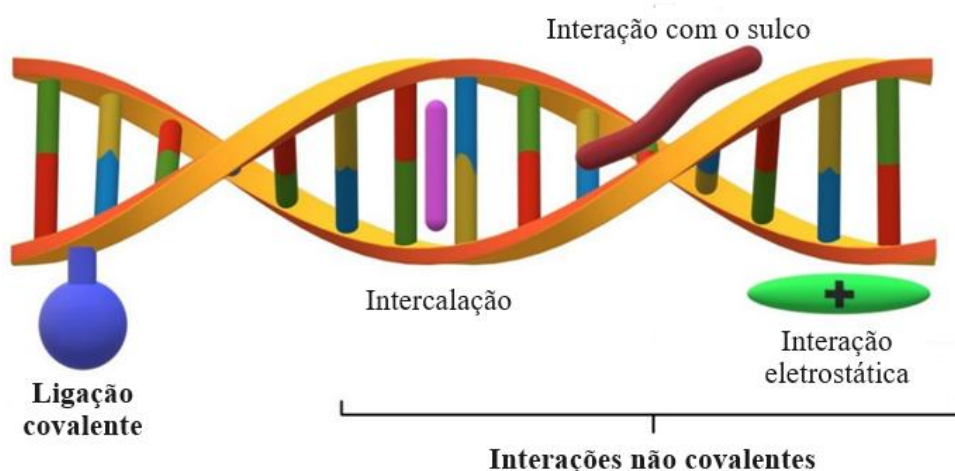
Na interação eletrostática as cargas negativas presentes nos grupos fosfato do DNA interagem com complexos de carga positiva. Para que esse tipo de interação aconteça, cátions como Na^+ e Mg^{2+} , que estabilizam a repulsão entre as cargas negativas dos fosfatos, são liberados em solução. Dessa forma, as interações eletrostáticas entre a biomolécula e os complexos metálicos tornam-se mais intensas com a redução da concentração salina no meio (GILL & THOMAS, 2012).

A interação com os sulcos do DNA ocorre a partir de ligações de hidrogênio ou interações de Van der Waals realizadas com as bases nitrogenadas da biomolécula na região dos sulcos. As regiões de sulco maior e sulco menor no DNA diferem não apenas em tamanho, mas também na sequência de bases presentes. Em geral, os compostos de coordenação interagem preferencialmente com o sulco menor, pois este proporciona um contato mais estreito, favorecendo tanto as ligações de hidrogênio quanto as interações de Van der Waals. Esse tipo de interação pode provocar alterações na estrutura helicoidal do DNA (ANDREZÁLOVÁ & ORSZÁGHOVÁ, 2021).

Por fim, a intercalação ocorre quando o composto metálico apresenta um grupo planar capaz de se inserir entre pares de bases adjacentes do ácido nucleico. Essa inserção é estabilizada pelo empilhamento π - π entre os pares de bases e o sistema de anéis aromáticos do composto, não interferindo nas ligações de hidrogênio entre as bases. Intercaladores têm sido amplamente investigados como potenciais fármacos, pois esse tipo de interação resulta no desenrolamento da hélice do DNA, o que pode levar a alterações funcionais na biomolécula e inibir a replicação celular de células doentes (ANDREZÁLOVÁ & ORSZÁGHOVÁ, 2021).

A Figura 5 ilustra os modos de interação entre a biomolécula e os complexos metálicos aqui apresentados.

Figura 5. Representação ilustrativa dos tipos de interações existentes entre complexos metálicos e a molécula de DNA.



Fonte: Adaptado de Ramotowska, Ciesielska & Makowski (2021)

Os complexos polipiridil de rutênio (II) indicaram, em diversos casos, a intercalação como o principal mecanismo de interação com a molécula de DNA. O complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bpy})_2(\text{dppz})]^{2+}$ (bpy = 2,2'-bipiridina, dppz = dipiridofenazina), por exemplo, interage com a biomolécula somente por intercalação, devido à presença de um grande ligante policíclico aromático capaz de se inserir entre as bases nitrogenadas. Além disso, observou-se que o efeito na afinidade e no modo de ligação ao DNA é afetado não apenas pela estrutura química do ligante polipiridil principal, mas também por ligantes monodentados (BRABEC & KASPARKOVA, 2018).

Exemplificando, complexos de rutênio contendo – além de ligantes polipiridil – grupos aqua ou cloro, mostraram ligar-se covalentemente ao DNA em meio livre de células. Assim, ao se ligar de maneira covalente ao DNA o complexo do tipo *mer*- $[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{tpy})]$ (tpy = 2,2':6',2'-terpiridina) apresentou elevada citotoxicidade em linhas celulares de tumor murino e humano (BRABEC & NOVAKOVA, 2006). Além disso, Chao e colaboradores relataram a ocorrência de complexos polipiridínicos de rutênio (II), do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{biphtpy})(\text{bpy})\text{Cl}]^+$ (biphtpy=4'-bifenil-2,2':6,2''-terpiridina) capazes de interagir com DNA de maneira covalente e não covalentemente, por intercalação (SIMOVIC, *et al.*, 2019).

1.2. Atividade antiviral de compostos de coordenação

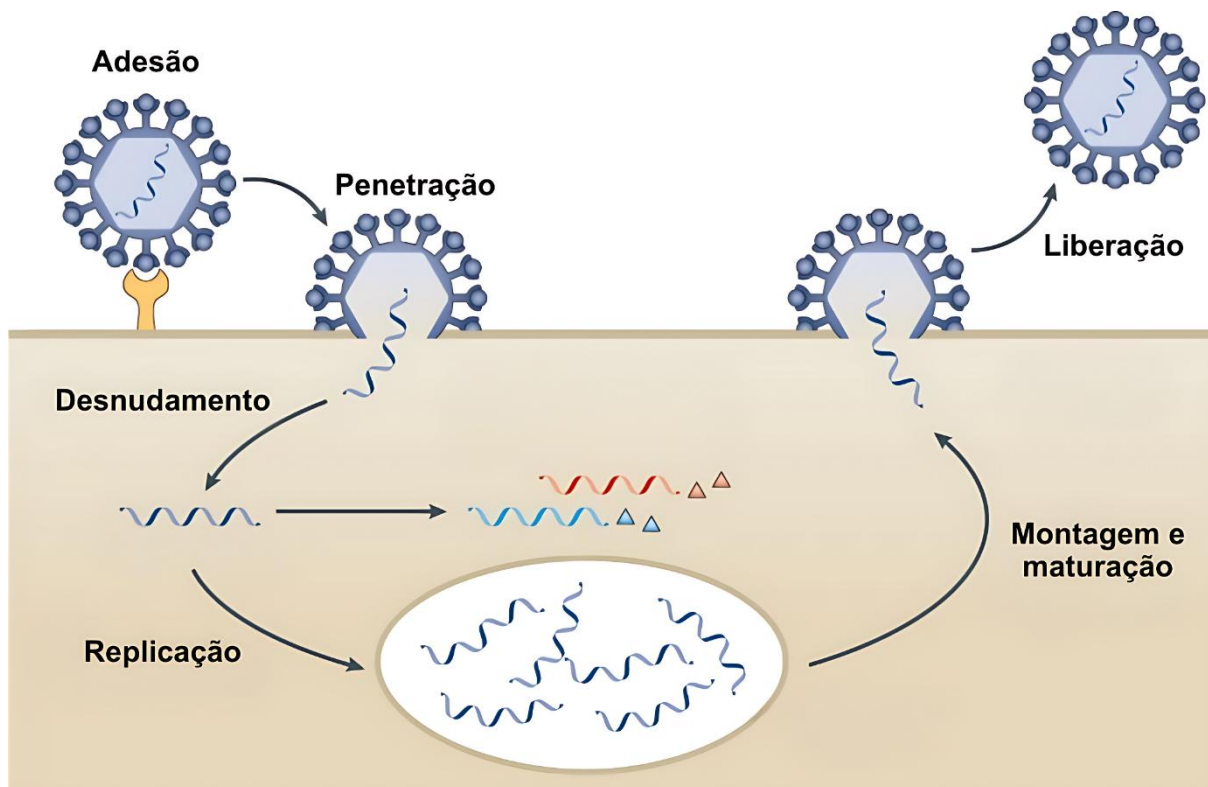
Nos últimos anos, a pandemia de SARS-CoV-2, que registrou mais de 50 milhões de casos confirmados, direcionou o foco de muitos pesquisadores para a criação de sistemas diagnósticos, tratamentos e vacinas. Entretanto, apesar do destaque dado a COVID-19, é fundamental abordar o tratamento de outros vírus, como Dengue (DENV), Zika (ZIKV), Chikungunha (CHIKV), HIV, Herpes simples (HSV), Hepatite C (HCV), febre amarela, Sarampo e Influenza A (como H1N1 e H5N1) (ABATE, *et al.*, 2022).

Diante do (re)surgimento de doenças virais, pesquisas em química bioinorgânica e da química inorgânica medicinal passaram a considerar os complexos metálicos como uma alternativa viável no combate às doenças virais, atuando na prevenção de infecções, alívio de sintomas, modulação do sistema imunológico ou inibição na replicação viral (PAIVA, *et al.*, 2020).

1.2.1. Ciclo geral de replicação dos vírus

Considerar o ciclo de replicação do vírus é essencial para compreender as infecções virais e desenvolver estratégias antivirais eficazes. Os ciclos podem ser alterados a depender do tipo do vírus, mas, de maneira geral, o processo inicia-se com a adesão, etapa em que os vírus reconhecem e se ligam aos receptores específicos da célula hospedeira. Em seguida, ocorre a penetração, permitindo a entrada do vírus na célula por mecanismos como endocitose ou fusão da membrana. Na etapa de desnudamento, o capsídeo viral é desintegrado, liberando o material genético no interior da célula. A replicação constitui o núcleo do ciclo, onde diferentes classes de vírus replicam e transcrevem seu material genético de maneira específica. Posteriormente, ocorre a montagem, que organiza novos vírus, seguida da maturação, que os torna completamente infecciosos. Por fim, a liberação encerra o ciclo, permitindo a saída dos vírus por brotamento ou lise celular (SOLTANI, SHENAGARI & EMADI, 2023). A Figura 6 apresenta uma ilustração do ciclo viral descrito.

Figura 6. Ilustração das etapas de um ciclo de replicação viral.



Fonte: Adaptado de Jones e colaboradores (2023)

De Paiva e colaboradores (2020) compilaram uma série de complexos metálicos com atividade antiviral, destacando seus mecanismos de ação a partir da intervenção do ciclo viral. Entre eles, complexos de cobalto do tipo $[\text{Co}(\text{acacen})(\text{L})_2]^+$, sendo $\text{L}=2\text{-etil-imidazol}$, demonstraram eficácia ao bloquear a etapa de desnudamento do nucleocapsídeo. Por sua vez, os complexos de ouro com porfirinas e fosfinas atuaram em múltiplas frentes, incluindo a inibição da transcriptase reversa, da protease viral e do processo de entrada do vírus na célula hospedeira.

Considerando também que os complexos polipiridil de rutênio podem atuar impedindo uma dessas fases do ciclo viral, Li e colaboradores (2023) sugeriram um novo composto usando rutênio e selênio (Se). O composto RuSe inibiu significativamente a apoptose das células MDCK induzida pelo H1N1 e a replicação e proliferação do vírus influenza. O complexo do tipo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Eilatin}]^{2+}$ (Eilatin é um alcaloide derivado de um tunicado marinho chamado *Eudistoma*), relatado por Skoczynska e colaboradores (2023), apresentou atividade antiviral contra HIV-1, assim como o complexo BOLD-100, do tipo $\text{trans-}[\text{tetraclorobis}(1\text{H-indazol})\text{rutênio(III)}]_2\text{H}_2\text{O}$ que inibiu a replicação de HIV-1, bem como de SARS-CoV-2 e adenovirus (LABACH, *et al.*, 2023).

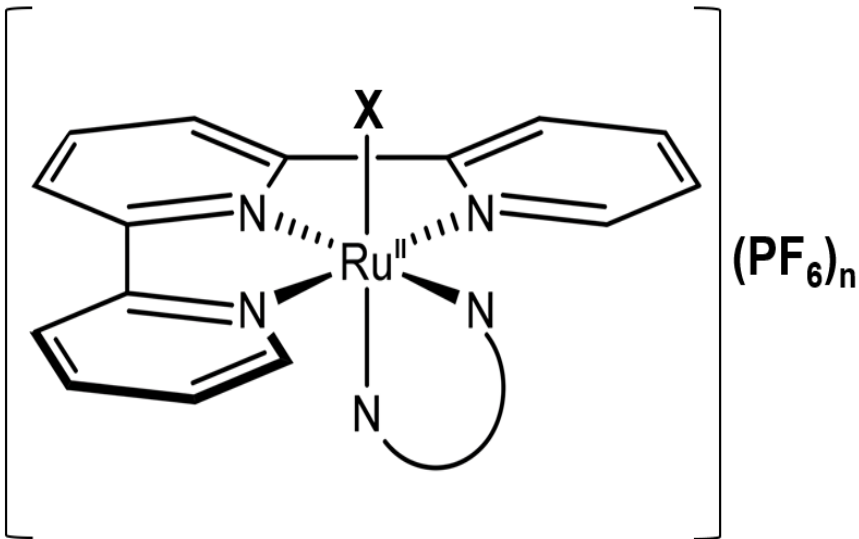
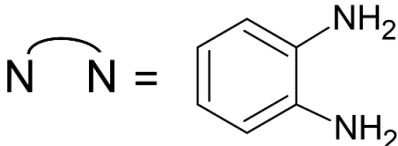
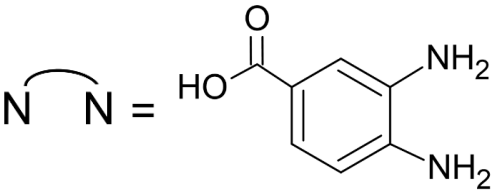
Dado que os complexos de rutênio têm sido investigados como agentes imunogênicos no tratamento contra o câncer, é possível propor que, por meio da interação com biomoléculas da célula hospedeira, uma resposta imune possa ser ativada, direcionando-se à replicação viral em vez de atacar diretamente a célula hospedeira. Alcançar uma compreensão abrangente das interações entre os compostos de coordenação, o conteúdo supramolecular do vírus e o biomolecular da célula ainda permanece um desafio a ser superado (REZENDE, *et al.*, 2024).

Dessa forma, os complexos polipiridil de rutênio(II) têm se destacado como importantes objetos de estudo no âmbito da química bioinorgânica, devido à sua reatividade, interação com biomoléculas como o DNA e seu potencial na inibição de processos virais. A investigação da cinética de substituição desses compostos, bem como sua interação com ácidos nucleicos, fornece informações fundamentais para a compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes à sua atividade antiviral e destacam-se como tópicos relevantes de pesquisa.

2. OBJETIVOS

Sintetizar e caracterizar complexos polipiridil de rutênio (II) do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$, $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ – em que tpy = 2,2':6',2''-terpiridina; bd = *o*-fenilenodiamina e bdq = ácido 3,4-diaminobenzóico – e avaliar a cinética e a os parâmetros de ativação da reação de aquação dos clorido complexos; obter cálculos computacionais para compreensão teórica da caracterização e aquação dos complexos; avaliar a interação dos compostos com ácido desoxirribonucleico de espermatozoide de peixe (*fs*-DNA) via técnicas espectroscópicas e explorar sua atividade antiviral frente aos vírus Zika e Chicungunha. As estruturas químicas propostas aos complexos são apresentadas na Figura 7.

Figura 7. Estrutura química dos complexos de rutênio do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{X}(\text{L})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_n$.

	
	$\text{X} = \text{Cl}^-$ $\text{X} = \text{OH}_2$
	$[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$
	
	$[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$

Fonte: Autora

3. MATERIAIS E PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1. Reagentes

A Tabela 1 apresenta os reagentes utilizados ao longo deste trabalho, com indicação da fração mássica percentual e sua procedência.

Tabela 1. Reagentes utilizados durante a síntese e caracterização dos complexos e estudos posteriores, com indicação da sua pureza e procedência.

Reagentes	Pureza (%)	Procedência
Acetonitrila	99,9	Tedia
Ácido desoxirribonucleico de esperma de peixe (<i>fs</i> -DNA)	-	Sigma Aldrich
Ácido clorídrico	-	Synth
Ácido hexafluorofosfórico	98	Aldrich Chemicals
Ácido trifluoracético	-	Merck
Brometo de Etídio	-	Sigma Aldrich
Cloreto de lítio	99	Aldrich Chemicals
Cloreto de rutênio (III)	99,9	Aldrich Chemicals
Cloreto de sódio	98	Synth
Dihidrogenofosfato de sódio	99,5	Merck
Dimetilsulfóxido	98	Neon
Etanol	95	Qhemis
<i>o</i> -fenilenodiamina	98	Aldrich Chemicals
Hexafluorofosfato de amônio	95	Aldrich Chemicals
Hidróxido de sódio	97	Synth
Monohidrogenofosfato de sódio	99,5	Merck
Metanol	99,5	Merck
Nitrito de sódio	99	Merck
<i>n</i> -octanol	-	Synth
2,2':6',2''-terpiridina	98	Aldrich Chemicals
Trietilamina	85	Synth
Tris(hidroximetil)aminometano	-	LS Chemicals

Fonte: Autora

3.2. Procedimento experimental

3.2.1. Síntese dos complexos terpiridina de rutênio (II)

3.2.1.1. Síntese do complexo precursor $[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{tpy})]$

O complexo $[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{tpy})]$ foi sintetizado conforme descrito por Sullivan e colaboradores (1980). Em um balão de 50 mL foram adicionados 0,3244 g de cloreto de rutênio ($\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) (1,57 mmol) e 0,2912 g do ligante 2,2'-6',2''-terpiridina (tpy) (1,25 mmol). Os sólidos foram dissolvidos em 30 mL de metanol e a solução foi então mantida sob refluxo ($T \approx 338 \text{ K}$) durante 3 h. Após esse tempo, a fim de promover a precipitação do sólido, a solução permaneceu em repouso por 1 h em temperatura ambiente ($T \approx 300 \text{ K}$). O precipitado marrom obtido foi filtrado e seco à vácuo, lavando-o com éter etílico.

Massa obtida: 0,4216 g. Rendimento: 61,2%.

3.2.1.2. Síntese do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$

O complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ foi sintetizado conforme descrito por de Lima e colaboradores (2006) e Mededovic e colaboradores (2023).

Em um balão de 50 mL foi adicionada uma mistura de 20 mL de etanol e água (75% de etanol e 25% de água). Em seguida, foram adicionados 0,1783 g do complexo precursor $[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{tpy})]$ (0,40 mmol) e 0,1 mL de trietilamina (Et_3N) (0,72 mmol). A solução foi mantida sob agitação durante 30 minutos para a redução do íon metálico, de Ru^{III} para Ru^{II} . O processo de redução do íon metálico foi acompanhado pela mudança de coloração da solução, de marrom para roxa. Posterior à essa observação, foram adicionados 0,0432 g do ligante *o*-fenilenodiamina (bd) (0,40 mmol) e 20 mg de cloreto de lítio (LiCl) (0,47 mmol). A solução foi mantida sob refluxo ($T \approx 353 \text{ K}$) durante 4 h. Após esse tempo, retirou-se a solução do refluxo e adicionou-se 1 g de hexafluorofosfato de amônio (NH_4PF_6), para o fornecimento do contra-íon. A solução permaneceu 24 h sob refrigeração para a precipitação do sólido ($T \approx 278 \text{ K}$) e, após esse período, o volume da solução foi reduzido via rotaevaporação, a fim de facilitar a precipitação. O precipitado avermelhado obtido foi filtrado e seco à vácuo, lavando-o com éter etílico.

Massa obtida: 0,2027 g. Rendimento: 80,4%.

3.2.1.3. Síntese do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$

O complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ foi sintetizado como descrito no item 3.2.1.2., adicionando 0,1783 g do complexo precursor $[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{tpy})]$ (0,40 mmol) e substituindo a adição do ligante *o*-fenilenodiamina (bd) por 0,0173 g do ligante ácido 3,4-diaminobenzóico (bdq) (0,11 mmol).

Massa obtida: 0,1294 g. Rendimento: 48,0%.

3.2.1.4. Síntese dos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$

Os aqua complexos do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ foram obtidos por síntese *in situ* a partir da dissolução de seus respectivos clorido complexos. As soluções foram mantidas em agitação por 24 horas afim de garantir a substituição do ligante clorido (Cl^-) pelo ligante aqua (OH_2).

3.2.2. Caracterização físico-química dos complexos terpiridina de rutênio (II)

3.2.2.1. Análise elementar

A análise elementar dos complexos foi realizada em um analisador CE Instruments Carlo Erba model 1110 CHNSeO lotado na Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), no Laboratório Institucional de Pesquisa (LIPq), do Centro de Laboratórios Multiusuários (CELAM).

3.2.2.2. Espectrometria de Massas – Ionização/Dessorção à Laser Assistida por Matriz (MALDI)

Os espectros de massas foram obtidos utilizando-se a técnica de Ionização/dessorção a Laser Assistida por Matriz (da sigla em inglês, MALDI), com Analisador por Tempo de Voo (da sigla em inglês, TOF), em um equipamento Autoflex III MALDI-TOF-MS da marca Bruker®, modificado com Nd:YAG Laser (330-360, 495-540, 808, 990-1080 nm) e equipado com uma fonte de íons de imagem de dessorção a laser de feixe inteligente. As medidas foram realizadas no modo positivo. O equipamento utilizado está lotado no Laboratório Institucional

de Pesquisa (LIPq), do Centro de Laboratórios Multiusuários (CELAM) do Instituto de Ciências Biológicas (ICB), da UFMG.

A matriz utilizada foi composta por soluções de ácido α -ciano-4-hidroxicinâmico (ALF) ($C_{10}H_7NO_3$) e ácido 2,5-dihidroxibenzoico (DHB) ($C_7H_6O_4$) a 1 mg mL^{-1} , em acetonitrila (ACN) a 0,1% de ácido trifluoracético (TFA). Para as análises, foram preparadas soluções dos complexos a 2 mg mL^{-1} , em ACN. Posteriormente, foram preparadas misturas das soluções de matriz e dos complexos, com proporção de 1:1. Finalmente, em placas de aço inoxidável, foram adicionados $0,7 \text{ }\mu\text{L}$ das misturas e as amostras foram submetidas à análise.

3.2.2.3. Análise condutimétrica

Os valores de condutividade molar para os complexos foram obtidos utilizando-se um condutivímetro da marca Tecnopon®, de modelo mCA-150, equipado com uma cela de platina, de constante igual a 1. Para as análises, preparam-se soluções dos complexos a $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$, em acetonitrila (ACN).

3.2.2.4. Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho (IV)

Os espectros vibracionais na região do IV foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro da marca Perkin Elmer®, de modelo FT-IR Frontier Single Range. O equipamento utilizado pertence ao Grupo de Materiais Inorgânicos do Triângulo (GMIT), do Laboratório de Fotoquímica e Ciência de Materiais (LAFOT-CM), do Instituto de Química da UFU. As varreduras foram feitas em um intervalo de 4000 a 250 cm^{-1} utilizando as amostras em estado sólido por ATR.

3.2.2.5. Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis.)

Os espectros de absorção na região do UV-Visível foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro da marca Agilent Technologies® Cary Series de modelo UV-Vis-NIR. O equipamento encontra-se na Rede de Laboratórios Multiusuários (RELAM), do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal (ICENP), da UFU. Soluções dos complexos foram preparadas em água e submetidas à varredura espectrofotométrica de 800 a 200 nm , utilizando-se uma cubeta de quartzo de $1,0 \text{ cm}$ de caminho óptico.

3.2.2.6. Determinação espectroscópica dos valores de pK_a dos aqua complexos

Os aqua complexos $[Ru^{II}(OH_2)(bd)(tpy)](PF_6)_2$ e $[Ru^{II}(OH_2)(bdq)(tpy)](PF_6)_2$ foram dissolvidos em tampão Britton Robinson (BR) ($pH = 2,05$) – $0,04 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido acético, bórico e fosfórico (BRITTON & ROBINSON, 1931) – e submetidas à varredura espectroscópica UV-Vis. entre 800 e 200 nm. O pH das soluções foi ajustado utilizando uma solução 6 mol L^{-1} de hidróxido de sódio (NaOH) até obter $pH \approx 3$. A solução foi submetida novamente à varredura. O mesmo procedimento foi realizado para $pH \approx 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11$ e 12, sendo as medidas realizadas em triplicatas.

3.2.2.7. Espectroscopia de fluorescência

Os espectros de emissão de fluorescência foram obtidos utilizando um espectro fluorímetro Cary Eclipse, da marca Agilent Technologies®, com uma cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico e quatro faces polidas. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Equipamentos Multiusuários do Pontal (RELAM), do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal (ICENP), da UFU.

As soluções dos complexos $[Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF_6$ e $[Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF_6$ foram preparadas a partir de uma solução de KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e em seguida realizou-se a varredura espectroscópica. Preparou-se também solução dos clorido complexos em água, realizando a varredura após 24 horas, a fim de obter as espécies aqua $[Ru^{II}(OH_2)(bd)(tpy)](PF_6)_2$ e $[Ru^{II}(OH_2)(bdq)(tpy)](PF_6)_2$.

3.2.2.8. Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) para os complexos terpiridina de rutênio (II)

Os voltamogramas de pulso diferencial foram obtidos utilizando-se um potenciostato da marca Autolab®, de modelo μ Autolab tipo III. Para a análise dos dados obtidos foi utilizado o software NOVA®, versão 2.1.4. O equipamento utilizado está lotado na Rede de Laboratórios Multiusuários (RELAM), do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal (ICENP), da UFU.

Para a análise, uma célula eletroquímica convencional de três eletrodos, com capacidade para 10 mL foi utilizada. Como eletrodo auxiliar, empregou-se um fio de platina com 0,5 mm de diâmetro em espiral. Utilizou-se ainda um eletrodo de $Ag/AgCl_{sat}$ e um eletrodo de carbono

vítreo, como eletrodo de trabalho, o qual foi polido antes e após as análises. Inicialmente, na célula eletroquímica, foram adicionados $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de solução de complexo em tampão PBS. A amostra foi submetida a varredura, de 0,0 a 1,0 V, com velocidade de varredura de 50 mV s^{-1} . O mesmo procedimento foi repetido utilizando solução do complexo em tampão fosfato.

3.2.2.9. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (^1H RMN)

As amostras dos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ foram preparadas dissolvendo-as em metanol deuterado (CD_3OD). Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear foram obtidos na Rede de Laboratórios Multiusuários (RELAM), do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, campus Santa Mônica, utilizando um espectrômetro de RMN modelo Bruker® Ascend 400 (400 MHz para RMN de ^1H).

3.2.3. Estudo da reação espontânea de aquação dos clorido complexos

3.2.3.1. Avaliação espectroscópica da cinética de aquação dos clorido complexos ($T=310,15 \text{ K}$)

Os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ foram dissolvidos em água e imediatamente submetidas à varredura espectroscópica UV-Vis. entre 800 a 200 nm. A cada 30 segundos realizou-se uma nova varredura até totalizar 30 minutos após a dissolução do complexo, mantendo a solução na temperatura de $310,15 \text{ K}$. As análises foram realizadas em triplicatas.

Os espectros de absorção na região do UV-Vis. foram obtidos utilizando-se um espectrofotômetro e um sistema termostático da marca Shimadzu UV-1800. Lotado no Laboratórios de Compostos Inorgânicos (LCI), do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal (ICENP), da UFU.

O mesmo procedimento foi realizado para soluções dos complexos em tampão PBS ($\text{pH}=7,4$) e em tampão Tris HCl (50 mmol L^{-1}) NaCl (5 mmol L^{-1}) ($\text{pH}=7,4$).

As reações de substituição foram tratadas pela cinética de pseudo-primeira ordem (CHRZANOWSKA, *et al.*, 2017). Sendo assim, para todas as reações foram determinados a constante cinética de aquação (k_{aq}) e o tempo de meia vida ($t_{1/2}$), como mostram as Equações 1 e 2 (ATKINS, 2018), respectivamente.

$$\ln [A]_t = \ln [A]_0 - k_{\text{aq}} t \text{ (Equação 1)}$$

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{k_{aq}} \quad (\text{Equação 2})$$

Em que $[A]_t$ é a absorbância no tempo t e $[A]_0$ é a absorbância no tempo 0 obtidas no comprimento de onda estabelecido para o complexo. No atual trabalho, selecionou-se o comprimento de onda de máxima absorção da banda TCML dos complexos.

3.2.3.2. Avaliação da reação de aquação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Os cromatogramas foram obtidos utilizando-se um equipamento da marca Waters, de modelo e2695; com detector de arranjo de diodos, de modelo 2998 PDA. Foi utilizada uma coluna da marca Aligent®, de modelo Eclipse XDB-C18 (150 x 4,6 mm d.i.), constituída por partículas de 5 μm . O equipamento utilizado encontra-se na Rede de Laboratórios Multiusuários (RELAM), do Instituto de Ciências Exatas e Naturais do Pontal (ICENP), da UFU.

A fase móvel utilizada foi uma mistura de uma solução tampão fosfato a 0,1% de ácido trifluoracético (HTFA) (pH 6,95) e de metanol (MeOH). A eluição da fase móvel foi isocrática e o fluxo foi de 0,8 mL min^{-1} . Para a preparação da solução tampão fosfato a 0,1% de TFA (pH=6,95), foram adicionados 5,06 mmol de dihidrogenofosfato de sódio (NaH_2PO_4) e 6,04 mmol de monohidrogenofosfato de sódio (Na_2HPO_4), bem como 0,1% de HTFA, em água ultrapura. Adicionou-se algumas gotas de solução de NaOH 1 mol L^{-1} para o ajuste do pH da solução até 6,95.

Para as análises, foram preparadas soluções dos clorido complexos em tampão fosfato a 0,1% de HTFA, injetando volumes de 20 μL dessa solução.

3.2.3.3. Determinação dos parâmetros de ativação da reação de aquação dos clorido complexos

Para determinação dos parâmetros de ativação da reação de aquação dos clorido complexos, realizou-se o mesmo procedimento descrito no item 3.3.1. obtendo as constantes cinéticas. As constantes foram determinadas em diferentes temperaturas, fixando valores entre 296,15 — 324,15 K.

Partindo da obtenção de k_{aq} , determinou-se a entalpia ($\Delta H^\ddagger$) e a entropia de ativação ($\Delta S^\ddagger$) considerando a Equação de Eyring (Equação 3) e a Energia de ativação (E_a) considerando a Equação de Arrhenius (Equação 4) (ATKINS, 2018).

$$\ln \frac{k_{aq}}{T} = -\frac{\Delta H^\ddagger}{RT} + \ln \frac{k_B}{h} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} \quad (\text{Equação 3})$$

$$\ln k_{aq} = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (\text{Equação 4})$$

Em que k_{aq} refere-se a constante cinética de aquação na temperatura T , k_B refere-se a constante de Boltzmann ($1,38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$), h é a constante de Planck ($6,63 \times 10^{-34} \text{ J s}$), R é a constante dos gases ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) e A é o fator de frequência.

3.2.4. Determinação da lipofilicidade

O caráter lipofílico dos complexos de rutênio (II) foi obtido a partir dos valores de $\log P_{o/w}$, utilizando-se o Método Shake-Flask (OLIVEIRA, *et al.*, 2010). Inicialmente, em um tubo cônico de 15 mL foram adicionados 6,5 mL de água e 6,5 mL de *n*-octanol. Em seguida, foram adicionados cerca de 1mg do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$. A mistura foi mantida sob agitação em um misturador de rolos (50 rpm) durante 24 h, protegida da luz. Após esse tempo, a mistura permaneceu sob repouso durante 1 h. Observou-se a separação das fases aquosa e orgânica. Posteriormente, em uma cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico, foram adicionados 2,5 mL de água e uma alíquota de 500 μL da fase aquosa. A amostra foi submetida à varredura espectroscópica UV-Vis. de 800 a 200 nm. Os valores de $\log P_{o/w}$ foram determinados como mostra a Equação 5.

$$\log P_{o/w} = \log \frac{[\text{complexo}]_{\text{octanol}}}{[\text{complexo}]_{\text{água}}} \quad (\text{Equação 5})$$

Os experimentos foram realizados em temperatura ambiente ($T \approx 28^\circ\text{C}$) e em triplicatas. O mesmo procedimento foi realizado para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$.

3.2.5. Determinação espectroscópica da interação entre os complexos de Ru(II) e a molécula de *fs*-DNA

3.2.5.1. Espectroscopia Ultravioleta-Visível (UV-Vis.)

Em uma cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico, foram adicionados 100 μL do clorido complexo ($1,0 \text{ mmol L}^{-1}$), e 1900 μL do tampão Tris (50 mmol L^{-1}) NaCl (5 mmol L^{-1}) ($\text{pH} = 7,4$). Após 5 minutos de incubação a $310,15 \text{ K}$, a solução foi submetida à varredura espectrofotométrica de 800 a 200 nm. Em seguida, adicionou-se 9 μL de solução de DNA de esperma de peixe (*fs*-DNA, do inglês fish sperm) preparada em tampão Tris HCl (50 mmol L^{-1}) NaCl (5 mmol L^{-1}) ($\text{pH} = 7,4$) e realizou-se uma nova varredura. O procedimento descrito foi repetido até totalizar 81 μL da solução de *fs*-DNA no sistema. Todas as varreduras foram feitas considerando 5 minutos de incubação e temperatura de $310,15 \text{ K}$ a cada adição de *fs*-DNA. As análises foram realizadas em duplicatas.

Para a determinação da constante de interação entre *fs*-DNA e o complexo (K_b) utilizou-se a equação proposta por Benesi-Hildebrand (1949) (Equação 6).

$$\frac{A_0}{A - A_0} = \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{HG} - \varepsilon_G} \times \frac{1}{K_b [\text{DNA}]} + \frac{\varepsilon_G}{\varepsilon_{HG} - \varepsilon_G} \quad (\text{Equação 6})$$

Para este trabalho, A_0 é a absorbância referente ao comprimento de onda da banda de Transferência de Carga Metal Ligante do complexo na ausência de DNA, A é a absorbância nesse mesmo comprimento de onda após adições em série de alíquotas de DNA, ε_G é a absorvidade molar do complexo no comprimento de onda estudado, ε_{HG} é a absorvidade molar no comprimento de onda em estudado para o aduto complexo e DNA, K_b é a constante de ligação e $[\text{DNA}]$ é a concentração de DNA. A razão entre o coeficiente linear e o angular em um gráfico de $A_0/A - A_0$ em função de $1/[\text{DNA}]$ fornece o valor de K_b .

3.2.5.2. Análise de deslocamento de brometo de etídio (BE) por espectroscopia de fluorescência

Uma solução $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ de *fs*-DNA foi preparada em tampão Tris HCl (50 mmol L^{-1}) NaCl (5 mmol L^{-1}) ($\text{pH}=7,4$). A partir desta solução, prepararam-se $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ de brometo de etídio (BE) e esta mistura foi mantida em temperatura de aproximadamente $296,15 \text{ K}$ por 1 hora. Após esse tempo, analisou-se a emissão de fluorescência da solução. Os espectros de

fluorescência foram registrados em um espectrofotômetro Cary Eclipse, da marca Agilent Technologies® de 545 nm a 700 nm ($\lambda_{exc} = 526$ nm, $\lambda_{em} = 605$ nm, janelas 5/5) (KELLET, *et al.*, 2019).

Em seguida, à mistura *fs*-DNA-BE foram adicionados 3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$. A solução foi mantida em incubação por 5 minutos a 310,15 K e em seguida analisou-se a emissão de fluorescência nas mesmas condições anteriormente citadas. O mesmo procedimento foi realizado com concentrações de complexo equivalente a 10, 20, 30, 40 e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Os experimentos foram realizados em duplicata e também foi aplicado aos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$, $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$. Determinou-se para todos os compostos as constantes K_{SV} e K_{app} de interação com BE como mostram as Equações 7 (GEHLEN, 2020) e 8 (da SILVA, *et al.*, 2020), respectivamente.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV} [\text{Ru}] \quad (\text{Equação 7})$$

$$K_{BE}[\text{BE}] = K_{app} [\text{Q}] \quad (\text{Equação 8})$$

Em que F_0 e F são as intensidades relativas de fluorescência do brometo de etídio em ausência e em presença dos complexos, respectivamente, $[\text{Ru}]$ é a concentração de complexo, $K_{BE} = 1,0 \times 10^7 \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{BE}] = 10 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $[\text{Q}]$ é a concentração de complexo que suprime metade da fluorescência inicial (F_0).

3.2.5.3. Espectroscopia de dicroísmo circular

Os espectros de dicroísmo circular de *fs*-DNA foram registrados em uma faixa de 230 a 350 nm, com resolução de 0,5 nm, usando velocidade de varredura de 100 nm min⁻¹ e tempo de resposta de 0,5 s, em um espectropolarímetro Jasco J-810. Os espectros apresentados foram uma média de quatro varreduras sucessivas. O equipamento utilizado está lotado na Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto-USP, no Laboratório de pesquisa do Prof. Dr. Arthur Henrique Cavalcante de Oliveira.

Para as análises, utilizou-se uma cubeta de quartzo de comprimento óptico de 10 mm. As soluções de *fs*-DNA e complexos foram preparadas em tampão Tris (50 mmol L⁻¹) NaCl (5 mmol L⁻¹) (pH = 7,40), sendo incubadas por 1 hora antes do início das medições. Realizou-se uma varredura da solução de *fs*-DNA (250 $\mu\text{mol L}^{-1}$) na ausência dos complexos e, posteriormente, na presença de 25; 62,5; e 87,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ dos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$

e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$. A cada adição de complexo à solução realizou-se uma varredura. Utilizou-se um branco contendo solução tampão e complexo nas mesmas condições.

3.2.6. Atividade antiviral dos clorido complexos terpiridina de rutênio (II) na replicação do Zika Vírus (ZIKV) e Chicungunha (CHIKV)

Os ensaios acerca da atividade antiviral dos complexos foram realizados no Laboratório de Pesquisa em Antivirais (LAPAV) localizado no Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia em colaboração com a Profa. Dra. Ana Carolina Jardim.

3.2.6.1. Cultura de células

Células Vero E6 (tecido renal derivado de um macaco verde africano adulto normal, ATCC E6) foram cultivadas em meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM; Sigma-Aldrich) suplementado com 100 U mL^{-1} de penicilina (Gibco Life Technologies), 100 mg mL^{-1} de estreptomicina (Gibco Life Technologies), 1% (v/v) de aminoácidos não essenciais (Gibco Life Technologies) e 10% (v/v) de soro fetal bovino (FBS; Hyclone) a $310,15 \text{ K}$ em uma incubadora umidificada com 5% de CO_2 .

3.2.6.2. Ensaio de viabilidade celular

A viabilidade celular foi medida pelo método MTT [brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio] (Sigma-Aldrich). As células Vero E6 foram semeadas em placas de 96 poços a uma densidade de 5×10^3 células por poço e incubadas durante a noite a $310,15 \text{ K}$, em uma incubadora umidificada com 5% de CO_2 . Os complexos foram adicionados à cultura celular por 72 horas a $310,15 \text{ K}$ nas concentrações de 50, 10 e $2 \mu\text{mol L}^{-1}$. Em seguida, o meio foi removido e uma solução contendo MTT na concentração final de 1 mg mL^{-1} foi adicionada a cada poço, sendo incubada por 30 min a $310,15 \text{ K}$ em uma incubadora umidificada com CO_2 . Após esse tempo, adicionou-se $100 \mu\text{L}$ de DMSO (dimetilsulfóxido) para solubilizar os cristais de formazan. A absorbância foi medida pela densidade óptica de cada poço a 490 nm, utilizando o leitor de microplacas Glomax (PROMEGA). A viabilidade celular foi calculada de acordo com a equação $(\text{T/C}) \times 100\%$, onde T e C representam a densidade óptica média do grupo tratado e do grupo controle de veículo, respectivamente.

3.2.6.3. Ensaios antivirais

Um grupo isolado de Zika Virus (ZIKV) do tipo selvagem de uma amostra clínica de um paciente no Brasil (ZIKV PE243) e um de Chicungunha, CHIKV LR2006OPY1 (genótipo da África Oriental/Central/Sul) (DONALD, *et al.*, 2016) foi amplificado empregando células Vero E6 infectadas em frasco de 75 cm² por 3 dias. Em seguida, o sobrenadante viral foi coletado e armazenado a – 80 °C. Para determinar os títulos virais, 5x10³ células Vero E6 foram semeadas em cada uma das placas de 96 poços 24 horas antes da infecção. As células foram infectadas com uma diluição em série de 10 vezes dos vírus e incubadas durante 72 horas numa incubadora umidificada com 5% de CO₂ a 310,15 K. Em seguida, as células foram fixadas com formaldeído a 4%, lavadas com PBS e adicionou-se tampão de bloqueio (BB) contendo Triton X-100 a 0,1% (Vetec Labs), albumina bovina a 0,2% (BSA) e PBS por 30 min. As imagens foram analisadas em Microscopia de Fluorescência (Thermo Fisher Scientific) e os focos de infecção foram contados e medidos como Unidade Formadora de Foco (FFU mL⁻¹).

Para avaliar a atividade antiviral de cada composto, células Vero E6 foram semeadas a uma densidade de 5×10^3 células por poço em placas de 96 poços durante 24 horas e infectadas com os vírus a uma multiplicidade de infecção (MOI) de 0,01 PFU célula⁻¹ na presença de cada composto na concentração não citotóxica estabelecida. As células foram fixadas com formaldeído a 4%, lavadas com PBS e adicionadas de BB para ensaio de imunofluorescência. As UFF foram contadas. A replicação foi calculada de acordo com a equação $(T/C) \times 100\%$, onde T e C representam a densidade óptica média do grupo tratado e do grupo controle de veículo, respectivamente.

3.2.6.4. Análise estatística

Os dados foram analisados quanto à distribuição normal para demonstrar a aplicabilidade do teste paramétrico ou não paramétrico. Em seguida, foi empregado o teste ANOVA de dois fatores para comparar o tratamento de cada composto com a água como controle, com $p < 0,05$.

3.2.7. Cálculo computacional e estudos teóricos

Os cálculos computacionais foram realizados no Núcleo de Química Teórica e Computacional de Macaé (NQTCM) localizado no Campus Macaé da Universidade Federal do Rio de Janeiro em colaboração com o Prof. Dr. Diego Fernando da Silva Paschoal.

Inicialmente, os complexos terpiridina de rutênio foram otimizados e caracterizados como ponto de mínimo na superfície de energia potencial (SEP) através de cálculos de frequências harmônicas no nível B97-3c. Os efeitos do solvente foram incluídos por meio do modelo implícito de solvatação CPCM (do inglês *Conductor-like Polarizable Continuum Model*), com a constante dielétrica ajustada para a água.

Posteriormente, as análises das transições eletrônicas dos complexos estudados, $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]^+$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]^+$, e de seus respectivos aqua complexos foi realizada a partir de cálculos TD-DFT (do inglês *Time-Dependent Density Functional Theory*) realizados empregando o funcional de densidade CAM-B3LYP com o conjunto de funções de base def2-TZVP, tal nível de teoria pode ser nomeado como CAM-B3LYP/def2-TZVP/CPCM.

A reação de aquação dos complexos também foi estudada no nível B97-3c/CPCM, de acordo com formalismo da Teoria do Estado de Transição, com a equação de Eyring sendo empregada para o cálculo da constante de velocidade da reação (Equação 3). Um mecanismo associativo foi proposto no estudo da reação com ligante aqua. O estado de transição (TS, do inglês *Transition State*) foi caracterizado por uma frequência imaginária representando a quebra da ligação Ru-Cl e a formação da ligação Ru-OH₂. A aproximação da supermolécula foi empregada para a obtenção da energia livre de Gibbs de ativação (ΔG_a) (Equação 9) com os intermediários sendo propostos a partir de um cálculo de coordenada intrínseca de reação (IRC, do inglês *Intrinsic Reaction Coordinate*). Após, o intermediário I1 também foi otimizado e caracterizado como um ponto de mínimo na SEP.

$$\Delta G_a = G(\text{TS}) - G(\text{I1}) \quad (\text{Equação 9})$$

Cabe ressaltar, que os cálculos para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]^+$ foram realizados considerando a forma protonada e desprotonada do grupo carboxilato (–COOH).

Todos os cálculos foram realizados no programa ORCA 6.0.1.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização físico-química dos complexos terpiridina de rutênio (II)

4.1.1. Análise elementar

Para a compreensão da composição química dos compostos sintetizados, realizou-se a análise elementar de amostras dos clorido complexos, obtendo os valores de %C, %H e %N contidos na Tabela 2.

Tabela 2. Porcentagens teóricas e experimentais de carbono, hidrogênio e nitrogênio obtidas para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]^{\text{n}+}$.

Complexo	Fórmula molecular/ Massa molar	Elemento	Valores teóricos (%)	Valores experimentais (%)
$[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{F}_6\text{N}_5\text{O}_3\text{ClPRu}$ 674,93 g mol ⁻¹	C	37,37	37,35
		H	3,43	2,51
		N	10,38	10,52
$[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	$\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{F}_6\text{N}_5\text{O}_5\text{ClPRu}$ 719,94 g mol ⁻¹	C	36,70	36,40
		H	3,36	2,84
		N	9,73	9,51

Fonte: Autora

Para ambos os casos, a composição do complexo foi identificada em sua forma trihidratada, conforme apresentado na Tabela 2. Apesar de os erros percentuais relativos para o teor de hidrogênio terem sido de 26,8% e 15,5% para os complexos bd e bdq, respectivamente, os valores experimentais de %C e %N mostraram-se consistentes com os valores teóricos calculados, o que confirma a composição elementar dos compostos previamente proposta.

4.1.2. Espectrometria de Massas – Ionização/Dessorção à Laser Assistida por Matriz (MALDI)

A partir da ionização da amostra, a espectrometria de massas permite determinar a razão massa/carga (m/z) de íons gasosos, fornecendo informações detalhadas sobre sua composição

com base na identificação dos íons moleculares. O espectro resultante pode revelar possíveis fragmentações das moléculas, contribuindo para a elucidação de aspectos estruturais. Em complexos metálicos, por exemplo, é comum observar a perda de ligantes, gerando picos no espectro que correspondem à massa/carga do composto na ausência de um ou mais desses ligantes (NIEDNER-SCHATTEBURG & KAPPES, 2021).

Com interesse nessa compreensão, utilizou-se a técnica de espectrometria de massas com o método MALDI-TOF, obtendo os espectros apresentados nas Figura 8 e 9.

Figura 8. Espectro de massas (MALDI-TOF) para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ experimental (a) e simulação teórica (b)

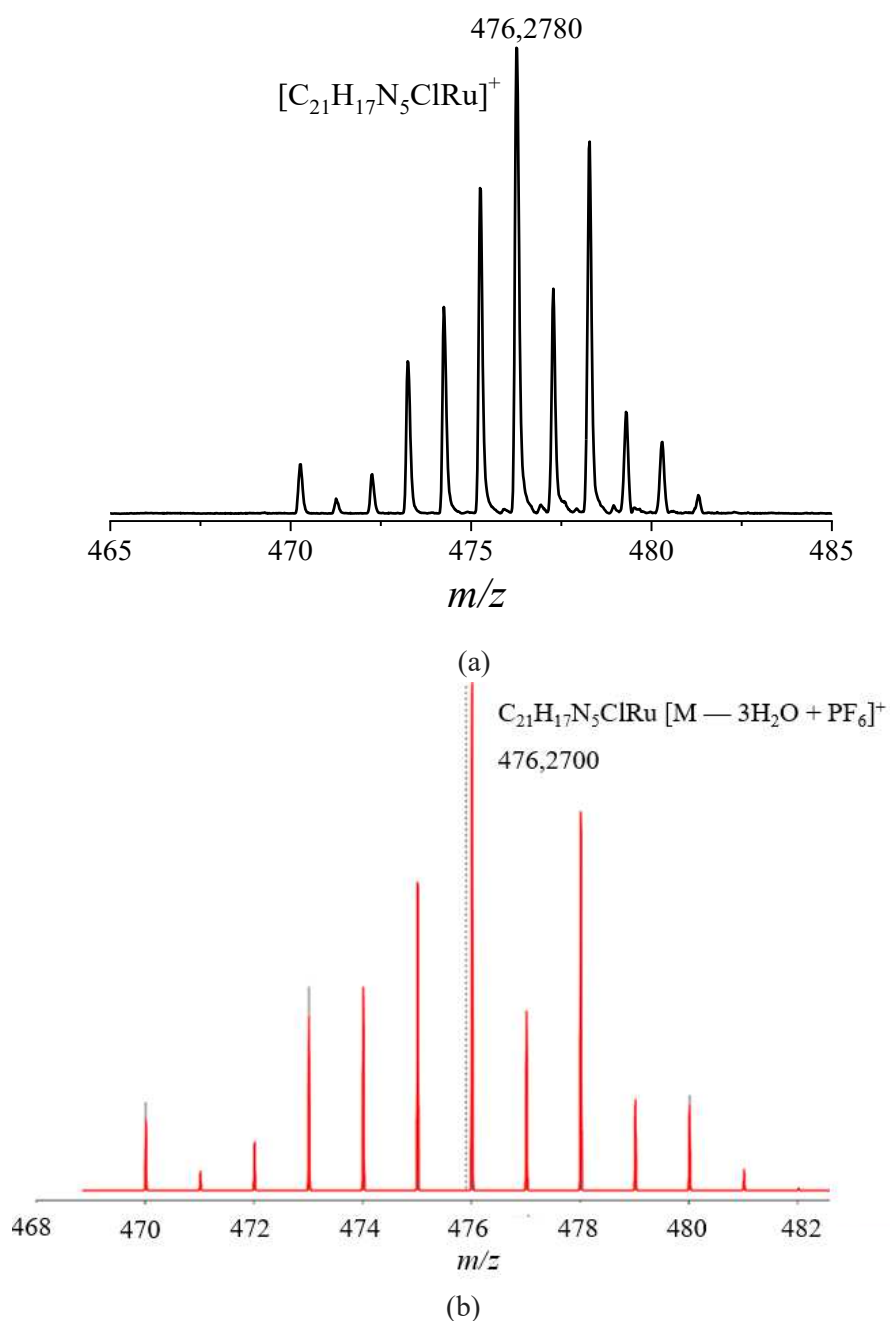
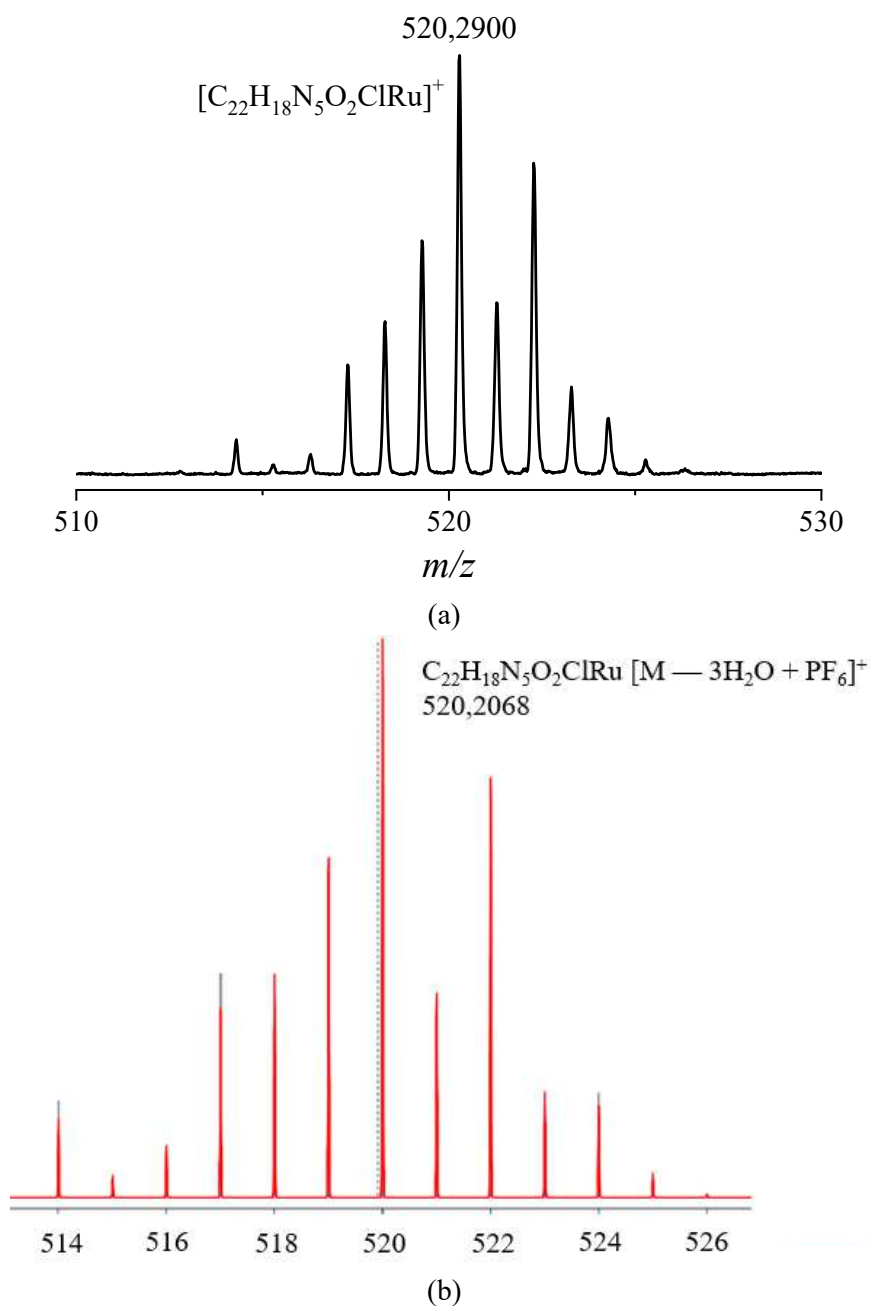


Figura 9. Espectro de massas (MALDI-TOF) para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ experimental (a) e simulação teórica (b)



Fonte: Autora

Nas Figuras 8 e 9, a diferença de uma unidade de m/z entre os picos evidenciam que os sinais referem-se à uma espécie de carga +1. O espectro de massas do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ ($\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{F}_6\text{N}_5\text{ClPRu}$) apresenta um pico característico do íon molecular em $m/z = 476,2780$, atribuído à espécie $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{ClRu} [\text{M} - 3\text{H}_2\text{O} + \text{PF}_6]^+$ ($m/z = 476,0216$), isto é, o íon complexo na ausência do contra-íon PF_6^- e das moléculas de água de hidratação. Para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ ($\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{F}_6\text{N}_5\text{O}_2\text{ClPRu}$), observa-se o pico de íon molecular

em $m/z = 520,2900$, referente à espécie $C_{22}H_{17}N_5O_2ClRu [M - 3H_2O + PF_6]^+$ ($m/z = 520,0114$). Esses resultados confirmam a coordenação dos ligantes tpy, bd/bdq e clorido (Cl^-) ao íon metálico Ru^{II} após a síntese.

Nos espectros de massas, múltiplos picos são observados para um mesmo íon quando um elemento presente na amostra tem mais de um isótopo. Assim, os espectros de complexos de rutênio apresentam um perfil característico devido à distribuição isotópica do átomo de rutênio (PAVIA, *et al.*, 2015). Na comparação teórica e experimental da distribuição isotópica para os espectros de massas dos complexos $[Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF_6$ e $[Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF_6$, é possível observar a concordância entre as razões massa/carga (m/z) obtidas e as intensidades relativas dos picos. Esse alinhamento indica a presença das estruturas esperadas para os complexos, reforçando que as sínteses propostas obtêm os compostos descritos.

4.1.3. Análise condutimétrica

Os complexos metálicos podem apresentar-se com estruturas catiônicas ou aniônicas a depender do estado de oxidação do íon metálico e dos co-ligantes. A condutimetria é uma técnica utilizada para caracterização do caráter iônico ou neutro dos compostos desde os primeiros estudos realizados por Werner (VELHO, 2006). No trabalho atual, os resultados de condutividade molar foram obtidos em acetonitrila (ACN) a uma concentração de $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de complexo. A Tabela 3 apresenta os valores de condutividade molar obtido para os clorido complexos.

Tabela 3. Valores de condutividade molar obtidos para os complexos $[Ru^{II}Cl(L)(tpy)]^{n+}$ ($L = bd$ ou bdq) a $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em ACN, $T = 298,15 \text{ K}$.

Composto	Condutividade molar ($S \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$)
$[Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF_6$	$132 \pm 0,33$
$[Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF_6$	$138 \pm 0,39$
Eletrólitos 1:1 (VELHO, 2006)	57-204
Eletrólitos 1:2 (VELHO, 2006)	162-345

Fonte: Autora

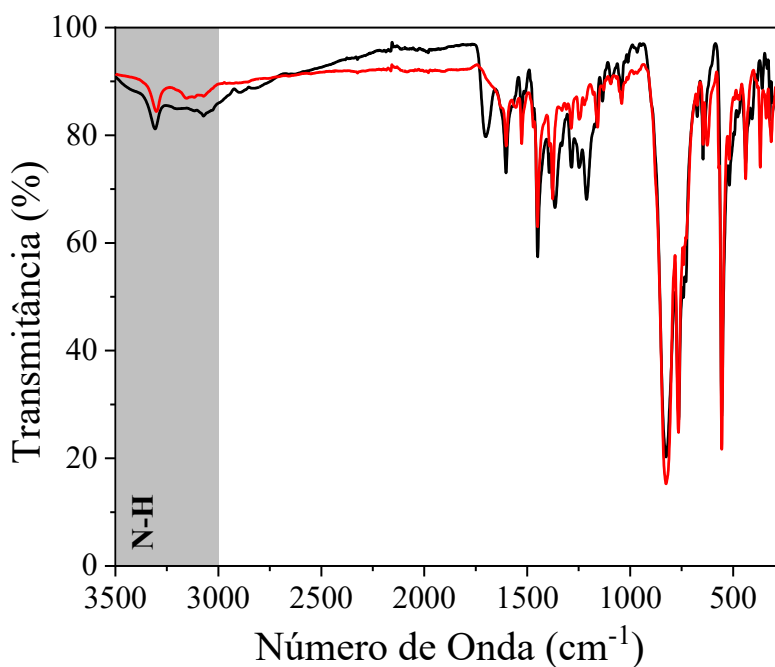
Os valores de condutividade molar em ACN, estabelecidos por Velho (2006) para uma série de complexos, permitem identificar que compostos com valores de condutividade entre

57 e 204 S cm² mol⁻¹ são eletrólitos do tipo 1:1. Os valores obtidos para os complexos [Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF₆ e [Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF₆ encontram-se dentro dessa faixa, evidenciando que ambos apresentam carga +1 em sua esfera de coordenação.

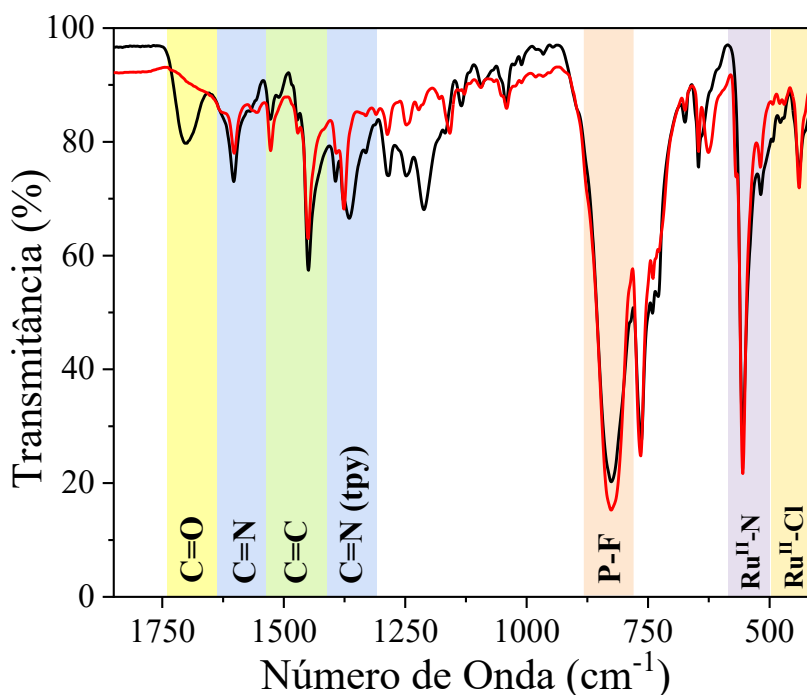
4.1.4. Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho (IV)

No estudo de caracterização dos complexos metálicos a espectroscopia de infravermelho fornece informações detalhadas sobre a energia das vibrações envolvendo as ligações químicas de uma molécula e contribui para a identificação dessas ligações presentes na estrutura (CAMPANELLA, PALLESCHI & LEGNAIOLI, 2021). Nesse intuito, espectros no IV dos complexos [Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF₆ e [Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF₆ foram obtidos em seu estado sólido e são apresentados na Figura 10.

Figura 10. Espectro vibracional na região do infravermelho de 3500 a 400 cm⁻¹ para o complexo [Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF₆ (—) e [Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF₆ (---) em ATR (a). Ampliação da região entre 1500 e 400 cm⁻¹ e suas atribuições (b).



(a)



(b)

Fonte: Autora

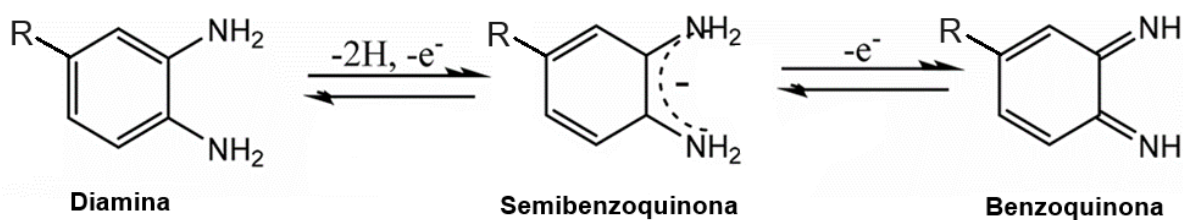
Nos espectros IV dos complexos do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]^{n+}$, onde $\text{L} = \text{bd}$ ou bdq , observam-se bandas entre 3600 e 3000 cm^{-1} que são atribuídas às ligações N-H das aminas e bandas entre 1600 e 1300 cm^{-1} que referem-se as ligações C=C e C=N. Os espectros exibem ainda, uma banda em 829 cm^{-1} referente às ligações P-F do contra-íon PF_6^- e uma banda em 555 cm^{-1} atribuída às ligações $\text{Ru}^{\text{II}}\text{-N}$, evidenciando a coordenação das aminas ao centro metálico (NAKAMOTO, 1997, 2008). Exclusivamente no espectro IV dos complexos com ligante bdq é também possível identificar os estiramentos C=O em 1704 cm^{-1} presentes no grupo carboxilato (BESSAS, *et al.*, 2024).

A Figura 10 evidencia também a região abaixo de 500 cm^{-1} , onde é possível identificar a ligação Ru-Cl , com número de onda equivalente a 439 cm^{-1} . Esse dado indica a coordenação do ligante monodentado Cl^- ao centro metálico (BHATTACHARJEE & GAYATHRI, 2023; GARZA-ORTIZ, *et al.*, 2013).

Quanto a coordenação dos ligantes bidentados, é importante destacar que os ligantes *o*-fenilenodiamina e ácido 3,4-diaminobenzoico podem encontrar-se em diferentes formas eletrônicas: catecol (diamina), semiquinona (semibenzoquinonodiamina) e quinona (benzoquinonadiimina), conforme a Figura 11. A banda em 3300 cm^{-1} presente nos espectros

IV tanto do complexo com ligante bd quanto bdq, indicam sua coordenação na forma oxidada (benzoquinonadiimina) ao íon Ru^{II} , pois refere-se a ligações N–H de aminas secundárias (ČANOVIĆ, *et al.*, 2017, RUSANOVA, *et al.*, 2006).

Figura 11. Representação da reação redox para os ligantes *o*-fenilenodiamina (bd, R = H) e ácido 3,4-diaminobenzóico (bdq, R = –COOH).



Fonte: Adaptado de MEDEDOVIC, *et al.*, 2023

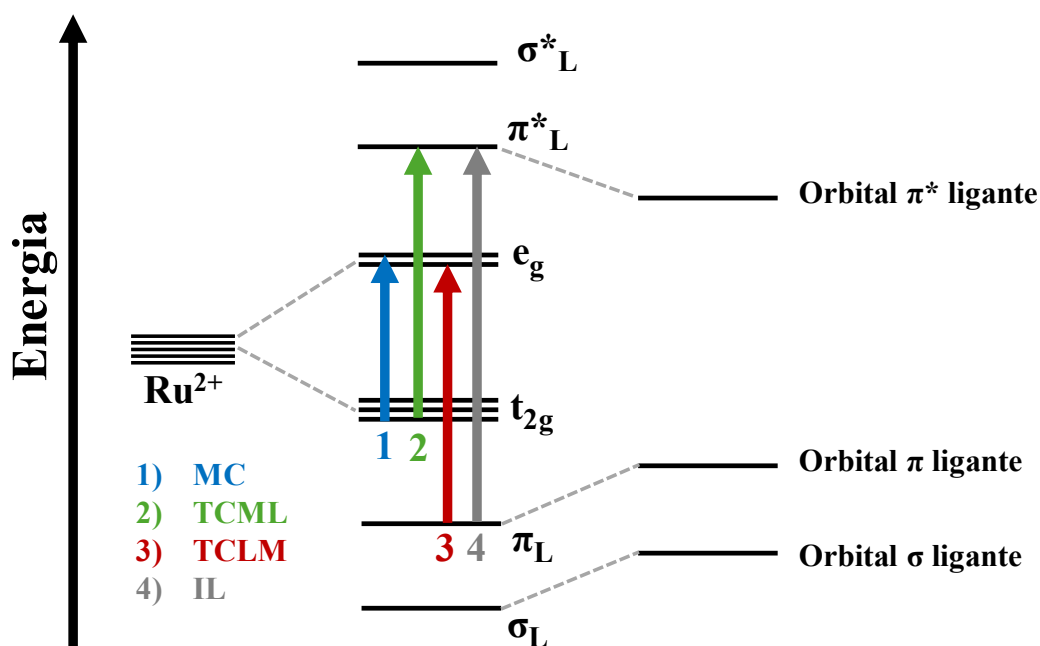
4.1.5. Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis.)

As transições eletrônicas em complexos polipiridil de rutênio podem ser identificadas pelo processo de absorção observado em um espectro eletrônico UV-Vis. Os quatro principais tipos de transições que podem ser encontrados na química de coordenação estão ilustrados na Figura 12 e são descritos como:

- I) Transições centradas no metal (MC):** são transições eletrônicas entre os orbitais prevalentes do metal (d – d). Em complexos octaédricos, essas transições são proibidas pela Regra de Laporte, pois ocorrem entre orbitais de mesma paridade ($g \rightarrow g$). No entanto, devido ao acoplamento vibra-rotacional, tornam-se parcialmente permitidas, resultando em coeficientes de extinção molar geralmente baixos em comparação com as transições de transferência de carga (TC). Já em complexos tetraédricos, a ausência de centro de inversão flexibiliza a Regra de Laporte, tornando as transições d–d mais intensas.
- II) Transições de transferência de carga do metal para ligante (TCML):** essas transições eletrônicas envolvem excitações de elétrons dos orbitais d do metal para orbitais vazios localizados nos ligantes, tipicamente de caráter π^* . Ocorrem, em sua maioria, na região do visível, quando o metal é fácil de oxidar e o ligante é fácil de reduzir.

- III) **Transições de transferência de carga do ligante para o metal (TCLM):** essas envolvem a promoção de elétrons de orbitais ocupados dos grupos ligantes para o orbital d parcialmente vazio do metal.
- IV) **Transições intraligante (IL):** são aquelas que envolvem a transição entre orbitais que estão localizados no mesmo ligante, sendo do tipo $n \rightarrow \pi^*$ ou $\pi \rightarrow \pi^*$.

Figura 12. Ilustração das transições eletrônicas MC(1), TCML (2), TCLM (3) e IL (4) entre os orbitais dos compostos de coordenação.



Fonte: Adaptado de Castro, *et al.*, 2022

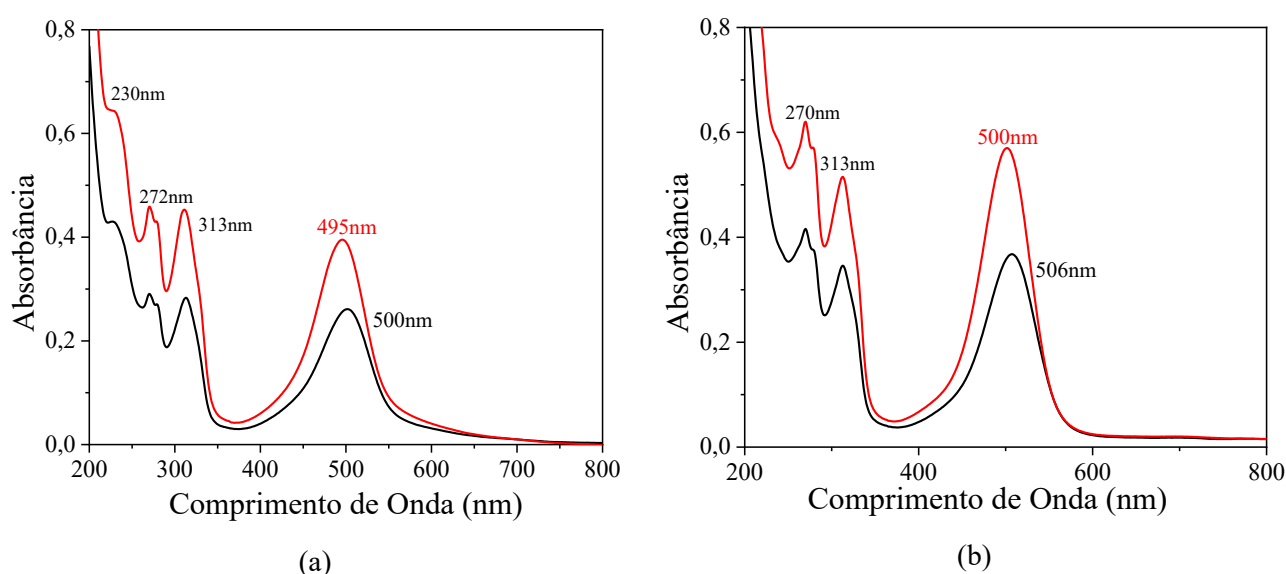
No caso de complexos terpiridina de rutênio, como $[Ru^{III}Cl_3(tpy)]$ e $[Ru^{II}(tpy)_2]^{2+}$, os espectros eletrônicos de absorção podem incluir transições do tipo Transferência de Carga Metal Ligante (TCML), envolvendo os orbitais $d\pi Ru(II)$ e orbitais π^* do ligante terpiridina, geralmente presentes na região visível do espectro, e transições intraligantes ($\pi \rightarrow \pi^*$), predominantemente localizadas na região do ultravioleta (LEVER, 1984; MEĐEDOVIĆ, *et al.*, 2023).

Por exemplo, para o complexo $[Ru^{II}(tpy)_2]^{2+}$ observa-se absorção em 478 nm (JAKUBIKOVA, *et al.*, 2009) e para o complexo $[Ru^{III}Cl_3(tpy)]$ em 403 e 479 nm. Quando a terpiridina, um ligante π -ácido forte, é substituída por um ligante L bidentado e um ligante X monodentado, observa-se uma redução na energia dessa transição. Essa redução está de acordo com o maior caráter σ -doador do ligante X e o menor caráter π -aceptor do ligante L em

comparação à terpiridina. Exemplificando, para os cloridos terpiridina complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]^+$ onde $\text{L} = \text{bpy}$, phen , en e tme , a banda TCML aparece em 486, 481, 464 e 529 nm, respectivamente (MONDAL, *et al.*, 2000).

A Figura 13 apresenta os espectros eletrônicos na região do UV-Visível dos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{X}(\text{L})(\text{tpy})]^{n+}$, em que $\text{X} = \text{Cl}^-$ ou OH_2 e $\text{L} = \text{bd}$ ou bdq .

Figura 13. Espectro eletrônico na região do UV-Visível para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (—) e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{L})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (---) em que $\text{L} = \text{bd}$ (a) ou bdq (b) de soluções com concentração qualitativa em água.



Fonte: Autora

As bandas observadas na região do ultravioleta nos espectros analisados são classificadas como transições intra-ligantes do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$, atribuídas aos ligantes insaturados (tpy, bd e bdq). Essas bandas não apresentam variações em função da presença de co-ligantes monodentados. Já a banda localizada na região do visível é atribuída a uma transição de transferência de carga metal-ligante (TCML), do tipo $d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{L}, \text{tpy})$ (MEĐEDOVIĆ, *et al.*, 2023; CHRZANOWSKA, *et al.*, 2020; 2017).

A intensidade e a posição dessa banda TCML podem ser influenciadas pelo estado de oxidação do ligante L (Figura 11). Quando os ligantes estão no estado de oxidação catecol, não apresentam orbitais de caráter antiligante que possam receber densidade eletrônica do metal via interação π -retrodoação. Consequentemente, não possuem níveis eletrônicos de baixa energia adequados para viabilizar uma transição do tipo TCML. Por outro lado, ligantes nos estados de semiquinona e quinona apresentam orbitais de caráter π^* , os quais podem interagir por

retrodoação com o íon rutênio, permitindo a ocorrência de transições TCML (LEVER, *et al.*, 1993).

As atribuições de transição eletrônica para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{X}(\text{L})(\text{tpy})]^+$, os valores de comprimento de onda de máxima absorção e seus respectivos valores de absortividade molar (ϵ) em meio aquoso são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Dados espectroscópicos e suas atribuições para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{X}(\text{L})(\text{tpy})]^{n+}$, em que L = bd ou bdq e X = Cl^- ou OH_2 em solução aquosa.

Complexo	λ (nm)/log ϵ	Atribuições
$[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$	230/3,99	$\pi \rightarrow \pi^*$
	272/4,08	$\pi \rightarrow \pi^*$
	313/4,07	$\pi \rightarrow \pi^*$
	500/3,96	$d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{tpy}) + d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{bd})$
$[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$	270/4,12	$\pi \rightarrow \pi^*$
	313/4,06	$\pi \rightarrow \pi^*$
	506/4,06	$d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{tpy}) + d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{bdq})$
$[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$	230	$\pi \rightarrow \pi^*$
	272	$\pi \rightarrow \pi^*$
	313	$\pi \rightarrow \pi^*$
	495	$d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{tpy}) + d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{bd})$
$[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$	270	$\pi \rightarrow \pi^*$
	313	$\pi \rightarrow \pi^*$
	500	$d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{tpy}) + d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{bd})$

Fonte: Autora

As regiões de absorção e a intensidade das bandas observadas nos perfis espectroscópicos de complexos terpiridina de rutênio podem variar a depender dos coligantes presentes. Por exemplo, a diferença de energia entre as bandas TCML para os clorido complexos do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]^{n+}$ são influenciadas pelo co-ligante “L”. Na série, $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]^{n+}$ onde L = bpy, en e dach, os valores de energia para as bandas TCML encontram-se em 486 nm (2,55 eV), 539 nm (2,30 eV) e 544 nm (2,28 eV), respectivamente (RILAK, *et al.*, 2014). Assim, o maior caráter π -receptor do ligante L, confere ao complexo uma menor energia da banda TCML.

Nos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, as energias das bandas TCML, localizadas em 500 nm (2,48 eV) e 506 nm (2,43 eV), respectivamente, são intermediárias em relação aos exemplos discutidos anteriormente. Observa-se que os complexos clorido $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]^+$, onde L = bd e bdq, apresentam uma diferença de 6 nm na posição da banda de menor energia, com um deslocamento para comprimentos de onda maiores no caso do ligante bdq. Para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{Cl}$, conforme relatado por Međedović e colaboradores (2023), a banda TCML foi observada em 509 nm.

Em meio aquoso, os clorido complexos de rutênio promovem a labilização do ligante Cl^- , permitindo a subsequente coordenação do ligante aqua (OH_2). Os espectros dos complexos aqua $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ exibem uma região similar às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ observadas nos complexos clorido correspondentes. No entanto, as bandas TCML apresentam um deslocamento hipsocrômico, sendo localizadas em 495 nm e 500 nm, respectivamente.

A substituição do ligante clorido (Cl^-) pelo ligante aqua (OH_2) resulta em uma estabilização do orbital $d\pi$ (Ru^{II}), reduzindo a energia do orbital $d\pi$ e aumentando as diferenças de energia entre os orbitais $d\pi$ (Ru^{II}) e $\pi^*(\text{L})$. Como consequência, observa-se um deslocamento para o azul no máximo de absorbância das transições TCML (JAKUBIKOVA, *et al.*, 2009; SERRANO, *et al.*, 2007).

Os espectros eletrônicos na região do UV-visível foram obtidos em meio aquoso a temperatura ambiente (~ 298 K) e os espectros teóricos são retratados nas mesmas condições através do método TD-DFT (Anexos A e B). Os erros entre os resultados experimentais e teóricos para o máximo de absorção da TCML (Tabela 5) apresentaram valores entre 0,50 e 0,58 eV e reproduzem os deslocamentos para região de maior energia dos cloridos complexos após a reação de aquação.

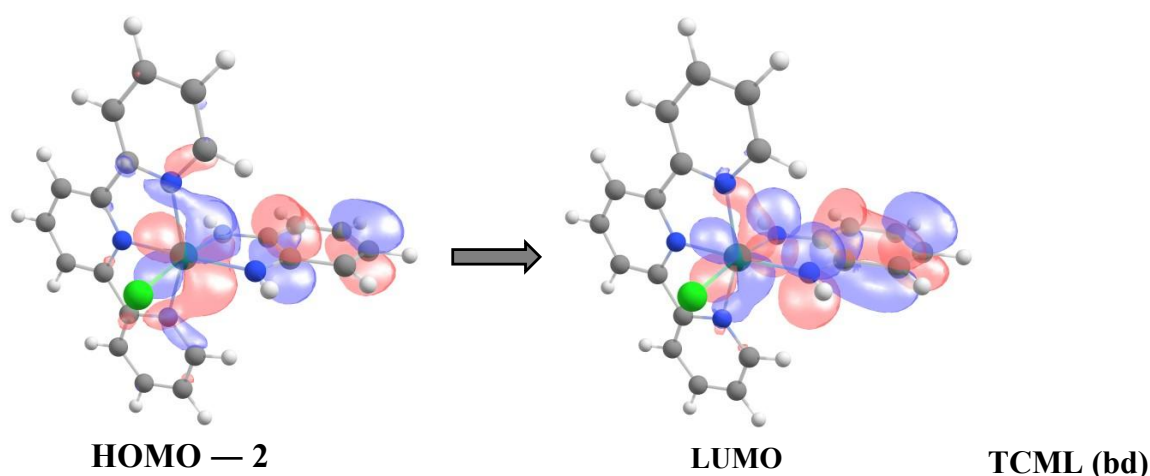
Tabela 5. Valores de comprimento de onda teóricos e experimentais da Transferência de Carga Metal-Ligante para os complexos tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{X}(\text{L})(\text{tpy})]^{n+}$, em que L = bd ou bdq e X = Cl^- ou OH_2 .

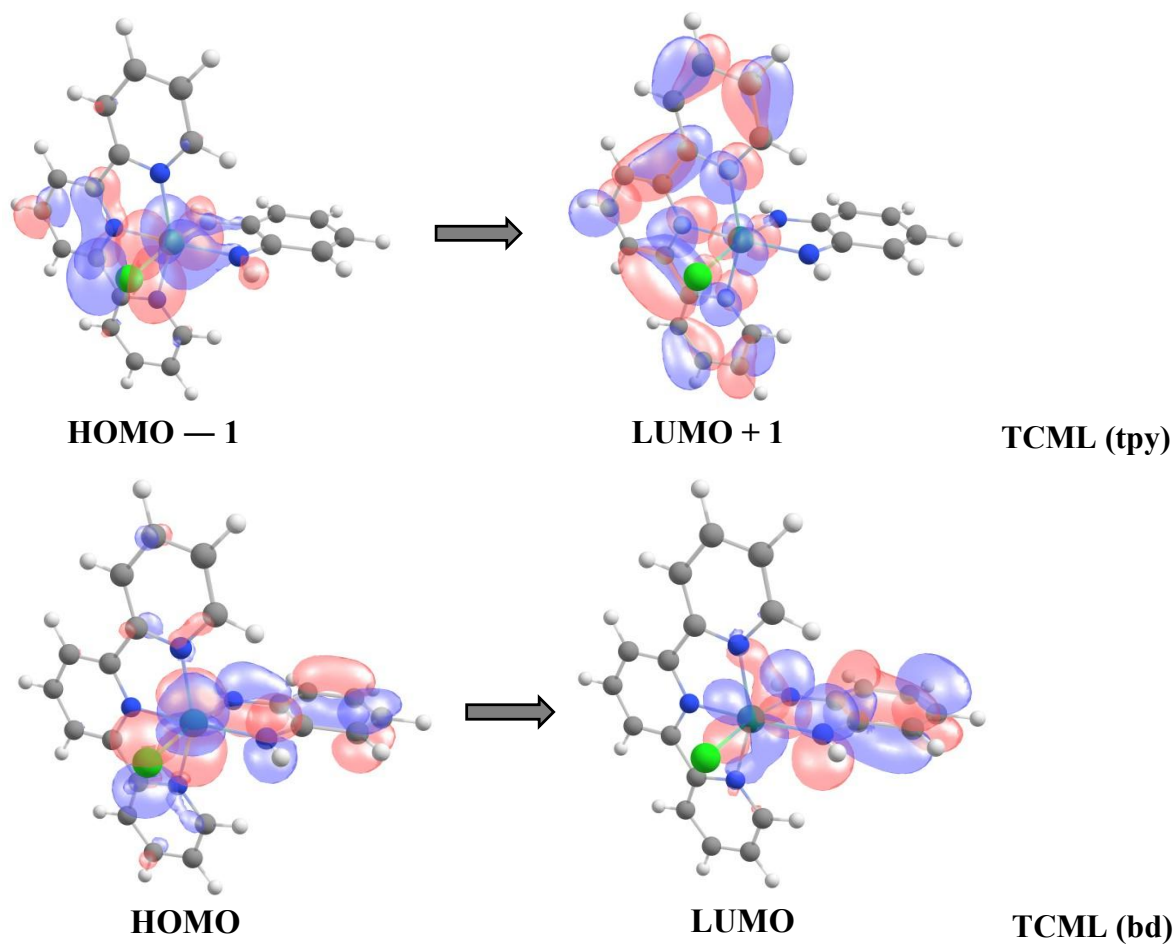
Complexo	λ TCML (nm) teórico	λ TCML (nm) experimental	ΔE (eV)
$[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$	416,2	500	0,50
$[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$	403,2	495	0,57
$[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$	415,8	506	0,53
$[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq-H})(\text{tpy})]\text{PF}_6$	421,5	-	-
$[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$	405,3	500	0,58
$[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq-H})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$	408,2	-	-

Fonte: Autora

A banda experimental de menor energia observada em 500 nm para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ corresponde a uma transição teórica calculada em 416,2 nm. Essa transição é predominantemente composta por três contribuições eletrônicas: $\text{HOMO-2} \rightarrow \text{LUMO}$, $\text{HOMO-1} \rightarrow \text{LUMO}+1$ e $\text{HOMO} \rightarrow \text{LUMO}$, cujos orbitais envolvidos estão representados na Figura 14. As transições indicam uma transferência de elétrons envolvendo os ligantes tpy e bd, sendo os principais contribuintes o ligante bd e os orbitais do tipo d localizados no centro metálico.

Figura 14. Orbitais envolvidos na transição TCML do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$.

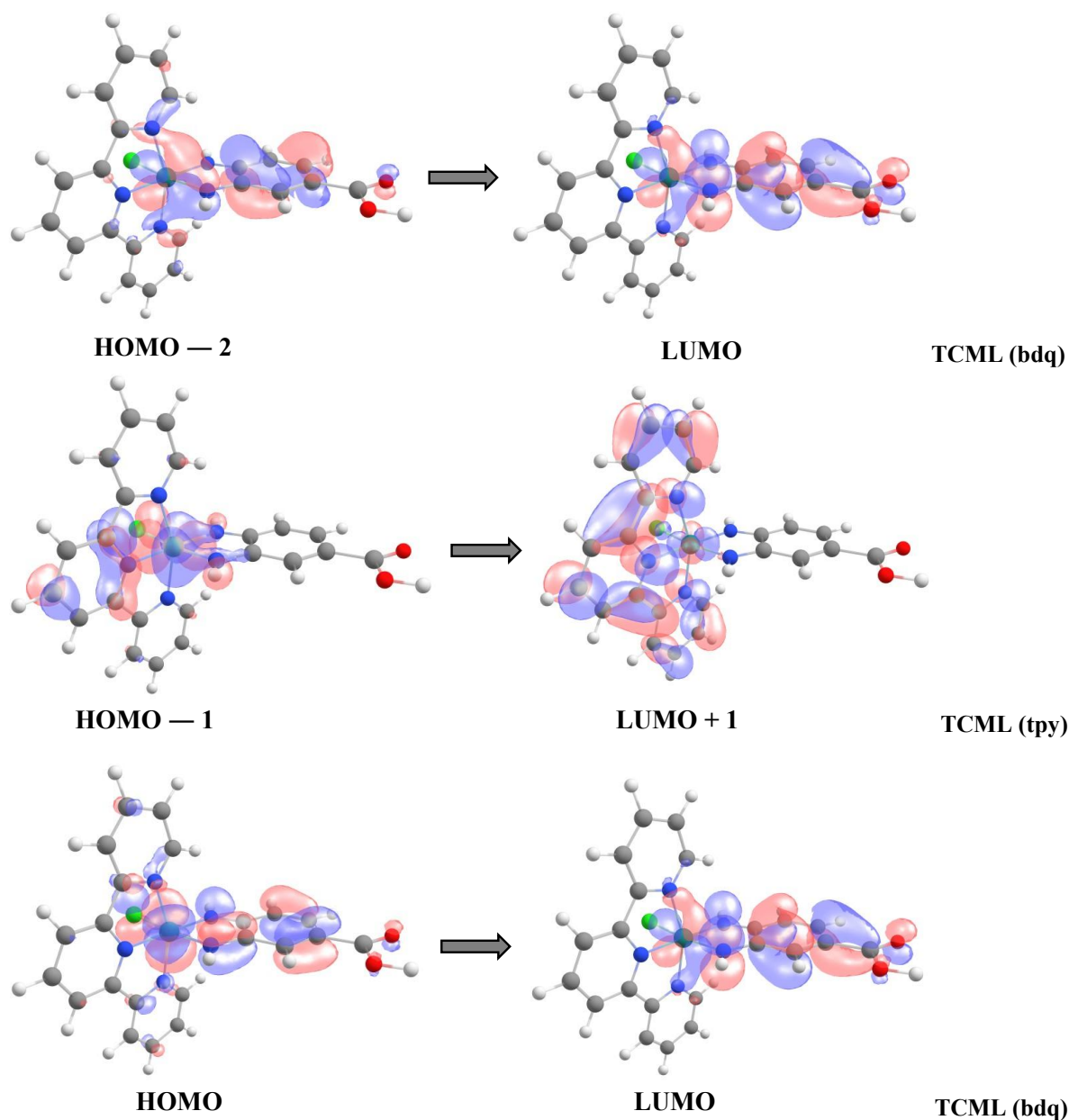




Fonte: Autora

Para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, a banda de absorção da TCML tem uma variação de 506 nm para 415,8 nm entre os resultados experimentais e teóricos. Essa banda de absorção também é dominada por três transições: $\text{HOMO}-2 \rightarrow \text{LUMO}$, $\text{HOMO}-1 \rightarrow \text{LUMO}+1$ e $\text{HOMO} \rightarrow \text{LUMO}$ (Figura 15), sendo majoritariamente influenciada pelo ligante bdq e pelo íon rutênio, que desempenham um papel central na transferência de carga.

Figura 15. Orbitais envolvidos na transição TCML do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$.



Fonte: Autora

Os dados teóricos indicam que a diferença na região de absorção da banda TCML entre os complexos contendo os ligantes bd e bdq é significativamente maior quando o grupo carboxilato ($-\text{COOH}$) do bdq está na forma protonada. Nesse contexto, os valores teóricos de λ_{TCML} são 416,2, 415,8 e 421,5 nm para as espécies $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq-H})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, respectivamente. Esses resultados sugerem que, experimentalmente, a diferença energética da banda TCML observada entre os complexos contendo bd e bdq está associada ao bdq em seu estado protonado, uma vez que o pH das

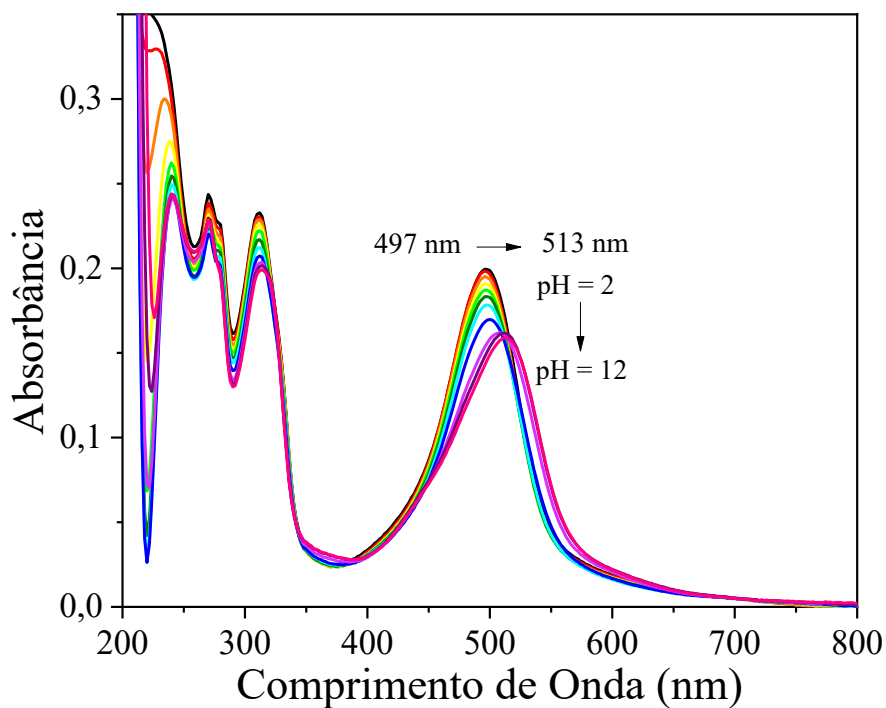
soluções aquosas dos complexos antes das análises espectroscópicas foram de $\sim 4,60$, para ambos os complexos. Para aprofundar a compreensão desse comportamento, foram realizados estudos espectroscópicos das espécies em solução em diferentes valores de pH (vide item 4.1.6).

Os dados teóricos confirmam, portanto, que a substituição do ligante bd pelo ligante bdq resulta em uma transição eletrônica do tipo TCML menos energética. Por outro lado, a substituição do ligante Cl^- pelo ligante OH_2 aumenta a energia da transição. Esses resultados mostram que a modulação da densidade eletrônica por meio de substituintes nos ligantes permite um controle sistemático das propriedades espectroscópicas.

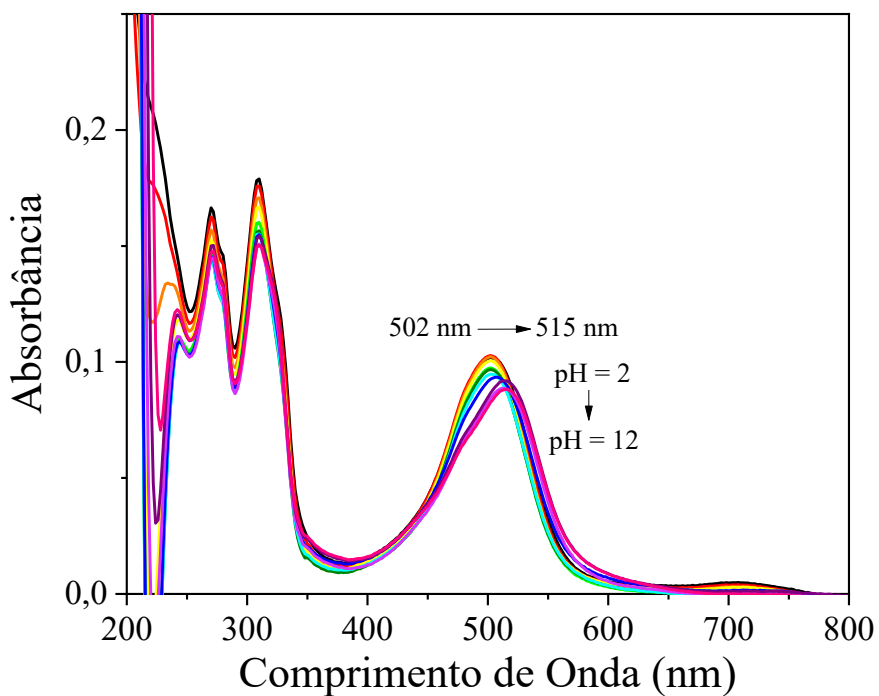
4.1.6. Determinação espectroscópica dos valores de pK_a dos aqua complexos

Diante da possibilidade dos clorido complexos em apresentar-se na forma de suas aqua espécies, a depender do pH do meio, os compostos podem ainda se converter em complexos com ligante hidroxido (OH^-) a partir da desprotonação do ligante OH_2 . É importante considerar as condições em que essa mudança estrutural acontece nos compostos, uma vez que pode proporcionar mudanças também em suas propriedades e aplicações (MUTUA, *et al.*, 2022). Para isso, realizou-se o estudo de determinação do pK_a dos aqua complexos obtendo um espectro eletrônico na região do UV-Visível em diferentes valores de pH. A Figura 16 apresenta os espectros obtidos variando o pH de 2 a 12 de soluções tamponadas dos complexos com ligante bd e bdq.

Figura 16. Espectro eletrônico de absorção na região do UV-Visível dos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (a) e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (b) em tampão BR variando o pH de 2 a 12 a 298,15 K.



(a)



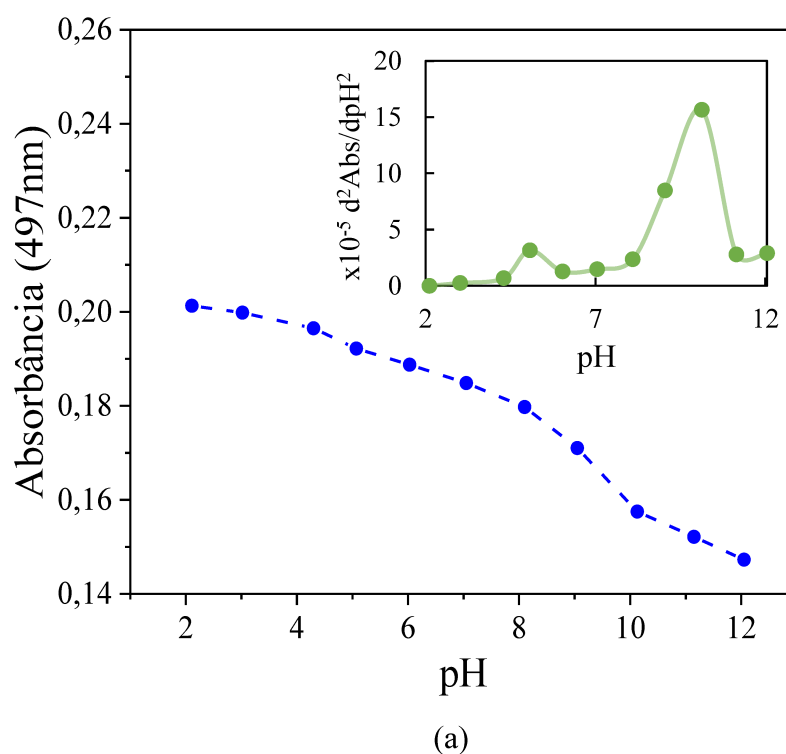
(b)

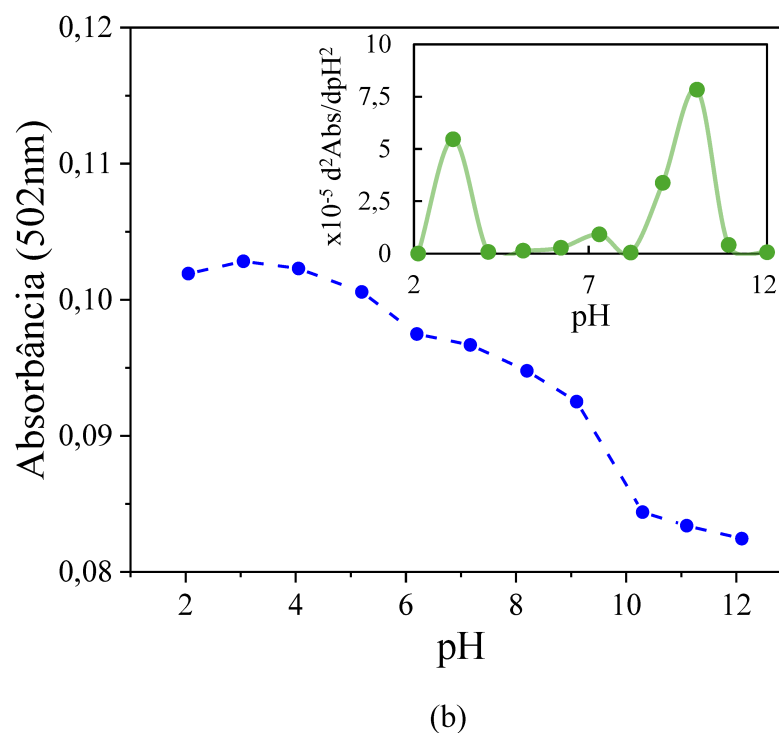
Fonte: Autora

Com o aumento do pH da solução aquosa para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ observa-se a diminuição da intensidade da banda TCML acompanhado do deslocamento batocrômico de $497 \rightarrow 513 \text{ nm}$ e $502 \rightarrow 515 \text{ nm}$, respectivamente. Esse comportamento é um indicativo da desprotonação do ligante aqua, pois, a coordenação do ligante OH^- ao centro metálico desestabiliza os orbitais $d\pi$ do Ru^{II} , resultando em uma transição TCML de menor energia (MUTUA, *et al.*, 2022; CHRZANOWSKA, *et al.*, 2017).

Os valores de pK_a foram determinados a partir da derivada da sigmoide do gráfico de absorbância máxima da banda TCML em função do pH, conforme mostrado na Figura 17.

Figura 17. Determinação do pK_a para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (a) e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (b).





Fonte: Autora

Para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ foram definidos dois valores de pK_a , equivalentes a $5,04 \pm 0,04$ e $10,26 \pm 0,19$. O primeiro refere-se à desprotonação do grupo imina (NH) do ligante bd, enquanto o segundo está relacionado à desprotonação do ligante aqua. Para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ foram identificados três valores de pK_a : $3,08 \pm 0,05$, $6,75 \pm 0,78$ e $10,20 \pm 0,14$. Nesse caso, o $\text{pK}_a = 3,08$ refere-se à desprotonação ao grupo carboxilato ($-\text{COOH}$), o $\text{pK}_a = 6,75$, ao grupo imina (NH) do ligante bdq, enquanto o $\text{pK}_a = 10,20$ corresponde à desprotonação do ligante aqua (CHRZANOWSKA, *et al.*, 2020; 2018; 2017). No trabalho reportado por Turro e colaboradores (2003) o pK_a da iminas (NH) dos complexos $[\text{Rh}(\text{bdq})_2\text{phen}]^{3+}$ e $[\text{Rh}(\text{phen})_2\text{bdq}]^{3+}$, foram determinados em 6,2 e 5,8, respectivamente.

Mudanças espectrais e valores de pK_a semelhantes foram também relatados na literatura. A Tabela 6 apresenta essa comparação, bem como os valores de pK_a dos ligantes bd e bdq em seu estado livre, presentes no banco de dados PubChem (National Center for Biotechnology Information).

Tabela 6. Valores de constante ácida (K_a/pK_a) para aqua complexos $[Ru^{II}(OH_2)(L)(tpy)]^{n+}$ (T= 298 K).

Complexos	pK_a/K_a	Referência
$[Ru^{II}(OH_2)(en)(tpy)]^{2+}$	$10,83 \pm 0,03$ $1,48 \times 10^{-11}$	CHRZANOWSKA, <i>et al.</i> , 2017
$[Ru^{II}(OH_2)(ampy)(tpy)]^{2+}$	$10,36 \pm 0,04$ $4,36 \times 10^{-11}$	CHRZANOWSKA, <i>et al.</i> , 2018
$[Ru^{II}(OH_2)(bd)(tpy)]^{2+}$	$10,26 \pm 0,19$ $5,39 \times 10^{-11}$	Autora
$[Ru^{II}(OH_2)(bdq)(tpy)]^{2+}$	$10,20 \pm 0,14$ $6,31 \times 10^{-11}$	Autora
$[Ru^{II}(OH_2)(tpy)(tmen)]^{2+}$	$10,03 \pm 0,02$ $9,33 \times 10^{-11}$	CHRZANOWSKA, <i>et al.</i> , 2020
$[Ru^{II}(OH_2)(bpy)(tpy)]^{2+}$	$9,83 \pm 0,03$ $1,48 \times 10^{-10}$	CHRZANOWSKA, <i>et al.</i> , 2017
$[Ru^{II}(OH_2)(phen)(tpy)]^{2+}$	$9,59 \pm 0,03$ $2,57 \times 10^{-10}$	CHRZANOWSKA, <i>et al.</i> , 2020
<i>o</i> -fenilenodiamina	4,47 (NH)	National Center for Biotechnology Information
Ácido 3,4-diaminobenzóico	2,57 (NH) 3,39 (NH) 3,49 (COOH)	National Center for Biotechnology Information

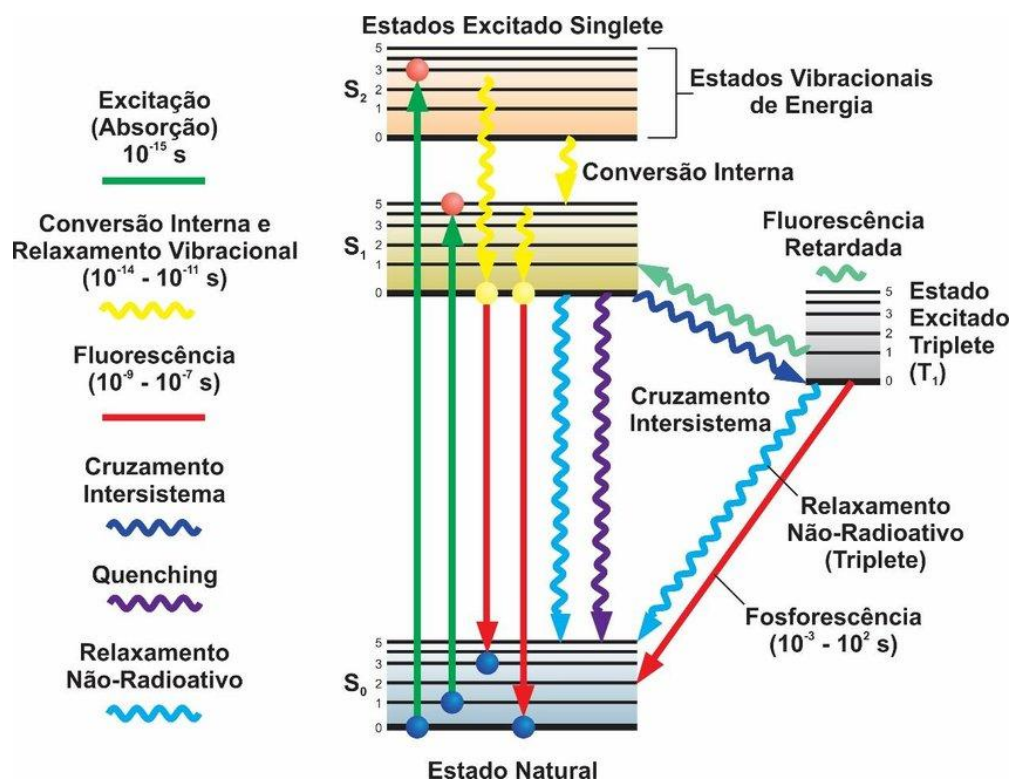
Fonte: Autora

Os dados apresentados na Tabela 6 mostram que os ligantes com maior caráter π -receptor, como **bpy** e **phen**, promovem maior retirada de densidade eletrônica do centro metálico, tornando o íon metálico mais eletrofílico e mudando sua natureza eletrônica em direção ao estado de oxidação Ru(III) inerte. Como resultado, a ligação Ru-OH₂ se torna mais forte, enquanto a ligação O-H do ligante aqua é enfraquecida, facilitando sua desprotonação (CHRZANOWSKA, *et al.*, 2017). No caso dos complexos com ligantes **bd** e **bdq**, os valores de pK_a estão entre os complexos com ligantes **en** e **tmen**, o que demonstra um menor caráter retirador de densidade eletrônica do íon Ru(II) por parte desses ligantes.

4.1.7. Espectroscopia de fluorescência

Após a excitação eletrônica, o processo de retorno ao estado fundamental dos elétrons de complexos polipiridínicos pode ser explicado utilizando um diagrama de Jablonski, como ilustrado na Figura 18. Nesse contexto, os estados excitados fornecem caminhos para que os elétrons retornem ao estado fundamental com ou sem a emissão de fótons (decaimento radiativo ou não radiativo). Após excitação, é possível que um elétron transite do estado fundamental para estados excitados como S_1 , S_2 ou níveis de energia ainda mais elevados, sem que ocorra alteração no spin. Apesar de existirem estados tripletes com energia mais baixa, estes não são acessados de maneira direta pela absorção de luz. Contudo, podem ser populados indiretamente por elétrons que já tenham alcançado o estado S_1 (MAESTRI, *et al.*, 1995).

Figura 18. Diagrama de Energia de Jablonski para o fenômeno de fluorescência



Fonte: ISLER, *et al.*, 2018

Como mostrado no diagrama de Jablonski, um elétron no estado excitado S_1 pode passar para o estado T_1 através de cruzamentos intersistemas, um fenômeno associado ao elevado acoplamento spin-órbita característico dos complexos de metais de transição. Do estado T_1 , o

retorno ao estado fundamental pode ocorrer tanto por meio de processos radiativos (como a fosforescência) quanto por mecanismos não radiativos. A presença de estados tripletes de baixa energia é uma característica comum em complexos polipiridil (HOFMEIER & SCHUBERT, 2005).

Em complexos de rutênio contendo terpiridinas, por exemplo, não são detectados processos radiativos à temperatura ambiente. Nesse caso, os cruzamentos entre os níveis do estado excitado singlete, os estados tripletes intermediários (T_2 e T_1) e o estado fundamental promovem o retorno do sistema ao estado fundamental sem a emissão de luz. Entretanto, em temperaturas mais baixas, as interseções cônicas entre as superfícies de energia dos estados excitados podem tornar-se menos acessíveis. Isso reduz a eficiência desse processo e permite que parte da desexcitação eletrônica ocorra de forma radiativa (JURIS, *et al.*, 1988).

Como já apresentado, os espectros de absorção dos complexos polipiridínicos de Ru(II) destacam-se pela presença de uma banda de menor energia, atribuída à transição TCML. Essa transição envolve a transferência de um elétron do estado fundamental (localizado em um orbital de caráter metálico) para o estado excitado $^1\text{TCML}$ (um orbital de caráter ligante tpy). Assim, a energia associada ao λ_{max} dessa banda reflete a diferença energética entre esses dois estados. A emissão observada nesses complexos ocorre devido a um decaimento radiativo do estado excitado $^3\text{TCML}_{\text{tpy}}$, caracterizado como o nível de menor energia, em conformidade com a regra de Kasha. Esse estado é acessado por meio de um cruzamento intersistema do tipo $^1\text{TCML}_{\text{tpy}} \rightarrow ^3\text{TCML}_{\text{tpy}}$. Contudo, o decaimento radiativo pode ser inibido pela transferência de energia para o estado ^3MC , o que reduz a luminescência dessa classe de complexos em temperatura ambiente (JURIS, *et al.*, 1988).

Diante das propriedades fotofísicas que os complexos polipiridil de rutênio podem apresentar, espectros de emissão e excitação de fluorescência dos complexos em estudo foram obtidos em diferentes comprimentos de onda de excitação. Os Anexos C e D apresentam os espectros obtidos. A Tabela 7 apresenta os comprimentos de onda de excitação e sua respectiva emissão para cada complexo.

Tabela 7. Comprimentos de onda de emissão para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{X})(\text{L})(\text{tpy})]^{n+}$ em diferentes comprimentos de onda de excitação.

Complexo	$\lambda_{\text{em}} \text{ (nm)}$		
	$\lambda_{\text{ex}} = 270 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{ex}} = 310 \text{ nm}$	$\lambda_{\text{ex}} = 500 \text{ nm}$
$[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6^{\text{a}}$	290; 364 e 580	-	-
$[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2^{\text{b}}$	290, 364 e 580	-	-
$[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6^{\text{a}}$	347	346, 683	-
$[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2^{\text{b}}$	355 e 590	-	-

a: solução de KCl, b: solução aquosa

Fonte: Autora

Os dados obtidos para a emissão de fluorescência dos complexos cloridos e aqua em meio aquoso e $T = 298 \text{ K}$ (Tabela 7) mostram que a excitação na banda IL (270 nm) promove a transição para o estado singlete S_2 . Durante a desativação, podem ocorrer processos de decaimento radiativo com emissão de fluorescência em 290 nm e decaimento não radiativo, envolvendo a transferência de energia para o estado singlete S_1 , de caráter ligante. A emissão de fluorescência proveniente do estado S_1 foi observada com energia correspondente a um comprimento de onda de aproximadamente 360 nm. Além disso, o decaimento não radiativo também leva à população do estado $^1\text{TCML}$, resultando em emissão radiativa em $\sim 600 \text{ nm}$. Por outro lado, a excitação na banda de menor energia ($\sim 500 \text{ nm}$), atribuída ao estado $^1\text{TCML}$, não gerou emissão de fluorescência (BALZANI, *et al.*, 2021; JANG, *et al.*, 2017).

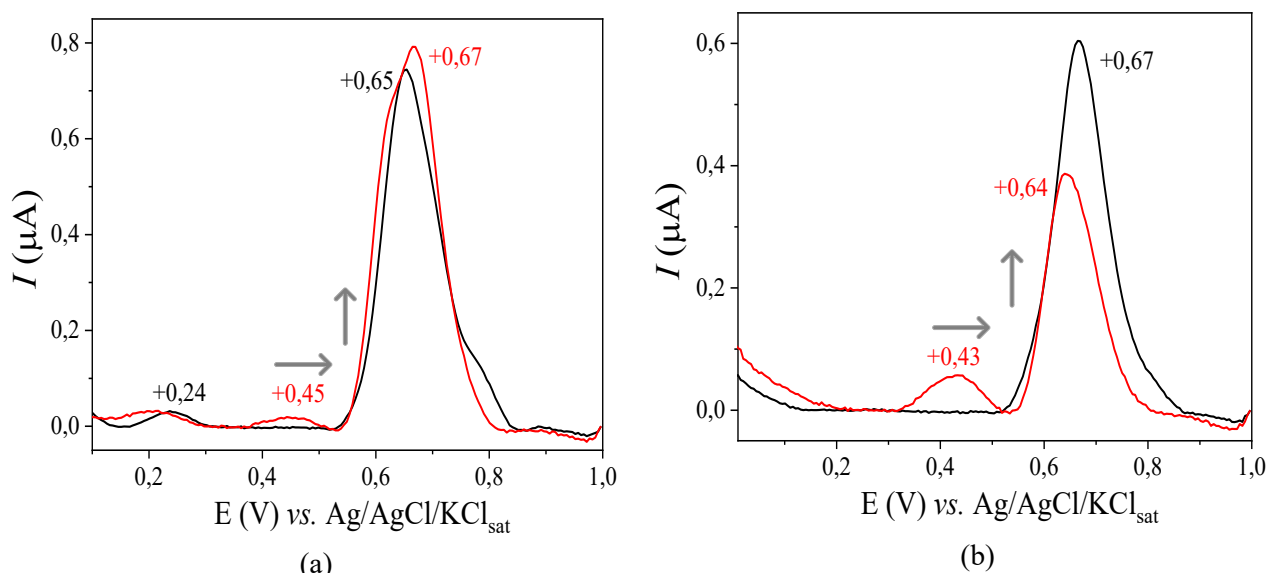
O complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ apresenta um máximo de emissão, assim como um máximo de absorção (506 nm), deslocado para comprimentos de onda de menor energia em comparação ao complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$. Esse comportamento pode ser explicado por uma menor retro-doação $\text{Ru}^{\text{II}}\text{-tpy}$, que favorece, ainda que minimamente, a acomodação dos elétrons nos orbitais de caráter ligante no estado excitado $^3\text{TCML}$, resultando em um deslocamento batocrômico no máximo de emissão do $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (JANG, *et al.*, 2017).

4.1.8. Voltametria de Pulso Diferencial (VPD)

Os voltamogramas de pulso diferencial (VPD) foram registrados para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{L})(\text{tpy})]^{2+}$ em tampão fosfato e PBS (pH 7,4), com o objetivo de identificar os potenciais de oxidação associados ao processo centrado no íon rutênio, $\text{Ru}^{\text{II}} \rightarrow \text{Ru}^{\text{III}}$, e

compreender a influência dos ligantes bidentados bd e bdq nessas propriedades. A Figura 19 apresenta os voltamogramas obtidos.

Figura 19. Voltamogramas de pulso diferencial para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (a) e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (b) em tampão fosfato (–) e PBS (–) (pH = 7,40).



Fonte: Autora

No voltamograma de pulso diferencial (VPD) registrado no sentido anódico para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ em tampão fosfato (Figura 19a), foi observado um potencial de oxidação em +0,65 V vs Ag/AgCl. Ao realizar, porém, os experimentos de VPD em PBS (pH = 7,4), verificou-se o surgimento de um processo de oxidação em potencial igual a +0,45 V vs Ag/AgCl. Este comportamento é atribuído à ocorrência de uma reação de anação, isto é, a substituição do ligante OH_2 pelo ligante Cl^- . Isso porque, em presença de PBS há adição de 137 mmol L^{-1} de íons cloreto. Assim, os potenciais em +0,65 V e +0,45 V vs Ag/AgCl foram associados, respectivamente, à oxidação do íon Ru^{II} para Ru^{III} no complexo aqua e no complexo clorido (JAKUBIKOVA, *et al.*, 2009). O mesmo comportamento eletroquímico foi verificado para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$.

O ambiente eletrônico do centro Ru(II) em complexos contendo terpiridina varia em função da presença de ligantes doadores ou retiradores de densidade eletrônica, refletindo nos potenciais redox $\text{Ru}^{\text{II}} \rightarrow \text{Ru}^{\text{III}}$ dos complexos. Na série $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{MeMtpy})(\text{bpy}-\text{R}_2)\text{Cl}]^+$, em que $\text{R}_2 = \text{H}$, CH_3 e CH_3COO , os potenciais redox correspondentes foram +0,83, +0,78 e +0,94 V vs Ag/AgCl. Esses valores indicam que a presença de grupos retiradores de densidade eletrônica, como CH_3COO , desloca o potencial $\text{Ru}^{\text{II}} \rightarrow \text{Ru}^{\text{III}}$ para valores mais positivos, tornando menos

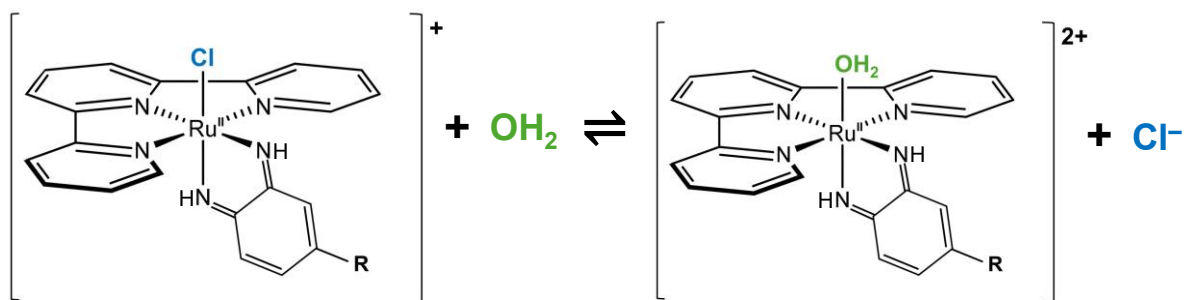
favorecida a formação da espécie Ru(III). Por outro lado, grupos doadores, como CH₃, reduzem o valor do potencial, indicando uma maior estabilização eletrônica do estado Ru(III) (DHIMAN, *et al.*, 2017). Nesse sentido, os resultados observados na VPD dos complexos em estudo evidenciam que os efeitos eletrônicos dos ligantes bd e bdq são semelhantes, contribuindo de forma equivalente para a densidade eletrônica no íon Ru(II), como apontado na discussão acerca da determinação dos valores de pKa dos aqua complexos.

4.2. Estudo da reação espontânea de aquação dos clorido complexos

A substituição de ligantes na esfera de coordenação de complexos metálicos é uma das reações mais representativas dessa classe de compostos, destacando-se por sua relevância tanto em estudos fundamentais quanto em aplicações práticas. Esse processo é governado por uma combinação de fatores estruturais e eletrônicos, que influenciam diretamente o mecanismo reacional e os parâmetros cinéticos e termodinâmicos envolvidos. Fatores como o tamanho e a carga do íon metálico central e do ligante, sua basicidade, os efeitos estéricos, o momento de dipolo e o efeito quelante podem influenciar tanto na espontaneidade quanto na velocidade dessa reação (RODGERS, 2015).

Nos complexos do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]^+$, é possível observar a substituição espontânea do ligante Cl^- pelo ligante aqua (OH_2), denominada reação de aquação (Figura 20). Este tipo de reação é favorecido pela estabilidade do estado de transição assumido pelos compostos, bem como pela maior labilidade do ligante Cl^- em comparação com outros ligantes presentes na esfera de coordenação (HUANG, *et al.*, 2015; CHRZANOWSKA, *et al.*, 2017).

Figura 20. Esquema reacional da aquação para complexos do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]^+$, em que L = bd (R = H) ou bdq (R = COOH).



Fonte: Autora

Sendo dependente da labilidade dos ligantes e da estabilidade do complexo, as reações de substituição devem ser estudadas cinética e termodinamicamente. Os conceitos de labilidade e inércia dos ligantes estão diretamente relacionados à cinética da reação, ou seja, à velocidade com que os ligantes na esfera de coordenação são substituídos, determinada pela constante cinética (k). Por outro lado, a estabilidade termodinâmica do complexo, definida pelas variações na energia livre, entalpia e entropia, está associada à posição de equilíbrio da reação, indicando se os produtos são mais estáveis que os reagentes. Assim, uma alta velocidade de substituição não implica necessariamente em baixa estabilidade termodinâmica, bem como, uma reação lenta não obtém necessariamente um produto estável do ponto de vista termodinâmico (ATKINS, 2018). Nesse sentido, realizou-se o estudo cinético e termodinâmico do estado de transição da reação de aquação para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]^+$, no intuito de compreender a velocidade e a espontaneidade da reação.

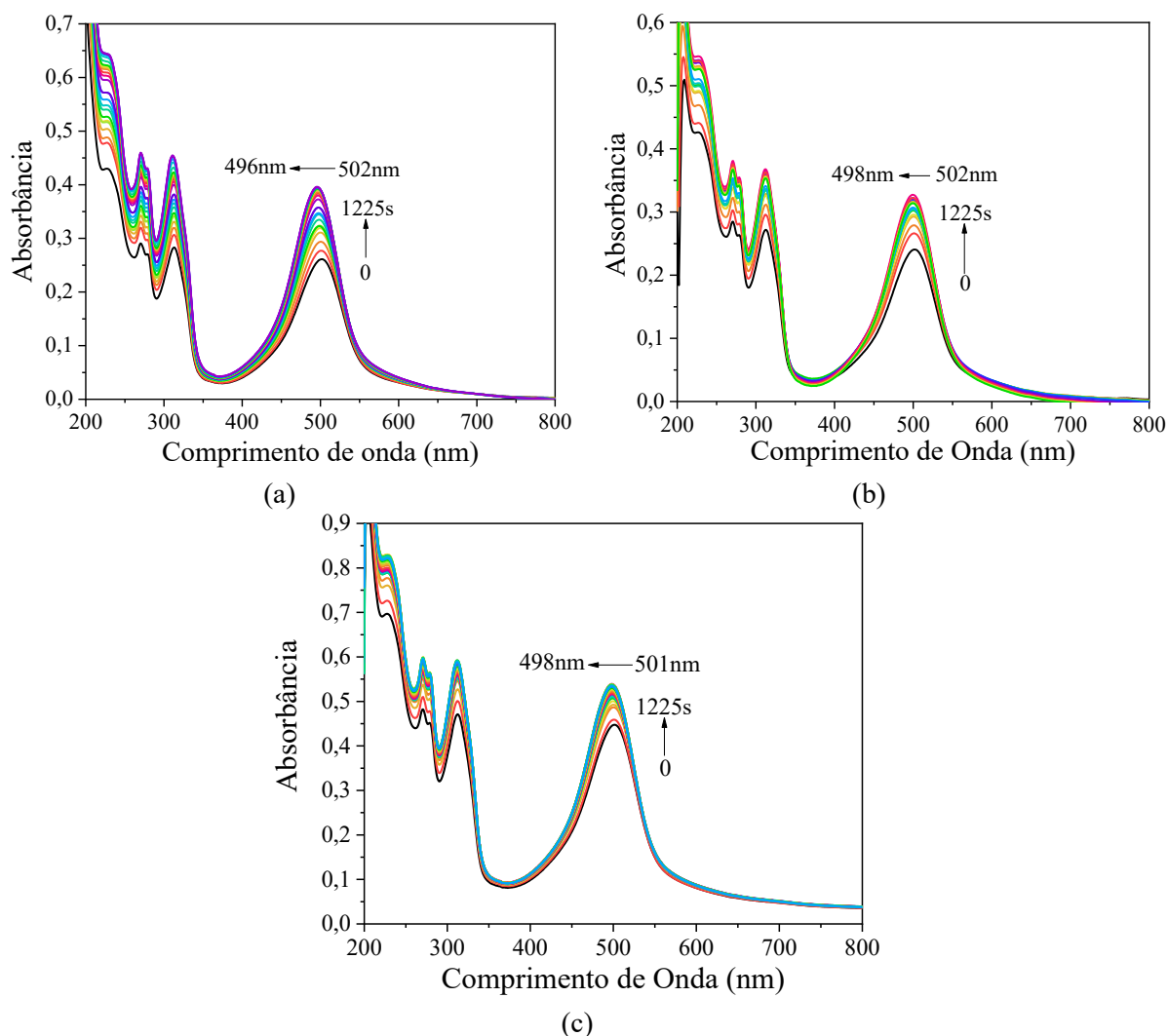
4.2.1. Avaliação espectroscópica da cinética de aquação dos clorido complexos ($T = 310,15 \text{ K}$)

O estudo cinético para reação de aquação dos clorido complexos desse trabalho foi acompanhado pela variação dos espectros na região do UV-visível e foi realizado em três diferentes meios: água, tampão PBS e tampão Tris ($\text{pH} = 7,4$) a $310,15 \text{ K}$.

A compreensão da cinética de aquação em diferentes meios torna-se importante ao considerar a aplicação desses compostos em meio celular. Isso porque, no ambiente extracelular, a elevada concentração de íons cloreto (aproximadamente 100 mmol L^{-1}) inibe a reação de aquação. Em contraste, no interior da célula, onde a concentração de íons cloreto varia entre 3 e 20 mmol L^{-1} , o meio torna-se mais favorável à substituição do ligante clorido (MARKOVIĆ, *et al.*, 2020; ROCHA, *et al.*, 2018). Dessa forma, para o estudo da reação de aquação dos complexos, considera-se a água, com concentração mínima de íons Cl^- , o tampão PBS, contendo cerca de 137 mmol L^{-1} , e o tampão Tris, preparado com aproximadamente 50 mmol L^{-1} .

Para isso, preparou-se uma solução qualitativa dos clorido complexos e obteve-se um espectro de cada solução a cada 30 segundos por 30 minutos. A Figura 21 apresenta os espectros obtidos nos três diferentes meios para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$.

Figura 21. Espectros eletrônicos na região do UV-Visível para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ preparado em água (a), tampão PBS (b) e tampão Tris (c). Varreduras feitas a cada 30 segundos por 30 minutos. $T=310,15\text{ K}$.



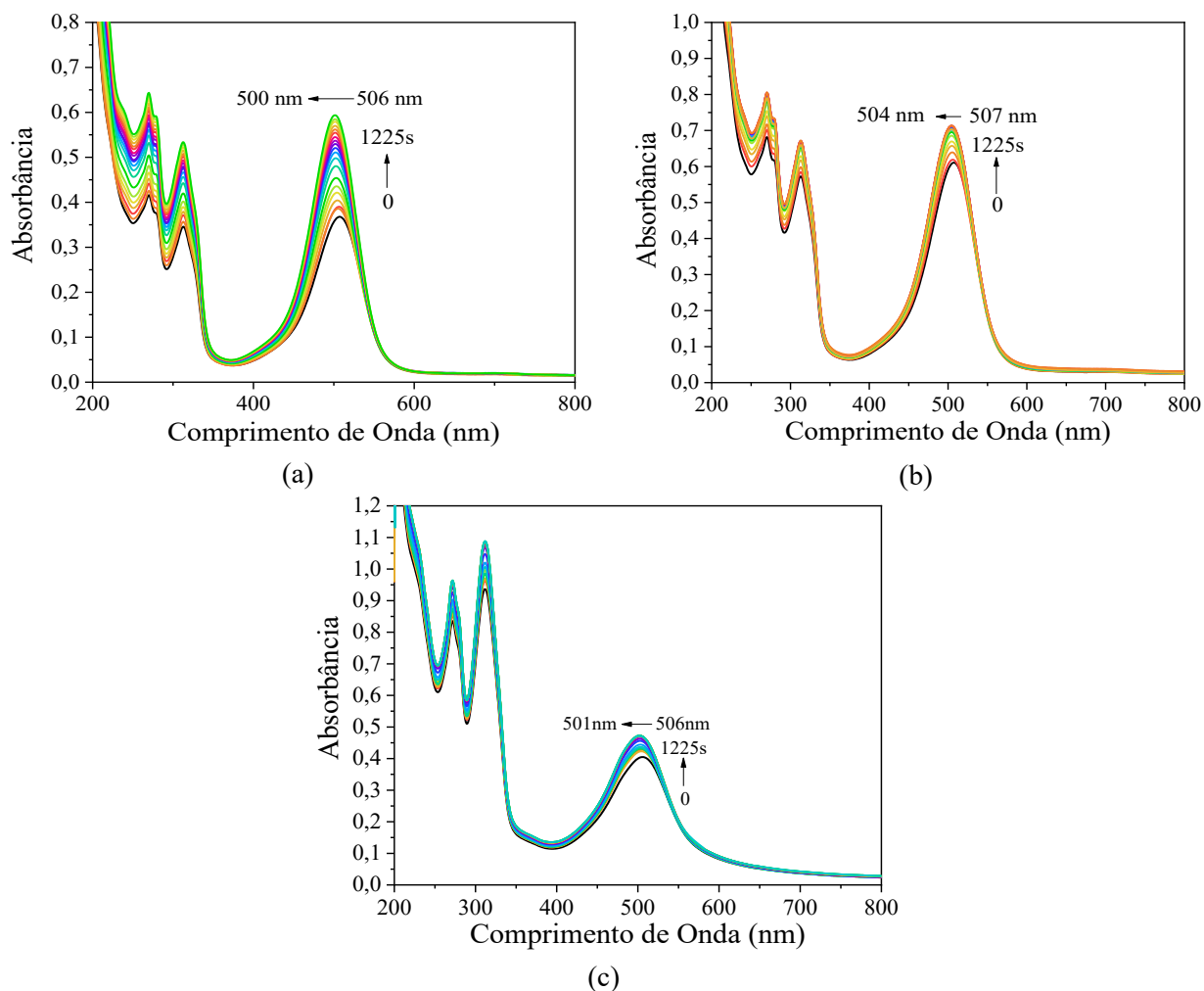
Fonte: Autora

Em água, o espectro do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ apresenta uma banda TCML com máximo inicial em 502 nm. Com o passar do tempo, observa-se um aumento na absorbância e um deslocamento hipsocrômico da banda para 496 nm, correspondente a uma variação de 6 nm. Nos tampões PBS e Tris, os deslocamentos observados foram de 4 nm e 3 nm, respectivamente.

Para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (Figura 22) em água, a banda TCML é inicialmente registrada em 506 nm, deslocando-se para 500 nm após 30 minutos, também apresentando uma variação de 6 nm. Nos meios PBS e Tris, os deslocamentos observados foram

de 3 nm e 4 nm, respectivamente. Em todos os casos, o deslocamento ocorre para regiões de menor comprimento de onda, indicando um aumento na energia associada à transição eletrônica.

Figura 22. Espectros eletrônicos na região do UV-visível para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ preparado em água (a), tampão PBS (b) e tampão Tris (c). Varreduras feitas a cada 30 segundos por 30 minutos. $T=310,15\text{ K}$.



Fonte: Autora

As mudanças espectrais observadas indicam uma conversão espontânea das espécies com ligante clorido em seus respectivos aqua complexos. Isso porque, com o passar do tempo, a banda TCML desloca para regiões mais energéticas, evidenciando o efeito da substituição do ligante Cl^- pelo ligante OH_2 , que estabiliza os orbitais moleculares de caráter metálico e, por consequência, aumenta a energia da transição $d\pi(\text{Ru}^{\text{II}}) \rightarrow \pi^*(\text{tpy}, \text{L})$ (CHRZANOWSKA, *et al.*, 2020; SERRANO, *et al.*, 2007).

Nas condições experimentais aplicadas, a concentração do ligante aqua é altamente superior a concentração do complexo e, sendo assim, a reação de aquação observada é interpretada como de pseudo-primeira ordem. Nesse caso, as constantes cinéticas (k_{aq}) da reação de substituição foram determinadas a partir do gráfico de $\ln(A/A_0)$ em função do tempo, como indica a Equação 1 (ATKINS, 2018). Os Anexos E e F apresentam os gráficos construídos para esse fim, para os complexos $[Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF_6$ e $[Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF_6$, respectivamente.

A determinação dos valores de k_{aq} permitem ainda a definição dos valores de tempo de meia-vida ($t_{1/2}$), isto é, o tempo necessário para que concentração da clorido espécie diminua pela metade o seu valor inicial. Os valores de $t_{1/2}$ foram determinados como apresentado na Equação 2. A Tabela 8 reúne os dados cinéticos obtidos para a reação de aquação.

Tabela 8. Valores de constante cinética de aquação (k_{aq}) e tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) obtidos para soluções dos clorido complexos $[Ru^{II}Cl(L)(tpy)]^{n+}$ em água, PBS e tampão Tris. T = 298,15 K.

Complexo	$k_{aq} (10^{-4} s^{-1})$			$t_{1/2} (min)$		
	Água	PBS	Tris	Água	PBS	Tris
$[Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF_6$	$3,14 \pm 0,35$	$1,21 \pm 0,25$	$1,61 \pm 0,52$	36	98	76
$[Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF_6$	$1,40 \pm 0,24$	$1,04 \pm 0,57$	$1,31 \pm 0,24$	82	111	88
^a $[Ru^{II}Cl(en)(tpy)]^+$	$70,0 \pm 0,1$	-	-	1,65	-	-
^b $[Ru(ampy)Cl(tpy)]^+$	$6,4 \pm 0,03$	-	-	18	-	-
^c $[RuCl(tmen)(tpy)]^+$	$1,5 \pm 0,02$	-	-	77	-	-
^a $[Ru(bpy)Cl(tpy)]^+$	$1,1 \pm 0,1$	-	-	105	-	-
^c $[RuCl(phen)(tpy)]^+$	$0,72 \pm 0,01$	-	-	160	-	-

a: CHRZANOWSKA, *et al.*, 2017; b: CHRZANOWSKA, *et al.*, 2018; c: CHRZANOWSKA, *et al.*, 2020.

Fonte: Autora

A comparação dos valores de k_{aq} em diferentes meios reacionais revela que as constantes cinéticas de aquação nos tampões PBS e Tris são menores do que aquelas determinadas em água para ambos os complexos. Esse resultado indica que maiores concentrações de íons cloreto em solução reduzem, de fato, a velocidade da reação de aquação para os dois compostos.

Em água, a comparação dos valores de k_{aq} para clorido complexos do tipo $[Ru^{II}Cl(L)(tpy)]^+$ indicam que a cinética de aquação pode ser governada pela efeito do co-ligante “L”. Como apresentado na Tabela 8, complexos com co-ligantes π -receptores (bpy e

phen) apresentam menores valores de constantes cinéticas que compostos coordenados aos ligantes σ ou π -doadores. O aumento do caráter π -receptor do ligante “L” diminui a densidade eletrônica do íon metálico Ru^{II} , aumentando a retro-doação, e consequentemente tornando-o mais eletrofílico, o que possibilita maior estabilidade termodinâmica da ligação com ligante Cl^- , que é uma base de Lewis dura. Como consequência, um maior caráter π -receptor do ligante L diminui a velocidade da substituição do ligante clorido (MUTUA, *et al.*, 2020; CHRZANOWSKA, *et al.*, 2018).

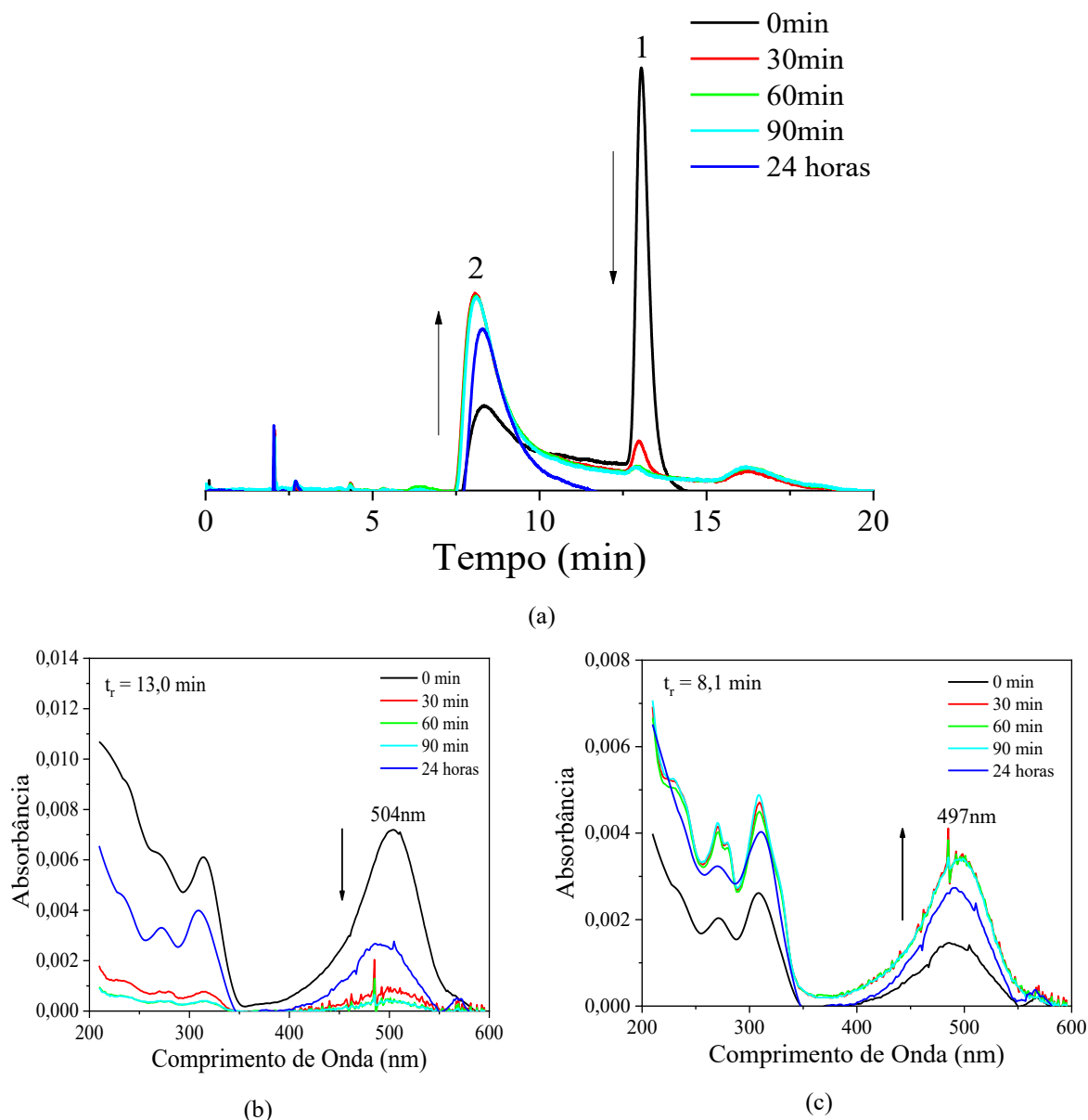
No trabalho atual, a presença do grupo carboxilato no ligante bdq estabiliza as ligações π conjugadas, conferindo um caráter mais π -receptor quando comparado ao ligante bd e, sendo assim, a cinética de aquação do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ é cerca de duas unidades maior quando comparada com o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$. Os cálculos teóricos acerca da constante cinética de aquação a 310,15 K em água foram obtidos para ambos os complexos, sendo k_{aq} teórica equivalente a $5,22 \times 10^{-4}$ e $3,72 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, respectivamente. Assim como observado experimentalmente, a reação de substituição é mais lenta para o complexo com ligante bdq que para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$.

Ainda assim, a compreensão da velocidade da reação deve considerar, além dos efeitos eletrônicos, o entendimento dos mecanismos de reação e da energia de ativação para alcançar o estado de transição do complexo. Os estudos termodinâmicos desse estado podem auxiliar nessa compreensão e serão discutidos no item 4.2.3.

4.2.2. Estudo da reação de aquação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A integração da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com outras técnicas aumentou a eficiência e a especificidade dos estudos de complexos, uma vez que a técnica permite a separação e identificação de misturas que contenham compostos estruturalmente similares, podendo ser aplicada no estudo da estabilidade dos compostos de coordenação (MEHANNA, *et al.*, 2020). Nesse sentido, as análises via CLAE foram realizadas em diferentes tempos de incubação para os clorido complexos em estudo. A Figura 23 apresenta os cromatogramas obtidos para solução do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$.

Figura 23. Cromatograma obtido para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (a). Composição da fase móvel: Tampão fosfato (pH = 6,95) a 0,1% de TFA:MeOH (75:25 v/v). Tempo após a dissolução do complexo: 0 min (—), 30 min (—), 60 min (—), 90 min (—) e 24 horas (—). T = 310,15 K. Espectros de absorção na região do UV-visível referente aos picos 1 (b) e 2 (c).



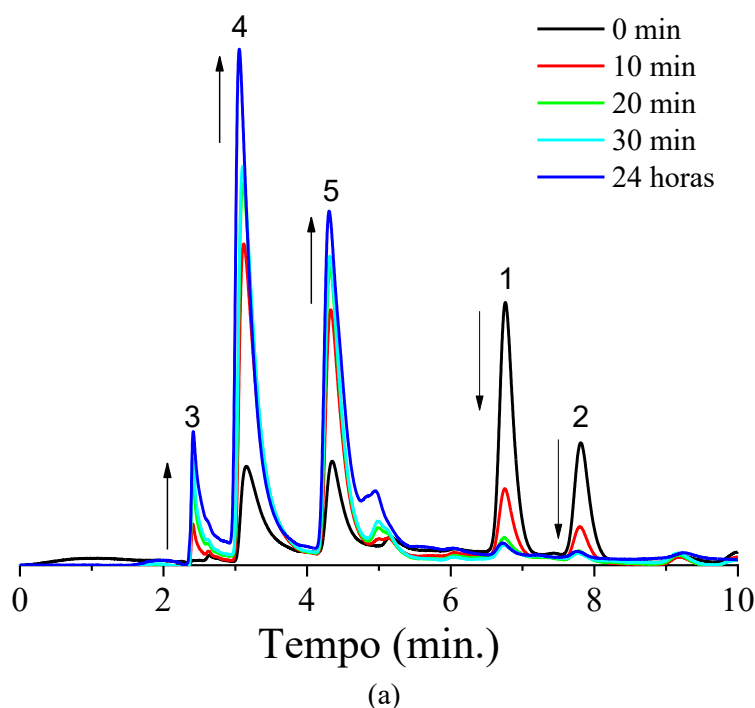
Fonte: Autora

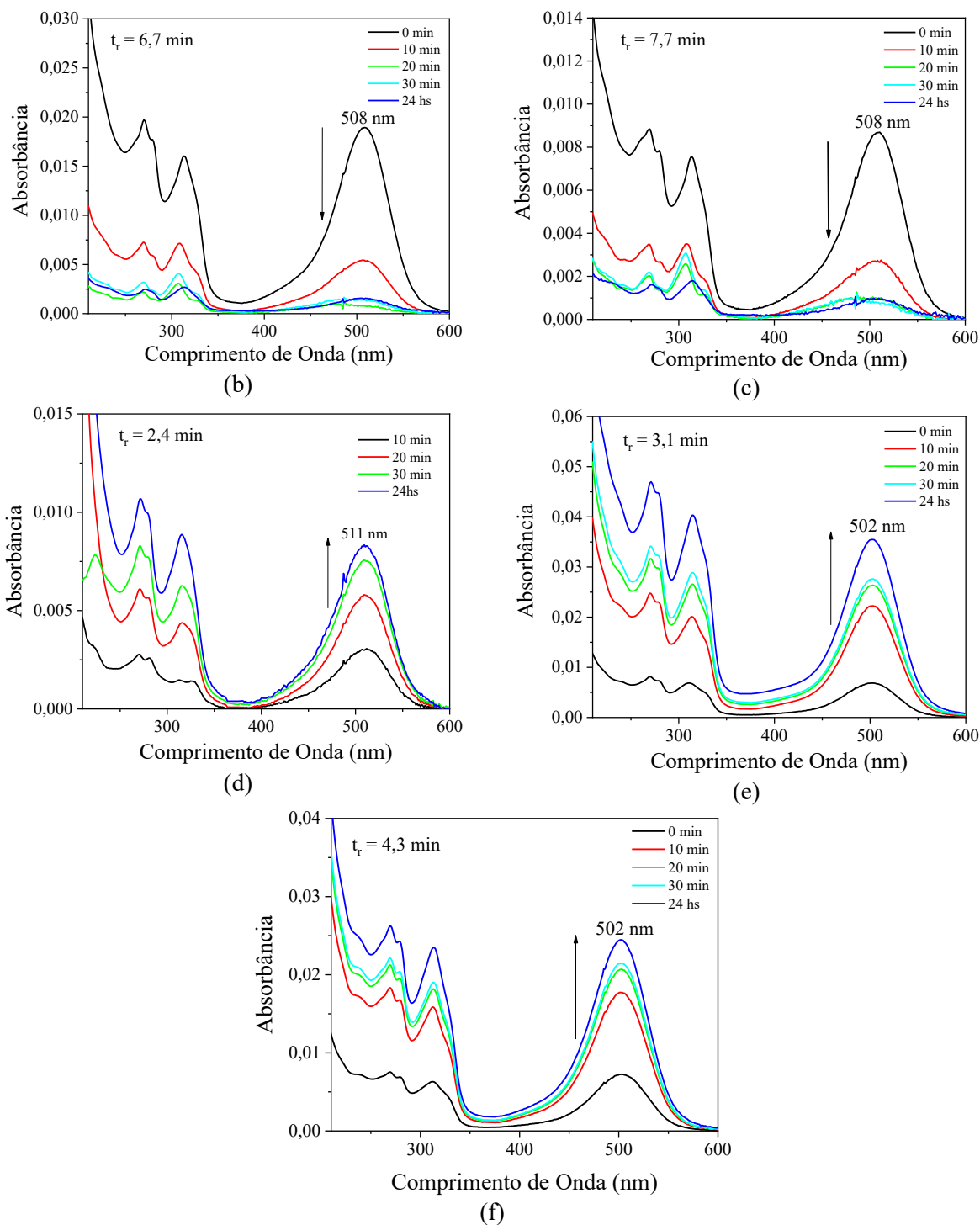
No primeiro instante, logo após a dissolução do complexo, o cromatograma referente ao complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ exibe um pico inicial com tempo de retenção (t_r) de 13,0 minutos. Após 30 minutos, observa-se uma redução na área desse pico (t_{r1}), acompanhada pelo surgimento de um novo pico com $t_{r2} = 8,1$ minutos. Esse comportamento persiste ao longo de 24 horas, período durante o qual o complexo permanece dissolvido na fase móvel.

A identificação das espécies correspondentes a cada pico foi realizada por meio de seus espectros eletrônicos na região do UV-vis., que exibiram perfis semelhantes aos descritos previamente para complexos com ligante bd (vide seção 4.1.5). Com base nos dados espectroscópicos e características dos complexos em estudo, o pico t_{r1} , cujo espectro apresenta uma banda TCML em 504 nm, corresponde ao clorido complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$. Já o pico t_{r2} , caracterizado por uma banda TCML em 497 nm foi atribuído à aqua espécie $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$. Isso indica que, com o decorrer do tempo, a concentração da espécie clorido diminui em solução, enquanto a concentração da espécie aqua aumenta.

A Figura 24 apresenta o cromatograma obtido para o complexo $[\text{RuCl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ e os respectivos espectros UV-vis. referente a cada pico.

Figura 24. Cromatograma obtido para o complexo $[\text{RuIICl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (a). Composição da fase móvel: Tampão fosfato (pH=6,95) a 0,1% de TFA:MeOH (75:25 v/v). Tempo após a dissolução do complexo: 0 min (—), 10 min (—), 20 min (—), 30 min (—) e 24 horas (—). $T = 310,15 \text{ K}$. Espectros de absorção na região do UV/Visível referente aos picos 1 (b), 2 (c), 3 (d), 4(e) e 5 (f).





Fonte: Autora

A análise cromatográfica do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ revelou, no tempo zero, a presença de dois picos com tempos de retenção de 6,78 minutos (t_{r1}) e 7,80 minutos (t_{r2}). Com o passar do tempo, as áreas desses picos diminuem, enquanto três novos picos aparecem com tempos de retenção de 2,4 minutos (t_{r3}), 3,06 minutos (t_{r4}) e 4,31 minutos (t_{r5}). Estes últimos

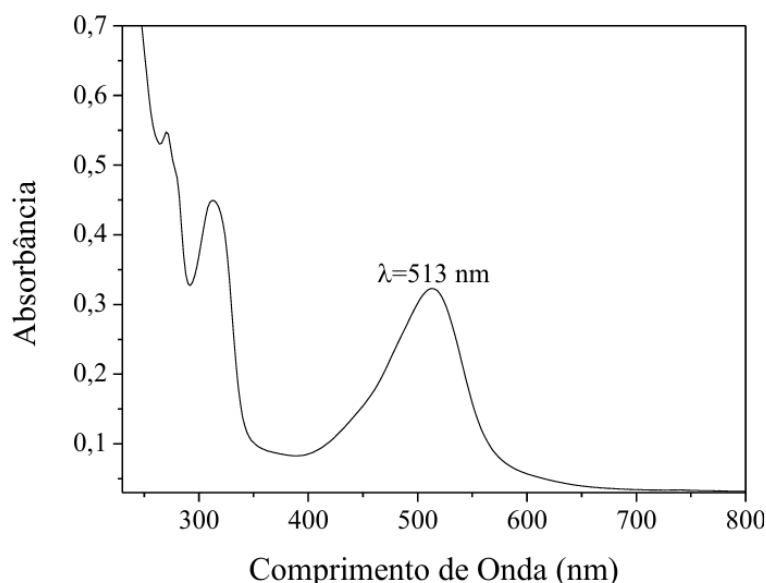
apresentam aumento de área ao longo do tempo, sugerindo transformações químicas progressivas no sistema.

Os espectros eletrônicos na região UV-vis. associados aos picos t_{r1} e t_{r2} exibem uma banda de transferência de carga metal-ligante (TCML) com máximo em 508 nm, identificando-os como isômeros de posição do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$. Por outro lado, os espectros correspondentes aos picos t_{r4} e t_{r5} apresentam uma banda TCML deslocada para 502 nm, sendo atribuídos aos isômeros da aqua espécie, $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$.

Essa interpretação considera as características espectroscópicas para complexos com ligante bdq descritas anteriormente (vide item 4.1.5.) e estudos anteriores, como os de Oliveira e colaboradores (2009), que descrevem a formação de isômeros de posição em complexos com ligante bdq, atribuída à posição do grupo carboxilato no ligante. Ainda, a observação de dois picos cromatográficos para os isômeros de posição foi registrada independentemente do ligante monodentado, como evidenciado em sistemas com ligantes NO^+ e NO_2^- , cujos perfis cromatográficos também exibem dois picos distintos (BESSAS, *et al.*, 2021; 2024).

O pico t_{r3} (2,4 minutos), ausente no tempo zero, surge após 10 minutos de dissolução do complexo e apresenta um espectro UV-vis. com banda TCML em 511 nm. Sugere-se que este pico corresponda à formação da espécie hidroxio $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH})(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ em solução, uma vez que a presença do ligante OH^- desloca a banca TCML para regiões mais energéticas quando comparada às espécies aqua e clorido (CHRZANOWSKA, *et al.*, 2017). Para exemplificação, a Figura 25 apresenta o espectro da espécie $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH})(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ em NaOH (0,1 mol L⁻¹).

Figura 25. Espectro eletrônico para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH})(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ em NaOH 0,1 mol L⁻¹.



Fonte: Autora

4.2.3. Determinação dos parâmetros de ativação para reação de aquação dos clorido complexos

A avaliação termodinâmica do estado de transição da reação de aquação apresentada na Figura 23 permite compreender o mecanismo e a energia de ativação envolvida no processo de substituição do ligante monodentado. Nesse sentido, constantes cinéticas de aquação (k_{aq}) foram determinadas em diferentes temperaturas para os complexos $[Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF_6$ e $[Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF_6$ como apresentado na Tabela 9. Nesse caso, considerou-se a reação somente na água como solvente.

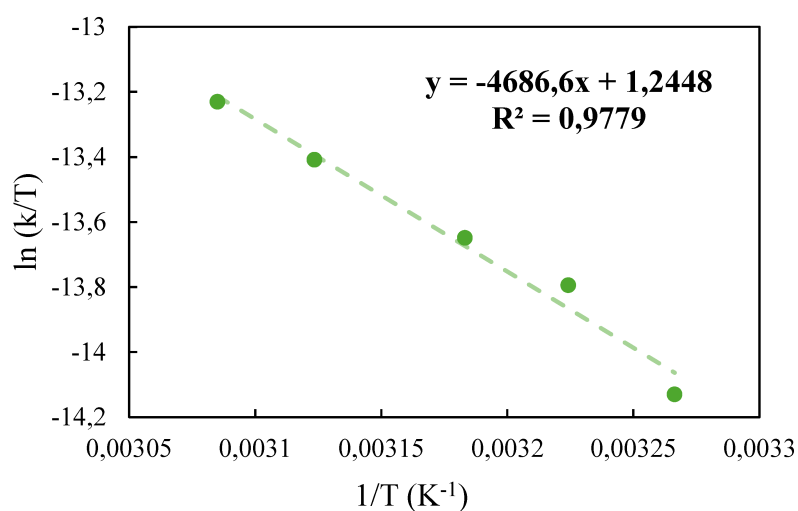
Tabela 9. Valores de constante cinética de aquação (k_{aq}) para os complexos $[Ru^{II}Cl(L)(tpy)]PF_6$, L= bd ou bdq, em diferentes temperaturas.

$[Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF_6$		$[Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF_6$	
Temperatura (K)	$k_{aq} (10^{-4} s^{-1})$	Temperatura (K)	$k_{aq} (10^{-4} s^{-1})$
306,15	2,24	296,15	0,67
310,15	3,14	303,15	0,91
314,15	3,71	310,15	1,40
320,15	4,80	317,15	1,87
324,15	5,82	324,15	2,23

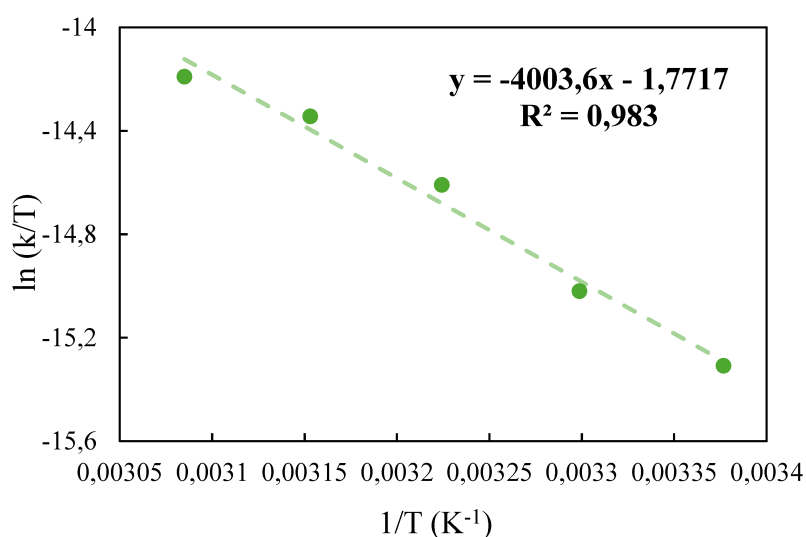
Fonte: Autora

As constantes cinéticas foram determinadas considerando a reação de aquação como pseudo-primeira ordem, obtendo uma relação linear entre os valores de $\ln (A_0/A)$ e a temperatura. Como observado na Tabela 10, os valores de constante cinética aumentam linearmente com a temperatura. Esse perfil permite considerar os parâmetros de ativação envolvidos na reação, segundo a Equação de Eyring (Equação 3), através da inclinação e da intersecção de gráfico de $\ln (k/T)$ em função de $1/T$, como mostra a Figura 26 (ATKINS, 2018).

Figura 26. Determinação dos parâmetros de ativação para reação de aquação nos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (a) e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (b) considerando a Equação de Eyring.



(a)



(b)

Fonte: Autora

Considerando as equações da reta obtidas, o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ apresentou valores termodinâmicos do estado de transição iguais a $\Delta H^\ddagger = 38,95 \text{ kJ mol}^{-1}$ e $\Delta S^\ddagger = -187,19 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$, enquanto para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, $\Delta H^\ddagger = 33,29 \text{ kJ mol}^{-1}$ e $\Delta S^\ddagger = -212,27 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$. Esses parâmetros indicam aspectos importantes do mecanismo de substituição envolvido. A entalpia de ativação ($\Delta H^\ddagger$) representa a energia necessária no rompimento ou formação de ligações para que o sistema alcance o estado de transição, enquanto a entropia de ativação ($\Delta S^\ddagger$) fornece informações sobre as mudanças de organização molecular durante esse processo. Os valores de $\Delta H^\ddagger$ observados indicam que a energia requerida para a

substituição é compatível com um mecanismo em que prevalecem a formação de ligações. Os valores negativos de $\Delta S^\ddagger$ sugerem um estado de transição mais organizado do que o estado inicial, típico de mecanismos de substituição associativos, onde o ligante de entrada contribui para uma maior organização do sistema ao estabilizar o estado de transição (MARTINEZ, *et al.*, 2021; ORTIZ, *et al.*, 2018; NOVALES, JONKHOFF & ACQUAYE, 2013).

A Tabela 10 apresenta uma série de complexos polipiridil de rutênio (II) que seguem um mecanismo associativo ao serem submetidos a reações de substituições nucleofílicas. Em todos os casos, os valores de $\Delta H^\ddagger$ apresentado pelos autores são maiores que zero, enquanto $\Delta S^\ddagger < 0$.

Tabela 10. Parâmetros de ativação para complexos polipiridil de rutênio (II) demonstrando um mecanismo associativo para substituição nucleofílica.

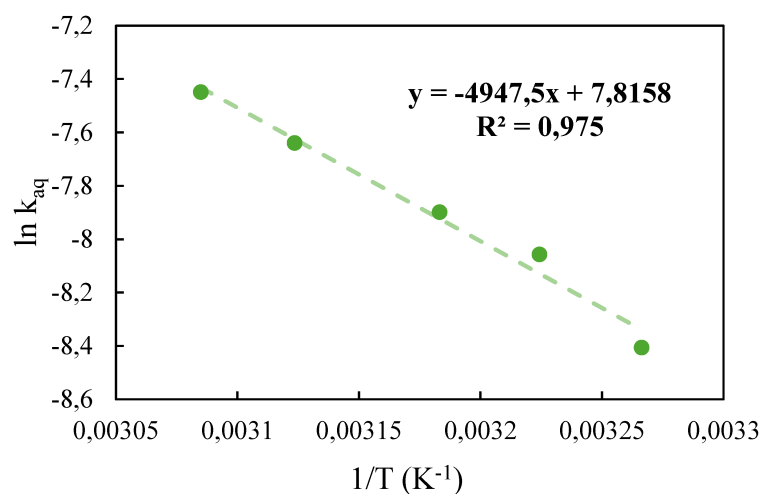
Complexos	$\Delta H^\ddagger$ (kJ mol ⁻¹)	$\Delta S^\ddagger$ (J K ⁻¹ mol ⁻¹)	Mecanismo
[Ru ^{II} Cl(bd)(tpy)]PF ₆	38,95	-187,19	Associativo
[Ru ^{II} Cl(bdq)(tpy)]PF ₆	33,29	-212,27	Associativo
^a [Ru(Cl-Ph-tpy)(dach)Cl]Cl	46 ± 6	-114 ± 18	Associativo
^b [Ru(tpy)(bpy)Cl] ⁺	-	-105 ± 5	Associativo
^c [(η ⁶ -Bip)Ru(en)Cl] ⁺	73,1 ± 0,6	-55,7 ± 2,0	Associativo

a: MILUTINOVIĆ, *et al.*, 2017; b: MIJATOVIC, *et al.*, 2013; c: WANG, *et al.*, 2003

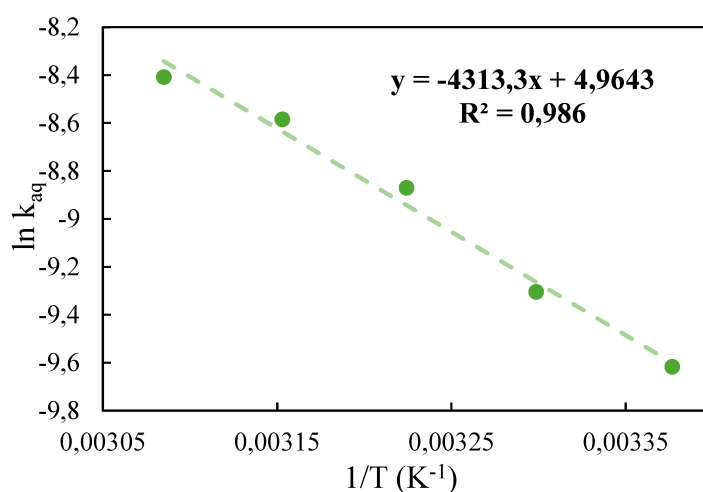
Fonte: Autora

Assim, o mecanismo de substituição do ligante clorido pelo ligante aqua para os complexos do tipo [Ru^{II}Cl(L)(tpy)]PF₆, L = bd ou bdq, pode ser interpretado como associativo. Nesse caso, o complexo adquire uma geometria heptacoordenada durante o estado de transição e ocasiona um aumento do seu número de coordenação de 6 para 7 (TOMA, 2013). A energia necessária para que o complexo alcance esse estado de transição é denominada de Energia de ativação (E_a) (ATKINS, 2018). Os valores de k_{aq} em diferentes temperaturas permitem a determinação da E_a a partir da Equação de Arrhenius (Equação 4). A Figura 27 apresenta os gráficos obtidos para determinação da E_a .

Figura 27. Determinação da energia de ativação para a reação de aquação nos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (a) e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (b) considerando a Equação de Arrhenius.



(a)



(b)

Fonte: Autora

A partir da inclinação da reta dos gráficos obtidos determinou-se os valores de E_a de 41,6 e 35,9 kJ mol^{-1} para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, respectivamente. Tais valores indicam que o complexo com o ligante bdq apresenta uma barreira energética menor para a reação de aquação (HAKKENNES, *et al.*, 2023). No contexto de um mecanismo associativo, a reação de aquação ocorre pela aproximação de uma molécula de água ao centro metálico do complexo, com a subsequente formação de um intermediário heptacoordenado. No caso do complexo com ligante bdq, a menor energia de ativação sugere que sua estrutura facilita a aproximação da molécula de água por estabilizar

eletronicamente o estado de transição. Por outro lado, o ligante bd, associado a uma maior E_a , pode apresentar maior densidade eletrônica, dificultando a formação do estado de transição (MILUTINOVIĆ, *et al.*, 2017).

Para auxiliar nessa interpretação, os valores de energia livre de ativação ($\Delta G^\ddagger$) obtidos teoricamente estão contidos na Tabela 11.

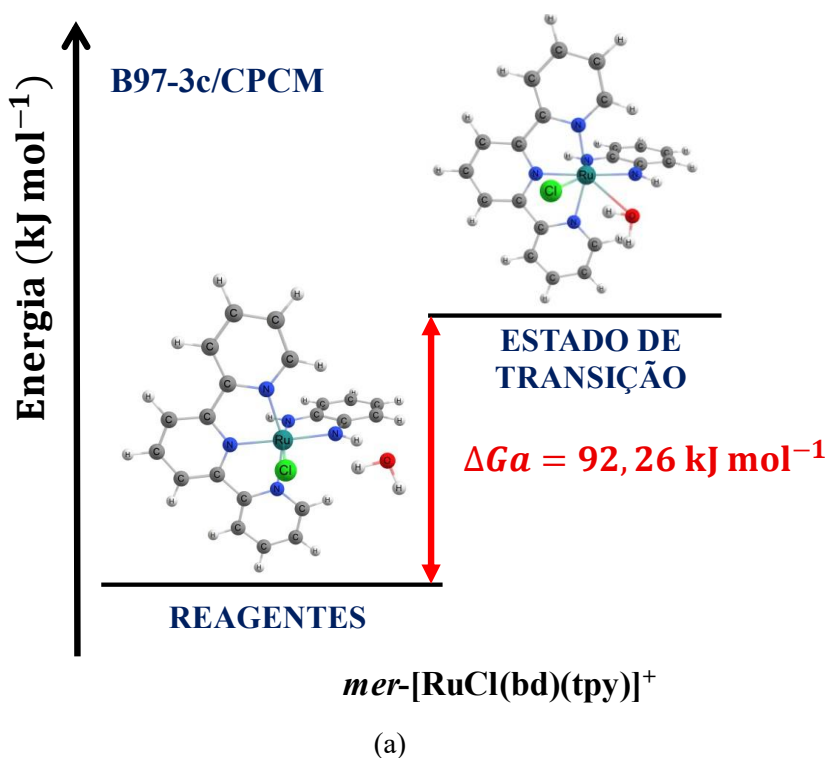
Tabela 11. Valores de energia livre de ativação obtidos por cálculo teórico no nível B97-3c/CPCM

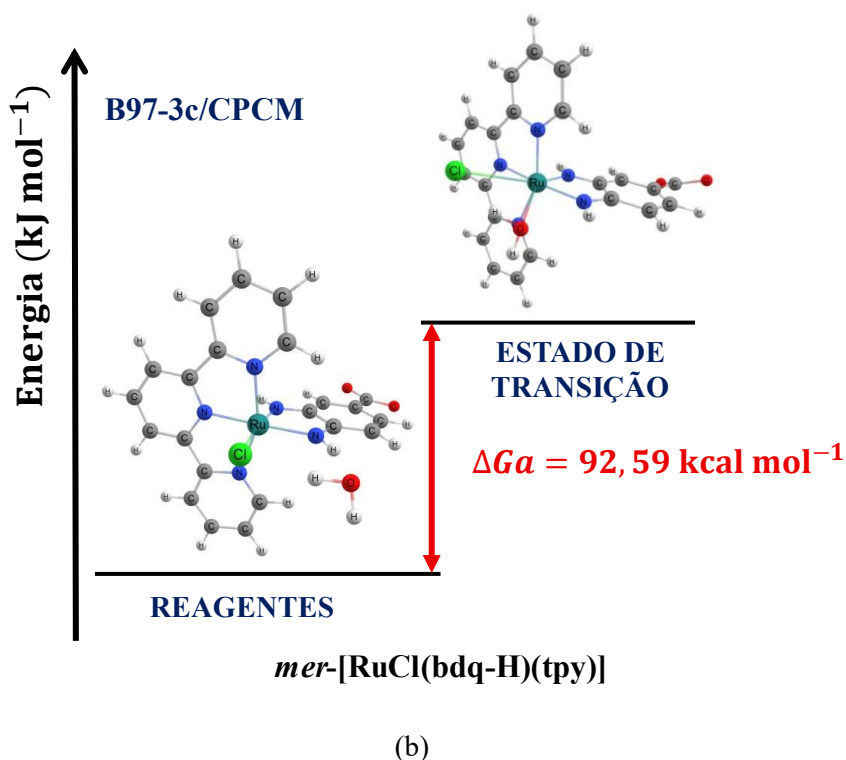
Complexo	$\Delta G^\ddagger$ (kJ mol ⁻¹)
<i>mer</i> -[Ru ^{II} Cl(bd)(tpy)]PF ₆	92,26
<i>mer</i> -[Ru ^{II} Cl(bdq)(tpy)]PF ₆	92,59

Fonte: Autora

A Figura 28 apresentam um esquema reacional que considera o mecanismo associativo e as respectivas barreiras energéticas para ambos os complexos, evidenciando a influência do substituinte carboxilato no ligante bdq e seus efeitos estéricos na formação do estado de transição.

Figura 28. Esquema reacional e energia de ativação para a reação de aquação do complexo [Ru^{II}Cl(L)(tpy)]PF₆ sendo L=bd (a) ou bdq (b).





Fonte: Autora

Assim, os resultados cinéticos e os parâmetros de ativação, tanto experimentais quanto teóricos, indicam que a reação de aquação ocorre predominantemente via um mecanismo associativo, sendo governada pelos complexos de isomeria *mer*. A cinética dessa reação é mais rápida para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, o que pode ser interpretado pelos efeitos estéricos e eletrônicos do ligante bd frente ao ligante bdq. A diferença de $5,7 \text{ kJ mol}^{-1}$ entre as energias de ativação dos dois complexos é significativa, considerando que pequenas variações nesses valores podem gerar impactos expressivos na velocidade da reação devido à relação exponencial descrita pela equação de Arrhenius. Esse resultado destaca a influência das propriedades dos ligantes na reatividade do complexo metálico, de maneira que os efeitos eletrônicos e estéricos dos ligantes bd e bdq tornaram-se fatores cruciais na modulação da cinética e do estado de transição da reação (HUANG, *et al.*, 2015; CHRZANOWSKA, *et al.*, 2017).

4.3. Determinação da lipofilicidade

O parâmetro $\log P_{\text{o/w}}$ é uma medida numérica utilizada para avaliar a lipofilicidade de um composto. Conforme descrito na Equação 5, esse parâmetro corresponde ao logaritmo da

razão entre as concentrações do composto na fase aquosa e na fase apolar (neste caso, *n*-octanol) em um sistema bifásico em equilíbrio (ČANOVIĆ, *et al.*, 2017).

Em estudos que consideram a aplicação de compostos em células, os valores de log P desempenham um papel crucial na avaliação da capacidade do composto de atravessar a membrana celular. Como a membrana é composta por uma bicamada fosfolipídica com uma região externa apolar, é necessário que o composto possua lipofilicidade adequada para atravessar essa barreira e desempenhar sua atividade biológica (DENG, *et al.*, 2017).

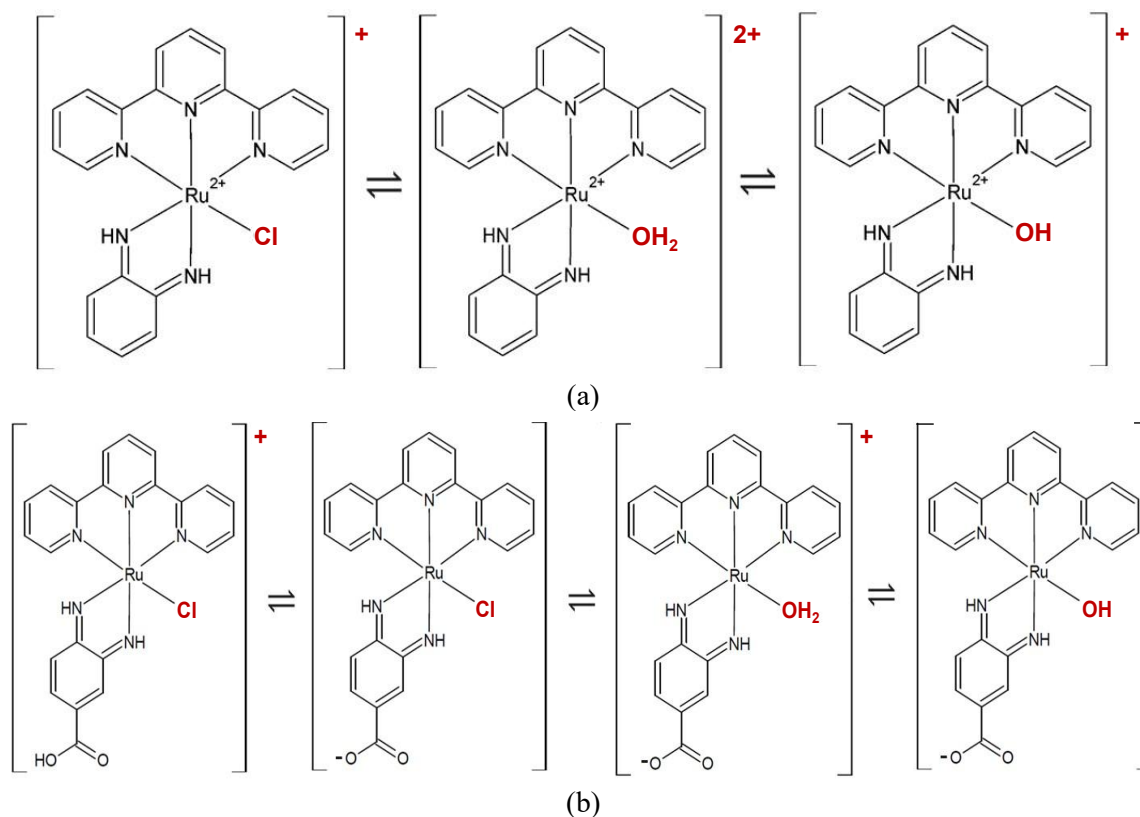
De acordo com a Equação 5, valores negativos de log $P_{o/w}$ indicam maior afinidade do composto pela fase aquosa, enquanto valores positivos denotam preferência pela fase orgânica (ANDRÉS, *et al.*, 2015). No trabalho atual, obteve-se log $P_{o/w}$ iguais a $-0,31$ e $-0,87$ para os complexos $[Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF_6$ e $[Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF_6$, respectivamente.

Em ambos os casos, os valores de log $P_{o/w}$ demonstram que os complexos apresentam maior afinidade pela fase aquosa, caracterizando-os como hidrofílicos (LAMEIJER, *et al.*, 2018). A presença do grupo carboxilato nos complexos com ligante bdq causa maior polaridade na molécula e, como esperado, os valores de log P apresentados indicam que os complexos $[Ru^{II}X(bdq)(tpy)]^{n+}$ são mais hidrofílicos, quando comparados aos complexos com ligante bd.

Embora a lipofilicidade seja um fator importante na absorção celular de complexos, compostos altamente carregados e hidrofílicos não são necessariamente impedidos de atravessar membranas celulares. Por exemplo, Poyton e colaboradores (2017) relataram a internalização bem-sucedida de um complexo tetraaniônico, contendo dois grupos de ácido sulfônico em cada um de seus três ligantes, apesar de sua baixa lipofilicidade. Lameijer e colaboradores (2017) também apresentam complexos do tipo $[Ru(L)(N-N)(tpy)]^{n+}$ com resultados promissores na absorção celular, apesar de sua elevada hidrofílicidade.

Além disso, é necessário considerar os resultados observados quanto a reatividade dos complexos em solução. A Figura 29 apresenta um esquema com as possíveis estruturas que esses complexos podem adotar a depender das condições de pH e concentração de íons cloreto. As consequentes variações na estrutura e na carga total da esfera de coordenação podem afetar tanto a interação com biomoléculas quanto a capacidade do composto em atravessar a camada fosfolipídica das células.

Figura 29. Esquema de possíveis estruturas para complexos do tipo $[\text{RuX}(\text{bd})(\text{tpy})]^{n+}$ (a) e $[\text{RuX}(\text{bdq})(\text{tpy})]^{n+}$ (b) ($\text{X} = \text{Cl}^-$, OH_2 e OH^-).



Fonte: Autora

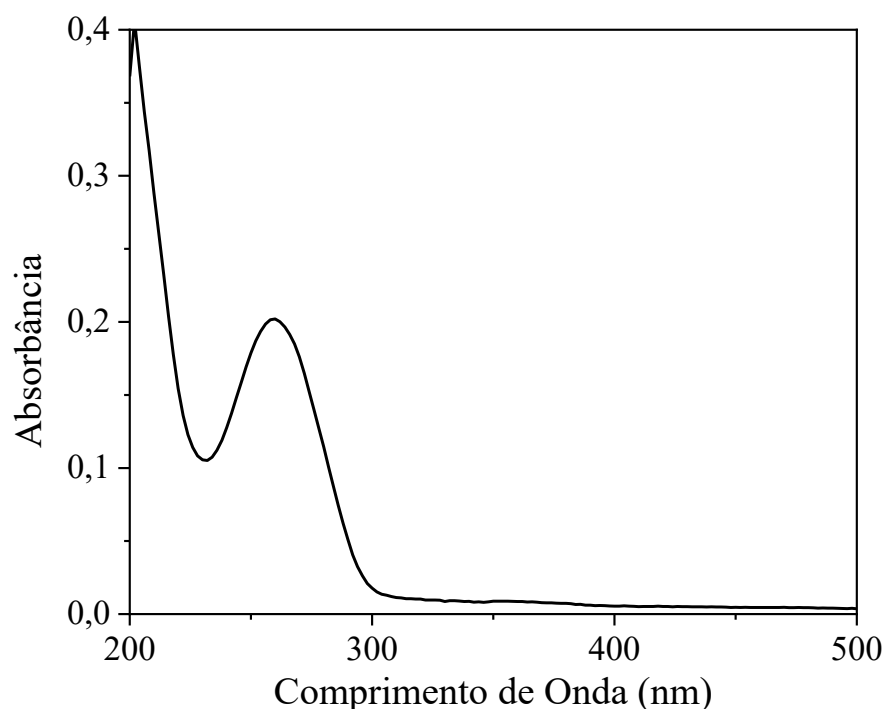
4.4. Determinação espectroscópica da interação entre os complexos de polipiridil de Ru(II) e a molécula de DNA

Nos diferentes modelos biológicos em que os complexos de rutênio são estudados, nota-se uma relação direta entre sua atividade biológica e sua capacidade de interagir com a molécula de DNA, uma vez que vários complexos demonstraram inibir a replicação dessa biomolécula. Os complexos polipiridil de Ru(II) apresentam uma geometria octaédrica, permitindo sua adaptação tridimensional na hélice do DNA e fornecendo diferentes possibilidades de interagir com a estrutura dessa macromolécula (BRABEC & KASPARKOVA, 2018; BRABEC & NOVAKOVA, 2006). Nesse trabalho, estudos espectroscópicos foram realizados a fim de compreender as interações estabelecidas entre os complexos e a biomolécula.

4.4.1. Estudo das interações entre *fs*-DNA e os complexos terpiridina de rutênio (II) via espectroscopia na região do UV-Visível

O espectro de absorção UV-vis. do DNA exibe uma banda larga na região do UV com um máximo observado em 260 nm ($\epsilon = 6600 \text{ mol cm}^{-1}$) (Figura 30). Esta banda é atribuída à transição eletrônica $\pi\text{-}\pi^*$ realizada pelos grupos cromóforos presentes nas bases nitrogenadas da estrutura do ácido desoxirribonucleico (RUIZ-GONZÁLES, 2011). Pequenas alterações no máximo de absorção, e consequentemente na absortividade molar, podem ocorrer quando a biomolécula é submetida a alterações de pH, temperatura e força iônica (SIRAJUDDIN, ALI & BADSHAH, 2013).

Figura 30. Espectro eletrônico para o DNA a $3,06 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão Tris.

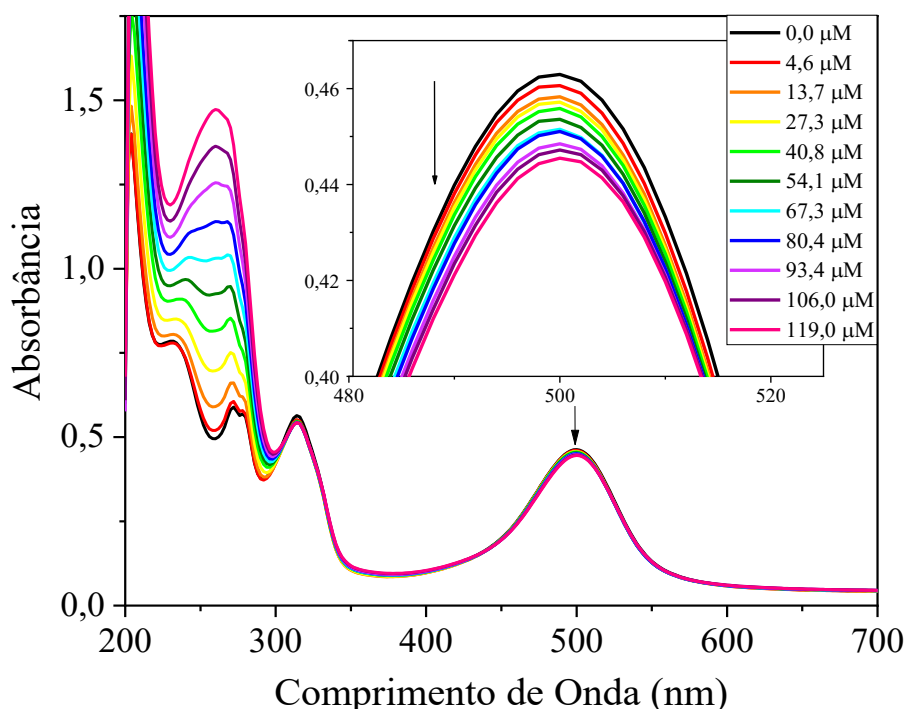


Fonte: Autora

Em cada análise envolvendo soluções de DNA, é fundamental realizar o teste de integridade. Este teste permite verificar se a biomolécula mantém sua estrutura de dupla hélice nas condições da solução e se a solução está livre de proteínas adicionais. A caracterização é feita com base na razão das absorbâncias em 260 e 280 nm (A_{260}/A_{280}). Sendo essa razão maior que 1,8, o DNA tem sua estrutura com dupla hélice mantida e não há proteínas livres na solução (RUIZ-GONZÁLES, 2011).

Considerando que tanto a biomolécula quanto os complexos polipiril de rutênio apresentam bandas de absorção na região UV-vis., a interação entre esses compostos e o DNA pode ser investigada por espectroscopia de absorção nessa faixa do espectro eletromagnético. O estudo consiste em monitorar alterações na intensidade e no deslocamento das bandas de absorção do complexo nas condições de ausência ($[\text{DNA}] = 0 \mu\text{mol L}^{-1}$) e presença de concentrações crescentes de DNA. As variações observadas podem indicar o modo de interação entre o complexo e o DNA, bem como a magnitude da força dessa interação. (SIRAJUDDIN, ALI & BADSHAH, 2013). A Figura 31 apresenta o espectro eletrônico para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ ($50 \mu\text{mol L}^{-1}$) na ausência e presença de *fs*-DNA ($0 - 119 \mu\text{mol L}^{-1}$).

Figura 31. Espectro eletrônico na região do UV-visível do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ ($50 \mu\text{mol L}^{-1}$) em ausência (-) e presença de concentração crescente de *fs*-DNA com 5 minutos de incubação a 310,15 K. Insert: banda TCML do complexo em 500 nm evidenciando o efeito hipocrômico.



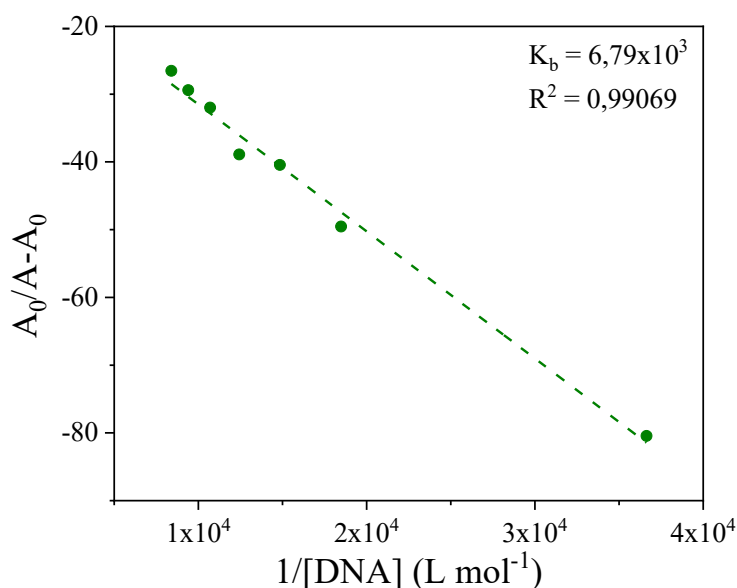
Fonte: Autora

As mudanças espectrais observadas na faixa de 200 a 350 nm podem ser atribuídas ao aumento da concentração de DNA na solução, uma vez que essa biomolécula apresenta absorção característica nessa região (Figura 30). Nota-se, porém, na banda em 502 nm, correspondente à transição TCML do complexo clorido, uma diminuição da absorbância com o aumento da concentração de DNA. Esse efeito, conhecido como hipocromismo, é um

indicativo de interações por intercalação entre o complexo e a biomolécula. Nesse processo, os ligantes planares do complexo se inserem entre as bases nitrogenadas do DNA, promovendo um empilhamento π - π entre as estruturas. Esse tipo de interação contribui para a estabilidade do sistema, resultando no efeito hipocrômico observado (REHMAN, *et al.*, 2015).

Para compreender a dimensão da interação entre o ácido nucleico e o complexo, determinou-se a constante de interação (K_b). A constante foi calculada a partir da Equação de Benesi-Hildebrand (1949) (Equação 6), obtendo um gráfico de $A_0/A-A_0$ em função de $1/[DNA]$, sendo a razão entre o coeficiente linear e o angular desse gráfico a constante de interação entre complexo e DNA. A Figura 32 apresenta o gráfico obtido. Para o complexo $[Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF_6$ o experimento proposto não apresentou reprodutibilidade, não sendo possível a análise do espectro UV/Vis. do complexo na ausência e presença de DNA, bem como a obtenção de K_b .

Figura 32. Obtenção da constante de interação (K_b) entre o DNA e o complexo $[Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF_6$.



Fonte: Autora

O complexo $[Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF_6$ apresentou K_b equivalente a $(6,69 \pm 0,56) \times 10^3 \text{ L mol}^{-1}$, enquanto complexos com estrutura semelhante retratados na literatura apresentaram K_b entre 10^3 e 10^6 L mol^{-1} . Nos estudos de Međedović e colaboradores (2023) para o complexo $[Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]Cl$, a constante de interação apresentada equivale a $(2,3 \pm 0,2) \times 10^4 \text{ L mol}^{-1}$. Nesse caso, porém, os autores realizaram-se os estudos em tampão PBS e solução de *ct*-DNA (DNA de timo de bezerro).

Cheng, *et al.*, 2013, investigaram a interação do DNA com complexos do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{X}(\text{N}-\text{N})(\text{tpy})]^{n+}$ (sendo $\text{X} = \text{Cl}^-$ e OH_2 , $\text{N}-\text{N} = \text{bpy}$, *tmefeno*, *tmen*, *bipbpy* e *dppz*). Nesse caso, a intensidade da interação seguiu a ordem: $[\text{Ru}(\text{tpy})(\text{bipbpy})(\text{OH}_2)]^{2+} > [\text{Ru}(\text{tpy})(\text{tmephen})(\text{OH}_2)]^{2+} > [\text{Ru}(\text{tpy})(\text{bpy})(\text{OH}_2)]^{2+} > [\text{Ru}(\text{tpy})(\text{tmen})(\text{OH}_2)]^{2+} > [\text{Ru}(\text{tpy})(\text{bpy})\text{Cl}]^+ > [\text{Ru}(\text{tpy})(\text{dppz})(\text{OH}_2)]^{2+}$. Devido à influência *trans* dos grupos doadores de elétrons, houve predominância na formação de adutos de Ru-DNA, ligando-se covalentemente principalmente na guanina.

Chao, *et al.*, 2002, em contrapartida, observaram que complexos terpiridínicos fenil-substituídos apresentaram modos de ligação covalente e combinação da ligação covalente e intercalação, com K_b variando entre 0,25 a $1,62 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$. Os estudos destacaram a influência da planaridade do ligante na afinidade ao DNA: ligantes mais planos (ex.: *ptp* = 3-(1,10-fenantolina-2-il)-as-triazino[5,6-f]fenantreno e *ptan* = 3-(1,10-fenantolina-2-il)-as-triazino[5,6-f]acenaftileno) exibiram maior força de interação do que aqueles estericamente impedidos, como *dppt* = 3-(1,10-fenantolina-2-il)-5,6-difenil-as-triazina).

Um dos fatores preponderantes na força da interação de complexos de rutênio terpiridina, referem-se a planaridade dos co-ligantes. Os complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{Cl-Ph-tpy})(\text{opda})\text{Cl}]^+$ e $[\text{Ru}(\text{Cl-Ph-tpy})(\text{en})\text{Cl}]^+$, onde $\text{Cl-Ph-tpy} = 4'-(4\text{-clorofenil})-2,2':6',2''$ terpiridina, *opda* = *o*-fenilenodiamina e *en* = etilenodiamina, apresentam $K_b = 3,0 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1}$ e $1,0 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1}$, respectivamente. O co-ligante *Cl-Ph-tpy* apresenta potencial comportamento de intercalação na interação com DNA e os co-ligantes quelantes *opda* e *en* mostram que a capacidade de formar ligações de hidrogênio estabilizam e fortalecem o aduto DNA-complexo (SIMOVIC, *et al.*, 2019).

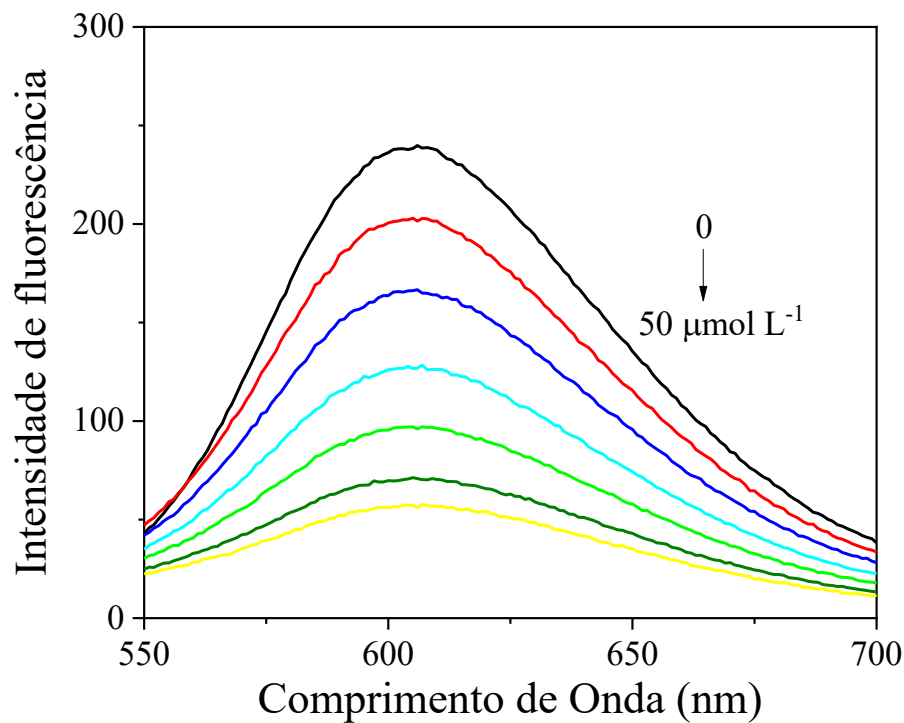
Nesse sentido, ainda que a ligação covalente seja uma possibilidade para interação entre o DNA e os complexos desse trabalho, acredita-se que há predominância da interação intercalativa, devido ao comportamento observado nos estudos via UV-vis., bem como da comparação bibliográfica realizada anteriormente. Além disso, nota-se a influência do ligante bidentado na presença e na intensidade de interação entre os compostos e a biomolécula, uma vez que para o complexo com ligante *bdq* não foi possível identificar a interação através da técnica presente. Considerando tais possibilidades, realizou-se o estudo de competição com brometo de etídio, um clássico intercalante, através da espectroscopia de fluorescência.

4.4.2. Análise de deslocamento de brometo de etídio (BE) por espectroscopia de fluorescência

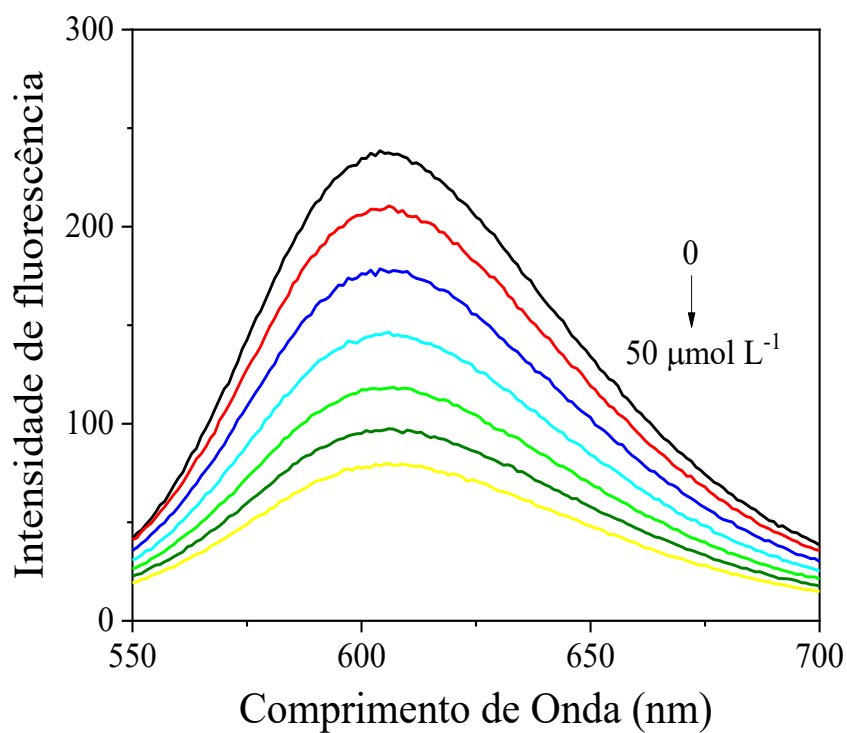
As interações entre complexos e DNA podem ser analisadas por espectroscopia de fluorescência, utilizando o brometo de etídio (BE) como fluoróforo. Devido à sua estrutura molecular, o BE atua como agente intercalante, inserindo-se entre as bases nitrogenadas do DNA e quando o aduto BE-DNA é excitado em 526 nm, ocorre emissão de fluorescência. A intensidade dessa fluorescência pode ser reduzida pela adição de uma segunda molécula, caso esta interaja com o DNA pelo mesmo mecanismo que o BE. Em situações de intercalação, a segunda molécula compete com o BE pelos sítios intercalantes no DNA, resultando na supressão da fluorescência (SIRAJUDDIN, ALI & BADSHAH, 2013). Por outro lado, a ausência de alterações espectrais sugere que a segunda molécula não interage com o DNA via intercalação ou que nenhuma interação significativa ocorre entre as espécies (REHMAN, *et al.*, 2015).

A Figura 33 apresenta o espectro de excitação do aduto BE-*fs*-DNA na ausência e na presença de concentrações crescentes dos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$.

Figura 33. Espectro de emissão para o sistema brometo de etídio e fs-DNA na ausência (—) e presença do complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (a) e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (b) a 3 (—), 10 (—), 20 (—), 30 (—), 40 (—), e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (—). $\lambda_{\text{ex}}=526 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{em}}=605 \text{ nm}$. Janelas 5/10. T = 310,15 K.



(a)

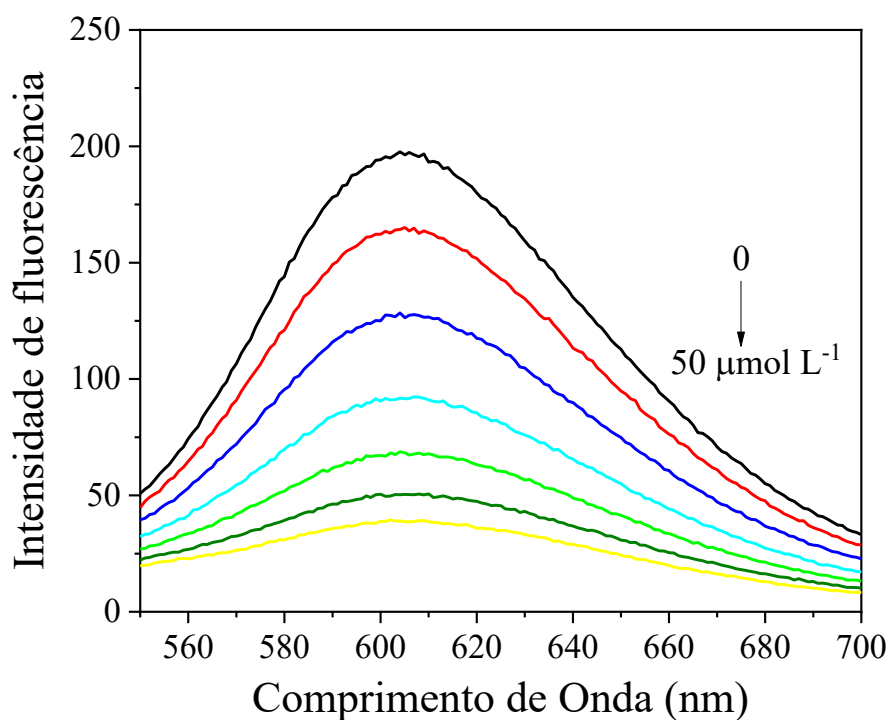


(b)

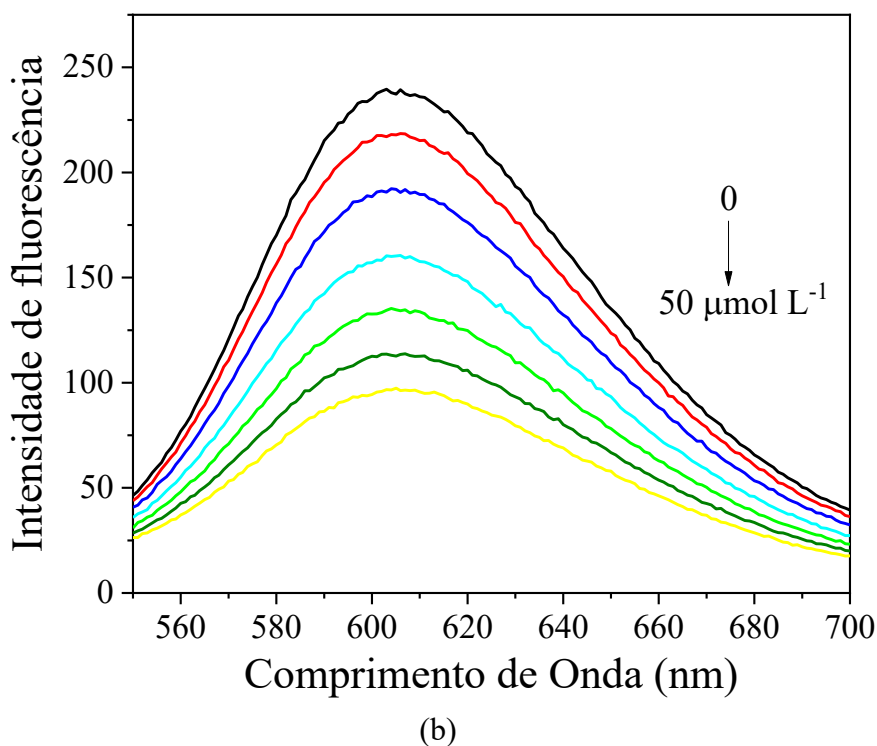
Em ambos os casos, observou-se uma diminuição progressiva na fluorescência do aduto BE-DNA à medida que a concentração do complexo aumentava em solução. Esse comportamento sugere que ambos os complexos têm a capacidade de interagir com a molécula de DNA por meio do mecanismo de intercalação, o que é explicado pela presença de anéis aromáticos com geometria planar, tanto na estrutura da terpiridina quanto nos ligantes bd e bdq, que favorecem a inserção entre as bases nitrogenadas da dupla hélice do DNA (ZHANG, *et al.*, 2025).

Com o objetivo de avaliar se as espécies aqua possuem tendência a atuar como agentes intercalantes ou se a substituição pelo ligante OH₂ favorece outros tipos de interação, realizou-se o mesmo estudo após incubar as soluções dos complexos por 24 horas, assegurando a completa aquação dos complexos clorido. A Figura 34 apresenta os resultados obtidos para o aduto DNA-EB na presença dos complexos [Ru(H₂O)(bd)(tpy)](PF₆)₂ e [Ru(H₂O)(bdq)(tpy)](PF₆)₂.

Figura 34. Espectro de emissão para o sistema brometo de etídio e *fs*-DNA na ausência (–) e presença do complexo [Ru^{II}(H₂O)(bd)(tpy)](PF₆)₂ (a) e [Ru^{II}(H₂O)(bdq)(tpy)](PF₆)₂ (b) a 3(–), 10 (–), 20 (–), 30 (–), 40 (–) e 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (–). $\lambda_{\text{ex}}=526\text{ nm}$ e $\lambda_{\text{em}}=605\text{ nm}$. Janelas 5/10. T = 310,15 K.



(a)



Fonte: Autora

Também nesse caso, a presença das espécies aqua no sistema DNA-EB promove a diminuição da fluorescência, indicando que os compostos também atuam como intercalantes na sua forma aqua. A magnitude dessa supressão de fluorescência pode ser usada para compreender a intensidade da intercalação entre o complexo e o DNA (REHMAN, *et al.*, 2015). Esse efeito de supressão é, na maioria dos casos, ajustado à equação de Stern-Volmer (GEHLEN, 2020). Assim, para dimensionar essa interação intercalativa, determinou-se os valores de K_{SV} (Anexos G e H) e K_{app} , que são definidos como mostram as Equações 7 e 8, respectivamente. Os valores de F_0 e F foram corrigidos, considerando-se o Efeito do Filtro Interno (EFI), utilizando-se a Equação 10.

$$F_{Cor} = F_{Obs} \times \frac{2,3dA_{exc}}{1-10^{-dA_{exc}}} 10^{gA_{em}} \frac{2,3sA_{em}}{1-10^{-sA_{em}}} \quad (\text{Equação 10})$$

Para comparação, a Tabela 12 reúne os dados K_{SV} e K_{app} obtidos para os complexos em estudo nas formas clorido e aqua.

Tabela 12. Valores de K_{SV} e K_{app} obtidos para os complexos $[Ru^{II}X(L)(tpy)]^{n+}$ ($X = Cl^-$ ou OH_2 , $L=bd$ ou bdq) em tampão Tris, $T=298$, 15 K .

Complexo	$K_{SV} (10^4 \text{ L mol}^{-1})$	$K_{app} (10^6 \text{ L mol}^{-1})$
$[Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF_6$	$3,58 \pm 0,27$	$2,39 \pm 0,11$
$[Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF_6$	$2,20 \pm 0,22$	$1,33 \pm 0,33$
$[Ru(OH_2)(bd)(tpy)](PF_6)_2$	$4,01 \pm 0,35$	$3,06 \pm 0,28$
$[Ru(OH_2)(bdq)(tpy)](PF_6)_2$	$1,88 \pm 0,06$	$1,64 \pm 0,03$

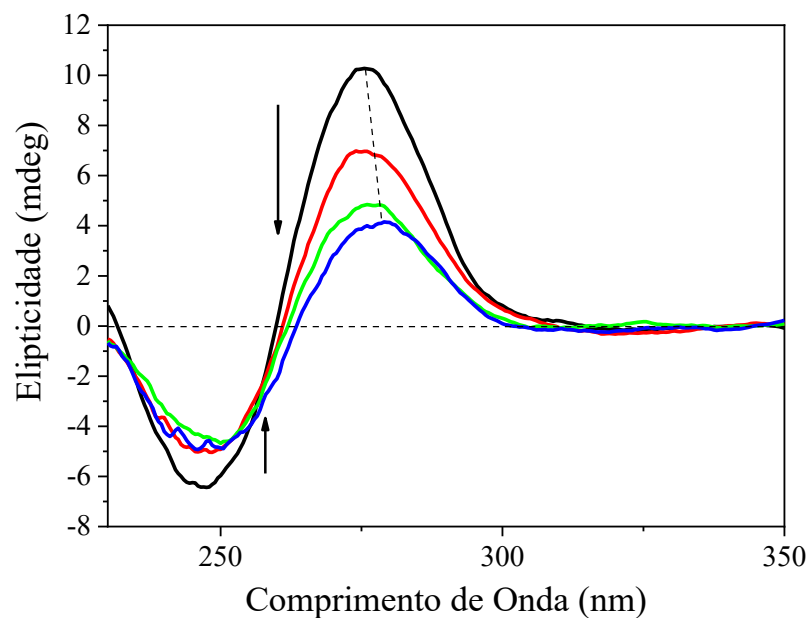
Fonte: Autora

Os valores de K_{SV} e K_{app} obtidos indicam que a interação do complexo $[Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF_6$ com o DNA é aproximadamente duas vezes maior do que a intercalação observada para o complexo $[Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF_6$. Para fins de comparação, os intercaladores clássicos apresentam valores de K_{app} na ordem de 10^7 L mol^{-1} (DENG, *et al.*, 2018). Além disso, as constantes evidenciam que mesmo as espécies aqua têm tendência a atuar como intercalantes entre as bases nitrogenadas do DNA. A pequena diferença entre os valores de K_{SV} e K_{app} das espécies aqua e clorido sugere que, em ambos os experimentos, ocorre uma mistura de espécies em solução. Esse comportamento pode ser atribuído à conversão espontânea dos complexos clorido em suas respectivas espécies aqua ao longo do experimento, refletindo o equilíbrio químico presente no sistema.

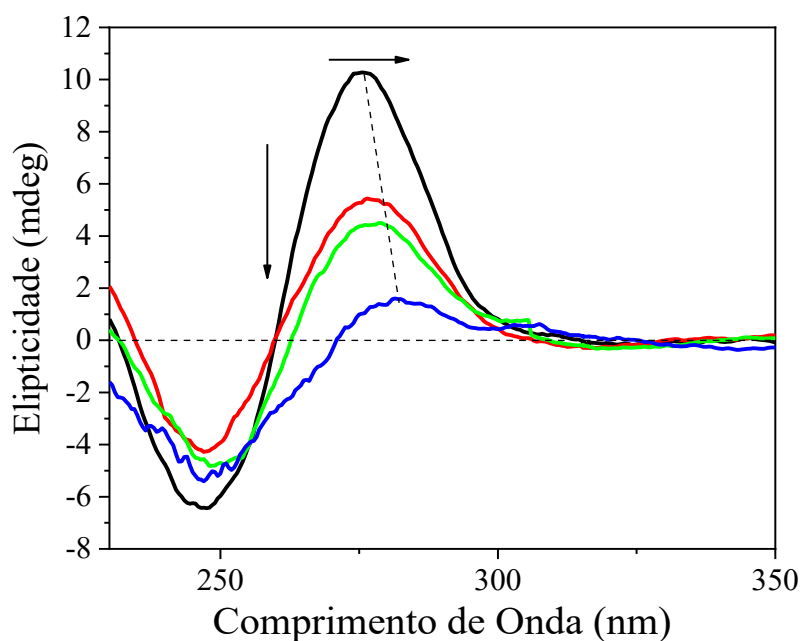
4.4.3. Espectroscopia de dicroísmo circular

A espectroscopia de dicroísmo circular (CD, do inglês Circular Dichroism) é amplamente utilizada em estudos de interação entre complexos e DNA, devido à sua capacidade de detectar alterações na estrutura helicoidal da biomolécula. Nos espectros de *fs*-DNA livre, duas bandas características são observadas: uma banda negativa, entre 240 e 245 nm (banda B), associada à helicidade do DNA, e uma banda positiva, entre 270 e 275 nm (banda Z), relacionada ao empilhamento (π -stacking) dos pares de bases nitrogenadas. Alterações na intensidade ou deslocamento dessas bandas indicam possíveis mudanças conformacionais na estrutura do DNA, revelando a natureza das interações entre a biomolécula e os complexos estudados. (KELLET, *et al.*, 2019; FIGUEROA-DEPAZ, *et al.*, 2022). A Figura 35 apresenta o espectro CD do *fs*-DNA na ausência e presença do complexo $[RuCl(bd)(tpy)]PF_6$ e sua respectiva aqua espécie.

Figura 35. Espectro de dicroísmo circular para o *fs*-DNA ($250 \mu\text{mol L}^{-1}$) em tampão Tris (pH=7,4) em ausência (—) e presença de 25 (—), $62,5$ (—) e $87,5$ (—) $\mu\text{mol L}^{-1}$ de $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (a) e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (b).



(a)



(b)

Fonte: Autora

No espectro de dicroísmo circular do *fs*-DNA, a presença do complexo clorido $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ resulta em uma diminuição de 61,6% na intensidade da banda positiva, acompanhada por um deslocamento batocrômico (de 275 nm para 278 nm) conforme a razão

complexo:DNA diminui em solução. Por outro lado, a banda negativa permanece inalterada, indicando que não houve mudanças na helicidade do DNA. Um comportamento similar é observado no espectro CD obtido com o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$. É importante destacar que, como as soluções dos complexos foram incubadas por 1 hora antes da realização do experimento, é provável que, durante a análise com o complexo clorido, a conversão para a espécie aqua tenha predominado. Isso justifica a semelhança dos resultados entre as duas espécies, já que ambas parecem interagir com o DNA de maneira comparável.

A diminuição da intensidade da banda positiva e o deslocamento batocrômico observados indicam que a interação dos complexos com o DNA afeta o empilhamento π -stacking entre as bases nitrogenadas, refletindo alterações conformacionais locais no polinucleotídeo. No entanto, a ausência de alterações na banda negativa sugere que a helicidade global da molécula não é comprometida. Esses achados reforçam a hipótese de que os complexos atuam como agentes intercalantes, inserindo-se entre as bases do DNA sem causar uma perturbação significativa na estrutura helicoidal da molécula (CHEN, *et al.*, 2008; HE, *et al.*, 2009).

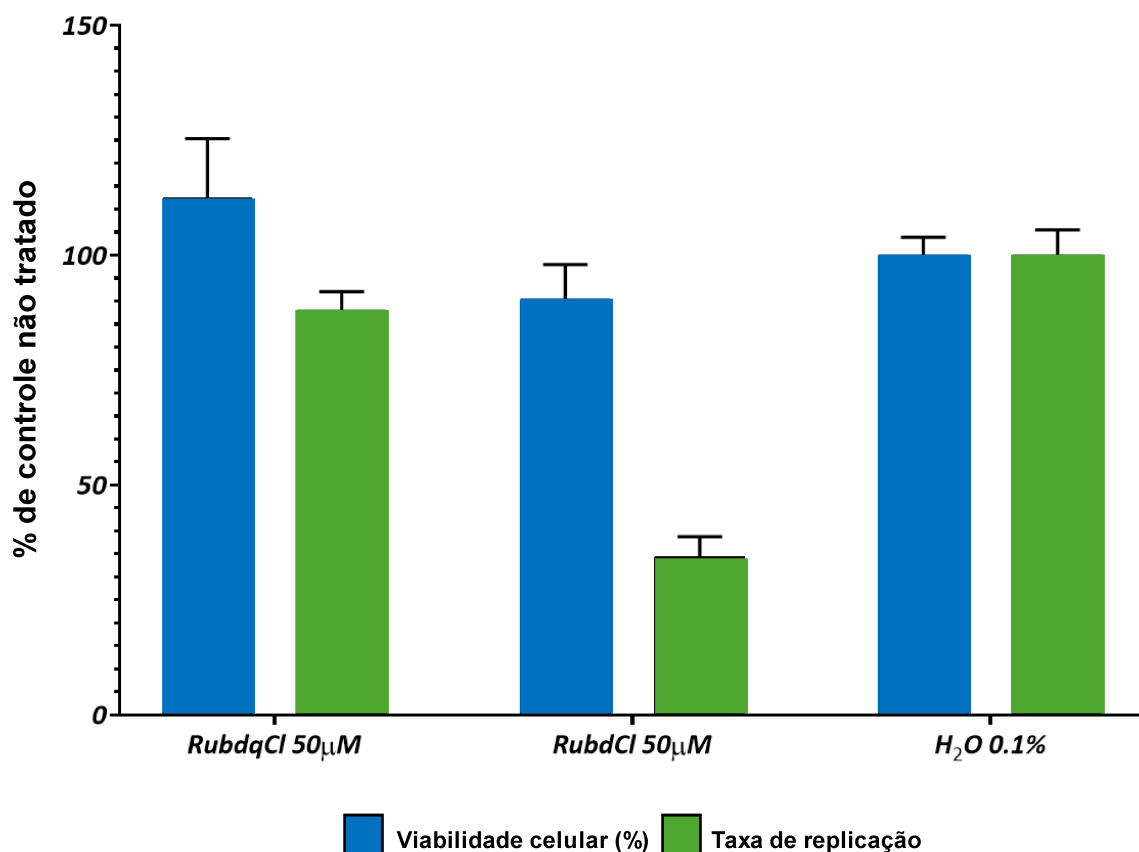
4.5. Atividade antiviral de compostos de rutênio na replicação do Zika Vírus (ZIKV) e Chikungunha (CHIKV)

Nos estudos que envolvem a atividade antiviral é necessária a avaliação do efeito citotóxico na célula hospedeira. A viabilidade celular dos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, foram realizadas em células Vero E6 em concentrações de 50, 10 e 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Após 72 horas de incubação, a viabilidade celular foi analisada pelo ensaio MTT, utilizando H_2O como controle negativo, solvente em que os complexos foram dissolvidos previamente. Obtiveram-se resultados de viabilidade celular acima de 80% em todas as concentrações testadas, para ambos os complexos, indicando baixa citotoxicidade nas condições de estudo.

A atividade antiviral dos complexos foi investigada contra os vírus Zika e Chikungunha, empregando células Vero E6 infectadas e tratadas com a concentração mais alta não citotóxica de cada composto. Após 72 horas de incubação, as células foram submetidas ao ensaio de imunofluorescência. O complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ na concentração de 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ inibiu 56% da infecção por ZIKV, enquanto $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ apresentou uma inibição de apenas 14,1%, na mesma concentração. Para o vírus CHIKV, o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (2 $\mu\text{mol L}^{-1}$) apresentou uma inibição de 10,4%, enquanto $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ não mostrou efeito

inibitório. A Figura 36 apresenta a relação da viabilidade celular e da infectividade do Zika vírus para cada complexo.

Figura 36. Efeito dos complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{L})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, $\text{L} = \text{bd}$ e bdq , na viabilidade de células Vero E6 e infectividade do vírus ZIKV.



Fonte: Autora

As porcentagens inibitórias para os vírus Zika e Chicungunha, bem como a relação entre a viabilidade celular e a infectividade do ZIKV (Figura 36) indicam que o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ apresenta melhor ação antiviral em relação ao complexo com ligante bdq para ambos os vírus. É importante salientar, com base nos resultados de cinética de aquação, que a porcentagem inibitória de reprodução viral deve referir-se as aqua espécies dos complexos, uma vez que os ensaios de atividade antiviral foram realizados após 72 horas de incubação.

Como apresentado no item 1.2.1., o mecanismo antiviral dos compostos depende da interrupção de uma ou mais etapas no ciclo de replicação do vírus (Aires, *et al.*, 2022). Os resultados de porcentagem inibitória, entretanto, não apontam o mecanismo executado pelo complexo, evidenciando somente a inibição de sua replicação viral. Até o momento, poucos

estudos investigaram detalhadamente o mecanismo molecular responsável pela atividade antiviral de complexos metálicos em doenças virais, sendo essas análises ainda mais limitadas quando se trata de vírus tropicais negligenciados. De forma geral, considerando que os núcleos metálicos possuem características de ácido de Lewis, os compostos de coordenação podem interagir com bases de Lewis frequentemente presentes em biomoléculas, como DNA e RNA (por exemplo, o nitrogênio das nucleobases), bem como em peptídeos e proteínas (por exemplo, aminoácidos como histidina, tirosina e cisteína), comprometendo suas funções biomoleculares. Além disso, outras formas de interferência podem ocorrer por meio de interações não covalentes entre os complexos de coordenação e o conteúdo biomolecular do vírus ou do hospedeiro, como interações eletrostáticas entre complexos catiônicos e biomoléculas de carga negativa. A conversão catalítica, levando à inativação de moléculas essenciais para a replicação viral, também é um processo possível e tem sido objeto de estudos aprofundados (REZENDE, et al., 2024).

No trabalho de Jardim e colaboradores, o complexo organometálico $[\text{Ru}_2\text{Cl}_4(p\text{-cymeno})_2]$ inibiu a replicação viral CHIKV em 77% com índice de seletividade (IS) = 40. O mecanismo de ação foi proposto através de estudo de docking molecular que sugere que o organometálico $[\text{Ru}_2\text{Cl}_4(p\text{-cymeno})_2]$ apresenta diferentes interações entre seus anéis aromáticos e a alça de aminoácidos de a glicoproteína E2, principalmente através de interações hidrofóbicas e um empilhamento pi-pi (de OLIVEIRA, et al., 2020).

No tratamento da infecção por CHIKV com complexos de ouro, Abbehausen e colaboradores demonstraram que os complexos $[\text{AuCl}(\text{PPh}_3)]$ ($\log P_{o/w} = 1,13$) e $[\text{Au}(1,3\text{-Bis(mesitil)imidazol})(\text{PPh}_3)]^+$ ($\log P_{o/w} = 1,87$) são mais lipofílicos, refletindo que uma maior absorção celular poderia permitir novas interações com biomoléculas do CHIKV durante a replicação viral e, portanto, um aumento inibição do CHIKV (AIRES, et al., 2022). Complexos de rutênio doadores de óxido nítrico foram estudados quanto a infectividade do ZIKV e CHIKV. Os complexos do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{X})(\text{bd})\text{tpy}]^{n+}$, de $\text{X} = \text{NO}^+$ e NO_2^- , apresentaram IS de 24,8 e 14,5, respectivamente para os complexos nitrosil e nitro, bem como para CHIKV e ZIKV (BESSAS, et al., 2024). Os autores também mostraram que os complexos Ru-NO^+ e Ru-NO_2 são doadores de NO na presença de L-cisteína (Cys), sugerindo que a S-nitrosilação de Cys poderia desempenhar um papel importante na inibição da replicação viral.

A diferença na atividade antiviral entre os compostos pode ser explicada, em partes, pelas propriedades físico-químicas dos complexos. O clorido e aqua $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{X} = \text{Cl}^- \text{ ou } \text{OH}_2)(\text{bd})(\text{tpy})]^{n+}$ apresentam caráter mais lipofílico, $\log P_{o/w} = -0,31$ $\text{X} = \text{Cl}^-$ e $0,17$ $\text{X} = \text{OH}_2$ que os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{X})(\text{bdq})(\text{tpy})]^{n+}$ $\log P_{o/w} = -0,87$ $\text{X} = \text{Cl}^-$ e $-1,35$ $\text{X} = \text{OH}_2$. O provável

mecanismo envolvido na infectividade dos vírus estudados nesse trabalho, se deve a lipofilicidade. O maior caráter lipofílico permite a facilidade para atravessar a membrana das células infectadas, permitindo maior interação com os alvos intracelulares.

5. CONCLUSÃO

A caracterização físico-química dos clorido complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ através das técnicas de análise elementar, espectrometria de massas, espectroscopia na região do infravermelho, UV-vis., fluorescência e análise condutimétrica corroboraram para a determinação da composição dos complexos, tal como as estruturas esperadas e indicadas no trabalho.

Os estudos cinéticos e termodinâmicos de substituição do ligante Cl^- pelo ligante OH_2 indicaram que a presença do ligante bd contribui para maior labilidade do ligante monodentado. Assim, o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ apresentou cinética de aquação cerca de 2 unidades maior que o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$. Em ambos os casos, a substituição acontece através de um mecanismo associativo, como proposto teórica e experimentalmente.

Nos estudos de interação com a molécula de DNA via espectroscopia de fluorescência compreendeu-se que ambos os clorido complexos atuam como um potencial intercalante entre as bases nitrogenadas da biomolécula, sendo que o complexo com ligante bd apresentou valores de K_{SV} e K_{app} maiores que o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, indicando ser um intercalante mais forte. Os estudos de dicroísmo circular e UV-vis. reforçaram essa tendência. Além disso, as espécies aqua também mostraram capacidade intercalante semelhante às espécies clorido, sem diferenças significativas nos valores das constantes de interação.

Por fim, os estudos antivirais mostraram que o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$, a uma concentração de $50 \mu\text{mol L}^{-1}$, inibiu 56% da replicação do ZIKV, enquanto o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ apresentou 14,1% de inibição. No caso do vírus Chikungunha, o complexo com ligante bd também demonstrou maior eficácia antiviral. Para elucidar o mecanismo de ação antiviral desses complexos, recomenda-se realizar estudos detalhados sobre as etapas do ciclo viral.

De maneira geral, os estudos contribuíram para a compreensão da influência de ligantes diimínicos bidentados na reatividade, interação com DNA e atividade antiviral de complexos do tipo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{X}(\text{L})(\text{tpy})]$.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABATE, C.; CARNAMUCIO, F.; GIUFFRÉ, O.; FOTI, C. Metal-Based Compounds in Antiviral Therapy. *Biomolecules* 2022, vol. 12, 7, 933, 2022.

<https://doi.org/10.3390/biom12070933>

AIRES, R. L.; SANTOS, I. A.; FONTES, J. V.; BERGAMINI, F. R. G.; JARDIM, A. C. G.; ABBEHAUSEN, C. Triphenylphosphine gold(I) derivatives promote antiviral effects against the Chikungunya vírus. *Metallomics*, vol. 14, 8, 2022.

<https://doi.org/10.1093/mtomcs/mfac056>

ANDRÉS, A.; ROSÉS, M.; RÀFOLS, C.; BOSCH, E.; ESPINOSA, S.; SEGARRA, V.; HUERTA, J. M. Setup and validation of shake-flask procedures for the determination of partition coefficients (log D) from low drug amounts. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 76, 181–191, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.05.008>

ANDREZÁLOVÁ, L.; ORSZÁGHOVÁ, Z. Covalent and noncovalent interactions of coordination compounds with DNA: An overview. *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 225, p. 111624, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2021.111624>

ANTHONY, E. J.; BOLITHO, E. M.; BRIDGEWATER, H. E.; CARTER, O. W. L. C.; DONNELLY, J. M.; IMBERTI, C.; LANT, E. C.; LERMYTE, F.; NEEDHAM, R. J.; PALAU, M.; SADLER, P. J.; SHI, H.; WANG, F.; ZHANG, W.; ZHANG, Z. Metallodrugs are unique: opportunities and challenges of discovery and development. *Chemical Science*, vol. 11, 12888–12917, 2020. <https://doi.org/10.1039/D0SC04082G>

ATKINS, P.; de PAULA, J. **Físico-química** (Volume 2). 10 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2018.

BALZANI, V.; CERONI, P.; CREDI, A.; VENTURI, M. Ruthenium tris(bipyridine) complexes: Interchange between photons and electrons in molecular-scale devices and machines. *Coordination Chemistry Reviews*, vol. 433, 213758, 2021.

<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213758>

BENESI, H.; HILDEBRAND, J. A Spectrophotometric Investigation of the Interaction of Iodine with Aromatic Hydrocarbons. *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 71, 8, 2703-07, 1949.

<https://doi.org/10.1021/ja01176a030>

BESSAS, N. C.; ARANTES, E. C. S.; CASSANI, N. M.; RUIZ, U. E. A.; SANTOS, I. A.; MARTINS, D. O. S.; OLIVEIRA, A. L. C.; ANTONIUCCI, G. A.; de OLIVEIRA, A. H. C.; SILVA, G. F.; JARDIM, A. C. G.; de LIMA, R. G. Influence of diimine bidentate ligand in the nitrosyl and nitro terpyridine ruthenium complex on the HSA/DNA interaction and antiviral activity. *Nitric Oxide*, vol. 147, 26-41, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2024.04.006>

BESSAS, N. C.; da SILVA, L. A.; JUNIOR, M. C.; de LIMA, R. G. Interaction of the nitrosyl ruthenium complex $[\text{RuII}(\text{NH.NHq-R})(\text{tpy})\text{NO}]^{3+}$ with human serum albumin: a spectroscopic and computational investigation. **Luminescence**, vol. 36, 2, 391-408, 2020.

<https://doi.org/10.1002/bio.3955>

BHATTACHARJEE, R.; GAYATHRI, V. Synthesis and Characterization of Ruthenium(II) Carbonyl Complexes of Substituted Quinazoline Derivatives and their Catalytic Activity. **Asian Journal of Chemistry**, vol. 35, 10, 2023. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2023.28048>

BRABEC, V.; KASPARKOVA, J. Ruthenium coordination compounds of biological and biomedical significance. DNA binding agents. **Coordination Chemistry Reviews**, vol. 376, p. 75-94, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2018.07.012>

BRABEC, V.; NOVÁKOVÁ, O. DNA binding mode of ruthenium complexes and relationship to tumor cell toxicity. **Drug Resistance Updates**, vol. 9, p. 111-122, 2006.

<https://doi.org/10.1016/j.drug.2006.05.002>

BRAGA, S. S. Ruthenium Complexes, an Emerging Class of Leishmanicidal Drug Candidates. **Applied Bioscience**, vol. 1, 2, 129-142, 2022. <https://doi.org/10.3390/applbiosci1020009>

BRITTON, H. T. S.; ROBINSON, R. A. Universal buffer solutions and the dissociation constant of veronal. **Journal of the Chemical Society (Resumed)**, 1931.

<https://doi.org/10.1039/JR9310001456>

CAMPANELLA, B.; PALLESCHI, V.; LEGNAIOLI, S. Introduction to vibrational spectroscopies. **ChemTexts**, vol. 7, 5, 2021. <https://doi.org/10.1007/s40828-020-00129-4>

ČANOVIĆ, P.; SIMOVIĆ, A. R.; RADISAVLJEVIĆ, S.; BRATSOS, I.; DEMITRI, N.; MITROVIC, M.; ZELEN, I.; BUGARČIĆ, Z. D. Impact of aromaticity on anticancer activity of polypyridyl ruthenium(II) complexes: synthesis, structure, DNA/protein binding, lipophilicity and anticancer activity. **J. Biol. Inorg. Chem.**, vol. 22, p. 1007-1028, 2017.

<https://doi.org/10.1007/s00775-017-1479-7>

CHAO, H.; MEI, W.; HUANG, Q.; JI, L. DNA binding studies of ruthenium(II) complexes containing asymmetric tridentate ligands. **Journal of Inorganic Biochemistry**, vol. 92, 3-4, 165-170, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0162-0134\(02\)00543-3](https://doi.org/10.1016/S0162-0134(02)00543-3)

CHEN, Z.; WANG, X.; LI, Y.; GUO, Z. Comparison of DNA binding and cleavage abilities between mono- and trinuclear copper(II) complexes of benzimidazole derivatives. **Inorganic Chemistry Communications**, vol. 11, 11, 1392-1396, 2008.

<https://doi.org/10.1016/j.inoche.2008.09.014>

CHENG, C.; LEE, W.; SU, J.; LIU, C. Covalent Interaction of Ru(terpy)(tmephen)Cl⁺ with DNA: A Potential Ruthenium-Based Anticancer Drug. **Journal of the Chinese Chemical Society**, vol. 47, 1, 213-220, 2013. <https://doi.org/10.1002/jccs.200000025>

CHYZANOWSKA, M., KATAFIAS, A., KOZAKIEWICZ, A., PUCHTA, R., & VAN ELDIK, R. Systematic tuning of the reactivity of [RuII(terpy)(N[^]N)Cl]Cl complexes. **Journal of Coordination Chemistry**, vol. 71, 1761–1777, 2018. <https://doi.org/10.1080/00958972.2018.1498972>

CHYZANOWSKA. M.; KATAFIAS, A.; IMPERT, O.; KOZAKIEWICZ, A.; SURDYKOWSKI, A.; BRZOZOWSKA, P.; FRANKE, A.; ZAHL, A.; PUCHTA, R.; ELIDICK, V.R. Structure and reactivity of [RuII(terpy)(N[^]N)Cl]Cl complexes: Consequences for biological applications. **Dalton Transactions**, vol. 46, 31, 10264 – 10280, 2017. <https://doi.org/10.1039/C7DT01669G>

CHYZANOWSKA. M.; KATAFIAS, A.; KOZAKIEWICK, A.; KOZAKIEWICZ, A.; ELIDICK, R.V. Steric and electronic tuning of the reactivity of [RuII(terpy)(N[^]N)Cl]Cl complexes. *Inorganica Chimica Acta*, vol. 504, 119449, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2020.119449>

CONRADIE, J.; OLISAH, C.; AKPOMIE, K.G.; MALLOUM, A.; AKPOTU, S. O.; ADEGOKE, K. A.; OKEKE, E. S.; OMOTOLA, E. O.; OHORO, C. R.; AMAKU, J.F. Geometric distortions and Jahn-Teller effects in Bis(terpyridine)metal complexes. **Journal of Molecular Structure**, vol. 1312, part 1, 139840, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.139840>

D'AMATO, A.; MARICONDA, A.; IACOPETTA, D.; CERAMELLA, J.; CATALANO, A. SINICROPI, M. S.; LONGO, P. Complexes of Ruthenium(II) as Promising Dual-Active Agents against Cancer and Viral Infections. **Pharmaceuticals**, vol. 16, 12, 1729, 2023. <https://doi.org/10.3390/ph16121729>

da SILVA, C. F. N., CHRISPIM, P. B. H., POSSATO, B., PORTAPILLA, G. B.; ROHRABAUGH, T. N.; RAMOS, L. C. B.; da SILVA, R. S., de ALBUQUERQUE, S.; TURRO, C.; NIKOLAU, S. Anticancer and antitrypanosomal activities of trinuclear ruthenium compounds with orthometalated phenazine ligands. **Dalton Trans.**, vol. 49, 16440, 2020. <https://doi.org/10.1039/D0DT01035A>

DABB, S. L.; FLETCHER, N. C. mer and fac isomerism in tris chelate diimine metal complexes. **Dalton Trans.**, vol. 44, 4406-4422, 2015. <https://doi.org/10.1039/C4DT03535F>

DALAL, M. **A Textbook of Physical Chemistry** – Volume 1, 1 ed., Dalal Institute, 2017.

de FARIAS, R.F. **Química de coordenação: fundamentos e atualidades**. Campinas, SP: Editora Átomo, 2005.

de LIMA, R. G.; SAUAIA, M. G.; BONAVENTURA, D.; TEDESCO, A. C.; BANDHACK, L. M.; da SILVA, R. S. Influence of ancillary ligand L in the nitric oxide photorelease by the $[\text{Ru}(\text{L})(\text{tpy})\text{NO}]^{3+}$ complex and its vasodilator activity based on visible light irradiation. **Inorganica Chimica Acta**, vol. 359, 8, 2543-2549, 2006.

<https://doi.org/10.1016/j.ica.2006.02.020>

de Oliveira, D. M., Santos, I. A., Martins, D. O. S, Gonçalves, Y. G., Cardoso-Sousa, L., Sabino-Silva R., Von Poelhsitz G., Franca, E. F., Nicolau-Junior, N., Pacca, C. C., Merits, A., Harris, M., Jardim, A. C. G. Organometallic Complex Strongly Impairs Chikungunya Virus Entry to the Host Cells. **Front Microbiol**, 11, 608924, 2020. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.608924>

de PAIVA, R. E. F., MARÇAL NETO, A., SANTOS, I. A., JARDIM, A. C. G., CORBI, P. P., & BERGAMINI, F. R. G. What is holding back the development of antiviral metallodrugs? A literature overview and implications for SARS-CoV-2 therapeutics and future viral outbreaks. **Dalton Transactions**, vol. 49(45), 16004–16033, 2020. <https://doi.org/10.1039/D0DT02478C>

DENG, J.; SU, G.; CHEN, P.; DU, Y.; GOU, Y.; LIU, Y. Evaluation of DNA binding and DNA cleavage of nickel(II) complexes with tridentate α -N-heterocyclic thiosemicarbazones ligands. **Inorganica Chimica Acta**, vol. 471, 194-202, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ica.2017.11.013>

DENG, Z.; GAO, P.; YU, L., MA, B.; YOU, Y.; CHAN; L.; MEI, C.; CHEN, T. Ruthenium complexes with phenylterpyridine derivatives target cell membrane and trigger death receptors-mediated apoptosis in cancer cells. **Biomaterials**, vol. 129, 111-126, 2017.

<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.03.017>

DHIMAN, R.; SINGH, N.; UGALE, B.; NAGARAJA, C. M. Synthesis, crystal structure and water oxidation activity of $[\text{Ru}(\text{terpy})(\text{bipy})\text{Cl}]^+$ complexes: influence of ancillary ligands on O_2 generation. **RSC Adv.**, vol. 7, 39325-39333, 2017. <https://doi.org/10.1039/C7RA07186H>

DONALD, C. L. *et al.* Full Genome Sequence and sfRNA Interferon Antagonist Activity of Zika Virus from Recife, Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 10, p. e0005048, 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005048>

FIGUEIROA-DEPAZ, Y.; RESENDIZ-ACEVEDO, K.; DÁVILA-MANZANILLA, S.G.; GÁRCIA-RAMOS, J.C.; ORTIZ-FRADE, L. SERMENT-GUERRERO, J. RUIZ-AZUARA, L. DNA, a target of mixed chelate copper(II) compounds (Casiopéinas®) studied by electrophoresis, UV-vis and circular dichroism techniques. **Journal of Inorganic Biochemistry**, vol. 231, 111772, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2022.111772>

FÖRSTER, C.; DORN, M.; REUTER, T.; OTTO, S.; DAVARCI, G.; REICH, T.; CARRELLA, L.; RENTSCHLER, E.; HEINZE, K. Ddpd as Expanded Terpyridine: Dramatic Effects of Symmetry and Electronic Properties in First Row Transition Metal Complexes. **Inorganics**, vol. 6, 86, 2018. <https://doi.org/10.3390/inorganics6030086>

GARZA-ORTIZ, A. MAHESWARI, P. U.; SIEGLER, M.; SPEK, A. L.; REEDIJK, J. A new family of Ru(II) complexes with a tridentate pyridine Schiff-base ligand and bidentate co-ligands: synthesis, characterization, structure and in vitro cytotoxicity studies. **New Journal of Chemistry**, 37, 3450-3460, 2013. <https://doi.org/10.1039/c3nj00415e>

GEARY, W. J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterization of coordination compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, vol. 7, p. 81 122, 1971. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(00\)80009-0](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(00)80009-0)

GEHLEN, M.H. The centenary of the Stern-Volmer equation of fluorescence quenching: From the single line plot to the SV quenching map. **Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Review**, vol. 42, 100338, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2019.100338>

GILL, M.R.; THOMAS, J.A. Ruthenium(II) polypyridyl complexes and DNA-from structural probes to cellular imaging and therapeutics. **Chemistry Society Reviews**, vol. 41, 8, 3179-92, 2012. <https://doi.org/10.1039/c2cs15299a>

HAKKENNES, M. L. A.; MEIJER, M. S.; MENZEL, J. P.; GETZ, A.; DUJIN, R., V.; SIEGLER, M. A.; BUDA, F.; BONNET, S. Ligand Rigidity Steers the Selectivity and Efficiency of the Photosubstitution Reaction of Strained Ruthenium Polypyridyl Complexes. **Journal of American Chemistry Society**, vol. 145, 24, 13420–13434, 2023. <https://doi.org/10.1021/jacs.3c03543>

HE, J.; SUN, J.; MAO, Z.; JI, L.; SUN, H. Phosphodiester hydrolysis and specific DNA binding and cleavage promoted by guanidinium-functionalized zinc complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, vol. 103, 5, 851-858, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2009.02.010>

HOFMEIER, H.; SCHUBERT, U. S. Recent developments in the supramolecular chemistry of terpyridine-metal complexes. **Chemical Society Reviews**, Royal Society of Chemistry, vol. 33, n. 6, p. 373–399, 2004. <https://doi.org/10.1039/B400653B>

HUANG, H.; ZHANG, P.; CHEN, Y.; JI, L.; CHAO, H. Labile ruthenium(II) complexes with extended phenyl-substituted terpyridyl ligands: synthesis, aquation and anticancer evaluation. **Dalton Transactions**, vol. 44, p. 15602–15610, 2015. <https://doi.org/10.1039/C5DT02446C>

ISLER, E.; TERAMOTO, E. H.; BAESSA, M. P. M.; PEDE, M. A. Z.; KIANG, C. H. LNAPL trapping observed by Laser-Induced Fluorescence (LIF) technique. **Águas Subterrâneas**, vol. 32, n.3, p. 315-324, 2018. <https://doi.org/10.14295/ras.v32i3.29137>

JAKUBIKOVA, E.; CHEN, W.; DATTELBAUM, D. M.; REIN, F. N.; ROCHA, R. C.; MARTIN, R. L.; BATISTA, E. R. Electronic structure and spectroscopy of [Ru(tpy)₂]²⁺, [Ru(tpy)(bpy)(H₂O)]²⁺, and [Ru(tpy)(bpy)(Cl)]⁺. **Inorganic Chemistry**, vol. 48, 22, 10720–10725, 2009. <https://doi.org/10.1021/ic901477m>

JANG, H. J.; HOPKINS, S.L.; SIEGLER, M. A.; BONNET, S. Frontier orbitals of photosubstitutionally active ruthenium complexes: an experimental study of the spectator ligands' electronic properties influence on photoreactivity. **Dalton Transactions**, vol. 46, 9969-9980, 2017. <https://doi.org/10.1039/C7DT01540B>

JANG, Y.J.; LEE, H.M.; JANG, K.J.; LEE, J.; KIM, S.K.; CHO, T. Comparison of the Binding Modes of [Ru(2,2'-bipyridine)₃]²⁺ and [Ru(2,2':6',2''-terpyridine)₂]²⁺ to Native DNA. **Bull. Korean Chem. Soc.**, vol. 31, 5, 1314-1318, 2010. <https://doi.org/10.5012/bkcs.2010.31.5.1314>

JI, LN.; ZOU, XH.; LIU, JH. Shape - and enantioselective interaction of Ru(II)/Co(III) polypyridyl complexes with DNA. **Coordination Chemistry Reviews**, vol. 216-217, 513-536, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(01\)00338-1](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(01)00338-1)

JIANG, C.; CHAO, H.; LI, H.; JI, L. Syntheses, characterization and DNA-binding studies of ruthenium(II) terpyridine complexes: [Ru(tpy)(PHBI)]²⁺ and [Ru(tpy)(PHNI)]²⁺. **Journal of Inorganic Biochemistry**, vol. 93, 3-4, 247-255, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0162-0134\(02\)00577-9](https://doi.org/10.1016/S0162-0134(02)00577-9)

JONES, J.E.; LE SAGE, V.; LAKDAWALA, S.S. Viral and host heterogeneity and their effects on the viral life cycle. **Nat. Ver. Microbiol.**, 19, 272-282, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00449-9>

JURIS, A.; BALZANI, V.; BARIGELLETI, F.; CAMPAGNA, S.; BELSER, P. I.; ZELEWSKY, A. v. von. Ru (ii) polypyridine complexes: photophysics, photochemistry, electrochemistry, and chemiluminescence. **Coordination Chemistry Reviews**, Elsevier, v. 84, p. 85-277, 1988. [https://doi.org/10.1016/0010-8545\(88\)80032-8](https://doi.org/10.1016/0010-8545(88)80032-8)

KELLET, A.; MOLPHY, Z.; SLATOR, C.; MCKEE, V. FARREL, N. Molecular methods for assessment of non-covalent metallodrug-DNA interactions. **Chemical Society Reviews**, vol. 48, 971-988, 2019. <https://doi.org/10.1039/C8CS00157J>

KNOLL, J.D; TURRO, C. Control and utilization of ruthenium and rhodium metal complex excited states for photoactivated cancer therapy. **Coord. Chem. Rev.**, 282-283:110-126, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.05.018>

LABACH, D. S.; KOHIO, H. P.; TSE, E. A.; PAPARISTO, E.; FRIESEN, N. J.; PANKOVICH, J.; BAZETT, M.; BARR, S. D. The Metallodrug BOLD-100 Is a Potent Inhibitor of SARS-CoV-2 Replication and Has Broad-Acting Antiviral Activity. **Biomolecules**, vol. 13, 7, 1095, 2023. <https://doi.org/10.3390/biom13071095>

LAMEIJER, L. N.; BRVÉ, T. G.; RIXEL, V. H. S.; ASKES, S. H. C.; SIEGLER, M. A.; BONNET, S. Effects of the Bidentate Ligand on the Photophysical Properties, Cellular Uptake,

and (Photo)cytotoxicity of Glycoconjugates Based on the [Ru(tpy)(NN)(L)]²⁺ Scaffold. **Chemistry – A European Journal**, vol. 24, 11, 2709-2717, 2017.

<https://doi.org/10.1002/chem.201705388>

LEVER, A. B. P.; MASUI, H.; METCALFE, R. A.; STUFKENS, D. J.; DODSWORTH, E. S.; AUBURN, P. R. The ground and excited state electronic structures of ruthenium quinones and related species. **Coordination Chemistry Reviews**, vol. 125, Issues 1–2, Pages 317-331, 1993.

[https://doi.org/10.1016/0010-8545\(93\)85028-3](https://doi.org/10.1016/0010-8545(93)85028-3)

LI, F.; COLLINS, J. G.; KEENE, F. R. Ruthenium complexes as antimicrobial agentes. **Chemicals Society Reviews**, vol. 44, 2529-2542, 2-15, 2015.

<https://doi.org/10.1039/C4CS00343H>

LI, Y.; CHEN, D.; SU, J.; CHEN, M.; CHEN, T.; JIA, W.; ZHU, B. Selenium-ruthenium complex blocks H1N1 influenza virus-induced cell damage by activating GPx1/TrxR1. **Theranostics**, vol. 13, 1843–1859, 2023. <https://doi.org/10.7150/thno.83522>

MAESTRI, M.; ARMAROLI, N.; BALZANI, V.; CONSTABLE, E. C.; THOMPSON, A. M. C. Complexes of the ruthenium (ii)-2, 2': 6', 2''-terpyridine family. effect of electron-accepting and-donating substituents on the photophysical and electrochemical properties. **Inorganic Chemistry**, ACS Publications, v. 34, n. 10, p. 2759–2767, 1995.

<https://doi.org/10.1021/ic00114a039>

MARKOVIC, K.; MILAČIČ, R.; MARKOVIĆ, S.; Kladnik, J.; TUREL, I.; ŠČANČAR, J. Binding Kinetics of Ruthenium Pyrithione Chemotherapeutic Candidates to Human Serum Proteins Studied by HPLC-ICP-MS. **Molecules**, vol. 25, 7, 1512, 2020.

<https://doi.org/10.3390/molecules25071512>

MARTINEZ, Z.M.; FOLSOM, T. M.; TONG, Y.; ARCHAMBEAU, A. K.; DARENSBOURG, D. J.; HALL, M. B.; POWELL, C. B.; POWELL, G. L. Kinetic and Computational Analysis of CO Substitution in a Dinuclear Osmium Carbonyl Complex: Intersection between Dissociative and Dissociative-Interchange Mechanisms. **Inorganic Chemistry**, 61, 1, 246–253, 2021.

<https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.1c02797>

MEĐEDOVIĆ, M.; SIMOVIĆ, A. R.; ČOČIĆ, D.; SENFT, L.; MATIC, S.; TODOROVIĆ, D.; POPOVIĆ S.; BASKIĆ, D.; PETROVIĆ, B. Newruthenium(II) complexes with quinone diimine and substituted bipyridine as inert ligands: synthesis, characterization, mechanism of action, DNA/HSA binding affinity and cytotoxic activity. **Dalton Trans.**, vol. 52, 1323, 2023.

<https://doi.org/10.1039/D2DT02993F>

MEHANNA, S.; BODMAN-SMITH, K.; DAHERA, C. F.; KHNAYZER, R. S. Rapid quantification of ruthenium(ii) polypyridyl anti-cancer drugs using a selective ligand dissociation LC-MS/MS method. **Analytical Methods**, vol. 12, 4517-4525, 2020.

<https://doi.org/10.1039/D0AY01250E>

MIJATOVIC, A. M.; JELIC, R. M.; BOGOJESKI, J.; BUGARCIC, Z. D.; PETROVIC, B. Kinetics, mechanism, and equilibrium studies of the reactions between a ruthenium(II) complex and some nitrogen- and sulfur-donor nucleophiles. **Monatsh Chem.**, vol. 144, 1489–1498, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00706-013-1044-1>

MILUTINOVIĆ, M. M.; ELMROTH, S. K. C.; DAVIDOVIĆ, G.; RILAK, A.; KLISURIC, O. R.; BRATSOS, I.; BUGARCIC, Z. D. Kinetic and mechanistic study on the reactions of ruthenium(ii) chlorophenyl terpyridine complexes with nucleobases, oligonucleotides and DNA. **Dalton Trans.**, 46, 2360-2369, 2017. <https://doi.org/10.1039/C6DT04254F>

MJOS, K.D.; ORVIG, C. Metallodrugs in Medicinal Inorganic Chemistry. **Chemical Reviews**, Vol. 114, 8, p. 4540–4563, 2014. <https://doi.org/10.1021/cr400460s>

MONDAL, B., CHAKRABORTY, S., MUNSHI, P., WALAWALKAR, M. G., KUMAR LAHIRI, G. Ruthenium-(II)/-(III) terpyridine complexes incorporating imine functionalities. Synthesis, structure, spectroscopic and electrochemical properties. **Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions**, (14), 2327–2335, 2000. <https://doi.org/10.1039/b000257g>

MONRO, S.; COLÓN, K. L.; YIN, H.; ROQUE, J.; KONDA, P.; GUJAR, S.; THUMMEL, R. P.; LILGE, L.; CAMERON, C. G.; MCFARLAND, S. A. Transition Metal Complexes and Photodynamic Therapy from a Tumor-Centered Approach: Challenges, Opportunities, and Highlights from the Development of TLD1433. **Chemistry Reviews**, vol. 119, 2, 797–828, 2018. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.8b00211>

MUTUA, G. K.; SITATI, M.; ONUNGA, D. O.; JAGANY, D.; MAMBANDA, A. Tuning the reactivity of ruthenium(II) terpyridyl complexes using auxiliary ligands: kinetic and mechanistic studies. **Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis**, vol. 135, 2379–2400, 2022. <https://doi.org/10.1007/s11144-022-02272-0>

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds - Part A**. [s.l.] Wiley, 1997.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds - Part B**. Sixth ed. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2008.

National Center for Biotechnology Information (2025). PubChem Compound Summary for CID 69263, 3,4-Diaminobenzoic acid. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3_4-Diaminobenzoic-acid. Acessado em 17 de julho de 2024.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 7243, o-PHENYLENEDIAMINE. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/o-PHENYLENEDIAMINE>. Acessado em 17 de julho de 2024.

NICKITA; BELOUSOFF, M. J.; BHATT, A. I.; BOND, A.M.; DEACON, G. B.; GASSER, G.; SPICCIA, L. Synthesis, Structure, Spectroscopic Properties, and Electrochemical Oxidation of Ruthenium(II) Complexes Incorporating Monocarboxylate Bipyridine Ligands. **Inorganic Chemistry**, vol 46, 21, 2007. <https://doi.org/10.1021/ic700796m>

NIEDNER-SCHATTEBURG, G.; KAPPES, M. M. Advancing Inorganic Coordination Chemistry by Spectroscopy of Isolated Molecules: Methods and Applications. **Chemistry Europe Journal**, vol. 27, 15028, 2021. <https://doi.org/10.1002/chem.202102815>

OLIVEIRA, A. R. M.; MARQUELE-OLIVEIRA, F.; de SANTANA, D. C. A. S.; NIKOLAOU, S.; BONATO, P. S.; da SILVA, R. S. HPLC separation, NMR and QTOF/MS/MS structure elucidation of a prominent nitric oxide donor agent based on an isomeric composition of a nitrosyl ruthenium complex. **Inorganic Chemistry Communications**, vol. 12, 343–346, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2009.02.001>

OLIVEIRA, F. M.; SANTANA, D. C. A.; TAVEIRA, S. F.; VERMEULEN, D. M.; de OLIVEIRA, A. R. M.; da SILVA, R. S.; LOPEZ, R. F. V. Development of nitrosyl ruthenium complex-loaded lipid carriers for topical administration: improvement in skin stability and in nitric oxide release by visible light irradiation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, vol. 53, 4, 843-851, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.06.007>

ORTIZ, J. H. M.; PEYROT, A. M.; FAGALDE, F.; KATZ, N. E. Trans-kinetic effects in ligand substitution processes of ruthenium polypyridyl complexes. **Inorganic Chemistry Communications**, vol. 98, 44-47, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2018.09.043>

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J.R. **Introdução à espectroscopia**, 2 ed., São Paulo: Cengage Learning, 2015.

POYTON, F.E.; BRIGHT, S.A.; BLASCO, S.; WILLIAMS, D.C.; KELLY, J.M.; GUNNLAUGSSON, T. The development of ruthenium(II) polypyridyl complexes and conjugates for in vitro cellular and in vivo applications. **Chem. Soc. Rev.**, vol. 46, p. 7706-7756, 2017. <https://doi.org/10.1039/C7CS00680B>

RAMOTOWSKA, S.; CIESIELSKA, A.; MAKOWSKI, M. What Can Electrochemical Methods Offer in Determining DNA-Drug Interactions? **Molecules**, vol. 26, 11, 3478, 2021.
REHMAN, S. U.; SARWAR, T.; HUSAIN, M.A.; ISHQUI, H.M.; TABISH, M. Studying noncovalent drug–DNA interactions. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, vol. 576, p. 4960, 2015. <https://doi.org/10.3390/molecules26113478>

REZENDE, W.S.; NETO, A. M.; CORBI, J. J.; CORBI, P. P.; de PAIVA, R. E. F.; BERGAMINI, F. R. G. Coordination Compounds as Antivirals against Neglected Tropical Diseases. **ChemMedChem**, e202400799, 2024. <https://doi.org/10.1002/cmdc.202400799>

RILAK, A.; BRATSOS, I.; ZANGRANDO, E.; KLJUN, J.; TUREL, I.; BUGARCIC, Z.D.; ALESSIO, E. New water-soluble ruthenium(II) terpyridine complexes for anticancer activity: synthesis, characterization, activation kinetics, and interaction with guanine derivatives. **Inorganic Chemistry**, vol. 53, 12, 6113-26, 2014. <https://doi.org/10.1021/ic5005215>

ROCHA, C.R.R.; SILVA, M.M.; QUINET, A.; CABRAL-NETO, J.B.; MENCK, C.F.M. DNA repair pathways and cisplatin resistance: an intimate relationship. **Clinics**, vol. 73, 2018. <https://doi.org/10.6061/clinics/2018/e478s>

RODGERS, G. **Química inorgânica descritiva, de coordenação e de estado sólido**, 3. ed., São Paulo: Cengage Learning, 2016.

RONCONI, L.; SADLER, P. J. Using coordination chemistry to design new medicines. **Coordination Chemistry Reviews**, vol. 251, 1633, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.11.017>

ROSEMBERG, B.; VAN CAMP, L.; TROSKO, J.E.; MANSOUR, V.H. Platinum Compounds, a new class of potent antitumour agents. **Nature**, Vol. 222, p. 385-386, 1969. <https://doi.org/10.1038/222385a0>

RUIZ-GONZÁLEZ, V.; MARTIN, M.A.; OLIVES, A.I.; RIBELLES, P. An Overview of Analytical Techniques Employed to Evidence Drug-DNA Interactions. Applications to the Design of Genosensors. **Biomedical Engineering, Trends, Research and Technologies**. p. 65-90, 2011.

RUSANOVA, J.; RUSANOV, E.; GORELSKY, S. I.; CHRISTENDAT, D; POPESCU, R.; FARAH, A. A.; BEAULUC, R.; REBER, C.; LEVER, A. B. P. The Very Covalent Diammino(o-benzoquinonediimine) Dichlororuthenium(II). An Example of Very Strong π -Back-Donation. **Inorganic Chemistry**, 45, 16, 6246–6262, 2006. <https://doi.org/10.1021/ic060220z>

SERRANO, I.; SALA, X.; PLANTALECH, E.; RODRIGUEZ, M; ROMERO, I.; JANSAT, S.; GOMEZ, M.; PARELLA, T.; EVANS, H. S.; SOLANS, X.; FONT-BARDIA, M.; VIDJAYACOMAR, B.; LLOBET, A. Synthesis, Structure, Redox Properties, and Catalytic Activity of New Ruthenium Complexes Containing Neutral or Anionic and Facial or Meridional Ligands: An Evaluation of Electronic and Geometrical Effects. **Inorganic Chemistry**, vol. 46, 13, 5381–5389, 2007. <https://doi.org/10.1021/ic070087q>

SIMOVIC, A.R.; MASNIKOSA, R.; BRATSOS, I.; ALESSIO, E. Chemistry and reactivity of ruthenium(II) complexes: DNA/protein binding mode and anticancer activity are related to the complex structure. **Coordination Chemistry Reviews**, vol. 398, p. 113011, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2019.07.008>

SINGH, V.K.; SINGH, V.K.; MISHRA, A.; VARSHA; SINGH, A.A.; PRASAD, G.; SINGH, A.K. Recent advancements in coordination compounds and their potential clinical application in the management of diseases: An up-to-date review. **Polyhedron**, vol. 241, 116485, 2023.

<https://doi.org/10.1016/j.poly.2023.116485>

SIRAJUDDIN, M.; ALI, S.; BADSHAH, A. Drug–DNA interactions and their study by UV Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**. vol. 124, 1-19, 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.03.013>

SKOCZYNSKA, A.; LEWINSKI, A.; POKORA, M.; PANETH, P.; BUDZISZ, E. An Overview of the Potential Medicinal and Pharmaceutical Properties of Ru(II)/(III) Complexes. **International Journal of Molecular Sciences**, Vol. 24, 11, 9512, 2023.

<https://doi.org/10.3390/ijms24119512>

SOLTANI, S.; SHENAGARI, M. S.; EMADI, M. Exploring the Replication Mechanisms of DNA and RNA Viruses. Viral Replication Cycle - From Pathogenesis and Immune Response to Diagnosis and Therapy. **IntechOpen**, 2023. <https://doi.org/10.5772/intechopen.1003767>

SOUTHAM, H. M., BUTLER, J. A., CHAPMAN, J. A.; POOLE, R. K. The Microbiology of Ruthenium Complexes. **Advances in Microbial Physiology**, vol. 71, 1-96, 2017.

<https://doi.org/10.1016/bs.ampbs.2017.03.001>

SULLIVAN, B. P.; CALVERT, J. M.; MEYER, T. J. Cis-trans isomerism in RuCl₂(tpy)(PPh₃). Comparasions between the chemical and physical properties of a cis-trans isomeric pair. **Inorganic Chemistry**, vol. 19, p. 1404-1407, 1980. <https://doi.org/10.1021/ic50207a066>

TOMA, H. E. **Química de coordenação, organometálica e catálise**. São Paulo: Blucher, 2013. (Coleção de Química Conceitual, v. 4).

VELHO, R. G. **Medidas de condutividade na caracterização de complexos inorgânicos: Um levantamento bibliográfico**. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, p. 170, 2006.

WAGENKNECHT, P. S.; FORD, P. C. Metal centered ligand field excited states: Their roles in the design and performance of transition metal based photochemical molecular devices. **Coordination Chemistry Reviews**, vol. 255, 5–6, 591-616, 2011.

<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2010.11.016>

WANG, F.; CHEN, H.; PARSONS, S.; OSWALD, I. D. H.; DAVIDSON, J. E.; SADLER, P. J. Kinetics of Aquation and Anation of Ruthenium(II) Arene Anticancer Complexes, Acidity and X-ray Structures of Aqua Adducts. **Chemistry – A European Journal**, vol. 9, 23, 5810-5820, 2003. <https://doi.org/10.1002/chem.200304724>

WANG, P.; LEE, H.K. Recent applications of high-performance liquid chromatography to the analysis of metal complexes. **Journal of Chromatography A**, vol. 789, 437-451, 1997. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00839-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00839-X)

WATSON, J., CRICK, F. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. **Nature**, vol. 171, p. 737–738, 1953. <https://doi.org/10.1038/171737a0>

WELLER, M.; ROURKE, J.; OVERTON, T.; ARMSTRONG, F. **Química Inorgânica**, 6. ed., Porto Alegre: Bookman, 2017.

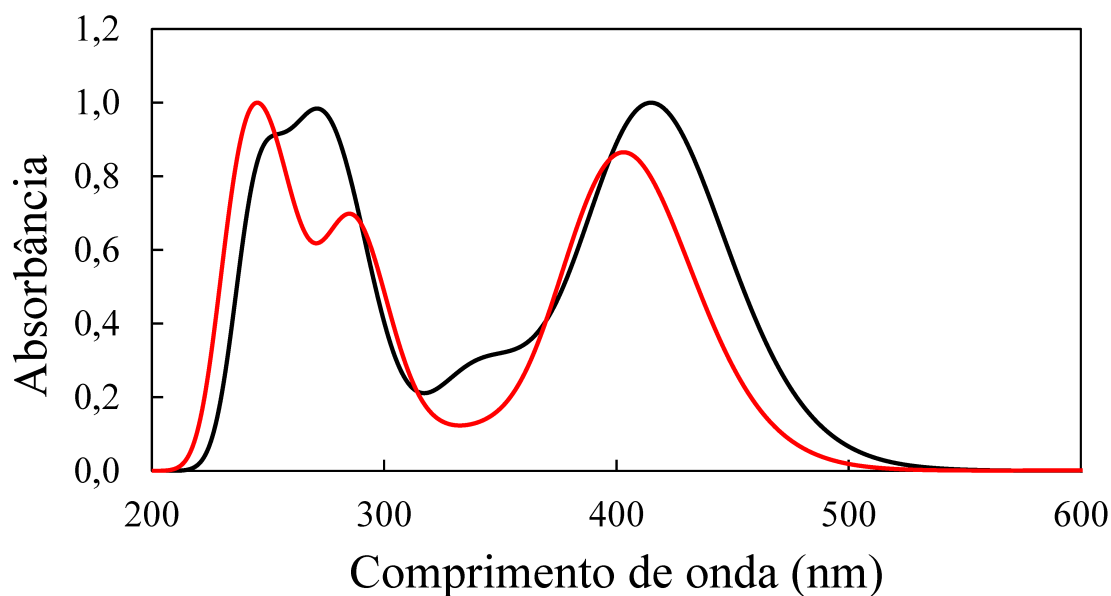
YANG, Y.; LIAO, G., FU, C. Recent Advances on Octahedral Polypyridyl Ruthenium(II) Complexes as Antimicrobial Agents. **Polymers**, vol. 10, 6, 650, 2018. <https://doi.org/10.3390/polym10060650>

ZAYAT, L.; FILEVICH, O.; BARALDO, L. M.; ETCHENIQUE, R.. Ruthenium polypyridyl phototriggers: from beginnings to perspectives. **Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences**, vol. 371(1995), 20120330–20120330, 2013. <https://doi.org/10.1098/rsta.2012.0330>

ZHANG, D.; LI, M.; RAHMAN, A. F. M. M.; LIU, Z.; LU, Y. Exploring the DNA-binding and anticancer potential of polypyridyl ruthenium(II) complexes. **Journal of Molecular Structure**, vol. 1321, Part 4, 140044, 2025. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.140044>

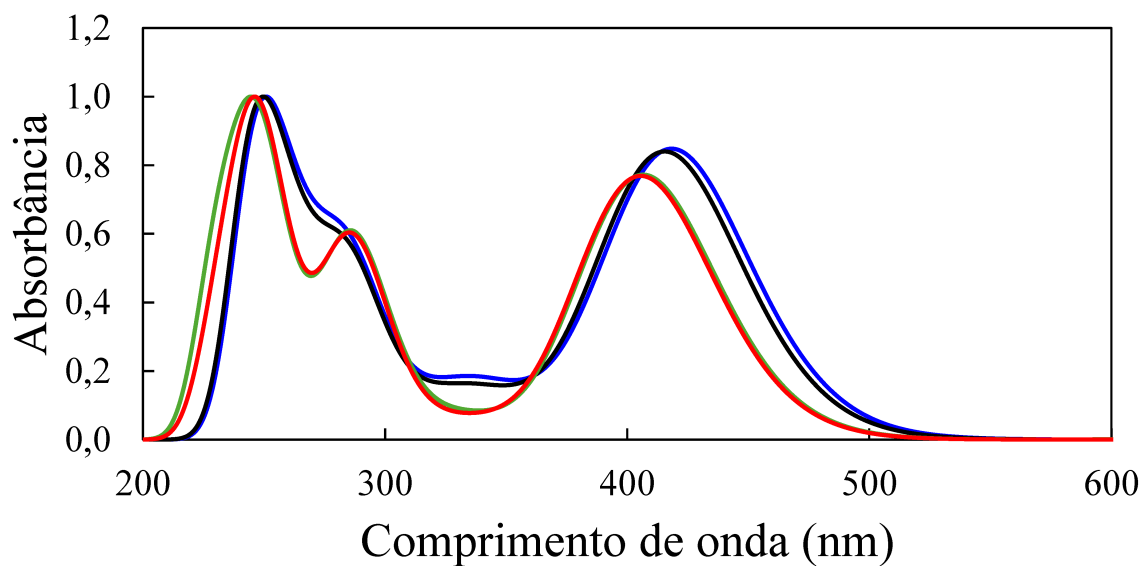
7. ANEXOS

Anexo A. Espectro eletrônico teórico na região UV-Vis. segundo o método TD-DFT para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (—) e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (—) em água a 298,15 K.

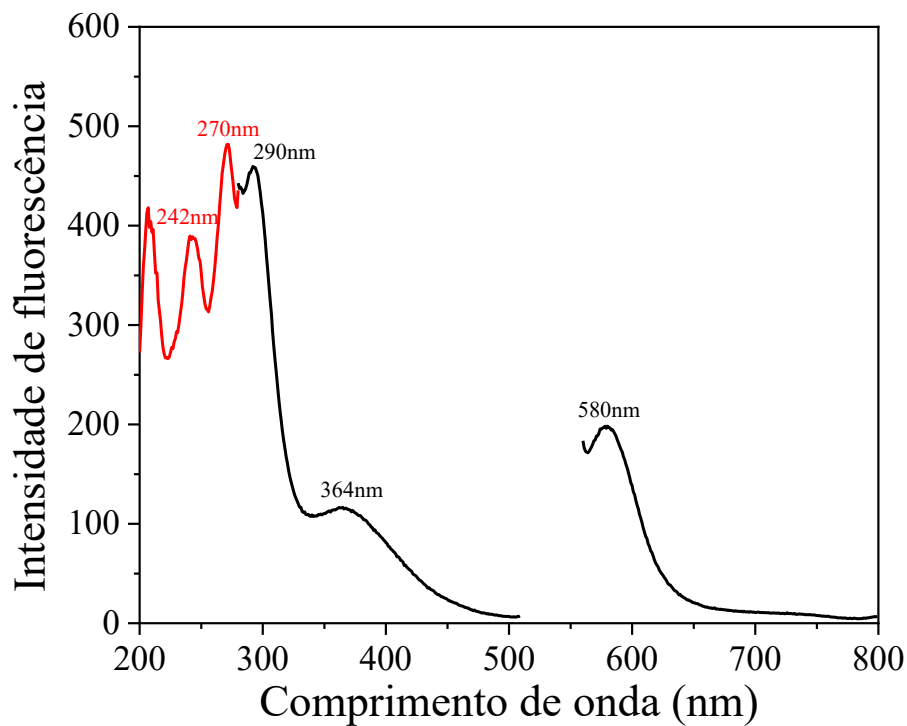


Fonte: Autora

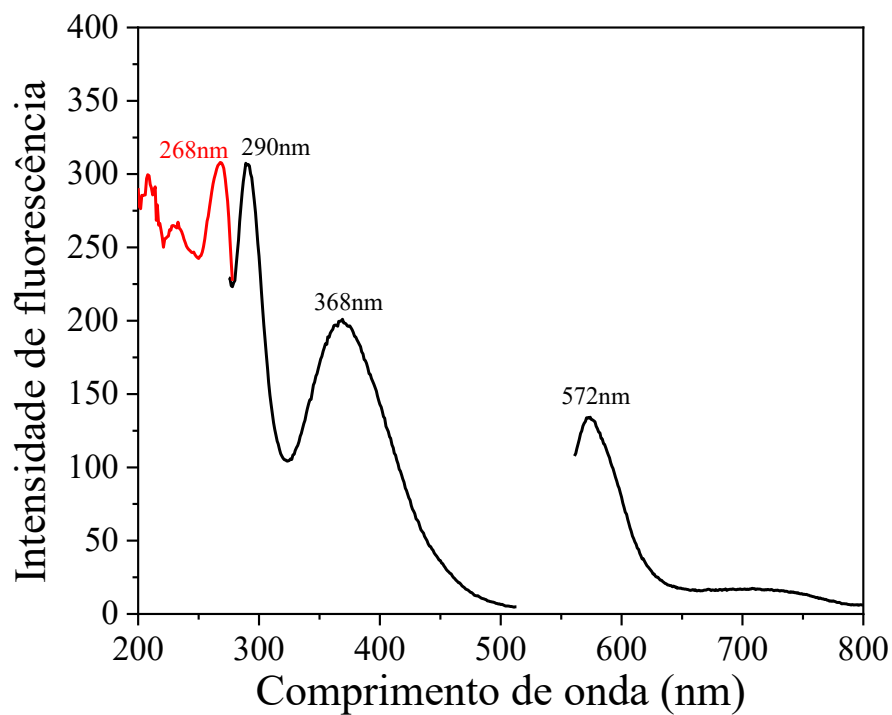
Anexo B. Espectro eletrônico teórico na região UV-Vis. segundo o método TD-DFT para os complexos $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (isômero 1) (—), $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (isômero 2) (—), $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (isômero 1) (—) e $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (isômero 2) (—) em água a 298,15 K.



Anexo C. Espectro de emissão (—) e excitação (—) para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bd})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (a) em KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{OH}_2(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (b) em água. $\lambda_{\text{ex}}=270 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{em}}=290 \text{ nm}$. Janelas 10/10. T = 298K.



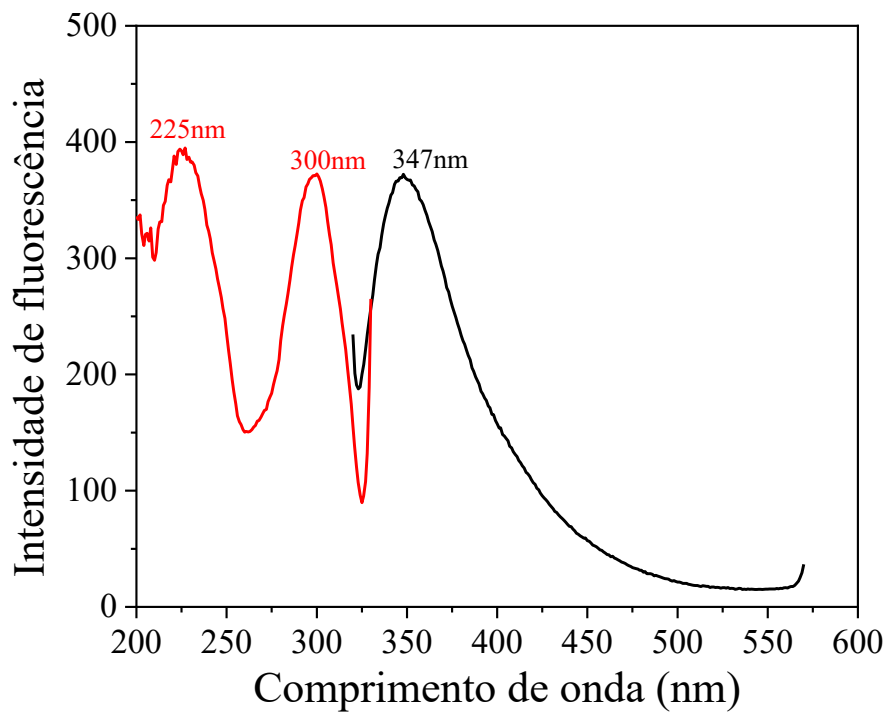
(a)



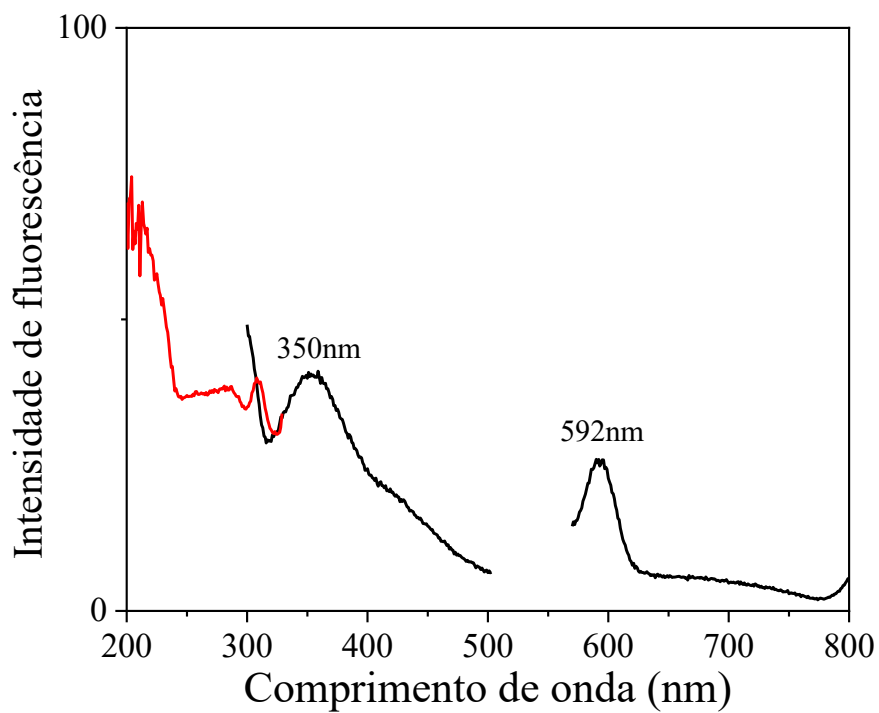
(b)

Fonte: Autora

Anexo D. Espectro de emissão (—) e excitação (—) para o complexo $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{Cl}(\text{bdq})(\text{tpy})]\text{PF}_6$ (a) em KCl ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e $[\text{Ru}^{\text{II}}\text{OH}_2(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (b) em água. $\lambda_{\text{ex}}=300 \text{ nm}$ e $\lambda_{\text{em}}=345 \text{ nm}$. Janelas 10/10. T = 298K.



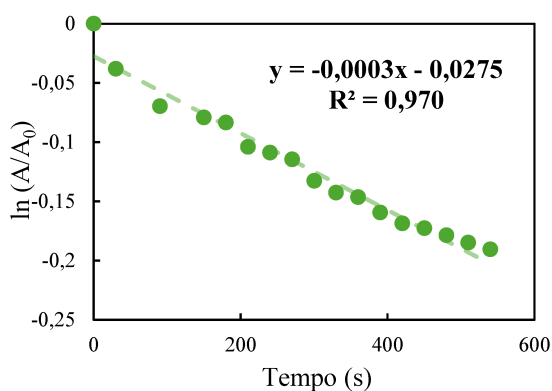
(a)



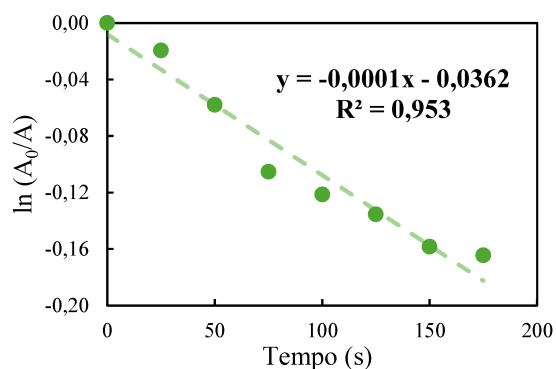
(b)

Fonte: Autora

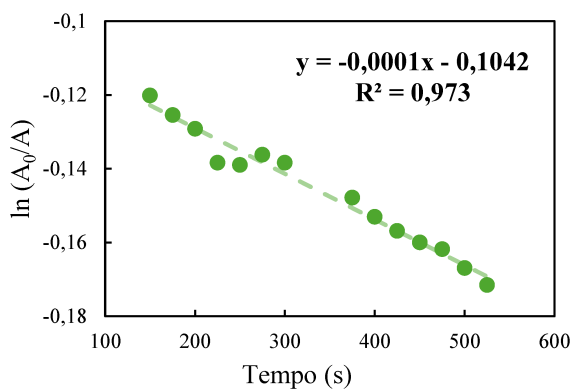
Anexo E. Determinação gráfica da constante cinética de aquação (k_{aq}) para o complexo $[Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF_6$ em água (a) tampão PBS (b) e tampão Tris (c).



(a)



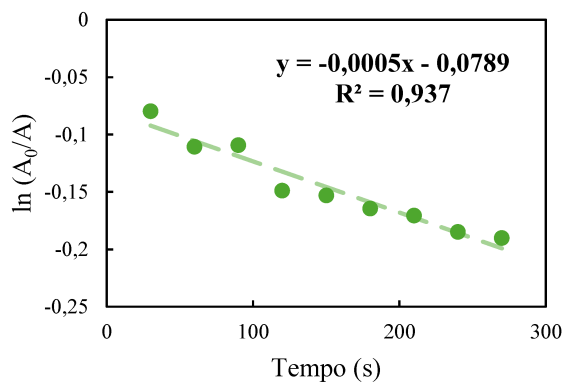
(b)



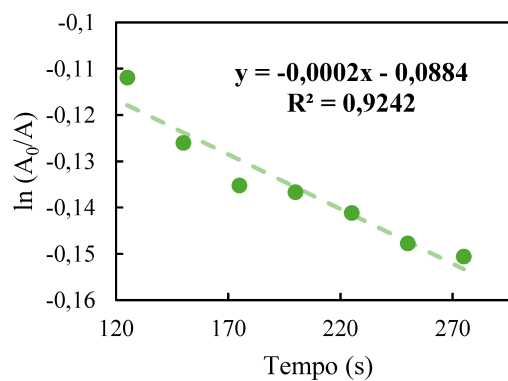
(c)

Fonte: Autora

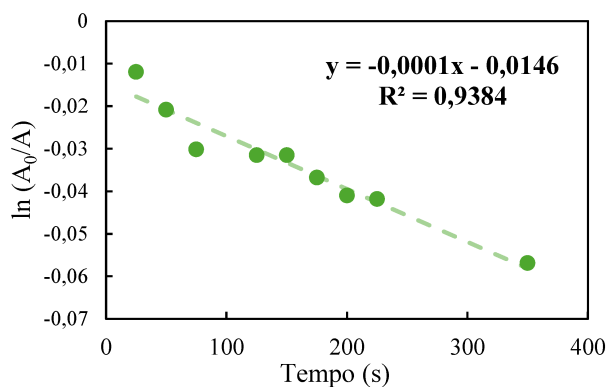
Anexo F. Determinação gráfica da constante cinética de aquação (k_{aq}) para o complexo $[Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF_6$ em água (a) tampão PBS (b) e tampão Tris (c).



(a)



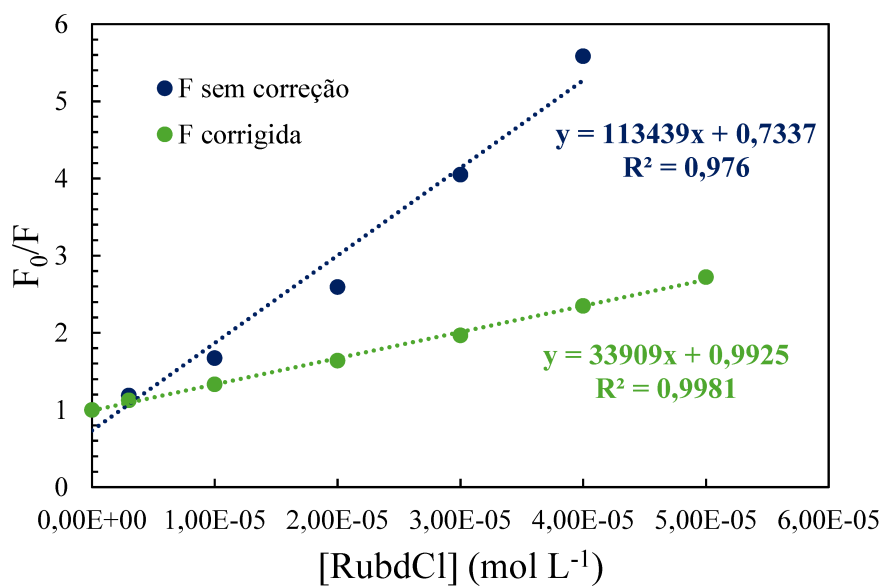
(b)



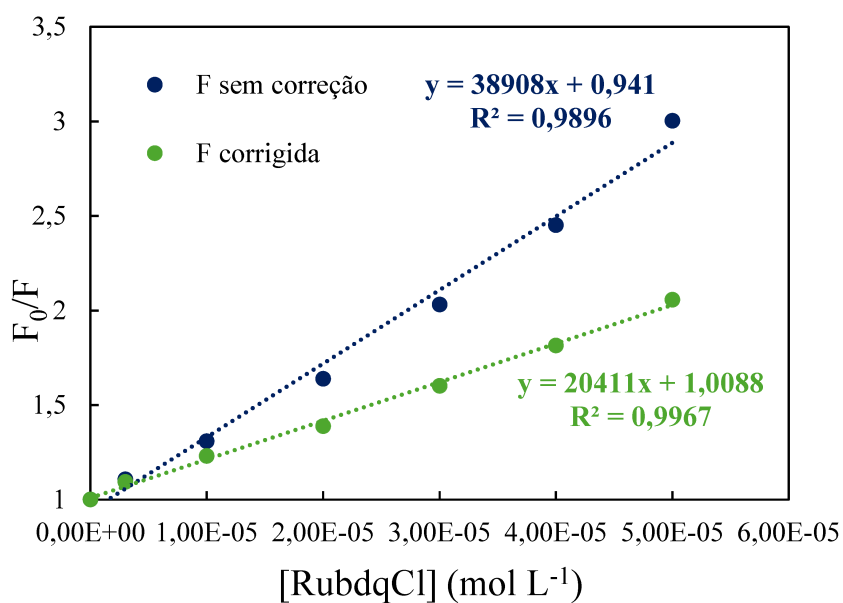
(c)

Fonte: Autora

Anexo G. Determinação da constante de Stern-Volmer (K_{SV}) para os complexos $[Ru^{II}Cl(bd)(tpy)]PF_6$ (a) e $[Ru^{II}Cl(bdq)(tpy)]PF_6$ (b) com e sem correção da fluorescência por ajuste do Efeito do Filtro Interno.



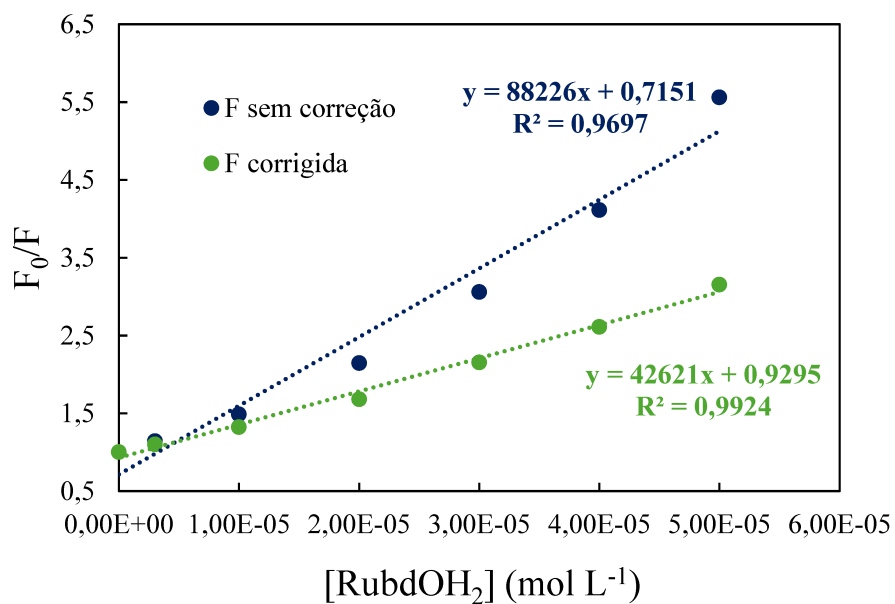
(a)



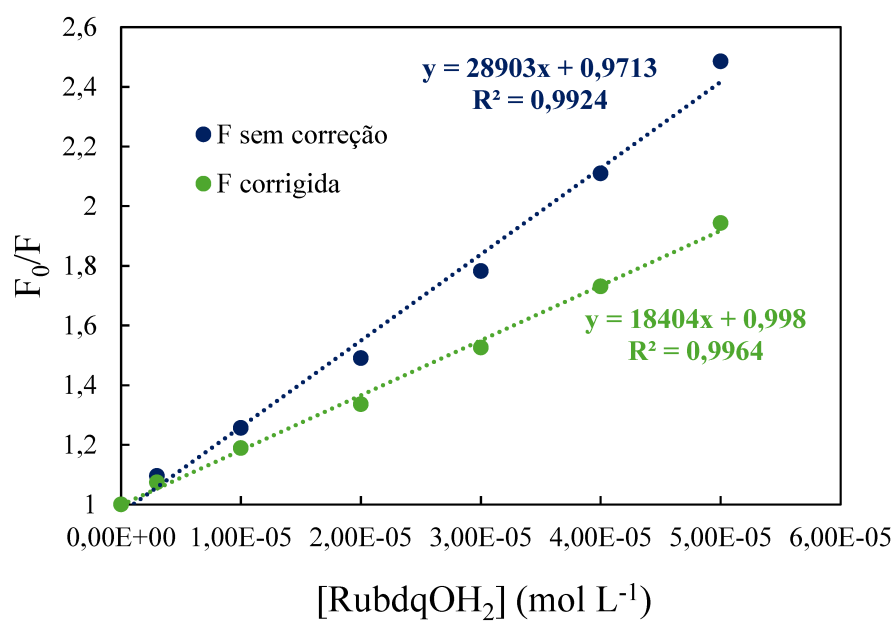
(b)

Fonte: Autora

Anexo H. Determinação da constante de Stern-Volmer (K_{SV}) para os complexos $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bd})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (a) e $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{bdq})(\text{tpy})](\text{PF}_6)_2$ (b) com e sem correção da fluorescência por ajuste do Efeito do Filtro Interno.



(a)



(b)

Fonte: Autora