

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS**

**JÚLIA SCAFF MOREIRA DIAS**

**OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO IN VITRO DA ATIVIDADE  
CITOTÓXICA E, OU, LEISHMANICIDA DE NOVOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO  
(II) E (III) CONTENDO HIDROXIBENZOFENONAS E 1-HIDROXI-9,10-  
ANTRAQUINONA**

**Alfenas/ MG**

**2021**

JÚLIA SCAFF MOREIRA DIAS

OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO IN VITRO DA ATIVIDADE  
CITOTÓXICA E, OU, LEISHMANICIDA DE NOVOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO (II)  
E (III) CONTENDO HIDROXIBENZOFENONAS E 1-HIDROXI-9,10-  
ANTRAQUINONA

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Carlos Doriguetto  
Coorientadora: Dra. Marília I. Frazão Barbosa

Alfenas/ MG

2021

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central – Campus Sede

Dias, Júlia Scaff Moreira

D541o Obtenção, caracterização e estudo in vitro da atividade citotóxica e, ou, leishmanicida de novos complexos de rutênio (II) e (III) contendo hidroxibenzofenonas e 1-hidroxi-9,10-antraquinona / Júlia Scaff Moreira Dias – Alfenas, MG, 2021.  
263 f.: il. –

Orientador: Antônio Carlos Doriguetto.

Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Alfenas, 2021.

Bibliografia.

1. Química Inorgânica. 2. Hidroxibenzofenonas. 3. Hidroxiantraquinona. 4. Rutênio. 5. Agentes terapêuticos. 6. Compostos de coordenação.

I. Doriguetto, Antônio Carlos. II. Título.

CDD- 546

**JÚLIA SCAFF MOREIRA DIAS**

**OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO IN VITRO DA ATIVIDADE  
CITOTÓXICA E, OU, LEISHMANICIDA DE NOVOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO  
(II) E (III) CONTENDO HIDROXIBENZOFENONAS E 1-HIDROXI-9,10-  
ANTRAQUINONA**

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Inorgânica.

Aprovada em: 17 de junho de 2021.

Prof. Dr. Antônio Carlos Doriguetto  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Profa. Dra. Maria Vanda Marinho  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Eduardo Tonon de Almeida  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Paulo César Mendes Villis

Instituição: Universidade Ceuma

Profa. Dra. Pollyanna Francielli de Oliveira

Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Antônio Carlos Doriguetto, Professor do Magistério Superior**, em 17/06/2021, às 19:25, 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 **Maria Vanda Marinho, Professor do Magistério Superior**, em 17/06/2021, às 19:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Pollyanna Francielli de Oliveira, Professor do Magistério Superior**, em 17/06/2021, às 19:28, 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 **Eduardo Tonon de Almeida, Professor do Magistério Superior**, em 17/06/2021, às 19:30, 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 **Paulo Cesar Mendes Villis, Usuário Externo**, em 18/06/2021, às 11:17, 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://sei.unifalmg.edu.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.unifalmg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0532380** e o código CRC **4F5AA057**.

Aos meus pais Maria da Graça e Noel por todo amor, dedicação e apoio ao longo deste trabalho, e ao meu irmão Jonas pelo incentivo diário.

## AGRADECIMENTOS

Inicio meus agradecimentos citando um pequeno trecho de João Guimarães Rosa, o qual traduz o sentimento que por diversas vezes tomou conta de mim ao longo desse período de doutorado: “Quem elegeu a busca não pode recusar a travessia”. A busca por conhecimento, aprendizagem e amadurecimento científico não é rápida e muito menos fácil, diversos são os obstáculos reais e imaginários a serem enfrentados. Há momentos em que a travessia parece ser mais longa do que estamos preparados, o caminho contém muitas curvas e inevitavelmente o desânimo e as dúvidas assombram. Nessas horas, somos presenteados por não estarmos sozinhos e por poder contar com a presença de pessoas especiais em nossa vida que nos estimulam a continuar, nos dão forças para improvisar, contornar os obstáculos e seguir a travessia. Talvez algumas destas pessoas nem imaginem o quanto contribuíram para tornar este caminho melhor e por esta razão, este é o momento de prestar eterna gratidão:

Aos meus pais Maria da Graça e Noel, por todo amor, carinho, ensinamentos e esforços, os quais foram determinantes para que eu pudesse chegar até aqui. Ao meu irmão Jonas, que sempre me incentivou a persistir em meus objetivos.

A minha família científica: ao Prof. Dr. Antônio Carlos Doriguetto, pela orientação ao longo desses 7 anos, conhecimentos transmitidos e inspiração de pesquisador a ser seguido; a minha coorientadora Marília I. Frazão Barbosa por todos os ensinamentos na Química de coordenação do Rutênio. Obrigada por me ensinar a persistir e ser resiliente nesse caminho da síntese Inorgânica. Aos colegas de grupo que tornaram a caminhada mais amena, dividindo preocupações e somando conquistas.

Ao professor Dr. Eduardo Tonon de Almeida, pelos ensinamentos transmitidos nas disciplinas da pós-graduação, auxílio na parte experimental no início do mestrado e livre acesso ao Laboratório Interdisciplinar de Química (LabIQ).

À professora Dra. Maria Vanda Marinho por participar de etapas importantes da minha vida acadêmica, pelo carinho e empatia demonstrados a cada encontro.

Aos amigos Henrique, Ricardo, Iara, Luana, Alberth, Luis e Nathália que assim como eu iniciaram a pesquisa no LabIQ da Universidade Federal de Alfenas, obrigada pelos momentos ímpares que vivemos, eles estarão sempre em minha memória.

À professora Dra. Marisa Ionta e ao Ms. Guilherme Álvaro Ferreira da Silva pela

colaboração e parceria na realização dos ensaios para análise da atividade citotóxica dos complexos.

À professora Dra. Elisalva Teixeira Guimarães e à aluna Jéssica Silva Teixeira pela colaboração no estudo da atividade leishmanicida dos complexos.

À Dra. Katia Mara de Oliveira por toda assistência na implementação dos ensaios de interação com o DNA e albumina de soro humano na Unifal-MG.

À Professora Charlane Cimini Corrêa, ao professor Dr. Felipe Terra Martins e ao Dr. João Honorato de Araújo Neto pelas medidas de monocristais.

Ao Dr. Rommel Bezerra Viana pela colaboração com os cálculos computacionais.

Aos técnicos do Instituto de Química da Universidade Federal de Alfenas pelo suporte no desenvolvimento deste trabalho.

À secretaria e à Coordenação do PPGQ pelo suporte, apoio e atenção ao meu acompanhamento acadêmico.

A todos professores que participaram da minha formação acadêmica, obrigada por todo conhecimento, paciência e fé que depositam nesta linda e desafiadora profissão.

Aos órgãos de fomento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

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

*“O homem nasceu para aprender tanto quanto a vida lhe permita.”*

(JOÃO GUIMARÃES ROSA, 1983, p. 27)

## RESUMO

O desenvolvimento de novos complexos metálicos com fins terapêuticos é destaque na comunidade científica. Nesta perspectiva, o presente trabalho descreve a síntese, caracterização e estudo *in vitro* da atividade citotóxica e leishmanicida de novos complexos de rutênio (II) e (III) contendo hidroxibenzofenonas e 1-hidroxi-9,10-antraquinona. A série 1 é composta por seis complexos de fórmula geral *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(HB)(dppb)] em que HB = HB1 = 2-hidroxi-4-(octiloxi)benzofenona (1), HB2 = 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona (2), HB3 = 2,2'-dihidroxi-4,4'-dimetoxibenzofenona (3), HB4 = 2,2'-dihidroxi-4-metoxibenzofenona (4), HB5 = 2,4-dihidroxibenzofenona (5), HB6 = 2,4,4'-trihidroxibenzofenona (6) e dppb = 1,4-bis(difenilfosfinabutano). Enquanto a série 2 é constituída por dois complexos de fórmula geral *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(HQ)(dppb)] (7) e *trans*-[Ru(HQ)(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)]PF<sub>6</sub> (8), onde HQ = 1-hidroxi-9,10-antraquinona, PPh<sub>3</sub> = trifenilfosfina e bipy = 2,2'-bipiridina. Os complexos foram caracterizados utilizando-se as técnicas: análise elementar, análises térmicas, condutividade molar, espectroscopias de absorção na região do infravermelho, do ultravioleta e visível, espectroscopia de ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} e <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}, difração de raios X por monocristal e por policristais e voltametria cíclica. Estudos de modelagem molecular foram empregados para avaliar as estruturas dos complexos obtidos e prever sobre possíveis isômeros, bem como auxiliar nas atribuições das bandas observadas na espectroscopia de UV-vis. A estabilidade dos complexos em solução foi avaliada durante 48 horas e posteriormente os ensaios *in vitro* contra a forma promastigota de *Leishmania amazonensis*, apontaram maior atividade leishmanicida para (8) (CI<sub>50</sub> = 2,2 µM), entretanto sua citotoxicidade elevada contra os macrófagos (CC<sub>50</sub> = 0,5 µM e IS = 0,2) inviabilizou o prosseguimento dos estudos. Em contrapartida, três (HB4, HB5 e HB6) das seis hidroxibenzofenonas utilizadas demonstraram resultados comparáveis a fármacos de referência no tratamento da doença. O complexo (8) apresentou potencial citotóxico mais promissor frente à linhagem CHL-1 derivada de melanoma (CI<sub>50</sub> = 14,50 µM, CC<sub>50</sub> = 105,9 µM e IS = 7,3) e sua interação com o DNA e albumina sérica humana foram investigadas.

**Palavras-Chave:** Hidroxibenzofenonas; Hidroxiantraquinona; Rutênio; Agentes terapêuticos; Compostos de coordenação.

## ABSTRACT

The development of new metal complexes for therapeutic purposes is highlighted in the scientific community. In this perspective, the present work describes the synthesis, characterization and *in vitro* study of the cytotoxic and leishmanicidal activity of new ruthenium (II) and (III) complexes containing hydroxybenzophenones and 1-hydroxy-9,10-anthraquinone. Series 1 is composed of six complexes with the general formula *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(HB)(dppb)] where HB = HB1 = 2-hydroxy-4-(octyloxy)benzophenone (1), HB2 = 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone (2), HB3 = 2,2'-dihydroxy-4,4'-dimethoxybenzophenone (3), HB4 = 2,2'-dihydroxy-4-methoxybenzophenone (4), HB5 = 2,4-dihydroxybenzophenone (5), HB6 = 2,4,4'-trihydroxybenzophenone (6) and dppb = 1,4-bis(diphenylphosphinebutane). While series 2 is constituted by two complexes of general formula *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(HQ)(dppb)] (7) and *trans*-[Ru(HQ)(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)]PF<sub>6</sub> (8), where HQ = 1-hydroxy-9,10-anthraquinone, PPh<sub>3</sub> = triphenylphosphine and bipy = 2,2'-bipyridine. The complexes were characterized using the following techniques: elemental analysis, thermal analysis, molar conductivity, infrared, ultraviolet and visible absorption spectroscopy, <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} and <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} nuclear magnetic resonance spectroscopy, X-ray diffraction by single and polycrystals and cyclic voltammetry. Molecular modeling studies were used to evaluate the structures of the complexes obtained and to predict possible isomers, as well as to assist in the assignment of the bands observed in the UV-vis spectroscopy. The stability of the complexes in solution was evaluated for 48 hours and later, *in vitro* assays against the promastigote form of *Leishmania amazonensis*, showed greater leishmanicidal activity for (8) (IC<sub>50</sub> = 2,2 μM), however its high cytotoxicity against macrophages (CC<sub>50</sub> = 0,5 μM and IS = 0,2) made it impossible to continue the studies. In contrast, three (HB4, HB5 and HB6) of the six hydroxybenzophenones used showed results comparable to reference drugs in the treatment of the disease. The complex (8) showed more promising cytotoxic potential against the melanoma-derived CHL-1 lineage (IC<sub>50</sub> = 14,50 μM, CC<sub>50</sub> = 105,9 μM and IS = 7,3) and its interaction with DNA and human serum albumin were investigated.

**Keywords:** Hydroxybenzophenones; Hydroxyanthraquinone; Ruthenium; Therapeutic agentes; Coordination compounds.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Complexos de Pt(II) aprovados para comercialização.....	322
Figura 2 - Principais áreas de atuação da Química Inorgânica Medicinal.....	333
Figura 3 - Estrutura dos ligantes utilizados no trabalho e abreviaturas.....	34
Figura 4 - Classificação estrutural das BZF.....	36
Figura 5 - Reação de acilação de Friedel-Crafts.....	37
Figura 6 - Fármacos derivados de benzofenonas comercializados para uso terapêutico.....	37
Figura 7 - Representação estrutural dos complexos de Zn(II) com HB.....	39
Figura 8 - Estrutura química de cinco antraquinonas.....	40
Figura 9 - Fármacos com núcleo de antraquinona.....	41
Figura 10 - Complexo binuclear de rutênio com antraquinona polipiridínica.....	42
Figura 11 - Representação estrutural do complexo de Cu(II) com emodina.....	42
Figura 12 - a) Estrutura da piridina e b) sua ligação com metais.....	43
Figura 13 - Sistemas polipiridínicos.....	44
Figura 14 - Representação das interações metal-ligante: 1 = ligação $\sigma$ ; 2 = retrodoação $\pi$ .....	45
Figura 15 - Primeiros complexos de Ru(III) a apresentar atividade antitumoral.....	47
Figura 16 - Complexos RAPTAs.....	47
Figura 17 - Estrutura do complexo TLD-1433.....	48
Figura 18 - a) Estrutura do $[\text{RuCl}_2(\text{CQ})_2]$ e b) Estrutura da Cloroquina.....	52
Figura 19 - Complexos de rutênio com atividade anti-parasitária.....	53
Figura 20 - Estágios da carcinogênese.....	54
Figura 21 - Etapas da metástase.....	55
Figura 22 - Gráficos de pizza apresentam a distribuição de casos e mortes dos cânceres mais comuns no mundo em 2020, para ambos os sexos.....	56
Figura 23 - Gráficos de pizza apresentam a distribuição de casos de cânceres mais comuns no mundo em 2020, por sexos.....	56
Figura 24 - Gráficos de pizza apresentam a distribuição dos cânceres mais comuns no Brasil em 2020, para ambos os sexos.....	58
Figura 25 - Gráficos de pizza apresentam a distribuição dos cânceres mais comuns no Brasil em 2020.....	59
Figura 26 - Estruturas de alguns antineoplásicos de acordo com o modo de	

ação com o DNA.....	61
Figura 27 - Representação esquemática dos possíveis modos de interação complexo-DNA.....	62
Figura 28 - Representação de possíveis interações atuantes em intercaladores.....	63
Figura 29 - Estruturas químicas das classes de moléculas intercaladoras clássicas.....	64
Figura 30 - Representação da estrutura da HSA.....	66
Figura 31 - Fases do ciclo celular.....	69
Figura 32 - Flebotomíneos.....	70
Figura 33 - Manifestações clínicas da Leishmaniose cutânea: a) localizada, b) disseminada, c) mucosa e d) difusa.....	71
Figura 34 - Ciclo de vida dos parasitos do gênero <i>Leishmania</i> .....	74
Figura 35 - Estrutura química de fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose.....	74
Figura 36 - Modo de ataque nucleofílico pelo qual serino e cisteíno proteases catalisam a hidrólise de peptídeos ou seligam irreversivelmente a a alguns inibidores.....	78
Figura 37 - Proliferação do parasito do gênero <i>Leishmania</i> via L-arginina.....	79
Figura 38 - Esquema de competição pela L-arginina entre as enzimas ARG e NOS.....	80
Figura 39 - Estrutura química do ergosterol.....	80
Figura 40 - Enzima esterol 14 $\alpha$ -desmetilase.....	81
Figura 41 - Sistema de secagem de gás argônio.....	87
Figura 42 - a) Ligantes fosfínicos, b) Ligantes polipiridínicos, c) Hidroxibenzofenonas e Hidroxiantraquinona.....	88
Figura 43 - Sistema de geração de gás cloro.....	89
Figura 44 - CCD do complexo (2) após 24 h; (3:7) acetato de etila: hexano.....	93
Figura 45 - Representação esquemática da técnica de evaporação lenta do solvente.....	97
Figura 46 - Complexos sintetizados: a) série 1 e b) série 2.....	108
Figura 47 - Espectro de FTIR do complexo precursor <i>mer</i> -[RuCl <sub>3</sub> (dppb)(H <sub>2</sub> O)].....	109
Figura 48 - Espectros de FTIR das hidroxibenzofenonas.....	110
Figura 49 - Ligação de hidrogênio intramolecular para HB2.....	111
Figura 50 - a) Espectros de FTIR de (1) e HB1 b) região ampliada dos	

espectros (1800-1100 cm <sup>-1</sup> ).....	112
Figura 51 - a) Espectros de FTIR de (2) e HB2 b) região ampliada dos espectros (1800-1100 cm <sup>-1</sup> ).....	113
Figura 52 - a) Espectros de FTIR de (6) e HB6 b) região ampliada dos espectros (1800-1100 cm <sup>-1</sup> ).....	114
Figura 53 - Representação das ligações de hidrogênio intramolecular de (3) e (4).....	115
Figura 54 - a) Espectros de FTIR de (3) e HB3 b) região ampliada dos espectros (1800-1100 cm <sup>-1</sup> ).....	116
Figura 55 - a) Espectros de FTIR de (4) e HB4 b) região ampliada dos espectros (1800-1100 cm <sup>-1</sup> ).....	117
Figura 56 - a) Espectros de FTIR de (5) e HB5 b) região ampliada dos espectros (1800-1100 cm <sup>-1</sup> ).....	118
Figura 57 - Espectro de UV-vis do precursor <i>mer</i> -[RuCl <sub>3</sub> (dppb)(H <sub>2</sub> O)] em CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 3,37 x 10 <sup>-5</sup> mol·L <sup>-1</sup> .....	121
Figura 58 - Espectros de UV-vis dos complexos e ligantes (série 1) em CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> .....	122
Figura 59 - Cor verde dos complexos (série 1).....	123
Figura 60 - Representação dos orbitais d em um campo octaédrico para a configuração eletrônica d <sup>5</sup> .....	123
Figura 61 - Representações estruturais da unidade assimétrica dos complexos: a) (2), b) (3), c) (4) e d) (5) com poliedros demonstrando geometria octaédrica distorcida ao redor do cátion Ru(III).....	127
Figura 62 - Sobreposição das estruturas (2-5) selecionando os cátions Ru(III) e os seis átomos homólogos na esfera de coordenação.....	130
Figura 63 - Dímero constituído por ligações de hidrogênio intermolecular entre as moléculas de (5).....	132
Figura 64 - Sobreposição dos cristais isoestruturais (2) e (4) considerando átomos homólogos.....	133
Figura 65 - Empacotamento cristalino parcial de (2) (superior) e (4) (inferior) em seus respectivos planos [0 1 -1] destacando o isotopismo estrutural.....	134

Figura 66 - Empacotamento cristalino parcial de (4) mostrando a cadeia supramolecular estabilizada por ligações de hidrogênio não clássicas ao longo do eixo c da célula unitária.....	135
Figura 67 - Empacotamento cristalino de (3) (direita) e (5) (esquerda) visto ao longo da direção [101] com moléculas de solvente (representadas por esferas vermelhas) e na ausência de moléculas de solvente (vacâncias ocupando o espaço).....	135
Figura 68 - Difrátogramas simulado e experimental dos complexos (2) e (4).....	136
Figura 69 - Difrátogramas simulado e experimental dos complexos (3) e (5).....	137
Figura 70 - Difrátogramas do precursor <i>mer</i> -[RuCl <sub>3</sub> (dppb)(H <sub>2</sub> O)], (HB3) e (3).....	138
Figura 71 - Difrátogramas do precursor <i>mer</i> -[RuCl <sub>3</sub> (dppb)(H <sub>2</sub> O)], (HB5) e (5).....	138
Figura 72 - Difrátogramas experimentais do precursor <i>mer</i> -[RuCl <sub>3</sub> (dppb)(H <sub>2</sub> O)], HB1 e complexo (1).....	139
Figura 73 - Difrátogramas experimentais do precursor <i>mer</i> -[RuCl <sub>3</sub> (dppb)(H <sub>2</sub> O)], HB6 e complexo (6).....	140
Figura 74 - Curvas TG das HB.....	141
Figura 75 - Curvas TG e DTA das HB.....	142
Figura 76 - Curvas TG dos complexos.....	143
Figura 77 - Curvas TG e DTA de (1).....	144
Figura 78 - Curvas TG e DTA de (2).....	145
Figura 79 - Curvas TG e DTA de (3).....	146
Figura 80 - Curvas TG e DTA de (4).....	147
Figura 81 - Curvas TG e DTA de (5).....	148
Figura 82 - Curvas TG e DTA de (6).....	149
Figura 83 - Difrátogramas dos resíduos de (1-6) após TGA/DTA.....	150
Figura 84 - Reações de redução das benzofenonas.....	151
Figura 85 - Efeito de ressonância ocasionado por grupos doadores (Y) em posição <i>para</i> à carbonila.....	152
Figura 86 - Voltamograma cíclico do <i>mer</i> -[RuCl <sub>3</sub> (dppb)(H <sub>2</sub> O)], PTBA 0,1 mol ·L <sup>-1</sup> em CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> vs Ag/AgCl, velocidade de varredura 100 mV·s <sup>-1</sup> .....	153
Figura 87 - Voltamogramas cíclicos dos complexos: a) (1), b) (2), c) (3),d) (4), e) (5) e f) (6), eletrólito PTBA 0,1 mol·L <sup>-1</sup> em CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> vs Ag/AgCl, velocidade de varredura 100 mV·s <sup>-1</sup> .....	154

Figura 88 - Sobreposição das estruturas obtidas por DRXM (em azul) e calculadas com o funcional PBE0 (em vermelho).....	157
Figura 89 - Mapas de potencial eletrostático molecular (MEP) dos Complexos (1) e (2).....	158
Figura 90 - Análise comparativa entre: (A) a estrutura otimizada do Complexo (2) obtida por DRXM e (B) o efeito de uma orientação diferente dos átomos de cloro e ligante HB2.....	159
Figura 91 - Análise comparativa entre a estrutura otimizada do complexo (3) obtida por DRXM (A) e o efeito de um local de coordenação diferente no ligante HB3 (B).....	160
Figura 92 - Distribuição das cargas atômicas de Mülliken (em u.a.) dos complexos (2) e (3) após o rearranjo unimolecular (B).....	160
Figura 93 - Estruturas otimizadas dos complexos de rutênio com os átomos de cloro posicionados <i>cis</i> e <i>trans</i> .....	161
Figura 94 - Energia livre de Gibbs relativa ( $\Delta G$ , a 298,15 K, em kcal mol <sup>-1</sup> ) entre as estruturas com os átomos de cloro <i>cis</i> e <i>trans</i> na fase gasosa, solventes clorofórmio e etanol calculados com o modelo SMD.....	162
Figura 95 - Análise dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO (autovalor = 0.05 u.a.) dos complexos da série 1.....	163
Figura 96 - a) Espectros de FTIR do <i>mer</i> -[RuCl <sub>3</sub> (dppb)(H <sub>2</sub> O)], HQ e (7) e b) região ampliada dos espectros de HQ e (7) (1800-1100 cm <sup>-1</sup> ).....	165
Figura 97 - a) Espectros de FTIR de <i>cis,trans</i> -[RuCl <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (bipy)], HQ e (8) e b) região ampliada dos espectros de HQ e (8) (1800-1100 cm <sup>-1</sup> ).....	166
Figura 98 - Espectro de UV-vis de HQ em CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> 2,65 x 10 <sup>-5</sup> mol·L <sup>-1</sup> .....	168
Figura 99 - Ligação de hidrogênio intramolecular da HQ.....	169
Figura 100 - Espectros de UV-vis dos complexos (7) e (8) em CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> .....	169
Figura 101 - Cores dos complexos da série 2.....	170
Figura 102 - Representação dos orbitais d em um campo octaédrico para a configuração eletrônica d <sup>6</sup> .....	171
Figura 103 - Espectro de RMN <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H} do complexo (8) em CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /D <sub>2</sub> O.....	173
Figura 104 - a) Espectro de RMN <sup>1</sup> H da HQ em CDCl <sub>3</sub> b) Espectro de RMN <sup>1</sup> H de (8) em CDCl <sub>3</sub> .....	174
Figura 105 - a) Espectro de RMN <sup>13</sup> C{ <sup>1</sup> H} da HQ em CDCl <sub>3</sub> . b) Espectro de	

RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ de (8) em $\text{CDCl}_3$ .....	175
Figura 106 - Representação estrutural da unidade assimétrica do complexo (7) com poliedro demonstrando geometria octaédrica distorcida ao redor do cátion Ru(III).....	177
Figura 107 - Sobreposição das estruturas (2) e (7) selecionando os cátions Ru(III) e os seis átomos homólogos na esfera de coordenação.....	179
Figura 108 - Empacotamento cristalino do complexo (7) estabilizado por ligações de hidrogênio clássicas e não clássicas ao longo do eixo c.....	181
Figura 109 - Difratogramas simulado e experimental do complexo (7).....	181
Figura 110 - Difratogramas de <i>cis,trans</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})]$ , HQ e (8).....	182
Figura 111 - Curvas TG e DTA da HQ.....	183
Figura 112 - Curvas TG e DTA de (7).....	184
Figura 113 - Curvas TG e DTA de (8).....	185
Figura 114 - Difratogramas dos resíduos de (7) e (8) após TGA/DTA.....	186
Figura 115 - Reações de redução de HQ.....	188
Figura 116 - Voltamograma cíclico do complexo (7), eletrólito PTBA 0,1 mol·L <sup>-1</sup> em $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ vs Ag/AgCl, velocidade de varredura 100 mV·s <sup>-1</sup> .....	188
Figura 117 - Voltamograma cíclico do complexo (8), eletrólito PTBA 0,1 mol·L <sup>-1</sup> em $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ vs Ag/AgCl, velocidade de varredura 100 mV·s <sup>-1</sup> .....	189
Figura 118 - Espectros de UV-vis dos complexos de Ru(III) (série 1) em DMSO, no intervalo de 0, 24 e 48 horas.....	191
Figura 119 - Espectros de UV-vis dos complexos de Ru(III) (série 1) em DMF, no intervalo de 0, 24 e 48 horas.....	192
Figura 120 - Espectro de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (3) em DMSO/D <sub>2</sub> O.....	194
Figura 121 - Espectros de UV-vis dos complexos de Ru(III) (série 1) em DMSO e DMEM, no intervalo de 0, 24 e 48 horas.....	194
Figura 122 - Espectros de UV-vis do complexo (7) a) em DMSO b) em DMF c) em DMSO e DMEM, no intervalo de 0, 24 e 48 horas.....	195
Figura 123 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (8) em DMSO / D <sub>2</sub> O: t = 0 h, 24 h e 48 h.....	197
Figura 124 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (8) em DMF / D <sub>2</sub> O: t =	

0 h, 24 h e 48 h.....	197
Figura 125 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo (8) em DMSO e DMEM/ $\text{D}_2\text{O}$ : t = 0 h, 24 h e 48 h.....	198
Figura 126 - Viabilidade celular determinada por ensaio de MTS, após 48 h de tratamento com os complexos (1-8) na concentração de 40 $\mu\text{M}$ .....	199
Figura 127 - Viabilidade celular determinada por ensaio de MTS, após 48 h de tratamento com os ligantes e precursores na concentração de 80 $\mu\text{M}$ .....	200
Figura 128 - População de células viáveis e inviáveis obtidas por meio do ensaio de exclusão com azul de tripano na linhagem CHL-1 após 24 e 48 h de tratamento com (8) nas concentrações de 7,5 e 15,0 $\mu\text{M}$ .....	203
Figura 129 - Imagens representativas das culturas de CHL-1 obtidas por microscopia de contraste de fase após 24 h de tratamento com (8) nas concentrações de 7,5 e 15,0 $\mu\text{M}$ .....	204
Figura 130 - Efeitos do complexo (8) sobre a cinética de progressão do ciclo celular de culturas de CHL-1 após 24 h de tratamento nas concentrações de 7,5 e 15,0 $\mu\text{M}$ .....	205
Figura 131 - Ensaio de anexina V em culturas de CHL-1 tratadas por 24 horas com o complexo (8) nas concentrações de 7,5 e 15,0 $\mu\text{M}$ .....	207
Figura 132 - Espectros de UV-vis de titulações espectroscópicas de (8) $1,00 \cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ com $[\text{ct-DNA}] = 0-1,29 \cdot 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .....	208
Figura 133 - Espectro de emissão da HSA com concentrações crescentes do complexo (8).....	210
Figura 134 - Gráfico de Stern-Volmer de $F_0/F$ vs $[Q]$ para HSA na presença de diferentes concentrações de (8).....	211
Figura 135 - Gráficos de $\log (F_0 - F)/F$ vs $\log [Q]$ para HSA na presença de diferentes concentrações de (8).....	212
Figura 136 - Modelo termodinâmico hipotético de associação entre proteína e uma espécie ligante.....	213
Figura 137 - Porcentagem de promastigotas de <i>L. amazonensis</i> viáveis em	

<p>cultura axênica após os parasitos serem tratados a 10 <math>\mu</math>M por 72 horas com a) HB1-HB6 b) <i>mer</i>-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)] e os complexos (1-6).....</p>	214
Figura 138 - Interação cruzada e 2-hidroxi-4-O-butilbenzofenona.....	216
Figura 139 - Porcentagem de promastigotas de <i>L. amazonensis</i> viáveis em cultura axênica após os parasitos serem tratados a 10 $\mu$ M por 72 horas com HQ, precursores, (7) e (8).....	217
Figura 140 - Precursores de Ru(II) utilizados nas tentativas de sínteses.....	218
Figura 141 - a) Estrutura do complexo de Ru(III) com HB2, b) Estrutura do complexo de Ru(II) com 2-hidroxibenzofenona e c) Estruturas sugeridas para complexos carbonílicos de Ru(II) com HB reportadas na literatura.....	219
Figura 142 - Espectro de RMN <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H} do complexo <i>trans</i> -[Ru(HB <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ] em CDCl <sub>3</sub> .....	220
Figura 143 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H do complexo <i>trans</i> -[Ru(HB <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ] em CDCl <sub>3</sub> .....	221
Figura 144 - Estrutura do <i>cis</i> -[Ru(HB <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ].....	221
Figura 145 - Espectro de RMN <sup>31</sup> P{ <sup>1</sup> H} da síntese a partir de P <sub>1</sub> em CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /D <sub>2</sub> O.....	222

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores de $CI_{50} \pm DP$ (desvio padrão) ( $\mu M$ ) dos compostos frente as células tumorais.....	51
Tabela 2 - Espécies de <i>Leishmania</i> que causam leishmaniose no Brasil.....	72
Tabela 3 - Valores de $pK_a$ das hidroxibenzofenonas.....	93
Tabela 4 - Principais bandas e atribuições dos espectros de IV do <i>mer</i> - $[RuCl_3(dppb)(H_2O)]$ .....	109
Tabela 5 - Principais bandas e atribuições dos espectros de IV das HB e complexos (1-6).....	119
Tabela 6 - Coeficientes de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) e atribuições das bandas (série 1).....	124
Tabela 7 - Condutividade molar dos complexos (série 1).....	126
Tabela 8 - Principais dados cristalográficos dos complexos: a) (2), b) (3), c) (4) e d) (5).....	128
Tabela 9 - Principais comprimentos de ligações (Å) e ângulos ( $^\circ$ ) dos complexos (2-5).....	131
Tabela 10 - Dados das análises térmicas do complexo (1) e atribuições dos possíveis fragmentos decompostos.....	144
Tabela 11 - Dados das análises térmicas do complexo (2) e atribuições dos possíveis fragmentos decompostos.....	145
Tabela 12 - Dados das análises térmicas do complexo (3) e atribuições dos possíveis fragmentos decompostos.....	146
Tabela 13 - Dados das análises térmicas do complexo (4) e atribuições dos possíveis fragmentos decompostos.....	147
Tabela 14 - Dados das análises térmicas do complexo (5) e atribuições dos possíveis fragmentos decompostos.....	148
Tabela 15 - Dados das análises térmicas do complexo (6) e atribuições dos possíveis fragmentos decompostos.....	149
Tabela 16 - Valores de $E_{pc}$ para os complexos da série 1 e estrutura das respectivas HB.....	155
Tabela 17 - Dados da análise elementar para os complexos (série 1).....	156
Tabela 18 - Índices de ordem de ligação de Mayer e Wiberg na esfera de coordenação dos complexos de rutênio.....	157

Tabela 19 - Uma análise comparativa incluindo a ligação $\sigma$ CO em (CH <sub>3</sub> OH) e a ligação $\pi$ CO em dióxido de carbono (CO <sub>2</sub> ), considerando os índices de ordem de ligação de Mayer e Wiberg.....	158
Tabela 20 - Principais bandas e atribuições dos espectros de IV dos precursores, HQ e novos complexos.....	167
Tabela 21 - Coeficientes de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) e atribuições das bandas (série 2).....	171
Tabela 22 - Deslocamentos químicos dos espectros de RMN <sup>1</sup> H da HQ e (8).....	175
Tabela 23 - Deslocamentos químicos dos espectros de RMN <sup>13</sup> C { <sup>1</sup> H} da HQ e (8).....	176
Tabela 24 - Condutividade molar dos complexos da série 2.....	176
Tabela 25 - Principais dados cristalográficos do complexo (7).....	178
Tabela 26 - Principais comprimentos de ligações (Å) e ângulos (°) de (7).....	180
Tabela 27 - Dados das análises térmicas do complexo (7) e atribuições dos possíveis fragmentos decompostos.....	184
Tabela 28 - Dados das análises térmicas do complexo (8) e atribuições dos possíveis fragmentos decompostos.....	186
Tabela 29 - Dados de análise elementar para os complexos da série 2.....	190
Tabela 30 - Condutividade molar dos complexos após 48 h em DMSO e DMF.....	193
Tabela 31 - Valores de CI <sub>50</sub> ( $\mu$ M) determinados por ensaio colorimétrico MTS após tratamento por 48 h com (8), HQ e c, t-[RuCl <sub>2</sub> (PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (bipy)].....	201
Tabela 32 - Valores de Índice de Seletividade (IS) determinados após tratamento por 48 h com (8) e a cisplatina.....	202
Tabela 33 - Valores de Kb e % H (porcentagem de hipocromismo) de (8).....	209
Tabela 34 - Resultados obtidos para as constantes Ksv e Kq.....	210
Tabela 35 - Resultados obtidos para as constantes K <sub>b</sub> e n do complexo (8).....	211
Tabela 36 - Parâmetros termodinâmicos de (8): energia livre de Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ), variação de entalpia ( $\Delta H^\circ$ ) e variação de entropia ( $\Delta S^\circ$ ).....	213
Tabela 37 - Concentração inibitória para 50% dos parasitos (CI <sub>50</sub> ), concentração citotóxica para 50% das células (CC <sub>50</sub> ) e índice de seletividade (IS) dos compostos mais ativos.....	215
Tabela 38 - Tentativas de sínteses de complexos de Ru(II) com HB e suas variações.....	218

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

7-AAD	7-amino-actinomicina D
ARG	Arginase
Bipy	2,2' bipyridina
BZF	Benzofenonas
CC <sub>50</sub>	Concentração citotóxica média
CCD	Cromatografia em camada delgada
CI <sub>50</sub>	Concentração inibitória média
ct-DNA	<i>Calf Thymus DNA</i> (DNA de timo de carneiro)
DFT	<i>Density functional theory</i> (Teoria do Funcional da Densidade)
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i> (Meio Eagle modificado por Dulbecco)
DP	Desvio padrão
dppb	1,4-bis(difenilfosfina)butano
DRXM	Difração de raios X por monocristal
DRXP	Difração de raios X por policristais
DTA	Análise térmica diferencial
DTN	Doenças tropicais negligenciadas
EROs	Espécies reativas de oxigênio
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GCO	<i>Global Cancer Observatory</i>
HB	hidroxibenzofenonas
HB1	2-hidroxi-4-(octiloxi)benzofenona
HB2	2-hidroxi-4-metoxibenzofenona
HB3	2,2'-dihidroxi-4,4'-dimetoxibenzofenona
HB4	2,2'-dihidroxi-4-metoxibenzofenona
HB5	2,4-dihidroxibenzofenona
HB6	2,4,4'-trihidroxibenzofenona
HQ	1-hidroxi-9,10-antraquinona
HSA	<i>Human serum albumin</i> (Albumina de soro humano)
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i> (Agência Internacional para Pesquisa em Câncer)

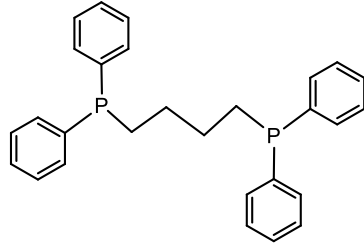
IL	Intraligante
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IS	Índice de seletividade
IUBMB	<i>International Union of Biochemistry and Molecular Biology</i>
IV	Infravermelho
Kb	Constante de ligação intrínseca
LC	Leishmaniose cutânea
LIT	<i>Liver Infusion Tryptose</i> (Infusão de fígado e triptose)
LV	Leishmaniose visceral
MEP	Mapas de potencial eletrostático
MTS	[3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil-2H-tetrazólio]
NEt <sub>3</sub>	Trietilamina
NOS	Óxido nítrico sintase
ODC	Ornitina descarboxilase
OMS	Organização Mundial da Saúde
PE	<i>Phycoerythrin</i> (Ficoeritrina)
pO <sub>2</sub>	Pressão parcial de O <sub>2</sub> dissolvido no sangue arterial
PPh <sub>3</sub>	Trifenilfosfina
PTBA	Perclorato de tetrabutylamônio
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
SFB	Soro fetal bovino
Spm	Espermina
Spd	Espermidina
TCIL	Transferência de carga intraligante
TCLM	Transferência de carga ligante-metal
TCML	Transferência de carga metal-ligante
TD-DFT	<i>Time-dependent density-functional theory</i> (Teoria do Funcional da Densidade Tempo-Dependente)
TGA	Análise termogravimétrica
UV-vis	Ultravioleta e visível
VC	Voltametria cíclica

## LISTA DE SÍMBOLOS

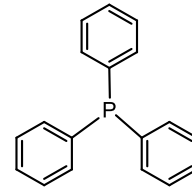
$\mu$	Micro ( $1 \times 10^{-6}$ )
$\nu$	Estiramento ou deformação axial
$\delta$	Deformação angular no plano nos espectros de IV Deslocamento químico nos espectros de RMN
$\gamma$	Deformação angular fora do plano
$\epsilon$	Coefficiente de absorvidade molar
$\lambda$	Comprimento de onda
nm	Nanômetros
$\pi$	Ligação pi
$\sigma$	Ligação sigma
$J$	Constante de acoplamento
$E_{pc}$	Potencial de pico catódico
$E_{pa}$	Potencial de pico anódico
Hz	Hertz
s	Singleto
m	Multipleteo
M	Molaridade ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )

## LISTA DE ESTRUTURAS - LIGANTES

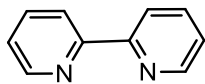
1,4-bis(difenilfosfina)butano (dppb)



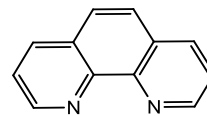
Trifenilfosfina (PPh<sub>3</sub>)



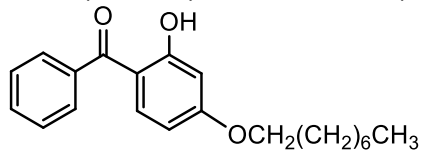
2,2'-bipiridina (bipy)



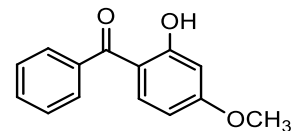
1,10-fenantrolina (fen)



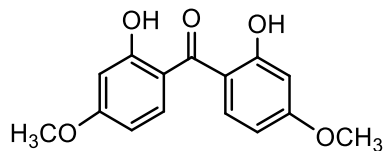
2-hidroxi-4-(octiloxi)benzofenona (HB1)



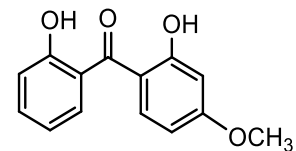
2-hidroxi-4-metoxibenzofenona (HB2)



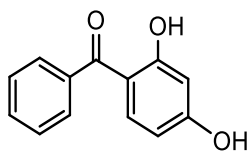
2,2'-dihidroxi-4,4'-dimetoxibenzofenona



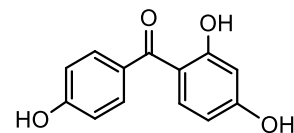
2,2'-dihidroxi-4-metoxibenzofenona



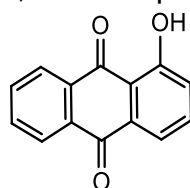
2,4-dihidroxiacetofenona (HB5)



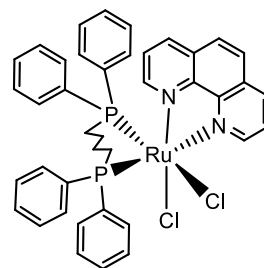
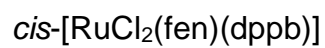
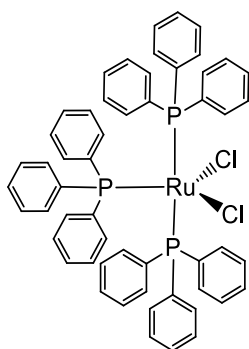
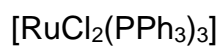
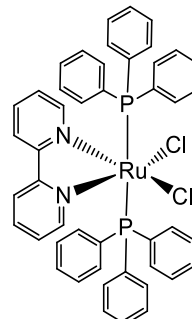
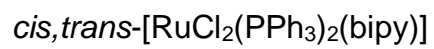
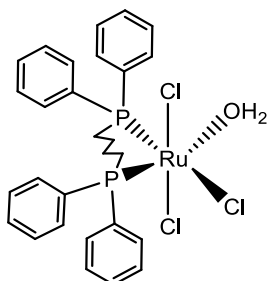
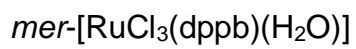
2,4,4'-trihidroxiacetofenona (HB6)



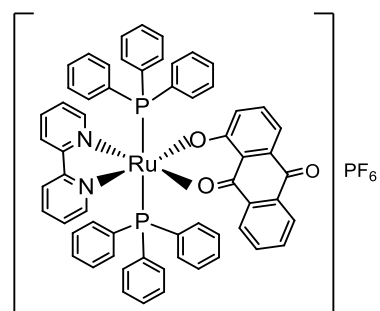
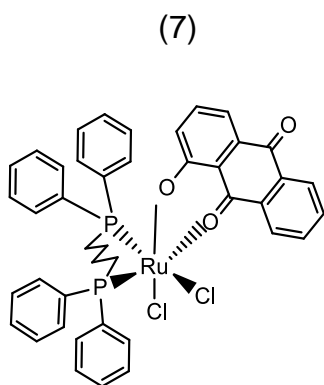
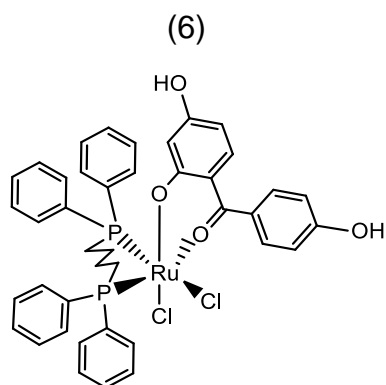
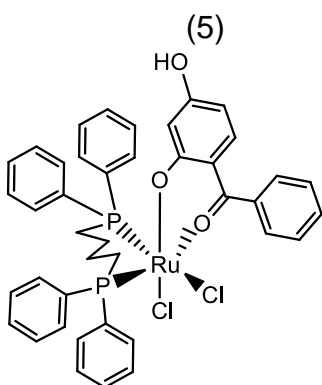
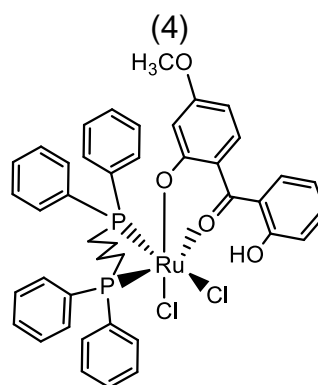
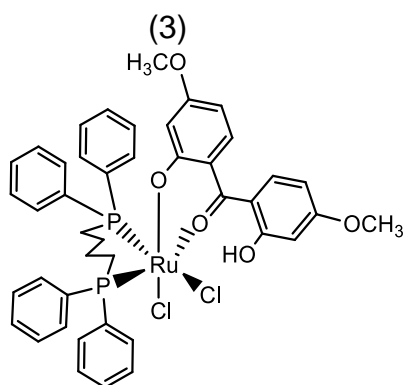
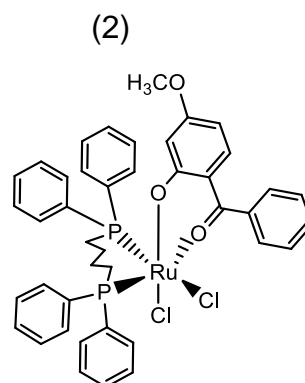
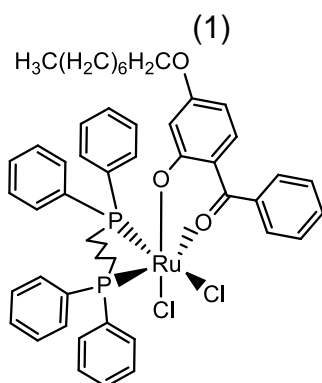
1-hidroxi-9,10-antraquinona (HQ)



## PRECURSORES



## COMPLEXOS SINTETIZADOS



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>32</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>36</b>
2.1	HIDROXIBENZOFENONAS .....	38
2.2	HIDROXIANTRAQUINONAS.....	40
2.3	LIGANTES POLIPIRIDÍNICOS E FOSFÍNICOS.....	43
2.4	COMPLEXOS DE RUTÊNIO .....	45
2.5	CÂNCER.....	53
<b>2.5.1</b>	<b>Potenciais alvos terapêuticos no tratamento do câncer.....</b>	<b>61</b>
2.6	LEISHMANIOSES .....	70
<b>2.6.1</b>	<b>Potenciais alvos terapêuticos no tratamento da leishmaniose.....</b>	<b>76</b>
2.7	ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR .....	82
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>85</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>87</b>
4.1	OBTENÇÃO DA ATMOSFERA INERTE DE ARGÔNIO .....	87
4.2	SOLVENTES .....	87
4.3	REAGENTES.....	88
4.4	GÁS CLORO .....	88
4.5	LIGANTES.....	88
4.6	SÍNTESE DOS COMPLEXOS PRECURSORES E NOVOS DERIVADOS ..	90
<b>4.6.1</b>	<b>Dicloro-tris(trifenilfosfina)rutênio(II), [RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] .....</b>	<b>90</b>
<b>4.6.2</b>	<b>μ-[1,4-bis(difenilfosfina)butano]-bis-dicloro-[1,4- bis(difenilfosfina)butano]dirutênio(II), [Ru<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>(dppb)<sub>3</sub>] .....</b>	<b>90</b>
<b>4.6.3</b>	<b>Tricloro[1,4-bis(difenilfosfina)butano](aqua)rutênio(III), <i>mer</i>- [RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)] .....</b>	<b>91</b>
<b>4.6.4</b>	<b><i>cis,trans</i>-dicloro-2,2'-bipiridina-bistrifenilfosfinarutênio(II), <i>cis,trans</i>- [RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)].....</b>	<b>91</b>
<b>4.6.5</b>	<b><i>Cis-dicloro</i>[1,4-bis(difenilfosfina)butano]-(1,10-fenantrolina)rutênio(II), <i>cis</i>-[RuCl<sub>2</sub>(dppb)(fen)].....</b>	<b>91</b>
<b>4.6.6</b>	<b>Síntese do aqua complexo com hidroxibenzofenonas <i>cis</i>- [RuCl<sub>2</sub>(HB)(dppb)] (1-6) .....</b>	<b>91</b>

4.6.7	Síntese do aqua complexo com 1-hidroxi-9,10-antraquinona <i>cis</i> - [RuCl <sub>2</sub> (HQ)(dppb)] (7).	94
4.6.8	Síntese do complexo <i>trans</i> -[Ru(HQ)(PPh <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (bipy)]PF <sub>6</sub> (8)	95
4.7	CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS	96
4.7.1	Espectroscopia na região do infravermelho (IV)	96
4.7.2	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-vis)	96
4.7.3	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)	96
4.7.4	Condutimetria	96
4.7.5	Crescimento de Cristais	97
4.7.6	Difração de raios X por monocristal (DRXM)	97
4.7.7	Difração de raios X por policristais (DRXP)	98
4.7.8	Análises Térmicas	98
4.7.9	Medidas Eletroquímicas	98
4.7.10	Análise Elementar	99
4.8	MODELAGEM MOLECULAR	99
4.9	ESTUDO DE ESTABILIDADE	100
4.10	ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA	100
4.10.1	Linhagens celulares e condições de cultivo	101
4.10.2	Viabilidade celular	101
4.10.2.1	Ensaio colorimétrico baseado na conversão do sal tetrazólio em formazano (MTS)	101
4.10.2.2	Ensaio de exclusão com azul de tripano	102
4.10.3	Aspectos Morfológicos	102
4.10.4	Análise da progressão do ciclo celular	102
4.10.5	Ensaio de Anexina V/7-AAD	103
4.10.6	Estudo da interação com o DNA por titulação espectrofotométrica	103
4.10.7	Estudo da interação com a albumina de soro humano (HSA)	104
4.11	ESTUDO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA	105
4.11.1	Parasitas	105
4.11.2	<i>Screening</i> : atividade <i>in vitro</i> contra promastigotas de <i>L. amazonensis</i>	105
4.11.3	Determinação do CI <sub>50</sub> para promastigotas de <i>L. amazonensis</i>	106
4.11.4	Ensaio de citotoxicidade	106
4.11.5	Análise estatística	106

<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>108</b>
5.1	SÉRIE 1	108
5.1.1	Espectroscopia na região do infravermelho	108
5.1.2	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível	120
5.1.3	Condutimetria	126
5.1.4	Difração de Raios X por monocristal (DRXM)	126
5.1.5	Difração de Raios X por policristais (DRXP)	136
5.1.6	Análises térmicas	140
5.1.7	Voltametria cíclica (VC)	151
5.1.8	Análise elementar	155
5.1.9	Estudos de Química Computacional	156
5.2	SÉRIE 2	163
5.2.1	Espectroscopia na região do infravermelho	163
5.2.2	Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível	168
5.2.3	Espectroscopia de ressonância magnética nuclear	172
5.2.4	Condutimetria	176
5.2.5	Difração de raios X por monocristal	177
5.2.6	Difração de raios X por policristais	181
5.2.7	Análises térmicas	182
5.2.8	Voltametria cíclica	187
5.2.9	Análise elementar	190
5.3	ESTUDO DE ESTABILIDADE DOS COMPLEXOS EM SOLUÇÃO	190
5.4	TESTES BIOLÓGICOS	200
5.4.1	Estudo da atividade citotóxica	199
5.4.2	Avaliação da interação dos complexos com DNA	207
5.4.3	Avaliação da interação dos complexos com HSA	209
5.4.4	Ensaio de viabilidade de promastigotas de <i>L. amazonensis</i>	213
<b>6</b>	<b>PERSPECTIVAS</b>	<b>218</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>223</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>225</b>
	<b>GLOSSÁRIO</b>	<b>251</b>
	<b>APÊNDICE A</b>	<b>254</b>
	<b>APÊNDICE B</b>	<b>255</b>
	<b>APÊNDICE C</b>	<b>256</b>

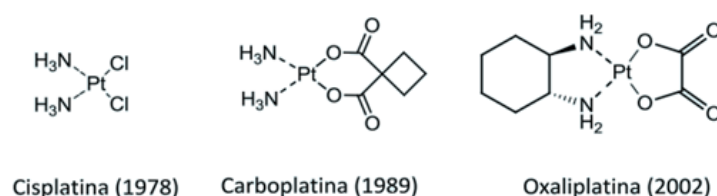
<b>APÊNDICE D.....</b>	<b>257</b>
<b>APÊNDICE E.....</b>	<b>258</b>
<b>APÊNDICE F.....</b>	<b>259</b>
<b>APÊNDICE G.....</b>	<b>260</b>
<b>APÊNDICE H.....</b>	<b>261</b>
<b>APÊNDICE I.....</b>	<b>262</b>
<b>APÊNDICE J.....</b>	<b>263</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Desde a antiguidade compostos metálicos já eram empregados por diferentes civilizações no tratamento de doenças. Assírios, egípcios e chineses utilizavam o cinábrio (sulfeto de mercúrio) como medicamento para diversas enfermidades como tracoma e doenças venéreas (NDAGI; MHLONGO; SOLIMAN, 2017). Na Grécia, o médico Hipócrates relatou o uso da prata no restabelecimento de feridas e úlceras, além das propriedades antimicrobianas reconhecidas anteriormente. Em 3.000 a. C. o cobre era utilizado pelos egípcios para esterilizar a água. Já os chineses, árabes e indianos, por volta de 3.500 a.C. empregavam medicamentos à base de ouro no tratamento de inflamações, infecções e tuberculose (YEO *et al.*, 2017).

A nova era da medicina utilizando compostos inorgânicos de forma mais racional teve início com os trabalhos do alemão Paul Ehrlich em 1910, o qual ficou conhecido como “pai da quimioterapia” ao desenvolver a Arsfenamina, um medicamento de arsênio efetivo no tratamento da sífilis (GAYNOR; GRIFFITH, 2012). No entanto, o maior sucesso para o desenvolvimento da área de Química Inorgânica Medicinal ocorreu na década de 1960 com a descoberta das propriedades terapêuticas da cisplatina por Barnett Rosenberg e colaboradores, os quais observaram a capacidade do medicamento em inibir a divisão celular (RAJAPAKSE; DUNUWEERA, 2017). Testes posteriores elevaram sua importância terapêutica por demonstrar propriedades citotóxicas em uma variedade de tumores como: câncer de ovário, testículos, cabeça e pescoço, fato que levou a cisplatina ser o primeiro composto de platina aprovado pelo Food and Drug Administration (FDA) para tratamento de câncer em 1978 (ANTHONY *et al.*, 2020; DASARI; TCHOUNWOU, 2014) e impulsionou novas pesquisas que resultaram na aprovação de mais dois complexos de Pt(II), a carboplatina e a oxaliplatina (Figura 1) (BARRA; NETTO, 2015; FRANZ; METZLER-NOLTE, 2019).

Figura 1 - Complexos de Pt(II) aprovados para comercialização.



Fonte: Adaptado de BARRA; NETTO (2015).

A partir de então uma vasta área de pesquisa conhecida como Química Inorgânica Medicinal começou a se desenvolver com a finalidade de sintetizar novos compostos metálicos com potencial aplicação no campo farmacológico, não só como agentes antitumorais, mas também como agentes antibacterianos, anti-inflamatórios, antirreumáticos e antiparasitários (MEDICI *et al.*, 2015). A Química Inorgânica Medicinal tem demonstrado um grande potencial de crescimento por possibilitar o desenho de novos agentes terapêuticos e de diagnósticos que possam atuar no tratamento de doenças, subdividindo-se em algumas vertentes, de acordo com a aplicação dos medicamentos (Figura 2) (FRANZ; METZLER-NOLTE, 2019; GAYNOR; GRIFFITH, 2012).

Figura 2 - Principais áreas de atuação da Química Inorgânica Medicinal.



Fonte: Adaptado de GAYNOR; GRIFFITH (2012).

Os medicamentos à base de metais apresentam algumas vantagens em relação aos orgânicos como: versatilidade em aspectos estruturais, incluindo diferentes estados de oxidação, números e geometrias de coordenação, características que influenciam diretamente na atuação em sistemas biológicos (MJOS; ORVIG, 2014). Desta forma, é recorrente na literatura relatos da coordenação de medicamentos orgânicos a metais, uma vez que as propriedades farmacológicas podem ser alteradas (GRAF; LIPPARD, 2012; LIN *et al.*, 2018).

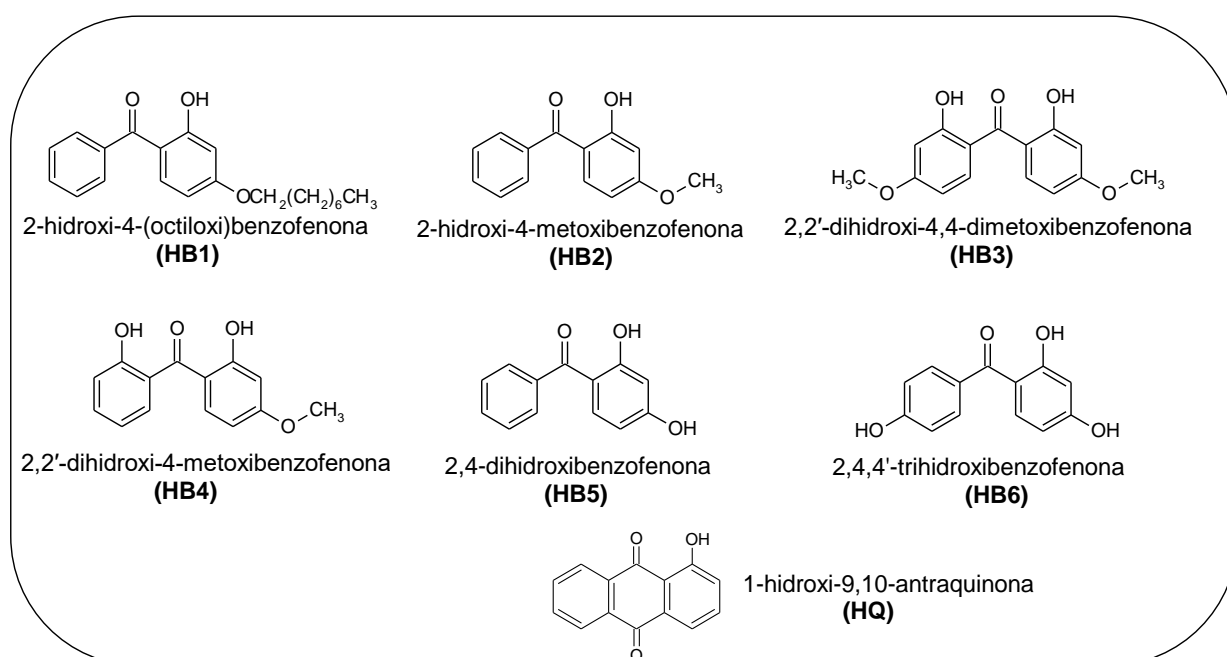
A atuação de medicamentos à base de metais sob alvos terapêuticos representa um dos maiores desafios na quimioterapia, pois um medicamento precisa ser suficientemente reativo para se ligar ao alvo biológico, mas não a ponto de ser desativado pelas diversas biomoléculas encontradas no caminho (ZORODDU *et al.*, 2019). Nesse sentido, uma estratégia envolve o desenvolvimento de pró-fármacos,

isto é, medicamentos que necessitam de transformação metabólica *in vivo* para liberar a espécie ativa que apresentará propriedades físico-químicas, biofarmacêuticas e farmacocinéticas (ALLEN JR.; POPOVICH; ANSEL, 2013). Para os complexos, essa ativação a pró-fármacos pode ser realizada por um processo fotoquímico, oxidação/ redução do metal ou de um ligante, ou por substituição de ligantes (RIJT; SADLER, 2009; ZHANG; SADLER, 2017).

Nos últimos 30 anos, um grande número de complexos de rutênio surgiu nesta área apresentando atividades: antitumoral (HARTINGER *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2019; ZENG *et al.*, 2017), antimicrobiana (LI; COLLINS; KEENE, 2015; SOUTHAM *et al.*, 2017), antimalárica (MEHTA; GAJERA; PATEL, 2017; YEO *et al.*, 2017), leishmanicida (BARBOSA *et al.*, 2014; COSTA *et al.*, 2017) e tripanocida (NAVARRO *et al.*, 2010; SALAS *et al.*, 2017). Muitos complexos de rutênio demonstraram eficácia significativa contra diversos tipos de tumores *in vivo* (LIANG *et al.*, 2017) e com menor toxicidade que a cisplatina *in vitro* (HARRIS; SZILAGYI; HOLMAN, 2009).

Conduzida por essa interessante área da pesquisa, o presente trabalho será fundamentado na síntese, caracterização e estudo da atividade biológica de complexos de rutênio (II) e (III) utilizando os ligantes: hidroxibenzofenas e 1-hidroxi-9,10-antraquinona (Figura 3), os quais apresentam interessantes propriedades farmacológicas e fotoquímicas.

Figura 3 - Estrutura dos ligantes utilizados no trabalho e abreviaturas.



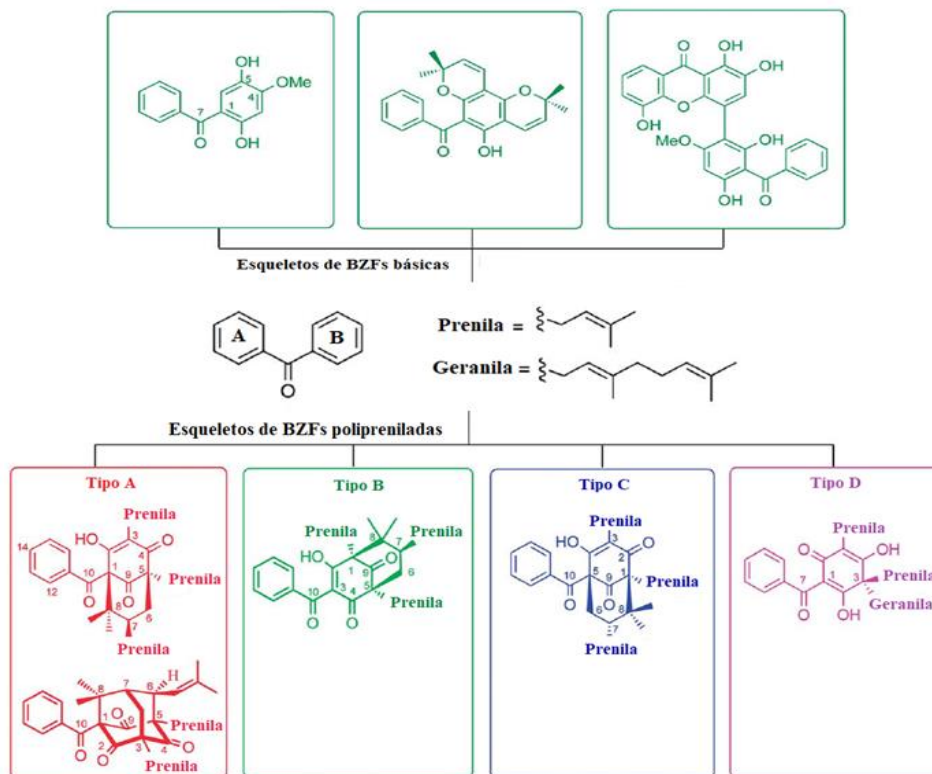
Fonte: Da autora.

Estas moléculas atuam como quelantes coordenando-se de forma bidentada com metais de transição na forma monoaniônica por meio dos grupos carbonila e fenolato (LALIA-KANTOURI *et al.*, 2013). Uma descrição mais aprofundada dos ligantes utilizados no trabalho será apresentada na sequência.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As benzofenonas (BZF) são cetonas aromáticas obtidas a partir de produtos naturais ou por métodos sintéticos (KUETE *et al.*, 2013). São classificadas em dois grupos principais que compartilham em comum o esqueleto difenil cetona (Figura 4). O primeiro grupo estrutural compreende BZF relativamente simples onde os anéis de benzeno estão completos, contendo o esqueleto básico de 13 membros com diversos números de substituintes OH, OCH<sub>3</sub>, prenilas e geranilas ou grupos que normalmente não são cíclicos ou foram submetidos a apenas uma ciclização. Enquanto o segundo grupo estrutural é formado por BZF em que o anel de benzeno A está completo enquanto o anel B está ligado a grupos prenila ou geranila adicionais e, portanto, o anel B é elaborado pela produção de anéis bi-, tri- ou tetracíclicos, ou grupos epóxido, pontes oxo ou peróxido nas estruturas (WU; LONG; KENNELLY, 2014).

Figura 4 - Classificação estrutural das BZF.



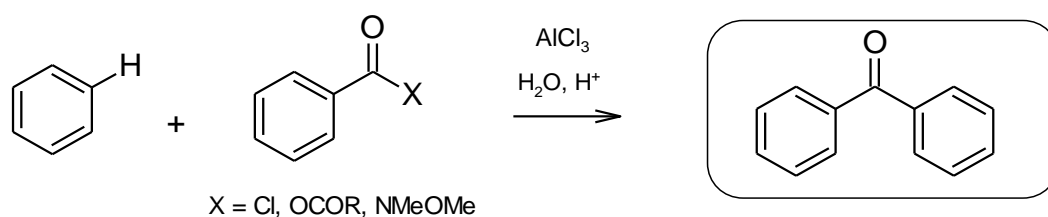
Fonte: Adaptado de WU; LONG; KENNELLY (2014).

Até o momento, mais de 300 BZF naturais foram isoladas e identificadas, sendo a grande maioria (77%) proveniente de árvores frutíferas da família Clusiaceae e uma pequena parte oriunda de certos tipos de fungos. BZF naturais exibem uma série de

propriedades biológicas como: antifúngica, anti-HIV, antimicrobiana, antiviral, antioxidante e antitumoral (SURANA *et al.*, 2018).

Farmacóforos derivados de produtos naturais são excelentes subunidades moleculares candidatas para bibliotecas químicas biologicamente relevantes (HORTON; BOURNE; SMYTHE, 2003), como ocorre com as BZF que são de considerável interesse para os pesquisadores, pois representam fragmentos sintéticos versáteis, podendo ser sintetizadas por vários caminhos (SURANA *et al.*, 2018). Entre as rotas sintéticas empregadas, a acilação de Friedel-Crafts (Figura 5) é um dos métodos mais utilizados para a síntese de cetonas aromáticas, onde convencionalmente reagentes de acilação instáveis e sensíveis como haletos ou anidridos ácidos são utilizados juntamente com excesso de ácidos de Lewis, tal como  $\text{AlCl}_3$ , sob condições brandas (NISHIMOTO *et al.*, 2008).

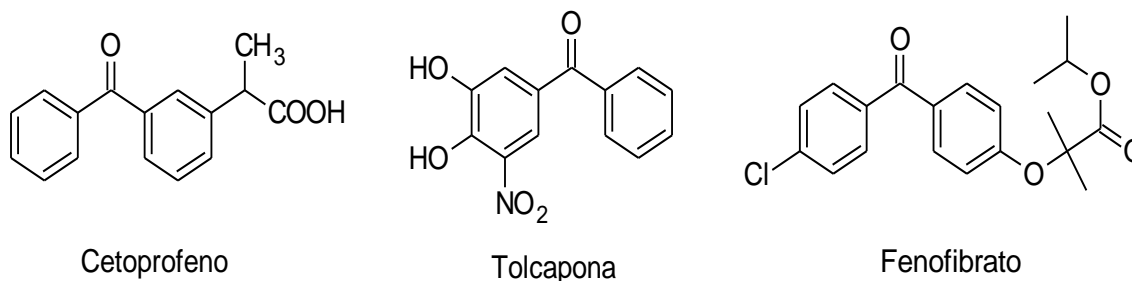
Figura 5 - Reação de acilação de Friedel-Crafts.



Fonte: Adaptado de SURANA *et al.* (2018).

Algumas moléculas de BFZ já encontram-se disponíveis comercialmente para uso terapêutico (Figura 6), como por exemplo o Cetoprofeno que é um potente anti-inflamatório não esteroidal com efeitos analgésico e antipirético (BOSCÁ *et al.*, 1994).

Figura 6 - Fármacos derivados de benzofenonas comercializados para uso terapêutico.



Fonte: Da autora.

O Tolcapona (Figura 6), comercializado como Tasmar é um derivado dihidroxilado da benzofenona empregado no tratamento da doença de Parkinson

(MICEK; ERNST, 1999) e o Fenofibrato utilizado principalmente para diminuir os níveis de colesterol em pacientes com risco de doença cardiovascular (ROSENSON, 2008).

## 2.1 HIDROXIBENZOFENONAS

As hidroxibenzofenonas (HB), correspondem a derivados de BZF contendo o núcleo difenil cetona substituído por grupos hidroxilas (ROSA, 2012). Nas últimas décadas, as benzofenonas polihidroxiladas têm sido amplamente utilizadas para a produção e desenvolvimento de plásticos, resinas, tecidos, cosméticos e materiais de revestimento (WU; HU; MA, 2011; XUE; LIU; KANNAN, 2017). A relevância desta classe se deve a atuação como fotoprotetor, capaz de absorver uma ampla faixa de radiação ultravioleta (200 a 350 nm) (SUBBARAJ *et al.*, 2015).

O interesse por trabalhar com esta classe de ligantes também surgiu devido as HB serem estudadas em nosso grupo de pesquisa há um tempo considerável, tanto na vertente de obtenção de novos polimorfos como na síntese de compostos de coordenação, e ambas áreas de investigação têm proporcionado resultados interessantes (DORIGUETTO *et al.*, 2007; GONÇALVES *et al.*, 2017; ROSA *et al.*, 2010; ROSA *et al.*, 2012).

As HB destacam-se também quanto ao potencial biológico, sendo relatados estudos da atividade antioxidante (BAGGETT *et al.*, 2005; DORIGUETTO *et al.*, 2007), devido os polifenóis terem a capacidade de neutralizar espécies reativas de oxigênio (EROs) e nitrogênio (ERNs) produzidas no organismo durante processos metabólicos, exibindo assim ação antibacteriana, antiviral, anticarcinogênica e vasodilatadora (PANDEY; RIZVI, 2009). Geralmente, a elevada atividade antioxidante de substâncias fenólicas é atribuída às suas funções OH, devido ao poder redutor do grupo hidroxila aromático, o qual reduz radicais livres reativos e produz o radical fenoxila estabilizado por ressonância (DORIGUETTO *et al.*, 2007).

Atualmente, sabe-se que a formação de EROs é uma etapa importante na progressão do câncer em células humanas (CHANDER, 2018), uma vez que trabalhos publicados relataram nas linhagens celulares de câncer de cólon e próstata, a superexpressão da NADPH oxidase (NOX 1), uma enzima que produz superóxido ( $O_2^{\cdot -}$ ) (FUKUYAMA *et al.*, 2005). Opostamente, a regulação da mesma reverte o crescimento dos tumores (ARNOLD *et al.*, 2007).

Outros trabalhos descrevem a inibição da Glutathione S-transferase A1-1 (GSTA1-1) na presença de 2,2'-dihidroxibenzofenonas e seus análogos N-carbonilas. A GSTA1-1 é uma importante isoenzima superexpressa em vários tumores que conduzem células tumorais serem resistentes a quimioterápicos (PERPEROPOULOU *et al.*, 2014).

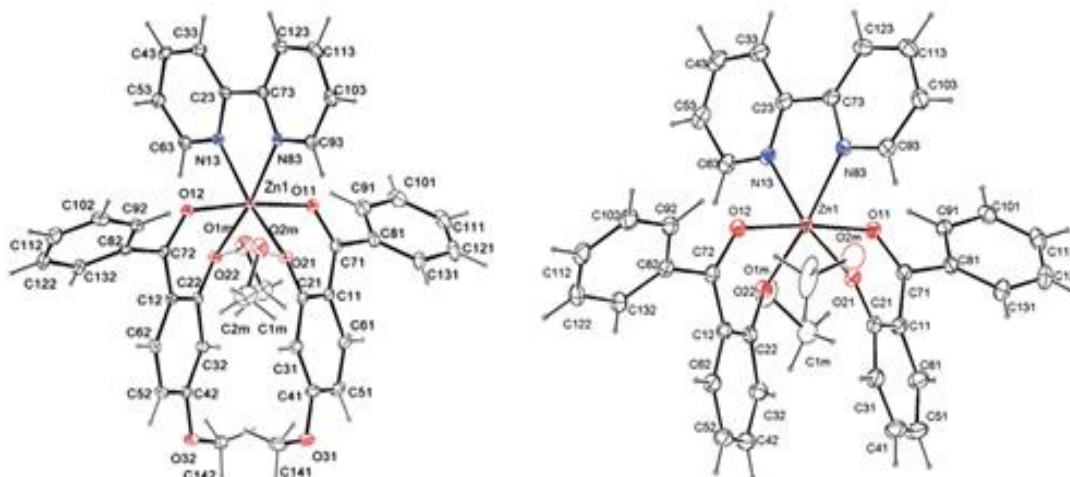
Outra vertente de aplicação em ensaios biológicos consiste no estudo da atividade das HB frente à parasitos da Leishmaniose. Nove derivados de HB apresentaram atividade leishmanicida contra a forma amastigota (a forma patológica do parasito em vertebrados) de *L. amazonensis* (ALMEIDA *et al.*, 2015).

Devido a interessantes propriedades biológicas das HB, a pesquisa por complexos metálicos com derivados de BZF tem sido realizada com a finalidade de potencializar a ação das moléculas, assim como melhorar as propriedades físico-químicas, como solubilidade e estabilidade de candidatos a fármacos (GONÇALVES, 2016).

Complexos de Cu(II), Co(II), Mn(II) e Ni(II) com derivados da 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona e bases de Schiff demonstraram atividade antimicrobiana contra as bactérias das espécies *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, além de revelar interações com o ct-DNA por meio do estudo de titulação espectroscópica (SUJARANI; RAMU, 2013).

Outros complexos de HB com Zn(II) (Figura 7) revelaram através dos estudos de titulação espectroscópica com ct-DNA intercalação moderada com uma constante de ligação intrínseca ( $K_b$ ) da ordem de  $10^6 \text{ M}^{-1}$  (MRKALIĆ *et al.*, 2014).

Figura 7 – Representação estrutural dos complexos de Zn(II) com HB.



Fonte: MRKALIĆ *et al.* (2014, p. 71).

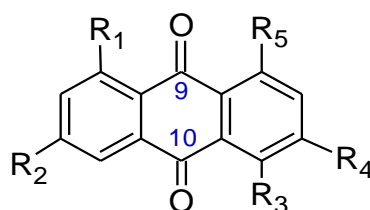
Em trabalhos do nosso grupo de pesquisa, complexos de Cu(II) com o ligante 2,2'-dihidroxibenzofenona mostraram que a coordenação resultou em maior atividade anti-inflamatória do que o ligante livre, além de uma ação fungicida, sendo que o complexo atuou em microrganismos resistentes ao controle positivo (Fluconazol e Anfotericina B), nos quais o ligante não possui nenhuma atividade (ROSA, 2012).

O presente trabalho centra-se, portanto, na variedade de aplicações farmacológicas das HB e da possibilidade de potencialização destas atividades após a coordenação a um centro metálico, como descrito na literatura e apresentado acima.

## 2.2 HIDROXIANTRAQUINONAS

As antraquinonas (Figura 8) compreendem a maior classe de quinonas de ocorrência natural, constituindo o grupo mais extenso de pigmentos com 700 compostos descritos, sendo 200 destes isolados de plantas conhecidas por sua eficácia laxativa, das famílias: *Polygonaceae*, *Rubiaceae* e *Fabaceae* (DUVAL *et al.*, 2016) e o restante de líquens e fungos (SEIGLER, 2012). Esta classe contém alguns dos corantes naturais mais importantes, como: alizarina, purpurina, munjistin, emodina, crisofanol, aloe-emodina, reína e parietina (DUVAL *et al.*, 2016).

Figura 8 - Estrutura química de cinco antraquinonas.



Compostos	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
<b>Antraquinona</b>	H	H	H	H	H
<b>Emodina</b>	OH	OH	H	CH <sub>3</sub>	OH
<b>Parietina</b>	OH	CH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OH
<b>Catenarina</b>	OH	OH	OH	CH <sub>3</sub>	OH
<b>Reína</b>	OH	H	H	COOH	OH

Fonte: DUVAL *et al.* (2016, p. 814).

Predominantemente, as antraquinonas derivam da estrutura básica da 9,10-antracenediona (Figura 8), um composto orgânico aromático tricíclico, podendo

apresentar diferentes grupos funcionais como: -OH, -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>OH, -CHO, -COOH (DIAZ-MUÑOZ *et al.*, 2018).

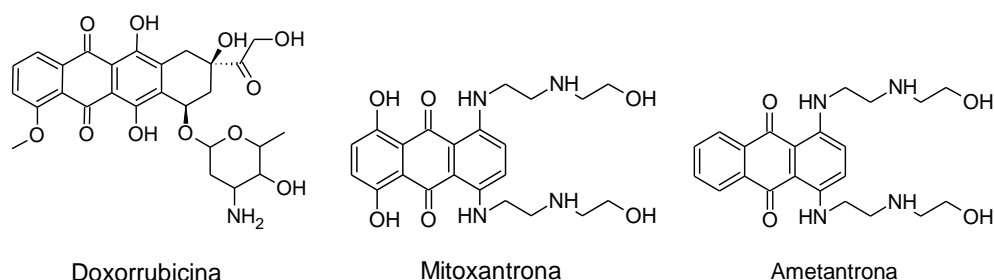
Por sua vez, quando a estrutura básica possui de um a três grupos hidroxilas esta é denominada hidroxiantraquinona (HQ) e seus derivados podem coordenar-se facilmente com diversos cátions metálicos (HUANG; CAI; ZHANG, 2009).

Cabe ressaltar que os produtos naturais são estruturas importantes que servem, na maior parte, como protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos, levando a síntese de um grande número de análogos e subsequentes investigações da atividade biológica (DIAZ-MUÑOZ *et al.*, 2018). Sendo assim, antraquinonas podem também ser obtidas por meio de rotas sintéticas, mais comumente por meio da reação de acilação de Friedel-Crafts (DHANANJEYAN *et al.*, 2005).

Antraquinonas e derivados como as HQ possuem uma ampla gama de atividades: antitumoral, anti-inflamatória, imunossupressora, antimicrobiana, antiparasitária, diurética, laxativa, vaso relaxante, antioxidante, fungicida, antidiabética e antiviral (CHIEN *et al.*, 2015).

Fármacos como a doxorrubicina, mitoxantrona e ametantrona (Figura 9) que possuem o núcleo da antraquinona são usados como quimioterápicos contra diversos tipos de câncer. Ademais, ametantrona e mitoxantrona são utilizados para tratar esclerose múltipla, sendo esta última empregada desde a década de 1980 (HUSSAIN *et al.*, 2015).

Figura 9 - Fármacos com núcleo de antraquinona.

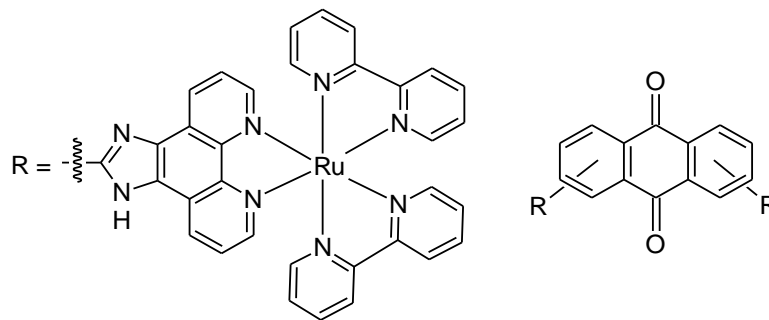


Fonte: Da autora.

Nos anos de 2005 a 2014 uma revisão da literatura identificou 53 patentes de derivados da antraquinona com potencial terapêutico, destacando-se compostos com atividades anticancerígena, antidiabética, antiviral, antifibrótica, fungicida e antibacteriana (HUSSAIN *et al.*, 2015). Uma patente foi concedida para a síntese de uma série de complexos binucleares de rutênio com antraquinona polipiridínica

(Figura 10). Os autores afirmaram que os complexos exibem boa solubilidade em água e apresentaram atividade antitumoral, devido a capacidade promissora de inibir a migração e invasão de células de hepatoma altamente metastáticas, linhagem celular MHCC97H. Sendo assim, as reivindicações de patente que esses complexos de rutênio apresentaram podem resultar no desenvolvimento de substâncias antimetastáticas (HUSSAIN *et al.*, 2015).

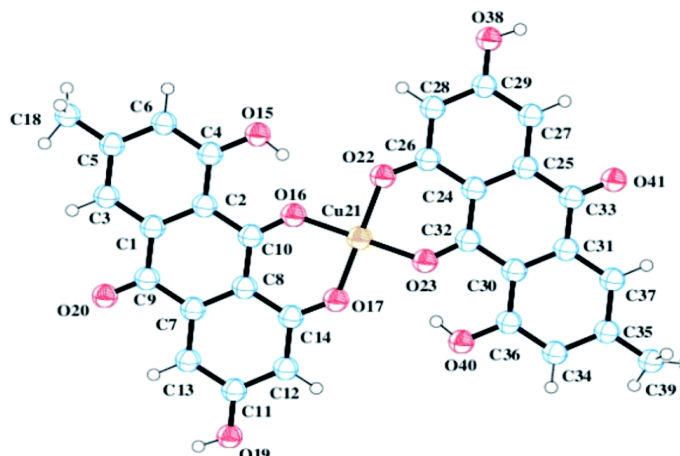
Figura 10 - Complexo binuclear de rutênio com antraquinona polipiridínica.



Fonte: Adaptado de HUSSAIN *et al.* (2015).

A aloe-emodina, uma HQ demonstrou atividade significativa contra a leucemia linfocítica P-388 em camundongos, levando a uma atividade inibitória do tumor (SINGH, 2014). Outro estudo relatou que um complexo de Cu(II) com emodina (Figura 11) foi mais eficiente em matar células tumorais de fígado (Hep G2) em comparação com o ligante isolado (MANDAL *et al.*, 2017).

Figura 11 - Representação estrutural do complexo de Cu(II) com emodina.



Fonte: MANDAL *et al.* (2017, p. 41407).

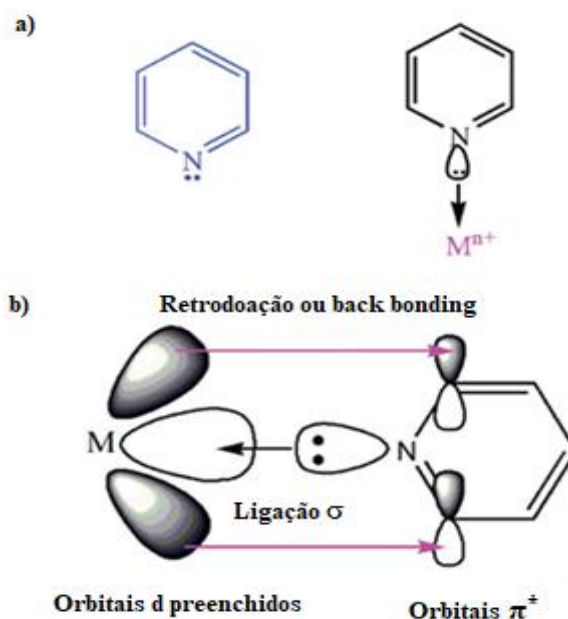
Vários derivados de antraquinona (BOLOGNESI *et al.*, 2008) e alcaloides possuem também atividade tripanocida e leishmanicida (OKBA *et al.*, 2018), resultante da intercalação destas moléculas com o DNA dos parasitos (ROSENKRANZ; WINK, 2008). Outras estruturas mostraram uma potente atividade antibacteriana quando testadas contra três patógenos humanos (*E. coli*, *M. luteus* e *V. vulnificus*) e quatro bactérias aquáticas (*Ed. ictaluri*, *V. alginolyticus*, *V. anguillarum* e *V. parahaemolyticus*) (YANG *et al.*, 2018).

Além das HB e HQ este trabalho utilizará duas classes de ligantes muito empregados na Química de Coordenação, sendo estes os ligantes polipiridínicos e fosfínicos elencados na sequência.

### 2.3 LIGANTES POLIPIRIDÍNICOS E FOSFÍNICOS

O caráter básico da piridina concentrado no par de elétrons do nitrogênio isolado (Figura 12-a) a qualifica como um ligante adequado para a formação de complexos com diversos metais de transição, pois além dos orbitais contendo um par de elétrons do nitrogênio, o sistema cíclico rico em elétrons também é capaz de interagir com íons metálicos. Os orbitais antiligantes ( $\pi^*$ ) dos carbonos podem atuar como aceptores de densidade eletrônica dos metais (Figura 12-b).

Figura 12 - a) Estrutura da piridina e b) sua ligação com metais.

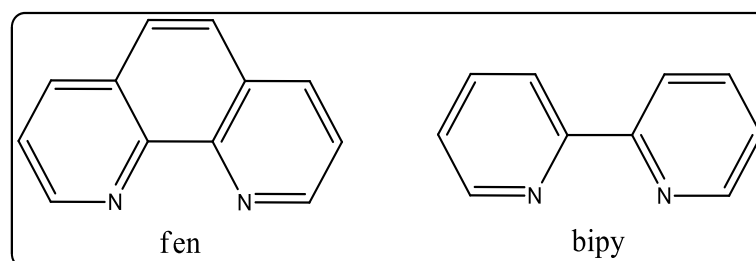


Fonte: PAL (2018, p. 58-59).

A piridina também pode apresentar ligações de hidrogênio e interações de empilhamento  $\pi$ - $\pi$  fracas, sendo um ligante que apresenta múltiplos orbitais para interações com íons metálicos (PAL, 2018).

Em sistemas polipiridínicos a fusão de dois ou mais anéis piridínicos resulta em agentes quelantes multidentados, tais como a bipyridina (bipy) e a fenatrolina (fen) (Figura 13) (PAL, 2018), os quais têm sido extensivamente empregados como ligantes de complexos metálicos com potencial atividade biológica (TIKUM *et al.*, 2018), catalítica (ELGRISHI *et al.*, 2017) e luminescente (SHUM; LEUNG; LO, 2019).

Figura 13 - Sistemas polipiridínicos.



Fonte: Da autora.

Desde a descoberta da bipy no final do século XIX, o ligante tem sido amplamente utilizado como quelante devido sua estabilidade redox e facilidade de funcionalização (HOSSAIN *et al.*, 2019). Em contraste com outros ligantes, ela é neutra, podendo formar complexos com carga, o que fez com que esta propriedade pudesse ser explorada para o design e síntese de novos complexos (KAES; KATZ; HOSSEINI, 2000).

A fen, apresenta como diferença principal da bipy ser um sistema planar rígido, apesar de possuir uma disposição similar dos átomos de nitrogênio, a bipy pode ter sua doação eletrônica interrompida devido à rotação livre sobre a(s) ligação(ões) que conectam os anéis heteroaromáticos de seis membros (BENCINI; LIPPOLIS, 2010).

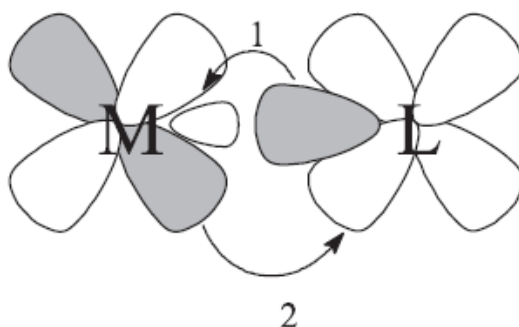
As características estruturais desta classe resultaram em algumas vantagens para seus derivados e complexos, como a capacidade de mimetizar estruturas de moléculas biológicas: ácidos nucleicos, proteínas e enzimas que possuem propriedades importantes no metabolismo humano (OLIVEIRA, 2014).

Por sua vez, as fosfinas são ligantes protótipos na formação de complexos com metais dos blocos d e f, sendo tais ligações descritas por meio de interações dos orbitais de fronteira. O orbital molecular ocupado de mais alta energia (HOMO) da

fosfina que contém um par de elétrons isolado interage com o orbital molecular desocupado de menor energia (LUMO) do centro metálico (CHITNIS; BURFORD, 2015).

Desta maneira, ligantes fosfínicos conseguem combinar propriedades da ligação  $\sigma$  doadora forte como as aminas, com as ligações  $d\pi-d\pi$  receptoras (Figura 14), semelhantes ao monóxido de carbono, tornando-se ligantes muito versáteis, capazes de estabilizar as valências mais altas e as mais baixas de metais de transição, promover alterações sobre a reatividade do centro metálico e apresentar um acentuado efeito *trans* labilizante (VALLE *et al.*, 2008).

Figura 14 - Representação das interações metal-ligante: 1 = ligação  $\sigma$ ; 2 = retrodoação  $\pi$ .



Fonte: VALLE *et al.* (2008, p. 807).

As fosfinas são bons ligantes para projetar não apenas complexos com atividade catalisadora, mas também potenciais metalofármacos (ECHEVERRI *et al.*, 2018), haja visto diversos trabalhos na literatura com cátions metálicos: Au(I), Ru(II), Pd(II) e Pt(II) e ligantes fosfínicos demonstrando atividade terapêutica (BIANCALANA; PAMPALONI; MARCHETTI, 2017; GAMA *et al.*, 2016; REDDY *et al.*, 2017).

## 2.4 COMPLEXOS DE RUTÊNIO

Embora a cisplatina e seus derivados sejam eficazes contra diversos tipos de câncer, a pesquisa atual busca melhorar alguns aspectos associados ao tratamento com estes metalofármacos, como por exemplo os efeitos colaterais (nefrotoxicidade, náuseas, perda de cabelo e mielotoxicidade) e resistência celular, voltando-se para

outras terapias fundamentada em metais que têm diferentes modos de ação, estratégias pró-fármaco e direcionamento (LAZAREVIC; RILAK; BUGARCIC, 2017).

Neste cenário, complexos de rutênio têm despertado grande interesse, sendo testados contra várias linhagens de células cancerosas (IIDA *et al.*, 2016) e demonstrando ser candidatos promissores como medicamentos alternativos à cisplatina e seus derivados (ZENG *et al.*, 2017). Importante mencionar que a investigação e posterior aplicação de complexos de rutênio como quimioterápicos para câncer têm aproximadamente 30 anos de ocorrência sistemática e pode ser considerada, portanto, como nova (ZENG *et al.*, 2017).

Na década de 1980, M. J. Clarke conduziu os primeiros trabalhos com complexos de rutênio, ficando conhecido por sintetizar o *fac*-[RuCl<sub>3</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] e o *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>]Cl (CLARKE, 2002), compostos que tiveram a estrutura desenvolvida com base na cisplatina (ALESSIO; MESSORI, 2019).

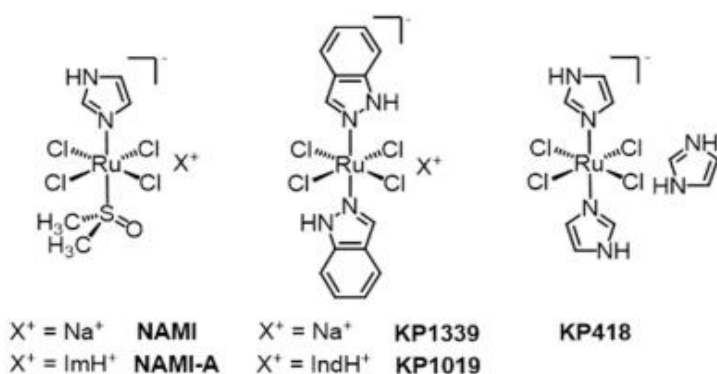
Em 1986 B. K. Kepler e colaboradores relataram pela primeira vez a atividade antitumoral de um complexo de Ru(III) contendo como ligantes a molécula de imidazol e átomos de cloro, o (ImH)[*trans*-RuCl<sub>4</sub>(Im)<sub>2</sub>] (Im = imidazol) (KEPPLER; RUPP, 1986), o qual ficou conhecido como KP418 (Figura 15). Embora este complexo tenha apresentado alta eficácia contra leucemia e melanoma em camundongos, resultados comparáveis foram posteriormente obtidos com seu complexo análogo de menor toxicidade o KP1019, [InH][*trans*-RuCl<sub>4</sub>(In)<sub>2</sub>] (In = indazol) (Figura 15) (ALESSIO; MESSORI, 2019).

O KP1019 foi um dos primeiros complexos de rutênio a entrar em ensaios clínicos (fases I e II), demonstrando atividade contra um amplo espectro de tumores primários (LEE; KIM; NAM, 2020). No entanto, a baixa solubilidade do composto foi um fator limitante, fazendo com que o seu análogo (NKP1339) contendo o sódio como contra-íon fosse avaliado como candidato clínico, devido sua maior solubilidade em água (BYTZEK *et al.*, 2016). Este, por sua vez, demonstrou resultados promissores quando estudado para o tratamento de tumores sólidos avançados (FERRARO *et al.*, 2020).

Outra importante classe de complexos de Ru(III)-DMSO (Figura 15) foi desenvolvida em 1990 por G. Mestroni e E. Alessio, destacando-se o NAMI com fórmula Na[*trans*-RuCl<sub>4</sub>(DMSO)(Im)], (Im = imidazol, DMSO = dimetilsulfóxido) e posteriormente seu sal imidazólico correspondente, NAMI-A, [ImH][*trans*-RuCl<sub>4</sub>(DMSO)(Im)] (Figura 15). Notavelmente, o NAMI-A foi aprovado na fase I dos

ensaios clínicos, entretanto seus estudos foram encerrados na fase II, devido a sua baixa atividade (ANTHONY *et al.*, 2020). Apesar de demonstrar potência inferior em termos de citotoxicidade direta para células *in vitro* (ZENG *et al.*, 2017), o complexo apresentou eficácia significativa na inibição da metástase tumoral *in vivo* e atividade antiangiogênica em tumores secundários (BACAC *et al.*, 2004; LEE; KIM; NAM, 2020).

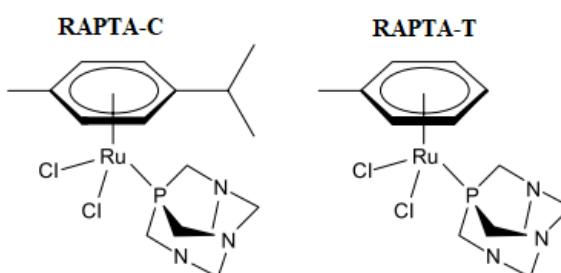
Figura 15 – Primeiros complexos de Ru(III) a apresentar atividade antitumoral.



Fonte: ALESSIO; MESSORI (2019, p. 2).

Enfatiza-se também complexos de areno rutênio(II) que possuem a unidade 1,3,5-triaza-7-fosfoadamantano (PTA) e ficaram conhecidos como RAPTAs (LEE; KIM; NAM, 2020). O RAPTA C (Figura 16) é o protótipo desta classe de complexos organometálicos semi-sanduíche e possui propriedades semelhantes ao derivado RAPTA T (Figura 16) com o ligante tolueno (ZENG *et al.*, 2017). Nos estudos *in vitro* embora ambos complexos tenham demonstrado baixa citotoxicidade, observou-se inibição da metástase pulmonar em camundongos portadores de carcinoma mamário (MCa), demonstrando espectro de atividade antitumoral similar ao NAMI-A (LEE; KIM; NAM, 2020).

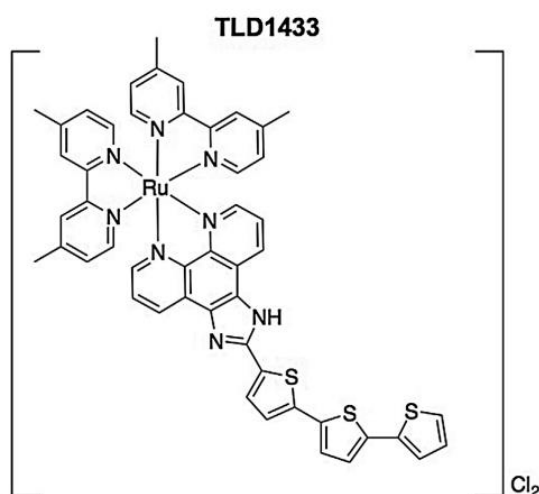
Figura 16 - Complexos RAPTAs.



Fonte: NDAGI; MHLONGO; SOLIMAN (2017, p. 608).

Em 2015, um complexo polipiridínico de Ru(II), nomeado de TLD-1433 (Figura 17) entrou em ensaios clínicos de fase IB (ZENG *et al.*, 2017) e relatos mais recentes descrevem que o complexo já encontra-se sendo testado na fase II, atuando como um agente de terapia fotodinâmica em pacientes com câncer de bexiga (ANTHONY *et al.*, 2020). Os resultados iniciais sugerem que este tratamento é seguro, ao mesmo tempo que induz uma regressão tumoral eficaz (CHAMBERLAIN *et al.*, 2020).

Figura 17 - Estrutura do complexo TLD-1433.



Fonte: Adaptado de ARENAS *et al.* (2013).

Embora nesses últimos 30 anos diversos estudos tenham sido realizados na tentativa de se esclarecer o possível mecanismo de ação desses metalofármacos de rutênio, as investigações ainda não forneceram a elucidação completa.

Até o momento evidências experimentais do NAMI-A e KP1019 indicam que os complexos de Ru(III) atuam como pró-fármacos, isto é, quando um composto requer biotransformação metabólica após administração para produzir a atividade farmacológica desejada e ativa (ALLEN JR.; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Sendo assim, são reduzidos *in vivo* pelas condições citoplasmáticas das células tumorais: baixas concentrações de O<sub>2</sub> em decorrência do consumo atípico de nutrientes; pH baixo, devido à produção de ácido láctico na glicólise anaeróbica, compensatória da falta de oxigênio e à presença de glutatona em níveis tipicamente altos.

Essas alterações no ambiente citoplasmático das células tumorais podem favorecer a conversão de Ru(II) a partir do Ru(III), intensificando interações com o

DNA e proporcionando toxicidade seletiva às células tumorais (SILVEIRA-LACERDA *et al.*, 2010).

Outros indícios também apontam que ambos complexos ao entrarem na corrente sanguínea se associam às proteínas plasmáticas, principalmente a albumina sérica e são distribuídos por todo organismo em quantidades significativas (ALESSIO; MESSORI, 2019)

Por último, os resultados sugerem que os diferentes perfis farmacológicos apresentados entre o KP1019 (efeito citotóxico) e o NAMI-A (efeito antimetastático) são resultantes das diferentes interações com as células. Enquanto o primeiro é capaz de penetrar nas células em quantidades apreciáveis, o segundo localiza-se extracelularmente ou na membrana celular (ALESSIO; MESSORI, 2019).

Desta forma, o interesse por complexos de rutênio se deve ao fato de que eles apresentam propriedades químicas e biológicas notáveis em relação a outros metais, como por exemplo: eficácia, baixa toxicidade, seletividade e atividade contra algumas linhagens de células resistentes à cisplatina (THOTA *et al.*, 2018). Tais propriedades de interesse são resultantes das seguintes características:

- Dois estados principais de oxidação são acessíveis para espécies de rutênio em condições fisiológicas: Ru(II) e Ru(III). Em ambos estados de oxidação, o íon Ru pode apresentar-se hexacoordenado, formando complexos de geometria octaédrica, fato que permite explorar um maior número de ligantes em comparação com complexos de Pt(II), os quais tendem a apresentar número de coordenação igual a 4 e geometria quadrado planar (NDAGI; MHLONGO; SOLIMAN, 2017);
- Os íons Ru(II) e Ru(III) possuem boa afinidade por átomos de nitrogênio e enxofre, os quais são praticamente onipresentes nas principais biomoléculas, como: DNA, proteínas séricas, celulares e enzimas (LAZAREVIC; RILAK; BUGARCIC, 2017);
- Os complexos de rutênio geralmente exibem potenciais redox Ru(III)/Ru(II) acessíveis na janela do potencial redox biológico, permitindo assim a biorredução de complexos de Ru(III) por diferentes ligantes biológicos e enzimas celulares. Agentes redutores como a glutatona, ascorbato e algumas proteínas são capazes de realizar redução de Ru(III) a Ru(II), enquanto o oxigênio molecular e citocromo oxidases podem reverter Ru(II) a Ru(III) (ALLARDYCE *et al.*, 2005). Os potenciais redox podem, portanto, ser

explorados com a finalidade de obter pró-fármacos à base de rutênio os quais poderiam ser ativados em tecidos tumorais (ambiente de hipóxia) por biorredução, permitindo alcançar a seletividade por reoxidação em células saudáveis normalmente oxigenadas (REISNER *et al.*, 2008);

- Geralmente, os complexos de Ru(III) são cineticamente mais inertes do que os complexos de Ru(II), por esta razão quando administrados causam menor toxicidade às células saudáveis (LEE; KIM; NAM, 2020). Entretanto, fatores como ambiente de hipóxia ou troca de ligantes pode determinar a atividade biológica do composto, levando à ativação ou desativação dos complexos. Além do mais, acredita-se que a atividade dos complexos de Ru(III) é dependente da redução *in vivo* para as espécies mais reativas de Ru(II) (LIN *et al.*, 2018). Sendo assim, os antitumorais de Ru(III) são considerados pró-fármacos que podem ser ativados por biorredução e/ou substituição de ligantes. No entanto, é importante ressaltar que a labilidade cinética do íon rutênio é altamente dependente dos tipos de ligantes coordenados e as taxas de substituição podem variar em muitas ordens de magnitude (YAN *et al.*, 2005);
- Outra vertente científica atribui a menor toxicidade dos complexos de rutênio às semelhanças químicas dos íons rutênio e ferro (tamanho, estados de oxidação e geometria de coordenação) e metabólicas (ATTA-UR RAHMAN; CHOUDHARY, 2014). Nesta concepção, o rutênio poderia mimetizar o ferro em biomoléculas, como proteínas séricas (albumina sérica e transferrina). Células tumorais por requererem maiores concentrações de íons ferro do que as células normais levariam a um aumento do número de receptores de transferrina na superfície celular, provocando uma maior incorporação de complexos de rutênio por células cancerosas (ANG; DYSON, 2006). Entretanto é importante ponderar para esta vertente que a competição dos complexos de rutênio por sítios ativos dos íons ferro em proteínas e enzimas dependerá das características do composto e não apenas do cátion metálico, assim os ligantes coordenados e a carga líquida de espécies influenciam fortemente (ATTA-UR RAHMAN; CHOUDHARY, 2014).

Diante dos estudos relatados atualmente, o desenvolvimento racional de novos candidatos quimioterápicos à base do íon rutênio com diferentes ligantes têm sido avaliados por nosso grupo e alguns resultados bastante satisfatórios foram obtidos

em linhagens de células tumorais humana, com as seguintes linhagens: A549, MDA-MB-231, HepG2 e HT144 (pulmão, mama, fígado e melanoma, respectivamente).

Os valores de concentração inibitória média ( $CI_{50}$ ) obtidos são listados na Tabela 1, abaixo.

Tabela 1 - Valores de  $CI_{50} \pm DP$  (desvio padrão) ( $\mu M$ ) dos compostos frente às células tumorais.

Compostos	$CI_{50}$ ( $\mu M$ )	Referências
<b>A549</b>		
[RuCl(1Meim)(dppb)(5,5'-DMbpy)]Cl	14,65 $\pm$ 0,90	(DIAS <i>et al.</i> , 2018)
Cisplatina	59,54 $\pm$ 5,45	
<b>MDA-MB-231</b>		
[RuCl(CO)(dppb)(4,4-Mebipy)]PF <sub>6</sub>	7,95 $\pm$ 0,22	(SILVA <i>et al.</i> , 2018)
[RuCl(Py)(dppb)(4,4-Mebipy)]PF <sub>6</sub>	9,18 $\pm$ 0,30	
Cisplatina	49,17 $\pm$ 5,00	
<b>HepG2</b>		
[RuCl(CO)(dppb)(4,4-Mebipy)]PF <sub>6</sub>	3,55 $\pm$ 0,55	
[RuCl(NO)(dppb)(4,4-Mebipy)](PF <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>	38,41 $\pm$ 1,56	(SILVA <i>et al.</i> , 2018)
[RuCl(Py)(dppb)(4,4-Mebipy)]PF <sub>6</sub>	29,69 $\pm$ 2,81	
Cisplatina	38,50 $\pm$ 1,50	
<b>HT144</b>		
[Ru(3,4cin)(dppb)(bipy)]PF <sub>6</sub>	2,17 $\pm$ 1,02	
Ácido 3,4-cinâmico (3,4cin)	> 100	(ORTEGA, 2016)
Cisplatina	12,01 $\pm$ 0,33	

Fonte: Da autora.

Nota: bipy = 2,2'-bipiridina, 4,4-Mebipy = 4,4'- dimetil-2,2'-bipiridina, 5,5'-DMbpy = 5,5'-dimetil-2,2'-bipiridina, dppb = 1,4-bis difenil fosfina butano, 1Meim = 1-metilimidazol, Py = piridina. Linhagens de células tumorais: A549 (adenocarcinoma de pulmão), MDA-MB-231 (adenocarcinoma de mama), HepG2 (carcinoma hepatocelular) e HT144 (derivada de melanoma).

Valores de concentração inibitória média ( $CI_{50}$ ) relativamente baixos têm sido observados para estes compostos, mostrando a viabilidade em se estudar tais sistemas.

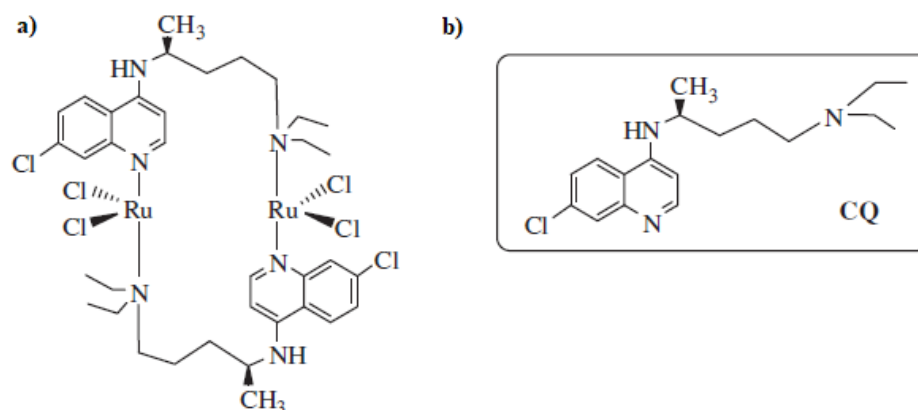
Apesar das propriedades antitumorais dos complexos serem extensivamente estudadas, observa-se que o potencial antiparasitário dos mesmos é pouco explorado (BASTO *et al.*, 2019; SILVA *et al.*, 2020).

Importante enfatizar que existem muitas similaridades intrínsecas entre células cancerosas e parasitos, pois ambos compartilham a mesma característica de viver e se multiplicar em um organismo hospedeiro, além de disseminarem-se em tecidos imunocomprometidos (KLINKERT; HEUSSLER, 2006). Assim, uma estratégia inicial para o desenvolvimento de metalofármacos com propriedades antiparasitárias consiste na avaliação dos complexos que estão sendo testados contra o câncer (BASTO *et al.*, 2019).

Complexos de rutênio também são ativos contra uma variedade de infecções parasitárias, incluindo malária, leishmaniose e doença de Chagas (COSTA *et al.*, 2019; MBABA; GOLDING; SMITH, 2020). Ensaios *in vitro* realizados com o NAMI-A contra *P. falciparum* demonstraram redução efetiva no crescimento do parasito causador da malária, indicando uma ampla sensibilidade do mesmo pelo íon metálico (GABBIANI *et al.*, 2009).

Estudos realizados em 1996 demonstraram que o complexo  $[\text{RuCl}_2(\text{CQ})]_2$  (Figura 18-a) onde CQ (Figura 18-b) corresponde a cloroquina mostrou-se eficaz para contornar o mecanismo de resistência do *P. falciparum*, sendo ativo *in vitro* em duas cepas resistentes a CQ (GAMBINO; OTERO, 2012).

Figura 18 - a) Estrutura do  $[\text{RuCl}_2(\text{CQ})]_2$  e b) Estrutura da Cloroquina.



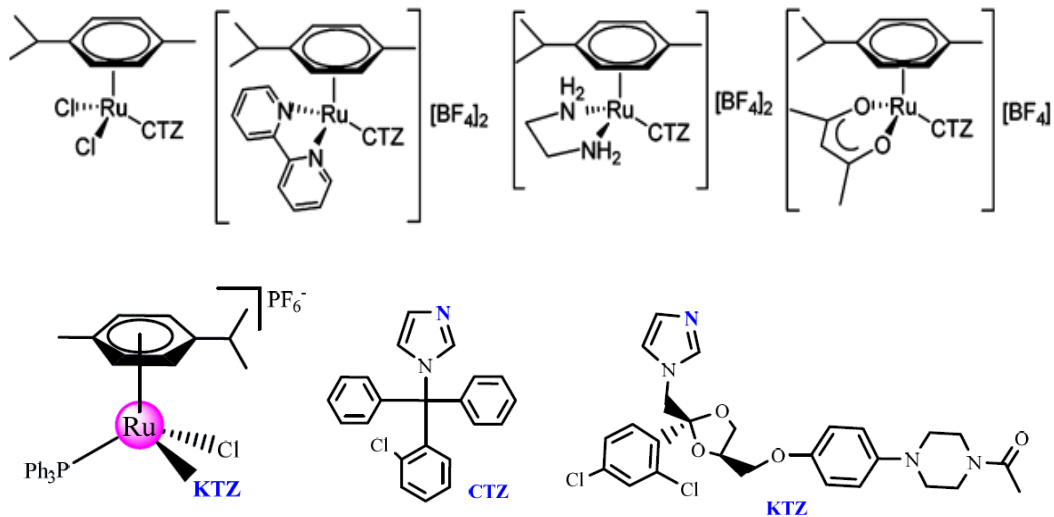
Fonte: Adaptado de GAMBINO; OTERO (2012).

Outros estudos reportaram a atividade antiparasitária de alguns complexos organometálicos de rutênio contendo moléculas antifúngicas como o clotrimazol (CTZ)

e o cetoconazol (KTZ) (Figura 19). Os resultados demonstraram atividade promissora contra *Leishmania major* e *Trypanosoma cruzi* (COLINA-VEGAS *et al.*, 2016, 2018; MARTÍNEZ *et al.*, 2012).

Em face do potencial antiparasitário apresentado na literatura por alguns complexos de rutênio e por se tratar de uma aplicação menos investigada, esta é uma vertente que tem despertado interesse dos Químicos Inorgânicos Sintéticos, devido ao grande número de pessoas afetadas por doenças negligenciadas (NASCIMENTO *et al.*, 2019).

Figura 19 - Complexos de rutênio com atividade anti-parasitária.



Fonte: Adaptado de COLINA-VEGAS *et al.* (2016, 2018); MARTÍNEZ *et al.* (2012).

Diante do exposto, este trabalho buscou estudar também a atividade leishmanicida apresentada pelos complexos sintetizados.

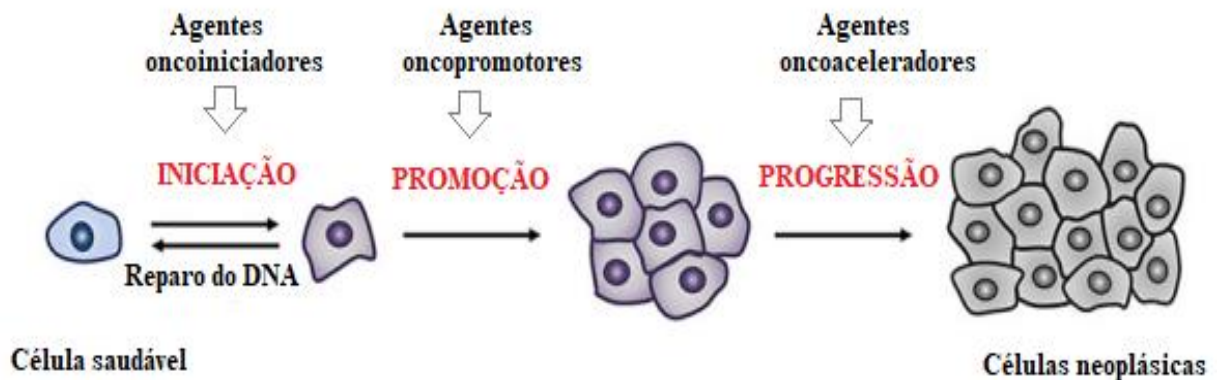
## 2.5 CÂNCER

Câncer, tumores malignos ou neoplasias malignas são alguns dos termos utilizados para se referir a um grande grupo de doenças, caracterizado pelo crescimento descontrolado de células que podem invadir tecidos e órgãos. Consiste na segunda principal causa de morte em todo o mundo, tendo sido responsável por aproximadamente 10 milhões de mortes em 2020 (GCO, 2021). Estima-se ainda que devido às transições demográficas e epidemiológicas o número de casos de câncer possa atingir 24 milhões até o ano de 2035 (PILLERON *et al.*, 2019).

As razões para o crescente número são complexas, mas refletem o envelhecimento e crescimento populacional, fatores associados ao desenvolvimento socioeconômico (BRAY *et al.*, 2018), bem como ao estilo de vida: tabagismo, consumo de álcool, obesidade, dieta e inatividade física, além de fatores reprodutivos e hormonais, sendo os principais alvos da prevenção primária (KATZKE; KAAKS; KÜHN, 2015).

O processo de formação do câncer, denominado de carcinogênese ou oncogênese ocorre lentamente podendo levar vários anos até que origine um tumor detectável. Os efeitos cumulativos de agentes cancerígenos são responsáveis pelos três estágios (início, promoção e progressão) do tumor (Figura 20) (ALMEIDA *et al.*, 2005).

Figura 20 - Estágios da carcinogênese.



Fonte: Adaptado de SIDDIQUI *et al.* (2015).

No estágio de iniciação, as células saudáveis sofrem modificações de genes que surgem espontaneamente ou são induzidos pela exposição a um agente carcinogênico, chamado nesta etapa de oncoiniciador (SIDDIQUI *et al.*, 2015). O benzopireno, uma das substâncias da fumaça do cigarro é considerado um agente oncoiniciador (INCA, 2019a).

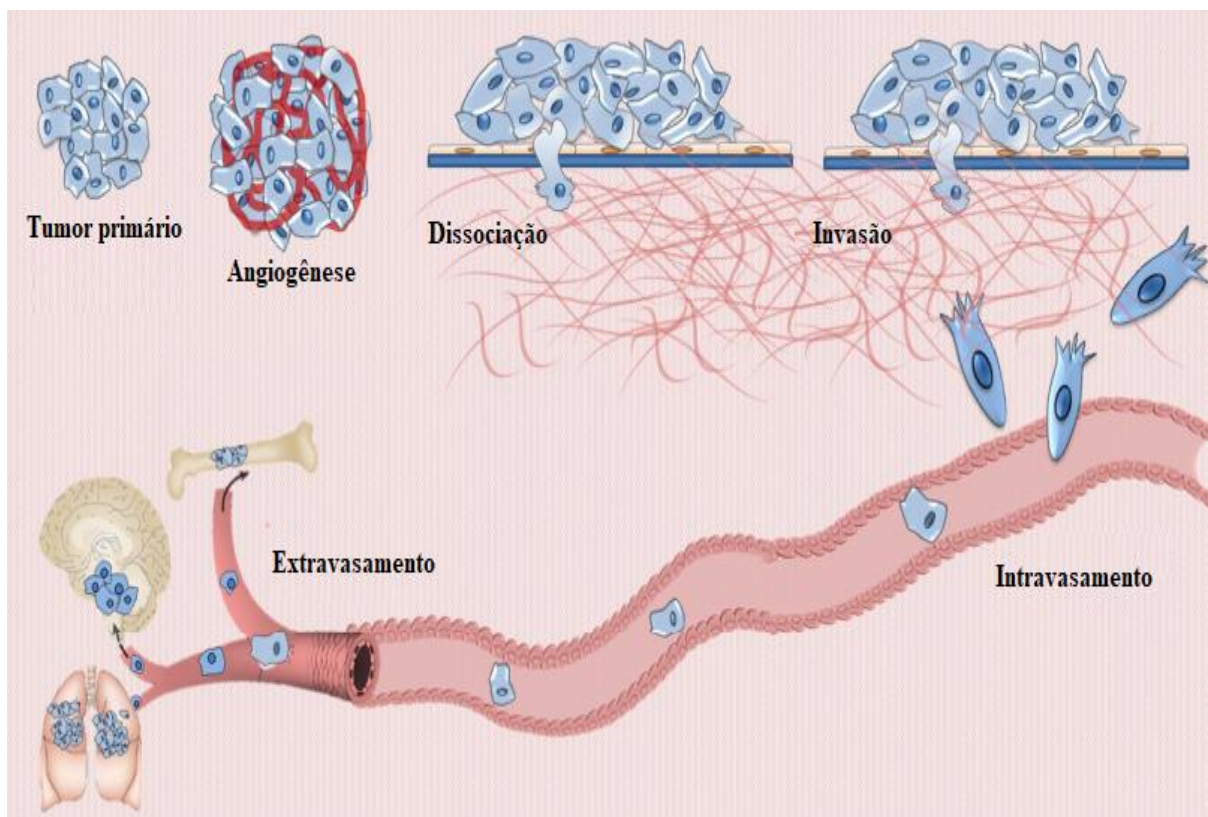
Posteriormente, o estágio de promoção é considerado um processo relativamente demorado e reversível, em que ocorre proliferação e acúmulo de células geneticamente modificadas quando expostas a um período longo de contato com agentes cancerígenos (oncopromotor), como por exemplo alguns componentes da alimentação e hormônios (SIDDIQUI *et al.*, 2015). Importante ressaltar, que agentes

quimiopreventivos devem atuar preferencialmente nas etapas de iniciação e promoção, uma vez que são fases reversíveis (SIDDIQUI *et al.*, 2015).

Finalmente, o estágio de progressão caracteriza-se pela multiplicação descontrolada e irreversível das células alteradas, onde o câncer já encontra-se instalado e evolui até as primeiras manifestações clínicas (INCA, 2019a).

O avanço da doença e a replicação descontrolada das células provoca um processo denominado angiogênese, caracterizado pela formação de novos vasos sanguíneos com a finalidade de nutrir as novas células (ALMEIDA *et al.*, 2005). Por sua vez, pode ocorrer a metástase, termo geral utilizado para descrever quando células cancerosas migram do tumor primário para vasos sanguíneos ou vasos linfáticos, invadindo, disseminando e proliferando em órgãos distantes resultando em tumores secundários malignos (Figura 21) (SEYFRIED; HUYSENTRUYT, 2013).

Figura 21 - Etapas da metástase.

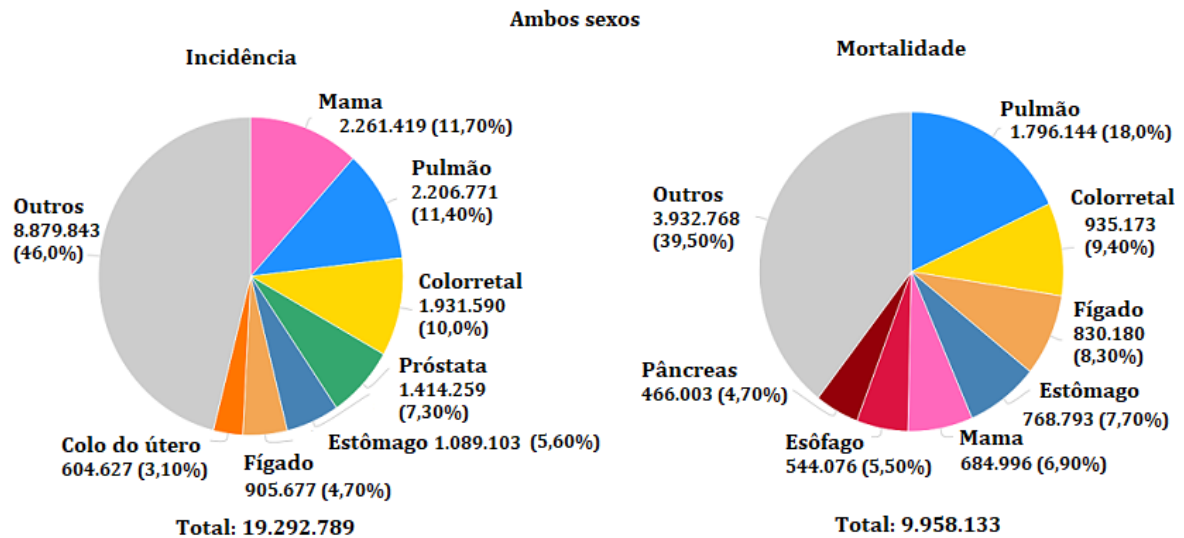


Fonte: Adaptado de ALIZADEH; SHIRI; FARSINEJAD (2014).

A variedade da doença no nível tecidual torna-se um grande desafio para o diagnóstico específico e eficácia de tratamento (HASSANPOUR; DEGHANI, 2017). A mais recente avaliação mundial de câncer (2020), do projeto Global Cancer

Observatory (GCO) da Agência Internacional da Pesquisa do Câncer (IARC) mostrou que pela primeira vez o câncer de mama feminino é a neoplasia maligna mais diagnosticada no cenário mundial (11,70% do total de casos), superando até mesmo o câncer de pulmão que encontra-se em segundo lugar (11,40%) (Figuras 22-23).

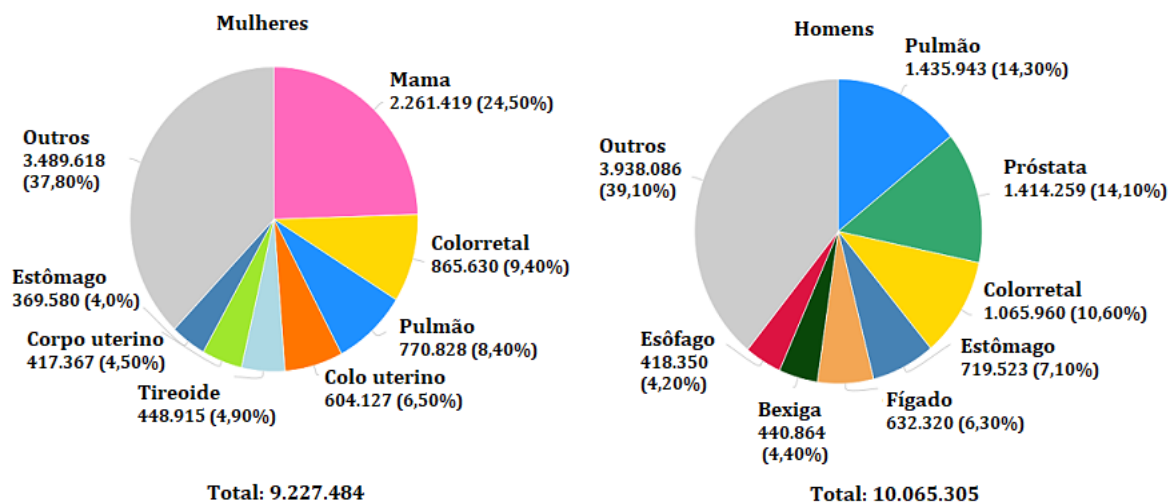
Figura 22 - Gráficos de pizza apresentam a distribuição de casos e mortes dos cânceres mais comuns no mundo em 2020, para ambos os sexos.



Fonte: Câncer, **Global Cancer Observatory**. Disponível em: <https://gco.iarc.fr>. Acesso em: 4 fev. 2021.

Nota: Os cânceres de pele não melanoma estão incluídos na categoria outros.

Figura 23 - Gráficos de pizza apresentam a distribuição de casos de cânceres mais comuns no mundo em 2020, por sexos.



Fonte: Câncer, **Global Cancer Observatory**. Disponível em: <https://gco.iarc.fr>. Acesso em: 4 fev. 2021.

Nota: Os cânceres de pele não melanoma estão incluídos na categoria outros.

Entretanto, o câncer de pulmão continua sendo a principal causa de mortes (18,0% do total de mortes por câncer) tanto em países de baixa renda, como na maioria das regiões de renda mais alta (América do Norte, Europa e Austrália).

As taxas de mortalidade subsequentes estão concentradas nos cânceres: colorretal (9,40%), fígado (8,30%), estômago (7,70%), mama feminino (6,90%), esôfago (5,50%) e pâncreas (4,70%) (Figura 22) (GCO, 2021).

Para o sexo feminino o câncer de mama apresentou o maior índice de incidência (24,50%) (Figura 23) no ano de 2020, representando 1 em cada 4 cânceres diagnosticados entre mulheres em todo o mundo.

Em seguida, os cânceres mais comuns foram: colorretal (9,40%), pulmão (8,40%), colo uterino (6,50%) e de tireoide (4,90%). Em contraposição, para o sexo masculino os cânceres de pulmão (14,30%) e próstata (14,10%) foram os mais recorrentes, juntos demonstraram quase um terço de todos os cânceres masculinos (GCO, 2021).

O câncer de pele também merece destaque, pois consiste na doença mais comum encontrada principalmente em caucasianos (D'ORAZIO *et al.*, 2013), sendo reportado anualmente mais de um milhão de novos casos no mundo (ORTHABER *et al.*, 2017). Existem vários tipos de câncer de pele, os quais são classificados de acordo com as células de origem e o comportamento clínico apresentado, sendo os mais comuns: carcinoma de células basais, carcinoma de células escamosas (ambos referidos também como câncer de pele não melanoma) e o melanoma maligno (SIMÕES; SOUSA; PAIS, 2015).

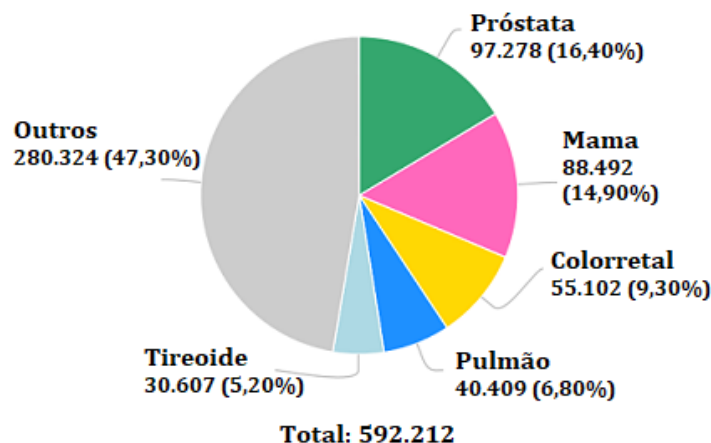
Um dos maiores fatores de risco para o desenvolvimento de câncer de pele é a radiação ultravioleta (UV) devido à exposição excessiva ao sol (GORDON, 2013), assim indivíduos de pele clara, por possuírem baixos níveis de eumelanina (pigmento escuro protetor de radiações UV) são mais propensos a desenvolverem melanoma e outras formas de câncer de pele. Por meio de mecanismos diretos e indiretos favorecidos pela radiação UV podem ocorrer mutações genéticas, imunossupressão e estresse oxidativo, fatores que contribuem para o desenvolvimento do câncer (NIKOLAOU; STRATIGOS, 2014).

Importante citar que embora o câncer não melanoma supere fortemente os melanomas em incidência, o primeiro é mais fácil de tratar e tem melhor prognóstico a longo prazo, apresentando menor fatalidade, uma vez que tendem a permanecer no local primário da doença (SIMÕES; SOUSA; PAIS, 2015).

No Brasil estima-se que haverá a cada ano do triênio 2020-2022 aproximadamente 625.000 novos casos de câncer no país (450.000 excluindo os casos de câncer de pele não melanoma). Segundo a estimativa, o câncer de pele não melanoma será o de maior incidência (177.000), seguido pelos cânceres de: mama e próstata (66.000 cada), cólon e reto (41.000), pulmão (30.000) e estômago (21.000) (INCA, 2019b).

De acordo com a avaliação realizada pelo GCO, em 2020 o Brasil apresentou 592.212 casos de câncer e aproximadamente 260 mil mortes. Ao analisar os dados de incidência para ambos os sexos (Figura 24) o câncer de próstata foi o mais diagnosticado (16,40%), seguido dos cânceres: de mama feminino (14,90%), colorretal (9,30%), pulmão (6,80%) e tireoide (5,20%) (GCO, 2021).

Figura 24 - Gráficos de pizza apresentam a distribuição dos cânceres mais comuns no Brasil em 2020, para ambos os sexos

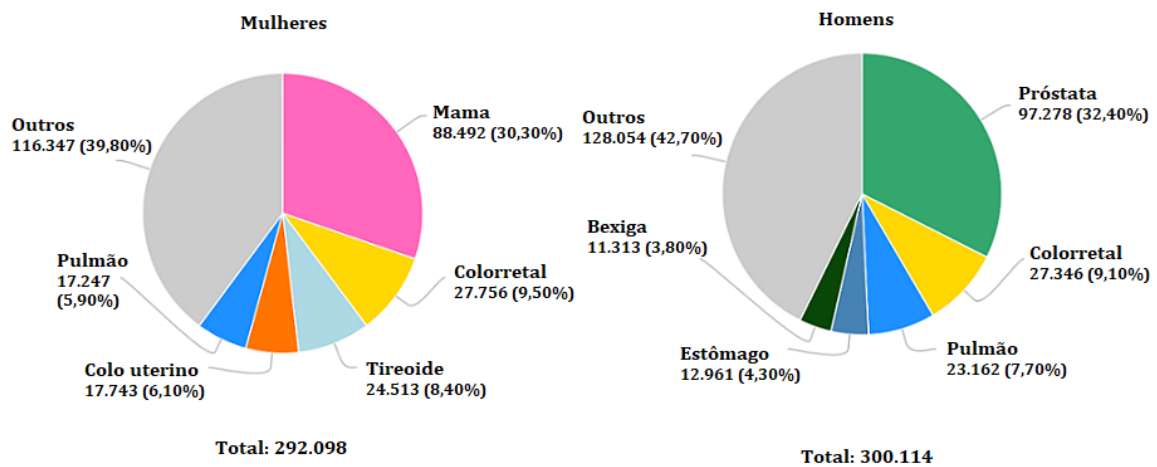


Fonte: Câncer, **Global Cancer Observatory**. Disponível em: <https://gco.iarc.fr>. Acesso em: 4 fev. 2021.

Nota: Os cânceres de pele não melanoma estão incluídos na categoria outros.

Os tipos mais recorrentes da doença para o sexo masculino foram: próstata (32,40%), colorretal (9,10%), pulmão (7,70%), estômago (4,30%) e bexiga (3,80%), enquanto para o sexo feminino os cânceres de mama (30,30%), colorretal (9,50%), tireoide (8,40%), colo uterino (6,10%) e pulmão (5,90%) se destacaram (Figura 25) (GCO, 2021).

Figura 25 - Gráficos de pizza apresentam a distribuição dos cânceres mais comuns no Brasil em 2020.



Fonte: Câncer, **Global Cancer Observatory**. Disponível em: <https://gco.iarc.fr>. Acesso em: 4 fev. 2021.

Nota: Os cânceres de pele não melanoma estão incluídos na categoria outros.

Um aspecto importante a ser mencionado é a variação e magnitude dos tipos de câncer levando em consideração as diferentes regiões do Brasil, sendo o Sudeste de maior incidência (60,0%), seguido pelo Nordeste (27,8%) e Sul (23,4%). Os cânceres de próstata e mama predominam nas regiões Sudeste e Sul, assim como na região Centro-Oeste. Entretanto, para as demais regiões (Norte e Nordeste) ocorrem taxas de incidência alarmantes para câncer do colo do útero e de estômago (INCA, 2019b).

O tratamento do câncer pode ocorrer por meio de cirurgia (quando há a possibilidade de retirada do tumor), radioterapia ou quimioterapia. Em muitos casos é necessário a combinação de mais de uma modalidade (INCA, 2019c). As medidas locais de tratamento (cirurgia ou radioterapia) são indicadas quando o tumor não sofreu processo de metástase. Para os demais casos, a neoplasia caracteriza-se pelo desenvolvimento precoce de micrometástases, indicando a necessidade de uma abordagem sistêmica, que pode ser efetuada com quimioterapia (ALMEIDA *et al.*, 2005), a qual consiste na administração de substâncias químicas isoladas ou em combinação para o tratamento das neoplasias malignas (INCA, 2008).

A escolha dos agentes neoplásicos a serem administrados é fundamentada na cinética celular, isto é, o ciclo de vida das células, o tempo de duração deste, o tamanho do tumor e a fração de crescimento (INCA, 2008).

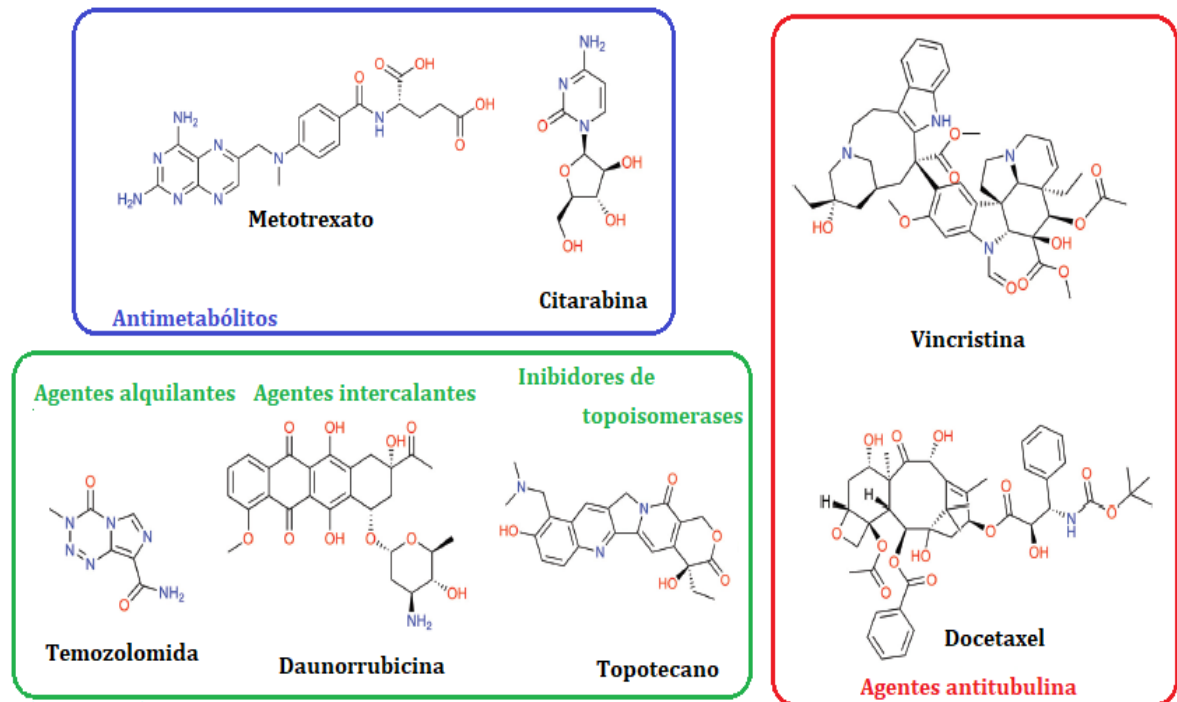
Os antineoplásicos convencionais podem ser classificados em três famílias (MEEGAN; BOYLE, 2019) (Figura 26), segundo o modo de ação sob o DNA:

- **Antimetabólitos**, são aquelas moléculas que inibem a síntese de componentes do DNA agindo como moléculas antagonistas, são estruturas análogas às bases nitrogenadas (fluorouracil, citarabina, gemcitabina e azacitidina) e/ou do ácido fólico (metotrexato e raltitrexato) (GUICHARD *et al.*, 2017).
- **Agentes alquilantes, agentes intercalantes e inibidores de topoisomerases** são moléculas que atuam diretamente sob o DNA. Os primeiros são compostos que possuem grupos eletrofílicos capazes de reagirem com nucleófilos das bases nitrogenadas do DNA, alterando por consequência processos de replicação e transcrição através da alquilação (análogos da mostarda nitrogenada, cisplatina e derivados, etileniminas, metilmelaminas, triazenos, hidrazinas, nitrosuréis e alquilsulfonatos). Os agentes intercalantes são moléculas planares e policíclicas (antraciclina e antracenedionas) que podem ser incorporadas entre pares de bases nitrogenadas vizinhas do DNA e assim impedem a replicação da macromolécula. Por último, os inibidores de topoisomerases (derivados da camptotecina e epipodofilotoxina) interagem com as enzimas (topoisomerases I e II) responsáveis por diminuir a tensão gerada pelas supertorções nas fitas de DNA. Assim essas enzimas atuam nos processos de replicação, transcrição, recombinação e remodelação da cromatina (GUICHARD *et al.*, 2017).
- **Agentes antitubulina** são moléculas que interferem na mitose das células por meio da inibição da dinâmica dos microtúbulos, ou seja, atuam dificultando a formação dos fusos mitóticos (taxanos e alcaloides da vinca, que é uma flor) (GUICHARD *et al.*, 2017).

Embora o objetivo inicial da quimioterapia seja a destruição de células neoplásicas, a maioria dos agentes quimioterápicos atua de forma não específica e acaba lesando tanto as células doentes quanto as normais, fato que explica os efeitos colaterais do tratamento, como: náuseas, perda de cabelo, nefrotoxicidade e susceptibilidade maior a infecções (ALMEIDA *et al.*, 2005).

Devido a estes fatores torna-se crescente a busca por novos quimioterápicos que possam atuar de forma mais específica contra as células tumorais e simultaneamente ofereçam menores efeitos colaterais.

Figura 26 - Estruturas de alguns antineoplásicos de acordo com o modo de ação com o DNA.



Fonte: Adaptado de GUICHARD *et al.* (2017).

Diante do exposto, a escolha das linhagens de células tumorais avaliadas neste trabalho foi pautada no cenário de incidência e mortalidade do câncer a nível mundial e nacional, bem como nas propriedades biológicas apresentadas pelos ligantes de forma isolada e a disponibilidade das células no laboratório colaborador (LABAInt).

### 2.5.1 Potenciais alvos terapêuticos no tratamento do câncer

Alvos terapêuticos compreendem biomoléculas que apresentam funções biológicas essenciais e que estão diretamente relacionadas a uma doença (SARAVANAN; DAS, 2018). Diversas proteínas (receptores, enzimas, transportadores, canais iônicos), ácido ribonucleico (RNA) e ácido desoxirribonucleico (DNA) atuam como alvos terapêuticos e são estudados para o desenvolvimento e descoberta de novos medicamentos contra o câncer (FILHO, 2016).

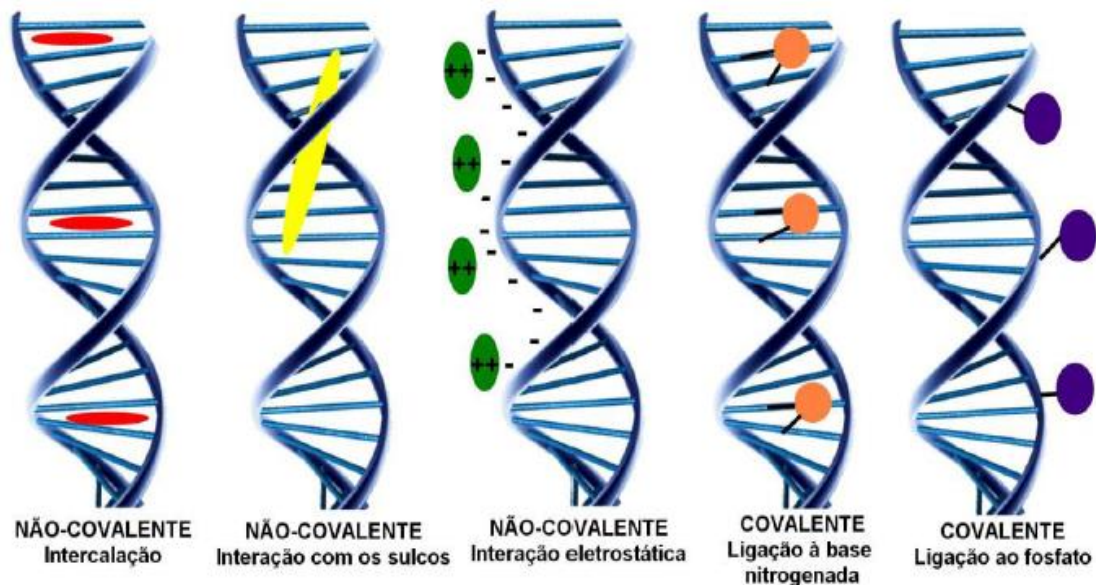
Complexos metálicos podem atuar contra uma variedade de alvos terapêuticos, como por exemplo, membranas, RNA, DNA, proteínas e organelas celulares (KOMOR; BARTON, 2013), uma vez que o centro metálico carregado positivamente do composto é capaz de interagir com biomoléculas carregadas negativamente (BARRA; NETTO, 2015). Estas, por sua vez, desempenham funções indispensáveis

na determinação da atividade celular, sendo importante compreender como os complexos interagem com estes alvos, a fim de explorar o possível mecanismo de ação e selecionar o composto mais eficaz (ZENG *et al.*, 2017).

Entre os potenciais alvos terapêuticos contra o câncer, o DNA é apontado como um dos principais, uma vez que as células cancerosas têm uma alta taxa de proliferação regulada por esta macromolécula (ZENG *et al.*, 2017), sendo assim, a modulação da expressão gênica ou da interferência na replicação mostra-se como uma estratégia interessante (BARRA; NETTO, 2015).

Complexos podem interagir com a estrutura do DNA de diferentes formas (Figura 27), sendo estas classificadas como: ligações covalentes/coordenadas quando o contato se dá por suas bases nitrogenadas ou pelo grupo fosfato e não covalentes, quando ocorrem interações: eletrostáticas, hidrofóbicas dos sulcos ou intercalação, bem como combinação de todos esses modos (PAGES *et al.*, 2015).

Figura 27 - Representação esquemática dos possíveis modos de interação complexo-DNA.



Fonte: BARRA; NETTO (2015, p. 2002).

As ligações covalentes com o DNA são irreversíveis e levam à completa inibição das funções da macromolécula, ocasionando a morte celular subsequente. A formação de adutos pode causar distorção do DNA e por consequência afetar tanto a transcrição quanto a replicação, interrompendo a sinalização de complexos protéicos (LIU; SADLER, 2011). Três modos de ligações covalentes com o DNA são possíveis:

substituição de bases nitrogenadas, ligações cruzadas inter e intra-fita e alquilação de bases nitrogenadas (ALEKSIĆ; KAPETANOVIĆ, 2014).

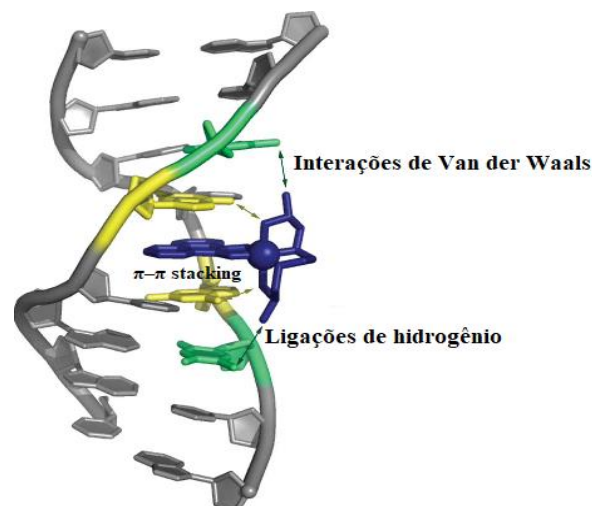
Em meio as interações não-covalentes, destaca-se as intercalações que caracterizam-se pela inserção de moléculas aromáticas policíclicas planares carregadas positivamente entre pares de bases nitrogenadas consecutivos do DNA (PAGES *et al.*, 2015). Esta inserção é estabilizada por meio de empilhamentos  $\pi$ - $\pi$  ( $\pi$ - $\pi$  stacking) entre os pares de bases nitrogenadas e o anel aromático podendo provocar alongamento, enrijecimento e ou desenrolamento da dupla hélice (BARRA; NETTO, 2015).

A intercalação é reversível e pode ser estabilizada por uma combinação de interações como: eletrostática, Van der Waals, hidrofóbicas e ligações de hidrogênio (Figura 28) (KOSTJUKOV *et al.*, 2011; MUKHERJEE, 2011).

Os intercaladores também podem ser mutagênicos potentes, devido à sua capacidade de induzir alterações estruturais e, portanto, funcionais no DNA, levando à inibição da transcrição, processos de replicação e reparo (BARRY; SADLER, 2013).

Existem vários intercaladores orgânicos, no entanto geralmente eles possuem estruturas químicas baseadas em uma das seis classes seguintes (Figura 29): antracenos, acridinas, fenantridinas, fenantrolinas, elipticinas e antraquinonas (BARRA; NETTO, 2015). A ligação covalente de intercaladores orgânicos a cátions metálicos produz metalointercaladores e pode levar a interações com o DNA inovadoras influenciando a atividade biológica (LIU; SADLER, 2011).

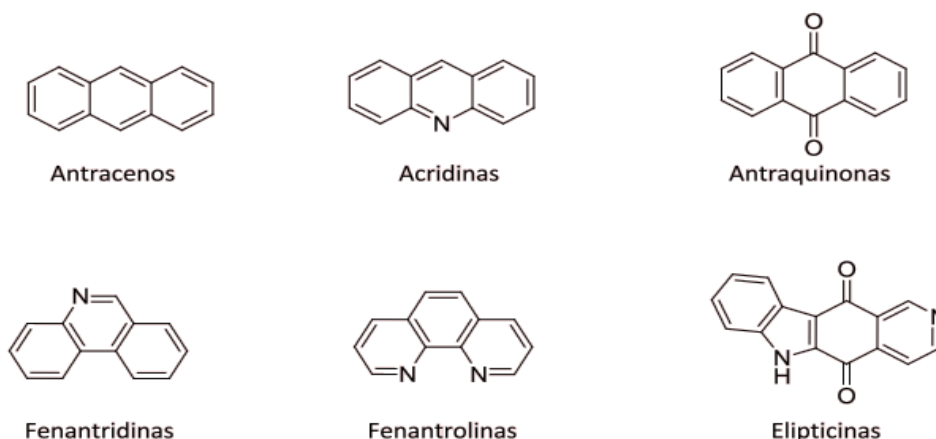
Figura 28 - Representação de possíveis interações atuantes em intercaladores.



Fonte: Adaptado de ZEGLIS; PIERRE; BARTON (2007).

Destaca-se neste trabalho a molécula HQ, uma vez que pertence à classe das antraquinonas e foi utilizada como um dos ligantes para a formação dos complexos de Ru(II) e Ru(III).

Figura 29 - Estruturas químicas das classes de moléculas intercaladoras clássicas.



Fonte: Adaptado de BARRA; NETTO (2015).

No presente trabalho, a interação dos complexos com o DNA foi realizada por meio da espectroscopia de absorção na região do UV-vis, sendo esta considerada a técnica instrumental mais simples e comumente empregada para o estudo tanto da estabilidade do DNA, quanto de suas interações com pequenas moléculas (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013).

Complexos metálicos geralmente apresentam bandas de absorção específicas na região do UV-vis, devido às transições intraligantes, transferências de carga metal-ligante ou ligante-metal e transições d-d, desta forma, uma maneira simples de determinar se ocorre alguma interação complexo-DNA consiste em analisar as modificações do máximo de uma dessas bandas quando o DNA está presente em diferentes concentrações (TOPALA *et al.*, 2014). A magnitude dessa mudança pode ser interpretada como um indício da força de interação entre a estrutura do DNA e a molécula de interesse (JAUMOT; GARGALLO, 2012; SUN *et al.*, 2011).

Alterações estruturais do DNA são indicadas por deslocamentos das bandas para maiores comprimentos de ondas (batocromismo) ou menores (hipsocromismo). Outras evidências de interação compreendem o hipercromismo (aumento da absorbância) e hipocromismo (diminuição da absorbância) que sugerem alteração estrutural da dupla hélice do DNA (JAKOVLJEVIĆ *et al.*, 2018).

Geralmente, complexos que interagem com o DNA por meio de intercalação apresentam em seus espectros hipocromismo e batocromismo, os quais são originados devido a aproximação entre os grupos cromóforos aromáticos do ligante e as bases nitrogenadas do DNA. Conforme o orbital  $\pi^*$  do ligante intercalador interage com o orbital  $\pi$  das bases nitrogenadas ocorre uma diminuição da energia de transição  $\pi$ - $\pi^*$ , fato que promove o aumento do comprimento de onda absorvido. Simultaneamente, o orbital  $\pi$  encontra-se parcialmente preenchido com elétrons, diminuindo a probabilidade das transições e resultando no hipocromismo (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013).

Em contraposição, o hiperchromismo está associado com atrações eletrostáticas entre o complexo e o DNA, podendo provocar a desnaturação da biomolécula que ao ter a dupla hélice separada parcialmente ou totalmente em fitas simples devido a redução das interações entre as bases nitrogenadas ou a liberação das bases pode provocar um aumento da absorbância (SIRAJUDDIN; ALI; BADSHAH, 2013). O efeito hiperchromico também origina-se de atrações eletrostáticas entre cátions e os grupos fosfatos do DNA, resultando em contrações e danos à estrutura da macromolécula (ARJMAND; JAMSHEERA, 2011).

A intensidade da interação entre um complexo e o DNA pode ser determinada calculando-se a constante de ligação intrínseca ( $K_b$ ), utilizando-se o modelo teórico de *Neighbor Exclusion* descrito pela equação (1), onde: [DNA] refere-se a concentração de DNA adicionada;  $\epsilon_a$  é o coeficiente de extinção aparente, o qual corresponde à razão entre a absorbância medida e a concentração do complexo ( $A_{\text{observada}}/[\text{Complexo}]$ );  $\epsilon_f$  é o coeficiente de absorvidade molar do complexo livre (sem adição de DNA) e  $\epsilon_b$  é o coeficiente de absorvidade molar do complexo ligado ao DNA (WOLFE; SHIMER; MEEHAN, 1987).

Desta forma,  $K_b$  compreende a razão entre os coeficientes angular e linear de um gráfico  $[DNA]/(\epsilon_a - \epsilon_f)$  versus [DNA] (BARRA; NETTO, 2015).

$$\frac{[DNA]}{(\epsilon_a - \epsilon_f)} = \frac{[DNA]}{(\epsilon_b - \epsilon_f)} + \frac{1}{[K_b (\epsilon_b - \epsilon_f)]} \quad (1)$$

Assim como para o DNA, complexos metálicos podem interagir com aminoácidos, peptídeos ou proteínas (BARRY; SADLER, 2013), podendo formar adutos com átomos de nitrogênio, enxofre ou selênio de resíduos protéicos (histidina,

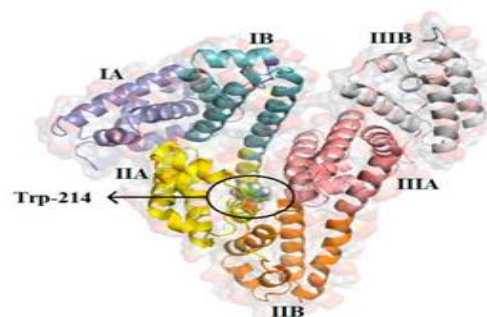
cisteína ou selenocisteína) e assim provocar efeitos terapêuticos (CHE; SIU, 2010). Desta forma, diversas proteínas têm sido propostas como possíveis alvos terapêuticos de complexos metálicos (SAVA *et al.*, 2012), uma vez que muitas desempenham funções cruciais em processos metabólicos e outras vias celulares, sendo chamadas portanto de enzimas. Destaca-se entre elas, as envolvidas na captação intracelular (de fármacos), na proliferação de células cancerosas, disseminação metastática, produção de EROs e apoptose (SIMOVIC *et al.*, 2019).

A albumina é a proteína plasmática mais abundante no sangue humano ( $c = 35\text{-}50 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e está envolvida no transporte de nutrientes e fármacos no organismo, função que é facilitada por seus múltiplos locais de ligação (LARSEN *et al.*, 2016).

Ao interagir com diferentes tipos de fármacos, atua como sistema de administração e transporte (GROESSL *et al.*, 2010), mas também pode desempenhar um papel importante na inativação de medicamentos (BERGAMO *et al.*, 2003). Assim, a caracterização farmacológica de qualquer candidato a medicamento envolve o estudo de suas interações com a proteína sérica mais abundante, sendo importante a determinação da constante de afinidade e o número de sítios de ligação (GROESSL *et al.*, 2010).

A estrutura da albumina sérica humana (HSA) é composta por 585 aminoácidos, dos quais 17 grupos tirosina e apenas 1 resíduo de triptofano (MOREIRA *et al.*, 2015). Estes formam três domínios estruturalmente semelhantes (I-III), cada um constituído em dois subdomínios (A e B) e estabilizado por 17 pontes dissulfeto (SHAHSAVANI *et al.*, 2016). O triptofano encontra-se localizado na posição 214 do subdomínio IIA da proteína (Trp-214) (AMIRI; JANKEJE; ALBANI, 2010) (Figura 30) e corresponde ao resíduo com emissão de fluorescência mais significativa quando a macromolécula é excitada em 280 nm (NAVEENRAJ; ANANDAN, 2013).

Figura 30 - Representação da estrutura da HSA.



Fonte: Adaptado de CHAVES *et al.* (2018).

A espectroscopia de fluorescência é uma técnica amplamente empregada para estudar a interação entre uma molécula de interesse e a HSA, uma vez que a supressão da fluorescência intrínseca da biomolécula indica o contato entre o fluoróforo e o supressor (molécula responsável pela diminuição da fluorescência) (NETO *et al.*, 2020).

Na maioria dos casos a diminuição da fluorescência pode ser explicada por meio das colisões entre as moléculas no estado excitado com a espécie supressora enfatizando-se dois mecanismos principais nomeados como dinâmico e estático (NUSRAT *et al.*, 2016). Este modelo proposto por Stern-Volmer descreve a diminuição da fluorescência por meio de uma abordagem matemática (2) (NETO *et al.*, 2020):

$$F_0/F = 1 + K_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{sv} [Q] \quad (2)$$

Em que  $F_0$  e  $F$  são as intensidades relativas na ausência e presença de supressor, respectivamente,  $K_q$  é a constante de velocidade bimolecular de supressão,  $\tau_0$  é o tempo de vida médio de fluorescência das biomoléculas na ausência de supressor ( $\sim 10^{-9}$  s),  $[Q]$  é a concentração do supressor e o produto  $K_q \tau_0$  é conhecido como constante de Stern-Volmer ou constante de supressão ( $K_{sv}$ ) (LAKOWICZ, 2002).

A equação (2) também pode ser reescrita para conter a constante de ligação entre o complexo e a HSA ( $K_b$ ) e o número de sítios de ligação por molécula de proteína ( $n$ ), conforme representado abaixo:

$$\log (F_0 - F) = \log K_b + n \log [Q] \quad (3)$$

O mecanismo dinâmico é originado pela colisão entre o fluoróforo em um estado excitado e o supressor, ocasionando desativação sem que o fluoróforo emita radiação para o estado fundamental (JAIN; BLUM; SUBRAMANIAM, 2009). Por ser um processo que depende da difusão das moléculas ele pode ser identificado quando o aumento da temperatura em um sistema ocasiona também o aumento de  $K_{sv}$ , pois promove a diminuição da viscosidade do meio, favorecendo a difusão do supressor em direção ao fluoróforo (LAKOWICZ, 2002; MOREIRA *et al.*, 2015).

Por outro lado, o mecanismo estático caracteriza-se pela formação de um complexo não fluorescente entre supressor e fluoróforo em seu estado fundamental (JAIN; BLUM; SUBRAMANIAM, 2009), provocando a diminuição da estabilidade do

complexo intermediário (MOREIRA *et al.*, 2015) indicado quando o aumento da temperatura diminui os valores de  $K_{sv}$  (LAKOWICZ, 2002).

Portanto, aplicando-se o modelo de supressão dinâmica da fluorescência também conhecido como mecanismo de supressão de fluorescência de Stern-Volmer é possível determinar alguns parâmetros importantes como: tipo de interação entre a proteína e o complexo em estudo, número de sítios de ligação e o mecanismo pelo qual essa interação ocorre (CACITA; NIKOLAOU, 2016).

As proteínas quinases também encontram-se entre os alvos mais estudados para agentes terapêuticos direcionados ao câncer, devido participarem ativamente em vias de sinalização celular (BROGNARD; HUNTER, 2011). São enzimas responsáveis pela fosforilação de proteínas-alvo, atuam mediando sinais e regulando diferentes atividades celulares (PAULI; BARREIRO; BARBOSA, 2018). A desregulação e/ou superexpressão dessas proteínas quinases resulta em respostas celulares inadequadas, como o rápido crescimento tumoral (PAULI; BARREIRO; BARBOSA, 2018; YANG; BIERBACH, 2017).

Proteínas mitocondriais são responsáveis por regular a produção de energia, modular potenciais redox da membrana e gerar EROs e ERNs (BARRY; SADLER, 2013) que em concentração adequada são moléculas essenciais de sinalização, responsáveis por regular a proliferação celular, diferenciação, inflamação e síntese hormonal (KIM *et al.*, 2017). Células cancerosas apresentam produção de EROs excessiva, mostrando-se superior a capacidade antioxidante da célula, estado que induz oxidação de várias macromoléculas como: proteínas, lipídios e DNA nuclear e mitocondrial (KIM *et al.*, 2016).

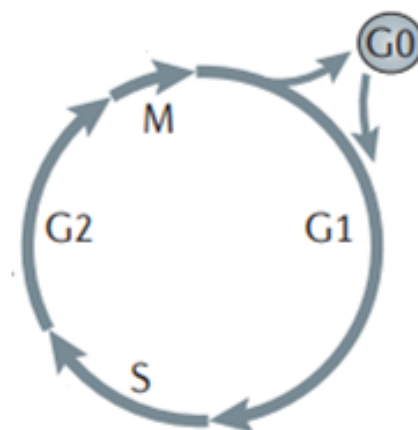
De maneira geral, complexos de rutênio podem interagir com o DNA por meio de ligações covalentes, e /ou interações (BAROLLI *et al.*, 2017; DIAS *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2018), entretanto, apesar da possível interação com a macromolécula, vários estudos têm demonstrado que o principal alvo de alguns complexos de rutênio não é o DNA, mas a atuação de mecanismos induzidos por estes, como exemplo, pode-se citar a inibição de metaloproteases, interferência em processos de adesão e metabolismo do óxido nítrico, os quais são responsáveis pelos efeitos antitumorais de alguns complexos de rutênio. Outros complexos podem também inibir a atividade de topoisomerasas, por meio de ligações diretas a topoisomerasas I e II e interferências na religação do DNA.

A atuação de complexos metálicos sob alvos terapêuticos pode influenciar diretamente o ciclo celular levando à interrupção de algumas etapas importantes e causando por consequência a apoptose de células tumorais, estratégia importante para o desenvolvimento de metalofármacos (LIN *et al.*, 2018).

O ciclo celular dos mamíferos é um processo altamente organizado e regulado que garante a duplicação do material genético e a divisão celular. Ele divide-se em quatro fases distintas (G0, G1, S, G2 e M) (Figura 31), as quais são reguladas por várias quinases dependentes de ciclinas (CDKs). Os complexos formados entre CDKs/Ciclinas são moléculas sinalizadoras responsáveis por regular o processo sequencial de crescimento celular e integridade genética (OTTO; SICINSKI, 2017).

Inicialmente, quando as células não encontram-se em replicação denomina-se de fase G0, esta caracteriza-se por apresentar baixa atividade nuclear. Em seguida, na fase G1 inicia-se a produção de constituintes celulares essenciais para a multiplicação das células como por exemplo: organelas, enzimas e RNA. Na próxima fase, nomeada de S, ocorre a autorreplicação do DNA e em seguida a fase G2 prepara a célula para a mitose (fase M) através da biossíntese de proteínas e outros componentes essenciais. Após a divisão do material nuclear ocorre a citocinese resultando em duas células filhas idênticas à célula que lhes deu origem (célula mãe) e assim ocorre o retorno à fase inicial (ALMEIDA *et al.*, 2005).

Figura 31 - Fases do ciclo celular.



Fonte: Adaptado de OTTO; SICINSKI (2017).

Importante ressaltar que células tumorais diferenciam-se das células saudáveis por não finalizarem o ciclo, isto é, transitam da fase M para G1 replicando-se descontroladamente (ALMEIDA *et al.*, 2005). Outro aspecto interessante nas células

tumorais é que o mecanismo atuante na transição de fases G1/ S encontra-se comumente alterado, portanto compostos que atuem nessa etapa são candidatos em potencial para o tratamento do câncer (DURONIO; COLD, 2013).

Desta forma, o estudo de progressão do ciclo celular e a avaliação das interações entre complexos metálicos e alvos terapêuticos consistem em ferramentas importantes no entendimento dos possíveis mecanismos de ação para o desenvolvimento de metalofármacos contra o câncer, justificando as análises realizadas neste trabalho.

## 2.6 LEISHMANIOSES

As leishmanioses são doenças tropicais e subtropicais ocasionadas por parasitos intracelulares, sendo pelo menos 20 espécies deste protozoário do gênero *Leishmania*, onde a transmissão entre hospedeiros mamíferos ocorre por meio de vetores, mais especificamente as fêmeas de flebotomíneos (Figura 32) que são pequenos insetos do gênero díptera, conhecidos popularmente como mosquito-palha, tatuquira ou birigui (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018).

Figura 32 - Flebotomíneos.



Fonte: Tudo sobre os flebotomíneos do Brasil. **Instituto Oswaldo Cruz**. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=3107&sid=32>. Acesso em: 19 jan. 2019.

Diferentes manifestações clínicas da doença podem ser ocasionadas devido à complexidade de interação entre o sistema imunológico do hospedeiro e a espécie de *Leishmania* (BLANCO; NASCIMENTO-JÚNIOR, 2017). Desta forma, a leishmaniose

pode ser classificada em: cutânea (LC) (subdividindo-se em localizada, disseminada, difusa e mucosa) (Figura 33) e visceral (LV) (TORRES-GUERRERO *et al.*, 2017).

Figura 33 - Manifestações clínicas da Leishmaniose cutânea.



Fonte: Adaptado de COSTA *et al.* (2009); TORRES-GUERRERO *et al.* (2017).

Legenda: a) Localizada.

b) Disseminada.

c) Mucosa.

d) Difusa.

A forma cutânea da doença apresenta como manifestações clínicas infecções de pele que têm início com pápulas no local de inoculação do protozoário e podem evoluir para a formação de placas ou úlceras por todo o corpo (BLANCO; NASCIMENTO-JÚNIOR, 2017).

Já a forma visceral afeta principalmente baço, fígado, medula óssea e menos comumente os rins. Os sintomas da doença incluem: febre, hepatomegalia (aumento do fígado), esplenomegalia (aumento do baço), diarreia, perda de peso, palidez e hemorragia (ANVERSA *et al.*, 2018).

O protozoário causador da doença é endêmico em pelo menos 98 países e coloca em risco mais de 1 bilhão de pessoas (ANVERSA *et al.*, 2018). A cada ano ocorrem de 1,5 a 2 milhões de novos casos no mundo e cerca de 70.000 mortes causadas pela doença (TORRES-GUERRERO *et al.*, 2017).

Mais de 90% dos casos mundiais de LV ocorrem em sete países (Brasil, Índia, Etiópia, Quênia, Sudão do Sul, Somália e Sudão) e, apesar da ampla distribuição, cerca de um terço dos casos de LC ocorre nas Américas, Mediterrâneo e oeste da Ásia, principalmente no Afeganistão, Argélia, Colômbia, Brasil, Irã, Síria, Etiópia, Norte do Sudão, Costa Rica e Peru (ANVERSA *et al.*, 2018). Desde o ano 2000 a LV foi classificada como uma doença tropical negligenciada (DTN), isto é, aquela causada por agentes infecciosos ou parasitos, sendo considerada endêmica e predominante em populações de baixa renda, bem como indicador de investimentos reduzidos em pesquisa, produção de medicamentos e controle (HOTEZ *et al.*, 2020).

No Brasil, oito espécies de *Leishmania* já foram isoladas de pacientes (Tabela 2) (ANVERSA *et al.*, 2018) e a maioria ocasiona a LC. A região norte do país é a mais descrita, entretanto os locais de transmissão têm apresentado mudanças, migrando do ambiente rural para os centros urbanos (BLANCO; NASCIMENTO-JÚNIOR, 2017).

Tabela 2 - Espécies de *Leishmania* que causam leishmaniose no Brasil.

Leishmanioses cutânea			Leishmaniose visceral	
Cutânea localizada	Cutânea disseminada	Mucosa	Cutânea difusa	
<i>L. (V.) braziliensis</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	<i>L. (L.) amazonensis</i>	<i>L. (L.) infantum</i> (syn. chagasi)
<i>L. (V.) guyanensis</i>	<i>L. (L.) amazonensis</i>	<i>L. (L.) amazonensis*</i>		
<i>L. (L.) amazonensis</i>		<i>L. (V.) guyanensis*</i>		
<i>L. (V.) lainsoni*</i>				
<i>L. (V.) naiffi*</i>				
<i>L. (V.) shawi*</i>				
<i>L. (V.) lindenbergi*</i>				

Fonte: ANVERSA *et al.* (2018, p. 282).

Nota: \*espécies menos frequentes.

Entre os anos de 2003 e 2018 foram registrados no Brasil mais de 300.000 casos de LC, com uma média anual de 21.158 casos, concentrados principalmente na região Norte seguido da região Centro Oeste. O coeficiente médio de detecção deste período foi de 11,30 casos por 100.000 habitantes, sendo que a forma clínica mucosa representou 7,70% dos registros (BRASIL, 2019).

No mesmo período relatou-se 51.000 ocorrências de LV, com incidência média de 1,70 casos/ 100.000 habitantes e letalidade de 7,20%. As regiões Norte e Nordeste concentraram os maiores índices desta doença (BRASIL, 2019).

A transmissão da leishmaniose ocorre quando uma fêmea infectada de flebotomíneo transfere o protozoário a uma vítima sem infecção, enquanto se alimenta do sangue.

Além do homem, a doença pode ser transmitida para mamíferos silvestres (preguiça, gambá e roedores) ou domésticos (cães e cavalos) (FIOCRUZ, 2019).

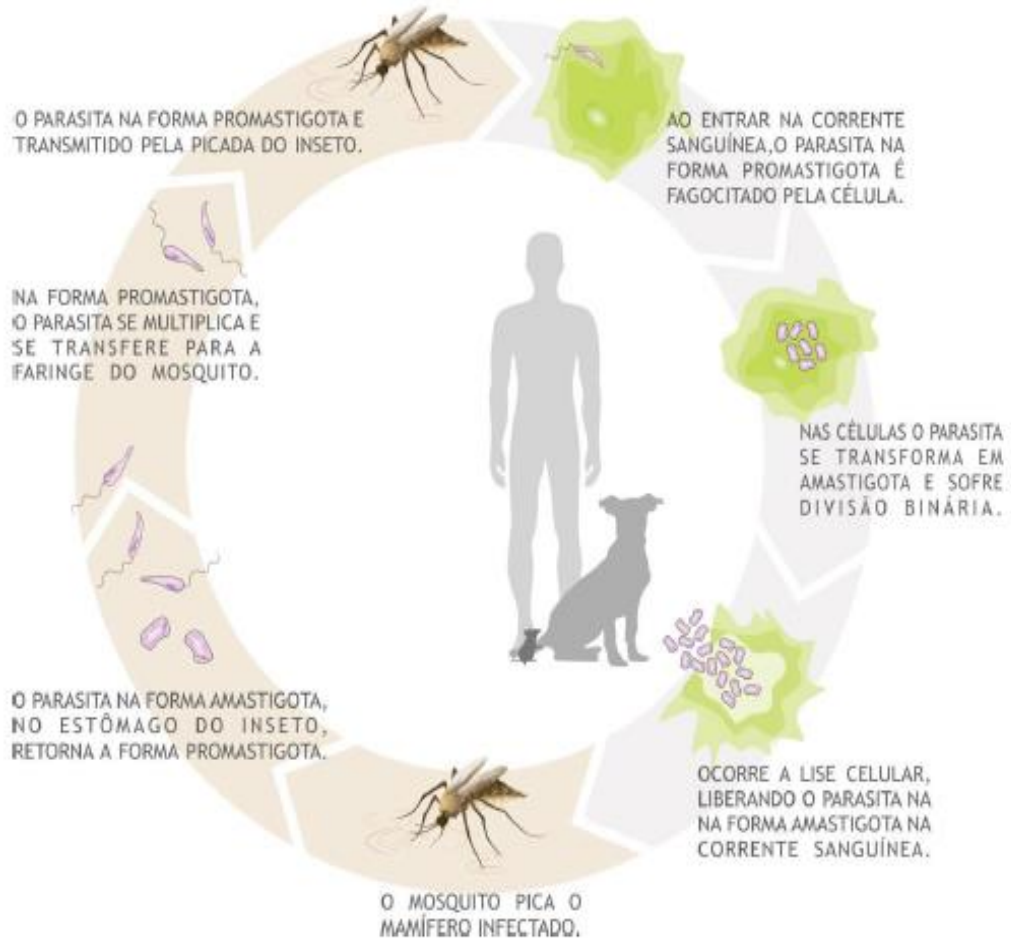
O ciclo de vida digenético deste parasito (Figura 34) compreende a forma promastigota extracelular flagelada que encontra-se no intestino do vetor, o qual infecta o hospedeiro mamífero e ao cair na corrente sanguínea é fagocitado por células saudáveis, os macrófagos.

Em seguida, o protozoário transforma-se na forma amastigota não flagelada, que cresce e multiplica-se através de divisão binária até o momento em que sofre lise celular e promove infecção de outras células, momento em que a vítima começa a apresentar os sintomas da doença.

O ciclo se completa quando a fêmea do flebotomíneo ingere o sangue contaminado e assim os parasitos na forma amastigota se transformam novamente na forma promastigota e estão prontos para reiniciar o ciclo (BLANCO; NASCIMENTO-JÚNIOR, 2017; KUMAR, 2019).

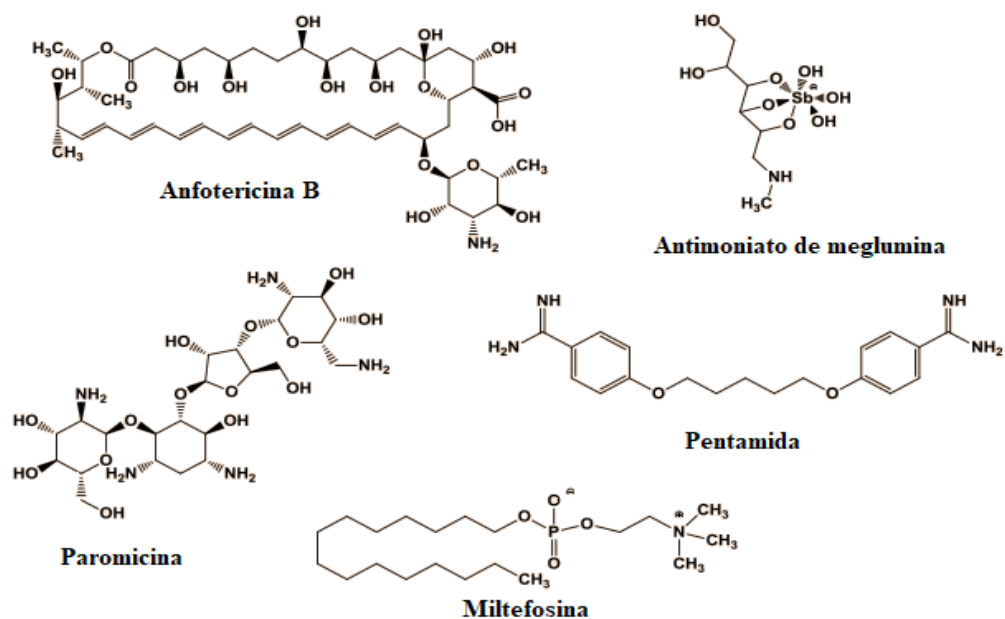
O tratamento para a leishmaniose vem se desdobrando desde o século XX e os agentes que mais se destacam pela eficácia contra a doença são: anfotericina B, antimoniais pentavalentes, pentamidina, paromicina e miltefosina (Figura 35) (GEORGIADOU; MAKARITSIS; DALEKOS, 2015). Nas últimas décadas tem havido um maior interesse pelo estudo da leishmaniose, provavelmente devido ao significativo aumento do número de casos impulsionado por fatores como: migração populacional, infecções oportunistas, resistência a medicamentos utilizados no tratamento, ciclos de transmissão adaptados para ambientes peridomiciliares e desmatamento (ANVERSA *et al.*, 2018).

Figura 34 - Ciclo de vida dos parasitos do gênero *Leishmania*.



Fonte: BLANCO; NASCIMENTO-JÚNIOR (2017, p. 864).

Figura 35 - Estrutura química de fármacos utilizados no tratamento da leishmaniose.



Fonte: Adaptado de BLANCO; NASCIMENTO-JÚNIOR (2017).

Os medicamentos de primeira escolha para o tratamento de todas as formas clínicas da leishmaniose são os antimoniais pentavalentes como o estibogluconato de sódio (Pentostan®) e o antimoniato de N-metil glucamina (Glucantime®) (ANVERSA *et al.*, 2018), ambos administrados via parenteral (intramuscular ou intravenosa) e interferem inibindo a atividade glicolítica e oxidativa do protozoário na forma amastigota (WYLLIE; CUNNINGHAM; FAIRLAMB, 2004). Apesar dos antimoniais pentavalentes mostrarem eficácia de aproximadamente 90% na maioria dos estudos, eles apresentam efeitos colaterais tóxicos nos sistemas cardíaco, renal e hepático sendo, portanto, contraindicados para pacientes com doenças nesses órgãos (ANVERSA *et al.*, 2018). Além do mais, observou-se um aumento no número de falhas terapêuticas a partir da década de 1980 na Índia e as doses necessárias para levar à cura da doença tiveram que ser aumentadas lentamente, demonstrando a resistência do parasito ao medicamento (ULIANA; TRINCONI; COELHO, 2018).

Quando não há uma resposta satisfatória à terapia com antimoniais pentavalentes outros medicamentos como a anfotericina B são empregados. Trata-se de um antifúngico que vem sendo utilizado desde os anos 60 como segunda linha de tratamento (BLANCO; NASCIMENTO-JÚNIOR, 2017). Apesar de apresentar elevadas taxas de cura, superiores a 97% para a leishmaniose cutânea e visceral, o tratamento é bastante árduo e só pode ser realizado em um hospital, devido a via de administração ser intravenosa e também pelos efeitos colaterais adversos e frequentes como: febre, dor de cabeça, náusea, tremores, anemia, alterações cardiovasculares e complicações renais (CROFT; YARDLEY, 2002). Em 1997 uma nova formulação de anfotericina B composta pela formação de complexos lipídicos tornou-se comercialmente disponível, mostrando-se eficaz e de menor toxicidade, entretanto o elevado custo impossibilita seu uso por populações de baixa renda (BLANCO; NASCIMENTO-JÚNIOR, 2017).

Outro medicamento utilizado como segunda linha de tratamento é a pentamidina, a qual tem sido empregada em casos individuais de resistência à primeira terapia de escolha e em países como Índia, Guiana Francesa e Suriname, regiões onde a falha do tratamento com antimoniais pentavalentes é comum (BLANCO; NASCIMENTO-JÚNIOR, 2017; CROFT; YARDLEY, 2002). Apesar do custo inferior em relação a anfotericina B, a pentamidina também ocasiona efeitos colaterais como os demais medicamentos citados, incluindo: dor de cabeça, náusea,

dor abdominal, hipoglicemia e pancreatite que pode levar ao aparecimento de diabetes mellitus em 10 a 15% dos casos (ANVERSA *et al.*, 2018).

Por sua vez, a paromicina, um antibiótico aminoglicosídeo administrado por via parenteral começou a ser utilizado no tratamento da LV inicialmente no Kênia, Índia e Sudão (ULIANA; TRINCONI; COELHO, 2018). Devido ao seu baixo custo e efeitos colaterais pouco frequentes que podem incluir nefrotoxicidade (toxicidade aos rins) e ototoxicidade (toxicidade aos ouvidos), a paromicina representa uma alternativa para casos de resistência aos medicamentos de primeira escolha (CROFT; YARDLEY, 2002). No entanto, observou-se variações de eficácia inter e intra-regionais no tratamento da LV com paromicina, sendo as taxas de cura relatadas frequentemente inferiores quando comparadas com os antimoniais pentavalentes (ANVERSA *et al.*, 2018; ULIANA; TRINCONI; COELHO, 2018).

A miltefosina foi registrada em 2002 na Índia e destaca-se no tratamento da leishmaniose por ser o primeiro medicamento administrado por via oral eficaz. Em 2005 foi adotada como tratamento de primeira linha pela iniciativa de eliminação asiática, no entanto após uma década de uso ocorreu evidências de eficácia reduzida em LV e LC (BURZA; CROFT; BOELAERT, 2018). Efeitos colaterais como náusea, vômito, diarreia e elevação de enzimas hepáticas são comumente relatados no tratamento com miltefosina, além de ser potencialmente teratogênico, não devendo ser utilizado na gravidez (BHATTACHARYA *et al.*, 2007; GEORGIADOU; MAKARITSIS; DALEKOS, 2015).

Deste modo, os desafios atuais de quimioterápicos para o tratamento da leishmaniose incluem: disponibilidade de poucos medicamentos, resistência aos medicamentos existentes, toxicidade e falta de custo-efetividade, sendo de extrema importância o estudo de novos alvos para o tratamento da doença, bem como o desenvolvimentos de novos compostos bioativos (ANSARI *et al.*, 2017).

### **2.6.1 Potenciais alvos terapêuticos no tratamento da leishmaniose**

Doenças parasitárias como a leishmaniose apresentam duas formas evolutivas do parasito (promastigota e amastigota) e possuem diversas biomoléculas que diferem amplamente entre si de acordo com cada forma apresentada, sendo assim torna-se importante para a busca de potenciais medicamentos da doença que o alvo

molecular de interesse seja expresso pelo organismo na fase do ciclo de vida que é patogênico para o hospedeiro vertebrado (GUPTA, 2011).

Além do mais, deve-se selecionar um alvo presente na via biológica do parasito que esteja ausente ou que seja diferente no hospedeiro (DAS *et al.*, 2013). Desta forma é desejável também que o alvo biológico encontre-se envolvido nas vias metabólicas ou funções celulares vitais do parasito, de modo que o bloqueio promova a inibição do crescimento ou morte do mesmo (SINGH *et al.*, 2014).

A fim de elucidar potenciais alvos terapêuticos no tratamento da doença diversas vias metabólicas da *Leishmania* encontram-se atualmente em estudo, como por exemplo: metabolismo de ácidos graxos, esteróis, poliaminas, glicose e glicolipídios (SHARMA *et al.*, 2017). A identificação e estudo das enzimas envolvidas na biossíntese dessas moléculas são importantes para o desenvolvimento de potenciais inibidores (DAS *et al.*, 2013).

As proteases ou peptidases são enzimas que catalisam a hidrólise de ligações peptídicas liberando peptídeos e/ou aminoácidos e têm sido estudadas como potenciais alvos da *Leishmania* (SILVA-LÓPEZ, 2010), uma vez que desempenham importantes funções na fisiologia do microrganismo, além de contribuir para a patologia causada por ele (DEU, 2017). São classificadas conforme o mecanismo de ação exercido, estrutura tridimensional e aminoácido presente em seu sítio ativo, sendo reconhecidas seis classes de proteases pela *International Union of Biochemistry and Molecular Biology* (IUBMB): serino, cisteíno, aspártico, metaloprotease, glutâmico e treonino (CONCEIÇÃO-SILVA; ALVES, 2014).

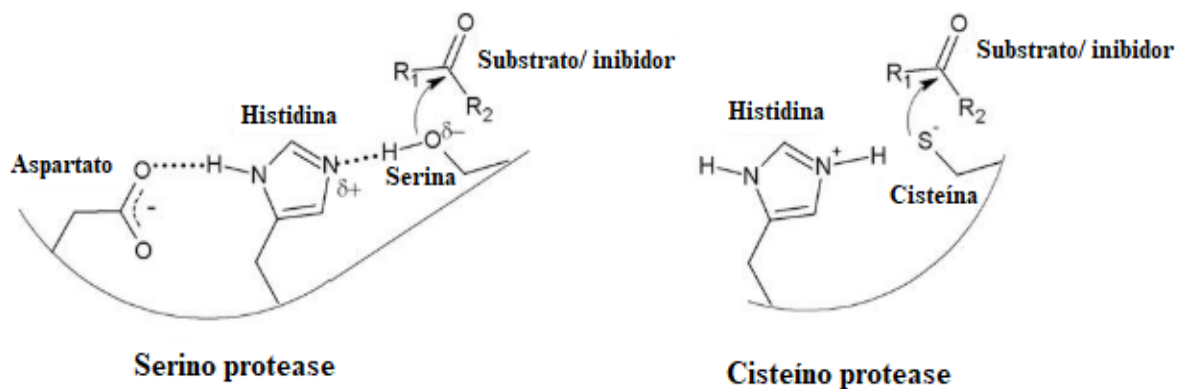
As cisteíno proteases compreendem as enzimas proteolíticas mais estudadas da *Leishmania* que possuem um resíduo de cisteína (Cys25) no sítio ativo (SILVA-LÓPEZ, 2010). Estão presentes em grande quantidade na forma amastigota do parasito e são responsáveis por desempenhar funções como: invasão de células/tecidos do hospedeiro, hidrólise de proteínas do hospedeiro ou parasito, invasão do sistema fagocítico mononuclear do hospedeiro e modulação de sua resposta imune (SIQUEIRA-NETO *et al.*, 2018). Papaína, cruzaina, catepsinas e calpaínas são exemplos de cisteíno proteases que têm funções importantes para adaptação e sobrevivência do parasito no hospedeiro (ALMEIDA *et al.*, 2015).

As serino proteases possuem em seu sítio ativo a tríade catalítica: ácido aspártico, serina e histidina (Asp102, Ser195 e His57) (CONCEIÇÃO-SILVA; ALVES, 2014). Esta classe de proteases é responsável pela degradação do tecido conjuntivo

do hospedeiro facilitando sua invasão, assimilação de aminoácidos para a síntese de peptídeos e proteínas, ativação de outras moléculas biologicamente ativas e está envolvida na remodelagem do parasito durante sua transição morfológica (SILVA-LÓPEZ, 2010). São exemplos de serino proteases mais conhecidas: tripsina, quimiotripsina, elastase e oligopeptidases B e C (SILVA-LÓPEZ, 2010).

Uma visão geral do modo de ataque nucleofílico pelo qual serino e cisteíno proteases catalisam a hidrólise de cadeias peptídicas ou se ligam irreversivelmente a alguns inibidores é descrito na literatura (CONCEIÇÃO-SILVA; ALVES, 2014; MARTINS *et al.*, 2009). Na Figura 36 são representadas as cadeias laterais para os resíduos de aminoácidos, os quais são conservados no sítio ativo dessas duas classes de proteases. As setas indicam o ataque nucleofílico dos átomos de oxigênio e enxofre dos resíduos serina e cisteína respectivamente, no carbono da carbonila deficiente em elétrons dos substratos peptídicos e/ou inibidores (MARTINS *et al.*, 2009).

Figura 36 - Modo de ataque nucleofílico pelo qual serino e cisteíno proteases catalisam a hidrólise de peptídeos ou se ligam irreversivelmente a alguns inibidores.



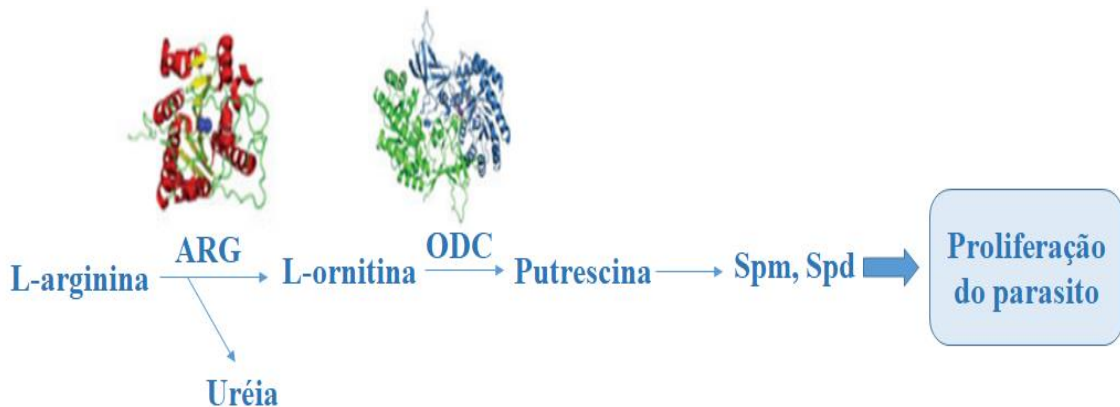
Fonte: MARTINS *et al.* (2009, p. 1231).

Enzimas que atuam na biossíntese de poliaminas também são muito estudadas como alvos terapêuticos, uma vez que a inibição das mesmas influenciam a formação de poliaminas (putrescina, espermina e espermidina), moléculas que desempenham funções importantes tanto no crescimento e diferenciação do parasito da forma promastigota para a amastigota, como na regulagem da peroxidação lipídica gerada por compostos oxidantes, tornando o meio adequado para sobrevivência (SINGH; KUMAR; SINGH, 2012).

A arginase (ARG) e a ornitina descarboxilase (ODC) são enzimas importantes na via de síntese de poliaminas (Figura 37), a primeira é responsável por converter L-arginina em L-ornitina e uréia; em seguida a ODC atua por descarboxilação sob a L-ornitina originando a poliamina putrescina (VANNIER-SANTOS *et al.*, 2008) que serve de substrato para a síntese da espermidina (Spd) e espermina (Spm) através de adições de grupos aminopropil (COLOTTI; ILARI, 2011).

Por fim, ao se conjugar glutatona e Spd através da catálise da tripanotiona sintase ocorre a formação da tripanotiona, molécula crucial para sobrevivência do parasito, uma vez que substitui muitas funções metabólicas e antioxidantes, como por exemplo a eliminação de EROs e ERNs produzidos pelos macrófagos para causar a morte do parasito (COLOTTI; ILARI, 2011).

Figura 37 - Proliferação do parasito do gênero *Leishmania* via L-arginina.

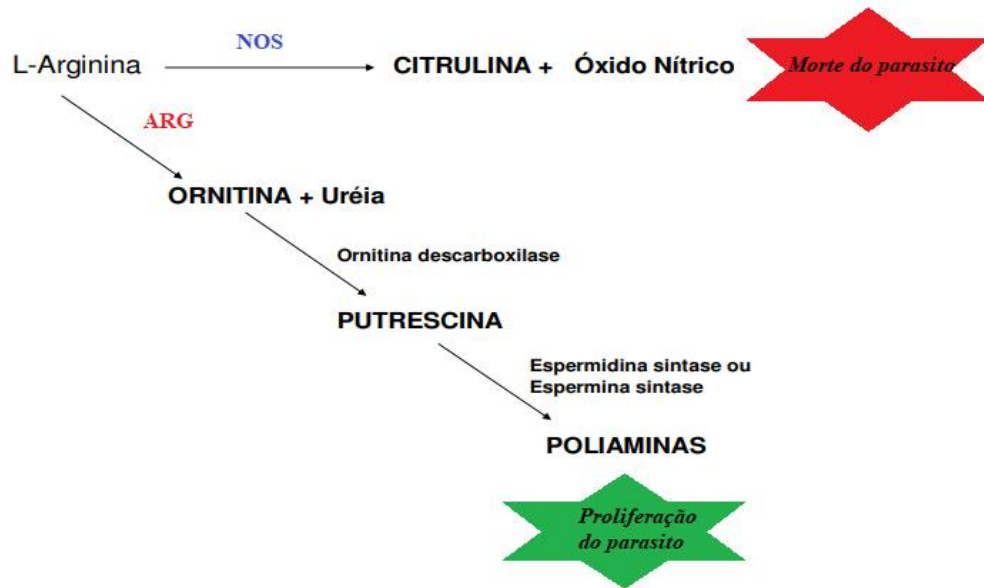


Fonte: Adaptado de COLOTTI; ILARI (2011).

Ressalta-se ainda que a L-arginina consiste também em um substrato da óxido nítrico sintase (NOS) (Figura 38), enzima expressa em macrófagos como sistema de defesa do hospedeiro em resposta à invasão do parasito (MELOS; ECHEVARRIA, 2012).

A NOS catalisa a reação produzindo óxido nítrico (NO) e L-citrulina (Figura 38), sendo que em altas concentrações o NO é citotóxico e causa a morte do parasito. Desta forma, as enzimas ARG e NOS competem pelo mesmo substrato (L-arginina) podendo ocasionar a proliferação ou morte do parasito, respectivamente (CALDWELL *et al.*, 2018).

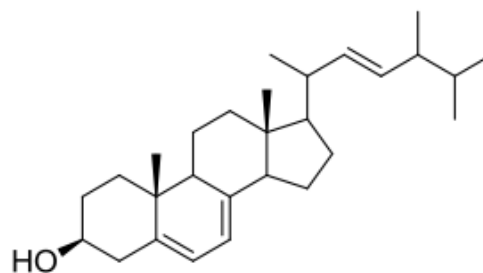
Figura 38 - Esquema de competição pela L-arginina entre as enzimas ARG e NOS.



Fonte: Adaptado de MELOS; ECHEVARRIA (2012).

A biossíntese de esteróis também é estudada como um dos alvos de medicamentos mais adequados para a leishmaniose, uma vez que o ergosterol (Figura 39) e outros 24 metil esteróis são indispensáveis para a viabilidade e crescimento do parasito, devido atuarem como componente das membranas celulares em protozoários e não serem encontrados nas células de mamíferos (DUFOURC, 2008; GOTO *et al.*, 2009).

Figura 39 - Estrutura química do ergosterol.



**Ergosterol**

Fonte: Adaptado de FRANÇA *et al.* (2014).

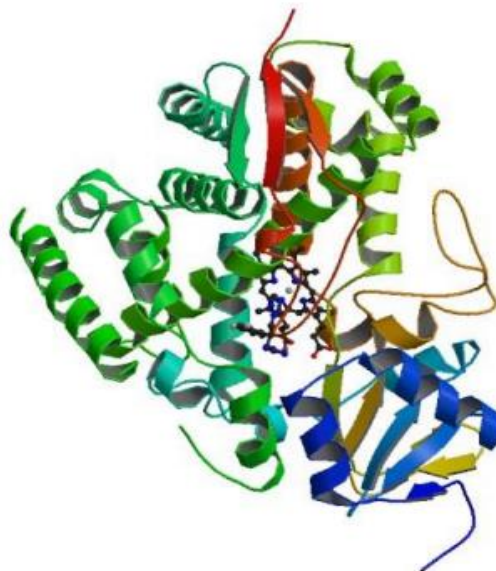
A enzima esterol 14 $\alpha$ -desmetilase (Figura 40) é responsável pela desmetilação oxidativa de esteróis intermediários por meio do grupamento heme, na via de síntese de acetato até ergosterol, enquanto a enzima esterol 24-C-metiltransferase catalisa a

transferência de um grupo metila, etapa final na formação do ergosterol (JOHNSON; LI, 2007; MCCALL *et al.*, 2015).

A *Leishmania*, assim como outros parasitos possuem metabolismo energético dependente unicamente das fontes de carbono disponíveis no hospedeiro, assim os amastigotas captam glicose e outros componentes essenciais da corrente sanguínea dos mamíferos (SINGH; KUMAR; SINGH, 2012). Algumas enzimas glicolíticas ficam armazenadas em organelas do tipo peroxissomos, nomeadas nos parasitos de glicosomas e indicam portanto que é possível interromper a produção de energia por meio de inibidores destas enzimas (FIGUEIREDO *et al.*, 2018).

Outra estratégia muito empregada para o desenvolvimento de medicamentos anti-leishmanicidas consiste em atacar os mecanismos de replicação e reparo do DNA e ciclo celular ou dos principais reguladores (JAIN; JAIN, 2018), como por exemplo, as topoisomerases de DNA que são um grupo de enzimas responsáveis pelo controle dos problemas topológicos causados pela dupla hélice de DNA durante os processos de replicação, transcrição e recombinação (REGUERA *et al.*, 2019). Sabendo que a inibição das topoisomerases pode induzir células a morte, estas enzimas têm sido extensivamente investigadas (BALAÑA-FOUCE *et al.*, 2014)

Figura 40 - Enzima esterol 14 $\alpha$ -desmetilase.



Fonte: FRANÇA *et al.* (2014, p. 1489).

Durante o ciclo de vida da *Leishmania* a única mitocôndria do parasito sofre profundas mudanças devido a necessidade de adaptação a diferentes ambientes,

como hipóxia e estresse oxidativo (APARICIO; SCHARFSTEIN; LIMA, 2004), além do mais a organela está envolvida nos processos de diferenciação, proliferação, homeostase do cálcio, equilíbrio redox e morte celular programada (DUCHEN, 2000). Assim, a manutenção da integridade mitocondrial é fundamental para a sobrevivência do parasito, sendo esta organela um alvo potencial no desenvolvimento de quimioterápicos para a doença. O mecanismo de ação de alguns medicamentos ou mesmo candidatos a medicamentos envolvem vias relacionadas à bioenergética mitocondrial e geração de EROs (ESPURI *et al.*, 2019).

Uma ferramenta bastante utilizada e que vem auxiliando na compreensão, descoberta e interação de alvos bioquímicos da *Leishmania* e outras doenças com potenciais medicamentos é o *docking* molecular, uma ferramenta da Química Teórica (FERREIRA; ANDRICOPULO, 2018).

Os estudos permitem analisar por meio de cálculos de energia a interação entre ligante e receptor, considerando um banco de dados com registros de diversas estruturas de proteínas e assim indicar o potencial de ação farmacológica, bem como a previsão de efeitos adversos/tóxicos (FIGUEIREDO *et al.*, 2018).

## 2.7 ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR

A Química de Coordenação pode apresentar alguns desafios oriundos dos estados de oxidação variáveis de um mesmo metal, bem como as diferentes geometrias adotadas por um complexo, fazendo com que o emprego de Teorias da Mecânica Quântica utilizando-se de ferramentas computacionais seja um recurso importante na previsão dessas variáveis e na predição das estruturas (POUGY; MACHADO, 2020).

Um importante método utilizado para a modelagem molecular consiste na Teoria do Funcional da Densidade (DFT), a qual permite adquirir informações importantes do sistema químico trabalhado, podendo simular por meio de cálculos teóricos propriedades importantes de uma molécula, como por exemplo: barreiras energéticas e caminhos da reação (mecanismos de uma reação), descrições detalhadas de orbitais moleculares (propriedades das ligações), momentos de dipolo, frequências vibracionais, intensidades IR e Raman, inclusão de efeitos eletrostáticos na solvatação, entre outras (TSIPIS, 2014).

A DFT surgiu em 1964 por Walter Kohn e Pierre Hohenberg (HOHENBERG; KOHN, 1964) quando propuseram que a equação de Schrödinger, a qual descreve uma função de onda de N-elétrons de  $3N$  variáveis, poderia ser reformulada como uma equação da densidade de elétrons com apenas 3 variáveis. A grandeza densidade eletrônica  $\rho(\vec{r})$  foi proposta e seria capaz de conter todas informações importantes de um sistema, bem como determinar muitas propriedades, permitindo assim simplicidade e precisão no estudo (MARQUES; BOTTI, 2006).

Posteriormente, em 1965 Kohn e Sham (KOHN; SHAM, 1965) buscando determinar a densidade do sistema em interação deram um importante avanço para DFT ao descreverem a energia eletrônica de uma molécula por meio do somatório de vários funcionais (4):

$$v_{KS}[\rho](\vec{r}) = v_{ext}(\vec{r}) + v_{Hartree}(\vec{r}) + v_{XC}(\vec{r}) \quad (4)$$

Sendo  $v_{ext}(\vec{r})$  correspondente ao potencial externo, o qual geralmente é formado pelos núcleos atômicos de um sistema,  $v_{Hartree}(\vec{r})$  indica a interação entre os elétrons e a densidade média da carga eletrônica total de um sistema e  $v_{XC}(\vec{r})$  compreende o potencial de troca e correlação, o qual descreve o restante das interações elétron-elétron (MARQUES; BOTTI, 2006). No mesmo artigo, Kohn e Sham propuseram a Aproximação da densidade local (LDA) para descrever o termo  $v_{XC}(\vec{r})$  (KOHN; SHAM, 1965) e posteriormente outras aproximações mais rigorosas e complexas surgiram, como por exemplo, a Aproximação do Gradiente Generalizado (GGA) e os funcionais híbridos (MARQUES; BOTTI, 2006; TSIPIS, 2014).

A LDA é fundamentada no modelo de gás homogêneo de elétrons, sendo assim assume-se que  $v_{XC}(\vec{r})$  depende somente do valor local, portanto as energias de troca e correlação de um sistema compreendem uma função da densidade eletrônica dependente apenas das coordenadas espaciais de um ponto específico (VOSKO; WILK; NUSAIR, 1980). Em oposição a GGA utiliza o gradiente da densidade eletrônica, portanto considera que a densidade eletrônica de um sistema não é homogênea variando espacialmente (PERDEW; BURKE; ERNZERHOF, 1996). Por outro lado, os funcionais híbridos contém uma mistura de GGA com uma parte do termo de troca exata de Hartree-Fock (teoria muito comum na Química Quântica desenvolvida em 1930) (MARQUES; BOTTI, 2006).

Importante ressaltar que a DFT é aplicada somente para a determinação de propriedades no estado fundamental de um sistema e/ou fenômenos independentes do tempo (REIS, 2015). Para os demais casos surgiram extensões da DFT conhecida como Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo (TD-DFT) criada em 1983 por Erich Runge e E. K. U. Gross (RUNGE; GROSS, 1984), a fim de suprir tais limitações. Atualmente a TD-DFT é o método mais utilizado para o cálculo dos estado excitados e modelagem de espectros de absorção de UV-vis de moléculas grandes (JACQUEMIN; MENNUCCI; ADAMO, 2011; KANTCHEV; NORSTEN; SULLIVAN, 2012).

### 3 OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo principal obter complexos de Ru(II) e (III) com hidroxibenzofenonas e 1-hidroxi-9,10-antraquinona, a fim de avaliar suas potencialidades como candidatos a metalofármacos em diferentes aplicações, sendo estas: atividade citotóxica e leishmanicida. Considerando tal escopo, os objetivos específicos compreendem:

- Sintetizar complexos de Ru(III) com hidroxibenzofenonas de fórmula geral  $[\text{RuCl}_2(\text{HB})(\text{dppb})]$  onde **HB** = 2-hidroxi-4-(octiloxi)benzofenona (**HB1**), 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona (**HB2**), 2,2'-dihidroxi-4,4'-dimetoxibenzofenona (**HB3**), 2,2'-dihidroxi-4-metoxibenzofenona (**HB4**), 2,4-dihidroxibenzofenona (**HB5**) e 2,4,4'-trihidroxibenzofenona (**HB6**) e **dppb** = 1,4-bis(difenilfosfinabutano);
- Sintetizar complexos de Ru(II) com hidroxibenzofenonas de fórmula geral  $[\text{Ru}(\text{HB})(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})]\text{PF}_6$  onde **HB** = 2-hidroxi-4-(octiloxi)benzofenona (**HB1**), 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona (**HB2**), 2,2'-dihidroxi-4,4'-dimetoxibenzofenona (**HB3**), 2,2'-dihidroxi-4-metoxibenzofenona (**HB4**), 2,4-dihidroxibenzofenona (**HB5**) e 2,4,4'-trihidroxibenzofenona (**HB6**), **dppb** = 1,4-bis(difenilfosfinabutano), **PPh<sub>3</sub>** = trifenilfosfina e **PF<sub>6</sub>** = hexafluorofosfato;
- Sintetizar complexos de Ru(II) e (III) com 1-hidroxi-9,10-antraquinona de fórmulas gerais  $[\text{Ru}(\text{HQ})(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})]\text{PF}_6$  e  $[\text{RuCl}_2(\text{HQ})(\text{dppb})]$ , respectivamente, onde **HQ** = 1-hidroxi-9,10-antraquinona, **PPh<sub>3</sub>** = trifenilfosfina, **bipy** = 2,2-bipiridina, **PF<sub>6</sub>** = hexafluorofosfato e **dppb** = 1,4-bis(difenilfosfinabutano);
- Caracterizar os complexos obtidos utilizando como técnicas: espectroscopias de absorção nas regiões do infravermelho e ultravioleta/visível, espectroscopia de ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ ,  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ , condutividade molar, difração de raios X por monocristal e policristais, voltametria cíclica, análises térmicas (TGA e DTA) e análise elementar;
- Utilizar os recursos de Modelagem Molecular para avaliar a estabilidade das estruturas e possíveis isômeros de coordenação;
- Empregar a Modelagem Molecular para auxiliar nas atribuições das transições eletrônicas atuantes nos complexos, a partir dos espectros de UV-vis experimentais;

- Estudar a estabilidade dos complexos em solução no intervalo de 0 a 48 horas;
- Avaliar a atividade antiproliferativa e citotóxica *in vitro* dos complexos nas linhagens tumorais humana: HepG2 (carcinoma hepatocelular), A549 (adenocarcinoma de pulmão), MCF-7 (adenocarcinoma de mama), SK-MEL-147, CHL-1 e WM1366, (derivadas de melanoma) e na linhagem não tumoral de fibroblasto (CCD-1059Sk);
- Avaliar a atividade antiproliferativa e citotóxica *in vitro* dos complexos na forma promastigota dos parasitos *Leishmania amazonensis* e nos macrófagos J774;
- Selecionar o(s) complexo(s) mais promissor(es) para cada atividade testada (câncer e leishmaniose) com a finalidade de investigar possíveis interações com alvos terapêuticos.

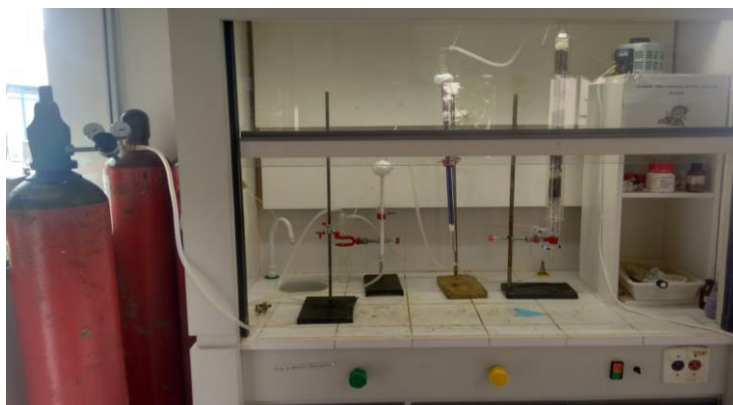
## 4 METODOLOGIA

Os solventes, reagentes e procedimentos das sínteses realizadas encontram-se sistematizados a seguir:

### 4.1 OBTENÇÃO DA ATMOSFERA INERTE DE ARGÔNIO

Todos os complexos foram sintetizados sob atmosfera inerte, por meio de um sistema de secagem de gás argônio (Figura 41) instalado no laboratório E-109 da Unidade Educacional Santa Clara da Unifal-MG. A atmosfera inerte foi obtida pela passagem de fluxo de argônio por uma coluna de purificação composta de camadas alternadas de anéis de vidro (0,5 cm de diâmetro x 0,5 cm de altura) e catalisador do tipo BTS - R - 3 - 11 (Fluka Chemika), mantida à 60°C para o catalisador permanecer ativo, seguindo então para colunas contendo sílica gel e cloreto de cálcio, respectivamente. Este sistema foi reativado periodicamente com a passagem de hidrogênio à 120°C para a remoção de água.

Figura 41 - Sistema de secagem de gás argônio.



Fonte: Da autora.

### 4.2 SOLVENTES

Os solventes utilizados nas sínteses procedentes das empresas Sigma-Aldrich ou Synth foram empregados como recebidos, sem tratamento prévio, sendo estes: diclorometano, etanol, éter etílico, metanol, tolueno e hexano. Para a espectroscopia

de ressonância magnética nuclear utilizou-se os solventes deuterados ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{D}_2\text{O}$  e  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ ) provenientes da Sigma-Aldrich.

### 4.3 REAGENTES

Reagentes de pureza analítica foram empregados como fornecidos, sem tratamento prévio, sendo eles: cloreto de rutênio(III) hidratado ( $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  Sigma-Aldrich), hexafluorofosfato de amônio ( $\text{NH}_4\text{PF}_6$  – Sigma-Aldrich), hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$  – Vetec) e perclorato de tetrabutilamônio (PTBA – Acros).

### 4.4 GÁS CLORO

O gás cloro ( $\text{Cl}_2$ ) foi gerado por meio da reação de oxidação dos íons cloretos provenientes do ácido clorídrico ( $\text{HCl}$ ) concentrado pelos íons permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ ), ambos reagentes oriundos da Synth. Uma representação do sistema de geração de  $\text{Cl}_2$  está ilustrada na Figura 43.

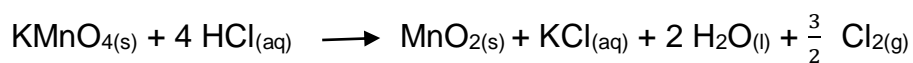
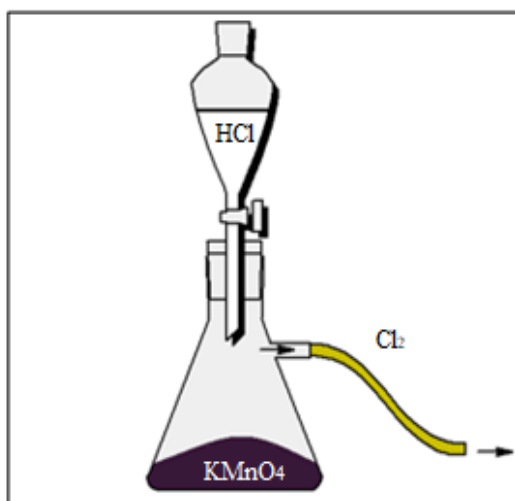


Figura 42 - Sistema de geração de gás cloro.



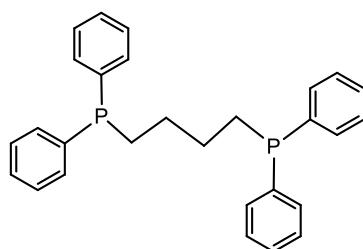
Fonte: Da autora.

### 4.5 LIGANTES

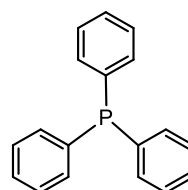
Os ligantes fosfínicos (trifenilfosfina e 1,4-bis(difenilfosfina)butano), polipiridínicos (2,2'-bipiridina e 1,10'-fenantrolina), bem como as hidroxibenzofenonas e a 1-hidroxi-9,10-antraquinona (Figura 42) foram obtidos comercialmente, todos de pureza analítica e procedentes da Sigma-Aldrich.

Figura 43 - a) Ligantes fosfínicos, b) Ligantes polipiridínicos e c) Hidroxibenzofenonas e Hidroxiantraquinona.

a)

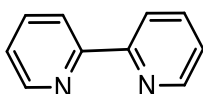


1,4-bis(difenilfosfina)butano (**dppb**)

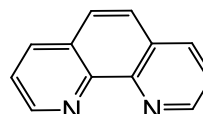


Trifenilfosfina (**PPh<sub>3</sub>**)

b)

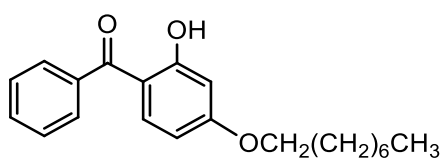


2,2'-bipiridina (**bipy**)

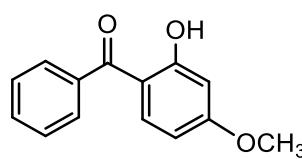


1,10 – fenantrolina (**fen**)

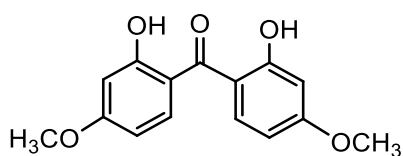
c)



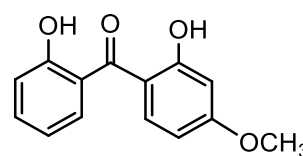
2-hidroxi-4-(octiloxi)benzofenona (**HB1**)



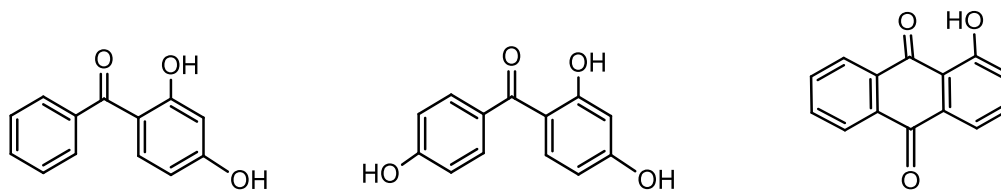
2-hidroxi-4-metoxibenzofenona (**HB2**)



2,2'-dihidroxi-4,4'-dimetoxibenzofenona (**HB3**)



2,2'-dihidroxi-4-metoxibenzofenona (**HB4**)



2,4-dihidroxibenzofenona (**HB5**) 2,4,4'-trihidroxibenzofenona (**HB6**) 1-hidroxi-9,10-antraquinona (**HQ**)

Fonte: Da autora.

## 4.6 SÍNTESE DOS COMPLEXOS PRECURSORES E NOVOS DERIVADOS

### 4.6.1 Dicloro-tris(trifenilfosfina)rutênio(II), $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$

O complexo precursor  $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$  foi obtido por meio da redução do cloreto de rutênio(III) hidratado ( $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ) com  $\text{PPh}_3$ . Partindo-se do procedimento descrito na literatura (STEPHENSON; WILKINSON, 1966), algumas modificações foram realizadas, de modo que 1,0000 g de  $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$  (4,8209 mmol) foi dissolvido em 200,0 mL de metanol (previamente desaerado) sob refluxo e atmosfera inerte por aproximadamente 15 minutos. Posteriormente, 6,3224 g de  $\text{PPh}_3$  (24,1045 mmol) foram adicionados e a solução foi mantida sob refluxo e atmosfera inerte por três horas. Durante esse período um precipitado de cor marrom escura foi formado, filtrado utilizando-se um funil de placa porosa, lavado com metanol e hexano desaerados (a fim de retirar o excesso de fosfina livre e oxidada) e seco sob vácuo. Rendimento: 82,86% (3,8301 g).

### 4.6.2 $\mu$ -[1,4-bis(difenilfosfina)butano]-bis-dicloro-[1,4-bis(difenilfosfina)butano]dirutênio(II), $[\text{Ru}_2\text{Cl}_4(\text{dppb})_3]$

O complexo binuclear de rutênio(II) foi sintetizado de acordo com o procedimento da literatura (BRESSAN; RIGO, 1975), em que 50,0 mL de hexano foram desaerados e em seguida adicionou-se  $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_3]$  (0,5000 g; 0,5215 mmol) e dppb (0,6672 g; 1,5645 mmol) deixando a mistura sob refluxo por 6 horas. O precipitado verde formado foi filtrado e lavado com metanol desaerado e em seguida com hexano para a retirada do excesso de  $\text{PPh}_3$  livre e oxidada, posteriormente foi seco sob vácuo. Rendimento: 87,83% (0,7435g).

#### 4.6.3 Tricloro[1,4-bis(difenilfosfina)butano](aqua)rutênio (III), *mer*- [RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)]

Seguindo o procedimento descrito na literatura (BATISTA; QUEIROZ, 2006), o complexo *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)] foi sintetizado dissolvendo-se o precursor binuclear [Ru<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>(dppb)<sub>3</sub>] (0,2000 g; 0,1232 mmol) em 10,0 mL de metanol desaerado e borbulhou-se gás cloro até a obtenção de um precipitado vermelho intenso, o qual foi filtrado e lavado com éter etílico desaerado. Rendimento: 88,58% (0,0712 g).

#### 4.6.4 *cis,trans*-dicloro-2,2'-bipiridina-bistrifenilfosfinarutênio(II), *cis,trans*- [RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)]

O precursor *cis,trans*-[RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)] foi sintetizado desaerando-se 20,0 mL de diclorometano em um schlenk; posteriormente (0,5000 g; 0,5215 mmol) do precursor [RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] e (0,0814 g; 0,5215 mmol) do ligante bipy foram adicionados, deixando a mistura sob agitação e atmosfera de argônio durante 30 minutos. Em seguida, o volume da solução foi reduzido a aproximadamente 5,0 mL e acrescentou-se 10,0 mL de éter etílico para a precipitação. O sólido foi filtrado, lavado com hexano e éter etílico e seco sob vácuo (BATISTA *et al.*, 2001). Rendimento: 79,09% (0,3517 g).

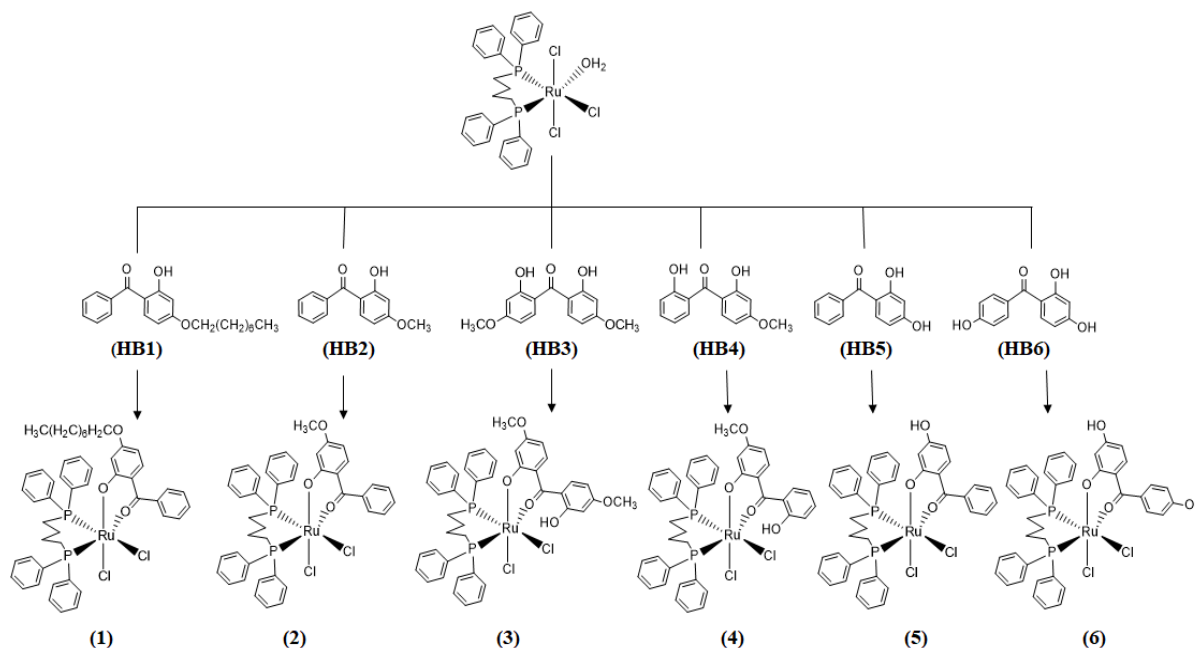
#### 4.6.5 *Cis-dicloro*[1,4-bis(difenilfosfina)butano]-(1,10-fenantrolina)rutênio(II), *cis*- [RuCl<sub>2</sub>(dppb)(fen)]

Seguindo o procedimento descrito na literatura com algumas modificações (QUEIROZ *et al.*, 1998), (0,0666 g; 0,3696 mmol) de 1,10-fenantrolina e (0,2000 g; 0,1232 mmol) de [Ru<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>(dppb)<sub>3</sub>] (**2**) foram adicionados em 30 mL de tolueno previamente desaerados contido em um schlenk. A mistura foi refluxada por 48 horas sob atmosfera de argônio até a formação de um precipitado vermelho, o qual foi filtrado sob vácuo, lavado com hexano e seco à vácuo. Rendimento: 86,31% (0,0828 g).

#### 4.6.6 Síntese do aqua complexo com hidroxibenzofenonas *cis*- [RuCl<sub>2</sub>(HB)(dppb)] (1-6)

Os complexos de Ru(III) com HB foram obtidos partindo-se do precursor *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)], por meio da substituição dos ligantes água e um átomo de cloro pelos grupos carbonila e fenolato das HB, conforme representado no Esquema 1.

Esquema 1 – Rota sintética para obtenção dos complexos (1-6).



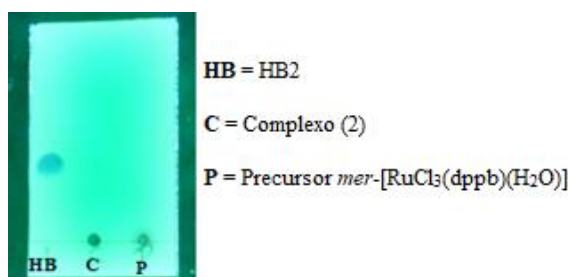
Fonte: Da autora.

As reações do aqua complexo com HB foram realizadas utilizando-se uma proporção estequiométrica 1:1 (ligante:precursor) em atmosfera de argônio sob temperatura ambiente. De acordo com as HB utilizadas, pequenas alterações na rota sintética foram adotadas.

Para os ligantes HB1 e HB2 que possuem apenas uma hidroxila na posição 2 do anel aromático as sínteses foram iniciadas com 10,0 mL de metanol desaerado em um schlenk, em seguida adicionou-se o ligante HB1 (0,0250 g; 0,0767 mmol) ou HB2 (0,0175 g; 0,0767 mmol) e desprotonou-se com quantidades equimolares de uma solução aquosa 0,1 M de NaOH (767,0 µL para HB1 e 766,0 µL para HB2). Posteriormente, (0,0500 g; 0,0767 mmol) do precursor *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)] dissolvido em 10,0 mL de diclorometano foram adicionados à solução que rapidamente mudou para a cor verde. O sistema foi mantido em agitação e monitorado por cromatografia em camada delgada (CCD) realizada em sílica gel 60 F254 (Merck). Após 24 horas de reação a análise por CCD indicou ausência de ligante livre (Figura 44). Finalmente, a solução foi transferida para um balão, rota evaporada totalmente e

o sólido foi obtido após a raspagem. Em seguida, o produto de coloração verde foi lavado com água destilada para retirada de NaCl formado na reação, filtrado e seco sob vácuo.

Figura 44 - CCD do complexo (2) após 24 h; (3:7)  
acetato de etila: hexano.



Fonte: Da autora.

As demais HB (HB3, HB4, HB5 e HB6) por possuírem mais de um grupo hidroxila foram desprotonadas atentando-se para os  $pK_{a1}$  de cada molécula (Tabela 3) elucidados por eletroforese no trabalho de Shiung e colaboradores (2018). Torna-se importante mencionar que a presença de ligações de hidrogênio intramoleculares e a deslocalização eletrônica  $\pi$  diminui o grau de dissociação ácida, no entanto a introdução de um grupo hidroxila nas posições 4 ou 2' do anel aromático, diminui consideravelmente os valores de  $pK_{a1}$  (SHIUNG *et al.*, 2018) como é possível observar na Tabela 3. Embora o valor do  $pK_{a1}$  de HB6 não tenha sido estudado no trabalho citado anteriormente, estima-se que este possua um valor inferior ao  $pK_{a1}$  de HB5, uma vez que ocorre a presença de um segundo grupo hidroxila na posição 4' do anel aromático. Diante do exposto, padronizou-se para as quatro moléculas restantes pH de desprotonação igual a 9, valor intermediário entre  $pK_{a1}$  e  $pK_{a2}$  que garantiria a desprotonação de apenas um grupo hidroxila.

Tabela 3 - Valores de  $pK_a$  das hidroxibenzofenonas.

Hidroxibenzofenonas	$pK_a$	$pK_{a1}$	$pK_{a2}$
<b>HB2</b>	9,35 ± 0,03		
<b>HB3</b>		8,17 ± 0,04	11,60 ± 0,08
<b>HB4</b>		7,73 ± 0,05	11,43 ± 0,09
<b>HB5</b>		6,98 ± 0,06	11,80 ± 0,11

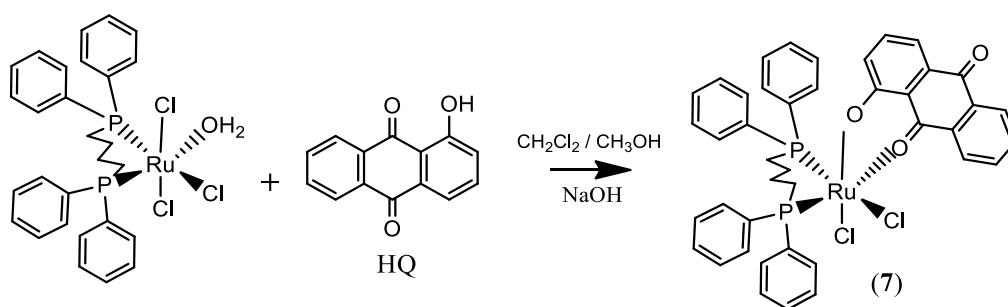
Fonte: Adaptado de SHIUNG *et al.* (2018).

Analogamente, após a desprotonação dos ligantes (0,0500 g; 0,0767 mmol) do precursor *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)] dissolvido em 10,0 mL de diclorometano foram adicionados à solução e o sistema foi mantido sob agitação constante e monitorado com o auxílio de CCD. Após 24 horas a solução de coloração vermelha foi rota evaporada para a retirada do diclorometano e observou-se a formação de um precipitado de coloração verde, o qual foi mantido em agitação por mais 96 horas com a finalidade de garantir ausência de ligante livre. No quinto dia a análise por CCD indicou ausência de HB em solução, assim os precipitados foram filtrados, lavados com água destilada e secos sob vácuo. Rendimentos: **(1)**: 79,04% (0,0560 g); **(2)**: 77,53% (0,0491 g); **(3)**: 22,84% (0,0159 g), **(4)**: 23,86% (0,0154 g), **(5)**: 54,03% (0,0344 g) e **(6)**: 44,15% (0,0286 g).

#### 4.6.7 Síntese do aqua complexo com 1-hidroxi-9,10-antraquinona cis-[RuCl<sub>2</sub>(HQ)(dppb)] (7).

O complexo de Ru(III) com HQ foi obtido de forma similar aos complexos com HB, partindo-se do precursor *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)], por meio da substituição da molécula de água e um átomo de cloro, conforme representado no Esquema 2.

Esquema 2 – Rota sintética para obtenção do complexo (7).



Fonte: Da autora.

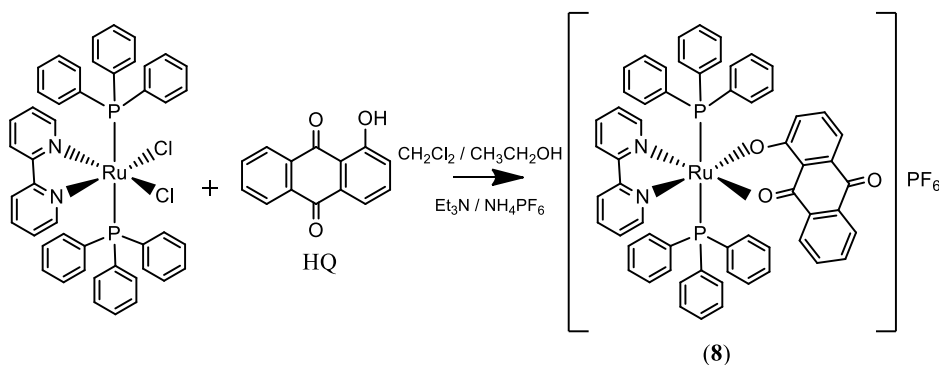
Assim como nas sínteses anteriores, utilizou-se uma proporção estequiométrica 1:1 (ligante: precursor), sendo que (0,0172 g; 0,0767 mmol) de HQ foram solubilizados em 10,0 mL de metanol desaerado, em seguida desprotonou-se o ligante com quantidade equimolar (767,0 µL) de uma solução aquosa de NaOH (0,1 M) e adicionou-se (0,0500 g; 0,0767 mmol) de *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)] dissolvido em 10,0 mL de diclorometano, mantendo-se o sistema sob agitação constante, atmosfera

inerte e acompanhando-se a reação por CCD. Após 24 horas a solução de cor verde foi rota evaporada para retirada do diclorometano e observou-se a formação de um precipitado verde, o qual foi mantido em agitação por mais 96 horas com a finalidade de garantir ausência de ligante livre e aumentar o rendimento da reação. No quinto dia o precipitado foi filtrado, lavado com água destilada para a retirada de NaCl e seco sob vácuo. Rendimento: (**7**): 78,08% (0,0492 g).

#### 4.6.8 Síntese do complexo *trans*-[Ru(HQ)(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)]PF<sub>6</sub> (**8**)

Para obtenção do complexo de Ru(II) com HQ partiu-se do precursor *cis, trans*-[RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)], por meio da substituição dos átomos de cloro conforme representado no Esquema 3.

Esquema 3 – Rota sintética para obtenção do complexo (**8**).



Fonte: Da autora.

A reação seguiu uma proporção estequiométrica de 1:1:2 (ligante/precursor/contra-íon) onde inicialmente, 15,0 mL de etanol foram desaerados em um schlenk. Em seguida, acrescentou-se (0,0131 g; 0,0586 mmol) de HQ e o ligante foi desprotonado com 50,0 µL de trietilamina. Posteriormente, adicionou-se (0,0500 g; 0,0586 mmol) de *cis,trans*-[RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)] dissolvido em 15,0 mL de diclorometano e por último (0,0191 g; 0,1172 mmol) de NH<sub>4</sub>PF<sub>6</sub> mantendo-se a solução em refluxo, sob atmosfera inerte e acompanhando-se a síntese através do espectro de RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}. O precipitado roxo formado foi filtrado, lavado com água e posteriormente hexano, em seguida seco sob vácuo. Rendimento: (**8**): 69,26% (0,0467 g).

## 4.7 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPLEXOS

### 4.7.1 Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro por transformada de Fourier (FTIR) da Shimadzu - Prestige 21, disponível no Laboratório Interdisciplinar de Química (LabIQ), localizado na Unifal-MG. As amostras foram preparadas macerando-se os complexos com brometo de potássio e produzindo pastilhas com o auxílio de uma prensa hidráulica. As análises foram realizadas na região espectral entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ , adquirindo-se 32 scans e utilizando-se uma resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

### 4.7.2 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-vis)

Os espectros de absorção na região do UV-vis foram registrados utilizando um espectrofotômetro da Thermo Scientific™, modelo Evolution 60S disponível no Laboratório Interdisciplinar de Química (LabIQ), localizado na Unifal-MG. Os compostos foram dissolvidos em diclorometano, obtendo-se soluções de concentração da ordem de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , sendo posteriormente diluídas para concentrações desejadas. As medidas foram realizadas utilizando-se cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm na região compreendida entre 190 a 900 nm.

### 4.7.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ ,  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  foram obtidos em um espectrômetro BRUKER modelo AC-300 da Unifal-MG, operando a 300 MHz para RMN  $^1\text{H}$ , 75 MHz para RMN  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  e 130 MHz para RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ . Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  foram obtidos solubilizando-se as amostras em  $\text{CDCl}_3\text{-d}$ . Para os espectros de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  as amostras foram solubilizadas em diclorometano e adicionou-se um capilar contendo  $\text{D}_2\text{O}$  no interior do tubo de RMN.

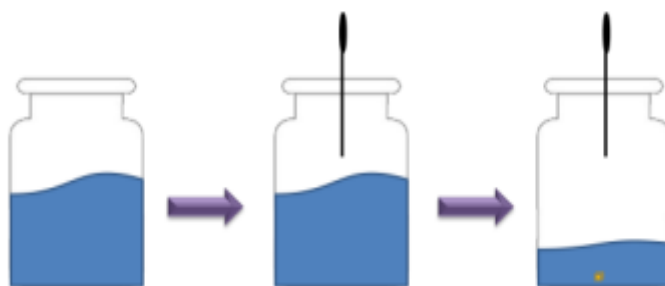
### 4.7.4 Condutimetria

Utilizou-se um condutivímetro MS Tecnopon modelo mCA-100, equipado com cela de platina e constante igual a 1 da Unifal-MG. Concentrações da ordem de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$  em diclorometano foram preparadas para cada amostra.

#### 4.7.5 Crescimento de Cristais

A fim de se obter monocristais dos complexos sintetizados, utilizou-se para recristalização a técnica de evaporação lenta do solvente (Figura 45), devido ser o método operacional mais simples, o qual fundamenta-se na volatilização da solução contendo o sólido em estudo, com saturação lenta da mesma (CUNHA, 2008).

Figura 45 - Representação esquemática da técnica de evaporação lenta do solvente.



Fonte: ROSA, I. M. L. (2012, p. 67).

Uma mistura de solventes contendo diclorometano, metanol e acetona em proporções (2:6:2 v/v/v) respectivamente, foi empregada e as amostras armazenadas à temperatura de aproximadamente 19 °C resultando em monocristais de forma e tamanho adequados para medida dos complexos (2), (3), (4) e (5).

Por sua vez, o monocristal de (7) foi obtido por meio da evaporação lenta da solução mãe (dicloro e metanol).

#### 4.7.6 Difração de raios X por monocristal (DRXM)

As medidas de DRXM foram realizadas em um difratômetro Bruker-AXS, modelo Kappa APEX II Duo com fonte variável  $\text{MoK}\alpha$  ( $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ ) para os complexos (2) e (3) e  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ ) para (5), instalado no Departamento de Química da Universidade Federal de Goiás. Os complexos (4) e (7) foram medidos

em um difratômetro Rigaku XtaLAB mini II fonte de MoK $\alpha$  ( $\lambda = 0,71073 \text{ \AA}$ ) localizado no Instituto de Física de São Carlos - USP.

Todas estruturas foram resolvidas e refinadas utilizando-se o software SHELXL-2018/3 (SHELDRICK, 2015) presente no WinGX (FARRUGIA, 2012) ou OLEX2 (DOLOMANOV *et al.*, 2009). Para as análises cristalográficas e representações gráficas dos dados cristalinos utilizou-se o software Mercury (versão 4.3.1) (MACRAE *et al.*, 2008).

#### 4.7.7 Difração de raios X por policristais (DRXP)

As medidas de DRXP foram realizadas no difratômetro automático de pó da marca Rigaku modelo ULTIMA IV do Laboratório de Cristalografia na UNIFAL-MG. Durante os experimentos foi empregado a radiação CuK $\alpha$  (tubo selado) usando ótica instrumental de feixe paralelo. A varredura foi realizada no modo step scan, entre 3 a 50° 2 $\theta$ , gravando-se a contagem a cada 0,05° 2 $\theta$  com um tempo de contagem de 5 segundos. Foi usado uma voltagem de 40 kV e corrente de 30 mA.

#### 4.7.8 Análises Térmicas

As técnicas de Termogravimetria (TG) e Análise térmica diferencial (DTA) foram realizadas empregando-se a Termobalança modelo TG/DTA7300, SII Nano Technology - Japão, disponível no Laboratório de Análise e Caracterização de Fármacos (LACFar-Unifal-MG) para os ligantes (**HB e HQ**) e o complexo (**8**), e o equipamento *TA Instruments*, modelo Q600 disponível no Laboratório Interdisciplinar de Química da UNIFAL-MG para os complexos (**1-7**). Cada amostra com massa de aproximadamente 10 mg foi analisada em um cadinho de alumina e submetida a um aquecimento controlado até 1100 °C, com razão de aquecimento de 20°C·min<sup>-1</sup>, sob atmosfera de ar sintético e fluxo contínuo de 100 mL·min<sup>-1</sup>.

#### 4.7.9 Medidas Eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram obtidas em um potenciostato Autolab® PGSTAT 128N (Eco Chemie) da Unifal-MG e os dados foram processados utilizando-se o software GPES (General Purpose Electrochemical System). O sistema foi

composto por uma célula eletroquímica de vidro, com capacidade para 10 mL e três eletrodos: um de referência Ag/AgCl e os eletrodos de trabalho e auxiliar, ambos de platina. Soluções eletrolíticas  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  de perclorato de tetrabutylamônio (PTBA) em diclorometano foram preparadas de modo a se obter concentrações dos complexos a serem analisados da ordem de  $1,0 \times 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . Durante todas as medidas utilizou-se atmosfera inerte.

#### 4.7.10 Análise Elementar

As medidas foram realizadas para determinação dos teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio, utilizando-se um analisador CHN modelo EA 1108 da FISONs no laboratório de microanálise do Departamento de Química da UFSCar.

### 4.8 MODELAGEM MOLECULAR

Os cálculos de Química Quântica Computacional foram realizados em colaboração com o professor Dr. Rommel Bezerra Viana do Instituto de Química da Unifal-MG empregando-se a Teoria do Funcional da Densidade (DFT). Utilizou-se o software Gaussian 09 (FRISCH *et al.*, 2016) e adotou-se o funcional Perdew–Burke–Ernzerhof–Adamo (PBE0, conhecido também como PBE1PBE) (ADAMO; BARONE, 1999; PERDEW; BURKE; ERNZERHOF, 1996), sendo que o conjunto de bases LANL2TZ (ROY; HAY; MARTIN, 2008) foi empregado para o átomo de rutênio e o conjunto 6–31+G(d,p) para os demais elementos (DUNNING, 1989; KRISHNAN *et al.*, 1980).

As simulações empregando a Teoria do Funcional da Densidade Tempo-Dependente (TD-DFT) (FURCHE; AHLRICHS, 2002; SCALMANI *et al.*, 2006; VAN CAILLIE; AMOS, 2000) foram calculadas com o modelo de continuidade IEF-PCM (SCALMANI; FRISCH, 2010) para tratar o efeito de solvatação nas análises de UV-vis, enquanto o modelo SMD (MARENICH; CRAMER; TRUHLAR, 2009) foi aplicado a fim de avaliar a estabilidade relativa envolvida nas mudanças de configuração das estruturas.

Adotou-se os métodos de Mayer (MAYER, 1983) e Wiberg (WIBERG, 1968) para estimar os índices das ordens de ligação e empregou-se o software NBO 6.0 (GLENDENING *et al.*, 2013) para a análise do orbital natural de ligação (NBO). As

figuras e os orbitais moleculares foram criados utilizando-se o software Avogadro (HANWELL *et al.*, 2012). O potencial eletrostático molecular (MEP) e a distribuição atômica com carga populacional de Mülliken foram calculados com o programa computacional GaussView (DENNINGTON; KEITH; MILLAM, 2009) e a análise da superposição das estruturas foram geradas por meio do software VMD (HUMPHREY; DALKE; SCHULTEN, 1996).

#### 4.9 ESTUDO DE ESTABILIDADE

O comportamento em solução dos complexos de Ru(III) foi estudado utilizando-se um espectrofotômetro UV-vis (Shimadzu UV1800) disponível no Laboratório de Análise e Caracterização de Fármacos (LACFar - Unifal-MG). Para o complexo de Ru(II), o estudo foi realizado adquirindo-se espectros de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  empregando-se o espectrômetro de ressonância magnética nuclear da BRUKER modelo AC-300 da Unifal-MG.

Os complexos (**1-7**) foram solubilizados individualmente em DMSO e DMF ( $5.0 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) e avaliados nos intervalos de 0, 24 e 48 horas, por meio da técnica de espectroscopia de absorção na região do UV-vis. Para o complexo (**8**) os espectros de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  foram adquiridos pesando-se 0,0100 g do composto e solubilizando-o em 600,0  $\mu\text{L}$  de DMSO ou DMF, posteriormente a solução foi adicionada em um tubo de RMN juntamente com um capilar contendo  $\text{D}_2\text{O}$ . Importante ressaltar que no intervalo das medidas, todas as soluções foram mantidas à temperatura ambiente, em um local seco e protegido da luz.

Em uma segunda etapa, cada amostra foi solubilizada em DMSO (sem exceder 0,5% v/v) e em seguida adicionou-se o meio biológico de cultivo das células (DMEM), seguindo para as análises espectroscópicas de forma análoga a citada anteriormente.

#### 4.10 ESTUDO DA ATIVIDADE CITOTÓXICA

A avaliação da atividade antiproliferativa e citotóxica dos complexos sintetizados foi realizada no Laboratório de Biologia Animal Integrativa (LABAInt), Instituto de Ciências Biomédicas da UNIFAL-MG, sob a supervisão da Profa. Dra. Marisa Ionta e colaboração do Ms. Guilherme Álvaro Ferreira da Silva.

#### 4.10.1 Linhagens celulares e condições de cultivo

Os ensaios foram realizados nas linhagens de células tumorais humanas: HepG2 (carcinoma hepatocelular), A549 (adenocarcinoma de pulmão), MCF-7 (adenocarcinoma de mama), SK-MEL-147, CHL-1 e WM1366 (derivadas de melanoma). Para avaliação do perfil de citotoxicidade frente células normais foi utilizada a linhagem CCD-1059Sk. As referidas linhagens foram obtidas por meio do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ). As células foram cultivadas em meio DMEM suplementado com 10 % de Soro Fetal Bovino, mantidas em estufa a 37 °C com atmosfera controlada (95 % de ar e 5 % de CO<sub>2</sub>).

#### 4.10.2 Viabilidade celular

##### 4.10.2.1 Ensaio colorimétrico baseado na conversão do sal tetrazólio em formazano (MTS)

O ensaio colorimétrico MTS foi utilizado como parâmetro inicial para avaliar o efeito dos complexos, bem como, de seus precursores e ligantes sobre a viabilidade celular das linhagens citadas HepG2, A549, MCF-7 e SK-MEL-147. Posteriormente, os efeitos do complexo **(8)** frente a viabilidade celular das linhagens SK-MEL-147, CHL-1 e WM-1366 também foram avaliados por MTS, o qual corresponde a um dos testes mais amplamente empregados para avaliação da atividade citotóxica de derivados sintéticos e/ou produtos naturais (MCCAULEY; ZIVANOVIC; SKROPETA, 2013).

Para este ensaio, as células foram semeadas em placas de 96 poços na densidade de  $1,0 \times 10^4$  células/poço. As substâncias foram testadas em diferentes concentrações por 48 h. Decorrido o tempo de tratamento foi adicionado 10 µL de MTS por poço e a placa foi incubada por 4 h a 37 °C. A leitura da absorbância foi realizada em um espectrofotômetro (490 nm) e a viabilidade celular foi definida comparando-se os valores de absorbância entre amostras tratadas com os valores de absorbância obtidos nas amostras controles **(5)**.

Os experimentos foram realizados em triplicata, repetido duas vezes e os dados estão apresentados como média  $\pm$  desvio padrão (DP), mediante ao cálculo da concentração inibitória média (CI<sub>50</sub>).

$$\% \text{ Viabilidade celular} = \frac{(\text{Abs amostra} \times 100)}{\text{Abs controle}} \quad (5)$$

Após as análises das curvas de viabilidade (% de células viáveis em relação ao controle não tratado), os valores de  $CI_{50}$  foram determinados usando o programa GraphPadPrism® (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA). O Índice de Seletividade (IS) foi determinado por meio da razão entre o valor de  $CI_{50}$  determinado para a célula normal e tumoral.

#### 4.10.2.2 Ensaio de exclusão com azul de tripano

Para o ensaio de exclusão com azul de tripano as células foram semeadas em placas de 12 poços com densidade de  $1 \times 10^5$  células/placa. Após adesão, as culturas de CHL-1 foram tratadas com o complexo (8) nas concentrações de 7,5 e 15,0  $\mu\text{M}$  por 24 e 48 h. Decorrido o tempo de tratamento, as células foram coletadas com tripsina/EDTA e a solução de azul de Trypan (0,4 %) foi adicionada à suspensão celular (1:1). As células foram quantificadas em hemocitômetro. Os resultados foram expressos em porcentagem de células viáveis (não coradas) e não viáveis (coradas em azul) a partir de três experimentos independentes apresentados como média  $\pm$  DP.

#### 4.10.3 Aspectos Morfológicos

As imagens ilustrativas que evidenciam os aspectos morfológicos das culturas após o tratamento com (8) foram obtidas no momento anterior à fixação de células para a realização do ensaio de ciclo celular. Assim sendo, as células foram semeadas em placas de 35 mm com densidade de  $1 \times 10^5$  células/placa. Após aderência as células foram tratadas. Decorrido o tempo de tratamento as imagens das culturas foram obtidas através de um sistema de captura de imagens acoplado ao microscópio invertido de contraste de fase.

#### 4.10.4 Análise da progressão do ciclo celular por quantificação de DNA em citometria de fluxo

O ensaio de ciclo celular foi realizado de acordo com (FERREIRA-SILVA *et al.*, 2017). Esta abordagem experimental foi utilizada para avaliar o potencial antiproliferativo do complexo (**8**) frente a linhagem CHL-1. As células foram semeadas em placas de 35 mm com inóculo de  $2 \times 10^5$  células/poço. Após aderência as células foram tratadas com a substância nas concentrações de 7,5 e 15,0  $\mu\text{M}$  por 24 h. Após o término do tratamento, as células foram coletadas por digestão enzimática com solução de tripsina-EDTA e transferidas para tubos Falcon. Após centrifugação (5 min a 1000 rpm) o precipitado de células foi homogeneizado em tampão salina fosfato e as células fixadas em etanol gelado (75 %) por 30 min. As células foram tratadas com solução contendo: PBSA, RNase (1,5 mg/mL) e Iodeto de Propídio (90  $\mu\text{g/mL}$ ) por 30 min e analisadas em citômetro de fluxo utilizando o software GuavaSoft 2.7.

#### **4.10.5 Ensaio de Anexina V/7-AAD**

O ensaio de anexina V foi utilizado para avaliar o potencial citotóxico do tratamento com o complexo (**8**) frente a linhagem CHL-1. Assim sendo, foi utilizado o Kit Guava Nexin Reagent (Merck/Millipore) de acordo com instruções do fabricante. As amostras foram tratadas com a substância nas concentrações de 7,5 e 15,0  $\mu\text{M}$  por 24 h. Após o tratamento, as células foram coletadas por digestão enzimática (Trypsin-EDTA solution/Sigma Aldrich<sup>®</sup>, Brasil), centrifugadas a 1000 rpm por 5 min, lavadas em PBSA gelado e homogeneizadas em solução contendo Anexina V conjugada a PE (ficoeritrina) e 7-AAD (7-amino-actinomicina D). As amostras foram incubadas por 20 min, protegidas da luz em temperatura ambiente ( $25 \pm 3$  °C) e a análise foi feita por citometria de fluxo (Guava Mini Easy Cyte, 8HT) por meio do software GuavaSoft 2.7.

#### **4.10.6 Estudo da interação com o DNA por titulação espectrofotométrica**

O(s) complexo(s) que apresentaram atividade citotóxica mais promissora nos ensaios *in vitro* tiveram suas interações com o ct-DNA estudadas utilizando-se um espectrofotômetro UV-vis (Shimadzu UV1800) disponível no Laboratório de Análise e Caracterização de Fármacos (LACFar - Unifal-MG).

Uma solução de DNA foi preparada adicionando-se 0,0200 g de ct-DNA em 10,0 mL de tampão Tris-HCl (4,50 mM de Tris HCl; 0,50 mM de Tris base e 50,0 mM

de NaCl) com pH de 7,40. Posteriormente, foram adicionados em uma cubeta de quartzo 2000,0  $\mu\text{L}$  de tampão, 80,0  $\mu\text{L}$  da solução de ct-DNA e determinou-se a concentração desta por espectroscopia de UV-vis. Sabendo que o ct-DNA absorve em 260 nm e possui uma absorvidade molar de  $6600 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  aplicou-se os valores conhecidos na lei de Lambert-Beer **(6)** para determinar a concentração do ct-DNA.

$$A_{260} = \epsilon_{260} \cdot b \cdot c \quad (6)$$

Na equação acima, A (u.a.) refere-se à absorbância em 260 nm do cromóforo, neste caso o DNA,  $\epsilon$  ( $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) é a absorvidade molar, b (cm) é o caminho óptico e c ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) é a concentração molar da solução.

Utilizou-se duas cubetas para as titulações feitas, de modo que na cubeta 1 uma solução padrão foi preparada com 1800,0  $\mu\text{L}$  de tampão e 200,0  $\mu\text{L}$  de DMSO atuando, portanto, como referência, enquanto na cubeta 2 empregou-se 1800,0  $\mu\text{L}$  de tampão, 100,0  $\mu\text{L}$  de DMSO e 100,0  $\mu\text{L}$  da solução do complexo em DMSO (em uma concentração que não ultrapassasse a lei de Lambert Beer). Em seguida sucessivas titulações foram realizadas adicionando-se 20,0  $\mu\text{L}$  de ct-DNA em ambas cubetas; as soluções foram então homogeneizadas e a leitura foi adquirida. Esse procedimento foi repetido até não se observar grandes alterações na absorvidade molar da solução do complexo após adição contínua de ct-DNA.

Por fim, a constante de ligação intrínseca de ligação dos complexos com o DNA ( $K_b$ ) foi calculada utilizando-se a análise de regressão, considerando as alterações na intensidade de absorção de acordo com o aumento da concentração de ct-DNA.

#### **4.10.7 Estudo da interação com a albumina de soro humano (HSA)**

De acordo com os resultados obtidos nos ensaios antiproliferativo e citotóxico *in vitro* de células tumorais, os complexos que apresentaram maior atividade tiveram sua capacidade de interagir com a HSA estudada. As análises foram realizadas em triplicata em um fluorímetro Cary Eclipse (Varian) utilizando-se uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 10 mm, presente no Laboratório de Bioquímica da Unifal-MG.

As interações dos complexos com a HSA foram avaliadas por meio da medida de supressão de fluorescência dos resíduos de triptofano presentes na proteína.

Preparou-se uma solução 5,0  $\mu\text{M}$  de HSA em tampão Tris-HCl (4,50 mM de Tris HCl; 0,50 mM de Tris base e 50,00 mM de NaCl) com pH 7,40 e adicionou-se soluções dos complexos preparadas em diferentes concentrações (0-50,00  $\mu\text{M}$ ). O comprimento de onda de excitação da HSA foi fixado em 280 nm e as medidas foram realizadas em três temperaturas de incubação (298, 304 e 310 K), adquirindo-se os espectros de emissão na faixa de 290-450 nm. Uma solução padrão foi preparada com 900,0  $\mu\text{L}$  de albumina e 100,0  $\mu\text{L}$  de DMSO e sua fluorescência foi medida, atuando como referência.

#### 4.11 ESTUDO DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA

A avaliação da atividade antiparasitária e citotóxica dos complexos foi realizada no Laboratório de Engenharia Tecidual e Imunofarmacologia (LETI), Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ -BA) sob a supervisão da Dra. Elisalva Teixeira Guimarães e colaboração da aluna Jéssica Silva Teixeira.

##### 4.11.1 Parasitos

Promastigotas de *Leishmania amazonensis* (cepa Leila MHOM/ BR88/ BA-125 Leila) foram cultivadas em meio de infusão de fígado e triptose (LIT) ou meio Schneider (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA), suplementado com soro fetal bovino a 10% (Gibco Invitogen Co., Tastrup, Dinamarca), 50  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  de gentamicina (Life, Carlsbad, CA, EUA), em pH 7,2 à 26 °C. Os parasitos foram contados diariamente na câmara de Neubauer por cinco dias. Ao atingir a fase estacionária de crescimento, novas passagens *in vitro* dos parasitos foram realizadas. A infectividade dos parasitos foi mantida através de passagens em camundongos BALB/c.

##### 4.11.2 Screening: atividade *in vitro* contra promastigotas de *L. amazonensis*

Promastigotas de *L. amazonensis* em fase estacionária foram semeados em uma placa de 96 poços (densidade de  $2 \times 10^6$  parasitos/mL) em 200,0  $\mu\text{L}$  de meio Schneider completo. As células foram tratadas com os compostos (ligantes e complexos) na concentração de 10  $\mu\text{M}$  e incubadas por 72 h. A anfotericina B foi usada como controle positivo (10  $\mu\text{M}$ ) e a viabilidade de promastigotas foi medida pelo

metabolismo de Alamar Blue (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA). As leituras colorimétricas foram realizadas a 570 e 600 nm, utilizando-se como branco o meio com Alamar Blue sem parasitos.

#### **4.11.3 Determinação do $CI_{50}$ para promastigotas de *L. amazonensis***

Promastigotas de *L. amazonensis* em fase estacionária foram incubados ( $2 \times 10^6$  parasitos/mL em 200,0  $\mu$ L) e tratados com os compostos mais ativos em concentrações variáveis de 0,625 a 20  $\mu$ M (diluição 1: 2) por 72 h. A anfotericina B foi utilizada como controle positivo (0,06 a 2,00  $\mu$ M). A viabilidade de promastigotas foi medida pelo metabolismo de Alamar Blue (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) e as leituras colorimétricas foram realizadas a 570 e 600 nm. O branco utilizado neste ensaio foi o meio mais Alamar Blue sem parasitos. A concentração inibitória para 50% dos parasitos ( $CI_{50}$ ) foi calculada com base na porcentagem de inibição do crescimento do parasito, relacionada a controles negativos, e acessada através dos valores do logaritmo da concentração seguidos pelo ajuste da curva de regressão não linear utilizando o programa GraphPad Prism versão 5.01 (GUEDES *et al.*, 2018).

#### **4.11.4 Ensaio de citotoxicidade**

Macrófagos J774 ( $1 \times 10^4$  por poço em 200  $\mu$ L) foram cultivados em placas de 96 poços na presença dos compostos em concentrações variáveis (de 0,41 a 100  $\mu$ M) durante 72 h a 37 °C em 5% de CO<sub>2</sub>. As células foram incubadas com 20,0  $\mu$ L de Alamar Blue por poço (Invitrogen) por mais 6 h. As leituras de absorbância foram realizadas em 570 e 600 nm e usadas para calcular a porcentagem de inibição de crescimento após o tratamento. O branco utilizado neste ensaio foi o meio mais Alamar Blue sem as células. A concentração citotóxica para 50% dos macrófagos ( $CC_{50}$ ) foi calculada através de regressão não linear usando o GraphPad Prism versão 5.01 (GraphPad Prism, San Diego, CA, USA) (MEIRA *et al.*, 2017).

#### **4.11.5 Análise estatística**

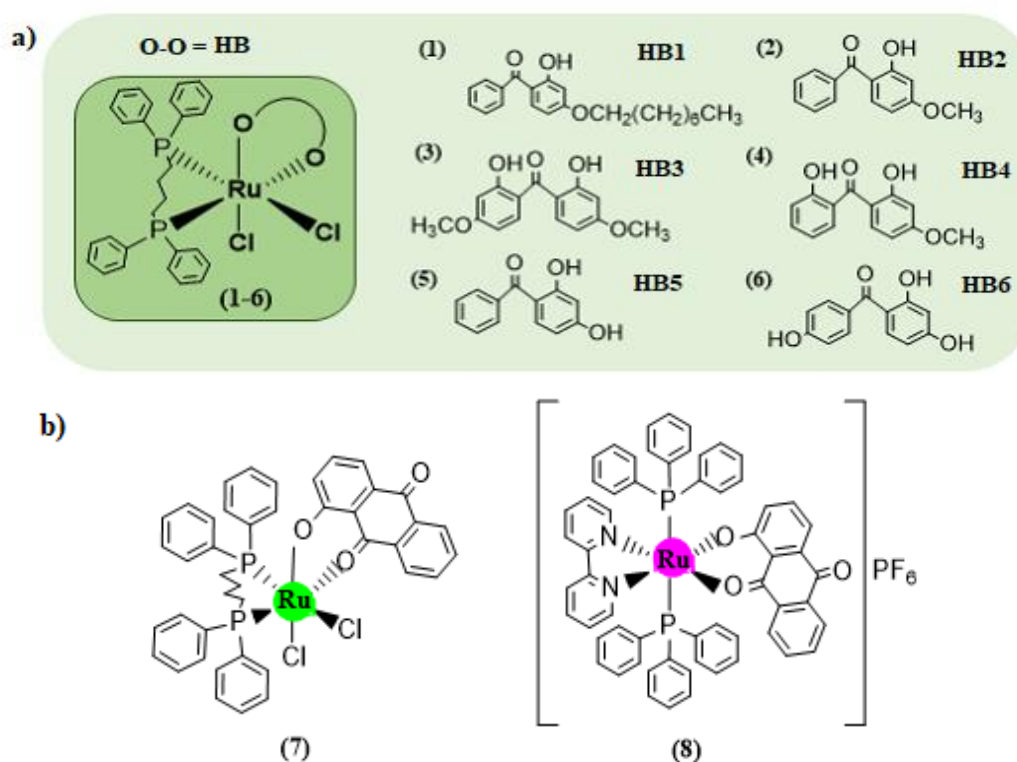
As análises estatísticas foram realizadas por testes de comparação unidirecional (ANOVA) e múltipla (Newman-Keuls) utilizando o software GraphPad

Prism versão 5.01 (San Diego, CA, USA). O nível crítico de significância foi estabelecido em  $p < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os complexos sintetizados nesse trabalho e levando em consideração a semelhança estrutural entre eles optou-se por apresentar os resultados e discussão em séries, as quais são identificadas na Figura 46 - a) e b), sendo a série 1 composta por seis complexos de Ru(III) com HB (**1-6**) de fórmula geral *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(HB)(dppb)] e a série 2 formada por dois complexos com HQ, um de Ru(III) *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(HQ)(dppb)] (**7**) e o outro de Ru(II) *trans*-[Ru(HQ)(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)]PF<sub>6</sub> (**8**).

Figura 46 - Complexos sintetizados: **a)** série 1 e **b)** série 2.

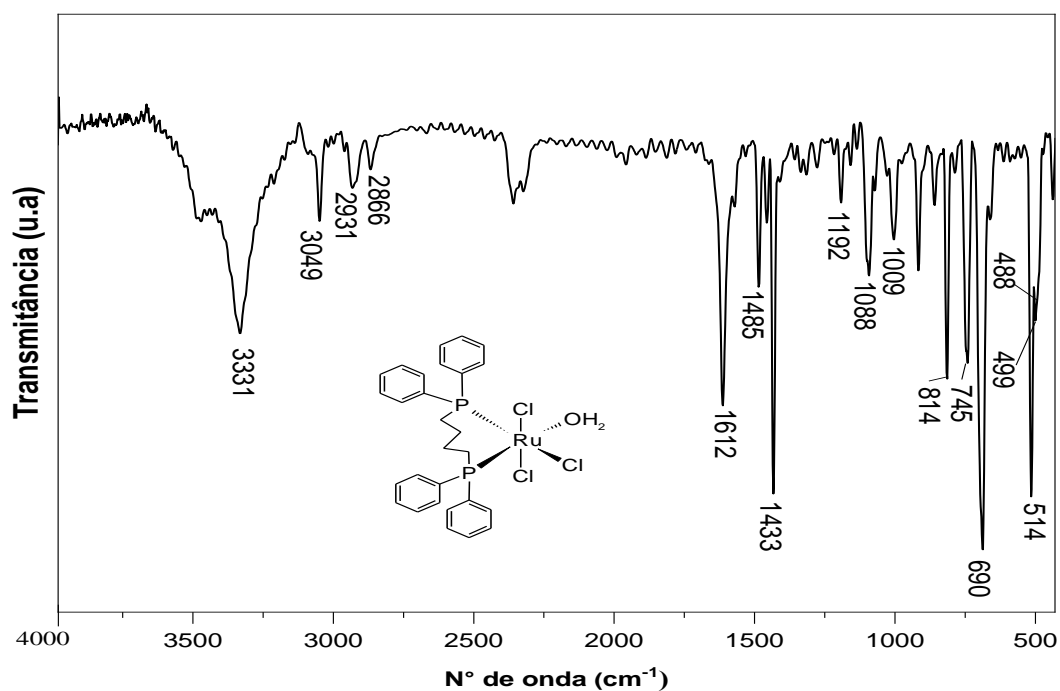


Fonte: Da autora.

### 5.1 SÉRIE 1

#### 5.1.1 Espectroscopia na região do infravermelho

A fim de observar informações importantes sobre a natureza da ligação metal-ligante foram obtidos espectros de FTIR do precursor (Figura 47 e Tabela 4), das HB livres e dos complexos sintetizados.

Figura 47 - Espectro de FTIR do complexo precursor  $mer\text{-}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$ .

Fonte: Da autora.

Tabela 4 - Principais bandas e atribuições dos espectros de IV do  $mer\text{-}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$ .

Atribuições (intensidades)	$mer\text{-}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$ ( $\text{cm}^{-1}$ )	Referências
$\nu(\text{O-H})$ (m)	3331	
$\nu(\text{C-H})$ aromático (f)	3049	
$\nu(\text{C-H})$ alifático (f)	2931, 2866	(BARBOSA <i>et al.</i> , 2014;
$\delta(\text{O-H})$ (F)	1612	<i>al.</i> , 2014;
$\nu(\text{C=C})$ (m-F)	1485-1433	NAKAMOTO,
$\nu(\text{P - C})$ aromático	1192 (f), 1088 (m) e 1009 (f)	2009; SILVERSTEIN
$\delta(\text{C-H})$ aromático (m)	814	; WEBSTER;
$\gamma(\text{C-H})$ aromático (m)	745	KIEMLE,
$\gamma(\text{C-H})$ (F)	690	2006)
$\nu(\text{Ru- P})$ (F/f)	514/499	
$\nu(\text{Ru- O})$ (f)	488	

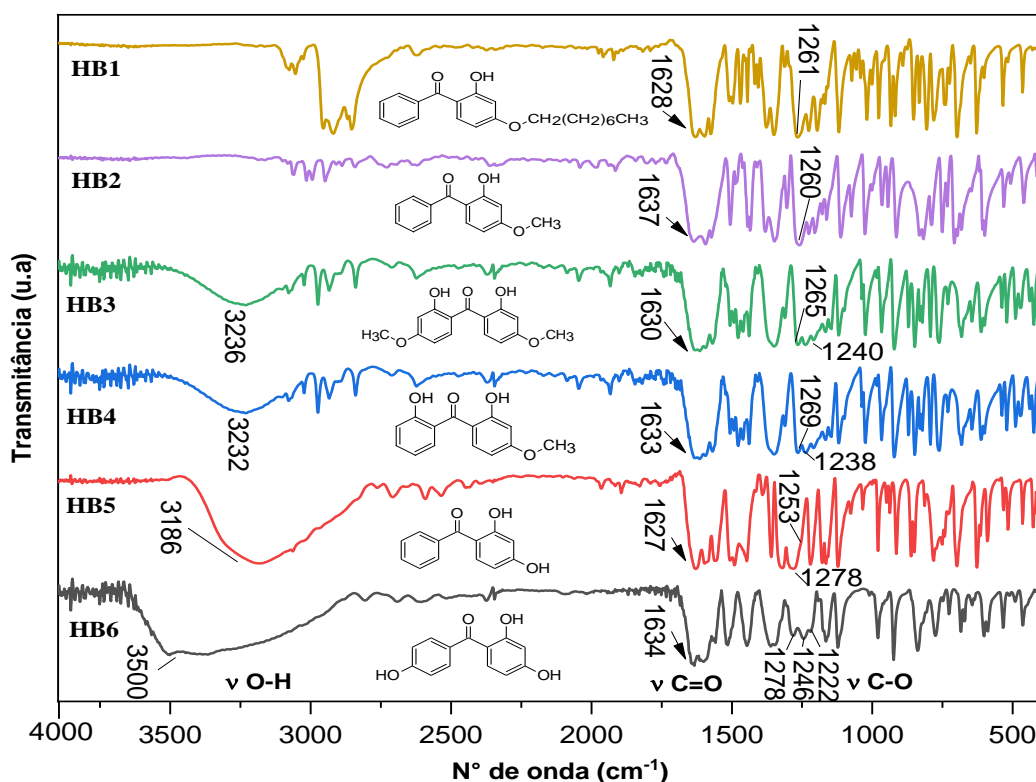
Fonte: Da autora.

Notas: **F** = forte, **m** = média e **f** = fraca.  **$\nu$**  = estiramento ou deformação axial,  **$\delta$**  = deformação angular no plano e  **$\gamma$**  = deformação angular fora do plano.

O espectro do precursor *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)] apresentou bandas características em 3331 cm<sup>-1</sup>  $\nu$ (O-H) e 1612 cm<sup>-1</sup>  $\delta$ (O-H) referentes às vibrações da molécula de água coordenada (BARBOSA *et al.*, 2014; DINELLI *et al.*, 1999). Na região entre 514-499 cm<sup>-1</sup> duas bandas foram observadas e correspondem aos estiramentos assimétrico e simétrico da ligação Ru-P. Em 488 cm<sup>-1</sup> uma banda de fraca intensidade foi atribuída ao estiramento Ru-O (NAKAMOTO, 2009). As demais bandas e respectivas atribuições encontram-se sumarizadas na Tabela 4.

Cetonas aromáticas conjugadas ao grupo fenol como as HB apresentaram bandas na região entre 1627-1637 cm<sup>-1</sup> referentes ao  $\nu$ (C=O) (Figura 48). Observou-se também bandas de forte intensidade na região entre 1222-1278 cm<sup>-1</sup>, atribuídas ao  $\nu$ (C-O) de fenóis (SUTHAN *et al.*, 2011) (Tabela 5).

Figura 48 - Espectros de FTIR das hidroxibenzofenonas.



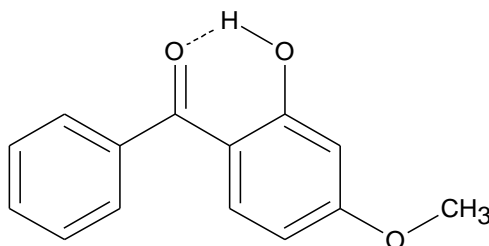
Fonte: Da autora.

A banda correspondente ao  $\nu$ (O-H) é sensível às ligações de hidrogênio, podendo sofrer influência de grupos adjacentes. Assim, a hidroxila livre de fenóis absorve fortemente na região entre 3584-3700 cm<sup>-1</sup>, no entanto ligações de hidrogênio intermolecular começam a aparecer em menores números de onda 3200-3550 cm<sup>-1</sup>, sendo muitas vezes a ampla absorção proveniente de possíveis estruturas poliméricas

(SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006). Os ligantes **HB3**, **HB4**, **HB5** e **HB6** apresentaram estas bandas em  $3236\text{ cm}^{-1}$ ,  $3232\text{ cm}^{-1}$ ,  $3186\text{ cm}^{-1}$  e  $3500\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Enfatiza-se ainda bandas mais intensas para **HB5** e **HB6** devido possuírem um e dois grupos hidroxilas *para* à carbonila, respectivamente.

Opostamente, **HB1** e **HB2** não apresentaram bandas nesta região do espectro, possivelmente por possuírem hidroxilas somente na posição *orto* ao grupo carbonila, facilitando a formação de fortes ligações de hidrogênio intramolecular e gerando um anel quelato de seis átomos (Figura 49) (MERRILL, 1961). Em alguns casos, a redução da frequência de absorção possibilita a combinação das bandas referentes ao  $\nu(\text{O-H})$  e  $\nu(\text{C-H})$ , as quais muitas vezes se misturam na região de  $3030\text{ cm}^{-1}$  (CULLINANE; WOOLHOUSE; BAILEY-WOOD, 1961).

Figura 49 - Ligação de hidrogênio intramolecular para HB2.

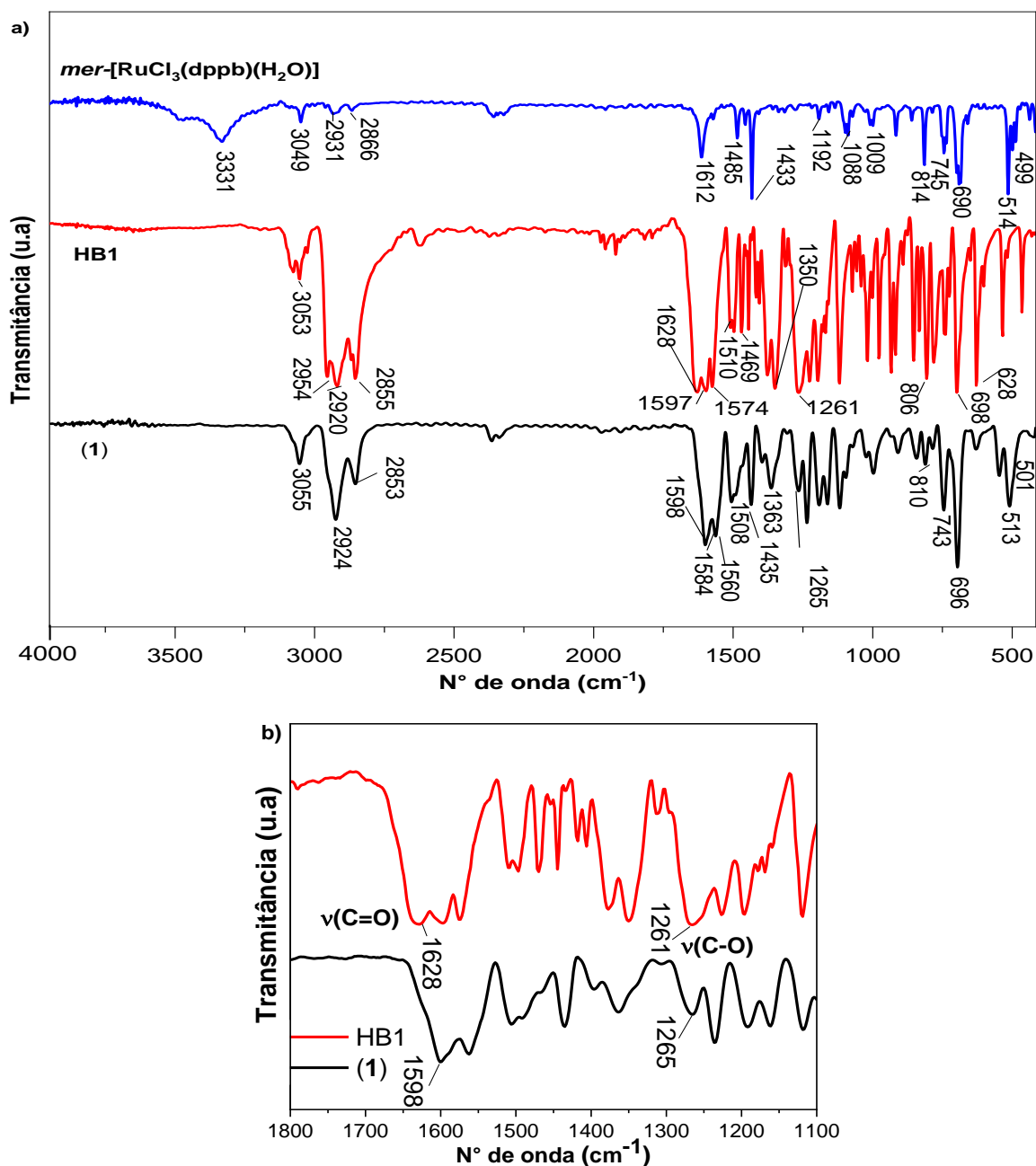


Fonte: Da autora.

Nos espectros de IV de todos os complexos (**1-6**) (Figuras 50-56 e Tabela 5) observou-se que a banda referente ao  $\nu(\text{C=O})$  deslocou-se para menores números de onda ( $1598$ ,  $1598$ ,  $1614$ ,  $1616$ ,  $1595$  e  $1591\text{ cm}^{-1}$ ) em relação ao seus respectivos ligantes (**HB1-HB6**) ( $1628$ ,  $1637$ ,  $1630$ ,  $1633$ ,  $1627$  e  $1634\text{ cm}^{-1}$ ), sugerindo portanto o envolvimento do oxigênio carbonílico na coordenação com o centro metálico, conforme relatado em outros trabalhos com diferentes íons de metais de transição: Cu(II), Zn(II) e Co(II) (GONÇALVES *et al.*, 2017; LALIA-KANTOURI *et al.*, 2013; LASHANIZADEGAN; ALAVIJEH; ANAFCHEH, 2017; MRKALIĆ *et al.*, 2014).

Outra banda importante para estudo corresponde ao  $\nu(\text{C-O})$  do grupo fenol, o qual seguiu o mesmo comportamento para os complexos (**1**), (**2**) e (**6**), de modo que deslocou-se para maiores números de onda ( $1265$ ,  $1267$  e  $1280/1252/1238\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente), fato que pode ser atribuído ao maior efeito ressonante entre as ligações C=O e C-O (CARUSO *et al.*, 2009) (Figuras 50-52).

Figura 50 - a) Espectros de FTIR de (1) e HB1 b) região ampliada dos espectros (1800-1100  $\text{cm}^{-1}$ ).

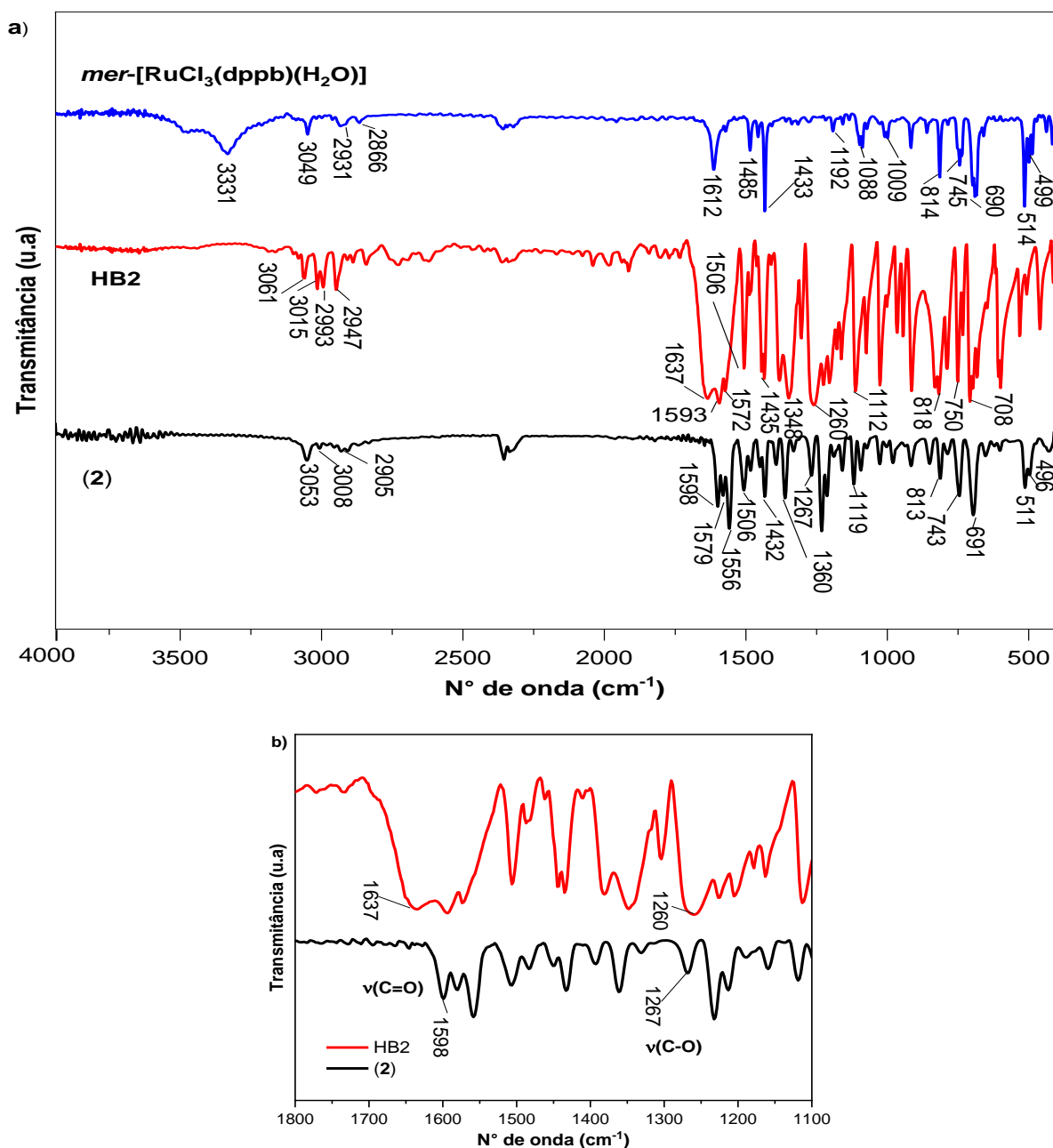


Fonte: Da autora.

Notas: **HB1** 3053  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C}-\text{H})$  aromático; 2954, 2920 e 2855  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C}-\text{H})$  alifático; 1628  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C}=\text{O})$  carbonila; 1597, 1574, 1510 e 1469  $\text{cm}^{-1}$  (m a F)  $\nu(\text{C}=\text{C})$  aromático; 1350  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\delta(\text{C}-\text{H})\text{CH}_3$ ; 1261  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C}-\text{O})$  fenol; 806 (F)  $\delta(\text{C}-\text{H})$  aromático; 698 e 628  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\gamma(\text{C}-\text{H})$  aromático.

**(1)** 3055  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C}-\text{H})$  aromático; 2924 (m) e 2853  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C}-\text{H})$  alifático; 1598  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C}=\text{O})$  carbonila; 1584, 1560, 1508 e 1435  $\text{cm}^{-1}$  (m a F)  $\nu(\text{C}=\text{C})$  aromático; 1363  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\delta(\text{C}-\text{H})\text{CH}_3$ ; 1265  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\nu(\text{C}-\text{O})$  fenol; 810 (f)  $\delta(\text{C}-\text{H})$  aromático; 743 (m) e 696  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\gamma(\text{C}-\text{H})$  aromático; 513 e 501  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\nu(\text{Ru}-\text{P})$ . **F** = forte, **m** = média, **f** = fraca,  **$\nu$**  = estiramento ou deformação axial,  **$\delta$**  = deformação angular no plano e  **$\gamma$**  = deformação angular fora do plano.

Figura 51 - a) Espectros de FTIR de (2) e HB2 b) região ampliada dos espectros (1800-1100  $\text{cm}^{-1}$ ).

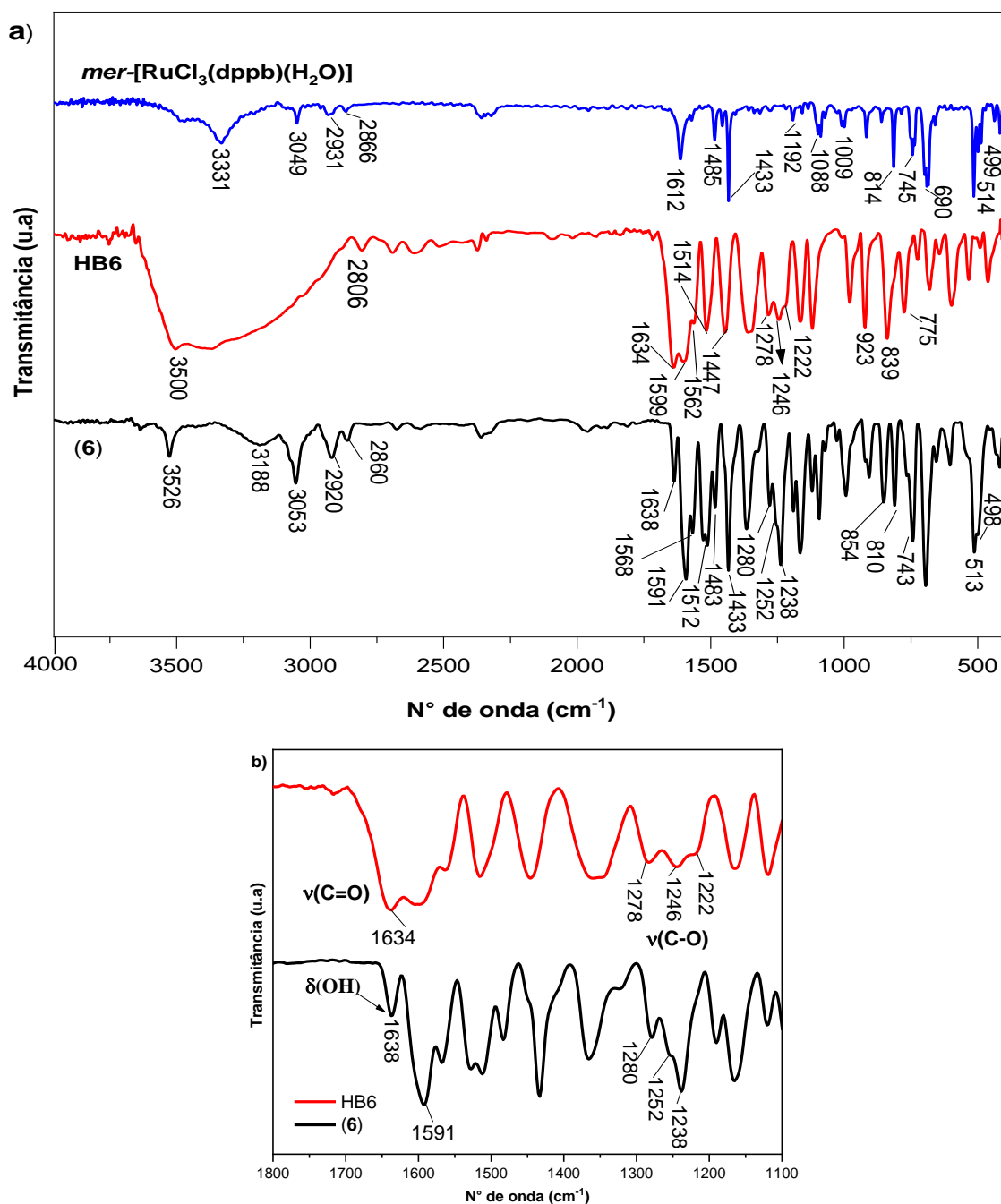


Fonte: Da autora.

Notas: **HB2** 3061  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C-H})$  aromático; 3015, 2993 e 2947  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C-H})$  alifático; 1637  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C=O})$  carbonila; 1593, 1572, 1506 e 1435  $\text{cm}^{-1}$  (m a F)  $\nu(\text{C=C})$  aromático; 1348  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\delta(\text{C-H})\text{CH}_3$ ; 1260  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C-O})$  fenol; 1112  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{CH}_3\text{-O})$ ; 818  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\delta(\text{C-H})$  aromático, 750 e 708  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\gamma(\text{C-H})$  aromático.

(2) 3053  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C-H})$  aromático; 3008 e 2905  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C-H})$  alifático; 1598  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\nu(\text{C=O})$  carbonila; 1579, 1556, 1506 e 1432  $\text{cm}^{-1}$  (m a F)  $\nu(\text{C=C})$  aromático; 1360  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\delta(\text{C-H})\text{CH}_3$ ; 1267  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\nu(\text{C-O})$  fenol; 1119  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\nu(\text{CH}_3\text{-O})$ ; 813  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\delta(\text{C-H})$  aromático, 743 e 691  $\text{cm}^{-1}$  (m e F)  $\gamma(\text{C-H})$  aromático; 511 e 496  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\nu(\text{Ru-P})$ . **F** = forte, **m** = média, **f** = fraca, **v** = estiramento ou deformação axial,  **$\delta$**  = deformação angular no plano e  **$\gamma$**  = deformação angular fora do plano.

Figura 52 - a) Espectros de FTIR de **(6)** e HB6 b) região ampliada dos espectros (1800-1100  $\text{cm}^{-1}$ ).



Fonte: Da autora.

Notas: **HB6** 3500  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{O-H})$ ; 2806  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C-H})$  alifático; 1634  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C}=\text{O})$  carbonila; 1599, 1562, 1514 e 1447  $\text{cm}^{-1}$  (m a F)  $\nu(\text{C}=\text{C})$  aromático; 1278, 1246 e 1222  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\nu(\text{C-O})$  fenol; 923  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\delta(\text{C-H})$  aromático, 839 e 775  $\text{cm}^{-1}$   $\gamma$ (F e m)  $\delta(\text{C-H})$  aromático.

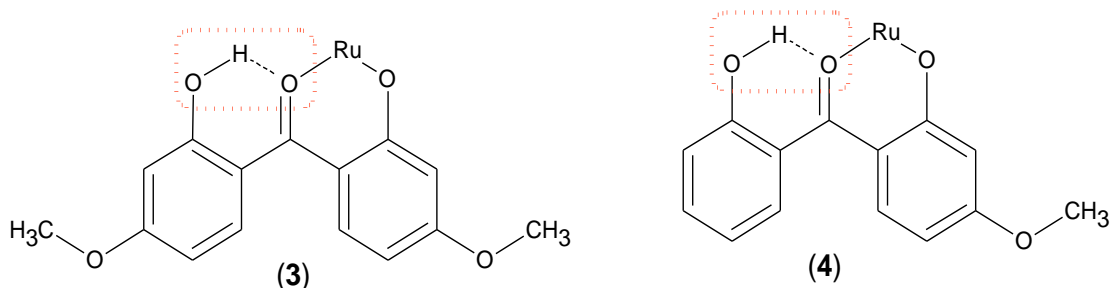
**(6)** 3526 (f) e 3188  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{O-H})$ ; 3053  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C-H})$  aromático; 2920 e 2860  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C-H})$  alifático; 1638  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\delta(\text{OH})$ ; 1591  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C}=\text{O})$  carbonila; 1568, 1512, 1483 e 1433  $\text{cm}^{-1}$  (m a F)  $\nu(\text{C}=\text{C})$  aromático; 1280, 1252 e 1238  $\text{cm}^{-1}$  (m a F)  $\nu(\text{C-O})$  fenol; 854  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\delta(\text{C-H})$  aromático; 810 e 743  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\gamma(\text{C-H})$  aromático e 513 e 498  $\text{cm}^{-1}$  (F e m). **F** = forte, **m** = média, **f** = fraca,  **$\nu$**  = estiramento ou deformação axial,  **$\delta$**  = deformação angular no plano e  **$\gamma$**  = deformação angular fora do plano.

Observou-se no espectro de (6) uma banda de intensidade média em  $1638\text{ cm}^{-1}$ , característica de deformação angular (O-H), uma vez que a estrutura desta HB possui dois grupos hidroxilas livres após a coordenação, cuja as vibrações podem acoplar com os estiramentos axiais das ligações C=O e C=C na mesma região.

Os demais complexos (3-5) apresentaram comportamento distinto em relação ao  $\nu(\text{C-O})$ , o qual é indicado pelo deslocamento da banda para menores números de onda:  $1261/1230\text{ cm}^{-1}$  (3),  $1267/1223\text{ cm}^{-1}$  (4) e  $1251/1238\text{ cm}^{-1}$  (5).

As estruturas de **HB3** e **HB4** possuem em comum um segundo grupo hidroxila na posição 2' do sistema aromático, que interagem por meio de ligações de hidrogênio intramolecular com a carbonila vizinha conforme representado na Figura 53, infere-se portanto a manutenção deste comportamento após a coordenação, o que foi confirmado pelos estudos cristalográficos a serem discutidos posteriormente. Por sua vez, **HB5** apresenta uma hidroxila *para* a carbonila que permite a formação de ligações de hidrogênio intermolecular (também confirmado pelo estudo cristalográfico), podendo ocasionar o enfraquecimento das ligações C-O observadas.

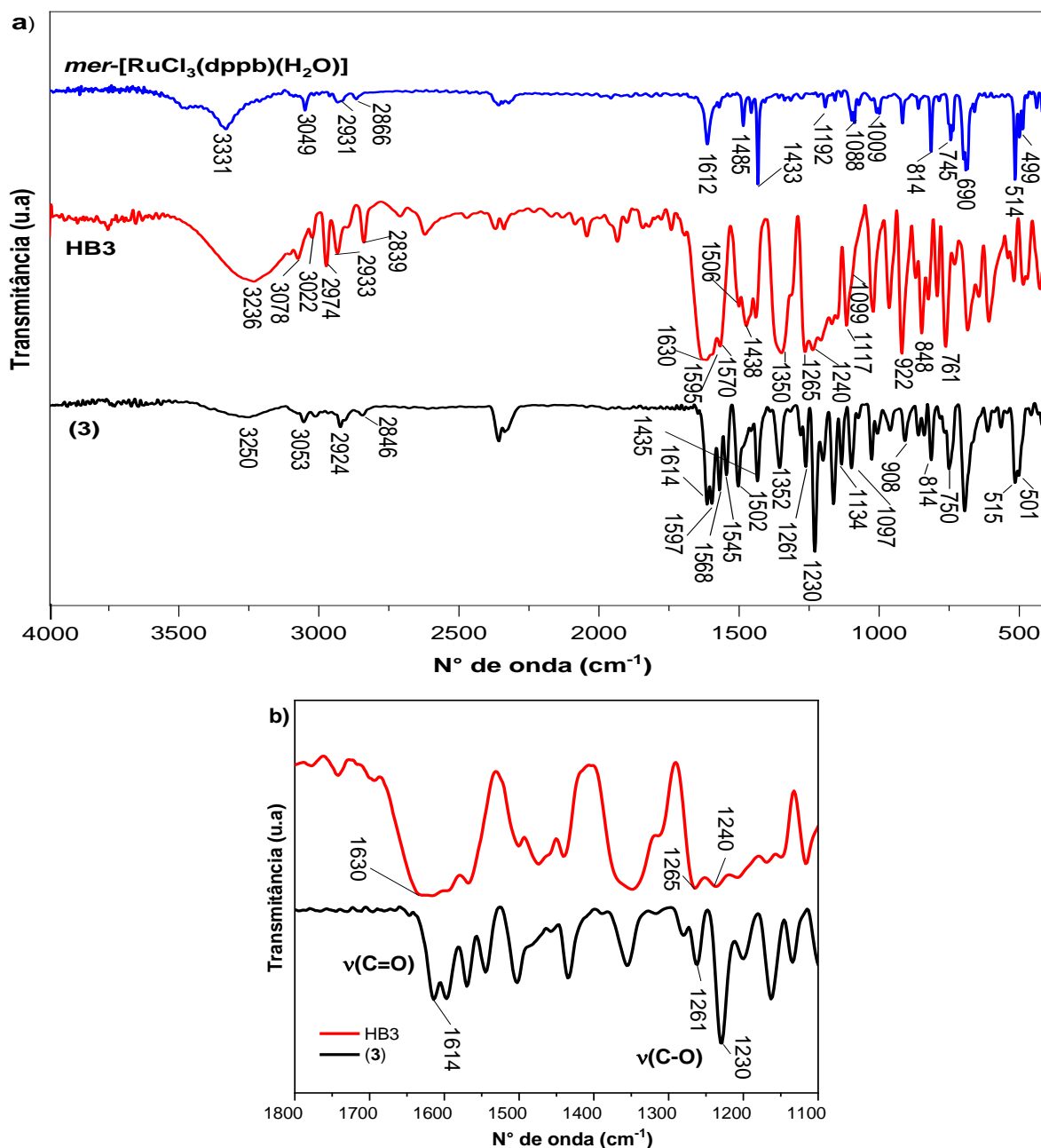
Figura 53 - Representação das ligações de hidrogênio intramolecular de (3) e (4).



Fonte: Da autora.

Outra justificativa pode estar voltada para os grupos substituintes na posição 4 do anel aromático, pois ambos atuam por ressonância aumentando a densidade eletrônica na carbonila, uma vez que o oxigênio possui pares de elétrons livres que podem deslocalizar-se pelo sistema aromático (CHAUDET; TAMBLYN, 1961). Entretanto, por efeito indutivo tais grupos podem retirar densidade eletrônica do sistema, devido serem mais eletronegativos do que o carbono ao qual estão ligados (VOLLHARDT; SCHORE, 2013). Desta forma, sugere-se que o aumento ou diminuição do número de onda referente ao  $\nu(\text{C-O})$  após a coordenação seja influenciado pelo somatório de efeitos eletrônicos e estéricos atuantes nas moléculas.

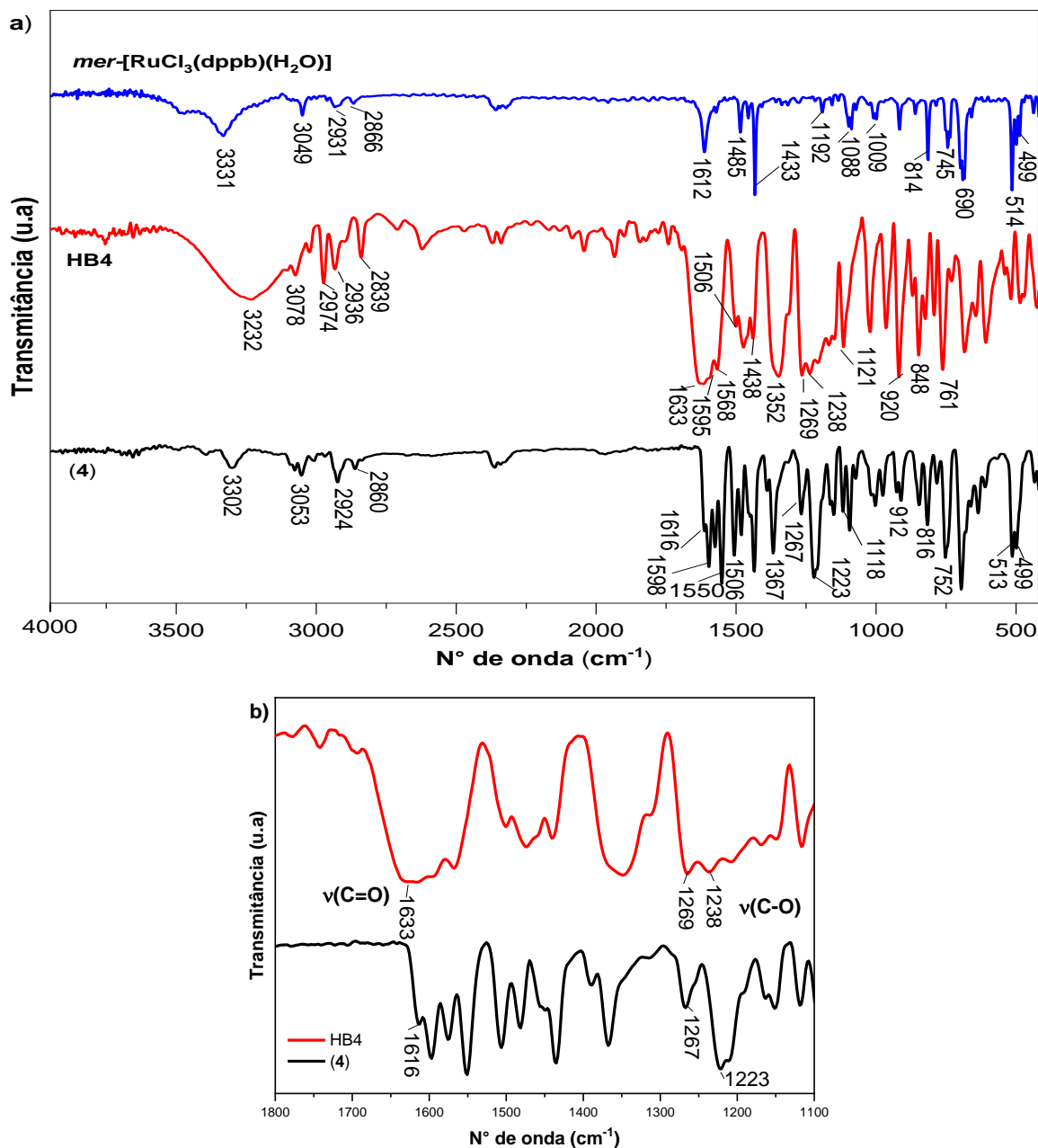
Figura 54 - a) Espectros de FTIR de **(3)** e HB3 **b)** região ampliada dos espectros (1800-1100  $\text{cm}^{-1}$ ).



Fonte: Da autora.

Notas: **HB3** 3236 (F)  $\nu(\text{O}-\text{H})$ , 3078 e 3022  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C}-\text{H})$  aromático; 2974, 2933 e 2839  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C}-\text{H})$  alifático; 1630  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C}=\text{O})$  carbonila; 1595, 1570, 1506 e 1438  $\text{cm}^{-1}$  (m a F)  $\nu(\text{C}=\text{C})$  aromático; 1350  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\delta(\text{C}-\text{H})\text{CH}_3$ ; 1265 e 1240  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C}-\text{O})$  fenol; 1117 e 1099  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\nu(\text{CH}_3-\text{O})$ , 922  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\delta(\text{C}-\text{H})$  aromático, 848 e 761  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C}-\text{H})$  aromático.

**(3)** 3250  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{O}-\text{H})$ ; 3053  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C}-\text{H})$  aromático; 2924 e 2846  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C}-\text{H})$  alifático; 1614  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C}=\text{O})$  carbonila; 1597, 1568, 1545, 1502 e 1435  $\text{cm}^{-1}$  (m a F)  $\nu(\text{C}=\text{C})$  aromático; 1352  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\delta(\text{C}-\text{H})\text{CH}_3$ ; 1261 e 1230  $\text{cm}^{-1}$  (m e F)  $\nu(\text{C}-\text{O})$  fenol; 1134 e 1097  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\nu(\text{CH}_3-\text{O})$ ; 908  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\delta(\text{C}-\text{H})$  aromático, 814 e 750  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\nu(\text{C}-\text{H})$  aromático; 515 e 501  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\nu(\text{Ru}-\text{P})$ . **F** = forte, **m** = média, **f** = fraca,  **$\nu$**  = estiramento ou deformação axial,  **$\delta$**  = deformação angular no plano e  **$\gamma$**  = deformação angular fora do plano.

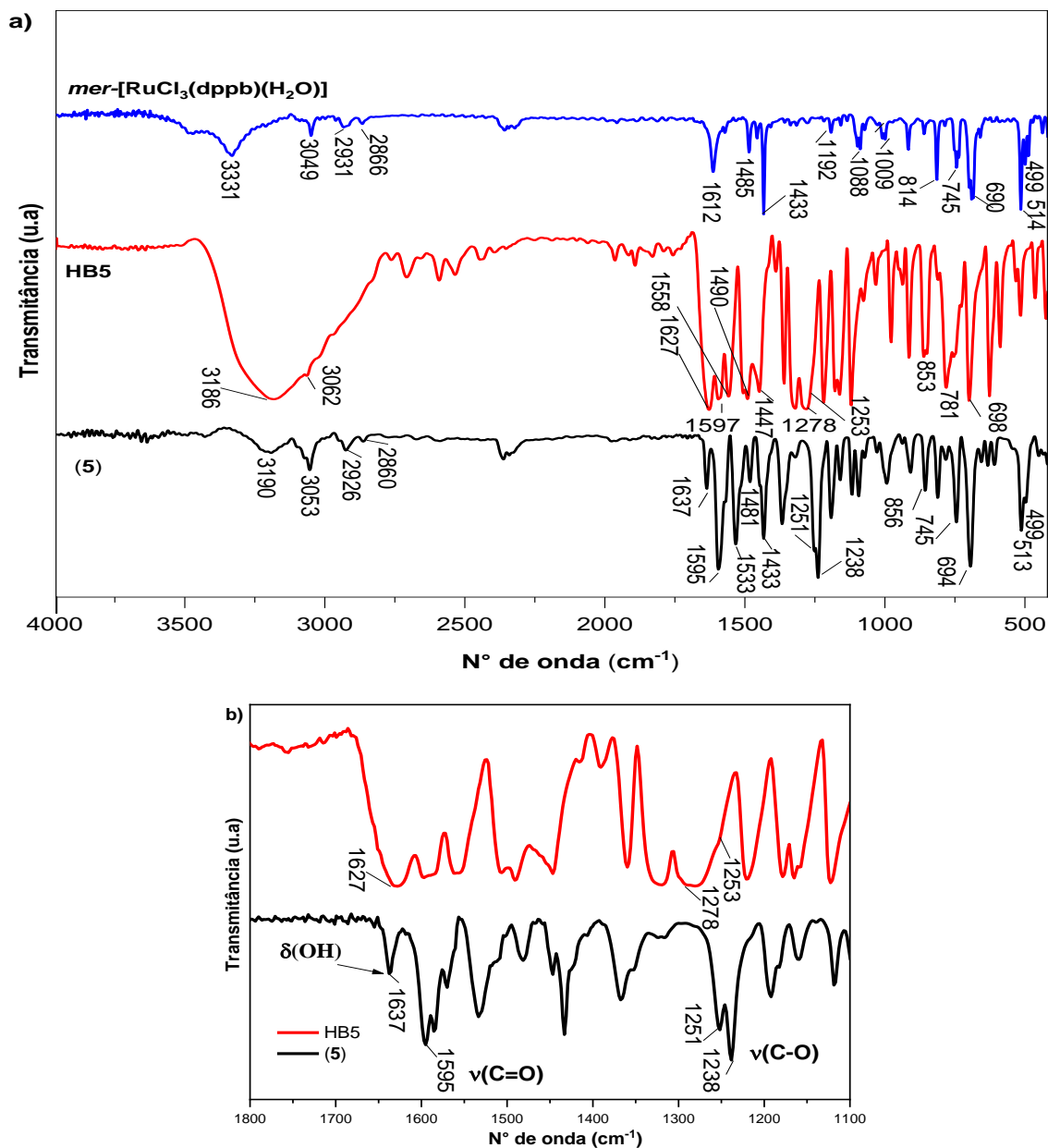
Figura 55 - a) Espectros de FTIR de (4) e HB4 b) região ampliada dos espectros (1800-1100  $\text{cm}^{-1}$ ).

Fonte: Da autora.

Notas: **HB4** 3232  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{O-H})$ , 3078  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C-H})$  aromático; 2974, 2936 e 2839  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C-H})$  alifático; 1633  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C=O})$  carbonila; 1595, 1568, 1506 e 1438  $\text{cm}^{-1}$  (m a F)  $\nu(\text{C=C})$  aromático; 1352  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\delta(\text{C-H})\text{CH}_3$ ; 1269 e 1238  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C-O})$  fenol; 1121  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\nu(\text{CH}_3\text{-O})$ ; 920  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\delta(\text{C-H})$  aromático; 848 e 761  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\gamma(\text{C-H})$  aromático.

**(4)** 3302  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{O-H})$ ; 3053  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C-H})$  aromático; 2924 e 2860  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C-H})$  alifático; 1616  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C=O})$  carbonila; 1598, 1550, 1506 e 1435  $\text{cm}^{-1}$  (m a F)  $\nu(\text{C=C})$  aromático; 1367  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\delta(\text{C-H})\text{CH}_3$ ; 1267 e 1223  $\text{cm}^{-1}$  (m e F)  $\nu(\text{C-O})$  fenol; 1118  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\nu(\text{CH}_3\text{-O})$ ; 912  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\delta(\text{C-H})$  aromático; 816 e 752  $\text{cm}^{-1}$  (m e F)  $\nu(\text{C-H})$  aromático; 513 e 499  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{Ru-P})$ . **F** = forte, **m** = média, **f** = fraca,  **$\nu$**  = estiramento ou deformação axial,  **$\delta$**  = deformação angular no plano e  **$\gamma$**  = deformação angular fora do plano.

Figura 56 - a) Espectros de FTIR de (5) e HB5 b) região ampliada dos espectros (1800-1100  $\text{cm}^{-1}$ ).



Fonte: Da autora.

Notas: **HB5** - 3186  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{O-H})$ ; 3062  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C-H})$  aromático; 3014, 2958 e 2925  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C-H})$  alifático; 1627  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C}=\text{O})$  carbonila; 1597, 1558, 1490 e 1447  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C}=\text{C})$  aromático; 1278 e 1253  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C-O})$  fenol; 853  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\delta(\text{C-H})$  aromático, 781 e 698  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\gamma(\text{C-H})$  aromático.

**(5)** 3190  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{O-H})$ ; 3053  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C-H})$  aromático; 2926 e 2860  $\text{cm}^{-1}$  (f)  $\nu(\text{C-H})$  alifático; 1637  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\delta(\text{OH})$ ; 1595  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C}=\text{O})$  carbonila; 1533, 1481 e 1433  $\text{cm}^{-1}$  (m a F)  $\nu(\text{C}=\text{C})$  aromático; 1251 e 1238  $\text{cm}^{-1}$  (F)  $\nu(\text{C-O})$  fenol; 856  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\delta(\text{C-H})$  aromático, 745 e 694  $\text{cm}^{-1}$  (m e F)  $\nu(\text{C-H})$  aromático; 513 e 499  $\text{cm}^{-1}$  (m)  $\nu(\text{Ru-P})$ . **F** = forte, **m** = média, **f** = fraca, **v** = estiramento ou deformação axial,  $\delta$  = deformação angular no plano e  $\gamma$  = deformação angular fora do plano.

Tabela 5 - Principais bandas e atribuições dos espectros de IV das HB e complexos (1-6).

<b>Atribuições</b>	<b>HB1</b>	<b>HB2</b>	<b>HB3</b>	<b>HB4</b>	<b>HB5</b>	<b>HB6</b>
$\nu(\text{O-H})$ (F)	-	-	3236	3232	3186	3500
$\nu(\text{C-H})_{\text{aromático}}$ (f)	3053	3061	3078	3078	3062	-
$\nu(\text{C-H})_{\text{alifático}}$ (f)	2954 a 2855	3015 a 2947	2974 a 2839	2974 a 2839	3014 a 2925	2806
$\nu(\text{C=O})_{\text{carbonila}}$ (F)	1628	1637	1630	1633	1627	1634
$\nu(\text{C=C})_{\text{aromático}}$ (m a F)	1597 a 1469	1593 a 1435	1595 a 1438	1595 a 1438	1597 a 1447	1599 a 1447
$\delta(\text{C-H})\text{CH}_3$ (F)	1350	1348	1350	1352	-	-
$\nu(\text{C-O})_{\text{fenol}}$ (F)	1261	1260	1265, 1240	1269, 1238	1278, 1253	1278, 1246, 1222
$\nu(\text{CH}_3\text{-O})$ (F)	-	1112	1117, 1099	1121	-	-
$\delta(\text{C-H})_{\text{aromático}}$ (F)	806 a 628	818 a 708	922 a 761	920 a 761	853 a 698	923 a 775
$\nu(\text{Ru-P})$ (m a F)	-	-	-	-	-	-
<b>Atribuições</b>	<b>(1)</b>	<b>(2)</b>	<b>(3)</b>	<b>(4)</b>	<b>(5)</b>	<b>(6)</b>
$\nu(\text{O-H})$ (f)	-	-	3250	3302	3190	3526, 3188
$\nu(\text{C-H})_{\text{aromático}}$ (f)	3055	3053	3053	3053	3053	3053
$\nu(\text{C-H})_{\text{alifático}}$ (f)	2924 a 2853	3008 a 2905	2924 a 2846	2924, 2860	2926, 2860	2920, 2860
$\nu(\text{C=O})_{\text{carbonila}}$ (F)	1598	1598	1614	1616	1595	1591
$\nu(\text{C=C})_{\text{aromático}}$ (m a F)	1584 a 1435	1579 a 1432	1597 a 1435	1598 a 1435	1533 a 1433	1568 a 1433
$\delta(\text{C-H})\text{CH}_3$ (F)	1363	1360	1352	1367	-	-
$\nu(\text{C-O})_{\text{fenol}}$ (F)	1265	1267	1261, 1230	1267, 1223	1251, 1238	1280, 1252, 1238
$\nu(\text{CH}_3\text{-O})$ (F)	-	1119	1134, 1097	1118	-	-

Tabela 5 - Principais bandas e atribuições dos espectros de IV das HB e complexos (1-6).

Atribuições	(conclusão)					
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
$\delta(\text{C-H})$ aromático	810 a	813 a	908 a	912 a	856 a	845 a
(F)	696	691	750	752	694	743
$\nu(\text{Ru-P})$ (m a F)	513,	511,	515,	513,	513,	513,
	501	496	501	499	499	498

Fonte: Da autora.

Notas: - = ausência de banda, **F** = forte, **m** = média e **f** = fraca. **v** = estiramento ou deformação axial,  $\delta$  = deformação angular no plano e  $\gamma$  = deformação angular fora do plano.

O espectro de IV do complexo (5) também apresentou uma banda de média intensidade em  $1637\text{ cm}^{-1}$  de forma análoga a (6), sendo esta atribuída à  $\delta(\text{OH})$  que pode estar acoplado com os  $\nu(\text{C=C})$  e  $\nu(\text{C=O})$  na mesma região espectral. Nota-se esta banda apenas nos ligantes que possuem hidroxilas em posições *para* a carbonila, assim a maior distância entre os grupos permite maior vibração devido a ausência de ligações de hidrogênio intramolecular.

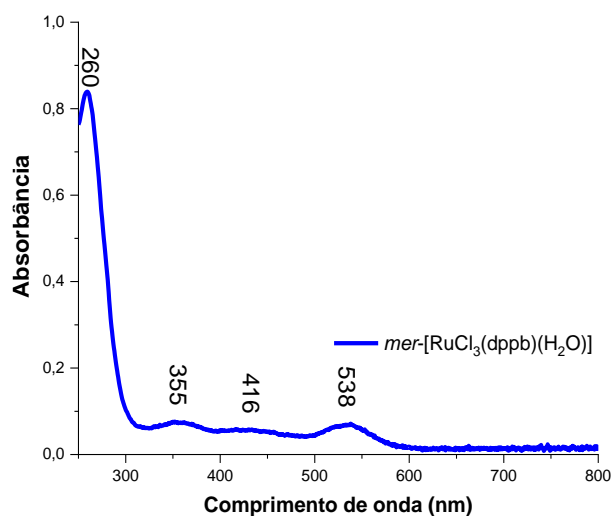
Todos os complexos (1-6) apresentaram o surgimento de bandas na região entre  $496\text{-}515\text{ cm}^{-1}$  referentes ao estiramento assimétrico e simétrico da ligação Ru-P (NAKAMOTO, 2009), bem como bandas de fraca intensidade variando entre  $472\text{-}492\text{ cm}^{-1}$  atribuídas ao  $\nu(\text{Ru-O})$  (NAKAMOTO, 2009).

### 5.1.2 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível

A análise dos espectros de UV-vis dos ligantes, precursores e novos complexos são importantes para observar modificações no perfil espectral, como: deslocamentos, e/ou surgimento de bandas, a fim de inferir sobre a coordenação.

O precursor *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$  apresentou o espectro de UV-vis representado na Figura 57, onde foi possível identificar quatro bandas (260, 355, 416 e 538 nm) sendo a primeira, de elevada absorvidade molar atribuída à transferências de carga intraligante (TCIL)  $\pi \rightarrow \pi^*$  oriundas dos anéis aromáticos da dppb, enquanto as demais são atribuídas a transferências de carga ligante metal (TCLM) entre os orbitais híbridos da dppb para o orbital  $d\pi$  do metal ( $3p\sigma^*d\pi(\text{dppb}) \rightarrow d\pi(\text{Ru(III)})$ ), dos orbitais  $p\pi(\text{Cl}) \rightarrow d\pi(\text{Ru(III)})$  e dos orbitais  $p\pi(\text{O}) \rightarrow d\pi(\text{Ru(III)})$ , conforme relatado no trabalho de WOHNATH, 1999.

Figura 57 - Espectro de UV-vis do precursor *mer*- $[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$  em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$   $3,37 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .



Fonte: Da autora.

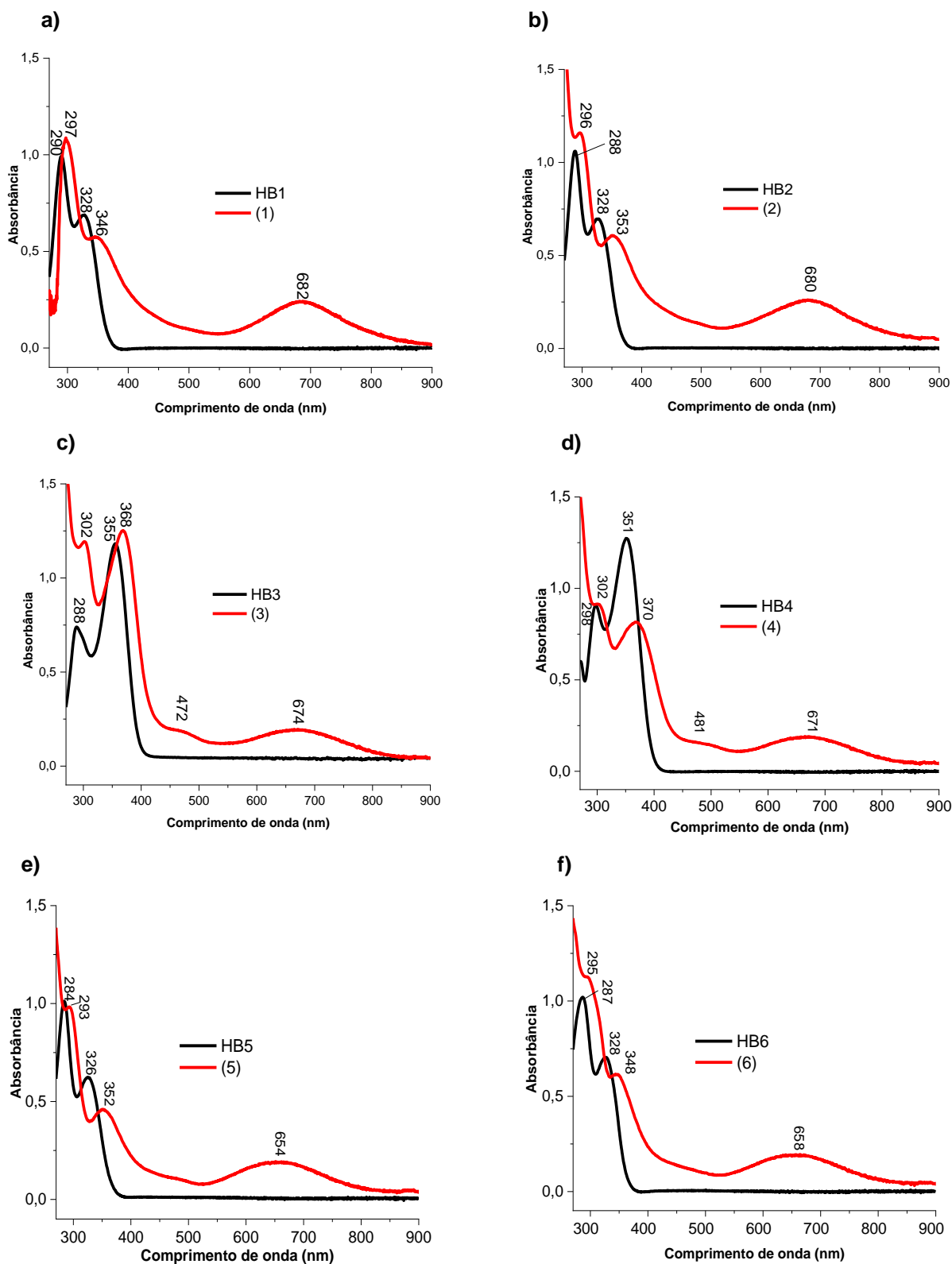
As HB apresentaram duas bandas de absorção na região UVB (~290–320 nm) e UVA (320–400 nm), respectivamente (Figura 58), sendo ambas atribuídas à TCIL  $\pi \rightarrow \pi^*$  (Tabela 6), proveniente principalmente dos elétrons presentes nos anéis aromáticos das HB (CORRÊA *et al.*, 2012) e menor contribuição do par de elétrons dos átomos de oxigênio, conforme demonstrado pelos cálculos computacionais (Apêndice A).

Nos espectros de HB3 e HB4 (Figura 58 - c e d) notou-se deslocamento batocrômico (descolamento para a região do vermelho) da banda de 328 nm (**HB1** e **HB2**) para 355 nm e 351 nm respectivamente, indicando que a presença de um segundo grupo hidroxila na posição *orto* à carbonila promove transições de menor energia, devido à proximidade entre os orbitais dos grupos substituintes (CORRÊA *et al.*, 2012).

Os espectros de todos os complexos da série 1 (em vermelho Figura 58) demonstraram deslocamentos das bandas características das HB para regiões de maiores comprimentos de onda (296-370 nm).

Adicionalmente, ocorreu o surgimento de uma banda ampla na região visível entre 550-850 nm, a qual é a principal responsável pela coloração verde observada (Figura 59).

A ampla absorção na região espectral do vermelho resulta na visualização da cor verde dos complexos, uma vez que esta é complementar da primeira.

Figura 58 - Espectros de UV-vis dos complexos e ligantes (série 1) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

Fonte: Da autora.

Notas: **a)** HB1  $9,88 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e (1)  $8,82 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , **b)** HB2  $5,52 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e (2)  $5,48 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , **c)** HB3  $5,84 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e (3)  $5,51 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , **d)** HB4  $1,56 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e (4)  $5,94 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , **e)** HB5  $1,60 \times 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e (5)  $6,16 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e **f)** HB6  $7,85 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e (6)  $5,32 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

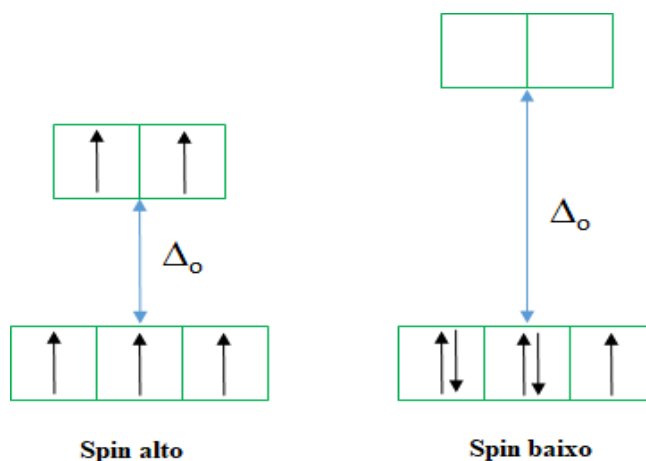
Figura 59 - Cor verde dos complexos (série 1).



Fonte: Da autora.

O íon Ru(III) em um campo octaédrico, pode apresentar duas configurações eletrônicas:  $t_{2g}^3 e_g^2$  (spin alto) ou  $t_{2g}^5$  (spin baixo) (Figura 60). Levando em consideração a alta carga do íon metálico, o caráter doador e aceptor dos ligantes envolvidos, os elevados valores de absorvidade molar (da ordem de  $10^3$  a  $10^4$  L·mol<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>) associados às bandas de UV-vis nos espectros de (1-6) e outros trabalhos de complexos de Ru(III) (EJIDIKE; AJIBADE, 2015, 2016), sugere-se que as transições mais prováveis sejam transferências de carga ligante metal (TCLM), onde a configuração eletrônica do íon Ru(III) seria  $(t_{2g})^5$  e ocorreriam transições do tipo  $L_{\pi} \rightarrow t_{2g}$  que destacam-se em regiões de baixa energia.

Figura 60 - Representação dos orbitais d em um campo octaédrico para a configuração eletrônica  $d^5$ .



Fonte: Da autora.

Enfatiza-se ainda que as bandas referentes às transições d-d não foram visualizadas nos espectros de UV-vis, possivelmente por apresentarem pequenos valores de absorvidade molar (da ordem de 20 L·mol<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup> ou menores)

(MIESSLER; FISCHER; TARR, 2014) e estarem suprimidas por bandas correspondentes às transferências de carga.

Na Tabela 6 estão reunidos os comprimentos de onda de absorção ( $\lambda$ ), absorbâncias (Abs), coeficientes de absortividade molar ( $\epsilon$ ) para o precursor, ligantes e novos complexos, bem como as atribuições para as bandas observadas na Figura 58.

Tabela 6 - Coeficientes de absortividade molar ( $\epsilon$ ) e atribuições das bandas (série 1).

(continua)

Com- postos	$\lambda$ (nm)(Abs*)	$\epsilon$ (L·mol <sup>-1</sup> ·cm <sup>-1</sup> )	Transições eletrônicas
	260 (0,8392)	24.902	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ (dppb)
<i>mer</i>	355 (0,0754)	2.237	TCLM (dppb) $\rightarrow d\pi$ Ru(III)
	416 (0,0584)	1.733	TCLM $p\pi$ (O) $\rightarrow d\pi$ Ru(III)
	538 (0,0714)	2.119	TCLM $p\pi$ (Cl) $\rightarrow d\pi$ Ru(III)
HB1	290 (0,9925)	9.925	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
	328 (0,6891)	6.891	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
	297 (1,0874)	12.329	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ e TCLM
(1)	346 (0,5750)	6.520	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ e TCLM
	682 (0,2415)	2.738	TCLM
HB2	288 (1,061)	19.220	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
	328 (0,6967)	12.620	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
	296 (1,1593)	21.138	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ e TCLM
(2)	353 (0,6072)	11.072	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ e TCLM
	680 (0,2612)	4.763	TCLM
HB3	288 (0,7392)	12.658	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
	355 (1,1827)	20.252	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
	302 (1,1933)	21.671	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ e TCLM
(3)	368 (1,2510)	22.719	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ e TCLM
	472 (0,1821)	ombro	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ e TCLM
	674 (0,1943)	3.529	TCLM

Tabela 6 - Coeficientes de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) e atribuições das bandas (série 1).

(conclusão)			
Com- postos	$\lambda$ (nm)(Abs*)	$\epsilon$ (L·mol <sup>-1</sup> ·cm <sup>-1</sup> )	Transições eletrônicas
(4)	HB4	298 (0,9075)	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
		351 (1,2739)	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
		302 (0,9144)	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ e TCLM
		370 (0,8161)	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ e TCLM
		481 (0,1555)	ombro TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ e TCLM
		671 (0,1903)	TCLM
(5)	HB5	284 (1,0120)	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
		326 (0,6237)	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
		293 (0,9826)	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ e TCLM
		352 (0,4594)	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ e TCLM
		654 (0,1915)	TCLM
(6)	HB6	287 (1,0201)	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
		328 (0,7044)	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
		295 (1,1269)	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ e TCLM
		348 (0,6149)	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ e TCLM
		658 (0,1939)	TCLM

Fonte: Da autora.

Utilizando-se dos cálculos computacionais é possível ainda prever e classificar as transições eletrônicas de uma forma mais aprofundada, levando em consideração a complexidade das interações metal-ligante, bem como a mistura dos orbitais, denominando-as como transferências de carga: metal/metal-ligante (TCMML), ligante-metal/metal (TCLMM), metal-ligante/ligante (TCMLL), ligante-metal/ligante (TCLML) e metal/ligante-metal/ligante (TCMLML) (MISHRA; MISHRA, 2018).

Desta forma, embasado nos cálculos TD-DFT, os resultados apontaram que as bandas na região entre 296-370 nm resultam de dois tipos de transferências (TCLML e TCMLML), podendo também dispor de uma grande contribuição de TCIL das HB,  $\pi_{HB} \rightarrow \pi_{HB}^*$ . As bandas de ampla absorção entre 550 e 850 nm são atribuídas principalmente às TCLML, com uma ligeira contribuição de TCMLML na região

superior a 800 nm. Uma descrição mais detalhada obtida por meio dos cálculos computacionais descrevem os orbitais envolvidos e encontram-se reunidos nos Apêndices B-G.

### 5.1.3 Condutimetria

Os valores de condutividade molar indicam o grau de ionização dos complexos em solução, de modo que quanto maior a quantidade de íons liberados pelo composto maior será sua condutividade molar e vice-versa, indicando portanto se um ânion encontra-se ausente, dentro ou fora da esfera de coordenação (REFAT *et al.*, 2013).

Devido à importância e praticidade da técnica, os complexos sintetizados tiveram suas medidas de condutividade molar adquiridas após solubilização em diclorometano (Tabela 7).

Tabela 7 - Condutividade molar dos complexos (série 1).

<b>Complexos</b>	<b>Condutividade Molar</b> <b>ohm<sup>-1</sup>cm<sup>2</sup>mol<sup>-1</sup> (T °C)</b>
(1)	0,69 (24,2)
(2)	0,19 (24,2)
(3)	0,34 (23,5)
(4)	0,29 (24,1)
(5)	0,33 (24,5)
(6)	0,18 (22,9)

Fonte: Da autora.

Nota: Faixa de condutividade molar em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: complexo neutro < 12 ohm<sup>-1</sup>cm<sup>2</sup>mol<sup>-1</sup>, 1:1 12-77 ohm<sup>-1</sup>cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>.

Os resultados obtidos indicaram eletrólitos neutros, uma vez que a condutividade molar manteve-se abaixo de 12 ohm<sup>-1</sup>cm<sup>2</sup>mol<sup>-1</sup> (faixa do CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = complexo neutro < 12 ohm<sup>-1</sup>cm<sup>2</sup>mol<sup>-1</sup>) (GEARY, 1971), sugerindo portanto a coordenação das HB na forma aniônica, devido a desprotonação da hidroxila do grupo fenólico.

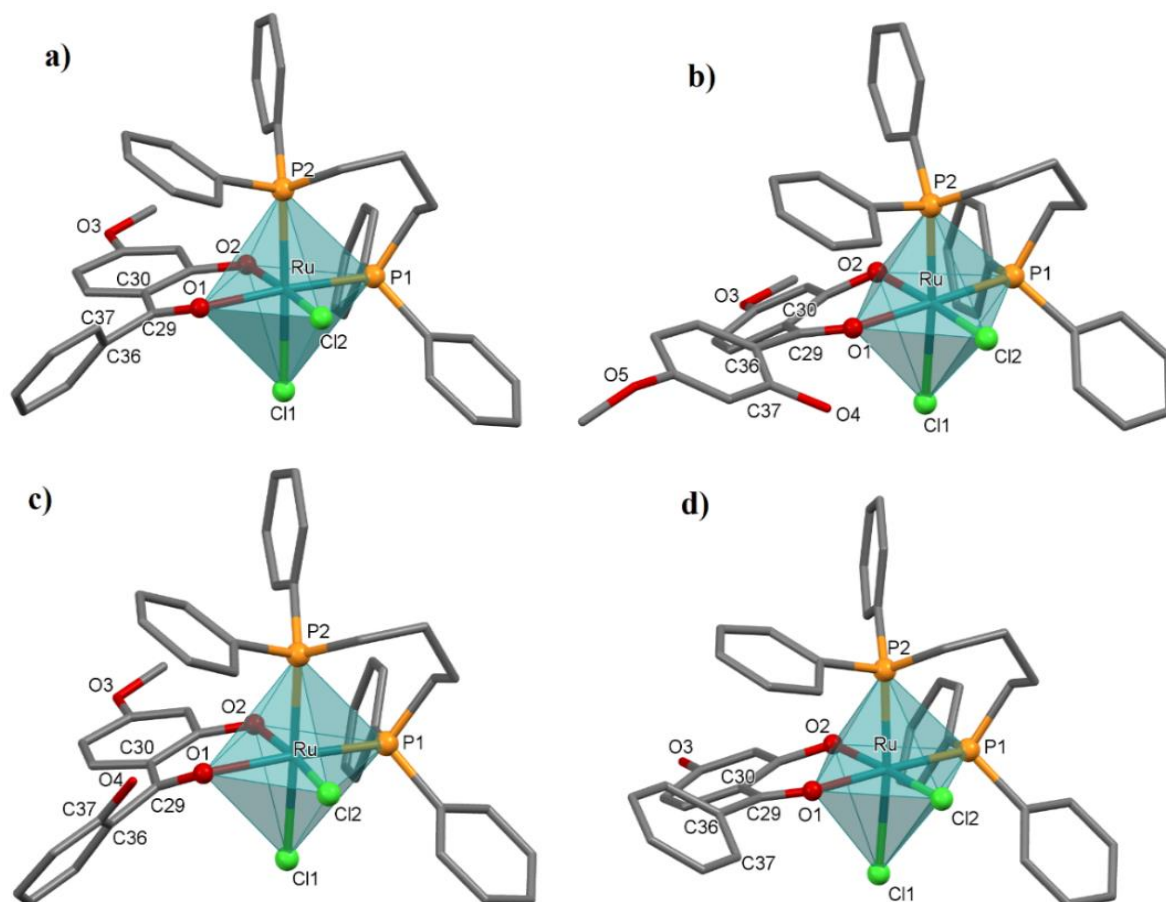
### 5.1.4 Difração de Raios X por monocristal (DRXM)

A obtenção de monocristais dos complexos (2), (3), (4) e (5) permitiu a aplicação da presente técnica e determinação das estruturas, as quais encontram-se representadas na Figura 61 e demonstraram que o cátion Ru(III) encontra-se em um ambiente hexacoordenado apresentando uma geometria octaédrica levemente distorcida.

A esfera de coordenação dos complexos é composta por dois átomos de cloro em posição *cis*, dois átomos de fósforo da dppb e os ligantes HB coordenados de forma bidentada por meio dos átomos de oxigênio.

Os principais dados cristalográficos, de coleta e refinamento estão reunidos na Tabela 8, sendo possível observar que todas estruturas cristalizaram-se em grupos espaciais centrossimétricos.

Figura 61 - Representações estruturais da unidade assimétrica dos complexos: **a)** (2), **b)** (3), **c)** (4) e **d)** (5) com poliedros demonstrando geometria octaédrica distorcida ao redor do cátion Ru(III).



Fonte: software MERCURY (versão 4.2.0), MACRAE *et al.* (2008) para as representações gráficas.

Nota: Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.

**Tabela 8** – Principais dados cristalográficos dos complexos: **a**) (2), **b**) (3), **c**) (4) e **d**) (5).

	(continua)			
<b>Complexo</b>	<b>(2)</b>	<b>(3)</b>	<b>(4)</b>	<b>(5)</b>
Fórmula empírica	$C_{42}H_{39}Cl_2O_3P_2$	$C_{43}H_{41}Cl_2O_5P_2$	$C_{42}H_{39}Cl_2O_4P_2$	$C_{41}H_{37}Cl_2O_3P_2$
Peso molecular (g/mol)	825,64	871,67	825,64	811,62
Temperatura (K)	296	296	296	296
$\lambda$ (Å)	0,71073	0,71073	0,71073	1,54178
Sistema Cristalino	<i>Ortorrômbico</i>	<i>Monoclínico</i>	<i>Ortorrômbico</i>	<i>Monoclínico</i>
Grupo Espacial	Pbca	C2/c	Pbca	C2/c
Parâmetros de célula (Å)	a = 14,965(5) b = 20,980(6) c = 23,6937(8)	a = 41,380(5) b = 10,222(9) c = 19,164(15)	a = 15,043(11) b = 20,453(9) c = 24,108(10)	a = 25,485(7) b = 22,425(7) c = 17,599(5)
(°)	$\beta = 90$	$\beta = 102,57(7)$	$\beta = 90$	$\beta = 124,34(2)$
Volume(Å <sup>3</sup> )	7439,6(4)	7912 (1)	7418,1(7)	8304,49(4)
Z	8	8	8	8
Densidade (Mg.m <sup>-3</sup> )	1,474	1,464	1,507	1,298
Coeficiente de absorção (mm <sup>-1</sup> )	0,690	0,657	0,692	5,237
F(000)	3384	3576	3448	3320
Intervalo $\theta$ da coleta	1,879 a 25,413	2,055 a 25,422	2,612 a 25,994	2,880 a 68,382

**Tabela 8** – Principais dados cristalográficos dos complexos: **a) (2)**, **b) (3)**, **c) (4)** e **d) (5)**.

<b>Complexo</b>	<b>(conclusão)</b>			
	<b>(2)</b>	<b>(3)</b>	<b>(4)</b>	<b>(5)</b>
Limite de índices	$-14 \leq h \leq 18$	$-28 \leq h \leq 49$	$-16 \leq h \leq 18$	$-30 \leq h \leq 29$
	$-25 \leq k \leq 20$	$-12 \leq k \leq 12$	$-25 \leq k \leq 25$	$-26 \leq k \leq 26$
	$-28 \leq l \leq 26$	$-22 \leq l \leq 22$	$-29 \leq l \leq 29$	$-21 \leq l \leq 19$
Reflexões coletadas/Reflexões independentes	22133/ 6815 [R(int) = 0,0535]	19249/ 7187 [R(int) = 0,0869]	74772/ 7286 [R(int) = 0,1166]	20886/ 7216 [R(int) = 0,0966]
Completeza de $\theta$ (%)	99,8	98,4	99,9	96,7
Método de refinamento	Mínimos quadrados de matriz completa	Mínimos quadrados de matriz completa	Mínimos quadrados de matriz completa	Mínimos quadrados de matriz completa
Dados / restrições / parâmetros	6815 / 0 / 452	7187 / 539 / 480	7286/ 0 /462	7216 / 0 / 468
GooF	1,018	0,938	1,090	1,032
Índices R final[ $I > 2\sigma(I)$ ]	R1 = 0,0403, wR2 = 0,0873	R1 = 0,0675, wR2 = 0,653	R1 = 0,0567, wR2 = 0,0941	R1 = 0,0567, wR2 = 0,1475
Índices R (todos os dados)	R1 = 0,0653, wR2 = 0,0992	R1 = 0,1760, wR2 = 0,2206	R1 = 0,1062, wR2 = 0,1209	R1 = 0,0648, wR2 = 0,1551

Fonte: Da autora.

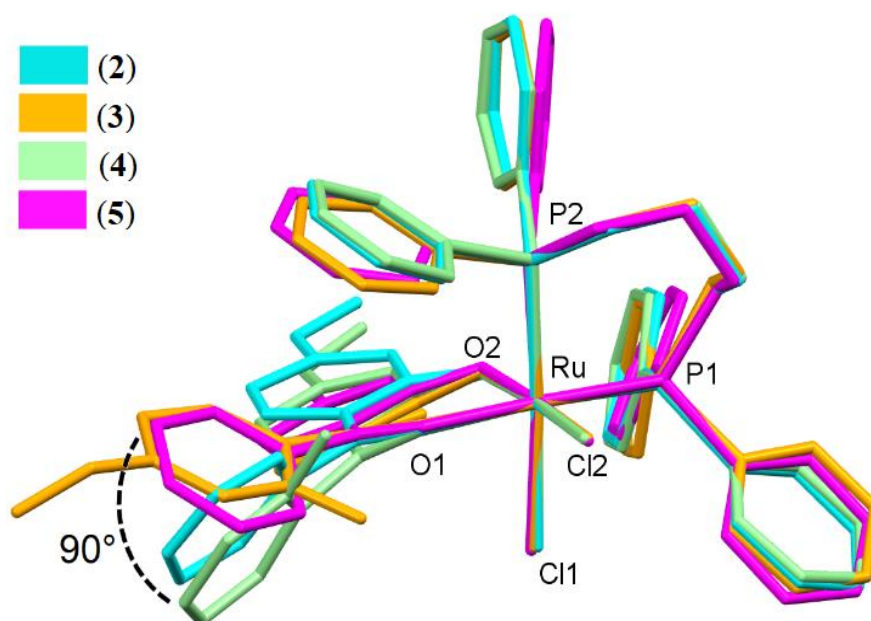
Torna-se importante mencionar que os átomos de oxigênio O1 e O2 das HB encontram-se *trans* aos átomos P1 e Cl2, respectivamente, fazendo com que estas estruturas cristalinas compreendam o primeiro relato de complexos obtidos a partir do

precursor *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)] com ligantes bidentados em uma geometria *cis* e com um centro metálico de Ru(III).

Na literatura há um único exemplo de um complexo de Ru(III) com os ligantes dicloro/ dppb/ lapachol (Apêndice H), no qual os átomos de cloro estão posicionados *trans* (BARBOSA *et al.*, 2014b). Ademais, **(2-5)** se juntam a apenas duas outras estruturas de Ru-benzofenonas (Apêndice I) conhecidas até o momento: dicloro-((5-cloro-2-(hidroxi)-4-metilfenil)-(fenil)metanoato)-bis(trifenilfosfina)-rutênio(III) (RAJA; RAMESH; LIU, 2012) e cloro-( $\eta^6$ -cimeno)-(2-(óxido(fenil)metilfenolato-O,O')-rutênio(II) (HABTEMARIAM *et al.*, 2006).

A sobreposição de **(2-5)** evidenciou a similaridade da geometria intramolecular das estruturas, principalmente das unidades dppb e cloro, conforme representado na Figura 62.

Figura 62 - Sobreposição das estruturas **(2-5)** selecionando os cátions Ru(III) e os seis átomos homólogos na esfera de coordenação.



Fonte: software MERCURY (versão 4.2.0) MACRAE *et al.* (2008).

Nota: Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.

Entretanto, ao comparar os respectivos ligantes HB notou-se diferenças significativas demonstradas pelos ângulos de torção formados entre os átomos C30-C29-C36-C37: -139,0° (4) **(2)**, 144,7° (9) **(3)**, -147,8° (6) **(4)** e 138,2° (5) **(5)**. Portanto, a principal diferença consiste nos anéis aromáticos não coordenados das HB que

rotacionam aproximadamente 90° em torno das ligações C29-C36 quando (2) ou (4) são comparados com (3) ou (5).

Os comprimentos das ligações homólogas em (2-5) são semelhantes e encontram-se reunidos na Tabela 9.

Tabela 9 - Principais comprimentos de ligações (Å) e ângulos (°) dos complexos (2-5).

Ligações	(2)	(3)	(4)	(5)
Ru-P1	2,295(1)	2,297(2)	2,292(1)	2,317(1)
Ru-P2	<b>2,393(1)</b>	2,385(3)	<b>2,393(1)</b>	2,362(1)
Ru—Cl1	2,375(1)	<b>2,387(2)</b>	2,379(2)	<b>2,448(1)</b>
Ru—Cl2	2,352(1)	2,335(2)	2,350(2)	2,348(2)
Ru—O1	2,121(2)	2,114(6)	2,135(4)	2,094(3)
Ru—O2	<b>1,964(2)</b>	<b>1,955(5)</b>	<b>1,969(4)</b>	<b>1,966(4)</b>
C29—O1	1,250(4)	1,29(1)	1,265(7)	1,248(7)
C31—O2	1,315(4)	1,297(9)	1,305(7)	1,313(5)
C33—O3	-	-	-	1,335(6)
C37—O4	-	1,38(1)	1,350(8)	-
P1—Ru—P2	94,28(4)	93,00(8)	93,37(5)	92,18(5)
P1—Ru—Cl1	89,08(4)	92,58(9)	89,25(6)	93,19(5)
P1—Ru—Cl2	<b>98,06(4)</b>	<b>97,34(9)</b>	<b>98,87(6)</b>	<b>94,89(5)</b>
P1—Ru—O2	87,71(7)	89,7(2)	88,0(1)	91,5(1)
P2—Ru—Cl2	85,68(3)	86,62(9)	85,50(5)	89,65(5)
P2—Ru—O1	91,66(7)	89,6(2)	93,0(1)	90,41(1)
P2—Ru—O2	93,17(7)	91,0(2)	94,1(1)	88,3(1)
Cl1—Ru—Cl2	91,26(4)	92,59(9)	91,58(6)	91,84(5)
Cl1—Ru—O1	<b>85,19(7)</b>	<b>84,8(2)</b>	<b>84,7(1)</b>	<b>84,20(9)</b>
Cl1—Ru—O2	89,58(7)	89,1(2)	88,6(1)	89,6(1)
Cl2—Ru—O1	86,49(7)	87,4(2)	86,5(1)	85,92(9)
O1—Ru—O2	87,85(9)	85,6(2)	86,6(2)	87,8(1)

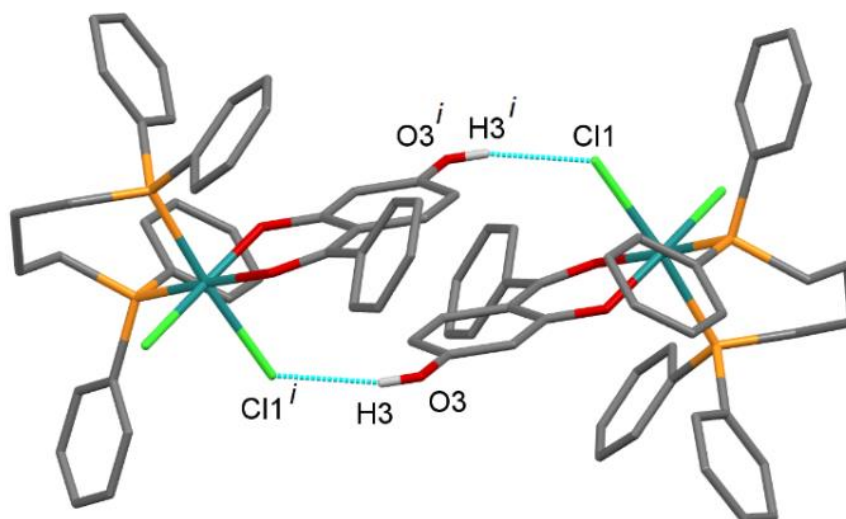
Fonte: software Mercury (versão 4.2.0) MACRAE *et al.* (2008).

Como esperado, as ligações Ru-P2 (*trans* para o átomo Cl1) apresentam maiores comprimentos (~ 0,1 Å) do que Ru-P1 (*trans* para o átomo O1), devido aos

efeitos *trans* dos átomos de fósforo. A diferença também pode ser justificada pelo maior caráter  $\sigma$  doador do átomo de cloro em relação ao oxigênio do grupo carbonila.

Da mesma forma, as ligações Ru-Cl1 (*trans* para átomo P2) são ligeiramente mais longas ( $<0,05 \text{ \AA}$ ) do que Ru-Cl2 (*trans* para átomo O2), devido ao efeito *trans* exercido pelos átomos de cloro. Para o complexo (5), a diferença é significativamente superior ( $\sim 0,1 \text{ \AA}$ ), podendo ser atribuída a um efeito extra envolvendo a ligação de hidrogênio intermolecular O3-H3 ... Cl1, que retira a densidade eletrônica da ligação Ru-Cl1 (Figura 63).

Figura 63 - Dímero constituído por ligações de hidrogênio intermolecular entre as moléculas de (5).



Fonte: software MERCURY (versão 4.2.0) MACRAE *et al.* (2008).

Nota: Os átomos de hidrogênio (exceto o átomo de hidrogênio do grupo hidroxila) foram omitidos para maior clareza.

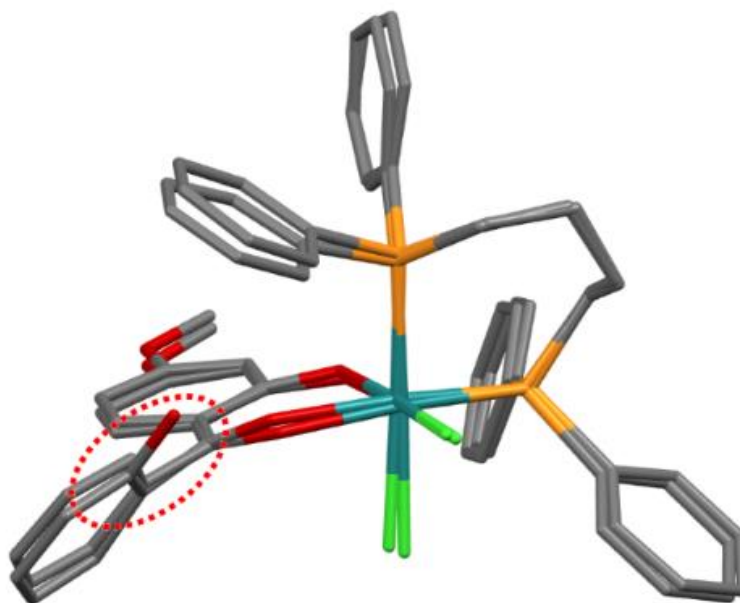
O efeito *trans* exercido pelos átomos de fósforo para O1 vs cloro para O2 também contribui para a diferença observada nos comprimentos das ligações Ru-oxigênio, uma vez que as ligações Ru-O1 (metal-carbonila) são mais longas ( $\sim 0,15 \text{ \AA}$ ) do que Ru-O2 (metal-fenolato) (BARBOSA *et al.*, 2014b; RAJA; RAMESH; LIU, 2012).

Finalmente, as ligações C31-O2 são mais longas do que as ligações C29-O1, confirmando o caráter de ligação simples e dupla, respectivamente. As distâncias C29-O1 e C31-O2 após a coordenação demonstraram o mesmo comportamento dos ligantes isolados, indicando a região ressonante da molécula (DORIGUETTO *et al.*, 2007; MARTINS *et al.*, 2009). Os ângulos P1-Ru-Cl2 e Cl1-Ru-O1 (Tabela 11)

correspondem aos maiores ( $\sim 97^\circ$ ) e menores ( $\sim 85^\circ$ ) desvios ortogonais, respectivamente, apontando uma geometria octaédrica levemente distorcida.

Observa-se que (2) e (4) são isoestruturais (DIAS *et al.*, 2018; GONÇALVES *et al.*, 2017; ROSA *et al.*, 2016). Além de apresentarem geometria intramolecular equivalentes, levando em consideração os átomos homólogos (Figura 64), cristalizaram no mesmo grupo espacial (Pbca), têm parâmetros de cela unitária e unidade assimétrica (coordenadas fracionárias dos átomos) comparáveis (Tabela 8) e conseqüentemente demonstram empacotamento cristalino semelhante (Figura 65). Portanto, a hidroxila extra em (4) não foi um fator determinante para se mudar o empacotamento cristalino.

Figura 64 - Sobreposição dos cristais isoestruturais (2) e (4) considerando átomos homólogos.

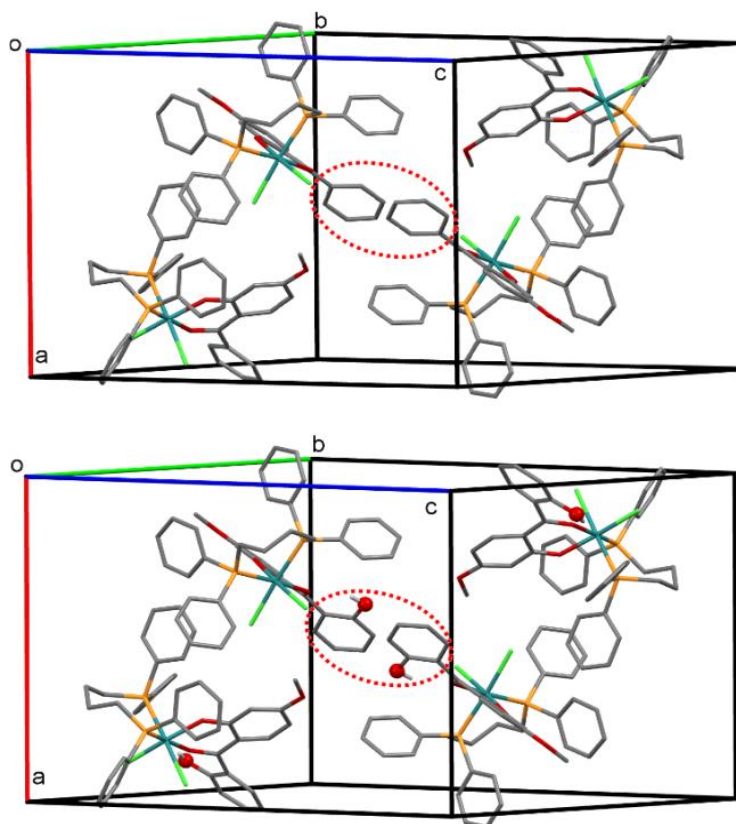


Fonte: software MERCURY (versão 4.2.0) MACRAE *et al.* (2008).

Nota: Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.

Do ponto de vista supramolecular, observou-se que a força intermolecular mais forte estabilizando o empacotamento cristalino de (2) e (4) foi uma ligação de hidrogênio não clássica envolvendo os átomos de carbono C27 (doador) e oxigênio O3 do grupo metoxila (receptor) ( $D \dots H = 0,93 \text{ \AA}$ ,  $D \dots A = 3,201 (5) \text{ \AA}$ ,  $H \dots A = 2,456 \text{ \AA}$ ,  $\angle DH \dots A = 137,2^\circ$ ), conforme representado na Figura 66.

Figura 65 - Empacotamento cristalino parcial de **(2)** (superior) e **(4)** (inferior) em seus respectivos planos [0 1 -1] destacando o isotopismo estrutural.

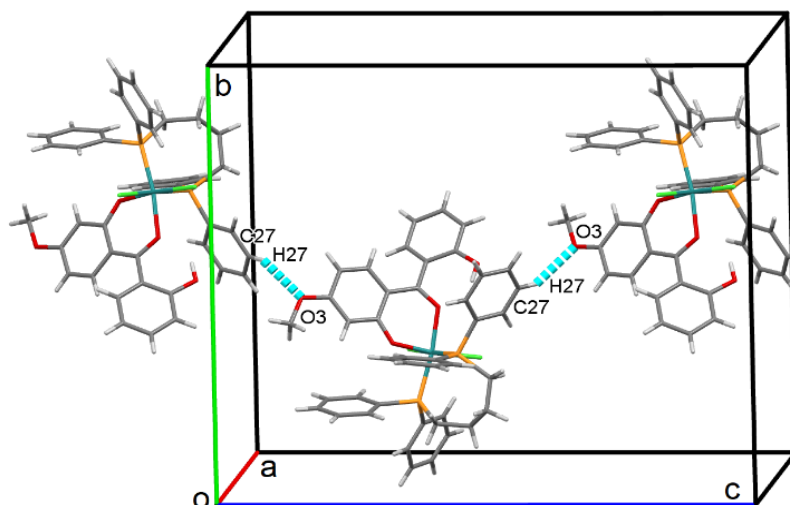


Fonte: software MERCURY (versão 4.2.0) MACRAE *et al.* (2008).

Nota: Os círculos pontilhados vermelhos destacam a diferença molecular. Os átomos de hidrogênio (exceto para o átomo de hidrogênio do grupo hidroxila) foram omitidos por uma questão de clareza.

A estrutura **(5)** (Figura 63) forma um sinton supramolecular contendo um dímero centrossimétrico estabilizado por ligações de hidrogênio intermoleculares. O grupo hidroxila extra em **(5)** (O3) atua como um doador de ligação de hidrogênio para o átomo Cl1 ( $D \dots H = 0,82 (3) \text{ \AA}$ ,  $D \dots A = 3,115 (3) \text{ \AA}$ ,  $H \dots A = 2,30 (3) \text{ \AA}$ ,  $DH \dots A = 174 (3)^\circ$ , código de simetria =  $1,5-x, 1,5-y, 1-z$ ) resultando em um motivo gráfico de representação de ligações de hidrogênio do tipo  $R_2^2 (20)$ . O empacotamento cristalino de **(5)** ao longo do plano  $ac$  (Figura 67) destaca as vacâncias contínuas ao longo da direção  $[101]$  e os procedimentos de refinamento da estrutura apontaram que estas, provavelmente, encontram-se preenchidas por moléculas de água desordenadas.

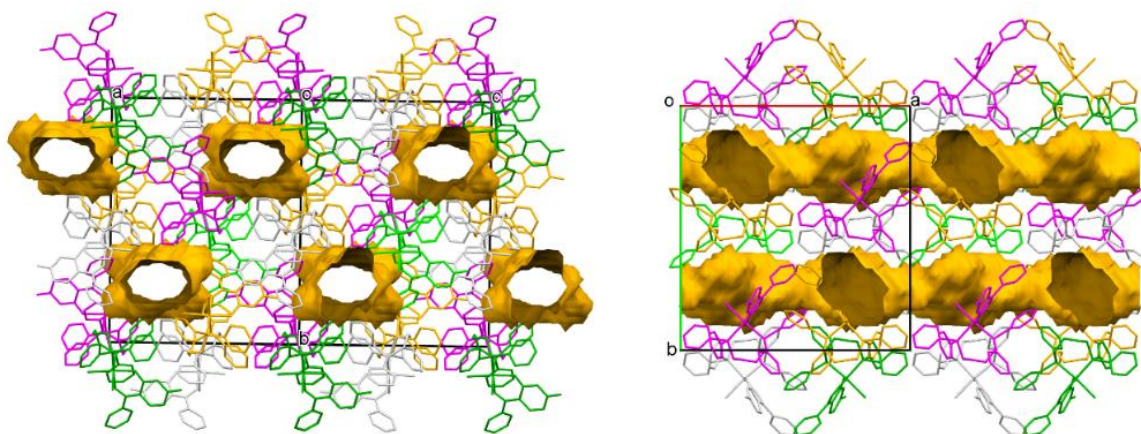
Figura 66 - Empacotamento cristalino parcial de (4) mostrando a cadeia supramolecular estabilizada por ligações de hidrogênio não clássicas ao longo do eixo c da célula unitária.



Fonte: software MERCURY (versão 4.2.0) MACRAE *et al.* (2008).

Nota: As linhas azuis tracejadas representam as ligações de hidrogênio.

Figura 67 - Empacotamento cristalino de (3) (direita) e (5) (esquerda) visto ao longo das direções (101) (esquerda) e (110) (direita) mostrando as vacâncias (em laranja) calculadas pelo software Mercury.



Fonte: software MERCURY (versão 4.2.0) MACRAE *et al.*, (2008).

Nota: Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.

Portanto, a estrutura determinada de (5) pode ser classificada como um hidrato de canal. O empacotamento cristalino de (3) também gera vacâncias semelhantes a canais (ao longo do eixo *b* de sua cela unitária) ocupados possivelmente por moléculas de água desordenadas. Os canais de solvente observados para (3) e (5)

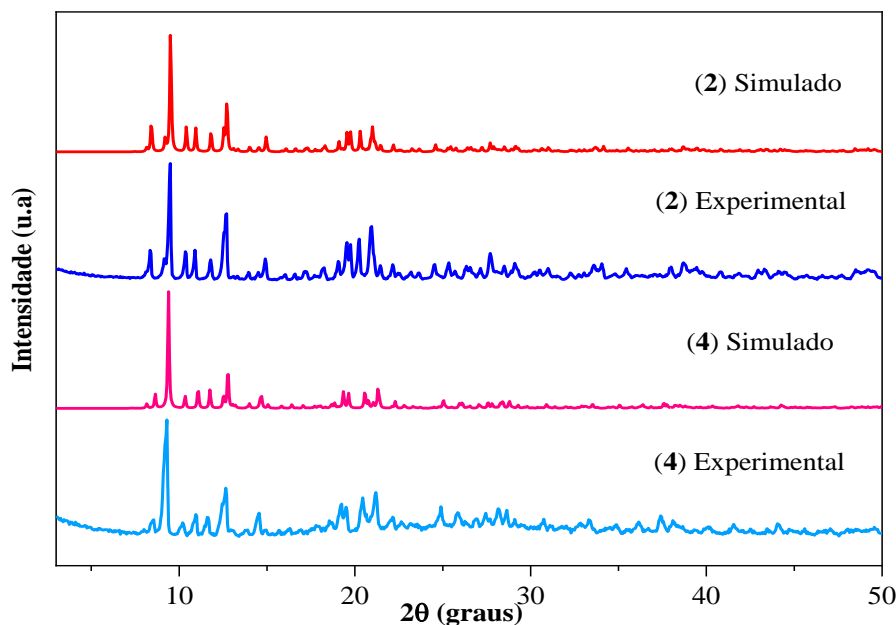
contribuem para a estabilização de toda a rede cristalina, característica comum em complexos metálicos (DÍAZ-TORRES; ALVAREZ, 2011).

### 5.1.5 Difração de Raios X por policristais (DRXP)

Neste trabalho, todas formas sólidas dos complexos foram analisadas por DRXP, de forma que os compostos cujas estruturas foram elucidadas por DRXM (2-5) tiveram seus difratogramas experimental e simulado comparados, a fim de confirmar a presença de uma única fase cristalina.

Os difratogramas experimental e simulado dos complexos (2) e (4) (Figura 68) apresentaram boa concordância entre os perfis, sendo notável a presença dos principais picos previstos pela estrutura determinada por monocristal e ausência de picos espúrios indicando, portanto, que o *bulk* policristalino é constituído por uma única fase cristalina. A similaridade dos padrões de (2) e (4) deve-se ao fato de serem isoestruturais conforme discutido anteriormente.

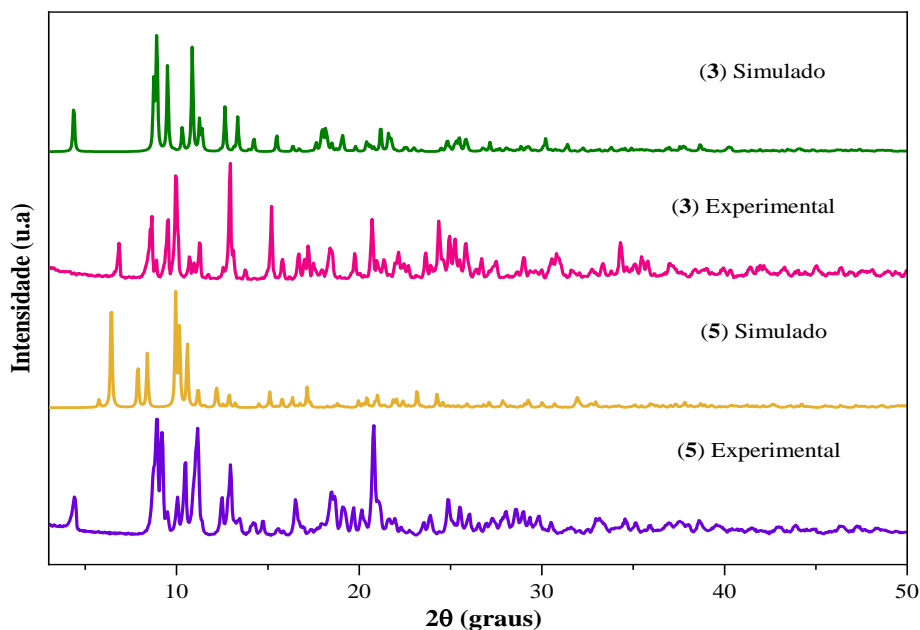
Figura 68 - Difratogramas simulado e experimental dos complexos (2) e (4).



Fonte: Da autora.

Em contraposição, os difratogramas experimental dos complexos (3) e (5) não mostraram concordância dos picos com os dados simulados a partir das estruturas determinadas por DRXM, conforme representado na Figura 69.

Figura 69 - Difratogramas simulado e experimental dos complexos (3) e (5).



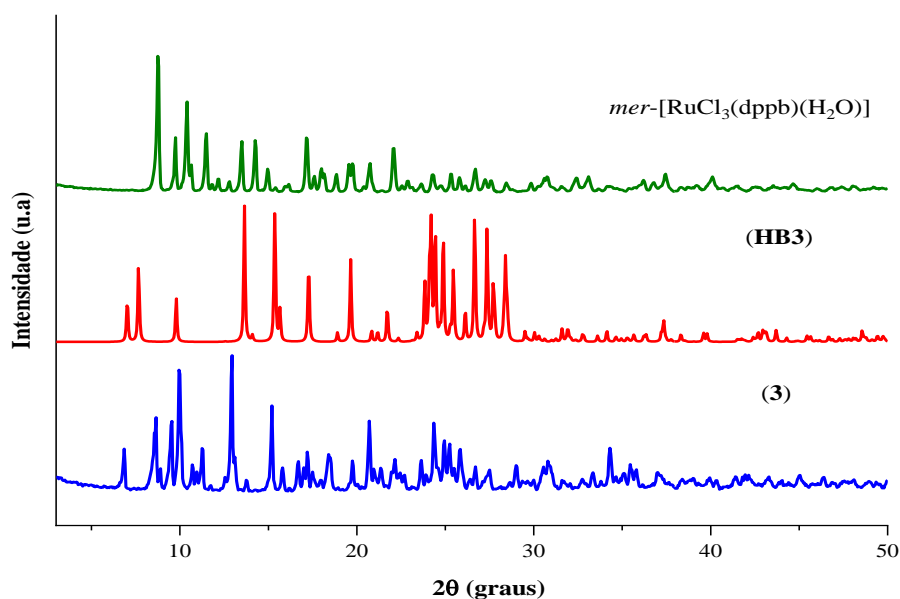
Fonte: Da autora.

A princípio, estes resultados foram comparados com os difratogramas dos respectivos ligantes (HB3 e HB5) e do complexo precursor (Figuras 70 e 71), a fim de se observar resquícios dos reagentes de partida ou novas fases cristalinas. A análise demonstrou que os picos não correspondem às fases das HB ou do *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)] sugerindo, portanto, a formação de novas fases cristalinas.

Uma vez que as outras técnicas de caracterização empregadas indicaram a identidade de (3) e (5), a diferença entre os resultados obtidos por DRXM e o *bulk* pode estar relacionado a diferentes formas cristalinas solvatada ou dessolvatada/anidra. As moléculas de solventes ao preencherem espaços vacantes na estrutura cristalina podem formar ligações de hidrogênio intermolecular com a molécula hospedeira e assim fornecer maior estabilidade à rede em relação à forma anidra (INFANTES; MOTHERWELL, 2002).

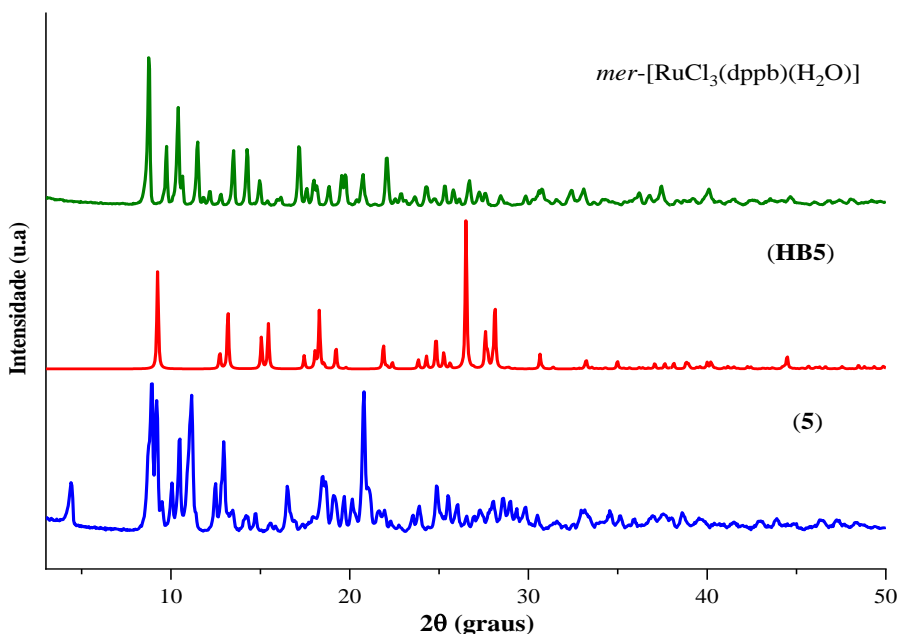
Importante ressaltar, que a presença de solventes no retículo cristalino em complexos é um fato muito comum (DÍAZ-TORRES; ALVAREZ, 2011) e não inviabiliza a utilização destes para testes biológicos, desde que respeitada a identidade e a concentração permitida de alguns solventes orgânicos residuais, uma vez que serão solubilizados e, por conseguinte estes serão liberados conforme descrito na resolução a seguir.

Figura 70 - Difratogramas do precursor  $mer\text{-}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$ , **(HB3)** e **(3)**.



Fonte: Da autora.

Figura 71 - Difratogramas do precursor  $mer\text{-}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$ , **(HB5)** e **(5)**.



Fonte: Da autora.

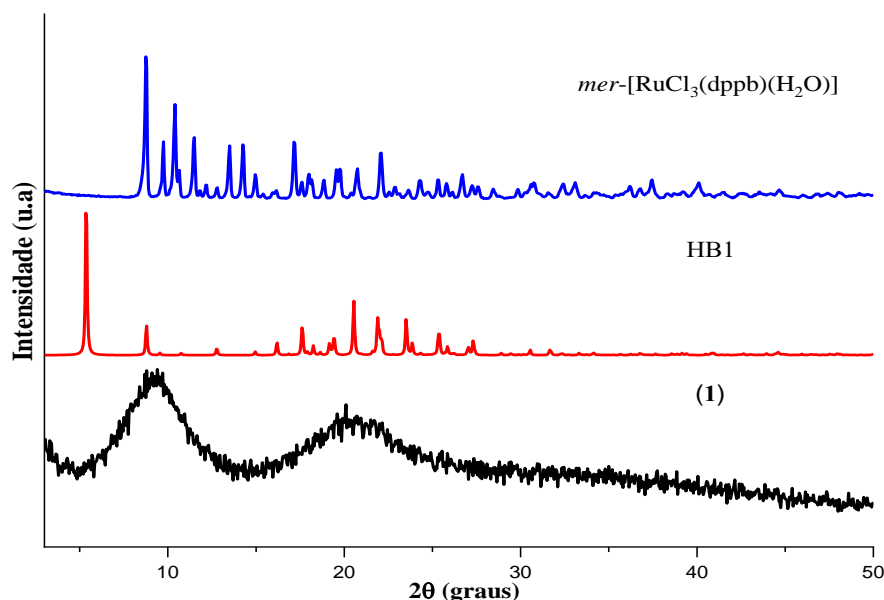
O emprego de solvatos farmacêuticos no desenvolvimento de medicamentos já é abordado com enfoque regulatório, como exposto neste trecho traduzido abaixo, extraído do documento publicado pela Agência Reguladora Europeia (EMA-21 MAY 2015 EMA/CHMP/CVMP/QWP/284008/2015): “Cocristais, hidratos e solvatos são mantidos juntos por interações fracas, que são na maioria dos casos quebradas após

a dissolução. Isto é o mesmo que ocorre com os sais. Assim, no que diz respeito à administração oral, a dissolução de diferentes formas de um fármaco no estômago ou no canal intestinal conduzirá a liberação da mesma substância, independentemente da forma administrada.

A validade da presente suposição é verificada pela demonstração da bioequivalência. Portanto cocristais, hidratos e solvatos podem ser considerados elegíveis para aplicações em medicamentos genéricos, da mesma forma como os sais são (artigo 10 (2)(b) da Diretiva 2001/83/CE e artigo 13 (2)(b) da Diretiva 2001/82/CE) a menos que difira com respeito a segurança e/ou eficácia” (ANVISA, 2017).

Os demais complexos (**1** e **6**), para os quais não foram obtidos cristais para a determinação estrutural, também foram submetidos à análise experimental de DRXP (Figuras 72 e 73) e comparados com seus respectivos ligantes (HB1 e HB6) e precursor, com o propósito de observar fases cristalinas distintas dos reagentes de partida.

Figura 72 - Difratomogramas experimentais do precursor  $mer-[RuCl_3(dppb)(H_2O)]$ , HB1 e complexo (1).

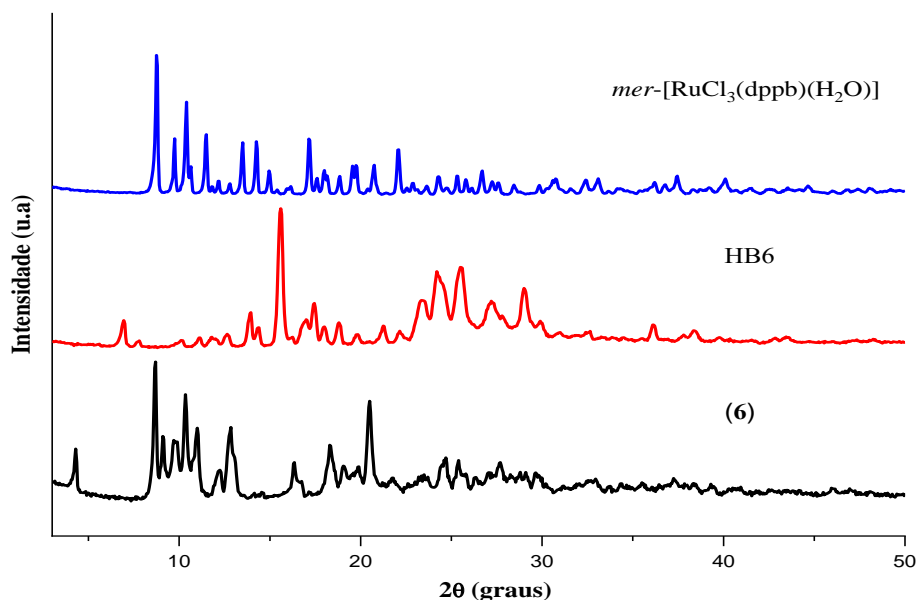


Fonte: Da autora.

O difratograma de (1) (Figura 72) demonstrou a formação de uma amostra amorfa, representada pelo difratograma com dois halos, indicando portanto a perda da ordem de longo alcance na disposição dos átomos (TILLEY, 2014). Importante

mencionar que a forma sólida foi seca antes da análise, a fim de evitar erros operacionais que pudessem favorecer a amorfização.

Figura 73 - Difratogramas experimentais do precursor  $mer\text{-}[\text{RuCl}_3(\text{dppb})(\text{H}_2\text{O})]$ , HB6 e complexo (6).



Fonte: Da autora.

O difratograma do complexo (6) (Figura 73) apresentou picos não coincidentes com as fases cristalinas do precursor ou ligantes, sugerindo portanto que todos os reagentes foram consumidos na síntese e levaram a formação de uma nova fase cristalina, a qual indica um novo composto.

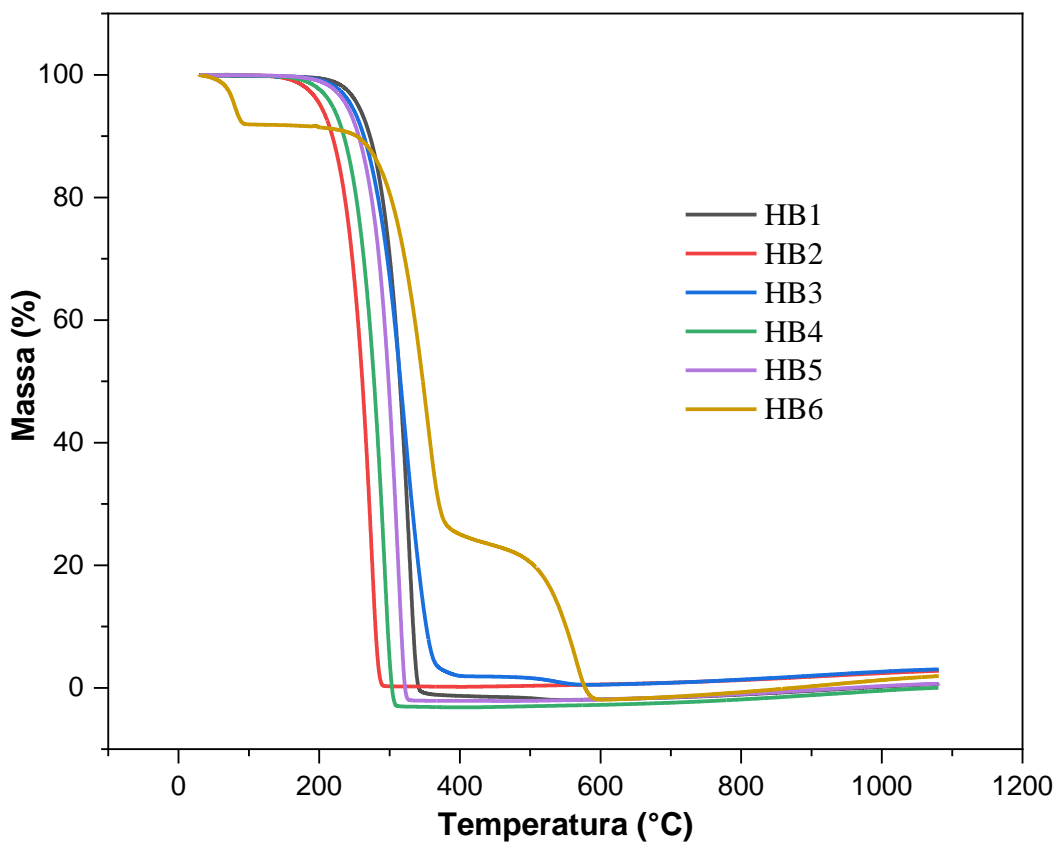
A fim de confirmar se as estruturas (3) e (5) encontravam-se solvatadas ou dessolvatada/anidra foram realizadas análises térmicas (TGA/DTA) das amostras, as quais encontram-se discutidas na seção seguinte.

### 5.1.6 Análises térmicas

A estabilidade térmica dos ligantes HB e seus respectivos complexos (1-6) foram avaliadas por TGA e DTA simultâneas, em atmosfera de ar sintético.

Todos ligantes (HB1-HB6) apresentaram curvas TG (Figura 74) que indicam decomposição total das amostras, sem a formação de massa residual, uma vez que correspondem a substâncias orgânicas submetidas a elevadas temperaturas sob atmosfera oxidante.

Figura 74 - Curvas TG das HB.

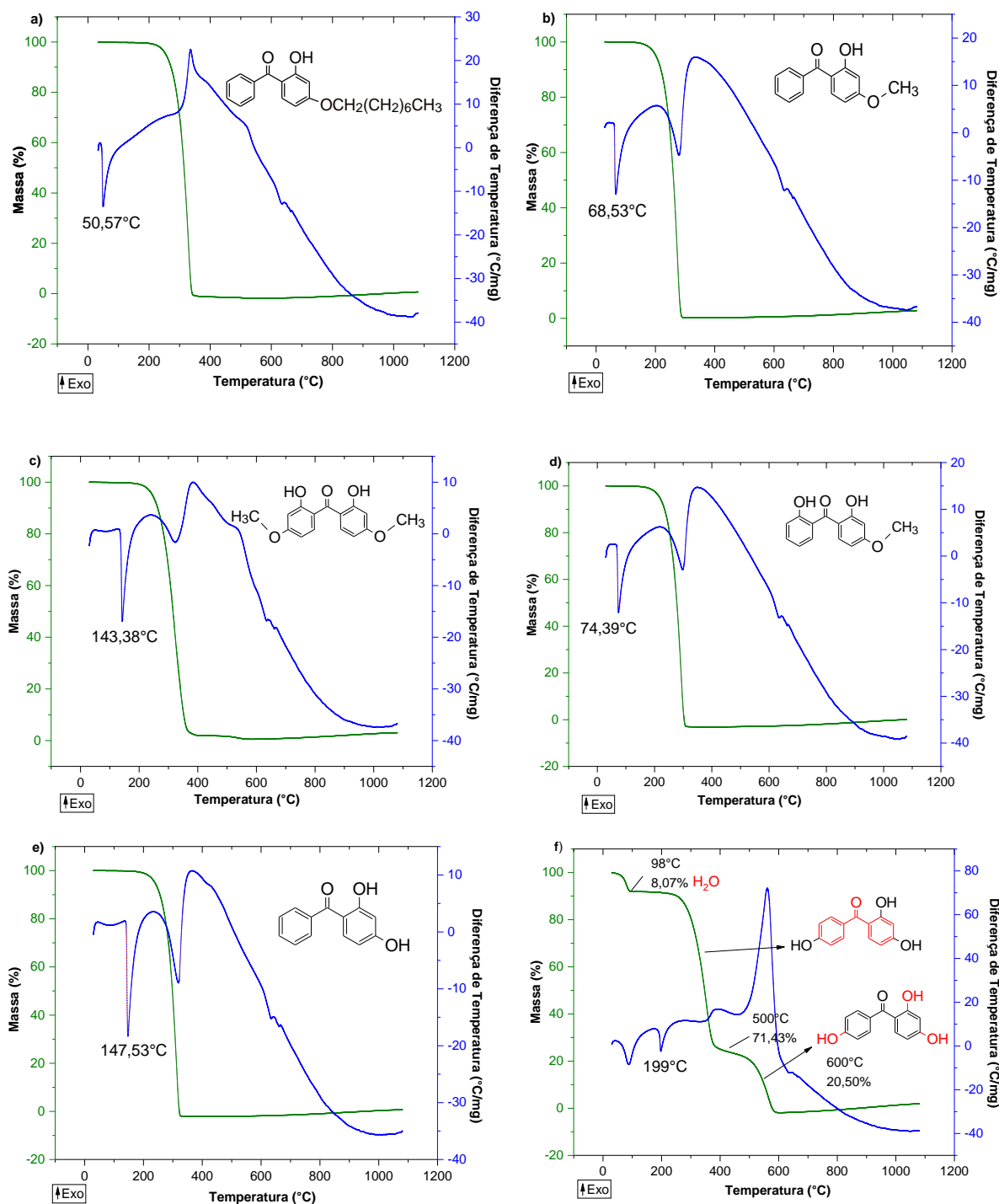


Fonte: Da autora.

HB1-HB5 (Figura 75) apresentaram curvas TG semelhantes com uma única etapa de decomposição, indicando término do evento em aproximadamente 400°C. Distintamente, HB6 demonstrou perfil de decomposição com três eventos. O primeiro deles nas curva TG-DTA corresponde à desidratação (Figura 76-f), compreendendo a faixa de temperatura entre 30-98°C (evento endotérmico com pico em 89°C na curva DTA), correspondente a moléculas de água de cristalização (ROSA *et al.*, 2012), com perda de massa de 8,07% ( $\Delta m$  calculado = -7,25%) equivalente à saída de uma molécula de água. Em seguida, observou-se o segundo evento de decomposição de HB6 entre 255-500°C com perda de massa de 71,43% ( $\Delta m$  calculado = -72,19%) característico do fragmento  $C_{13}H_7O$ .

Por último, a decomposição total do ligante finalizou em 600°C com perda de massa de 20,50% ( $\Delta m$  calculado = 20,55%) compatível às 3 hidroxilas da molécula. Propõe-se aqui a saída na forma radicalar  $OH\cdot$ , semelhante a outros trabalhos que estudaram moléculas fenólicas (MOLDOVEANU, 2019).

Figura 75 - Curvas TG e DTA das HB.



Fonte: Da autora.

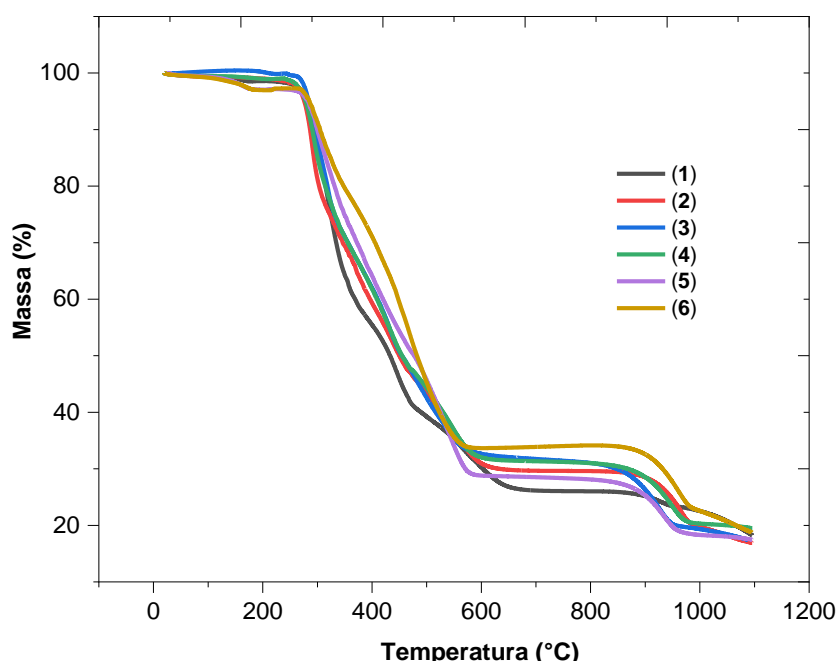
Nas curvas TG/DTA das HB foi possível observar o fenômeno físico de fusão, demonstrado pelo pico endotérmico na curva DTA sem variação de massa na curva TG. As temperaturas de fusão encontram-se indicadas nas curvas DTA e HB6 apresentou a maior temperatura (199 °C), bem como maior estabilidade térmica

(255°C), devido ser a HB com maior número de grupos hidroxilas, fato que permite a formação de um maior número de ligações de hidrogênio intermolecular (HAN *et al.*, 2017).

As curvas TG dos complexos encontram-se reunidas na Figura 76, sendo possível observar mudanças na dinâmica de decomposição quando comparadas com os respectivos ligantes, como por exemplo: aumento do número de eventos e da estabilidade térmica, além da formação de resíduos a elevadas temperaturas, indicando a presença de metais na estrutura.

O início da decomposição dos complexos (1, 2, 3 e 4) ocorreu em aproximadamente 250°C, sendo que estes apresentaram curvas TG semelhantes indicando ausência de solventes nas estruturas, enquanto para (5) e (6) há evidências do início da decomposição a partir de 30°C, com perda de massa compatível à moléculas de água fortemente ligadas a estrutura, devido ao término do evento ocorrer em aproximadamente 200°C (WUDDIVIRA *et al.*, 2012).

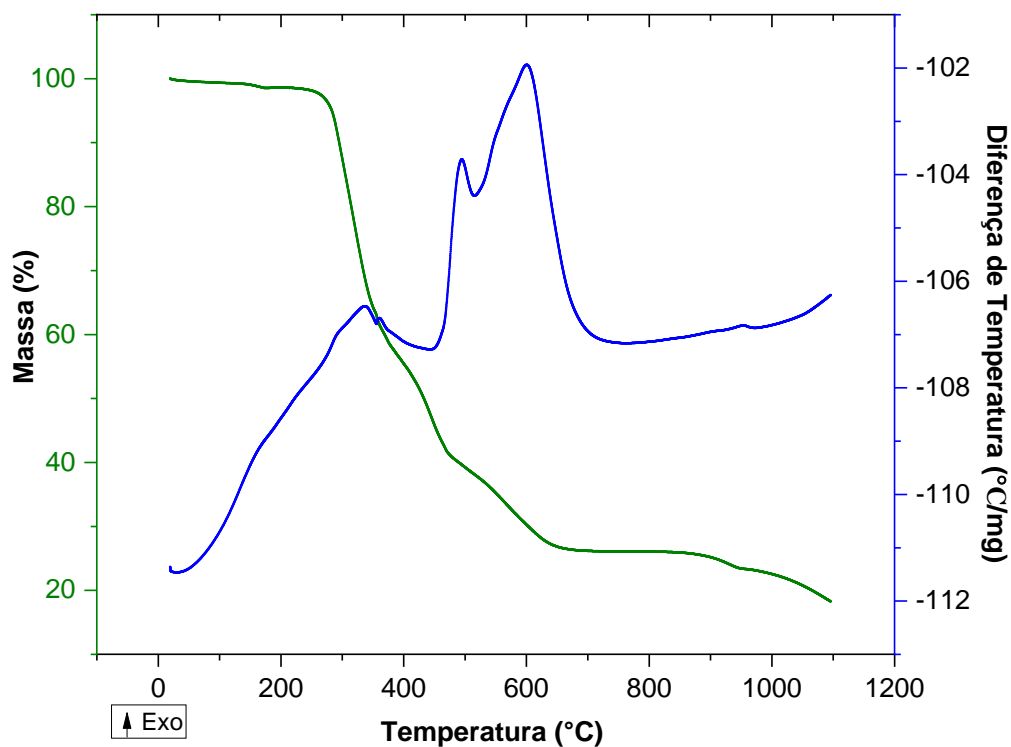
Figura 76 - Curvas TG dos complexos.



Fonte: Da autora.

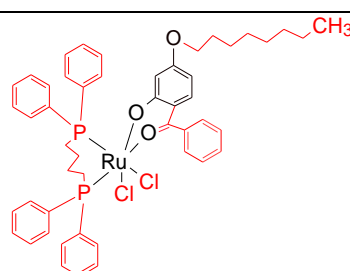
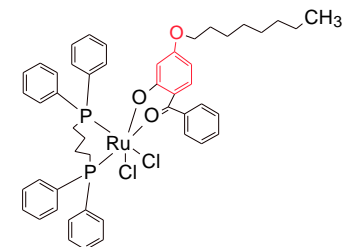
As curvas TG/DTA dos complexos (1-6) estão representadas nas Figuras 77-82 e os dados das análises térmicas, bem como os possíveis fragmentos de decomposição encontram-se reunidos nas Tabelas 10-15.

Figura 77 - Curvas TG e DTA de (1).



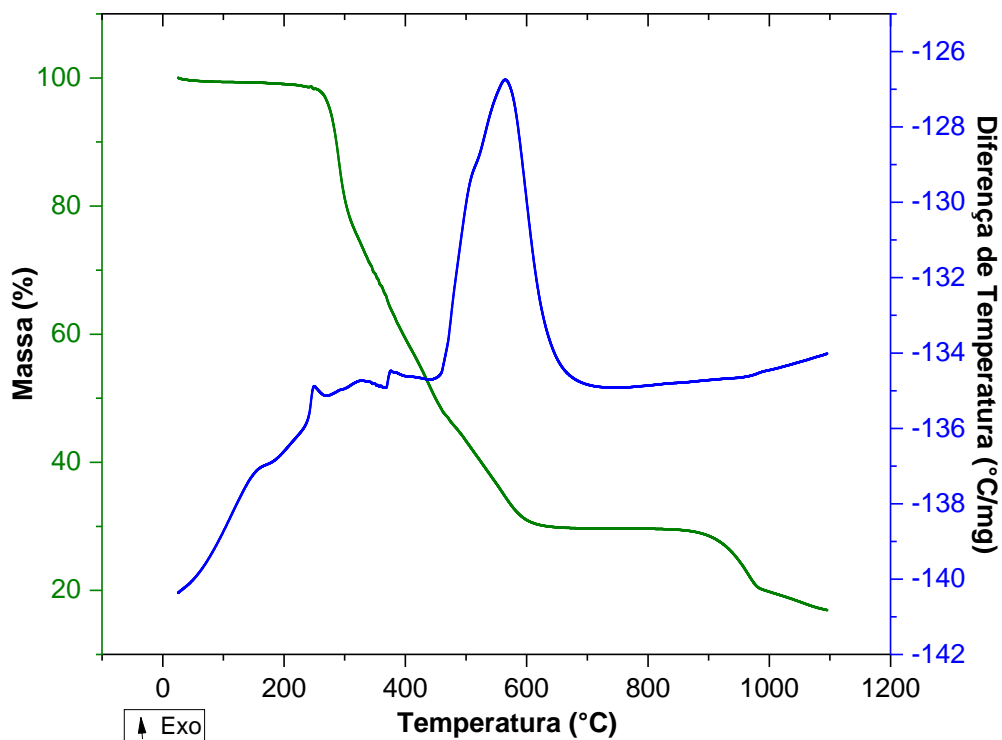
Fonte: Da autora.

Tabela 10 - Dados das análises térmicas do complexo (1) e atribuições dos possíveis fragmentos decompostos.

Etapas	$\Delta T$ (°C)	$\Delta m$ (%)		DTA picos (°C)		Atribuições
		Exp.	Calc.	Exo.	End.	
1	250-700	-71,98	75,74	334 494 600		
2	700-1099	-9,76	-9,86	950		
Resíduo	1100	18,26	14,40			$RuO_2(s)$

Fonte: Da autora.

Figura 78 - Curvas TG e DTA de (2).



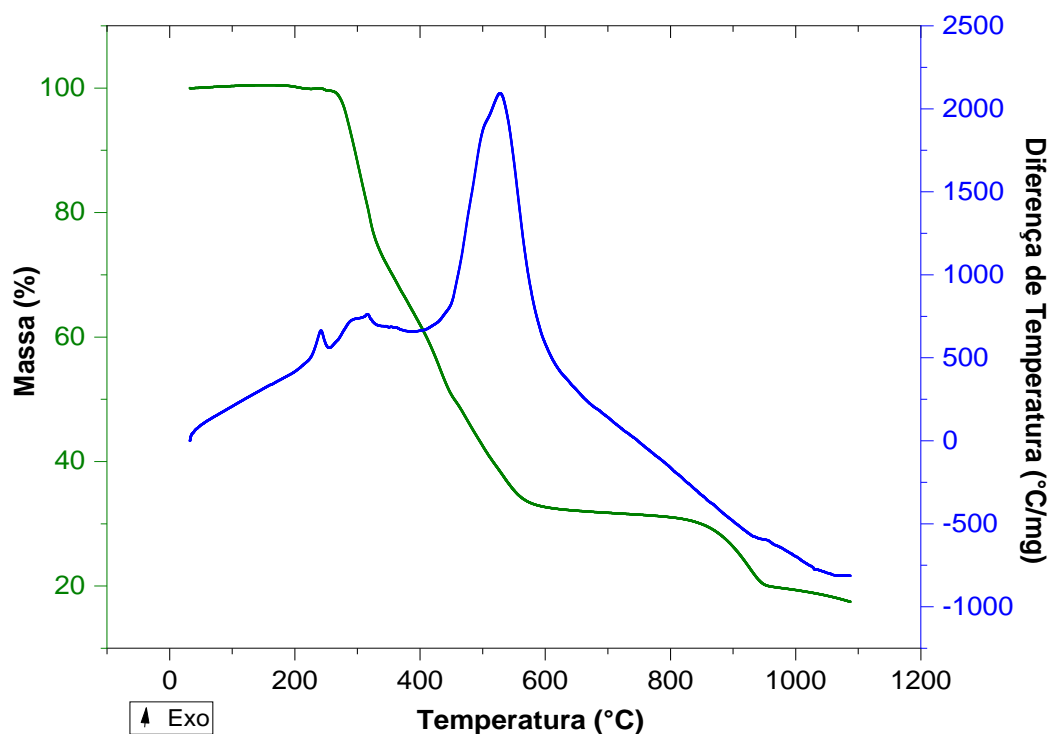
Fonte: Da autora.

Tabela 11 - Dados das análises térmicas do complexo (2) e atribuições dos possíveis fragmentos decompostos.

Etapas	$\Delta T$ (°C)	$\Delta m(\%)$		DTA picos (°C)		Atribuições
		Exp.	Calc.	Exo.	End.	
1	240-698	-70,21	-71,03	250 565		
2	698-1099	-12,89	-12,85			
Resíduo	1100	16,90	16,12			$RuO_{2(s)}$

Fonte: Da autora.

Figura 79 - Curvas TG e DTA de (3).



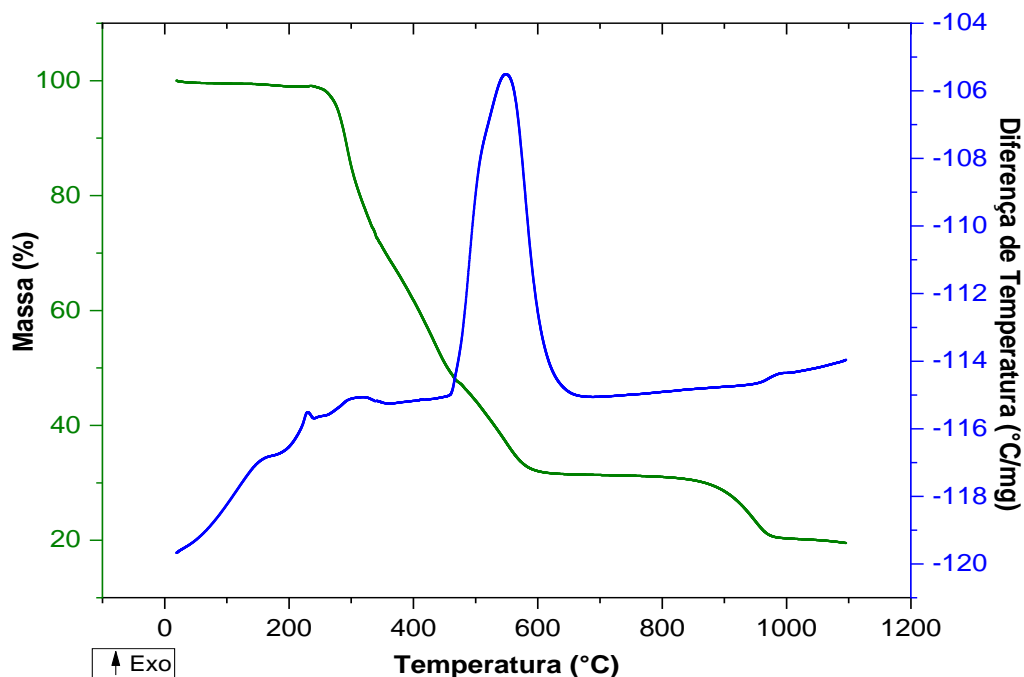
Fonte: Da autora.

Tabela 12 - Dados das análises térmicas do complexo (3) e atribuições dos possíveis fragmentos decompostos.

Etapas	$\Delta T$ (°C)	$\Delta m$ (%)		DTA picos (°C)		Atribuições
		Exp.	Calc.	Exo.	End.	
1	256-730	68,48	69,23	242 317 530		
2	730-1099	14,07	15,50			
Resíduo	1100	17,45	15,27			$RuO_{2(s)}$

Fonte: Da autora.

Figura 80 - Curvas TG e DTA de (4).



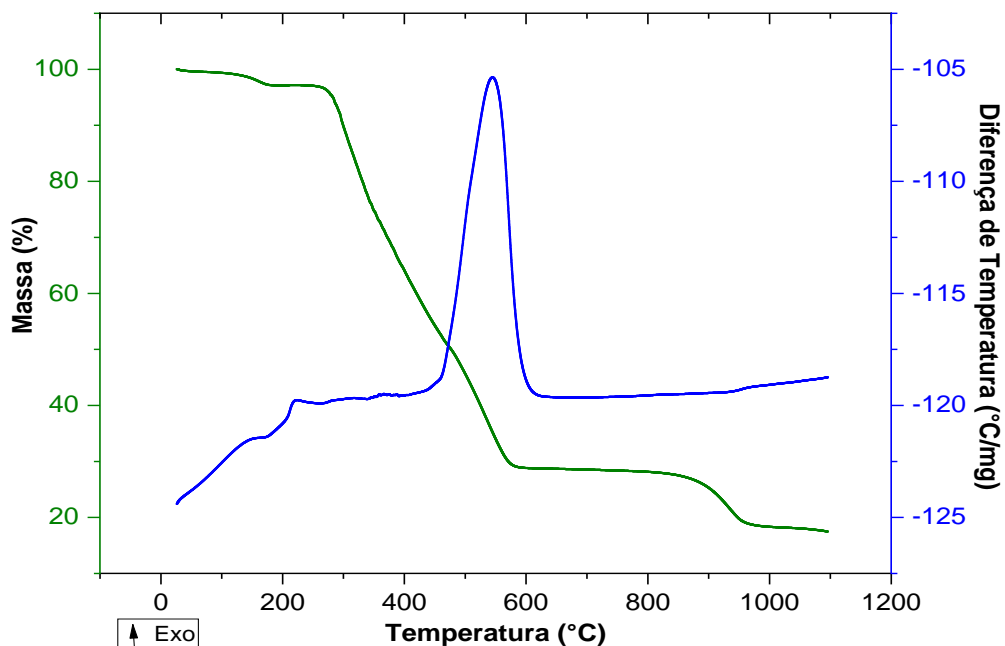
Fonte: Da autora.

Tabela 13 - Dados das análises térmicas do complexo (4) e atribuições dos possíveis fragmentos decompostos.

Etapas	$\Delta T$ (°C)	$\Delta m$ (%)		DTA picos (°C)		Atribuições
		Exp.	Calc.	Exo.	End.	
1	245-700	-68,67	-71,58	230 312 549		
2	700-1099	-11,83	-12,61	991		
Resíduo	1100	19,50	15,81			$RuO_{2(s)}$

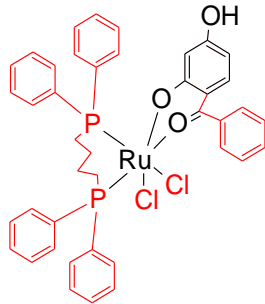
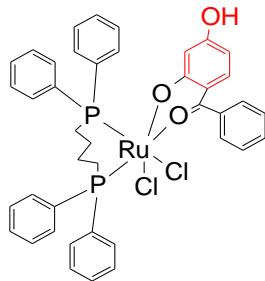
Fonte: Da autora.

Figura 81 - Curvas TG e DTA de (5).



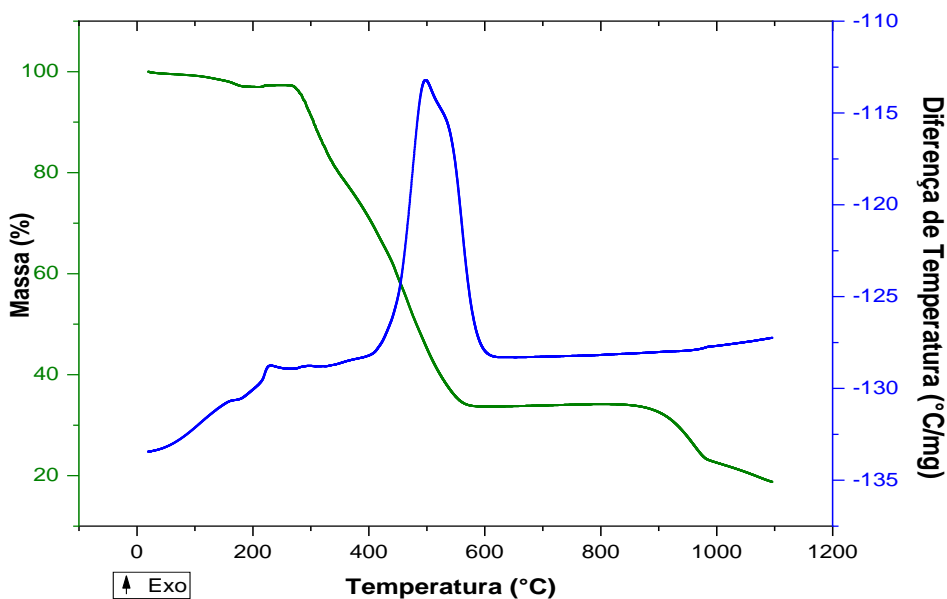
Fonte: Da autora.

Tabela 14 - Dados das análises térmicas do complexo (5) e atribuições dos possíveis fragmentos decompostos.

Etapas	$\Delta T$ (°C)	$\Delta m$ (%)		DTA picos (°C)		Atribuições
		Exp.	Calc.	Exo.	End.	
1	30-192	-2,92	-2,17		176	$H_2O$
2	192-660	-68,36	-70,69	221 547		
3	660-1099	-11,26	-11,10			
Resíduo	1100	17,46	16,04			$RuO_{2(s)}$

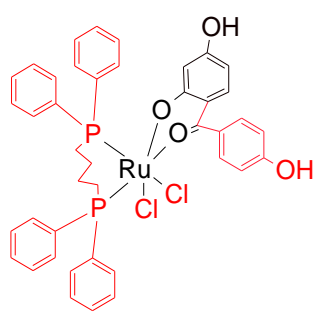
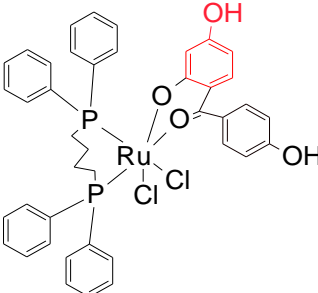
Fonte: Da autora.

Figura 82 - Curvas TG e DTA de (6).



Fonte: Da autora.

Tabela 15 - Dados das análises térmicas do complexo (6) e atribuições dos possíveis fragmentos decompostos.

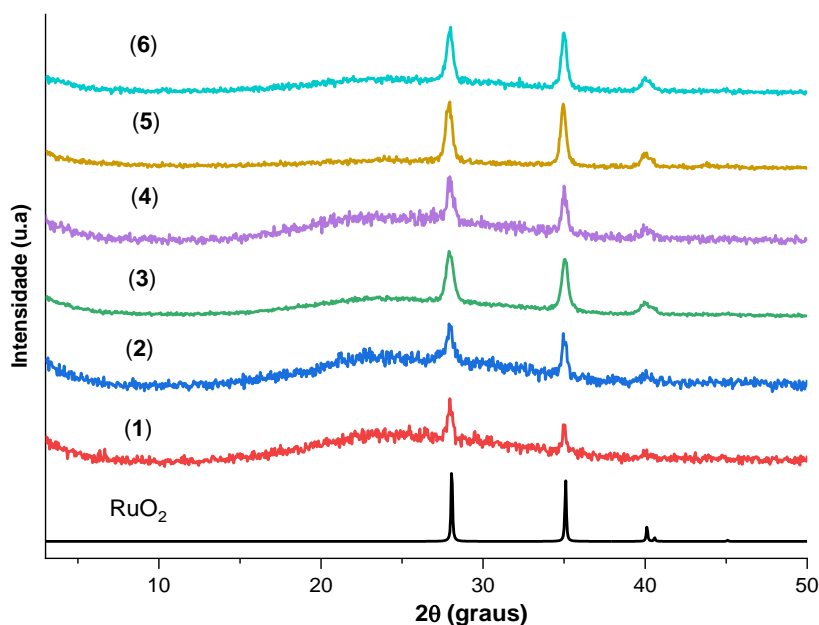
Etapas	$\Delta T$ (°C)	$\Delta m$ (%)		DTA picos (°C)		Atribuições
		Exp.	Calc	Exo.	End.	
1	30-194	-2,99	-2,13			$H_2O$
				177		
				227		
2	194-610	-68,33	-71,24	547		
						
3	610-1099	-11,22	-10,89			
						
Resíduo	1100	17,46	15,74			$RuO_{2(s)}$

Fonte: Da autora.

Importante ressaltar que todos os complexos não apresentaram um patamar residual bem definido após 1000°C, justificando maiores erros percentuais entre as perdas de massa teórica e experimental, bem como as respectivas atribuições. Este comportamento observado nas análises foi descrito em um trabalho envolvendo complexos de rutênio com derivados de fluoroquinolona (UIVAROSI *et al.*, 2011), o qual relata a formação do resíduo RuO<sub>2</sub>(s) em elevadas temperaturas.

A fim de auxiliar nas atribuições dos fragmentos decompostos, principalmente pelo fato de não ocorrer estabilização do patamar final (1100 °C), todos resíduos obtidos após as análises térmicas dos complexos foram analisados por DRXP (Figura 83). A pequena quantidade de sólidos residuais para cada amostra justifica os difratogramas obtidos, com picos mais largos e um halo oriundo do porta amostra, no entanto ainda assim é possível confirmar a formação de RuO<sub>2</sub>(s), devido a concordância dos picos com o difratograma do banco de dados (em preto).

Figura 83 - Difratogramas dos resíduos de (1-6) após TGA/DTA.



Fonte: Da autora.

Nota: **RuO<sub>2</sub>** – Inorganic Crystal Structure Database – 84619-ICSD.

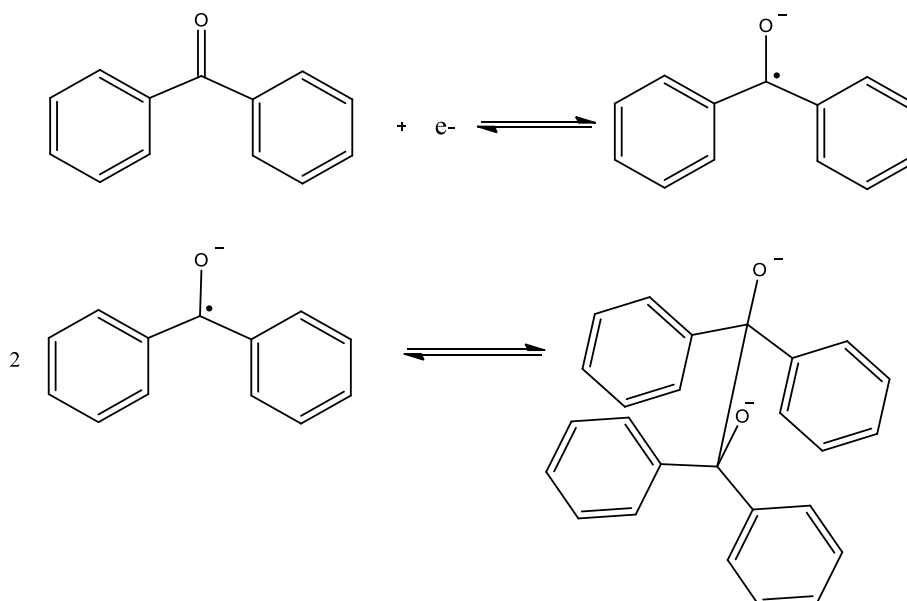
Desta forma, as análises térmicas contribuíram para a caracterização dos complexos, uma vez que permitiram confirmar a composição das estruturas e indicaram a presença de moléculas de água em (5) e ausência em (3). Conforme discutido anteriormente na seção 5.1.4 de DRXM, estas estruturas possuem

vacâncias que podem ou não estar preenchidas por moléculas de solventes. Sendo assim, os monocristais obtidos podem não ser representativos do *bulk* justificando a discordância dos difratogramas de raios X calculado e experimental, devido a presença ou ausência de moléculas de solvente na rede cristalina. Os resultados da análise de (6) também indicaram moléculas de água na estrutura, enquanto os demais complexos apresentam-se anidros.

### 5.1.7 Voltametria cíclica (VC)

As análises iniciais compreenderam o estudo eletroquímico das HB e concomitante pesquisa na literatura sobre os processos redox atuantes na molécula. Trabalhos publicados anteriormente mostram que o comportamento eletroquímico de derivados de 2-hidoxibenzofenonas (SCHUBERTOVÁ; HRDLOVIČ, 1969) é muito semelhante aos dos derivados das benzofenonas (ZUMAN *et al.*, 1968), sendo um caminho de redução típico para compostos com grupo carbonila (KEMULA, W., GRABOWSKI, Z.R., KALINOWSKI, 1960; TSIERKEZOS, 2007). Assim, estas reações ocorrem em duas etapas sucessivas envolvendo um elétron (Figura 84), produzindo primeiro o radical aniônico livre (Bzf<sup>•-</sup>), representando uma redução reversível e posteriormente a forma dianiônica (Bzf<sup>2-•</sup>), em que a transferência de elétrons é mais lenta e ocorre a dimerização, este processo é irreversível (TSIERKEZOS, 2007).

Figura 84 - Reações de redução das benzofenonas.

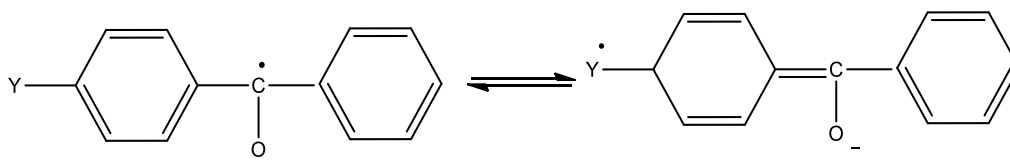


Fonte: Adaptado de KEMULA, W., GRABOWSKI, Z.R., KALINOWSKI (1960).

Embora existam semelhanças no comportamento eletroquímico das BZF e 2-hidroxibenzofenonas, grupos substituintes são capazes de afetar a redução da carbonila por efeitos indutivo e de ressonância *via* anel benzênico (ZUMAN *et al.*, 1968), ou mesmo por efeitos estéricos, como por exemplo ligações de hidrogênio (SARASWATHI; NARAYAN, 1986).

Grupos doadores de densidade eletrônica podem contribuir para a deslocalização de elétrons não emparelhados (ZUMAN *et al.*, 1968), conforme representado na Figura 85, assim a carbonila tem um aumento de densidade eletrônica, fato que dificulta sua redução e promove potenciais mais positivos (SCHUBERTOVÁ; HRDLOVIČ, 1969).

Figura 85 - Efeito de ressonância ocasionado por grupos doadores (Y) em posição *para* à carbonila.

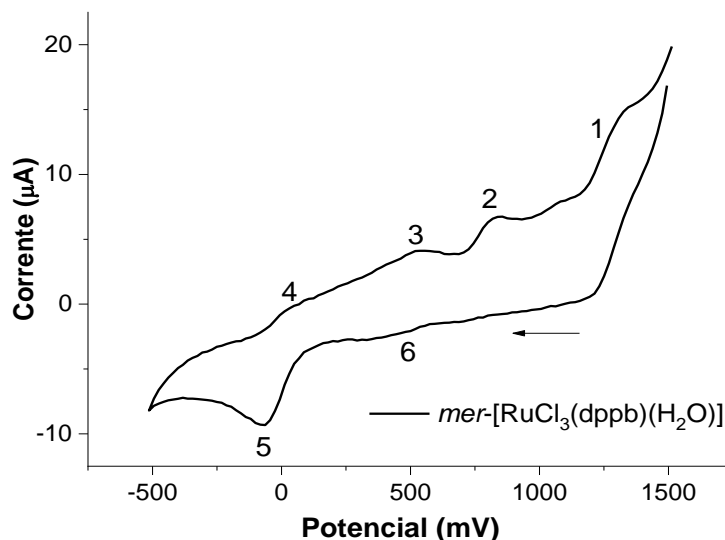


Fonte: Adaptado de ZUMAN *et al.* (1968).

A utilização de solventes desaerados e atmosfera inerte de fluxo contínuo esteve descrita frequentemente nos trabalhos com ligantes de estruturas análogas (CHEN; LIU; THANGAMUTHU, 2006; TSIERKEZOS, 2007), pois estes procedimentos retardam a formação de várias espécies eletroativas. Outro fator observado nas análises das HB consistiu na passivação da superfície do eletrodo de trabalho, devido a produção de radicais fenóxi instáveis formados a partir da oxidação eletroquímica de compostos fenólicos, os quais polimerizam rapidamente (ANDREESCU; ANDREESCU; SADIK, 2003). Diante do exposto, optou-se por concentrar o estudo nos processos redox atribuídos ao centro metálico dos complexos e suas respectivas variações.

Inicialmente o precursor *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)] foi analisado e seu voltamograma encontra-se representado na Figura 86 onde estão destacados os processos eletroquímicos atuantes. O pico 1 de oxidação com  $E_{pa} = 1034$  mV demonstra um processo irreversível devido a oxidação da bifosfina (dppb), uma vez que estudos eletroquímicos anteriores do ligante livre indicam um  $E_{pa} = 1160$  mV (WOHNRATH, 1999).

Figura 86 - Voltamograma cíclico do complexo *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)], PTBA 0,1 mol·L<sup>-1</sup> em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> vs Ag/AgCl, velocidade de varredura 100 mV·s<sup>-1</sup>.



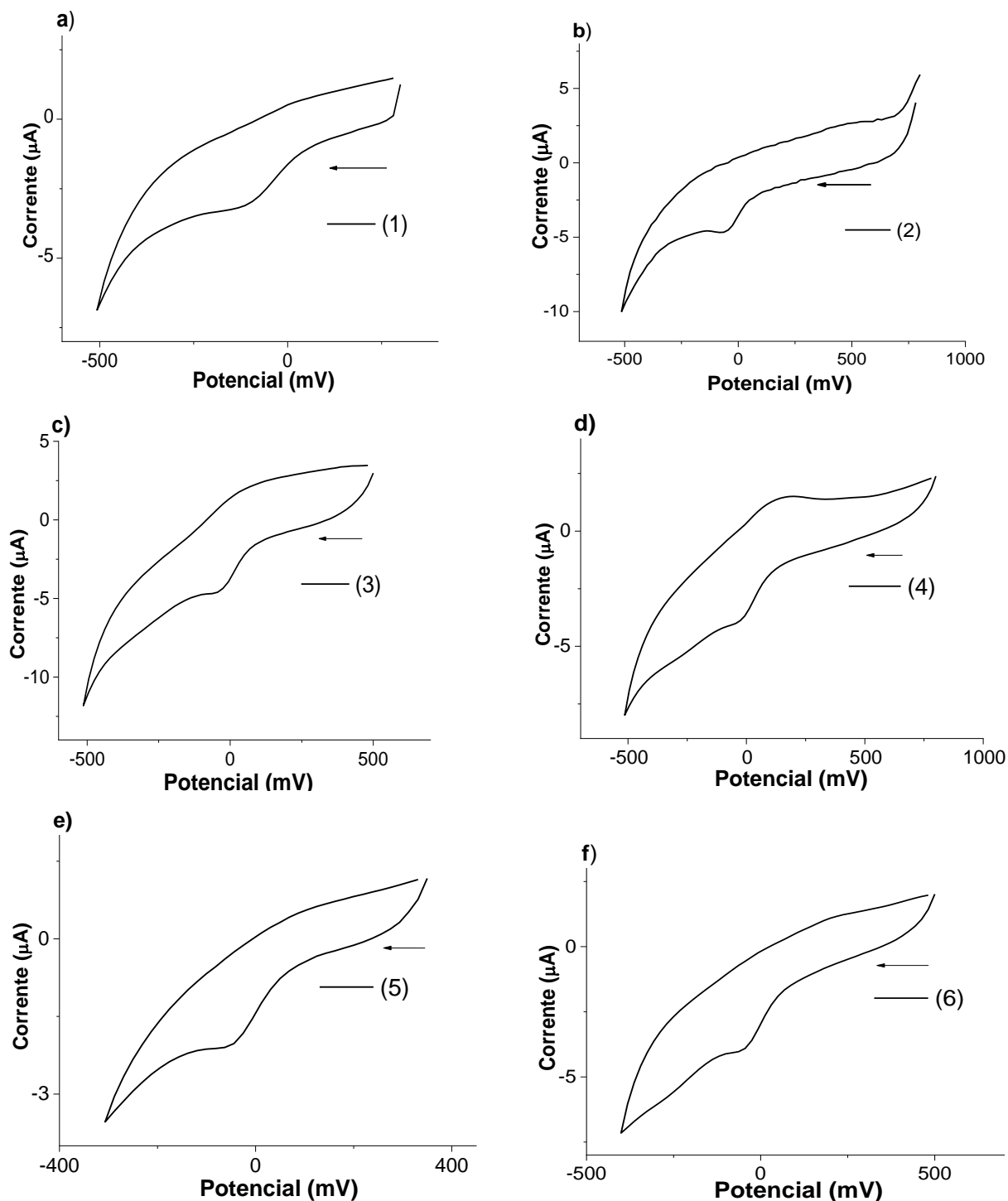
Fonte: Da autora.

Enfatiza-se o processo quasi-reversível em 5 ( $E_{pc} = -69$  mV) e 4 ( $E_{pa} = 68$  mV), correspondente ao par redox Ru(III)/ Ru(II) (DINELLI *et al.*, 1999). Os demais picos (2, 3 e 6) são atribuídos aos processos de oxirredução envolvendo os centros metálicos Ru<sub>2</sub><sup>(III)/(II)</sup>, devido a formação de um complexo binuclear de rutênio, relatado em estudos anteriores (WOHNRATH, 1999).

Ao estudar os voltamogramas dos complexos (1-6) (Figura 87) notou-se ausência do processo em -69,00 mV, demonstrando que os produtos estão livres de resquícios do precursor. Os voltamogramas cíclicos de (3) e (4) exibiram um processo quasi-reversível com  $E_{pc}$  de 21,57 mV e -16,87 mV, respectivamente, enquanto os demais complexos apresentaram processos irreversíveis correspondente ao par redox Ru(III)/ Ru(II).

Excetuando-se (1), observou-se para os demais complexos (2-6) valores de  $E_{pc}$  mais positivos (Tabela 16) quando comparados com o precursor (-69,00 mV), indicando que o centro metálico de rutênio está mais susceptível à redução, como esperado após a substituição de um Cl<sup>-</sup> ( $\sigma$  e  $\pi$  doador) e uma molécula de água por HBs. Diante desses resultados infere-se, portanto, que os átomos de oxigênio dos grupos carbonila e fenolato de HB2-HB6 são menos doadores quando comparado com os ligantes iniciais (Cl<sup>-</sup> e H<sub>2</sub>O) do precursor.

Figura 87 - Voltamogramas cíclicos dos complexos: a) (1), b) (2), c) (3), d) (4), e) (5) e f) (6), eletrólito PTBA 0,1 mol·L<sup>-1</sup> em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> vs Ag/AgCl, velocidade de varredura 100 mV·s<sup>-1</sup>.



Fonte: Da autora.

Em contraposição, o complexo (1) apresentou o  $E_{pc}$  mais negativo quando comparado com os demais (2-6) e o precursor *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)], demonstrando a influência dos grupos substituintes das HBs sob a basicidade da carbonila.

Tabela 16 - Valores de  $E_{pc}$  para os complexos da série 1 e estrutura das respectivas HB.

HB	Complexos	$E_{pc}$ (mV)
	<i>mer</i> -[RuCl <sub>3</sub> (dppb)(H <sub>2</sub> O)]	-69,00
HB1	(1)	-94,14
HB2	(2)	-52,34
HB3	(3)	-21,57
HB4	(4)	-16,87
HB5	(5)	-37,08
HB6	(6)	-63,19

Fonte: Da autora.

Analisando as estruturas das HB, principalmente os grupos que encontram-se na posição 4 e 4' do núcleo benzofenônico é possível fazer uma correlação com os valores de  $E_{pc}$  obtidos para os complexos, uma vez que os grupos OCH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>CH<sub>3</sub> (HB1), OCH<sub>3</sub> (HB2), OH (HB5) e 2OH (HB6) atuam por efeito de ressonância aumentando a densidade eletrônica na carbonila (CHAUDET; TAMBLYN, 1961; KYSEL'; JÁNY, 1974) e promovendo os maiores potenciais catódicos na sequência (1)>(6)>(2)>(5). Os resultados sugerem que a extensa cadeia carbônica ligada ao átomo de oxigênio de HB1 contribui de forma mais intensa para o aumento de densidade eletrônica da carbonila, em seguida os dois grupos hidroxilas em posição *para* à carbonila de HB6 superam, respectivamente, a metoxila de HB2 e a hidroxila de HB5, justificando o segundo maior  $E_{pc}$ .

Por fim, os complexos (3) e (4) apresentaram potenciais catódicos que refletem efeitos eletrônicos e estéricos, devido ao grupo hidroxila *orto* a carbonila favorecer a formação de ligações de hidrogênio intramolecular e assim diminuir a basicidade do grupo carbonila, (KYSEL'; JÁNY, 1974), proporcionando um potencial catódico mais positivo quando comparado ao precursor.

### 5.1.8 Análise elementar

Os teores de carbono e hidrogênio obtidos para os complexos da série 1 estão reunidos na Tabela 17 e os valores teóricos foram calculados considerando os complexos anidros e hidratados (com uma molécula de água).

Tabela 17 - Dados da análise elementar para os complexos (série 1).

	%C			%H		
	Exp	Calc		Exp	Calc	
		Anidro	H <sub>2</sub> O		Anidro	H <sub>2</sub> O
(1)	64,10	63,70	62,48	6,12	5,78	5,89
(2)	60,81	61,09	59,79	5,08	4,76	4,90
(3)	58,90	59,25	58,05	4,61	4,74	4,87
(4)	60,35	59,93	58,68	4,93	4,67	4,81
(5)	59,72	60,67	59,35	4,78	4,59	4,74
(6)	58,68	59,50	58,23	4,36	4,51	4,65

Fonte: Da autora.

Notas: Exp = valores experimentais e Calc = valores calculados.

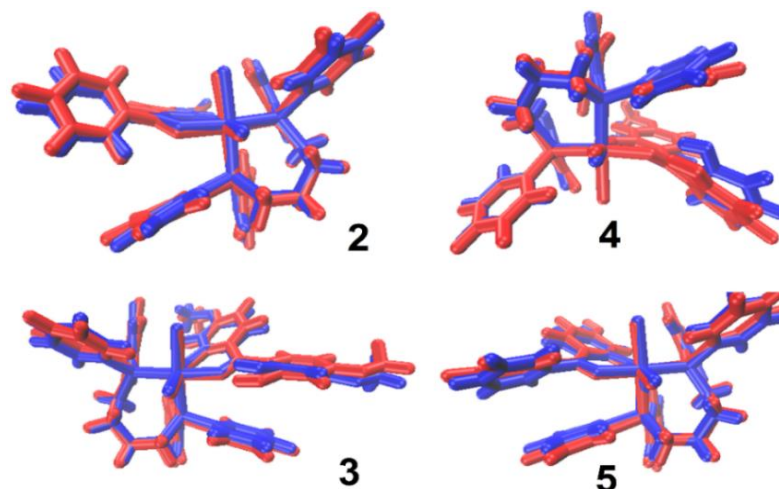
Desta forma, ao se comparar as porcentagens de carbono e hidrogênio experimentais com os valores teóricos observou-se resultados mais próximos de estruturas anidras para (1-4), enquanto para as demais (5-6) os valores denotaram a presença de uma molécula de água nas estruturas, corroborando os dados obtidos nas técnicas de DRXP e análises térmicas, principalmente para (3) e (5).

### 5.1.9 Estudos de Química Computacional

Neste trabalho empregou-se cálculos DFT para explicar a preferência da geometria *cis* apresentada pelos complexos de Ru(III) da série 1, conforme elucidado por DRXM. Ferramentas complementares foram empregadas para determinar os mapas de potencial eletrostático (MEP) das estruturas, bem como as cargas atômicas de Mülliken e por último simulações TD-DFT foram realizadas para avaliar os espectros de UV-vis obtidos.

Inicialmente, as estruturas elucidadas por DRXM (em azul) foram comparadas com as calculadas por DFT (em vermelho) utilizando-se o funcional PBE0 e a sobreposição entre elas demonstrou uma boa correlação conforme representado na Figura 88, apresentando apenas uma ligeira mudança na orientação dos anéis fenil dos ligantes dppb e HB. A ordem de ligação de Mayer e Wiberg foi estimada para todos os complexos (1-6) (Tabela 18) e indicou que os centros metálicos são compostos principalmente por ligações  $\sigma$ .

Figura 88 - Sobreposição das estruturas obtidas por DRXM (em azul) e calculadas com o funcional PBE0 (em vermelho).



Fonte: Da autora.

Tabela 18 - Índices de ordem de ligação de Mayer e Wiberg na esfera de coordenação dos complexos de rutênio.

<b>Índices da ordem de ligação de Mayer</b>									
<b>Complexos</b>	<b>Ru-Cl</b>		<b>Ru-P</b>		<b>Ru-O</b>		<b>C-O</b>		
1	0,97	0,98	0,71	0,84	0,40	0,69	1,03	1,47	
2	0,98	0,98	0,71	0,85	0,40	0,69	1,02	1,48	
3	0,97	1,00	0,71	0,84	0,36	0,69	1,03	1,31	
4	0,94	1,02	0,71	0,86	0,34	0,71	1,00	1,33	
5	1,00	1,00	0,71	0,84	0,39	0,70	1,01	1,47	
6	0,96	1,01	0,71	0,95	0,39	0,71	0,99	1,46	

<b>Índices da ordem de ligação de Wiberg</b>									
<b>Complexos</b>	<b>Ru-Cl</b>		<b>Ru-P</b>		<b>Ru-O</b>		<b>C-O</b>		
1	0,58	0,68	0,48	0,62	0,26	0,67	1,15	1,51	
2	0,59	0,69	0,48	0,62	0,26	0,67	1,15	1,51	
3	0,60	0,67	0,48	0,62	0,25	0,67	1,15	1,39	
4	0,62	0,65	0,48	0,64	0,22	0,68	1,13	1,40	
5	0,60	0,70	0,48	0,61	0,26	0,68	1,13	1,51	
6	0,62	0,68	0,48	0,63	0,24	0,69	1,13	1,50	

Fonte: Da autora.

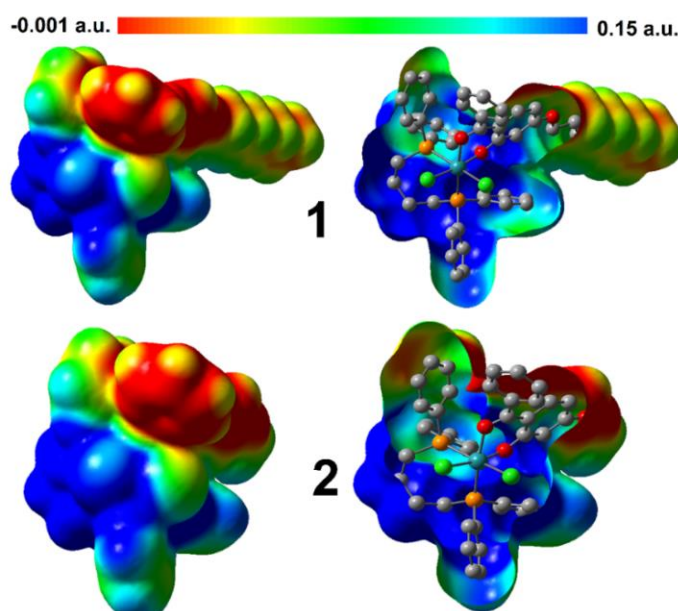
Tabela 19 - Uma análise comparativa incluindo a ligação  $\sigma$  CO em metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) e a ligação  $\pi$  CO em dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), considerando os índices de ordem de ligação de Mayer e Wiberg.

Estrutura	Mayer	Wiberg
Ligação- $\sigma$ ( $\text{CH}_3\text{OH}$ )	0,95	0,95
Ligação- $\pi$ ( $\text{CO}_2$ )	1,97	1,89

Fonte: Da autora.

Informações importantes sobre a distribuição de cargas dos complexos foram obtidas por meio dos mapas de potencial eletrostático molecular (MEP) (Figura 89), os quais indicaram regiões de baixa densidade eletrônica (em azul) centradas nas esferas de coordenação dos complexos de rutênio, enquanto as regiões de alta densidade eletrônica (em vermelho) encontram-se localizadas em direção ao anéis fenil das HB. Particularmente, o complexo (1) apresentou uma extensa cadeia alquílica proveniente do ligante HB1, denotando uma região neutra (em verde) com pequenas regiões negativas concentradas nos átomos de carbono.

Figura 89 - Mapas de potencial eletrostático molecular (MEP) dos complexos (1) e (2).

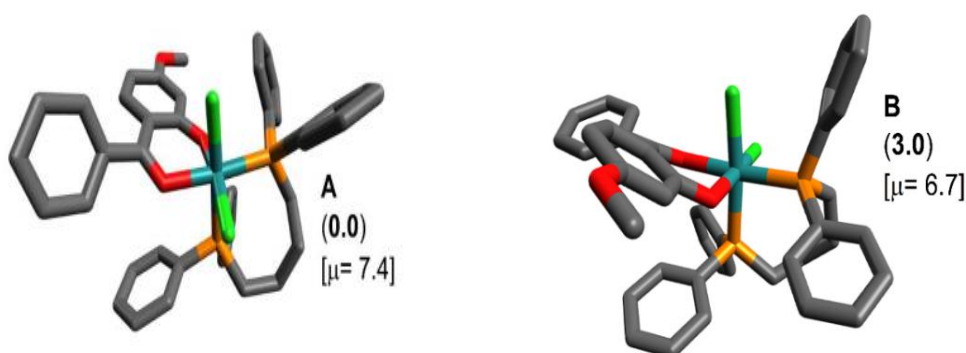


Fonte: Da autora.

Nota: As regiões negativas estão em vermelho, as azuis estão associadas às cargas positivas e as verdes estão em regiões neutras. Os átomos de hidrogênio foram omitidos nas estruturas para maior clareza.

A otimização da geometria apresentada pelos complexos também foi estudada a fim de analisar novas conformações de mínimo de energia. Observou-se o efeito de diferentes orientações dos átomos de cloro e dos ligantes HB na estabilidade relativa das estruturas (Figura 90), uma vez que a conformação obtida por DRXM para os complexos (A) foi a mais estável e diferencia-se da segunda conformação (B) por uma pequena diferença de energia ( $3,0 \text{ kcal mol}^{-1}$ ).

Figura 90 - Análise comparativa entre: (A) a estrutura otimizada do complexo (2) obtida por DRXM e (B) o efeito de uma orientação diferente dos átomos de cloro e ligante HB2.



Fonte: Da autora.

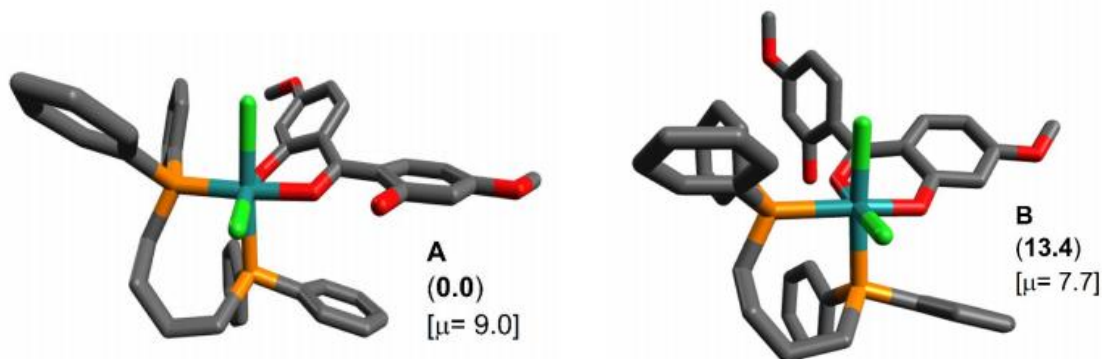
Nota: A estabilidade relativa encontra-se entre parênteses (em  $\text{kcal mol}^{-1}$ ). Os momentos de dipolo elétrico ( $\mu$ , em Debye) estão entre colchetes. Simulações foram realizadas com o funcional PBE0 na fase gasosa. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.

As diferentes possibilidades de coordenação dos grupos carbonila e fenolato das HB também foram avaliadas (Figura 91) e indicaram diferenças de energia quanto as conformações. Analisando o complexo (3) observou-se que a estrutura elucidada por DRXM (com o átomo de oxigênio da carbonila *trans* a um fósforo e o átomo de oxigênio do grupo fenolato *trans* ao cloro) representada em (A) é mais estável do que a estrutura (B) que adota coordenação oposta dos grupos coordenantes (átomo de oxigênio da carbonila *trans* ao cloro e o átomo de oxigênio do grupo fenolato *trans* a um fósforo) e esta variação é de aproximadamente  $14 \text{ kcal mol}^{-1}$ .

Os resultados discutidos acima enfatizam que as conformações obtidas por DRXM são as mais estáveis, entretanto é importante ressaltar que os rearranjos das estruturas são acompanhados por uma grande alteração na distribuição da carga atômica, levando a uma diminuição significativa do momento de dipolo elétrico ( $\mu$ ) e

indicando uma distribuição mais simétrica da carga líquida, de acordo com a representação da Figura 92.

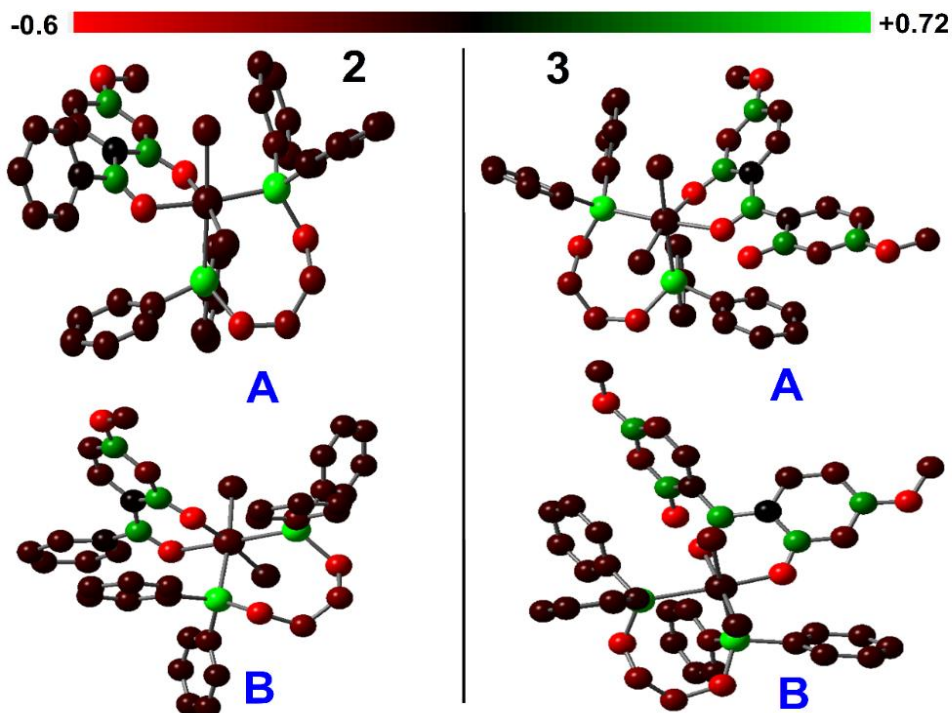
Figura 91 - Análise comparativa entre a estrutura otimizada do complexo (3) obtida por DRXM (A) e o efeito de um local de coordenação diferente no ligante HB3 (B).



Fonte: Da autora.

Nota: A estabilidade relativa encontra-se entre parênteses (em kcal mol<sup>-1</sup>). Os momentos de dipolo elétrico ( $\mu$ , em Debye) estão entre colchetes. Simulações foram realizadas com o funcional PBE0 na fase gasosa. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.

Figura 92 - Distribuição das cargas atômicas de Mülliken (em u.a.) dos complexos (2) e (3) após o rearranjo unimolecular (B).

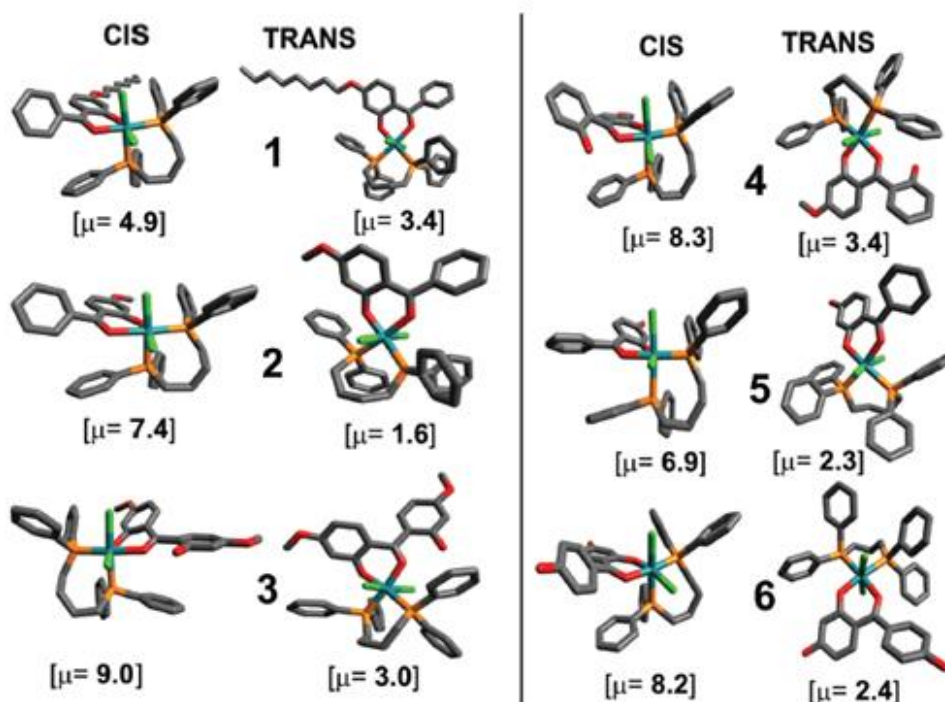


Fonte: Da autora.

Nota: Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.

Avaliou-se também as diferentes geometrias possíveis para os complexos levando em consideração o posicionamento dos átomos de cloro na esfera de coordenação (*cis* ou *trans*) (Figura 93). Sabendo que o meio no qual a molécula encontra-se inserida é de grande importância para estabilidade e dinâmica da mesma (OLIVEIRA, 2018) foi realizado uma simulação do solvente empregando-se o modelo de solvatação baseado na densidade (SMD). Neste modelo o solvente é levado em consideração por meio da sua constante dielétrica, podendo ser polarizado pela distribuição de carga do soluto (OLIVEIRA, 2018). Os resultados do estudo indicaram uma pequena diferença da energia livre de Gibbs ( $\Delta G$ , a 298,15 K) entre os isômeros no estado gasoso, sendo a forma *cis* obtida por DRXM mais estável. Entretanto, os cálculos demonstraram que  $\Delta G$  pode sofrer aumento em ambas as configurações considerando o efeito de inclusão do solvente (Figura 94), assim uma constante dielétrica que aumenta de  $\epsilon = 4,7113$  em clorofórmio para  $\epsilon = 24,852$  em etanol desempenha um papel importante na mudança de configuração, devido ao aumento de  $\Delta G$  e indica que a estabilidade relativa do isômero *cis* também aumenta.

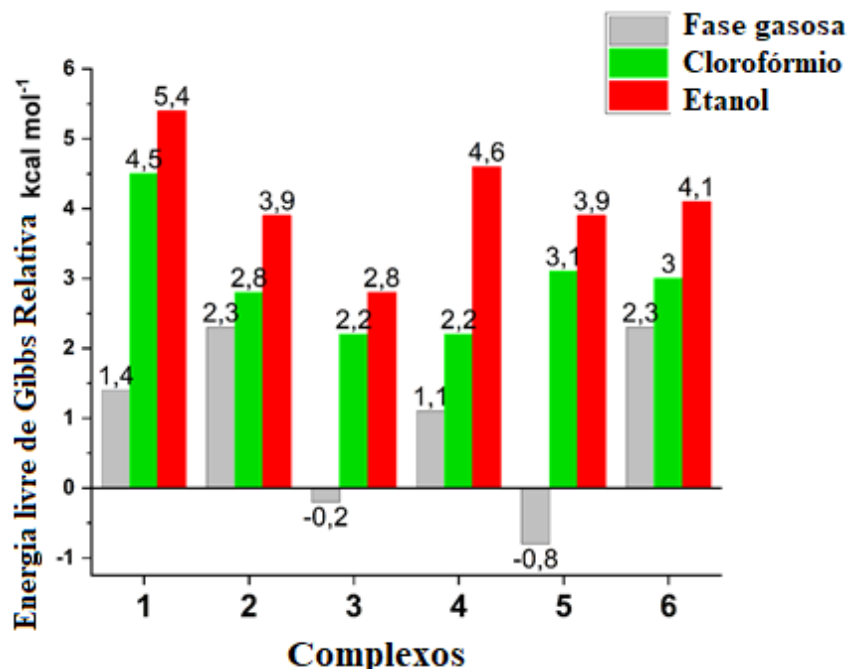
Figura 93 - Estruturas otimizadas dos complexos de rutênio com os átomos de cloro posicionados *cis* e *trans*.



Fonte: Da autora.

Nota: Os momentos de dipolo elétrico ( $\mu$ , em Debye) estão entre colchetes. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.

Figura 94 - Energia livre de Gibbs relativa ( $\Delta G$ , a 298,15 K, em kcal mol<sup>-1</sup>) entre as estruturas com os átomos de cloro *cis* e *trans* na fase gasosa, solventes clorofórmio e etanol calculados com o modelo SMD.



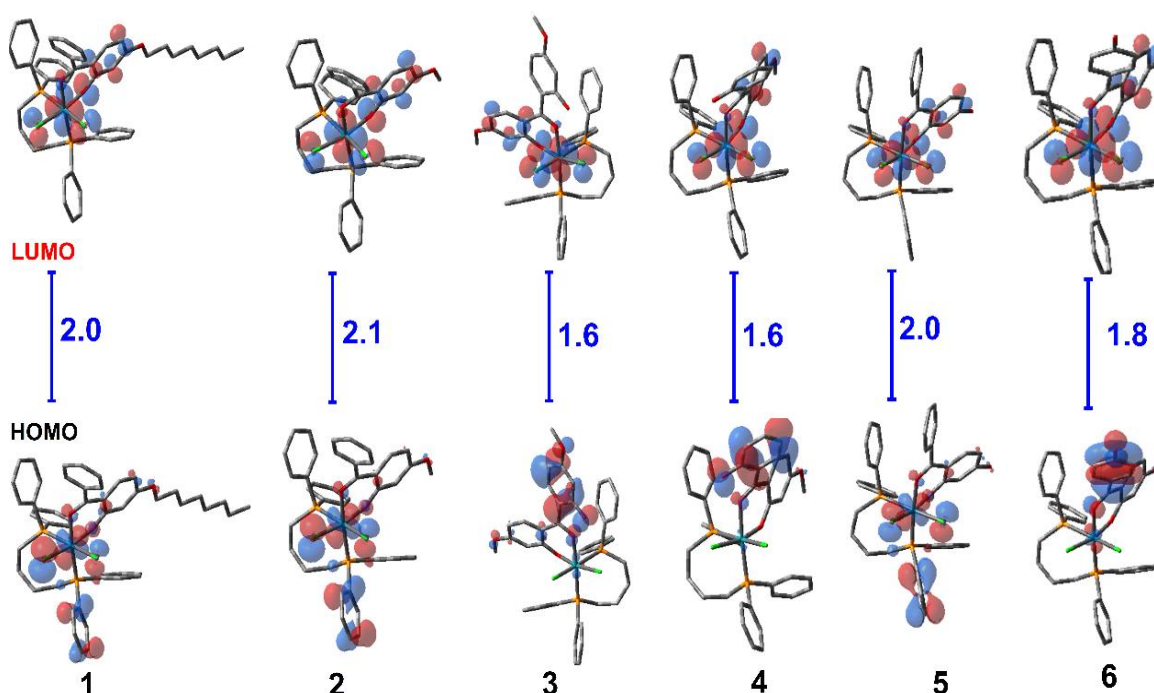
Fonte: Da autora.

Observou-se também uma grande diminuição do momento de dipolo elétrico, exceto para a estrutura (1) que apresenta uma grande cadeia alifática no ligante HB1, composta por cargas negativas ao longo dos átomos de carbono.

O modelo simples de Hückel (AIHARA, 1999) para avaliação dos orbitais moleculares de fronteira dos complexos demonstrou variações de energia semelhantes entre os orbitais HOMO e LUMO (Figura 95), refletindo uma estabilidade cinética similar entre os complexos (1-6). Estes sistemas mostraram pequenos valores de energia quando comparados com outros complexos de rutênio, os quais possuem maior contribuição dos orbitais d do íon metálico (DIAS *et al.*, 2020; TABARES *et al.*, 2019).

O estudo demonstrou que os HOMOs dos complexos (1), (2) e (5) possuem uma grande contribuição dos orbitais d do íon rutênio, dppb e dos cloretos, enquanto os demais complexos (3, 4 e 6) apresentam os HOMOs essencialmente concentrados nos orbitais  $\pi$  das HB. Os LUMOs estão localizados principalmente na esfera de coordenação, com a contribuição dos elétrons do metal e dos pares de elétrons isolados dos átomos de cloro e oxigênio, bem como dos orbitais  $\pi^*$  das HB.

Figura 95 - Análise dos orbitais de fronteira HOMO e LUMO (autovalor = 0.05 u.a.) dos complexos da série 1.



Fonte: Da autora.

Nota: A diferença de energia entre os orbitais de fronteira está expressa em elétron-volt (Ev).

Os cálculos de TD-DFT para os espectros de UV-vis dos complexos revelaram contribuição principal dos LUMOs que são caracterizados por uma mistura substancial entre os orbitais metal-ligante. A ampla banda de absorção apresentada pelos complexos na região visível do espectro (550-800 nm) é atribuída à TCLML, com uma pequena contribuição de TCMLML na região acima de 800 nm (Apêndices B-G).

## 5.2 SÉRIE 2

### 5.2.1 Espectroscopia na região do infravermelho

Os complexos da série 2 (**7-8**), o ligante HQ e os precursores *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)] e *cis,trans*-[RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)] foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho (Figura 96-97), a fim de se observar modificações nos espectros, como deslocamentos e/ou ausências de bandas (Tabela 20), resultados que poderiam indicar a coordenação.

A HQ apresenta grande semelhança estrutural com as HB, desta forma foi possível analisar a mesma região espectral (Figura 96-a). Enfatiza-se a ausência de bandas na região de  $3500\text{ cm}^{-1}$  correspondente ao  $\nu(\text{O-H})$ , devido ao grupo hidroxila *orto* à carbonila facilitar a formação de fortes ligações de hidrogênio intramolecular (MERRILL, 1961), de forma análoga às estruturas de HB1 e HB2. Destaca-se também as bandas em  $1672\text{ cm}^{-1}$  e  $1636\text{ cm}^{-1}$  referentes ao  $\nu(\text{C=O})$ , bem como em  $1290\text{ cm}^{-1}$  correspondente ao  $\nu(\text{C-O})$  (SAHA *et al.*, 2013).

Nota-se para o espectro de IV do complexo (7) (Figura 96-a) desaparecimento das bandas em  $3331$  e  $1612\text{ cm}^{-1}$  referentes ao  $\nu(\text{O-H})$  e  $\delta(\text{O-H})$  da molécula de água coordenada, presente no precursor *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)] (DINELLI *et al.*, 1999). Simultaneamente, ocorreu o surgimento das bandas em  $511$  e  $496\text{ cm}^{-1}$  atribuídas ao  $\nu(\text{Ru-P})$  e  $476\text{ cm}^{-1}$  referente ao  $\nu(\text{Ru-O})$  (NAKAMOTO, 2009).

Observou-se para (7) comportamento análogo ao da maioria dos complexos da série 1, com deslocamento da banda correspondente ao  $\nu(\text{C=O})$  para menores números de onda, indicando enfraquecimento da ligação (de  $1672/1636\text{ cm}^{-1}$  para  $1662/1611\text{ cm}^{-1}$ ).

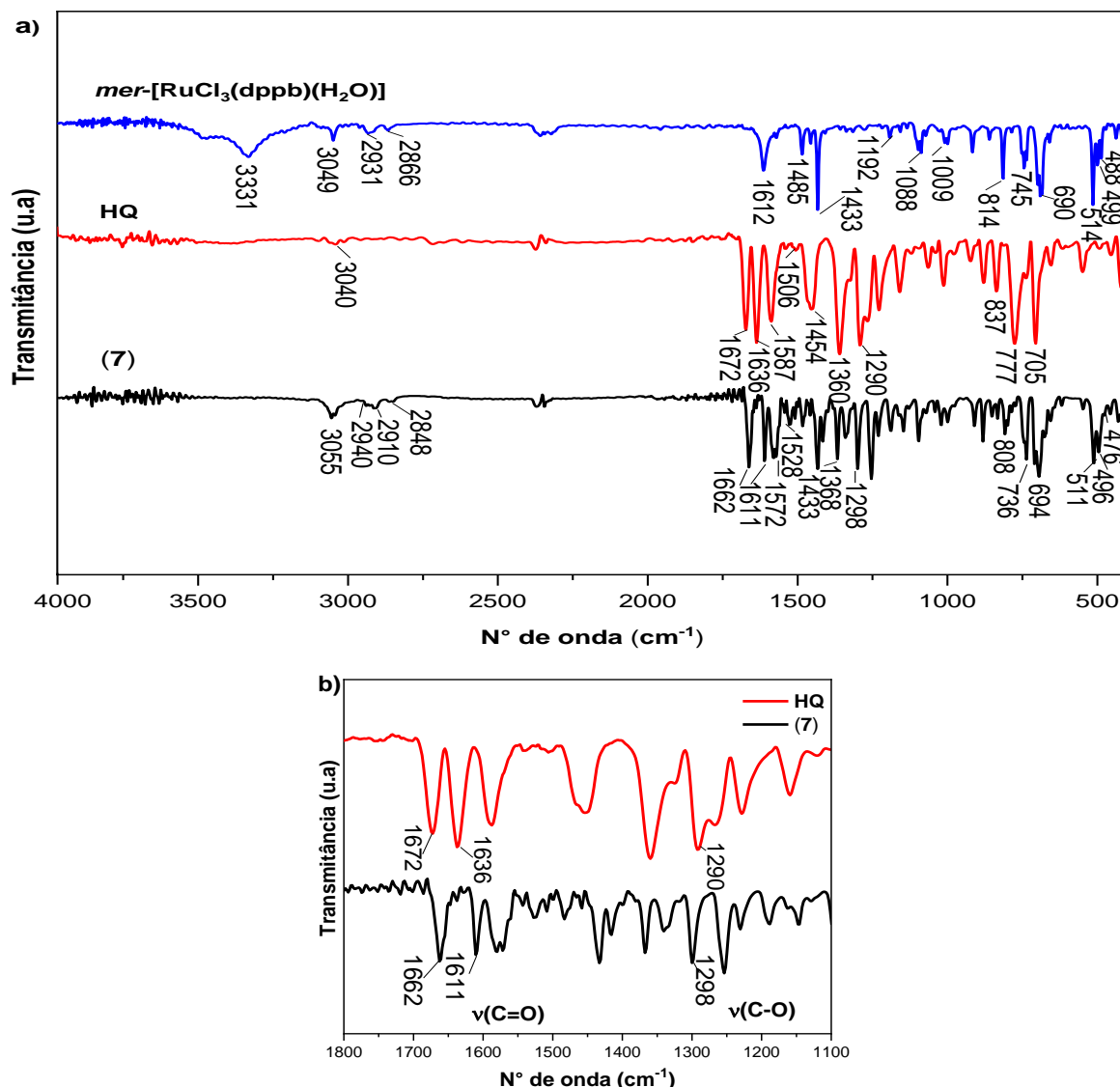
Simultaneamente, a ligação C-O é fortalecida como indica o deslocamento da banda para maiores números de onda (de  $1290\text{ cm}^{-1}$  para  $1298\text{ cm}^{-1}$ ), sugerindo a coordenação por meio dos átomos de oxigênio dos grupos carbonila e fenolato, comportamento similar a outros trabalhos envolvendo diferentes metais com HQ (DUTTA; HUTT, 1987; WALKER, 1971).

O precursor de (8), *cis,trans*-[RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)] apresentou no espectro de IV (Figura 97-a) bandas características em  $1481$  e  $1433\text{ cm}^{-1}$  correspondentes ao  $\nu(\text{C=N})$  do anel bipyridínico,  $515$  e  $496\text{ cm}^{-1}$   $\nu(\text{Ru-P})$  e  $459\text{ cm}^{-1}$   $\nu(\text{Ru-N})$ . As bandas referentes aos  $\nu(\text{Ru-Cl})$  não foram observadas, devido surgirem abaixo de  $400\text{ cm}^{-1}$ , mais especificamente em  $301$  e  $267\text{ cm}^{-1}$  (SANTOS *et al.*, 2013).

O espectro de IV do complexo (8) (Figura 97) demonstrou deslocamentos de bandas assim como os compostos anteriores, principalmente referente aos  $\nu(\text{C=O})$  e  $\nu(\text{C-O})$  (Figura 97-b).

A primeira delas deslocou-se para menores números de onda (de  $1672/1636\text{ cm}^{-1}$  no ligante livre para  $1649/1585\text{ cm}^{-1}$  no complexo), indicando enfraquecimento da ligação dupla nos grupos carbonila. A segunda banda deslocou-se para maior número de onda (de  $1290\text{ cm}^{-1}$  para  $1306\text{ cm}^{-1}$ ), comportamento que sugere a coordenação por meio da carbonila e do grupo fenolato da HQ.

Figura 96 - a) Espectros de FTIR do *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)], HQ e (7) e b) região ampliada dos espectros de HQ e (7) (1800-1100 cm<sup>-1</sup>).



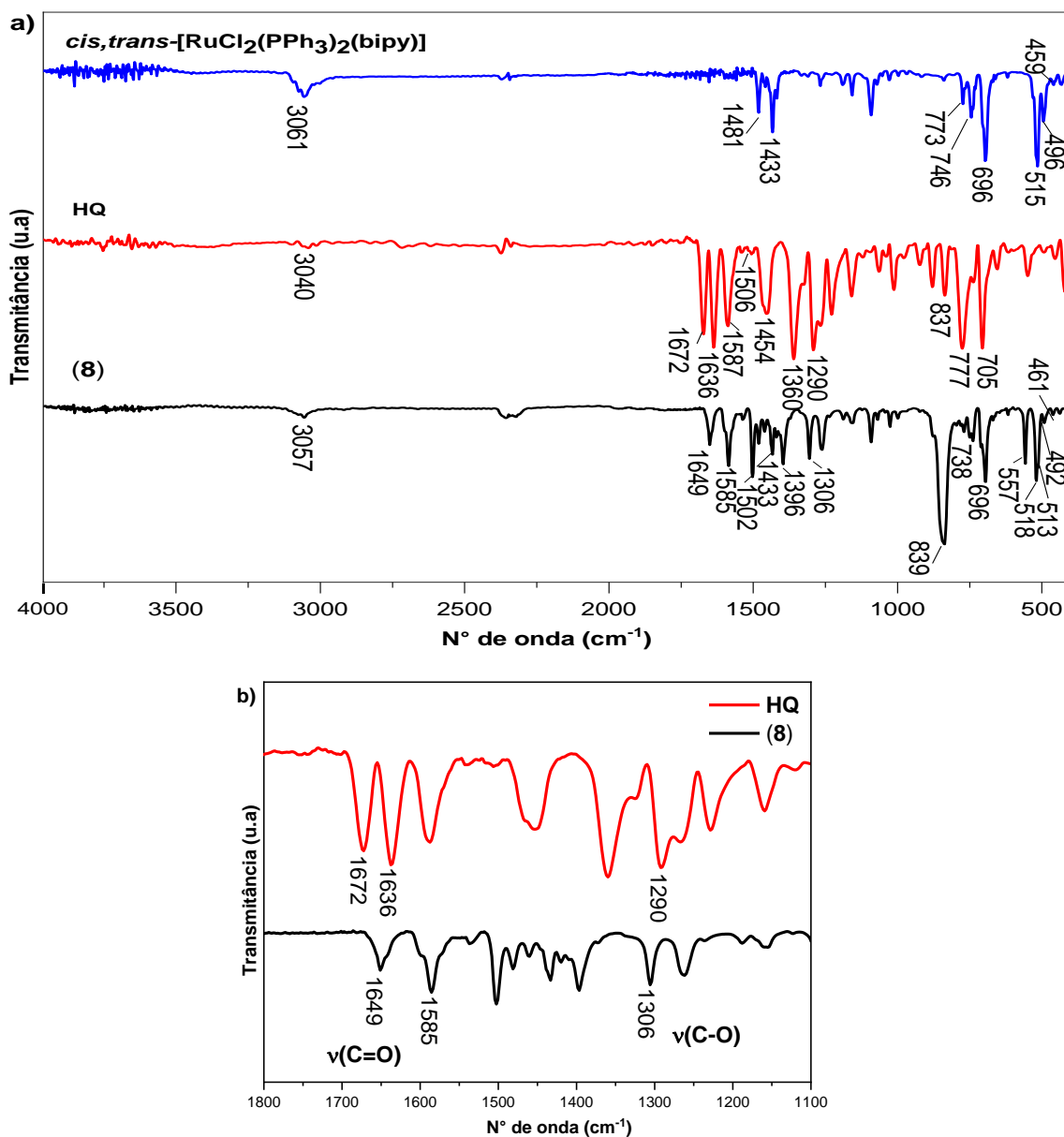
Fonte: Da autora.

Notas: ***mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)]** - 3331 cm<sup>-1</sup> (m) v(O-H); 3049 cm<sup>-1</sup> (f) v(C-H) aromático; 2931 e 2866 cm<sup>-1</sup> (f) v(C-H) alifático; 1612 cm<sup>-1</sup> (F) δ(O-H), 1485-1433 cm<sup>-1</sup> (m-F) v(C=C) aromático; 1192, 1088 e 1009 cm<sup>-1</sup> (F a m) v(P-C) aromático; 814 cm<sup>-1</sup> δ(C-H) aromático (m); 745 cm<sup>-1</sup> (m) γ(C-H) aromático; 690 cm<sup>-1</sup> (F) γ(C-H); 514, 499 cm<sup>-1</sup> (F, f) v(Ru-P) e 488 cm<sup>-1</sup> (f) v(Ru-O).

**HQ** - 3040 cm<sup>-1</sup> (f) v(C-H) aromático; 1672, 1636 cm<sup>-1</sup> (F) v(C=O) carbonila; 1587, 1506 e 1454 cm<sup>-1</sup> (m a F) v(C=C) aromático; 1360, 837 cm<sup>-1</sup> (F) δ(C-H) aromático; 1290 cm<sup>-1</sup> (F) v(C-O) fenol; 777 e 705 cm<sup>-1</sup> (F) γ(C-H) aromático.

**(7)** 3055 cm<sup>-1</sup> (f) v(C-H) aromático; 2940, 2910 e 2848 cm<sup>-1</sup> (f) v(C-H) alifático; 1662, 1611 cm<sup>-1</sup> (F) v(C=O) carbonila; 1572, 1528, 1483 e 1433 cm<sup>-1</sup> (f a F) v(C=C) aromático; 1368 (F) e 808 cm<sup>-1</sup> (m) δ(C-H) aromático, 1298 cm<sup>-1</sup> (F) v(C-O) fenol; 736 e 694 cm<sup>-1</sup> (F) γ(C-H) aromático; 511 e 496 cm<sup>-1</sup> (m) v(Ru-P) e 476 cm<sup>-1</sup> (f) v(Ru-O). **F** = forte, **m** = média, **f** = fraca, **v** = estiramento ou deformação axial, **δ** = deformação angular no plano e **γ** = deformação angular fora do plano.

Figura 97 - a) Espectros de FTIR de *cis,trans*-[RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)], HQ e **(8)** e b) região ampliada dos espectros de HQ e **(8)** (1800-1100 cm<sup>-1</sup>).



Fonte: Da autora.

Notas: *cis,trans*-[RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)] - 3061 cm<sup>-1</sup> (f) v(C-H) aromático; 1481, 1433 cm<sup>-1</sup> (m e F) v(C=N); 773 cm<sup>-1</sup> (m) δ(C-H) aromático, 746 e 696 cm<sup>-1</sup> (m e F) γ(C-H) aromático; 515 e 496 cm<sup>-1</sup> (F) v(P-F); 459 cm<sup>-1</sup> (f) v(Ru-N).

**HQ** - 3040 cm<sup>-1</sup> (f) v(C-H) aromático; 1672, 1636 cm<sup>-1</sup> (F) v(C=O) carbonila; 1587, 1506 e 1454 cm<sup>-1</sup> (m a F) v(C=C) aromático; 1360, 837 cm<sup>-1</sup> (F) δ(C-H) aromático; 1290 cm<sup>-1</sup> (F) v(C-O) fenol; 777 e 705 cm<sup>-1</sup> (F) γ(C-H) aromático.

**(8)** 3057 cm<sup>-1</sup> (f) v(C-H) aromático; 1649, 1585 cm<sup>-1</sup> (m) v(C=O) carbonila; 1502, 1433 e 1396 cm<sup>-1</sup> (m a F) v(C=C) aromático; 1306 cm<sup>-1</sup> (m) v(C-O) fenol; 839 e 557 cm<sup>-1</sup> (F e m) v(P-F); 738 (f) δ(C-H) aromático; 696 cm<sup>-1</sup> (m) γ(C-H) aromático; 518 e 513 cm<sup>-1</sup> (m) v(Ru-P); 492 cm<sup>-1</sup> (f) v(Ru-O); 461 cm<sup>-1</sup> (f) v(Ru-N); **F** = forte, **m** = média, **f** = fraca, **v** = estiramento ou deformação axial, **δ** = deformação angular no plano e **γ** = deformação angular fora do plano.

Tabela 20 - Principais bandas e atribuições dos espectros de IV dos precursores, HQ e novos complexos.

<b>Atribuições (intensidades)</b>	<b><i>mer</i>- [RuCl<sub>3</sub>(dp pb)(H<sub>2</sub>O)]</b>	<b><i>c,t</i>- [RuCl<sub>2</sub>(PP h<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)]</b>	<b>HQ</b>	<b>(7)</b>	<b>(8)</b>
v(O-H) (m)	3331	-	-	-	-
v(C-H) aromático(f)	3049	3061	3040	3055	3057
v(C=O) carbonila (F)	-	-	1672, 1636	1662, 1611	1649, 1585
δ(O-H) (F)	1612	-	-	-	-
v(C=N) (F)	-	1481,1433	-	-	-
	1192 (f)				
v(P – C) <sub>aromático</sub>	1088 (m) 1009 (f)	-	-	-	-
v(C=C) aromático (m-F)	1485-1433	-	1587 a 1454	1572 a 1433	1502 a 1396
v(C-O) aromático (F-m)	-	-	1290	1298	1306
δ(C-H) aromático (m-f)	814	773	837	808	738
γ(C-H) aromático (m-F)	745	746, 696	777, 705 (F)	736, 694	696
v(Ru– P) (m)	514, 499	515, 496	-	511, 496	518, 513
v(P-F) (F) e δ(P–F) (m)	-	-	-	-	839 e 557
v(Ru-O) (f)	488	-	-	476	492
v(Ru-N) (f)	-	459	-	-	461

Fonte: Da autora.

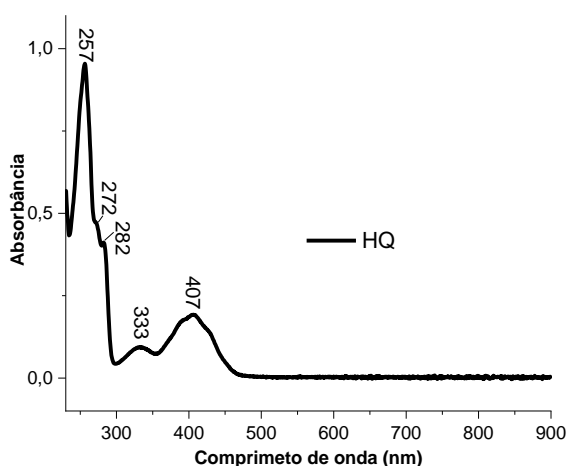
Notas: - = ausência de banda, **F** = forte, **m** = média e **f** = fraca. **v** = estiramento ou deformação axial, **δ** = deformação angular no plano e **γ** = deformação angular fora do plano.

Bandas de forte intensidade também foram identificadas no espectro de **(8)** em 839 e 557  $\text{cm}^{-1}$  correspondentes ao  $\nu(\text{P-F})$  e  $\delta(\text{P-F})$ , respectivamente, indicando a presença do contra íon  $\text{PF}_6^-$  na estrutura. Bandas em 518 e 513  $\text{cm}^{-1}$  referentes aos  $\nu(\text{Ru-P})$  também foram identificadas, assim como as de fraca intensidade em 492  $\text{cm}^{-1}$   $\nu(\text{Ru-O})$  e 461  $\text{cm}^{-1}$   $\nu(\text{Ru-N})$  (NAKAMOTO, 2009).

### 5.2.2 Espectroscopia de absorção na região do ultravioleta-visível

A presença de ligações duplas conjugadas em um sistema extenso como as antraquinonas faz com que absorvam comprimentos de onda na região ultravioleta e visível (DIAZ-MUÑOZ *et al.*, 2018), fato que foi observado no espectro de UV-vis da HQ (Figura 98), o qual apresentou três bandas em 257, 333 e 407 nm, sendo ambas de elevada absorvidade molar ( $\epsilon \approx 10^4 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) atribuídas à TCIL  $\pi \rightarrow \pi^*$  (ANOUAR *et al.*, 2014). Embora a molécula apresente dois grupos carbonilas, infere-se que as transições  $n \rightarrow \pi^*$  do par de elétrons dos átomos de oxigênio das carbonilas sejam suprimidas pelas bandas citadas anteriormente, devido este tipo de transição eletrônica apresentar baixa intensidade de absorção ( $\Delta l = 0$ ), caso ocorra.

Figura 98 - Espectro de UV-vis de HQ em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$   $2,65 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

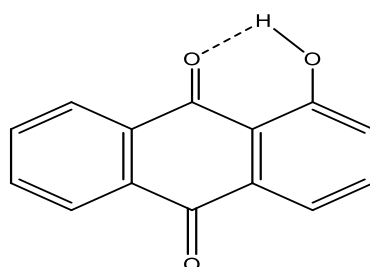


Fonte: Da autora.

A posição e intensidade das bandas de absorção são fortemente afetadas pela natureza dos substituintes auxocromos (hidroxilas) e do ambiente (solventes polares ou apolares), pois ligações de hidrogênio intramoleculares causam deslocamentos

para maiores comprimentos de onda devido a formação de um pseudo-anel, ocasionando a extensão do sistema conjugado (ANOUAR *et al.*, 2014) conforme representado na Figura 99.

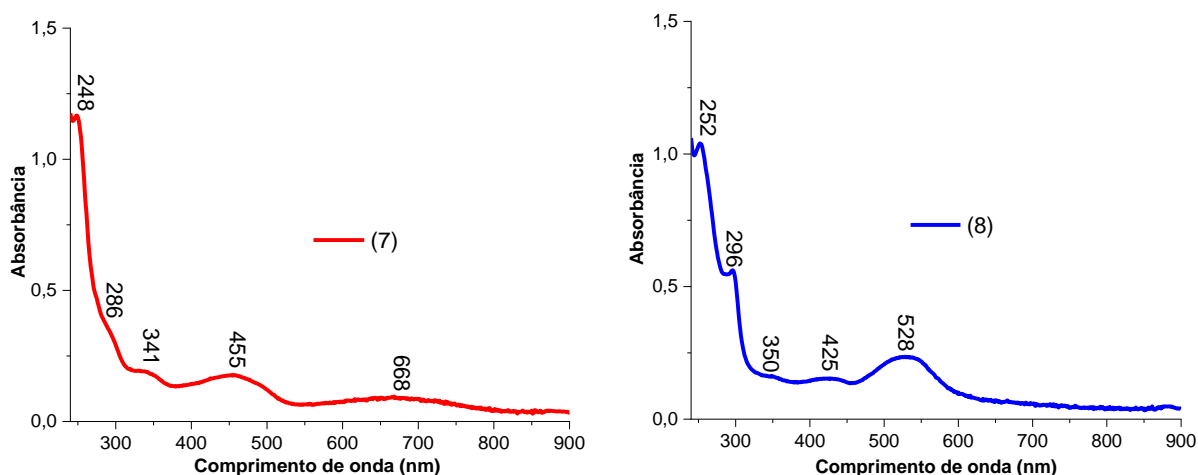
Figura 99 - Ligação de hidrogênio intramolecular da HQ.



Fonte: Da autora.

O espectro de UV-vis de (7) (em vermelho) (Figura 100) apresentou deslocamento das bandas características de HQ para maiores comprimentos de onda, além do surgimento de uma banda em 668 nm, justificando a coloração verde do complexo (Figura 101).

Figura 100 - Espectros de UV-vis dos complexos (7) e (8) em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.



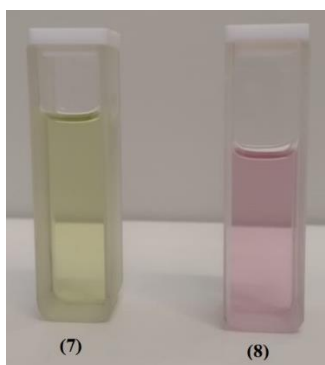
Fonte: Da autora.

Nota: Concentrações de (7)  $1,63 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  e (8)  $1,27 \times 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .

Sugere-se, portanto, que a banda em 248 nm com elevada absorvidade molar e o ombro em 286 nm sejam originadas por TCIL  $\pi \rightarrow \pi^*$  provenientes dos anéis aromáticos da dppb (WOHNRATH, 1999) e HQ (ANOUAR *et al.*, 2014), enquanto as demais (341, 455 e 668 nm) estejam relacionadas à TCLM, conforme relatado para

outros complexos de Ru(III) (EJIDIKE; AJIBADE, 2015, 2016; RAJU *et al.*, 2012; VENKATACHALAM).

Figura 101 - Cores dos complexos da série 2.



Fonte: Da autora.

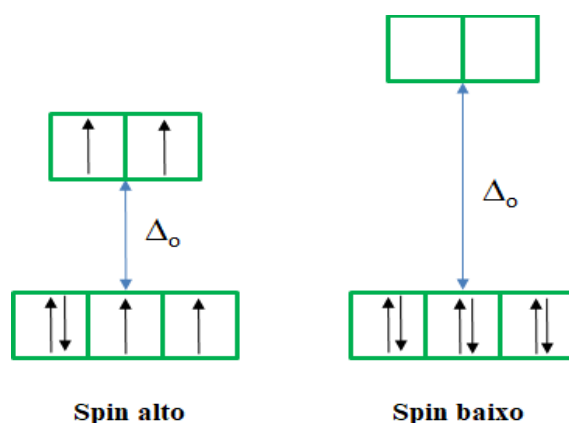
Da mesma maneira, as bandas com maiores absorvidades molares (252 e 296 nm) no espectro de **(8)** são atribuídas a TCIL  $\pi \rightarrow \pi^*$  dos anéis aromáticos da  $\text{PPh}_3$ , bipy e HQ. O Ru(II) em um campo octaédrico, pode apresentar duas configurações eletrônicas para o íon metálico:  $t_{2g}^4 e_g^2$  (spin alto) ou  $t_{2g}^6$  (spin baixo) (Figura 102). Considerando que a maioria dos ligantes que compõem a esfera de coordenação de **(8)** são de campo forte, ou seja, são bons receptores  $\pi$  ( $\text{PPh}_3$  e bipy), a carga do metal, as absorvidades molares associadas as bandas de absorção observadas no espectro, infere-se que este complexo seja de spin baixo e as bandas observadas sejam originadas de TCML, podendo envolver os orbitais  $d\pi\text{Ru} \rightarrow \pi^*(\text{bipy})$ , comumente observadas em complexos análogos de Ru(II) (BARBOSA *et al.*, 2014a; SANTOS *et al.*, 2013).

A cor roxa de **(8)** (Figura 101) não pôde ser prevista facilmente observando o espectro de UV-vis, uma vez que ocorreu a presença de duas bandas de diferentes energias (425 e 528 nm) na região visível e, portanto, a cor final visualizada é resultante da cor predominante após as diversas absorções serem removidas da luz branca (MIESSLER; FISCHER; TARR, 2014).

Enfatiza-se ainda que as bandas referentes às transições d-d não foram visualizadas nos espectros de UV-vis de **(7-8)**, possivelmente por apresentarem

pequenos valores de absorvidade molar (MIESSLER; FISCHER; TARR, 2014) e estarem suprimidas pelas bandas correspondentes às transferências de carga.

Figura 102 - Representação dos orbitais d em um campo octaédrico para a configuração eletrônica  $d^6$ .



Fonte: Da autora.

Na Tabela 21 estão reunidos os comprimentos de onda de absorção ( $\lambda$ ), absorvância (Abs), absorvidades molares ( $\epsilon$ ) do ligante HQ e novos complexos, bem como suas atribuições.

Tabela 21 - Coeficientes de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) e atribuições das bandas (série 2).

(continua)

Compostos	$\lambda$ (nm) (Abs)	$\epsilon$ (L·mol <sup>-1</sup> ·cm <sup>-1</sup> )	Transições eletrônicas
HQ	257 (0,9543)	36.011	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
	272 (0,4715)	ombro	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
	282 (0,4113)	ombro	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
	333 (0,0944)	3.562	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
	407 (0,1923)	7.257	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
(7)	248 (1,1663)	71.552	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
	286 (0,3841)	ombro	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
	341 (0,1886)	ombro	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ e TCLM
	455 (0,1768)	10.847	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$ e TCLM
	668 (0,0955)	5.859	TCLM

Tabela 21 - Coeficientes de absorvidade molar ( $\epsilon$ ) e atribuições das bandas (série 2).

Compostos	$\lambda$ (nm)	$\epsilon$ (L·mol <sup>-1</sup> ·cm <sup>-1</sup> )	Transições eletrônicas
	(Abs)		
(8)	252 (1,0400)	81.889	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
	296 (0,5614)	44.204	TCIL $\pi \rightarrow \pi^*$
	350 (0,1611)	ombro	TCML $d\pi Ru \rightarrow \pi^*(bipy)$
	425 (0,1531)	ombro	TCML $d\pi Ru \rightarrow \pi^*(bipy)$
	528 (0,2354)	18.535	TCML $d\pi Ru \rightarrow \pi^*(bipy)$

Fonte: Da autora.

Cálculos TD-DFT semelhantes aos que foram realizados para a série 1 serão incluídos no artigo que se pretende publicar com a série 2 de forma a confirmar as transições eletrônicas propostas nesta seção

### 5.2.3 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

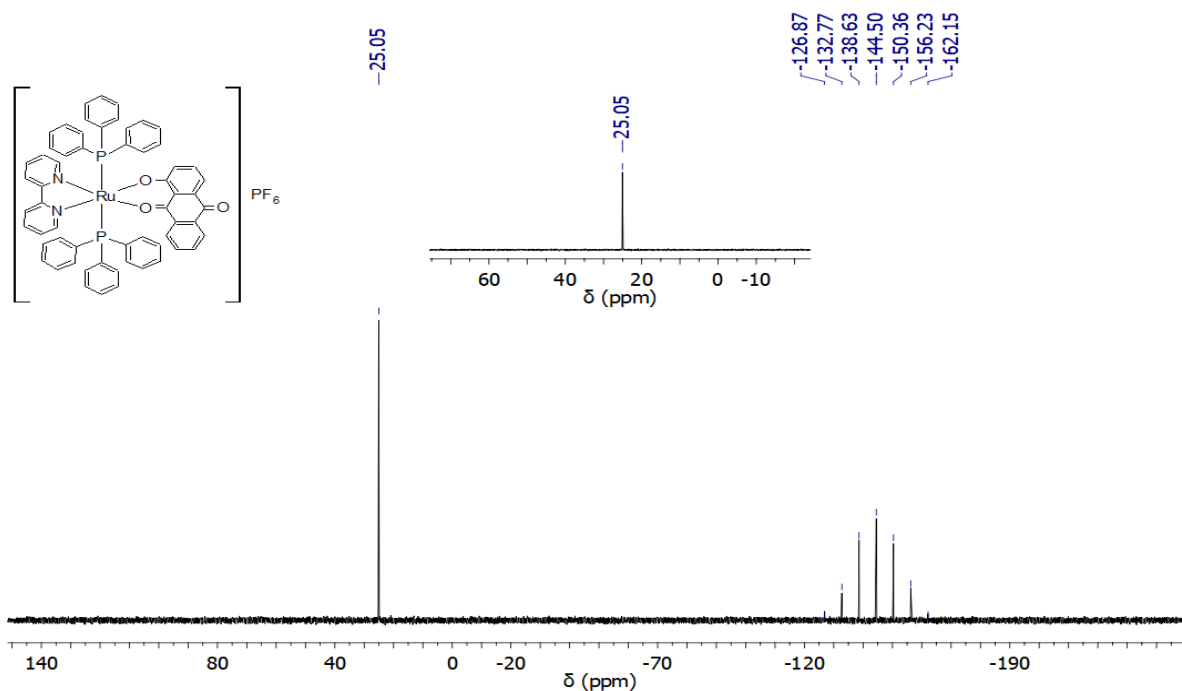
Importante ressaltar neste trabalho que apenas o complexo (8) contendo Ru(II) foi analisado por esta técnica, os demais compostos apesar de possuírem ligantes fosfínicos apresentam um centro paramagnético Ru(III), o qual afeta fortemente o campo magnético local de cada núcleo que apresenta momento angular resultante, originando sinais não tão bem definidos quanto os de compostos diamagnéticos (HOUSECROFT; SHARPE, 2012). Os elétrons desemparelhados geram um grande campo magnético local causando uma diferença de energia entre os estados de spin nuclear e induzindo um relaxamento rápido dos mesmos, fato que aumenta significativamente a ressonância e dá origem a sinais intensos e alargados no espectro (NOVOTNÝ *et al.*, 2018).

Diante do exposto, estudou-se inicialmente o espectro de RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} do precursor *cis,trans*-[RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)], o qual apresenta um singleto em 21,53 ppm demonstrando equivalência entre os átomos de fósforo em um ambiente químico em que os ligantes PPh<sub>3</sub> estão *trans* entre si (BATISTA *et al.*, 2001; OLIVEIRA, 2014).

O complexo (8) exibiu um singleto em 25,05 ppm (Figura 103), o qual demonstra a manutenção da equivalência dos núcleos de fósforo, indicando que eles permanecem *trans* entre si. Entretanto, o deslocamento do sinal para maior frequência

sugere maior desblindagem dos átomos de fósforo apontando a coordenação do ligante HQ, devido ao menor caráter doador de densidade eletrônica dos átomos de oxigênio quando comparado aos dois átomos de cloro. Notou-se também um septeto em -144,50 ppm, que representa o acoplamento mútuo entre diferentes núcleos magneticamente ativos como ocorre com o fósforo e flúor do contra-íon  $\text{PF}_6^-$ .

Figura 103 - Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo (**8**) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ .

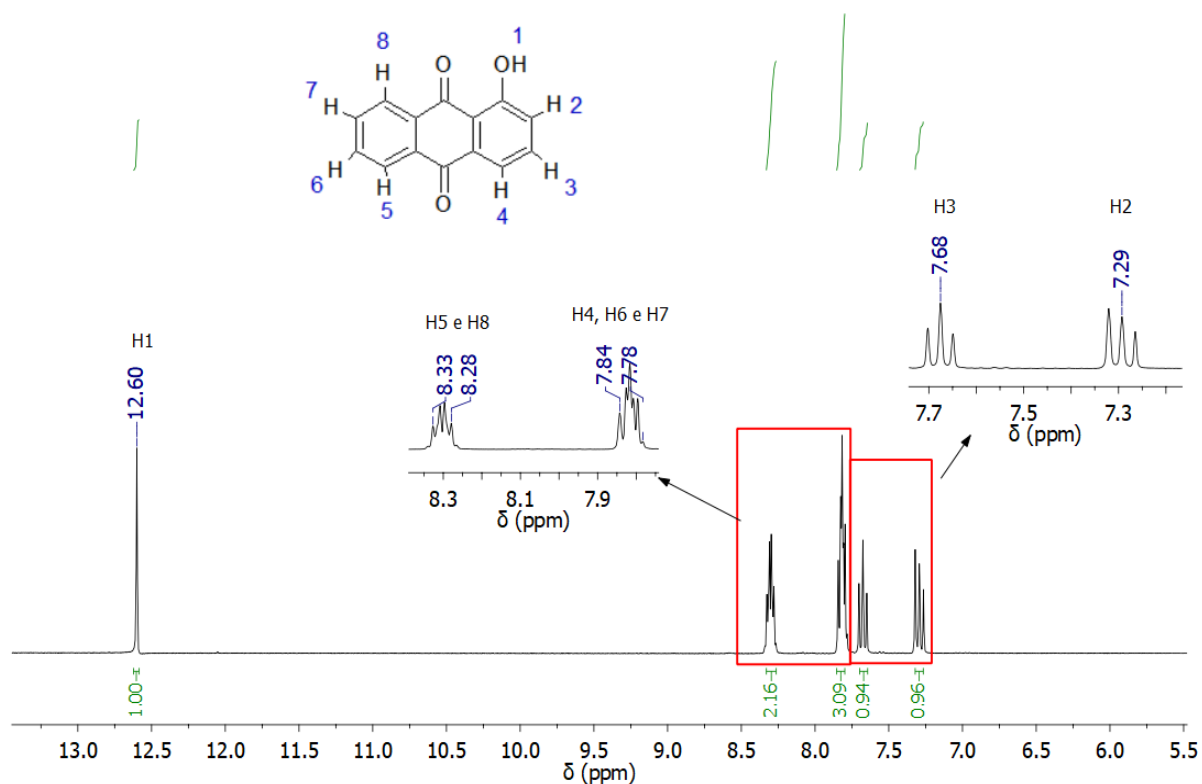
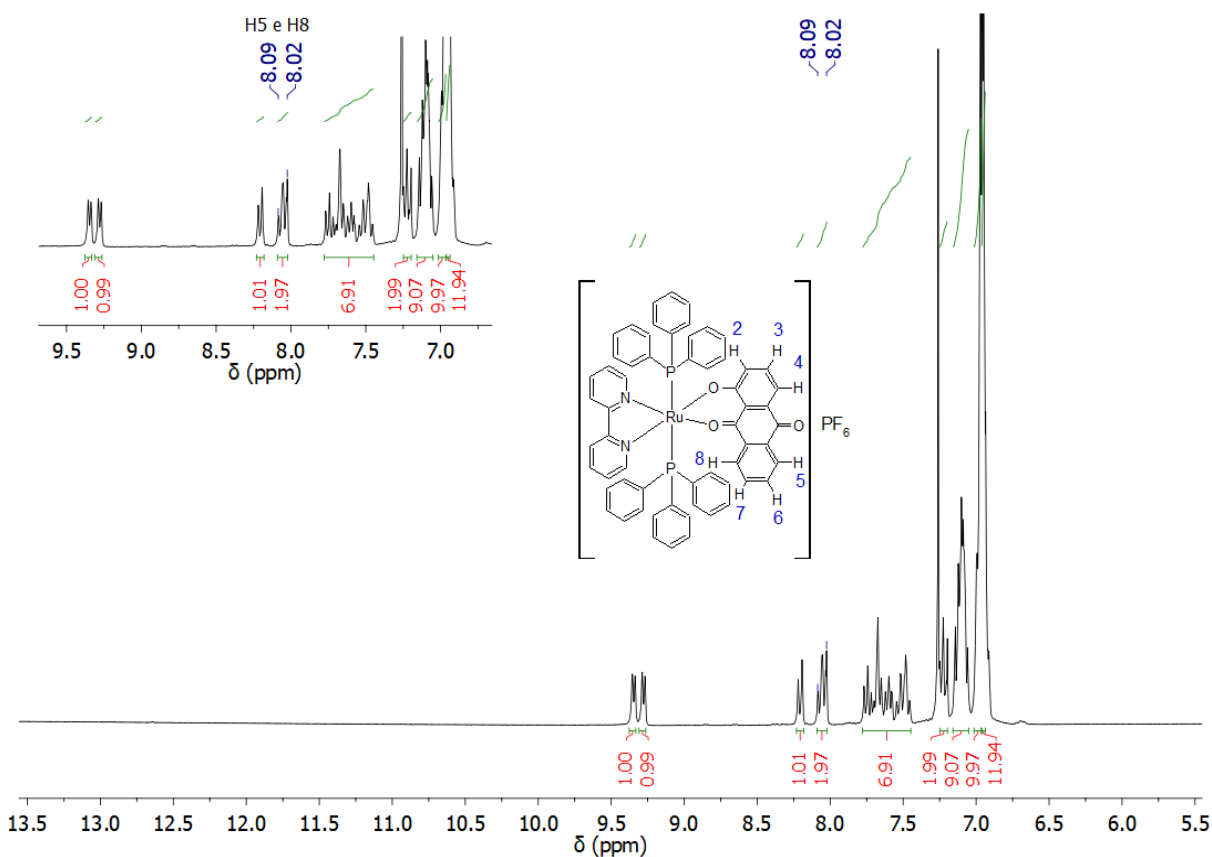


Fonte: Da autora.

Os espectros de RMN  $^1\text{H}$  do ligante isolado (HQ) e do complexo (**8**) estão representados na Figura 104 - a) e b) respectivamente, onde comparando-se ambos nota-se como primeira evidência da coordenação ao metal ausência do sinal em 12,60 ppm referente à hidroxila do ligante, confirmando a desprotonação.

Observou-se também a blindagem dos hidrogênios H5 e H8 (Figura 104-b), indicado através dos deslocamento dos sinais para menores frequências (de 8,33-8,28 ppm para 8,09-8,02 ppm).

Na Tabela 22 encontram-se reunidos os deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN  $^1\text{H}$ , no entanto alguns destes não foram possíveis serem atribuídos devido as sobreposições de sinais, principalmente na região referente aos hidrogênios dos anéis aromáticos. Ressalta-se ainda a concordância dos valores das integrais com a estrutura esperada.

Figura 104 - a) Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da HQ em  $\text{CDCl}_3$ .b) Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (8) em  $\text{CDCl}_3$ .

Fonte: Da autora.

Tabela 22 - Deslocamentos químicos dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  da HQ e (8).

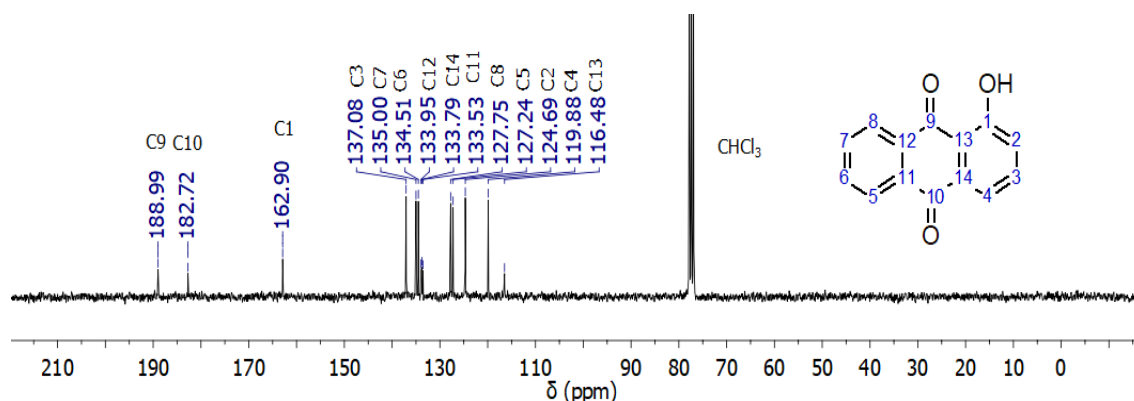
Compostos	H1	H5, H8	H4, H6 e H7	H3	H2
HQ	12,60 s	8,33-8,28 m	7,84-7,78 m	7,68 t $^2J_{\text{P-P}} =$ 7,50 Hz	7,29 t $^2J_{\text{P-P}} =$ 7,00 Hz
(8)	-	8,09-8,02 m	-	-	-

Fonte: Da autora.

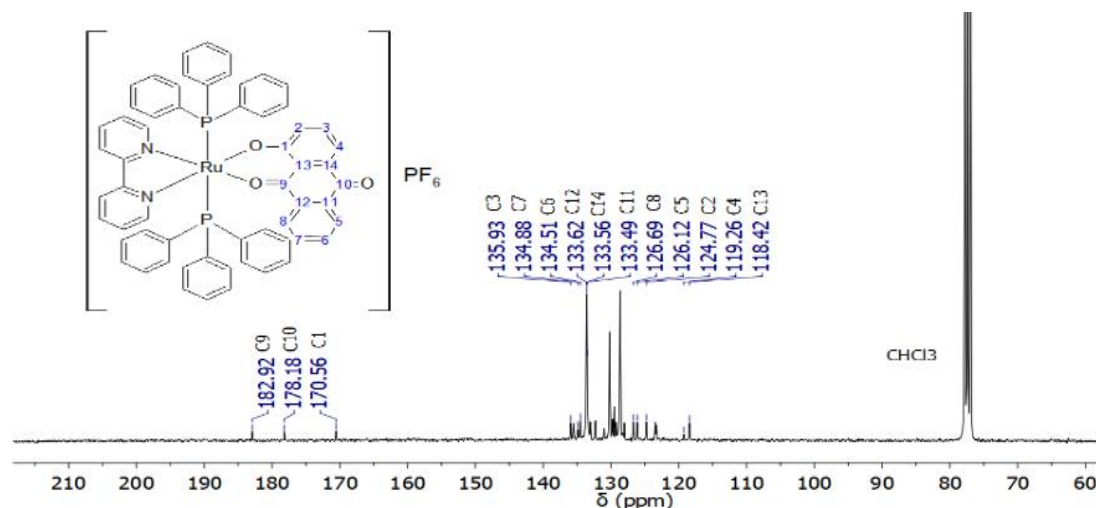
Notas: - = ausência de sinal, s = singlete, m = multipeto e t = tripleto.

Analisando os espectros de RMN  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  do ligante livre e do respectivo complexo (Figura 105 - a e b) observou-se significativas mudanças, como por exemplo no espectro de (8) o sinal referente ao C1 deslocou-se para maiores frequências (de 162,90 para 170,56 ppm) apontando a desblindagem do núcleo, assim como os carbonos vizinhos C2 e C13 (Tabela 23).

Figura 105 - a) Espectro de RMN  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  da HQ em  $\text{CDCl}_3$ .



b) Espectro de RMN  $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$  de (8) em  $\text{CDCl}_3$ .



Fonte: Da autora.

Tabela 23 - Deslocamentos químicos dos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$   $\{^1\text{H}\}$  da HQ e (8).

	<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>	<b>C4</b>	<b>C5</b>	<b>C6</b>	<b>C7</b>
<b>HQ</b>	162,90	124,69	137,08	119,88	127,24	134,51	135,00
<b>(8)</b>	170,56	124,77	135,93	119,26	126,12	134,51	134,88
<b><math>\Delta\delta</math></b>	-7,66	-0,08	+1,15	+0,62	+1,12	0	+0,12

	<b>C8</b>	<b>C9</b>	<b>C10</b>	<b>C11</b>	<b>C12</b>	<b>C13</b>	<b>C14</b>
<b>HQ</b>	127,75	188,99	182,72	133,53	133,95	116,48	133,79
<b>(8)</b>	126,69	182,92	178,18	133,49	133,62	118,42	133,56
<b><math>\Delta\delta</math></b>	+1,06	+6,07	+4,54	+0,04	+0,33	-1,94	+0,23

Fonte: Da autora.

Em contraposição, os carbonos 9 e 10 foram fortemente blindados, fato que sugere a coordenação pelos grupos carbonila e fenolato. A blindagem da carbonila (C9) pode ser justificada pela natureza acceptora de densidade eletrônica (orbital  $\pi^*$ ) deste grupo (GOODEN *et al.*, 1997), o qual pode receber elétrons do Ru(II). Os deslocamentos químicos e respectivas atribuições encontram-se reunidos na Tabela 23. Os sinais referentes aos demais carbonos demonstraram redistribuição da densidade eletrônica deslocando-se para menores frequências, devido HQ possuir um extenso sistema  $\pi$  deslocalizado.

#### 5.2.4 Condutimetria

As medidas de condutividade molar obtidas em diclorometano para os complexos desta série encontram-se reunidas na Tabela 24.

Tabela 24 - Condutividade molar dos complexos da série 2.

<b>Complexos</b>	<b>Condutividade Molar</b> <b>ohm<math>^{-1}</math>cm<math>^2</math> mol<math>^{-1}</math> (T °C)</b>
<b>(7)</b>	0,34 (20,1)
<b>(8)</b>	46,50 (20,2)

Fonte: Da autora.

Nota: Faixa de condutividade molar em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : Composto neutro < 12 ohm $^{-1}$ cm $^2$ mol $^{-1}$ ; 1:1 12-77 ohm $^{-1}$ cm $^2$ mol $^{-1}$

Os resultados indicaram eletrólito neutro para (7), pois sua condutividade molar manteve-se abaixo de  $12 \text{ ohm}^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$  (faixa do  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  neutro  $< 12 \text{ ohm}^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$ ) (GEARY, 1971), enquanto para (8) foi confirmado a presença de um contra íon, devido o valor de condutividade molar encontrar-se na faixa entre ( $12\text{-}77 \text{ ohm}^{-1}\text{cm}^2\text{mol}^{-1}$ ) (GEARY, 1971) (Tabela 24).

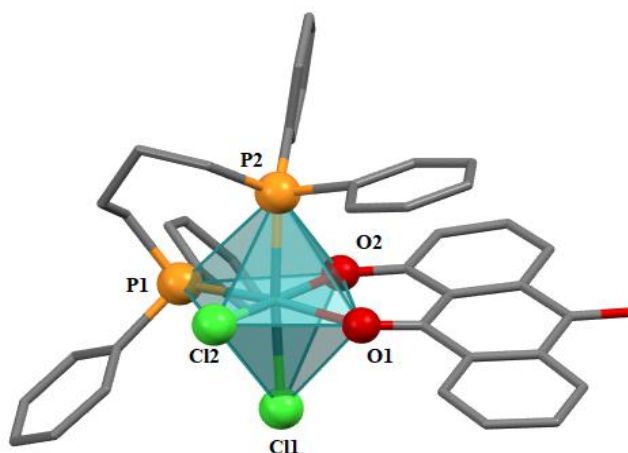
Os resultados sugerem, portanto, coordenação da HQ na forma aniônica após a desprotonação da hidroxila do grupo fenólico, de forma análoga às HB.

### 5.2.5 Difração de raios X por monocristal

A elucidação estrutural do complexo (7) por meio de DRXM (Figura 106) permitiu confirmar os resultados obtidos nas técnicas anteriores e os principais dados cristalográficos, de coleta e refinamento encontram-se sumarizados na Tabela 25.

Analogamente aos complexos da série 1, (7) é hexacoordenado e apresenta geometria octaédrica distorcida, sendo que os átomos de cloro encontram-se em posição *cis*, uma vez que o átomo O1 do grupo carbonila está *trans* ao átomo P1 da dppb e o átomo de O2 do grupo fenolato está *trans* ao átomo Cl2. A estrutura apresenta-se anidra.

Figura 106 - Representação estrutural da unidade assimétrica do complexo (7) com poliedro demonstrando geometria octaédrica distorcida ao redor do cátion Ru(III).



Fonte: software Mercury (versão 4.2.0) MACRAE *et al.* (2008).

Nota: Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza às representações.

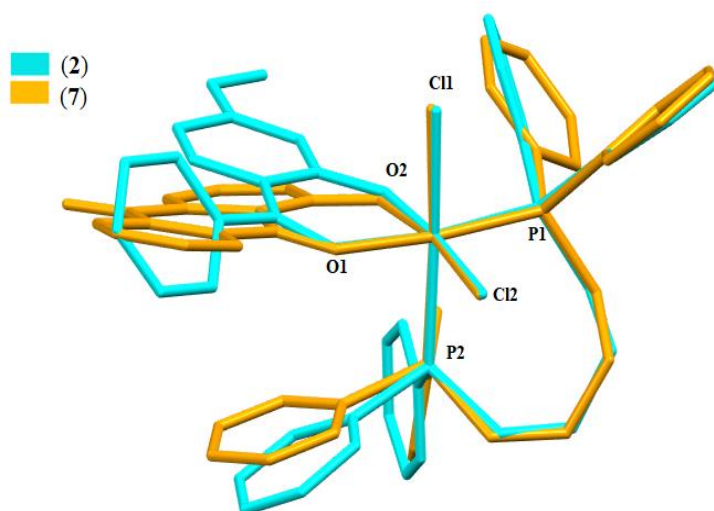
Tabela 25 – Principais dados cristalográficos do complexo (7).

<b>Complexo</b>	<b>(7)</b>
Fórmula empírica	$C_{42}H_{35}Cl_2O_3P_2Ru$
Peso molecular (g/mol)	821,61
Temperatura (K)	296
Comprimento de onda (Å)	0,71073
Sistema Cristalino	<i>Monoclínico</i>
Grupo Espacial	<i>P2<sub>1</sub>/c</i>
Parâmetros de célula (Å)	a = 12,7580(6)
	b = 10,1642(4)
	c = 27,9431(10)
(°)	$\beta = 94,237(4)$
Volume(Å <sup>3</sup> )	3613,6(3)
Z	4
Densidade (Mg.m <sup>-3</sup> )	1,510
Coeficiente de absorção(mm <sup>-1</sup> )	0,710
F(000)	1676
Intervalo $\theta$ da coleta de dados (°)	2,565 a 27,103
Limite de índices	$-16 \leq h \leq 14$
	$-13 \leq k \leq 13$
	$-35 \leq l \leq 35$
Reflexões coletadas/ Reflexões independentes	39931 / 7953 [R(int) = 0,0361]
Completeza de $\theta$ (%)	99,9
Método de refinamento	Mínimos quadrados de matriz completa
Dados / restrições / parâmetros	7953/ 0 /451
GooF	1,147
Índices R final[ $l > 2\sigma(l)$ ]	R1 = 0,0343, wR2 = 0,0704

Fonte: Da autora.

Observa-se que (7) possui geometria intramolecular comparável às observadas para a série 1 (2-5), como exemplificado fazendo-se a sobreposição de (2) e (7), considerando no cálculo os pares de átomos homólogos da esfera de coordenação (metal e os seis átomos a ele ligados) (Figura 107).

Figura 107 - Sobreposição das estruturas (2) e (7) selecionando os cátions Ru(III) e os seis átomos homólogos na esfera de coordenação.



Fonte: software Mercury (versão 4.2.0) MACRAE *et al.* (2008).

Nota: Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza às representações.

Os principais comprimentos de ligações e ângulos apresentados por (7) encontram-se reunidos na Tabela 26. Nota-se comportamento semelhante aos complexos da série 1, em que a ligação Ru-P2 2,3715(7) Å é maior do que a ligação Ru-P1 2,2957(7) Å. Tal comportamento se deve aos átomos de fósforo estarem suscetíveis a diferentes efeitos *trans* (DIAS *et al.*, 2018; MONTEIRO *et al.*, 2010), Cl1 por possuir maior caráter  $\sigma$ -doador em relação ao átomo de oxigênio carbonílico (O1) compete de forma mais intensa com o átomo *trans* a ele (P2), gerando repulsão eletrônica devido compartilharem os mesmos orbitais do metal e assim a ligação Ru-P2 possui maior comprimento (MIESSLER; FISCHER; TARR, 2014).

Os diferentes efeitos ocasionados pelos átomos *trans* também explicam o maior comprimento da ligação Ru-Cl1 2,3780(7) Å em relação à Ru-Cl2 2,3260(7) Å. Neste caso, o átomo P2 tem um efeito *trans* mais forte do que o átomo O2, devido a

capacidade do átomo de fósforo fazer retroligação com o cátion metálico (MIESSLER; FISCHER; TARR, 2014).

Em contraposição, a ligação Ru-O2 (1,9963(18) Å) é a mais curta da esfera de coordenação de (7), inferior inclusive a Ru-O1 (2,1013(17) Å), consequência da carga negativa de O2 e também devido ao efeito exercido pelo átomo *trans* a ele (Cl2).

O efeito *trans* exercido pelos átomos e discutido anteriormente em (7) também contribui para a distorção da geometria octaédrica, apresentando como maiores e menores desvios os ângulos formados entre as ligações P1-Ru-Cl2 95,85(3)° e Cl1—Ru—O1 83,71(6)°, respectivamente.

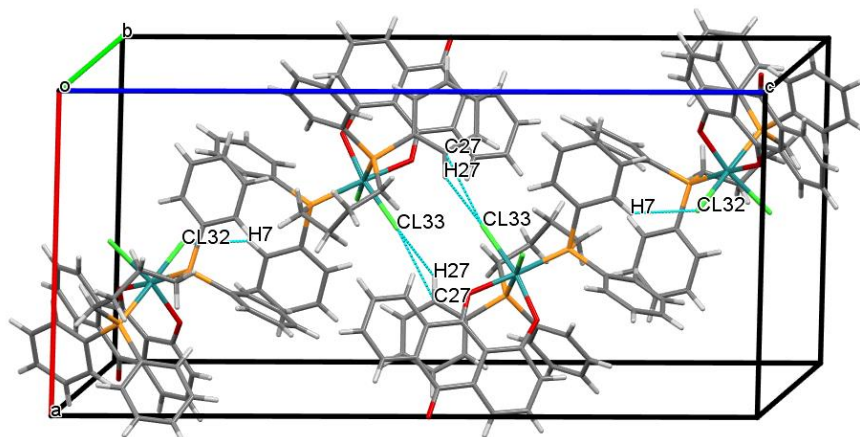
Tabela 26 - Principais comprimentos de ligações (Å) e ângulos (°) de (7).

Comprimentos de ligações (Å)		Ângulos (°)	
Ru-P1	2,2957(7)	P1—Ru—P2	93,84(3)
Ru-P2	2,3715(7)	P1—Ru—Cl1	90,46(3)
Ru—Cl1	2,3780(7)	P1—Ru—Cl2	<b>95,85(3)</b>
Ru—Cl2	2,3260(7)	P1—Ru—O2	93,37(5)
Ru—O1	2,1013(17)	P2—Ru—Cl2	86,67(3)
Ru—O2	1,9963(18)	P2—Ru—O1	92,00(6)
C29—O1	1,228(3)	P2—Ru—O2	87,59(6)
C31—O2	1,288(3)	Cl1—Ru—Cl2	93,99(3)
C33—O3	1,215(4)	Cl1—Ru—O1	<b>83,71(6)</b>
		Cl1—Ru—O2	91,06(6)
		Cl2—Ru—O1	83,76(6)
		O1—Ru—O2	87,60(6)

Fonte: software Mercury (versão 4.2.0) MACRAE *et al.* (2008) para as medidas de ângulos e comprimentos das ligações.

O empacotamento cristalino de (7) é estabilizado por ligações de hidrogênio clássicas e não clássicas, sendo que a primeira ocorre entre os átomos de hidrogênio H7 (doador) e cloro Cl32 (receptor) (D...A = 2,863 Å), enquanto a segunda envolve os átomos de carbono C27 (doador) e cloro Cl33 (receptor) (D ... H = 0,93 Å, D ... A = 3,418 (5) Å, H ... A = 2,670 Å, DH ... A = 138,0°), conforme representado na Figura 108.

Figura 108 - Empacotamento cristalino do complexo (7) estabilizado por ligações de hidrogênio clássicas e não clássicas ao longo do eixo c.

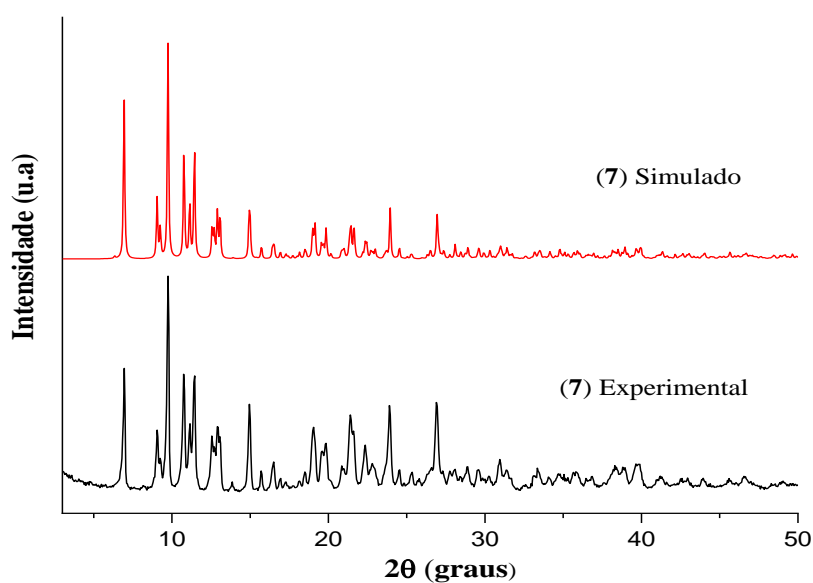


Fonte: software Mercury (versão 4.2.0) MACRAE *et al.* (2008).

### 5.2.6 Difração de raios X por policristais

A forma sólida do complexo (7) foi analisada por DRXP (Figura 109), a fim de se comparar com o difratograma simulado a partir do monocristal. Observou-se boa concordância entre os difratogramas, com a presença dos principais picos previstos e ausência de picos espúrios, confirmando a pureza do *bulk*.

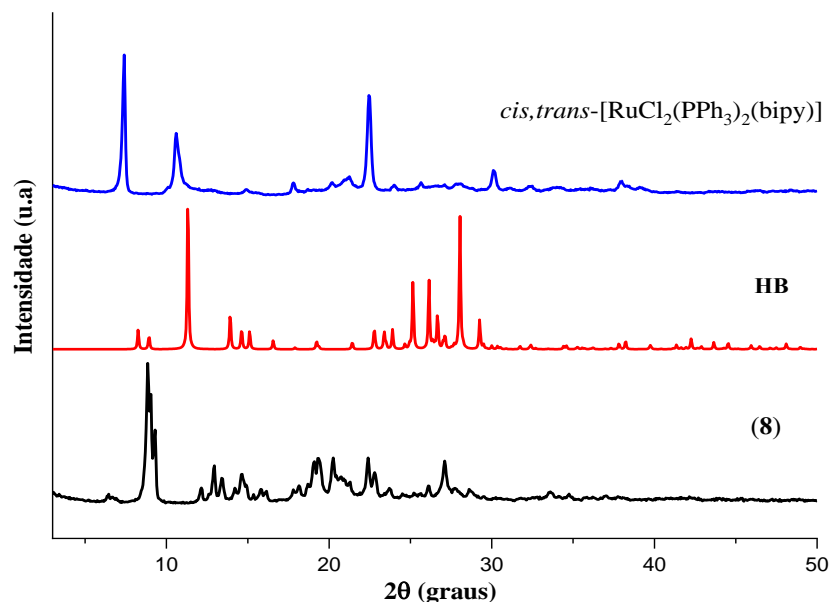
Figura 109 - Difratogramas simulado e experimental do complexo (7).



Fonte: Da autora.

Para esta série de complexos também foi realizado DRXP do precursor *cis,trans*-[RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)], ligante HQ e do complexo **(8)** (Figura 110) com o objetivo de identificar fases cristalinas diferentes dos reagentes de partida.

Figura 110 - Difratomogramas de *cis,trans*-[RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)], HQ e **(8)**.



Fonte: Da autora.

O difratograma de **(8)** apresentou um perfil de difração distinto do ligante e precursor, demonstrando a formação de uma nova fase cristalina que atribuímos ser do complexo. A aparente ausência dos picos mais intensos dos reagentes de partida sugerem que os mesmos não estão presentes no produto obtido e que o bulk possa ser monofásico contendo apenas o complexo.

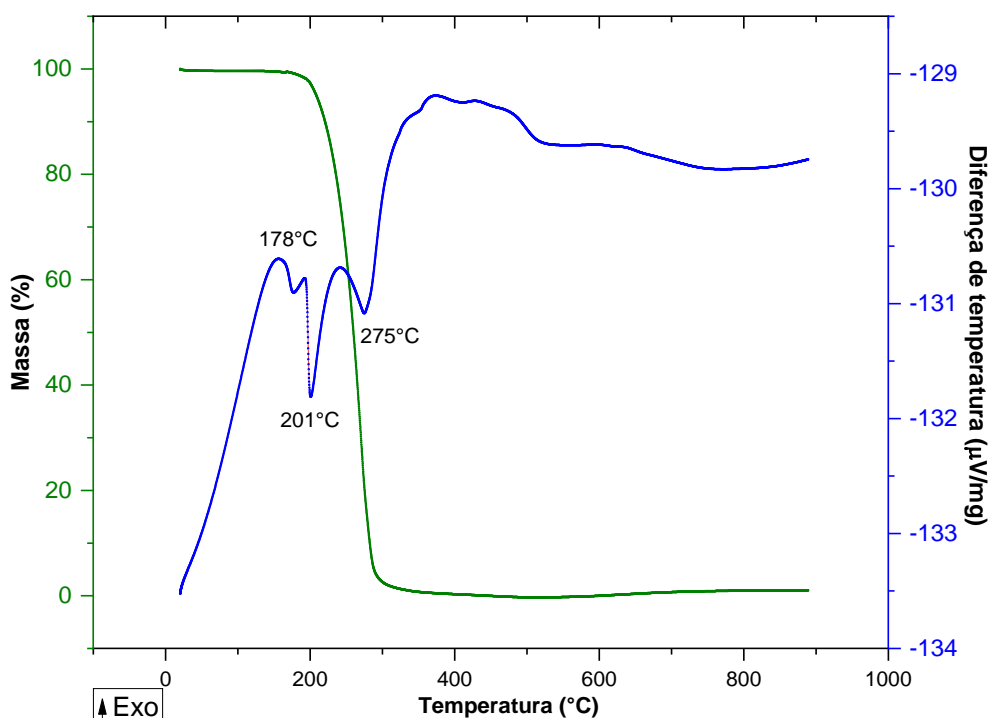
### 5.2.7 Análises térmicas

O ligante HQ e os complexos sintetizados tiveram suas estabilidades térmicas avaliadas por meio de TG e DTA, buscando estudar possíveis fenômenos físicos e/ou químicos das moléculas, bem como informações sobre a presença de solventes pertencentes às estruturas.

De acordo com a curva TG da HQ (Figura 111) a decomposição total da molécula ocorreu em uma única etapa até aproximadamente a temperatura de 300°C. Três picos endotérmicos foram observados na DTA, sendo o primeiro em 178 °C muito pequeno análogo a um ombro e refere-se provavelmente a alguma contaminação,

comportamento similar ao observado para 9,10-fenantrenoquinona (SOUSA *et al.*, 2012). Embora os dados da literatura apontem que a temperatura de fusão da HQ ocorra entre 192-194°C, nas condições deste experimento não foi possível obter resultados que pudessem ser correlacionadas ao evento fusão, uma vez que os outros dois picos endotérmicos apontados na DTA são acompanhados por perda de massa na curva TG, assim há evidências de que ocorram os fenômenos de sublimação (201°C) seguido de decomposição (275°C).

Figura 111 - Curvas TG e DTA da HQ.

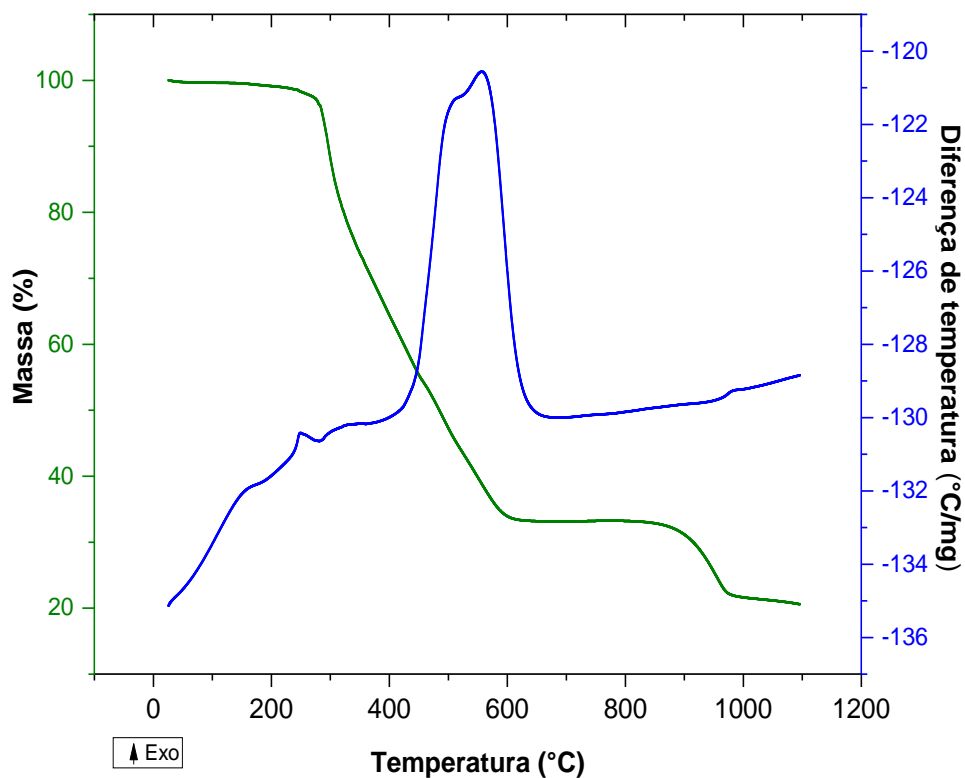


Fonte: Da autora.

A sublimação de outras antraquinonas antes de atingir a temperatura de decomposição já foi relatada na literatura (MOLDOVEANU, 2019) e pode também ser justificada pela pequena massa molar do ligante, quantidade de amostra utilizada e/ou condições de aquecimento da análise (SOUSA *et al.*, 2012; ZHANG *et al.*, 2010).

As curvas TG e DTA dos complexos **(7)** (Figura 112) e **(8)** (Figura 113) mostraram-se distintas do respectivo ligante, sendo possível observar aumento do número de eventos de decomposição e presença de massa residual indicando, portanto, a formação dos complexos. Os dados das análises térmicas de **(7)**, bem como os possíveis fragmentos de decomposição encontram-se reunidos na Tabela 27.

Figura 112 - Curvas TG e DTA de (7).



Fonte: Da autora.

Tabela 27 - Dados das análises térmicas do complexo (7) e atribuições dos possíveis fragmentos decompostos.

Etapas	$\Delta T$ (°C)	$\Delta m(\%)$		DTA picos (°C)		Atribuições
		Exp.	Calc.	Exo.	End.	
1	250-600	-66,89	-68,82	248 515 560		
2	600-1099	-12,55	-14,98			
Resíduo	1100	20,56	16,20			$RuO_2(s)$

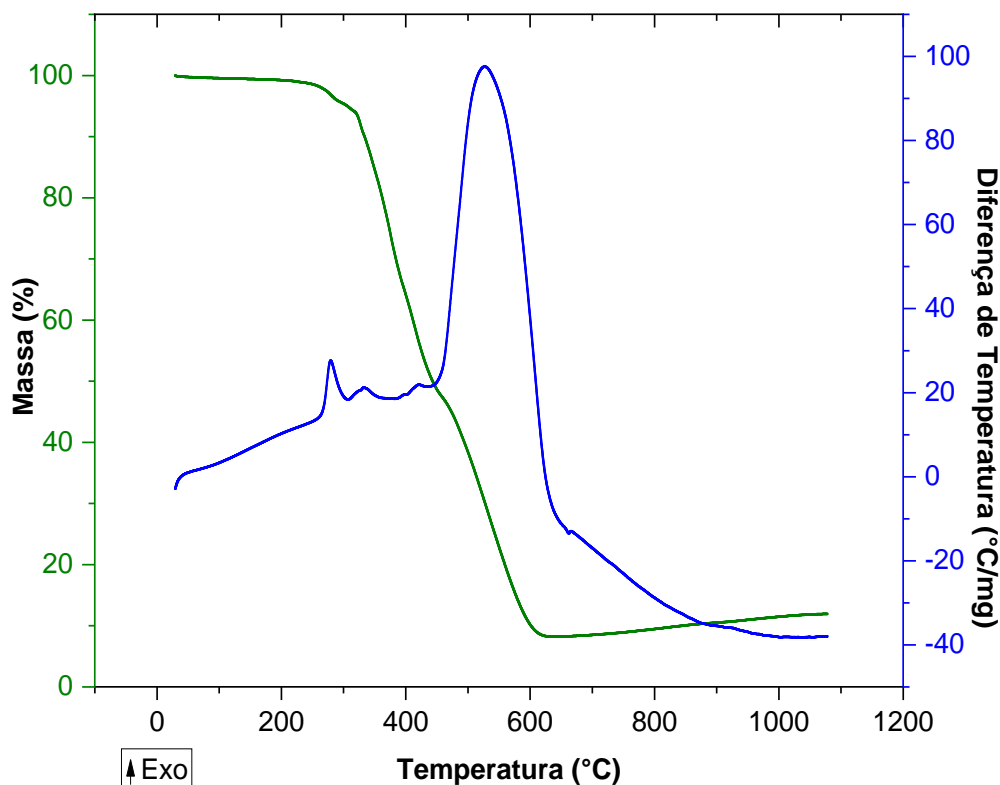
Fonte: Da autora.

A estabilidade térmica de **(7)** até aproximadamente 250°C (Figura 112), revelou ausência de solventes na estrutura, conforme demonstrado também por técnicas citadas anteriormente (IV, DRXM).

Duas etapas de decomposição foram observadas, a primeira com término em aproximadamente 600°C e a segunda não é finalizada até 1100°C, demonstrando comportamento análogo aos complexos da série 1. Como relatado anteriormente, a ausência de um patamar residual após 1000°C implica em maiores erros percentuais entre as perdas de massa teórica e experimental, bem como as respectivas atribuições.

O complexo **(8)** demonstrou estabilidade térmica até a temperatura de 245°C (Figura 113), indicando ausência de solventes na estrutura. A decomposição ocorreu em uma única etapa (Tabela 28) com término em aproximadamente 600°C, seguido de ganho de massa com posterior formação do resíduo.

Figura 113 - Curvas TG e DTA de **(8)**.

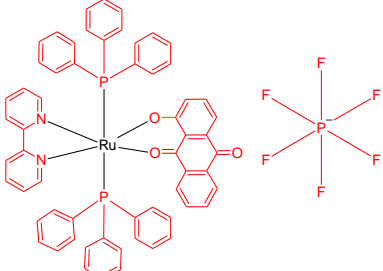


Fonte: Da autora.

Os resíduos obtidos após as análises térmicas dos complexos **(7)** e **(8)** foram analisados por DRXP (Figura 114) com a finalidade de auxiliar nas proposições dos

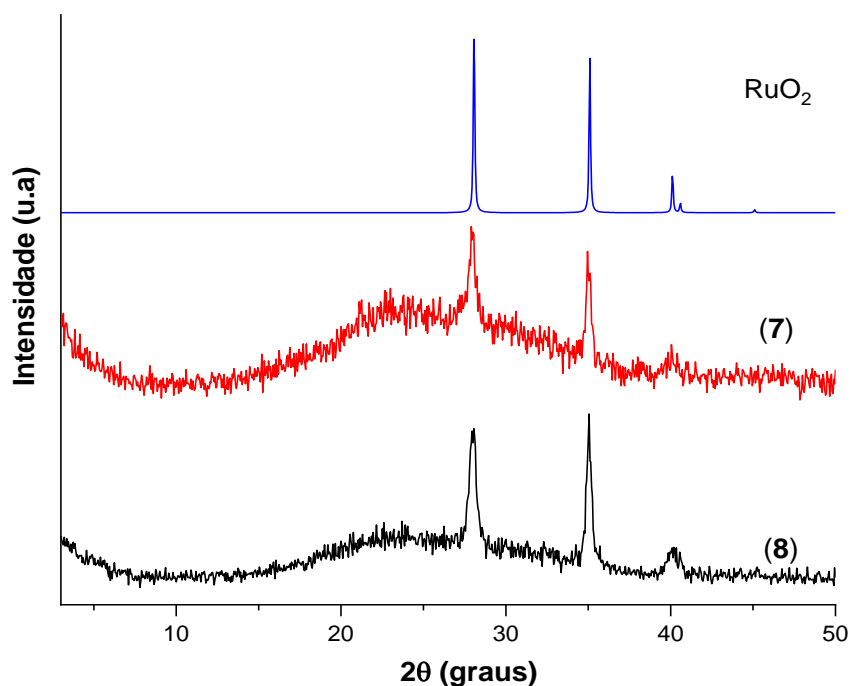
fragmentos decompostos, principalmente porque ambos não apresentaram um patamar até 1100 °C na curva TG.

Tabela 28 - Dados das análises térmicas do complexo (8) e atribuições dos possíveis fragmentos decompostos.

Etapas	$\Delta T$ (°C)	$\Delta m(\%)$		DTA picos (°C)		Atribuições
		Exp.	Calc.	Exo.	End.	
1	245-630	-91,77	-91,21	278 336 420 530		
2	630-1100	+3,69	+2,78			O <sub>2</sub>
Resíduo	1100	11,92	11,57			RuO <sub>2(s)</sub>

Fonte: Da autora.

Figura 114 - Difratomogramas dos resíduos de (7) e (8) após TGA/DTA.



Fonte: Da autora.

Nota: RuO<sub>2</sub> – Inorganic Crystal Structure Database – 84619-ICSD.

A pequena quantidade de amostra justifica o halo amorfo, a baixa cristalinidade do produto residual (cristalitos provavelmente nanométricos) e os picos mais largos da fase  $\text{RuO}_2$  nos difratogramas. Entretanto, é possível confirmar a formação de  $\text{RuO}_{2(s)}$ , devido a concordância entre os picos com o difratograma do banco de dados (em azul) (Figura 114).

Desta forma, os resultados obtidos por meio das análises térmicas indicaram ausência de solventes nas estruturas e estão de acordo com as propostas iniciais de (7) e (8) para suas fórmulas estruturais. Adicionalmente, notou-se distinta dinâmica de decomposição térmica de (8) em relação a (7), a qual pode estar relacionada aos diferentes estados de oxidação do íon metálico e dos demais ligantes envolvidos na esfera de coordenação.

### 5.2.8 Voltametria cíclica

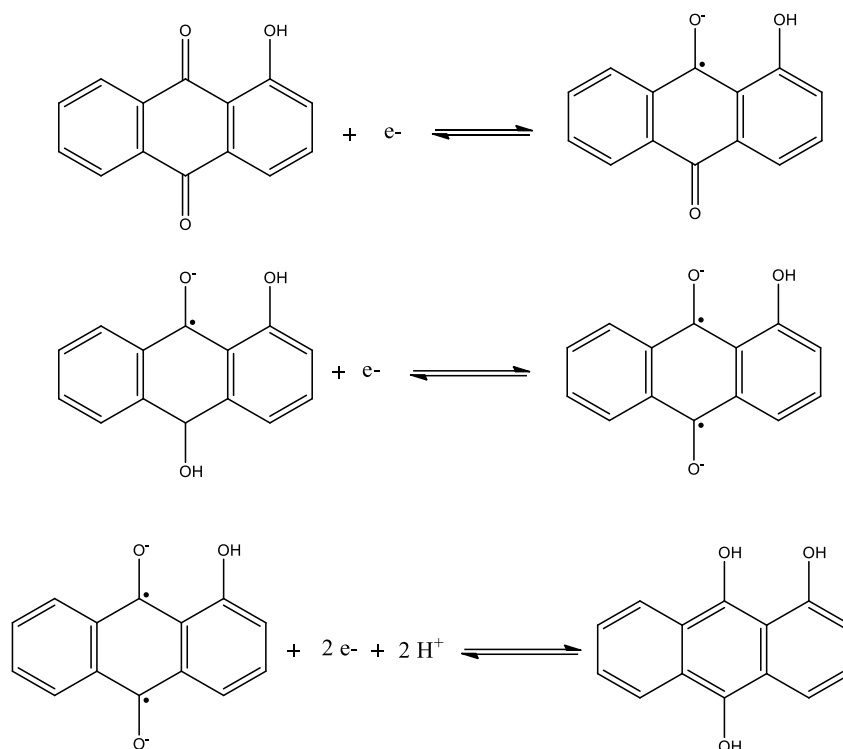
Analogamente as HB, o ligante HQ quando submetido a análise por voltametria cíclica é reduzido em duas etapas (Figura 115), inicialmente o radical aniônico é formado (semiquinona) e em seguida a forma dianiônica ocorre em potenciais mais negativos (MACÍAS-RUVALCABA; EVANS, 2010), gerando dois processos catódicos, sendo o primeiro completamente reversível e o segundo quasi-reversível (GUIN; DAS; MANDAL, 2011). Em uma última etapa, quando a acidez do meio é alta pode ocorrer rapidamente a protonação gerando como produto derivados de hidroquinona (GUIN; DAS; MANDAL, 2011).

Diversos parâmetros na medida eletroquímica devem ser levados em consideração ao estudar quinonas, como por exemplo: polaridade de solventes, natureza do eletrólito suporte, ligações de hidrogênio intra ou intermoleculares e presença de aditivos ácidos ou básicos, uma vez que estes desempenham papel crucial na estabilização de formas reduzidas da molécula (GUIN; DAS; MANDAL, 2011).

Assim como as HB, o ligante HQ pode produzir radicais fenóxi instáveis que polimerizam sob a superfície do eletrodo (ANDREESCU; ANDREESCU; SADIK, 2003) dificultando as análises.

Diante do exposto, o estudo eletroquímico da série 2 também concentrou-se na investigação dos processos redox relacionados ao íon metálico central dos complexos e suas variações.

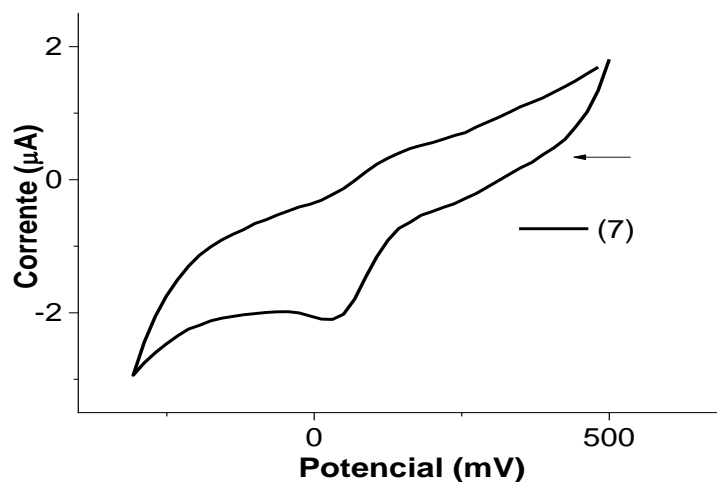
Figura 115 - Reações de redução de HQ.



Fonte: Adaptado de GUIN; DAS; MANDAL (2011).

Analisando o complexo (7), obteve-se um voltamograma cíclico (Figura 116) de um processo quase-reversível e  $E_{p_c} = 40,36$  mV, denotando maior facilidade de redução do centro metálico, quando comparado com o respectivo precursor *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)], o qual apresenta  $E_{p_c} = -69,00$  mV.

Figura 116 – Voltamograma cíclico do complexo (7), eletrólito PTBA 0,1 mol·L<sup>-1</sup> em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> vs Ag/AgCl, velocidade de varredura 100 mV·s<sup>-1</sup>.



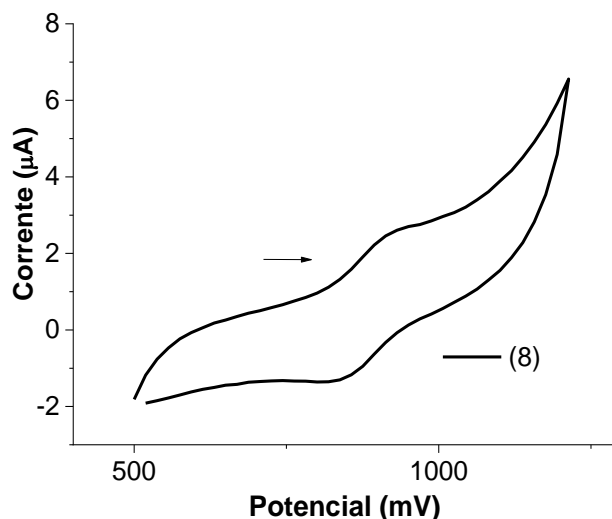
Fonte: Da autora.

Embora o comportamento eletroquímico de (7) seja semelhante a maioria dos complexos da série 1, seu  $E_{pc}$  atingiu valores positivos, indicando que o Ru(III) do complexo com HQ é mais facilmente reduzido do que os complexos (1-6) com HB.

Este comportamento eletroquímico pode estar relacionado à estrutura da HQ, a qual apresenta um extenso sistema conjugado formado por três anéis aromáticos fundidos. A deslocalização eletrônica na molécula pode influenciar os átomos de oxigênio diminuindo a basicidade dos grupos carbonilas. Assim, o átomo de oxigênio coordenado adquire um menor caráter doador de densidade eletrônica em relação aos ligantes iniciais, contribuindo para que o Ru(III) seja reduzido mais facilmente.

Para o complexo (8) observou-se um processo quase-reversível com  $E_{pa}=917,36$  mV (Figura 117), superior ao valor apresentado pelo seu precursor *cis, trans*-[RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)] que ocorre em 600 mV (BATISTA *et al.*, 2001).

Figura 117 – Voltamograma cíclico do complexo (8), eletrólito PTBA 0,1 mol·L<sup>-1</sup> em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> vs Ag/AgCl, velocidade de varredura 100 mV·s<sup>-1</sup>.



Fonte: Da autora.

O maior potencial de oxidação do complexo (8) em relação ao precursor deve-se a substituição dos átomos de cloro, bons doadores  $\sigma$  e  $\pi$ , por dois átomos de oxigênio da HQ que possuem menor caráter doador de densidade eletrônica, devido ao sistema altamente conjugado da molécula provocar diminuição da basicidade dos grupos carbonila e fenolato. Assim, o Ru(II) encontra-se mais deficiente em elétrons, justificando sua maior dificuldade em oxidar.

### 5.2.9 Análise elementar

Os resultados obtidos para os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio dos complexos da série 2 estão de acordo com as formulações propostas e encontram-se reunidos na Tabela 29, assim como os valores teóricos que encontram-se entre parênteses. Importante ressaltar que os dados não apontaram solventes nas estruturas, assim como as análises térmicas realizadas.

Tabela 29 - Dados de análise elementar para os complexos da série 2.

<b>Complexos</b>	<b>% C (Calc)</b>	<b>% H (Calc)</b>	<b>% N (Calc)</b>
(7)	61,68 (61,39)	4,27 (4,29)	
(8)	62,86 (62,66)	3,96 (3,94)	2,32 (2,44)

Fonte: Da autora.

Nota: Calc = valores calculados.

### 5.3 ESTUDO DE ESTABILIDADE DOS COMPLEXOS EM SOLUÇÃO

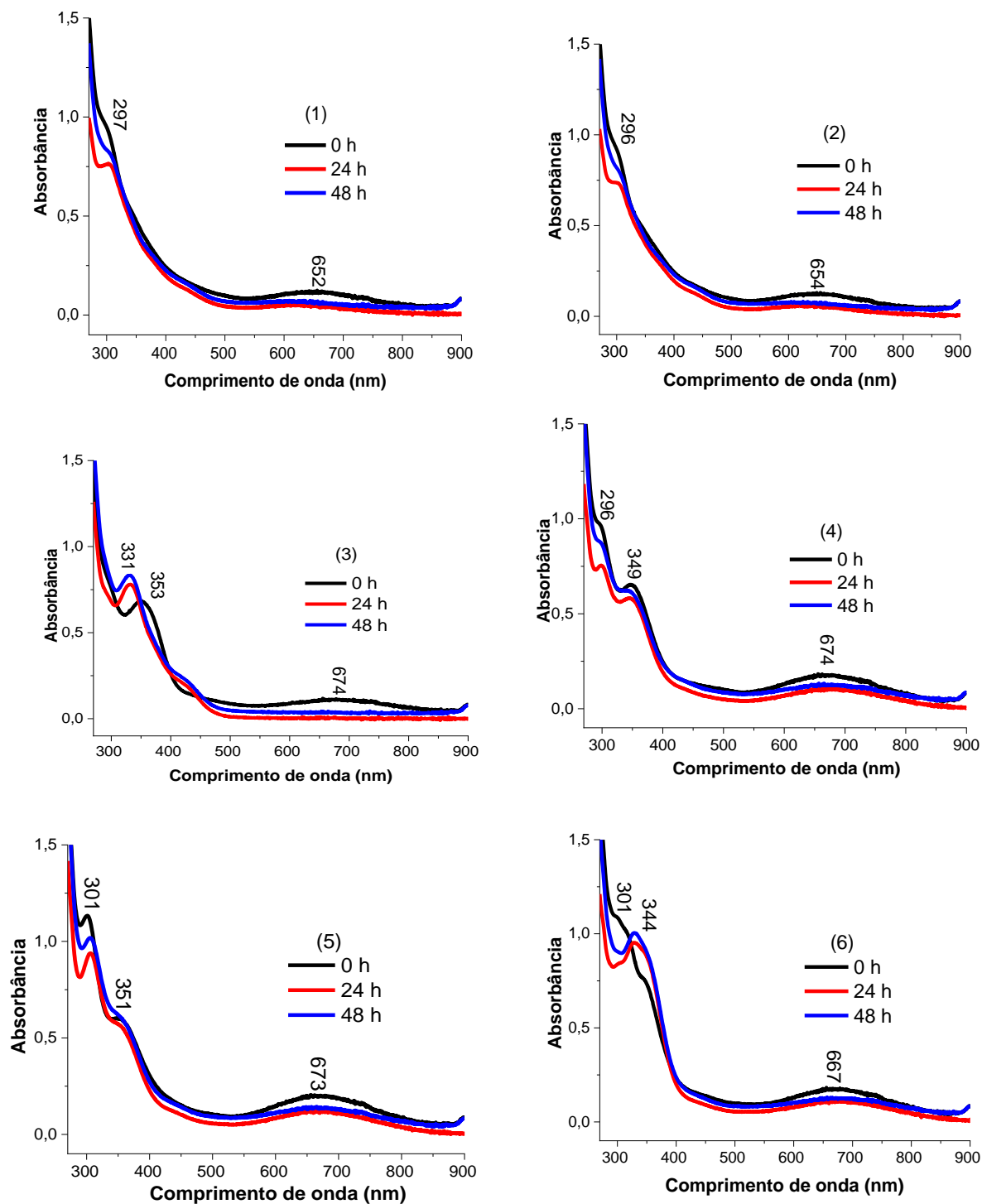
Solventes orgânicos como: acetona, etanol, dimetilsulfóxido (DMSO) e dimetilformamida (DMF) são frequentemente empregados em experimentos biológicos para otimizar a dissolução de compostos hidrofóbicos (*JAMALZADEH et al.*, 2016). Além do alto poder de solubilização, os solventes empregados necessitam ser compatíveis com o meio de cultura e não podem exercer efeitos citotóxicos, uma vez que são utilizados em meio de crescimento das células, desta forma utiliza-se uma porcentagem final de solvente de até 0,5% (v/v) em protocolos de dosagem (*TANNEBERGER et al.*, 2010; *TIMM et al.*, 2013).

Inicialmente, testou-se a solubilidade dos complexos nos solventes anteriormente citados e todas as estruturas (**1-8**) demonstraram ser mais solúveis em DMSO (Figura 118) e DMF. Assim, a fim de reproduzir condições semelhantes dos ensaios biológicos, os complexos das séries 1 e 2 foram solubilizados inicialmente em DMSO.

Notou-se após 24 horas diferenças nos espectros de (**1-6**) quando comparados com os dados obtidos inicialmente (t = 0 h), ausências e mudanças nos formatos das bandas foram observados, demonstrando instabilidade dos complexos quando

solubilizados. As análises permitiram acompanhar a diminuição de intensidade da banda em aproximadamente 650 nm até o completo desaparecimento em alguns deles (3), sugerindo, portanto, mudança estrutural dos compostos.

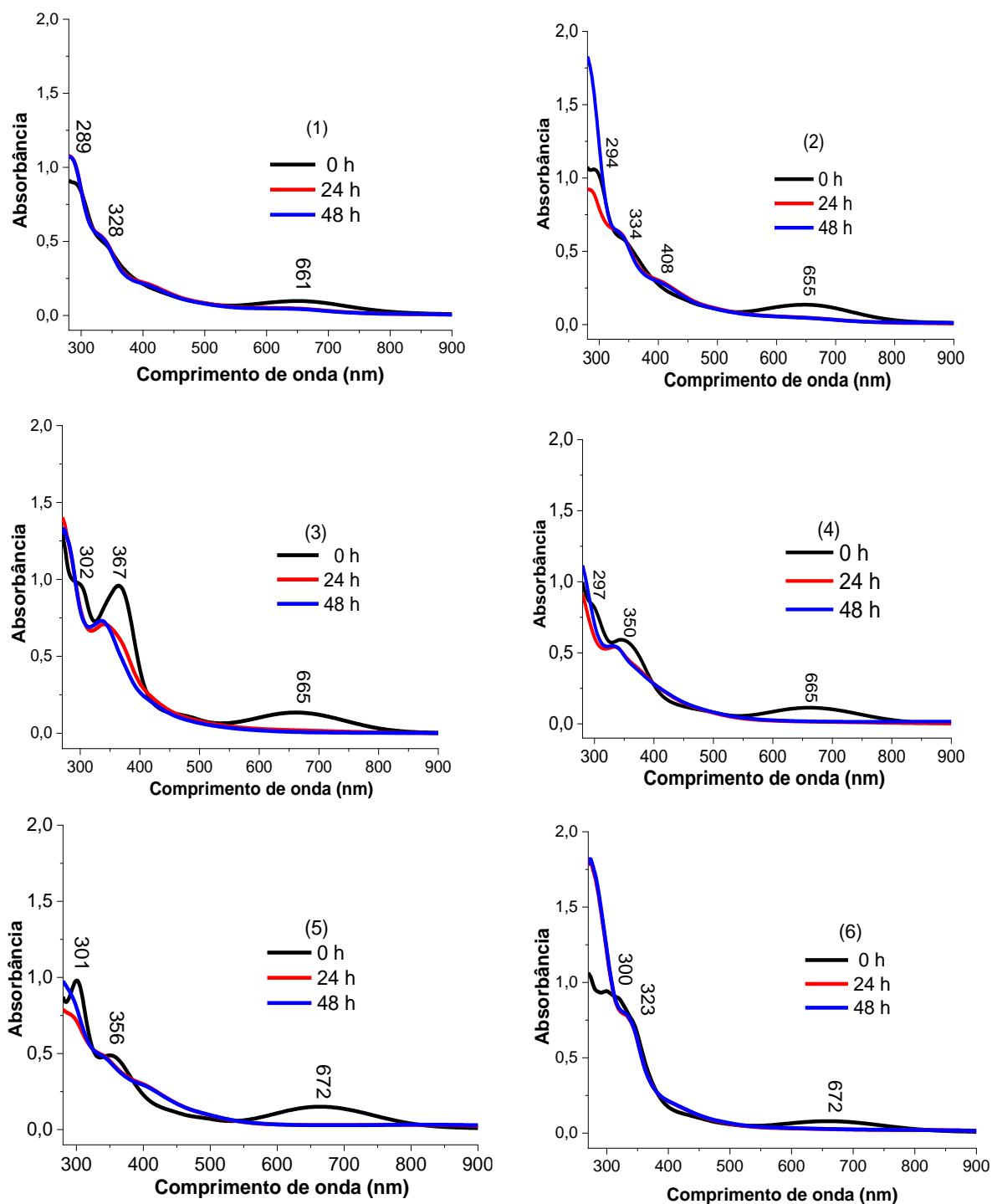
Figura 118 - Espectros de UV-vis dos complexos de Ru(III) (série 1) em DMSO, no intervalo de 0, 24 e 48 horas.



Fonte: Da autora.

Devido à instabilidade dos complexos em DMSO, evidenciada por meio dos espectros de UV-vis, estes foram testados utilizando-se o solvente DMF, no entanto o mesmo comportamento foi notado para todos os compostos ao final das 48 horas (Figura 119).

Figura 119 - Espectros de UV-vis dos complexos de Ru(III) (série 1) em DMF, no intervalo de 0, 24 e 48 horas.



Fonte: Da autora.

Uma possível justificativa para este comportamento, deve-se ao fato dos solventes DMSO e DMF serem coordenantes, podendo promover a troca de ligantes ao centro metálico. Adicionalmente, o átomo de cloro mais lábil (*trans* ao átomo de fósforo) da esfera de coordenação poderia favorecer também essa substituição.

Outra justificativa consistiria na saída das HB e coordenação do DMSO ou DMF, no entanto todas proposições citadas anteriormente alterariam a condutividade molar dos complexos. Objetivando confirmar tal proposição, as medidas de condutividade das soluções foram realizadas após 48 horas (Tabela 30) e os resultados demonstraram a manutenção de eletrólitos neutros (condutância molar abaixo de  $20 \text{ ohm}^{-1}\text{cm}^2 \text{ mol}^{-1}$  em DMSO e abaixo de  $37 \text{ ohm}^{-1}\text{cm}^2 \text{ mol}^{-1}$  em DMF) (GEARY, 1971).

Tabela 30 - Condutividade molar dos complexos após 48 h em DMSO e DMF.

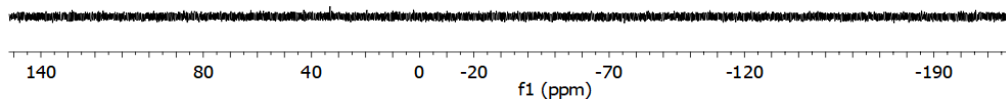
Complexos	Condutividade ( $\text{ohm}^{-1}\text{cm}^2 \text{ mol}^{-1}$ )	
	DMSO	DMF
(1)	2,84	4,55
(2)	2,55	4,23
(3)	6,51	6,07
(4)	2,69	4,23
(5)	2,95	4,72
(6)	3,05	5,05

Fonte: Da autora.

Ademais, foi realizado RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ , a fim de verificar a possível redução do metal  $\text{Ru(III)} \rightarrow \text{Ru(II)}$ , no entanto o mesmo permaneceu como  $\text{Ru(III)}$ , devido ausência de sinais no espectro (Figura 120), assim uma possível explicação para tais resultados seria a troca de apenas um dos grupos coordenantes das HB pelos solventes (DMSO ou DMF), conforme representado no Apêndice J.

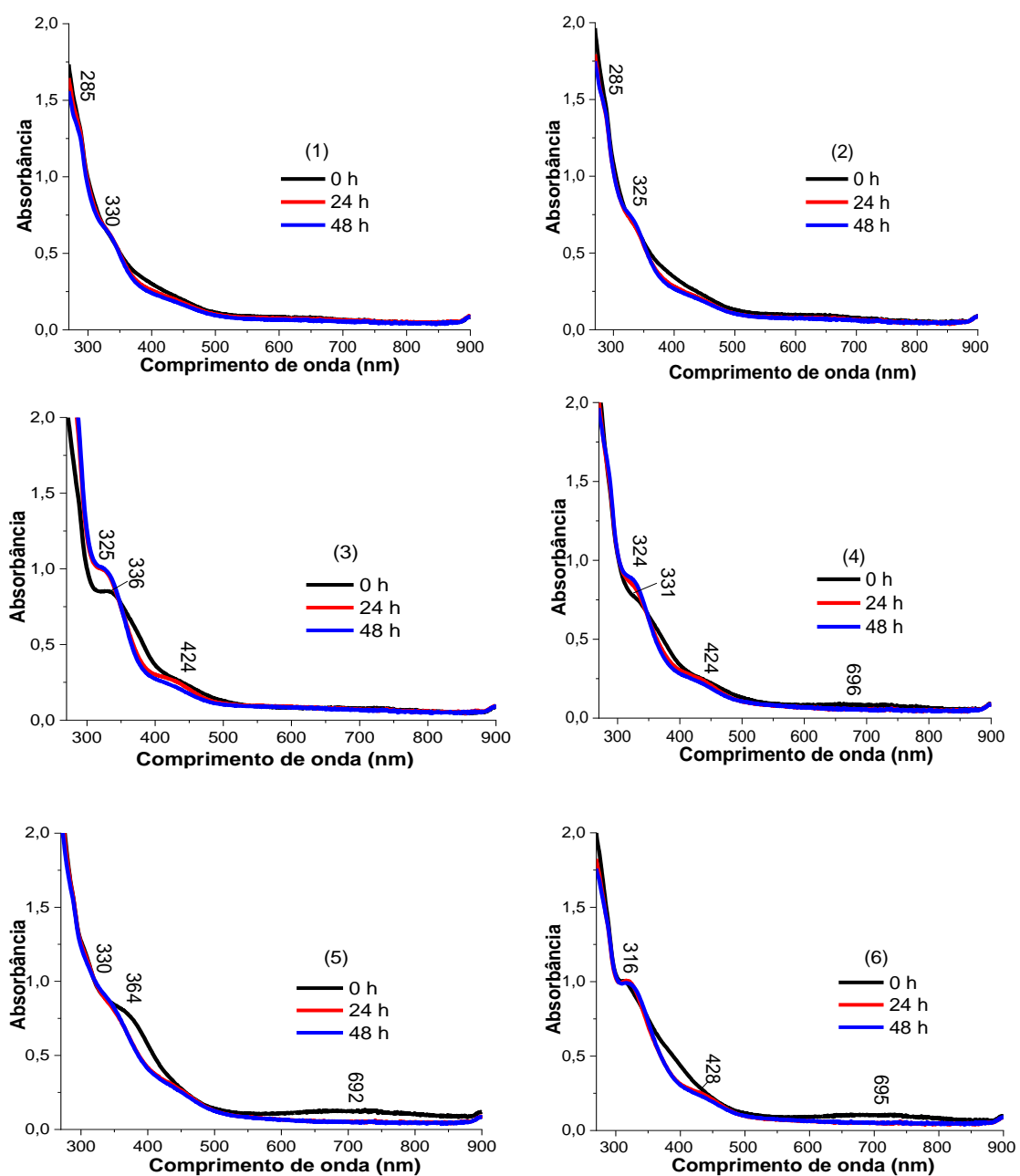
Embora os complexos das série 1 não tenham demonstrado estabilidade em DMSO e DMF, o estudo prosseguiu com a solubilização dos compostos em meio de cultivo das células (DMEM) (2985  $\mu\text{L}$ ) e DMSO (15  $\mu\text{L}$ ), uma vez que poderia levar a uma maior compreensão dos resultados obtidos anteriormente. Os espectros de UV-vis adquiridos em 0, 24 e 48 horas estão representados na Figura 121.

Figura 120 - Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo (3) em DMSO/ $\text{D}_2\text{O}$ .



Fonte: Da autora.

Figura 121 - Espectros de UV-vis dos complexos de Ru(III) (série 1) em DMSO e DMEM, no intervalo de 0, 24 e 48 horas.

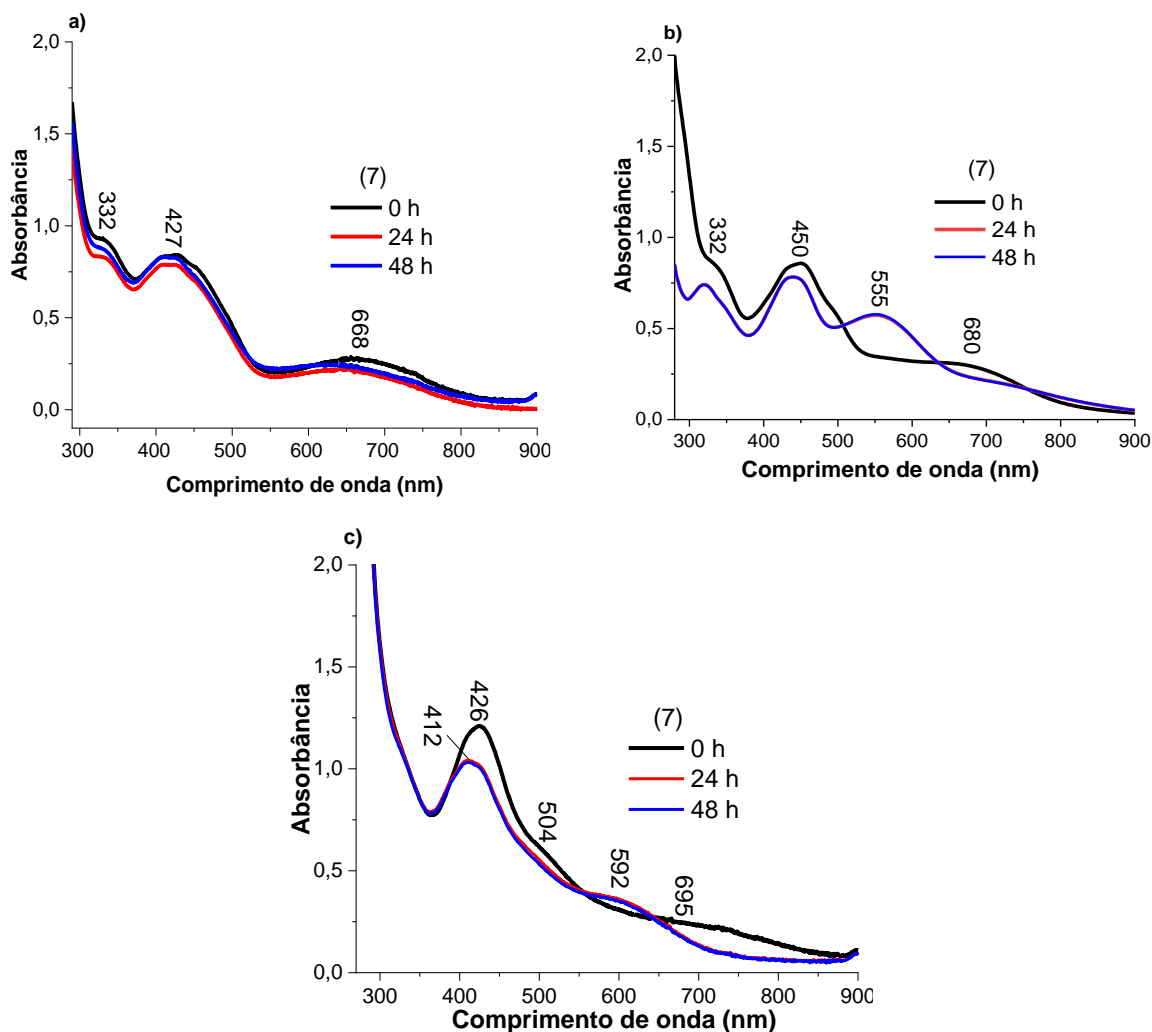


Fonte: Da autora.

Os espectros comprovaram alterações no perfil espectral de todos complexos da série 1, repetindo o comportamento evidenciado em DMSO e DMF como deslocamentos e/ou desaparecimento de bandas, no entanto este ocorreu mais rapidamente na presença do DMEM, provavelmente devido a composição do meio (sais, aminoácidos, tióis e vitaminas) favorecer diversas reações.

Para o complexo (7) realizou-se o mesmo estudo, inicialmente em DMSO (Figura 122-a) e posteriormente em DMF (Figura 122-b), entretanto em ambos solventes observou-se modificações nos espectros de UV-vis, indicando que o instabilidade do complexo no meio, possivelmente devido a troca de ligantes com as moléculas de solvente.

Figura 122 - Espectros de UV-vis do complexo (7) a) em DMSO b) em DMF c) em DMSO e DMEM, no intervalo de 0, 24 e 48 horas.



Fonte: Da autora.

As mudanças no perfil espectral foram mais drásticas após adição do meio biológico, conforme representado no espectro de UV-vis do composto (Figura 122-c), provavelmente pela composição do meio biológico possuir diversas moléculas potencialmente coordenantes que favorecem a troca.

Os resultados do estudo de estabilidade dos complexos de Ru(III) (**1-7**) demonstraram, portanto, que os compostos são instáveis nos solventes DMSO, DMF e no meio de cultivo das células DMEM, possivelmente pela troca de ligantes com os solventes na esfera de coordenação e ou moléculas potencialmente coordenantes (vitaminas e aminoácidos).

Entretanto, os dados obtidos não inviabilizaram o prosseguimento dos ensaios para investigação da atividade biológica, pois alguns complexos de rutênio muito citados na literatura e que já participaram de ensaios clínicos apresentaram comportamento similar. O NAMI-A, por exemplo, embora seja estável no estado sólido, quando solubilizado degrada-se rapidamente ao aumentar o pH do meio e a hidrólise de dois cloretos ocorre em poucos minutos em pH 7,4 (LEIJEN *et al.*, 2015).

Assim, a instabilidade em solução dos complexos não é fator limitante caso as moléculas demonstrem atividade biológica, pois existem estratégias para superar esse comportamento, como o encapsulamento de complexos metálicos em veículos: micelas poliméricas, micropartículas, nanopartículas e híbridos de polímero-lipídio, que possibilitam a entrega e liberação controlada do candidato a metalofármaco (VILLEMIN *et al.*, 2019).

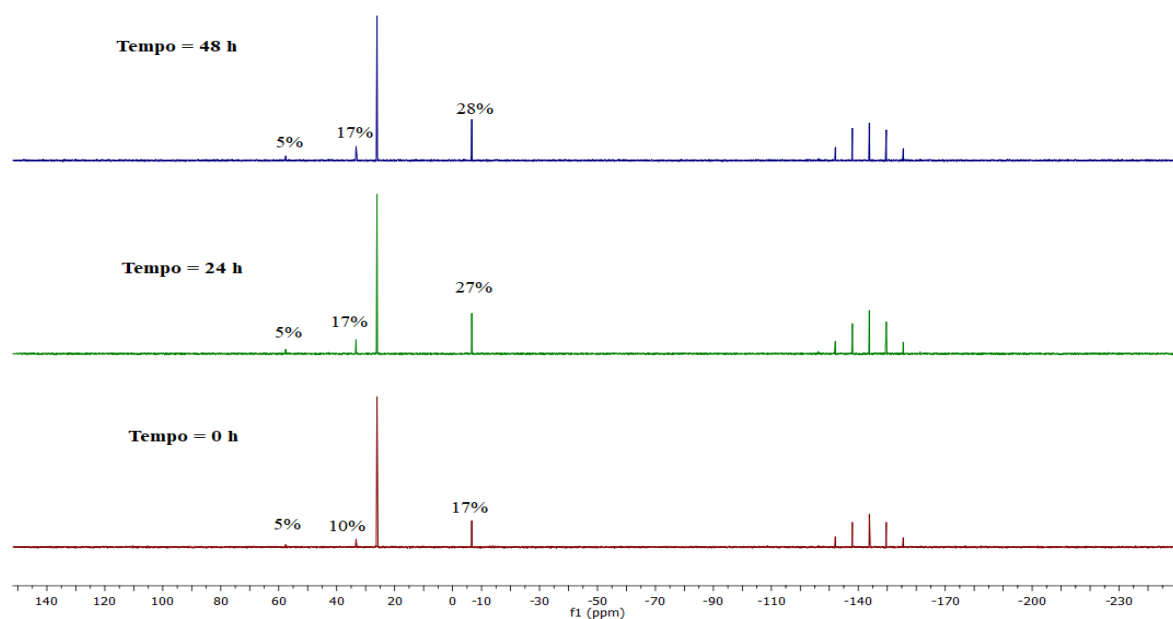
O complexo (**8**), por sua vez, teve sua estabilidade avaliada por meio da técnica de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ , devido possuir somente núcleos diamagnéticos que permitem sinais bem definidos para análise. Inicialmente a amostra foi solubilizada em DMSO e os espectros foram adquiridos no intervalo de 0, 24 e 48 horas (Figura 123).

Observou-se após a solubilização da amostra (tempo = 0 h) surgimento de sinais em -6,0; 33,0 e 52,0 ppm, indicando a formação de novas espécies, possivelmente devido a troca de ligantes pelo solvente. Acima dos sinais encontram-se a porcentagem de cada espécie presente em solução. O sinal em -6,00 ppm é característico da trifetilfosfina livre, enquanto os demais indicam um ambiente químico mais desblindado para o núcleo de fósforo.

Apesar de (**8**) demonstrar ser instável quando solubilizado, é possível concluir que ao final das 48 horas o produto majoritário continua sendo o complexo (**8**), indicado pela manutenção do singlete em 25,84 ppm.

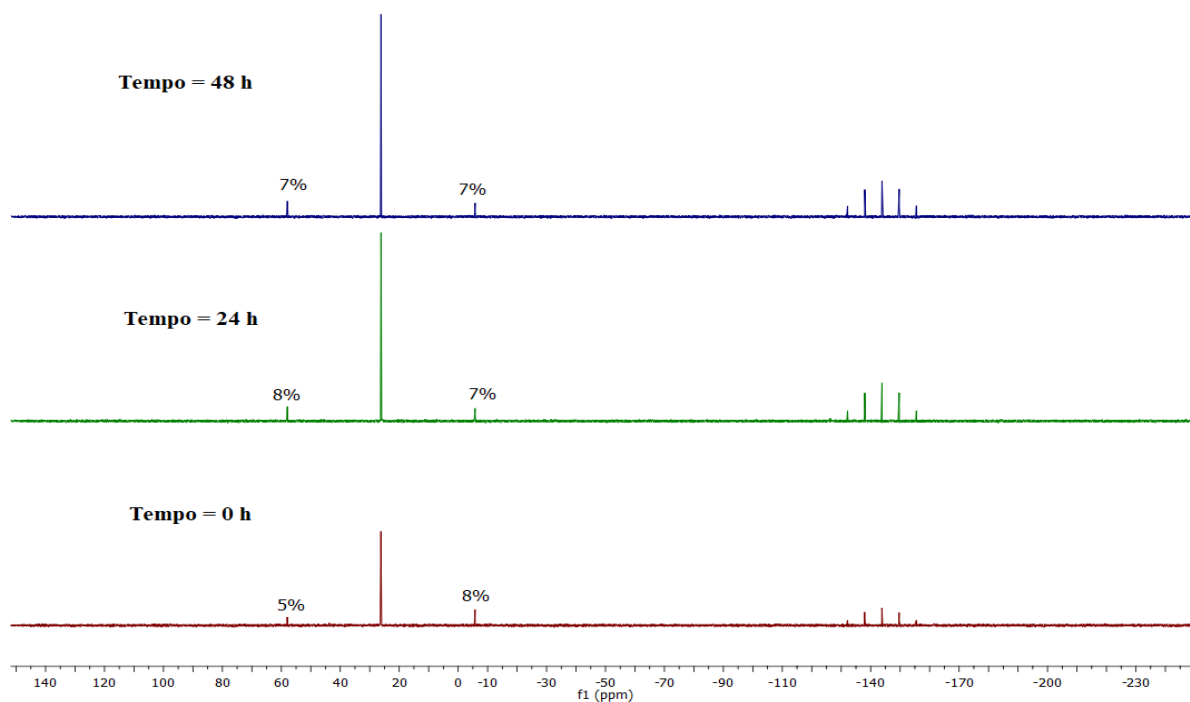
Comportamento análogo ocorreu quando solubilizou-se (8) em DMF (Figura 124), demonstrando o surgimento de dois sinais (-5,0 e 58,0 ppm) e a manutenção do singlete em 26,34 ppm.

Figura 123 - Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo (8) em DMSO /  $\text{D}_2\text{O}$ : t = 0 h, 24 h e 48 h.



Fonte: Da autora.

Figura 124 - Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo (8) em DMF /  $\text{D}_2\text{O}$ : t = 0 h, 24 h e 48 h.

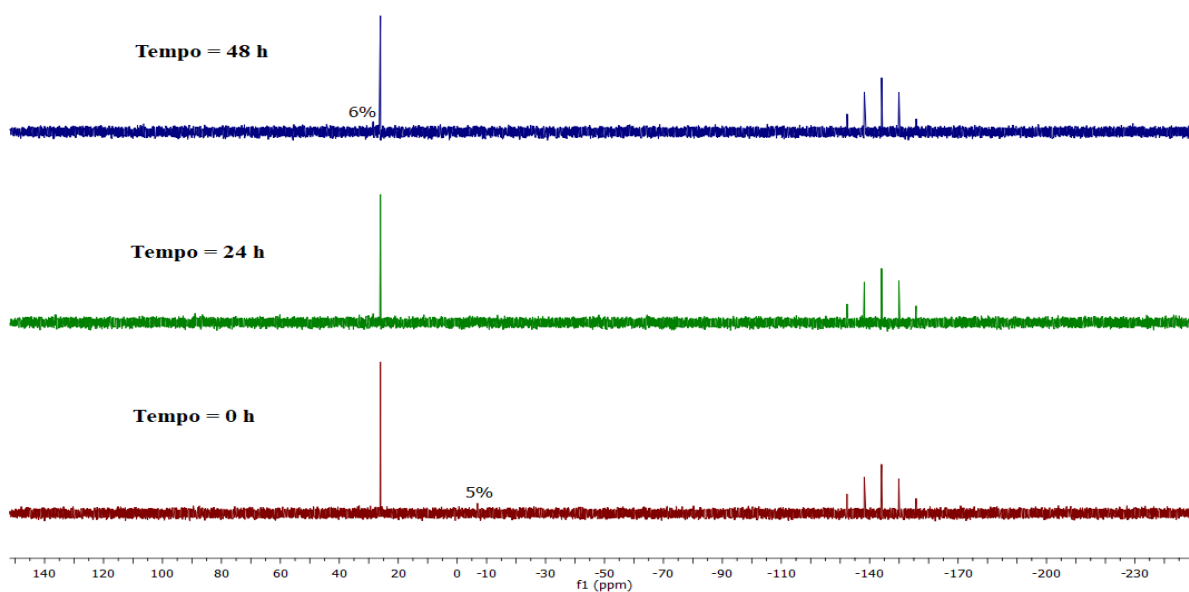


Fonte: Da autora.

Interessantemente, ao solubilizar o complexo (**8**) em DMSO e meio biológico (DMEM) respeitando-se a quantidade máxima de solvente (0,5% v/v) notou-se em 0 h o surgimento de apenas um singleto referente a trifenilfosfina (-6,0 ppm) (Figura 125), entretanto este corresponde somente a 5% da espécie em solução, sendo que após 48 horas houve o completo desaparecimento do sinal e surgimento de um pequeno singleto em 28,51 ppm compreendendo apenas 6% da substância em solução.

Em 0 h surgiu um singleto referente a trifenilfosfina (-6,0 ppm), entretanto este corresponde somente a 5% da espécie em solução, sendo que após 48 h há o completo desaparecimento do sinal e surgimento de um pequeno singleto em 28,51 ppm que compreende apenas 6% da substância em solução.

Figura 125 - Espectro de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  do complexo (**8**) em DMSO e DMEM /  $\text{D}_2\text{O}$ : t = 0 h, 24 h e 48 h.



Fonte: Da autora.

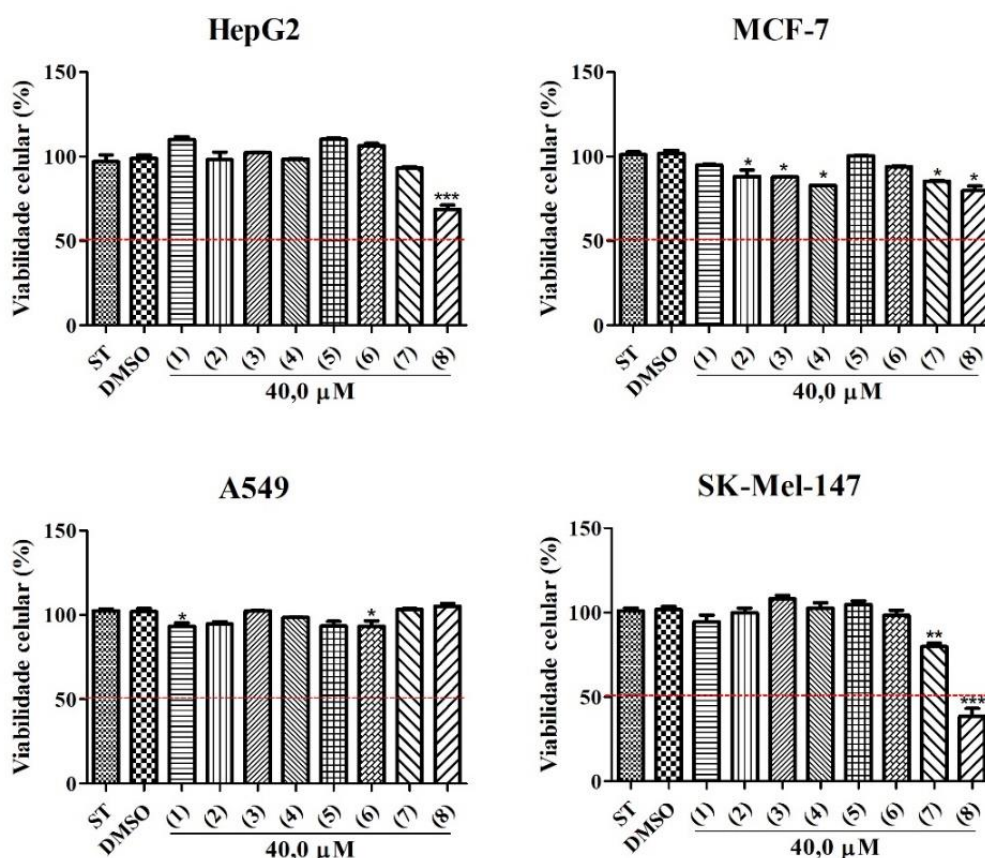
Os resultados deste ensaio de estabilidade indicam, portanto, que após 48 h o complexo (**8**) continua sendo a espécie majoritária em solução justificando o prosseguimento dos ensaios biológicos, uma vez que os resultados futuros serão provenientes de (**8**).

#### 5.4 TESTES BIOLÓGICOS

### 5.4.1 Estudo da atividade citotóxica

O estudo de viabilidade celular foi realizado tratando-se as as linhagens HepG2 (carcinoma hepatocelular), MCF-7 (adenocarcinoma de mama), A549 (adenocarcinoma de pulmão) e SK-MEL-147 (melanoma) com os ligantes (HB e HQ) (80  $\mu$ M), precursores (80  $\mu$ M) e novos complexos obtidos (**1-8**) (40,0  $\mu$ M) e a taxa de viabilidade celular foi avaliada após 48 horas (Figuras 126-127).

Figura 126 – Viabilidade celular determinada por ensaio de MTS, após 48 h de tratamento com os complexos (**1-8**) na concentração de 40  $\mu$ M.



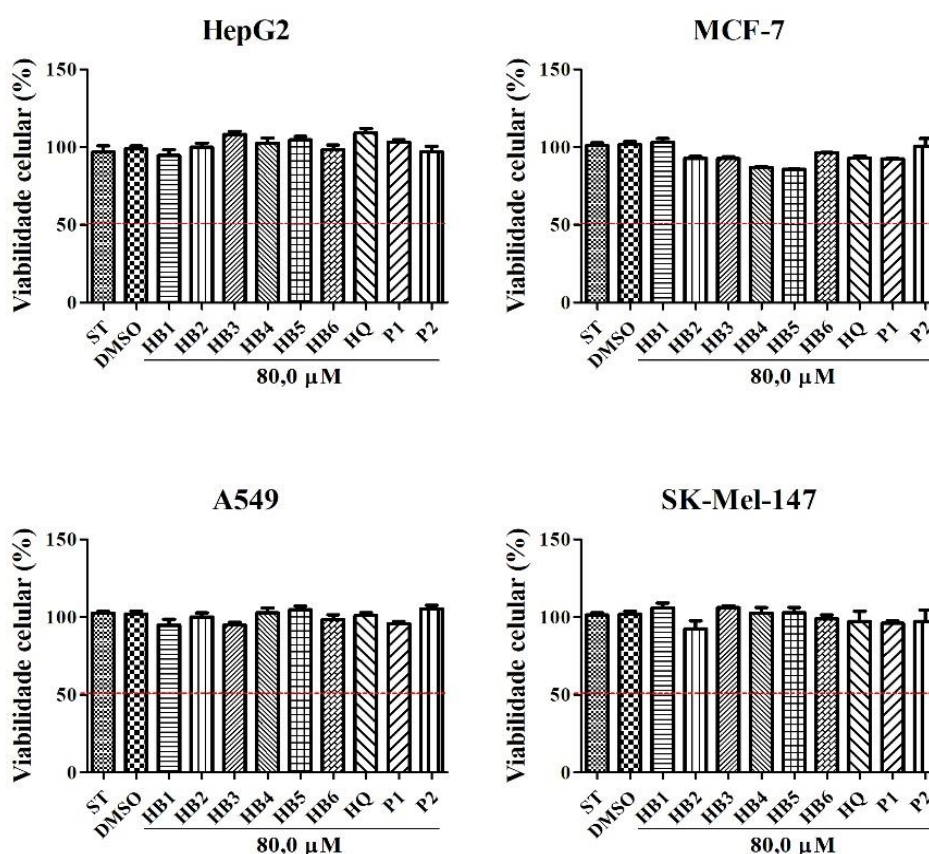
Fonte: Da autora.

Notas: Estatisticamente diferente (\*\*\*)  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$  e \*  $p < 0,05$ ) do grupo controle de acordo com análise de variância ANOVA e pós-teste de Tukey. HepG2 (carcinoma hepatocelular), MCF-7 (adenocarcinoma de mama), A549 (adenocarcinoma de pulmão) e SK-MEL-147 (melanoma).

Os resultados mostraram que os complexos foram pouco efetivos em reduzir a viabilidade das células tumorais testadas, com exceção de (**8**), o qual foi ativo frente

as linhagens HepG2 e SK-MEL-147, reduzindo em 40 e 60% a viabilidade celular, respectivamente (Figura 126). Os ligantes e precursores avaliados também não demonstraram redução significativa na taxa de viabilidade nas condições experimentais avaliadas (Figura 127).

Figura 127 – Viabilidade celular determinada por ensaio de MTS, após 48 h de tratamento com os ligantes e precursores na concentração de 80  $\mu$ M.



Fonte: Da autora.

Notas: Estatisticamente diferente (\*\*\*)  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$  e \*  $p < 0,05$ ) do grupo controle de acordo com análise de variância ANOVA e pós-teste de Tukey. HepG2 (carcinoma hepatocelular), MCF-7 (adenocarcinoma de mama), A549 (adenocarcinoma de pulmão) e SK-MEL-147 (melanoma). P1 = *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)] e P2 = *cis, trans*-[RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(bipy)].

O complexo (**8**) foi selecionado para análises subsequentes considerando sua capacidade de reduzir em mais de 50 % a taxa de viabilidade em culturas de SKMEL-147 quando usado a 40  $\mu$ M. Desta forma, os efeitos de (**8**) sobre o comportamento proliferativo de linhagens de melanoma foram avaliados (SK-MEL-147, WM1366 e CHL-1).

Para determinação dos valores de  $CI_{50}$ , as culturas foram tratadas com o complexo (**8**) em diferentes concentrações por 48 horas. Os valores de  $CI_{50}$  obtidos foram  $37,35 \pm 5,88 \mu\text{M}$ ;  $33,51 \pm 3,38 \mu\text{M}$  e  $14,50 \pm 1,99 \mu\text{M}$  para as linhagens WM1366, SK-MEL-147 e CHL-1, respectivamente.

A linhagem CHL-1 mostrou-se mais responsiva ao tratamento com (**8**), quando comparada as demais (WM1366 e SK-MEL-147), considerando que os valores de  $CI_{50}$  determinados para tais linhagens foram, em média, duas vezes maiores que o valor encontrado para CHL-1. A cisplatina foi utilizada como controle positivo e apresentou valor de  $CI_{50}$  igual a  $44,92 \pm 1,71 \mu\text{M}$  na linhagem CHL-1, ou seja, resultado em média três vezes maior que a  $CI_{50}$  do complexo (**8**) na mesma linhagem. Considerando as condições experimentais avaliadas, os dados obtidos indicaram que (**8**) apresentou maior seletividade para a linhagem CHL-1 em comparação à cisplatina.

Posteriormente, (**8**) foi testado em culturas de CCD-1059Sk que são fibroblastos provenientes de pele humana normal. O valor de  $CI_{50}$  obtido para CCD-1059Sk ( $CI_{50}$  de  $105,9 \pm 1,09 \mu\text{M}$ ) foi superior aos valores de  $CI_{50}$  determinados para as linhagens provenientes de melanoma, indicando menor citotoxicidade para linhagem normal em comparação à linhagem tumoral (Tabela 31). Considerando os valores de  $CI_{50}$ , a cisplatina mostrou-se mais citotóxica para a linhagem CCD-1059Sk quando comparada ao complexo (**8**).

Tabela 31 – Valores de  $CI_{50}$  ( $\mu\text{M}$ ) determinados por ensaio colorimétrico MTS após tratamento por 48 h com (**8**), HQ e *cis, trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})]$ .

Compostos	SK-MEL-147	WM1366	CHL-1	CCD-1059Sk
<b>8</b>	$33,51 \pm 0,84$	$37,35 \pm 0,62$	$14,50 \pm 1,09$	$105,9 \pm 1,09$
HQ	-	-	n.d	-
<i>cis, trans</i> - $[\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{bipy})]$	-	-	n.d	-
Cisplatina	-	-	$44,92 \pm 1,71$	$24,70 \pm 4,78$

Fonte: Da autora.

Notas: n.d: não determinando, considerando que o tratamento não reduziu em 50% a viabilidade na faixa de concentração avaliada (2,5 a 100  $\mu\text{M}$ ). Cisplatina foi utilizada como controle positivo. SK-MEL-147, WM1366 e CHL-1 (linhagens derivadas de melanoma).

Os valores de índice de seletividade (IS), determinados por meio da razão entre o  $CI_{50}$  obtido para a linhagem normal e o  $CI_{50}$  para linhagem tumoral, demonstraram boa seletividade do complexo (8) para as linhagens de melanoma (Tabela 32).

Vale ressaltar que o IS constitui um bom indicativo do potencial uso das substâncias testadas em ensaios *in vivo*. Índices maiores que dois indicam boa seletividade (SUFFNESS; PEZZUTO, 1990).

Tabela 32 – Valores de Índice de Seletividade (IS) determinados após tratamento por 48 h com (8) e a cisplatina.

<b>Linhagens</b>	<b>IS*</b>	<b>IS**</b>
<b>SK-MEL-147</b>	3,16	-
<b>WM1366</b>	2,78	-
<b>CHL-1</b>	7,3	0,54

Fonte: Da autora.

Notas: IS\*: Índice de Seletividade determinado pela razão entre  $CI_{50}CCD-1059Sk/CI_{50}SK-MEL-147$ , WM1366 e CHL-1 para o complexo (8). IS\*\*: Índice de Seletividade determinado pela razão entre  $CI_{50}CCD-1059Sk/CI_{50}CHL-1$  para a Cisplatina. SK-MEL-147, WM1366 e CHL-1 (linhagens derivadas de melanoma).

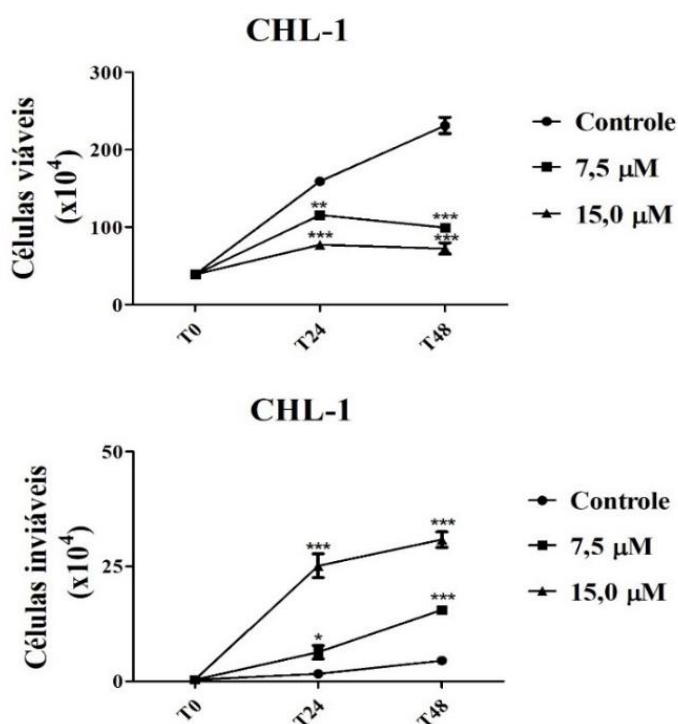
O ensaio de exclusão com azul de tripano foi utilizado como parâmetro adicional para avaliar os efeitos de (8) frente a viabilidade da linhagem CHL-1, a qual mostrou-se mais responsiva ao tratamento.

Este ensaio permite a determinação na frequência de células viáveis (vivas) e inviáveis (mortas), pois o corante azul de tripano penetra somente nas células que perderam a integridade de membrana o que deixa as células inviáveis com uma coloração azul-arroxeadada (AVELAR-FREITAS *et al.*, 2014).

Nesta abordagem experimental as culturas de CHL-1 foram tratadas com complexo (8) nas concentrações de 7,5 e 15,0  $\mu M$ , que equivalem à metade e o valor de  $CI_{50}$ , respectivamente, e as populações de células viáveis e inviáveis foram quantificadas após 24 e 48 horas.

O complexo (**8**), quando utilizado na concentração de 7,5  $\mu\text{M}$ , reduziu em 31,00 e 58,00 % o número de células viáveis em culturas de CHL-1 após 24 e 48 horas de tratamento, respectivamente (Figura 128).

Figura 128 – População de células viáveis e inviáveis obtidas por meio do ensaio de exclusão com azul de tripano na linhagem CHL-1 após 24 e 48 h de tratamento com (**8**) nas concentrações de 7,5 e 15,0  $\mu\text{M}$ .



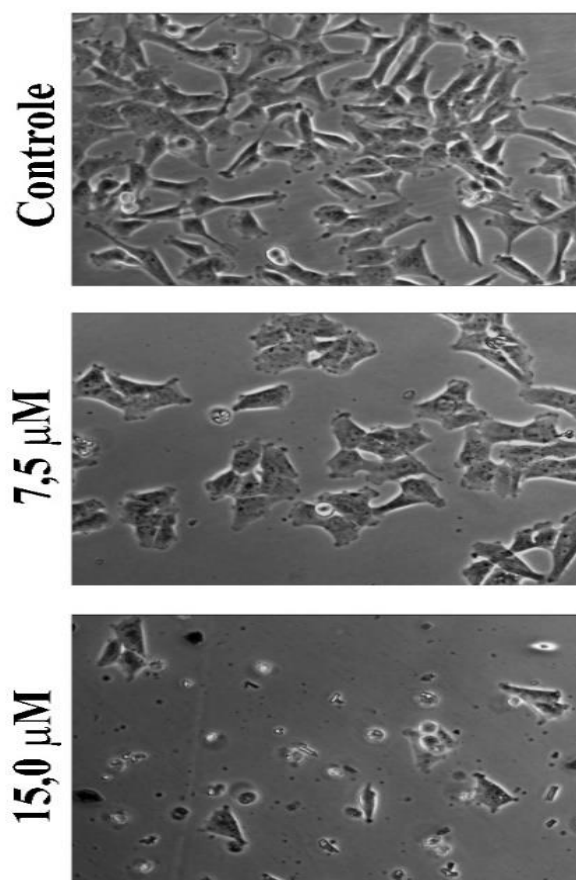
Fonte: Da autora.

Nota: CHL-1 (linhagem derivada de melanoma)

O número de células inviáveis foi 3,81 vezes maior nas amostras tratadas por 48 horas com (**8**) na concentração de 7,5  $\mu\text{M}$  em relação ao controle. Na concentração de 15,0  $\mu\text{M}$  (**8**) reduziu em 49,8 e 70,6 % o número de células viáveis após 24 e 48 horas de tratamento, respectivamente; enquanto o número de células inviáveis foi, em média, 8 vezes maior em relação às amostras controle após 24 e 48 horas. Considerando os dados obtidos em culturas de CHL-1 tratadas com o complexo (**8**) após 24 horas, novas abordagens experimentais foram utilizadas para investigar a influência deste complexo na dinâmica de progressão do ciclo de celular e na indução de apoptose.

A Figura 129 mostra o padrão morfológico das culturas de CHL-1 tratadas por 24 h com o complexo (8) nas concentrações de 7,5 e 15  $\mu\text{M}$ . Nas culturas tratadas a 7,5  $\mu\text{M}$  foi possível observar células, aparentemente, maiores e com uma quantidade maior de grânulos citoplasmáticos em relação às amostras controle. Drásticas alterações morfológicas foram observadas em culturas de CHL-1 tratadas com (8) a 15,0  $\mu\text{M}$ . Foi possível observar maior frequência de células arredondadas, restos celulares e células que perderam a aderência, indicando que o complexo (8) apresenta alta citotoxicidade nessa concentração.

Figura 129 - Imagens representativas das culturas de CHL-1 obtidas por microscopia de contraste de fase após 24 h de tratamento com (8) nas concentrações de 7,5 e 15,0  $\mu\text{M}$ . É possível observar alteração do aspecto morfológico das células.



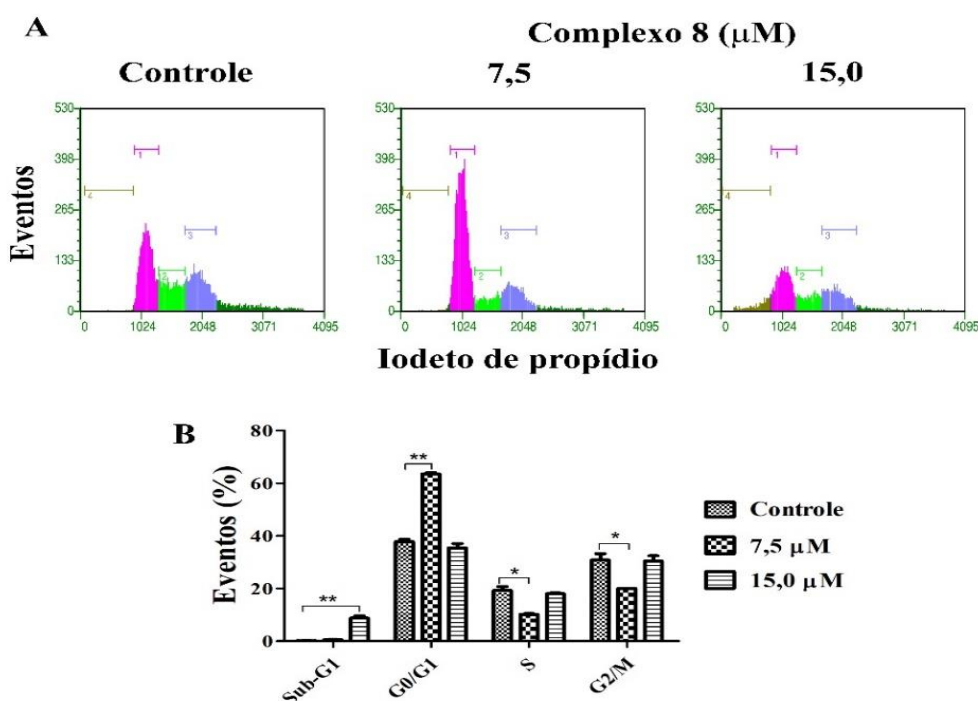
Fonte: Da autora.

Nota: CHL-1 (linhagem derivada de melanoma).

O ensaio de ciclo celular foi utilizado para determinação da frequência de células nas diferentes fases do ciclo. Para esta abordagem as culturas de CHL-1 foram tratadas por 24 h com o complexo (8) nas concentrações de 7,5 e 15,0  $\mu\text{M}$ . As análises de ciclo celular foram realizadas após 24 horas de tratamento considerando os resultados obtidos por meio do ensaio de exclusão com azul de tripano que evidenciaram alteração do comportamento proliferativo de culturas de CHL-1 após 24 h de tratamento com (8).

Os resultados obtidos por meio da técnica de citometria de fluxo mostraram que a redução das taxas de proliferação da linhagem CHL-1 mediante ao tratamento com (8) pode estar envolvida com a alteração da progressão do ciclo celular na linhagem CHL-1 (Figura 130).

Figura 130 – Efeitos do complexo (8) sobre a cinética de progressão do ciclo celular de culturas de CHL-1 após 24 h de tratamento nas concentrações de 7,5 e 15,0  $\mu\text{M}$ .



Fonte: Da autora.

Notas: Análise da progressão do ciclo celular. (A) Histogramas obtidos por citometria de fluxo. Marrom – Sub-G1; Rosa – G0/G1; Verde – S; Azul – G2/M. A população de células hiper tetraploides não foi analisada (verde escuro). (B) Quantificação da população de células nas diferentes fases do ciclo. Os resultados referem-se à média de três experimentos independentes realizados em triplicata. \*\*\*  $p < 0,001$  e \*\*  $p < 0,01$ . CHL-1 (linhagem derivada de melanoma).

Quando as culturas foram tratadas com o complexo **(8)** a 7,5  $\mu\text{M}$  houve aumento do número de células em G0/G1 e redução da população de células nas fases S e G2/M, o que constitui um indicativo de bloqueio na transição de G1 para S (Figura 130).

Quando as culturas foram tratadas com **(8)** a 15,0  $\mu\text{M}$  não foram observadas alterações significativas na frequência de células nas fases G0/G1, S e G2/M, entretanto, ocorreu aumento de células em Sub-G1. A população Sub-G1 apresenta células com conteúdo de DNA inferior à 2C, fato que ocorre quando há fragmentação do DNA e representa um indicativo de morte celular.

Considerando as imagens obtidas por microscopia de contraste de fase que evidenciaram além de alterações morfológicas, aumento da frequência de células arredondadas com perda de aderência e restos celulares, aliadas as análises da progressão do ciclo celular que demonstraram aumento da frequência de células em Sub-G1 mediante tratamento das culturas de CHL-1 tratadas com o complexo **(8)**, o ensaio de anexina V foi utilizado para avaliar se o tratamento induz apoptose em culturas de células CHL-1 (Figura 131).

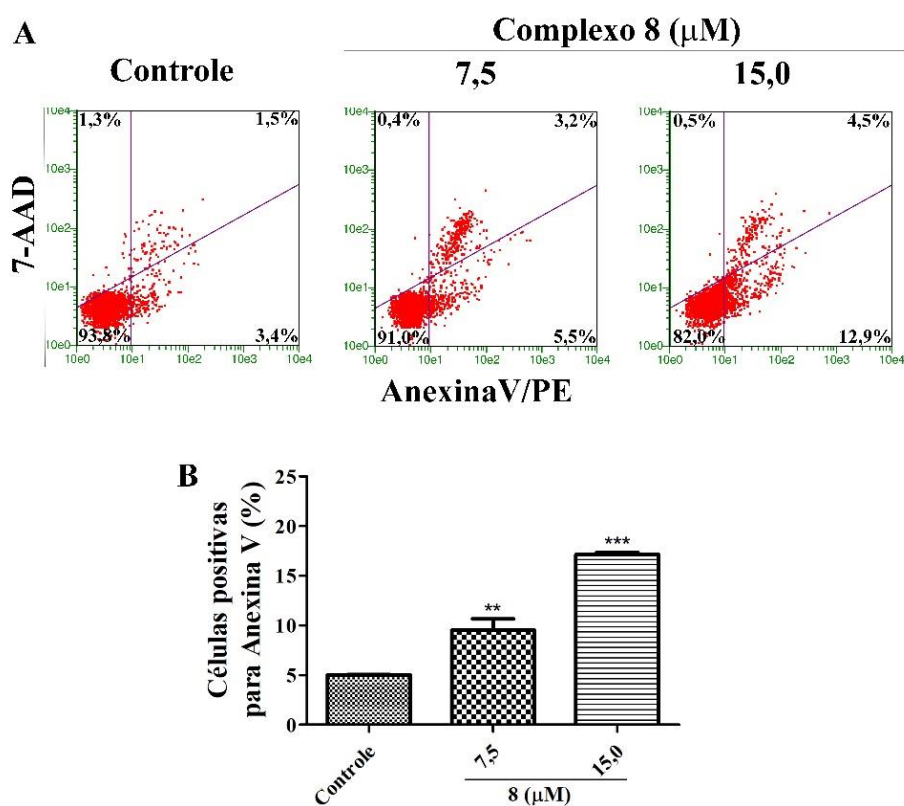
Os resultados obtidos por citometria de fluxo mostraram aumento de células positivas para anexina V após 24 h de tratamento com **(8)** (Figura 131). Quando as culturas foram tratadas com 7,5 e 15,0  $\mu\text{M}$  cerca de 9 e 17 % de células apresentaram marcação positiva para anexina V, respectivamente.

Em contrapartida, no controle, apenas 5% das células apresentaram marcação positiva. Assim sendo, o número de células positivas para anexina V nas amostras tratadas com o complexo **(8)** nas concentrações de 7,5 e 15,0  $\mu\text{M}$  foi em média 2,3 e 3,5 vezes maior quando comparadas ao controle, respectivamente.

Em conjunto, os dados apresentados neste estudo indicam que **(8)** tem promissora atividade citotóxica frente às linhagens celulares provenientes de melanoma. O complexo **(8)** efetivamente inibe a proliferação de células CHL-1 e induz apoptose.

Foi demonstrado que esses eventos estão associados, pelo menos em parte, com a inibição da progressão do ciclo celular na transição G1/S. Estudos subsequentes serão realizados para investigar os alvos moleculares responsáveis pelos efeitos do complexo **(8)** sobre células de melanoma.

Figura 131 – Ensaio de anexina V em culturas de CHL-1 tratadas por 24 horas com o complexo (8) nas concentrações de 7,5 e 15,0  $\mu\text{M}$ .



Fonte: Da autora.

Notas: Ensaio de anexina V. (A) Dot plots evidenciando as diferentes populações celulares após o ensaio de anexina V/7-AAD. Quadrante inferior esquerdo – células negativa para Anexina V e 7-AAD. Inferior direito – células positivas para anexina V e negativas para 7-AAD. Superior direito - células positivas para anexina V e 7-AAD. Superior esquerdo - células positivas para 7-AAD e negativas para anexina V. (B) Quantificação da população de células. Os resultados referem-se à média de três experimentos independentes realizados em triplicata. \*\*\*  $p < 0,001$  e \*\*  $p < 0,01$ . CHL-1 (linhagem derivada de melanoma).

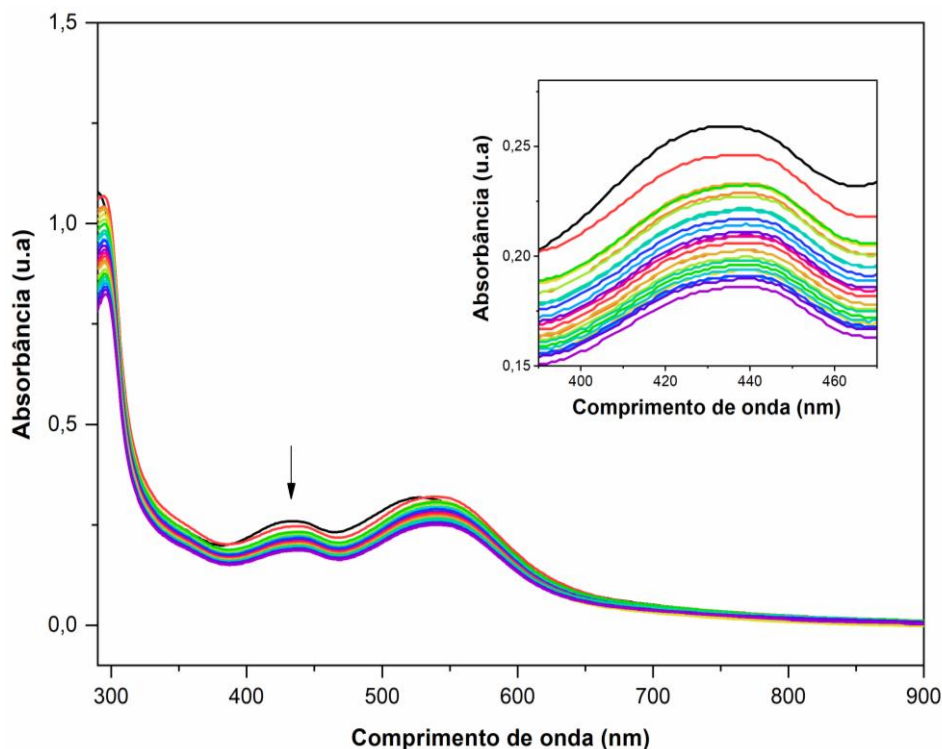
#### 5.4.2 Avaliação da interação dos complexos com DNA

Os estudos de atividade citotóxica demonstraram resultados promissores para o complexo (8), portanto a interação deste com possíveis alvos terapêuticos contra o câncer foi investigada.

A Figura 132 representa o espectro obtido para (8) durante o ensaio de titulação com o ct-DNA, sendo que o espectro inicial (em preto) corresponde ao complexo na

ausência de DNA e os demais correspondem às sucessivas adições de ct-DNA à solução inicial.

Figura 132 – Espectros de UV-vis de titulações espectroscópicas do complexo **(8)**  $1,00 \cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  com  $[\text{ct-DNA}] = 0-1,29 \cdot 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ .



Fonte: Da autora.

Nota-se nos espectros de UV-vis que a adição de ct-DNA na solução do complexo ocasionou hipocromismo, indicando alteração estrutural da dupla hélice de DNA. Observa-se também batocromismo, fato que sugere intercalação com a macromolécula, comportamento análogo observado em outros trabalhos com complexos contendo derivados de antraquinonas (MANDAL *et al.*, 2017; MARKOVIC *et al.*, 2013).

Utilizando-se os dados obtidos nas titulações na região espectral de aproximadamente 430 nm e aplicando-se na equação de *Neighbor Exclusion* (eq. 1) foi possível calcular o valor de  $K_b$  e a porcentagem de hipocromismo (%H) do complexo, os quais encontram-se reunidos na Tabela 33.

O valor obtido para  $K_b$  possui a mesma ordem de grandeza ( $10^7 \text{ M}^{-1}$ ) de moléculas intercaladoras clássicas como o brometo de etídio ( $7 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$ ) (WARING, 1965), indicando, portanto, uma forte afinidade do complexo com o DNA.

Tabela 33 - Valores de Kb e % H (porcentagem de hipocromismo) do complexo (8).

Complexo	Kb (M <sup>-1</sup> )	%H
(8)	1,18 · 10 <sup>7</sup>	14,79

Fonte: Da autora.

Quando uma molécula intercaladora insere-se entre os pares de bases nitrogenadas do DNA ocorre uma grande modificação na estrutura, resultando em alongamento, enrijecimento e desenrolamento da dupla fita, fatores que inibem a replicação do DNA (BARRA; NETTO, 2015; WHEATE *et al.*, 2007) e portanto, desfavorecem o crescimento de cânceres e/ou provocam a morte celular, conforme confirmado para (8) segundo os resultados dos ensaios biológicos relatados anteriormente.

#### 5.4.3 Avaliação da interação dos complexos com HSA

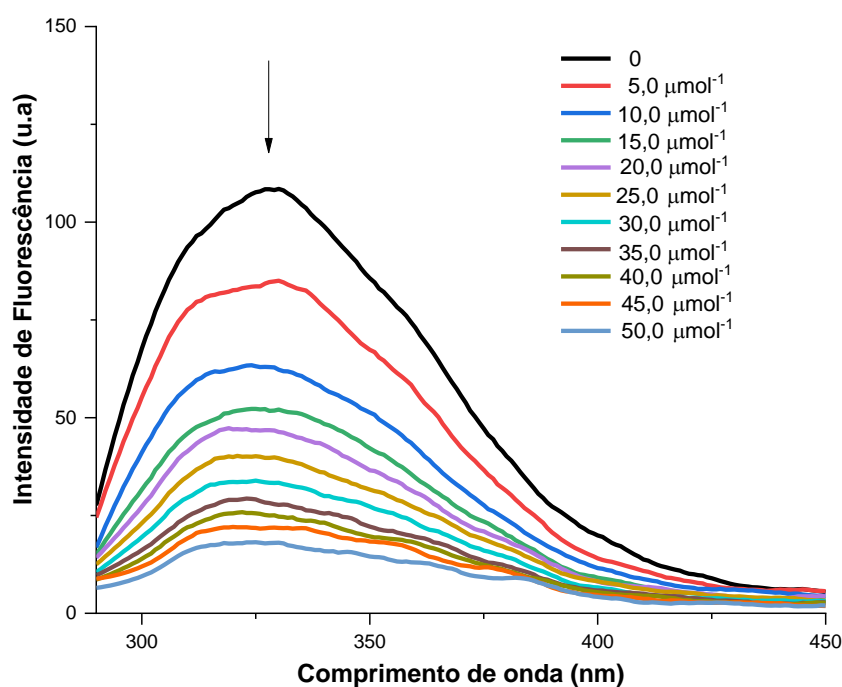
O complexo (8) também foi investigado quanto a capacidade de interagir com a HSA. Desta forma, o experimento foi realizado em três temperaturas diferentes (298, 304 e 310 K), adicionando-se concentrações crescentes do complexo (0-50 µmol<sup>-1</sup>) em HSA (5,0 µmol<sup>-1</sup>), excitando-se a proteína em 280 nm e fazendo-se a leitura na faixa espectral de 290 a 450 nm, a fim de se determinar o mecanismo de supressão de fluorescência predominante.

Importante ressaltar que a correção de filtro interno fez-se necessária para o complexo analisado, devido este absorver na região próxima ao comprimento de onda de excitação do triptofano (280 nm). Assim, os valores da fluorescência obtidos foram corrigidos empregando-se a equação (7) (GRAMINHA *et al.*, 2020):

$$F_{\text{corr}} = F_{\text{obs}} 10^{(A_{\text{ex}} + A_{\text{em}})/2} \quad (7)$$

Em que  $F_{\text{corr}}$  e  $F_{\text{obs}}$  correspondem as intensidades de fluorescência corrigida e observada, e  $A_{\text{ex}}$  e  $A_{\text{em}}$  compreendem as absorvâncias no comprimento de onda de excitação e emissão, respectivamente. Observou-se que a adição do complexo ocasionou diminuição da intensidade de fluorescência, conforme representado no espectro de emissão da HSA (Figura 133).

Figura 133 - Espectro de emissão da HSA com concentrações crescentes do complexo (8).



Fonte: Da autora.

Nota: [HSA] = 5,0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  em solução tampão Tris-HCl pH = 7,4,  $\lambda_{\text{exc}}$  = 280 nm e T = 298 K.

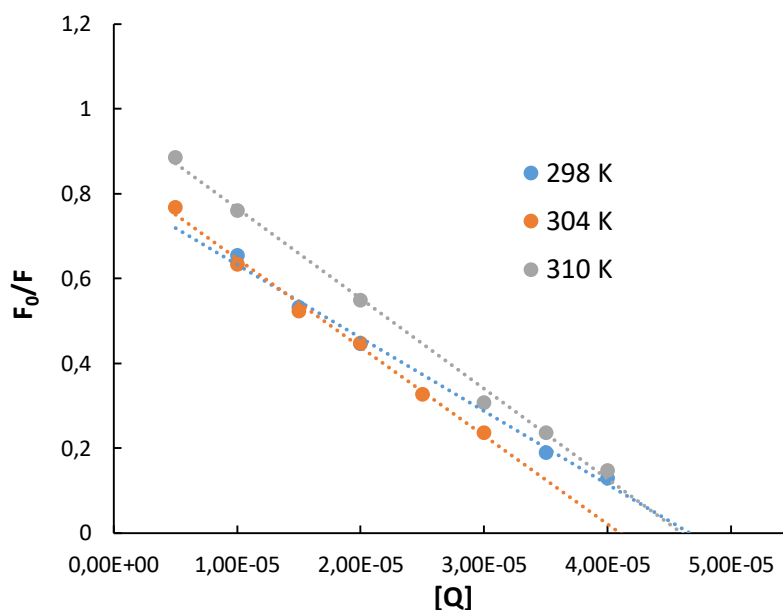
Esta modificação no perfil espectral é conferida a alterações conformacionais na solução proteica (MOREIRA *et al.*, 2015), principalmente nos resíduos de triptofano sugerindo, portanto, a interação do complexo estudado com a HSA. Utilizando-se a equação de Stern-Volmer (eq. 2) e fazendo-se o tratamento matemático dos dados obteve-se os gráficos de  $F_0/F$  em função da concentração do complexo [Q] (Figura 134) e por meio de regressões lineares determinou-se os valores de  $K_{\text{sv}}$  e  $K_q$  em diferentes temperaturas (Tabela 34).

Tabela 34 - Resultados obtidos para as constantes  $K_{\text{sv}}$  e  $K_q$ .

Complexo	T (K)	$K_{\text{sv}} \pm \text{DP } 10^4$ ( $\text{M}^{-1}$ )	$K_q \cdot 10^{13}$ ( $\text{M}^{-1} \text{s}^{-1}$ )	$R^2$
(8)	298	(1,72 $\pm$ 0,01)	1,72	0,9966
	304	(1,86 $\pm$ 0,06)	1,86	0,9959
	310	(2,04 $\pm$ 0,06)	2,04	0,9962

Fonte: Da autora.

Figura 134 - Gráfico de Stern-Volmer de  $F_0/F$  vs  $[Q]$  para HSA na presença de diferentes concentrações de **(8)**.



Fonte: Da autora.

Nota:  $[HSA] = 5,0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  em solução tampão Tris-HCl pH = 7,4,  $\lambda_{\text{ex.}} = 280 \text{ nm}$ .

Embora **(8)** tenha demonstrado aumento de  $K_{\text{SV}}$  com a elevação da temperatura sugerindo mecanismo dinâmico, os valores de  $K_{\text{q}}$  obtidos são superiores à constante de difusão máxima ( $K_{\text{dif}} = 2,0 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) (WARE, 1962; ZHAO *et al.*, 2011), indicando mecanismo estático. Desta forma, os resultados sugerem a ocorrência de ambos tipos de mecanismos de supressão de fluorescência para **(8)**.

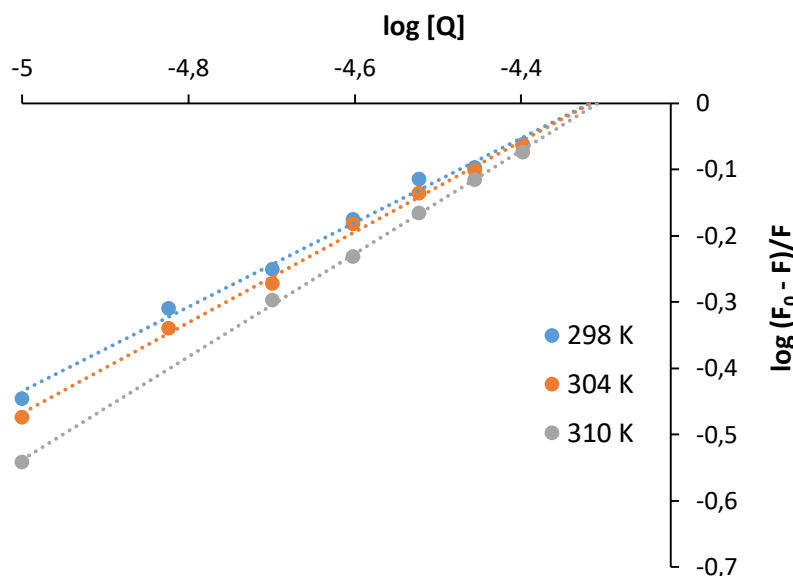
Posteriormente, foram obtidos os gráficos de  $\log (F_0-F)/F$  vs  $\log [Q]$  (Figura 135) que permitiram determinar os valores de  $K_{\text{b}}$  e  $n$  (Tabela 35) através dos coeficientes angular e linear da reta, respectivamente.

Tabela 35 - Resultados obtidos para as constantes  $K_{\text{b}}$  e  $n$  do complexo **(8)**.

Complexos	T (K)	$K_{\text{b}}$ ( $\text{M}^{-1}$ )	$n$	$R^2$
<b>(8)</b>	298	$(6,22 \pm 0,07) \times 10^2$	0,65	0,9931
	304	$(6,88 \pm 0,17) \times 10^2$	0,66	0,9988
	310	$(2,60 \pm 0,32) \times 10^3$	0,79	0,9962

Fonte: Da autora.

Figura 135 - Gráficos de  $\log (F_0 - F)/F$  vs  $\log [Q]$  para HSA na presença de diferentes concentrações de (8).



Fonte: Da autora.

Nota: [HSA] = 5,0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  em solução tampão Tris-HCl pH = 7,4,  
 $\lambda_{\text{ex.}} = 280 \text{ nm}$ .

O número de sítios ligantes obtido foi aproximadamente 1 ( $n \approx 1$ ), indicando a inserção de apenas uma molécula de (8) na estrutura proteica. Os valores de  $K_b$  demonstraram interações não tão significativas com a proteína, uma vez que muitos complexos de rutênio que interagem fortemente com a biomolécula e são descritos na literatura possuem  $K_b$  da ordem de grandeza  $10^5 \text{ mol}^{-1}$  (DEMORO *et al.*, 2019; SIMOVIC *et al.*, 2019).

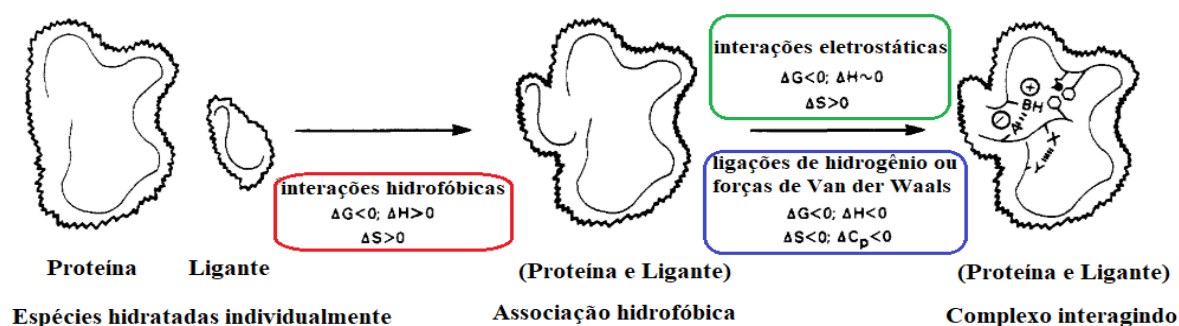
Aplicando-se os valores obtidos de  $K_b$  na equação de van't Hoff (eq. 8 e 9) foi possível a determinação dos parâmetros termodinâmicos destas interações (Tabela 36), como variações da energia livre de Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ), entropia ( $\Delta S^\circ$ ) e entalpia ( $\Delta H^\circ$ ), a fim de relacioná-los com diferentes tipos de forças intermoleculares possíveis entre pequenas moléculas e a HSA (NETO *et al.*, 2020).

$$\Delta G^\circ = -R T \ln K_b = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (8)$$

$$\ln K_b = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R} \quad (9)$$

A relação entre os parâmetros termodinâmicos e forças químicas foi descrita na década de 1980 e podem ser representados por um modelo termodinâmico hipotético (Figura 136), o qual está relatado em tópicos a seguir:  $\Delta S > 0$  e  $\Delta H > 0$  indicam interações hidrofóbicas entre o composto estudado e a proteína;  $\Delta S < 0$  e  $\Delta H < 0$  ligações de hidrogênio ou forças de van der Waals predominantes e  $\Delta S < 0$  e  $\Delta H > 0$  atrações eletrostáticas (ROSS; SUBRAMANIAN, 1981).

Figura 136 - Modelo termodinâmico hipotético de associação entre proteína e uma espécie ligante.



Fonte: Adaptado de ROSS; SUBRAMANIAN (1981).

Nota: O contorno difuso em torno das espécies da reação denota o domínio de moléculas de água.

Tabela 36 - Parâmetros termodinâmicos de (8): energia livre de Gibbs ( $\Delta G^\circ$ ), variação de entalpia ( $\Delta H^\circ$ ) e variação de entropia ( $\Delta S^\circ$ ).

Complexos	T (K)	$\Delta G^\circ$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	$\Delta H^\circ$ (kJ mol <sup>-1</sup> )	$\Delta S^\circ$ (J mol <sup>-1</sup> K)
(8)	298	-15,90		
	304	-16,50	91,57	360,76
	310	-20,30		

Fonte: Da autora.

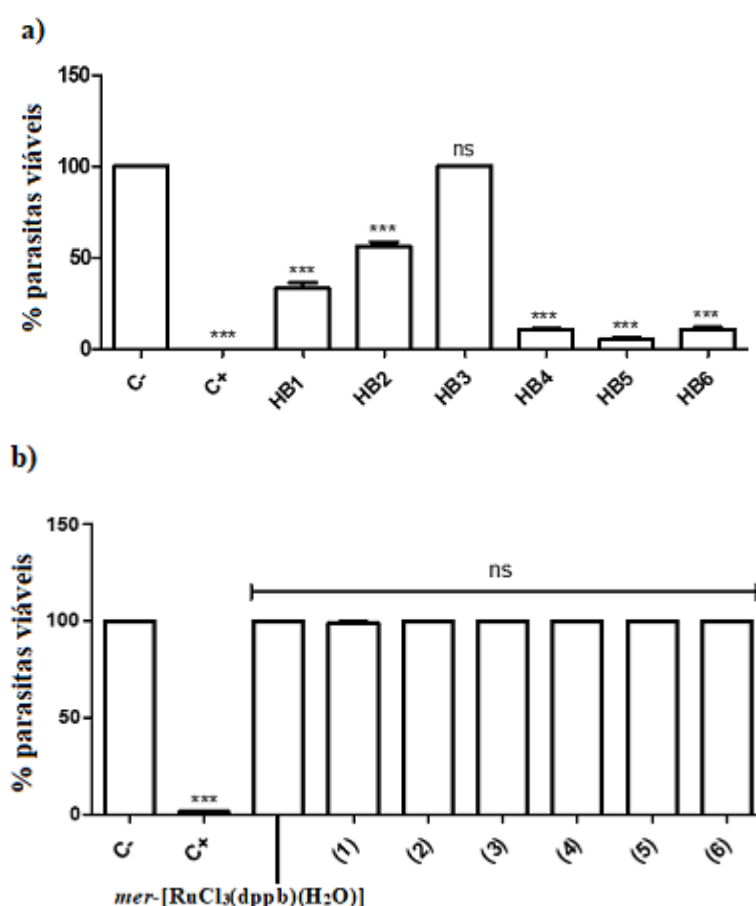
O valor negativo obtido de  $\Delta G^\circ$  para (8) sugere que o complexo interage de forma espontânea com HSA, e os valores positivos dos demais parâmetros ( $\Delta H^\circ$  e  $\Delta S^\circ$ ) indicam que ocorre por meio de interações hidrofóbicas. Estas são responsáveis por alterar momentaneamente a estrutura da HSA evidenciando fragmentos protéicos apolares, os quais induzem uma reorganização das moléculas de água que passam a envolver o novo sistema, conforme representado na figura acima.

#### 5.4.4 Ensaio de viabilidade de promastigotas de *Leishmania amazonensis*

Os ligantes (HB e HQ), precursores e novos complexos (série 1 e 2) foram avaliados contra a forma promastigota de *Leishmania amazonensis in vitro*. Os compostos foram submetidos a um *screening* inicial utilizando-se o método colorimétrico Alamar Blue, nome comercial do corante resazurin (7-hidroxi-3H-fenoxazina-3,10-óxido).

Utilizou-se a Anfotericina B como controle positivo, devido ser um medicamento de referência para o tratamento da leishmaniose. Os resultados obtidos para a série 1 encontram-se representados na Figura 137.

Figura 137 - Porcentagem de promastigotas de *L. amazonensis* viáveis em cultura axênica após os parasitos serem tratados a 10  $\mu$ M por 72 horas com a) HB1-HB6 b) *mer*-[RuCl<sub>3</sub>(dppb)(H<sub>2</sub>O)] e os complexos (1-6).



Fonte: Da autora.

Nota: A anfotericina B foi usada como controle positivo. A viabilidade parasitária foi avaliada pelo método Alamar Blue. C-: controle não tratado; C+: controle tratado com anfotericina B; \*\*\* P < 0,001; ns: não significativo.

Os complexos da série 1 e o precursor não apresentaram atividade leishmanicida, entretanto três ligantes demonstraram resultados significativos contra promastigotas de *L. amazonensis* (HB4, HB5 e HB6) e tiveram os valores de  $CI_{50}$ ,  $CC_{50}$  e IS determinados (Tabela 37).

Tabela 37- Concentração inibitória para 50% dos parasitos ( $CI_{50}$ ), concentração citotóxica para 50% das células ( $CC_{50}$ ) e índice de seletividade (IS) dos compostos mais ativos.

Compostos	MØ J774	Promastigotas	Índice de seletividade
	$CC_{50} \pm D.P. (\mu M)$	$CI_{50} \pm D.P. (\mu M)$	
<b>HB4</b>	138,4 $\pm$ 1,3	22,1 $\pm$ 1,7	6,3
<b>HB5</b>	113,9 $\pm$ 0,9	11,2 $\pm$ 0,7	10,2
<b>HB6</b>	82,1 $\pm$ 0,7	15,2 $\pm$ 1,1	5,4
<b>Anfotericina B</b>	3,6 $\pm$ 0,4	0,09 $\pm$ 0,02	40,0
<b>Violeta de Genciana</b>	0,7 $\pm$ 0,04	N.D.	N.D.

Fonte: Da autora.

Nota: D.P. = desvio padrão e N.D. = não determinado.

Embora os resultados de  $CI_{50}$  evidenciam menor atividade dos três ligantes (HB4, HB5 e HB6) em relação a Anfotericina B, ambos foram menos citotóxicos para os macrófagos J774, uma vez que apresentaram  $CC_{50}$  de 138,4  $\pm$  1,3  $\mu M$ , 113,9  $\pm$  0,9  $\mu M$  e 82,1  $\pm$  0,7  $\mu M$ , respectivamente, enquanto a Anfotericina B exibiu um  $CC_{50}$  de 3,6  $\pm$  0,4  $\mu M$  e o Violeta de Genciana 0,7  $\pm$  0,04  $\mu M$ .

O IS foi calculado entre a razão de  $CC_{50}$  e  $CI_{50}$  e demonstrou que HB5 foi cerca de 10,2 vezes mais seletivo para as formas promastigotas do que para os macrófagos, enquanto HB4 e HB6 foram 6,3 e 5,4 vezes, respectivamente.

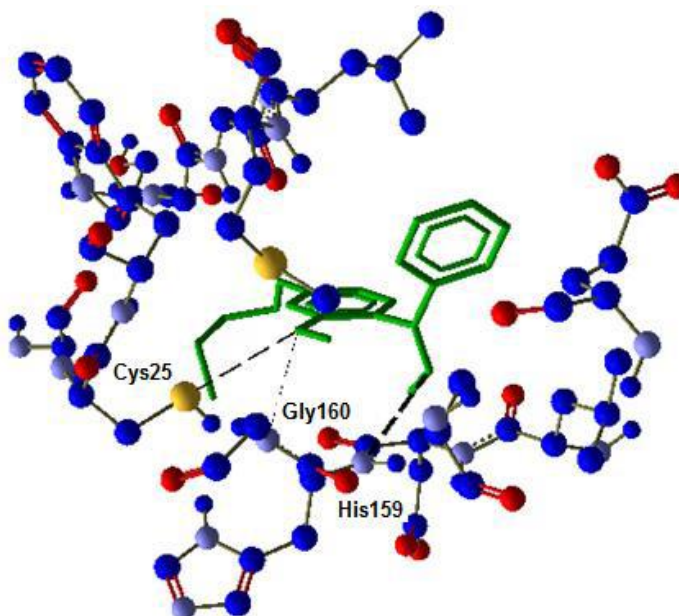
A classe das HB é muito estudada quanto ao seu potencial leishmanicida conforme descrito anteriormente na seção 2.1, sendo assim já haviam relatos na literatura sobre a atividade desta classe, incluindo o ligante HB5 contra a forma amastigota (MACIEL-REZENDE *et al.*, 2013), entretanto para HB4 e HB6 não foram encontrados nenhum estudo, fato que motivou a descrição da atividade biológica destes ligantes no artigo publicado (DIAS *et al.*, 2021).

A diminuição da atividade leishmanicida das HB após a coordenação com o metal instigou a investigação da possível causa. Sabe-se que muitos derivados de

HB atuam como inibidores de cisteína proteases, como por exemplo: cruzaina, catepsina L (ALMEIDA *et al.*, 2015) e papaína (MARTINS *et al.*, 2009).

Estudos anteriores de *docking* molecular da 2-hidroxi-4-O-butilbenzofenona com a cruzaina indicaram a importância das interações de hidrogênio entre os átomos do ligante e da enzima, bem como a energia e o comprimento destas, uma vez que os resíduos do sítio ativo (Cys25 e His159) estiveram presentes nas interações com o ligante (Figura 138). Posteriormente, foram realizados ensaios para avaliação do potencial de inibição enzimático do ligante citado anteriormente e estes exibiram resultados concordantes com o estudo teórico, denotando inibição da enzima cruzaina (ALMEIDA, 2013).

Figura 138 - Interação cruzaina e 2-hidroxi-4-O-butilbenzofenona.



Fonte: ALMEIDA (2013, p. 85).

Notas: Átomos de carbono estão representados em azul, de nitrogênio em lilás, oxigênio em vermelho, enxofre em amarelo. Ligante representado em verde. Interações de hidrogênio estão representadas em preto, em destaque os resíduos da proteína envolvidos em tal interação.

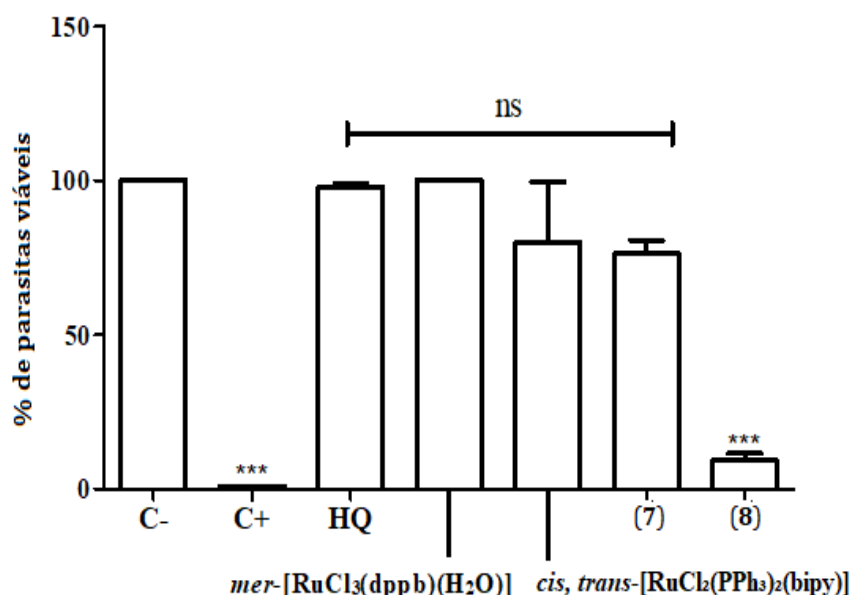
Considerando a semelhança estrutural do ligante 2-hidroxi-4-O-butilbenzofenona com as HB deste trabalho uma possível explicação para a diminuição da atividade leishmanicida poderia ser a inviabilização dos grupos farmacofóricos dos ligantes após a coordenação (carbonila e fenolato), entretanto uma

investigação aprofundada faz-se necessário, podendo sustentar novos esforços em trabalhos futuros envolvendo *docking* molecular e inibição enzimática.

Os resultados do ensaio de viabilidade para os complexos da série 2 encontram-se representados na Figura 139 e indicaram inibição mais significativa dos parasitos (90,70%) quando tratados com o complexo (8).

Observa-se também que o ligante HQ apresentou pequena porcentagem de inibição dos parasitos (2,33%), enquanto o precursor *cis,trans*-[RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)(bipy)] demonstrou valor mais significativo (20,0%), portanto os dados refletem que a coordenação potencializou a atividade leishmanicida do ligante. Entretanto, ao se determinar os valores de  $CI_{50} = 2,2 \mu\text{M}$ ,  $CC_{50} = 0,5 \mu\text{M}$  e  $IS = 0,2$  de (8) notou-se que o complexo atua também sobre os macrófagos apresentando citotoxicidade e inviabilizando, portanto, o prosseguimento dos ensaios sugeridos inicialmente neste trabalho.

Figura 139 - Porcentagem de promastigotas de *L. amazonensis* viáveis em cultura axênica após os parasitos serem tratados a 10  $\mu\text{M}$  por 72 horas com HQ, precursores, (7) e (8).



Fonte: Da autora.

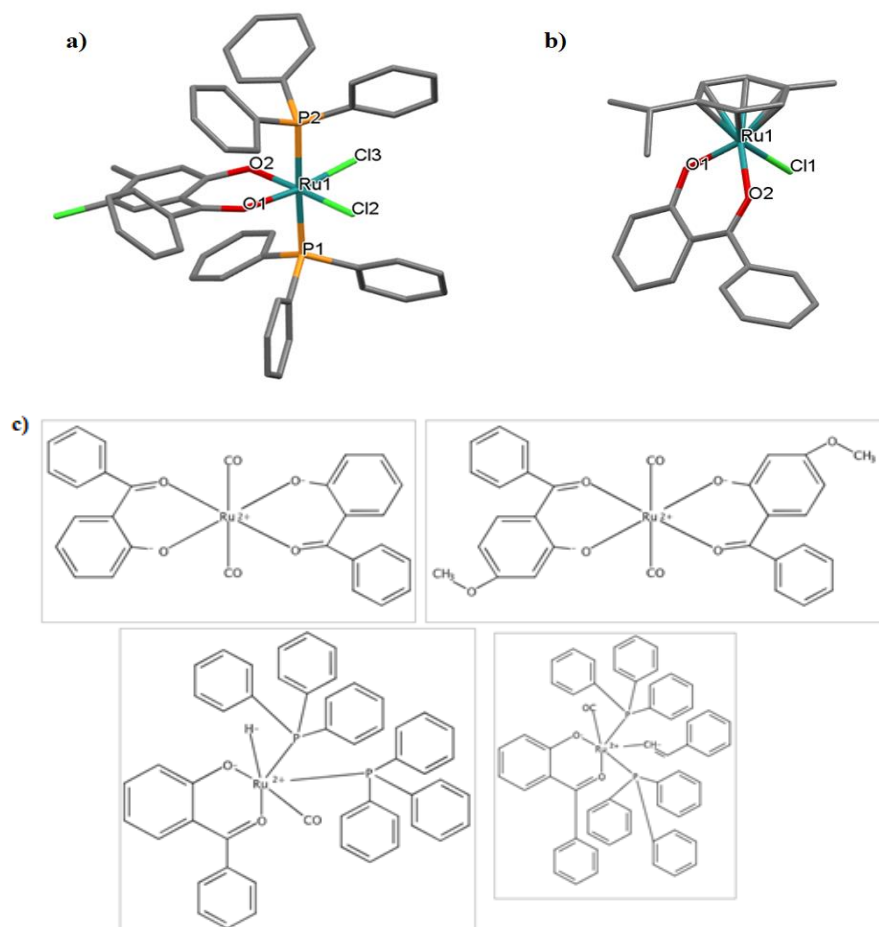
Notas: A anfotericina B foi usada como controle positivo. A viabilidade parasitária foi avaliada pelo método Alamar Blue. C-: controle não tratado; C+: controle tratado com anfotericina B; \*\*\*  $P < 0,001$ ; ns: não significativo.



Tendo em vista que o Ru(II) é um ácido macio e as HB são bases duras, a formação de seus complexos é desfavorecida, enquanto compostos de Ru(III) foram obtidos mais facilmente devido ao seu caráter ácido intermediário. Além disso, cabe ressaltar a presença das bifosfinas, o que aumenta ainda mais a acidez do íon Ru(III).

Como mencionado anteriormente, a pesquisa por complexos de rutênio com HB na base de dados cristalinos CSD (*The Cambridge Structural Database*) apontou apenas duas estruturas determinadas, uma de Rutênio(III) com 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona (HB2) (RAJA; RAMESH; LIU, 2012) (Figura 141 - a) e a outra de Rutênio(II) com 2-hidroxibenzofenona (HABTEMARIAM *et al.*, 2006) (Figura 141 - b).

Figura 141 - a) Estrutura do complexo de Ru(III) com HB2, b) Estrutura do complexo de Ru(II) com 2-hidroxibenzofenona e c) Estruturas sugeridas para complexos carbonílicos de Ru(II) com HB reportadas na literatura.

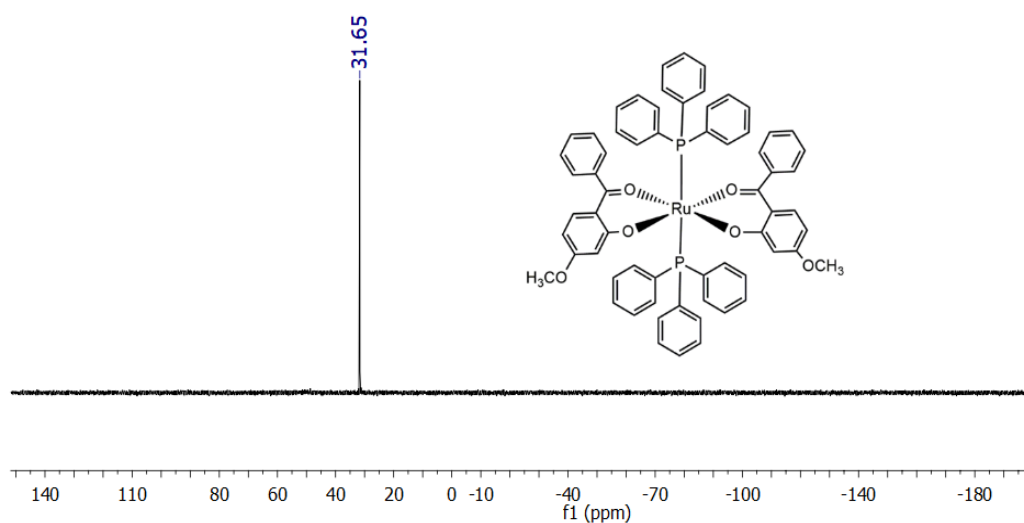


Fonte: Adaptado de GOPINATHAN; DESHPANDE; GOPINATHAN (1993); GOPINATHAN; PARDHY; GOPINATHAN (1986); HABTEMARIAM *et al.* (2006); JOSEPH *et al.* (1984); RAJA; RAMESH; LIU (2012).

Enquanto na base *Scifinder* alguns artigos antigos relataram a síntese de compostos carbonílicos de Ru(II) contendo 2-hidroxi benzofenonas (GOPINATHAN; DESHPANDE; GOPINATHAN, 1993; GOPINATHAN; PARDHY; GOPINATHAN, 1986; JOSEPH *et al.*, 1984) e sugerem a obtenção das estruturas representadas na Figura 141 – c). Desta forma, o pequeno número de estruturas determinadas até o momento podem ser um indicativo da dificuldade de obtenção de tais complexos.

Entre as tentativas realizadas a partir dos precursores de Ru(II), a síntese mais promissora ocorreu para P<sub>3</sub>, cuja reação com HB2 formou um único produto indicado por um singleto em 31,65 ppm no espectro de RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} (Figura 142). O resultado demonstrou a equivalência entre os núcleos de fósforo, entretanto estes encontram-se mais desblindados em relação ao precursor, o qual apresenta um singleto em 27,0 ppm e outro sinal em 40,70 ppm (BATISTA *et al.*, 2001; OLIVEIRA, 2014). Os resultados sugerem, portanto, a coordenação de HB com a manutenção dos átomos de fósforo *trans* entre si, conforme representado na Figura 142.

Figura 142 - Espectro de RMN <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} do complexo *trans*-[Ru(HB<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] em CDCl<sub>3</sub>.



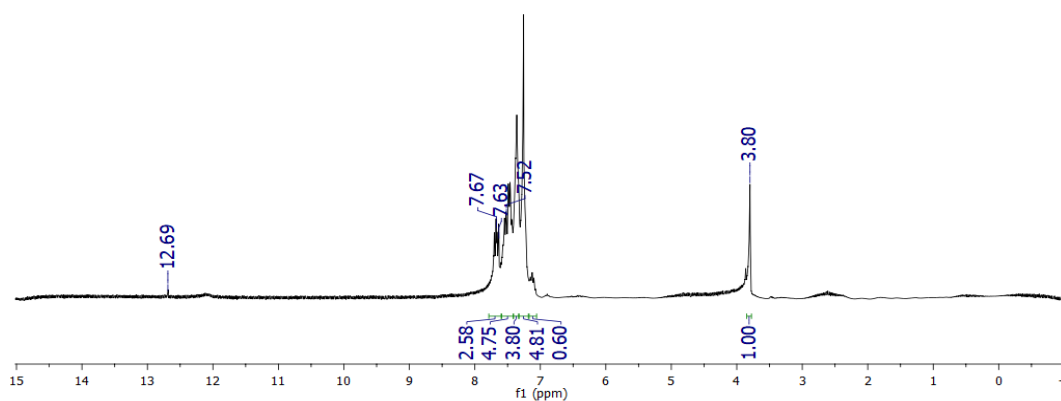
Fonte: Da autora.

Embora os dados de RMN de <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H} tenham demonstrado a formação de apenas um produto, o espectro de RMN <sup>1</sup>H apresentou um pequeno sinal em 12,69 ppm referente à hidroxila livre da HB2 e a integração dos sinais não concordou com a estrutura proposta (Figura 143), apontando uma reação incompleta.

A solução utilizada para o experimento de RMN ao ser deixada para recristalização por evaporação lenta do solvente originou um único monocristal que

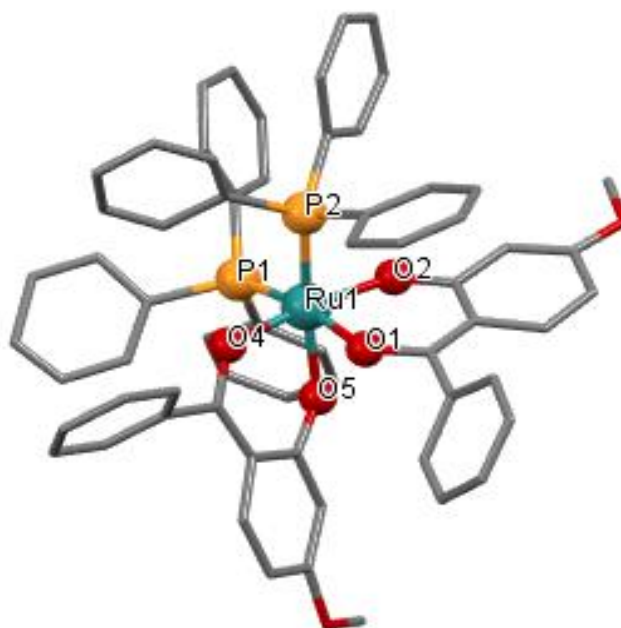
ao ser submetido a análise por difração de raios X (resultados não discutidos nessa tese) confirmou surpreendentemente a formação do *cis*-[Ru(HB<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] (Figura 144).

Figura 143 - Espectro de RMN <sup>1</sup>H do complexo *trans*-[Ru(HB<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] em CDCl<sub>3</sub>.



Fonte: Da autora.

Figura 144 - Estrutura do *cis*-[Ru(HB<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>].



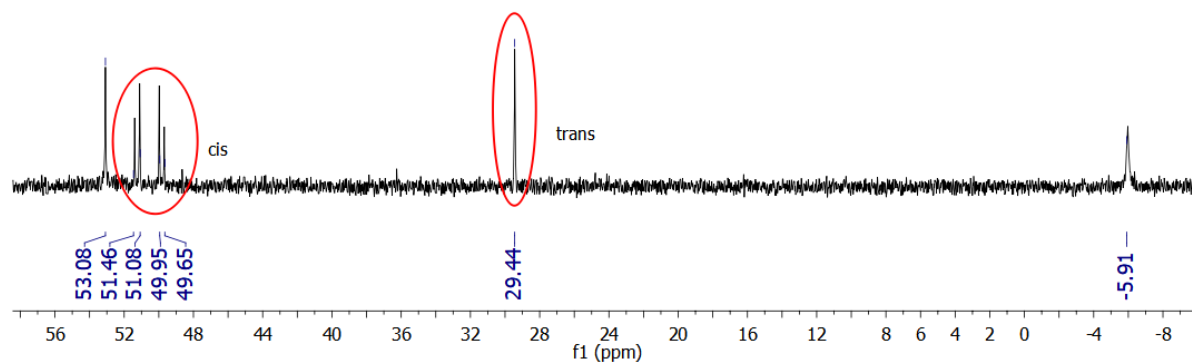
Fonte: software MERCURY (versão 4.2.0) MACRAE *et al.* (2008).

Nota: Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza.

Após a confirmação da estrutura por DRXM novas sínteses foram realizadas e acompanhadas por RMN na tentativa de se obter espectros que indicassem a formação do isômero *cis*. Este foi então confirmado após algumas modificações na

rota sintética que resultaram no surgimento de dois dubletos com deslocamentos químicos em 51,27 e 49,80 ppm (Figura 145), entretanto o isolamento do isômero *cis* não foi alcançado após diversos experimentos e ainda há a necessidade de purificação do produto *trans*.

Figura 145 - Espectro de RMN  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  da síntese a partir de  $\text{P}_1$  em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{D}_2\text{O}$ .



Fonte: Da autora.

Diante do exposto, o complexo mais promissor de Ru(II) com HB obtido neste trabalho necessita do término das caracterizações e poderá sustentar novos esforços por alunos do nosso grupo de pesquisa para futuros estudos.

## 7 CONCLUSÕES

Na busca por atingir o objetivo principal proposto no projeto de doutorado, que consistia em obter candidatos a metalofármacos com atividade citotóxica e leishmanicida, tendo os cátions Ru(II) e Ru(III) coordenados a hidroxibenzofenonas (6 diferentes moléculas) e a 1-hidroxi-9,10-antraquinona, foram sintetizados 9 (64%) de pelo menos 14 possíveis (2 NOX vs 7 ligantes) novos complexos. O fato de não ter sido exaurida todas as possibilidades pode estar associado ao desafio sintético de se obter complexos de Ru(II), um ácido macio, com o grupo carbonil-fenolato quelante benzofenônico, que é uma base dura. Dentre as 9 novas moléculas obtidas, 6 são com o Ru(III) coordenado a 6 diferentes hidroxibenzofenonas, fechando-se assim uma série completa (**1-6**), e 2 com a 1-hidroxi-9,10-antraquinona, uma contendo o Ru(III) (**7**) e outro o Ru(II) (**8**).

O nono complexo (não discutido nessa tese) contendo, surpreendentemente, o Ru(II) coordenado à 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona, o *cis*-[Ru(HB<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], cuja identidade foi inambiguamente confirmada por DRXM, foi obtido de forma inesperada pelo crescimento de cristais a partir da evaporação lenta de uma solução utilizada para o experimento de RMN durante tentativas de se obter o *trans*-[Ru(HB<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]. As técnicas de caracterização: espectroscopia de RMN <sup>31</sup>P{<sup>1</sup>H}, <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} e <sup>1</sup>H, UV-vis, IV, análise elementar, DRXP, condutividade molar, voltametria cíclica e análises térmicas foram empregadas para a identificação de (**1-8**).

A obtenção de monocristais de 5 compostos de Ru(III) e 1 composto de Ru(II) possibilitou a elucidação estrutural por DRXM, confirmando-se os modos de coordenação dos ligantes e permitindo o estabelecimento de suas geometrias intra e intermolecular no estado sólido cristalino. A determinação estrutural também também foi útil para a discussão dos resultados de infravermelho e análise térmica.

Estudos de modelagem molecular utilizando a DFT permitiram comparar os resultados teóricos com os experimentais das estruturas obtidas e demonstraram que a geometria *cis* apresentada pelos complexos de Ru(III) é energeticamente favorecida em relação aos demais isômeros possíveis.

Os cálculos empregando a TD-DFT proporcionaram informações importantes sobre as transições eletrônicas atuantes nos complexos e auxiliaram nas atribuições das bandas obtidas para os espectros de UV-vis.

O estudo de estabilidade dos compostos em solução constatou que os complexos (1-7) são instáveis quando solubilizados em DMSO, DMF e DMEM. O complexo (8), por sua vez, demonstrou formação de subprodutos em pequena proporção quando dissolvido em DMSO e DMF, entretanto na presença de DMEM e DMSO, a espécie sintetizada mostrou-se mais estável, mantendo-se em maior proporção ao final das 48 horas.

Os ensaios para investigação da atividade citotóxica dos complexos mostraram resultados promissores para (8), que apresentou maior atividade frente a linhagem CHL-1 (derivada de melanoma) com  $CI_{50}$  ( $14,50 \pm 1,99 \mu M$ ) e IS (7,3) melhores em comparação à cisplatina ( $CI_{50} = 44,92 \pm 1,71$  e IS = 0,54). Estudos subsequentes apontaram que (8) inibe a proliferação de células CHL-1 e induz apoptose, sendo que esses eventos estão associados, pelo menos em parte, com a inibição da progressão do ciclo celular na transição G1/S.

O estudo de interação com o DNA constatou forte afinidade de (8) com a biomolécula, uma vez que o  $K_b$  apresentou a mesma ordem de grandeza ( $10^7 M^{-1}$ ) de moléculas intercaladoras clássicas. Observou-se também hipocromismo e batocromismo nos espectros de UV-vis com a adição de ct-DNA, sugerindo que a interação mais provável com a macromolécula é a intercalação.

Os resultados do ensaio de interação com HSA revelaram que (8) ocasiona supressão de fluorescência através dos mecanismos estático e dinâmico e ocorre a inserção de apenas uma molécula do complexo na estrutura proteica ( $n \approx 1$ ). O valor de  $K_b$  ( $10^2$ - $10^3 M^{-1}$ ) obtido indica que (8) não interage significativamente com HSA, entretanto esta interação ocorre de forma espontânea ( $\Delta G^\circ < 0$ ) e por meio de interações hidrofóbicas.

Os complexos da série 1 (1-6) não apresentaram atividade leishmanicida, entretanto três das seis hidroxibenzofenonas (HB4, HB5 e HB6) demonstraram atividade contra os parasitos da forma promastigota comparável à anfotericina B, além de ser várias vezes menos citotóxico do que os fármacos de referência. A exemplo da série 1, o complexo (7) também não apresentou atividade leishmanicida. Por outro lado, o complexo (8) demonstrou resultados significativos, no entanto além de atuar sobre os parasitos, o composto atuou também contra os macrófagos, apresentando citotoxicidade e inviabilizando ensaios propostos inicialmente, como a análise de inibição de proteases da *Leishmania amazonensis*.

## REFERÊNCIAS

- ADAMO, C.; BARONE, V. Toward reliable density functional methods without adjustable parameters: The PBE0 model. **J. Chem. Phys.**, v. 110, n. 13, p. 6158–6170, 1999.
- AIHARA, J. I. Reduced HOMO-LUMO Gap as an Index of Kinetic Stability for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. **J. Phys. Chem. A**, v. 103, n. 37, p. 7487–7495, 1999.
- AITIPAMULA, S.; VANGALA, V. R. X - Ray Crystallography and its Role in Understanding the Physicochemical Properties of Pharmaceutical Cocrystals. **J. Indian Inst. Sci.**, v. 97, n. 2, p. 227–243, 2017.
- ALEKSIĆ, M. M.; KAPETANOVIĆ, V. An Overview of the Optical and Electrochemical Methods for Detection of DNA – Drug Interactions. **Acta Chim. Slov.**, v. 61, n. 3, p. 555–573, 2014.
- ALESSIO, E. Thirty Years of the Drug Candidate NAMI-A and the Myths in the Field of Ruthenium Anticancer Compounds: A Personal Perspective. **Eur. J. Inorg. Chem.**, v. 55, p. 1549–1560, 2017.
- ALESSIO, E.; MESSORI, L. NAMI-A and KP1019/1339, Two Iconic Ruthenium Anticancer Drug Candidates Face-to-Face: A Case Story in Medicinal Inorganic Chemistry. **Molecules**, v. 24, p. 1–20, 2019.
- ALIZADEH, A. M.; SHIRI, S.; FARSINEJAD, S. Metastasis review: from bench to bedside. **Tumor Biol.**, v. 35, n. 9, p. 8483–8523, 2014.
- ALLARDYCE, C. S. *et al.* Development of organometallic (organo-transition metal) pharmaceuticals. **Appl. Organometal. Chem.**, v. 19, n. 1, p. 1–10, 2005.
- ALLEN JR., L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 9. ed. Porto Alegre-RS: Artmed, 2013.
- ALMEIDA, L. DE. **Efeito Leishmanicida de Derivados Benzofenônicos e Estudo Comparativo do Potencial de Inibição Enzimática in silico e in vitro**. 2013. 157 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2013.
- ALMEIDA, L. DE *et al.* Benzophenone derivatives as cysteine protease inhibitors and biological activity against *Leishmania (L.) amazonensis* amastigotes. **Biomed. Pharmacother.**, v. 75, p. 93–99, 2015.
- ALMEIDA, V. L. DE *et al.* Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Quim. Nova**, v. 28, n. 1, p. 118–129, 2005.
- AMIRI, M.; JANKEJE, K.; ALBANI, J. R. Origin of Fluorescence Lifetimes in Human

Serum Albumin. Studies on Native and Denatured Protein. **J. Fluoresc.**, v. 20, p. 651–656, 2010.

ANDREESCU, S.; ANDREESCU, D.; SADIK, O. A. A new electrocatalytic mechanism for the oxidation of phenols at platinum electrodes. **Electrochem. commun.**, v. 5, n. 8, p. 681–688, 2003.

ANG, W. H.; DYSON, P. J. Classical and Non-Classical Ruthenium-Based Anticancer Drugs: Towards Targeted Chemotherapy. **Eur. J. Inorg. Chem.**, v. 2006, n. 20, p. 3989–4192, 2006.

ANOUAR, E. H. *et al.* UV/Visible spectra of a series of natural and synthesised anthraquinones: experimental and quantum chemical approaches. **Springerplus**, v. 3, n. 233, p. 1–12, 2014.

ANSARI, M. Y. *et al.* Recent advancement and treatment of leishmaniasis based on pharmacoinformatics approach: Current and future outlook. **Gene Rep.**, v. 9, p. 86–97, 2017.

ANTHONY, E. J. *et al.* Metallodrugs are unique: opportunities and challenges of discovery and development. **Chem. Sci.**, 2020.

ANVERSA, L. *et al.* Human leishmaniasis in Brazil: A general review. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 64, n. 3, p. 281–289, 2018.

ANVISA. **Registro de medicamentos novos, genéricos e similares contendo solvatos e cocristais como insumo farmacêutico ativo**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33836/349757/NOTA+TÉCNICA+02+2017++Registro+de+medicamentos+novos%2C+genéricos+e+similares+contendo+solvato+s+e+cocristais+como+insumo+farmacêutico+ativo/0dcff85e-5ce9-4639-b312-3d36d5425237>. Acesso em: 25 jun. 2020.

APARICIO, I. M.; SCHARFSTEIN, J.; LIMA, A. P. C. A. A new cruzipain-mediated pathway of human cell invasion by *Trypanosoma cruzi* requires trypomastigote membranes. **Infect. Immun.**, v. 72, n. 10, p. 5892–5902, 2004.

ARENAS, Y. *et al.* Photodynamic inactivation of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with Ru (II) - based type I/type II photosensitizers. **Photodiagnosis Photodyn. Ther.**, v. 10, n. 4, p. 615–625, 2013.

ARJMAND, F.; JAMSHEERA, A. DNA binding studies of new valine derived chiral complexes of tin(IV) and zirconium(IV). **Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.**, v. 78, n. 1, p. 45–51, 2011.

ARNOLD, R. S. *et al.* Nox1 Expression Determines Cellular Reactive Oxygen and Modulates c-fos-Induced Growth Factor, Interleukin-8, and Cav-1. **Am. J. Pathol.**, v. 171, n. 6, p. 2021–2032, 2007.

ASLANTÜRK, Ö. S. In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages. In: LARRAMENDY, M. L.; SOLONESKI, S. (Eds.).

**Genotoxicity A Predictable Risk to Our Actual World.** 1 st ed. London: IntechOpen, 2018. p. 1–18.

ATTA-UR RAHMAN; CHOUDHARY, M. I. (Eds.). **Frontiers in Anti-Cancer Drug Discovery.** Bentham Science, 2014. v. 4.

AVELAR-FREITAS, B. A. *et al.* Trypan blue exclusion assay by flow cytometry. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 47, n. 4, p. 307–315, 2014.

BACAC, M. *et al.* Cocultures of metastatic and host immune cells: selective effects of NAMI-A for tumor cells. **Cancer Immunol. Immunother.**, v. 53, n. 12, p. 1101–1110, 2004.

BAGGETT, S. *et al.* Bioactive Benzophenones from *Garcinia xanthochymus* Fruits. **J. Nat. Prod.**, v. 68, p. 354–360, 2005.

BALANÍA-FOUCE, R. *et al.* Trypanosomatids topoisomerase re-visited. New structural findings and role in drug discovery. **Int. J. Parasitol. Drugs Drug Resist.**, v. 4, p. 326–337, 2014.

BARBOSA, M. I. F. *et al.* Antiparasitic activities of novel ruthenium/lapachol complexes. **J. Inorg. Biochem.**, v. 136, p. 33–39, 2014.

BAROLLI, J. P. *et al.* Polypyridyl ruthenium complexes: Novel DNA-intercalating agents against human breast tumor. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 28, n. 10, p. 1879–1889, 2017.

BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G. Antitumour Complexes and DNA Interactions and their Tools of Analysis: an Approach to Metalintercalators. **Rev. Virtual Quim.**, v. 7, n. 6, p. 1998–2016, 2015.

BARRY, N. P. E.; SADLER, P. J. Exploration of the medical periodic table: towards new targets. **Chem. Commun.**, v. 49, p. 5106–5131, 2013.

BASTO, A. P. *et al.* Targeting of the mitochondrion by dinuclear thiolato-bridged arene ruthenium complexes in cancer cells and in the apicomplexan parasite *Neospora caninum*. **Metallomics**, v. 11, p. 462–474, 2019.

BATISTA, A. A. *et al.* Electrochemical and spectroscopic studies on  $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{N})_2$  and  $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{N}-\text{N})$  complexes (N=pyridine derivatives and N-N = phenanthroline or bipyridine derivatives). X-ray structure of  $\text{RuCl}_2(\text{PPh}_3)_2(\text{phen})$ . **Polyhedron**, v. 20, n. 2, p. 2123–2128, 2001.

BATISTA, A. A.; QUEIROZ, S. L. cis-trans Isomerism in Metal Complexes. In: DUGAVE, C. (Ed.). **cis-trans Isomerization in Biochemistry.** Wiley-VCH, 2006. p. 321–344.

BENCINI, A.; LIPPOLIS, V. 1,10-Phenanthroline : A versatile building block for the construction of ligands for various purposes. **Coord. Chem. Rev.**, v. 254, p. 2096–2180, 2010.

BERGAMO, A. *et al.* Biological role of adduct formation of the ruthenium (III) complex NAMI-A with serum albumin and serum transferrin. **Invest. New Drugs**, v. 21, p. 401–411, 2003.

BERKE, H. 'Counting ions' in Alfred Werner's coordination chemistry using electrical conductivity measurements. **Educ. Quím.**, v. 25, p. 267–275, 2014.

BHATTACHARYA, S. K. *et al.* Phase 4 Trial of Miltefosine for the Treatment of Indian Visceral Leishmaniasis. **J. Infect. Dis.**, v. 196, n. 4, p. 591–598, 2007.

BIANCALANA, L.; PAMPALONI, G.; MARCHETTI, F. Arene Ruthenium (II) Complexes with Phosphorous Ligands as Possible Anticancer Agents. **Chimia**, v. 71, n. 9, p. 573–579, 2017.

BLANCO, V. R.; NASCIMENTO-JÚNIOR, N. M. Leishmaniose: Aspectos Gerais Relacionados com a Doença, o Ciclo do Parasita, Fármacos Disponíveis, Novos Protótipos e Vacinas. **Rev.Virtual Quím.**, v. 9, n. 3, p. 861–876, 2017.

BOLOGNESI, M. L. *et al.* Synthesis of a small library of 2-phenoxy-1, 4-naphthoquinone and 2-phenoxy-1, 4-anthraquinone derivatives bearing anti-trypanosomal and anti-leishmanial activity. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v. 18, p. 2272–2276, 2008.

BOSCÁ, F. *et al.* Photochemical and Photobiological Properties of Ketoprofen Associated With the Benzophenone Chromophore. **Photochem. Photobiol.**, v. 60, n. 2, p. 96–101, 1994.

BRASIL. **Vigilância em saúde no Brasil 2003|2019: da criação da Secretaria de Vigilância em Saúde aos dias atuais**. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/setembro/25/boletim-especial-21ago19-web.pdf?fbclid=IwAR3qTQYyo5tG7dYLNxWfj4ymtmlAoJtlolbTnwToAPConwrDn0VpV0kyzvo>. Acesso em: 1 dez. 2019.

BRAY, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: Cancer J. Clin.**, v. 68, n. 6, p. 394–424, 2018.

BRESSAN, M.; RIGO, P. 5-Coordinate Complexes of ruthenium(II) with di(tertiary phosphines). **Inorg. Chem.**, v. 14, n. 9, p. 1–3, 1975.

BROGNARD, J.; HUNTER, T. Protein kinase signaling networks in cancer. **Curr. Opin. Genet. Dev.**, v. 21, n. 1, p. 4–11, 2011.

BROOKS-BARTLETT, J. C.; GARMAN, E. F. The Nobel Science : One Hundred Years of Crystallography. **Interdiscipl. Sci. Rev.**, v. 40, n. 3, p. 244–264, 2015.

BURZA, S.; CROFT, S. L.; BOELAERT, M. Leishmaniasis. **Lancet**, v. 392, n. 10151, p. 951–970, 2018.

- BYTZEK, A. K. *et al.* Biodistribution of the novel anticancer drug sodium trans-[tetrachloridobis(1H-indazole)ruthenate(III)] KP-1339/IT139 in nude BALB/c mice and implications on its mode of action. **J. Inorg. Biochem.**, v. 160, p. 250–255, 2016.
- CACITA, N.; NIKOLAOU, S. Studying the interaction between trinuclear ruthenium complexes and human serum albumin by means of fluorescence quenching. **J. Lumin.**, v. 169, p. 115–120, 2016.
- CAGLE, E. C. *et al.* A  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  NMR Spectroscopic Study of Phosphorus-Donor Ligands and Their Transition Metal Complexes. **J. Chem. Educ.**, v. 95, n. 6, p. 1054–1059, 2018.
- CALDWELL, R. W. *et al.* Arginase: A Multifaceted Enzyme Important in Health and Disease. **Physiol. Rev.**, v. 98, p. 641–665, 2018.
- CARUSO, F. *et al.* Crystal and Molecular Structure of Manganese ( II ) Lapacholate , a Novel Polymeric Species Undergoing Temperature-Reversible Metal to Ligand Electron Transfer. **Inorg. Chem.**, v. 48, n. 8, p. 3529–3534, 2009.
- CASTRO, D. T. H. *et al.* Ethanolic Extract of Senna velutina Roots : Chemical Composition , In Vitro and In Vivo Antitumor Effects , and B16F10-Nex2 Melanoma Cell Death Mechanisms. **Oxid. Med. Cell. Longev.**, v. 2019, p. 1–14, 2019.
- CHAMBERLAIN, S. *et al.* TLD1433-Mediated Photodynamic Therapy with an Optical Surface Applicator in the Treatment of Lung Cancer Cells In Vitro. **Pharmaceuticals**, v. 13, p. 137, 2020.
- CHANDER, M. Anticancer Efficacy of Some Plant Phenolics - A Recent Scenario. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.**, v. 7, n. 10, p. 1746–1768, 2018.
- CHAUDET, J. H.; TAMBLYN, J. W. Some Functions of 2-Hydroxybenzophenones as Weathering Stabilizers for Polymers. **SPE Trans.**, v. 1, p. 57–62, 1961.
- CHAVES, O. A. *et al.* Multi-Spectroscopic and Theoretical Analysis on the Interaction between Human Serum Albumin and a Capsaicin Derivative — RPF101. **Biomolecules**, v. 8, n. 78, p. 1–18, 2018.
- CHE, C.; SIU, F. Metal complexes in medicine with a focus on enzyme inhibition. **Curr. Opin. Chem. Biol.**, v. 14, n. 2, p. 255–261, 2010.
- CHEN, S.; LIU, J.; THANGAMUTHU, R. Electropreparation of Poly (benzophenone-4 ) Film Modified Electrode and Its Electrocatalytic Behavior Towards Dopamine, Ascorbic Acid and Nitrite. **Electroanalysis**, v. 18, n. 23, p. 2361–2368, 2006.
- CHIEN, S. *et al.* Naturally Occurring Anthraquinones : Chemistry and Therapeutic Potential in Autoimmune Diabetes. **Evid.-Based Complementary Altern. Med.**, v. 2015, p. 1–13, 2015.
- CHITNIS, S. S.; BURFORD, N. Phosphine complexes of lone pair bearing Lewis acceptors. **Dalton Trans.**, v. 44, p. 17–29, 2015.

CLARKE, M. J. Ruthenium metallopharmaceuticals. **Coord. Chem. Rev.**, v. 232, n. 1–2, p. 69–93, 2002.

COLINA-VEGAS, L. *et al.* Ru(II)/clotrimazole/diphenylphosphine/bipyridine complexes: Interaction with DNA, BSA and biological potential against tumor cell lines and Mycobacterium tuberculosis. **J. Inorg. Biochem.**, v. 162, p. 135–145, 2016.

COLINA-VEGAS, L. *et al.* Anti-Proliferative and Anti-Migration Activity of Therapeutic Agents. **Inorganics**, v. 6, n. 4, p. 132, 2018.

COLOTTI, G.; ILARI, A. Polyamine metabolism in Leishmania: from arginine to trypanothione. **Amino Acids**, v. 40, p. 269–285, 2011.

CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C. R. **Leishmanioses do continente americano**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2014.

CORRÊA, B. A. M. *et al.* Molecular Modeling Studies of the Structural, Electronic, and UV Absorption Properties of Benzophenone Derivatives. **J. Phys. Chem. A**, v. 116, p. 10927–10933, 2012.

CORY, A. H. *et al.* Use of an Aqueous Soluble Tetrazolium/Formazan Assay for Cell Growth Assays in Culture. **Cancer Commun.**, v. 3, p. 207–212, 1991.

COSTA, J. M. L. *et al.* Modalidades clínicas, diagnóstico e abordagem terapêutica da Leishmaniose Tegumentar no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 79, p. 70–83, 2009.

COSTA, M. S. *et al.* Anti-Leishmania activity of new ruthenium(II) complexes: Effect on parasite-host interaction. **J. Inorg. Biochem.**, v. 175, p. 225–231, 2017.

COSTA, M. S. *et al.* Increased ROS generation causes apoptosis-like death: Mechanistic insights into the anti-Leishmania activity of a potent ruthenium (II) complex. **J. Inorg. Biochem.**, v. 195, p. 1–12, 2019.

CROFT, S. L.; YARDLEY, V. Chemotherapy of leishmaniasis. **Curr. Pharm. Des.**, v. 8, p. 319–342, 2002.

CULLINANE, N. M.; WOOLHOUSE, R. A.; BAILEY-WOOD, V. V. The infrared absorption spectra of some aromatic hydroxy-ketones. **Recl. Trav. Chim. Pays-Bas**, v. 80, p. 116–120, 1961.

CUNHA, S. Métodos simples de formação de monocristais de substância orgânica para estudo estrutural por difração de raios X. **Quim. Nova**, v. 31, n. 4, p. 906–909, 2008.

D'ORAZIO, J. *et al.* UV Radiation and the Skin. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 14, p. 12222–12248, 2013.

DAS, P. *et al.* Protease Inhibitors in Potential Drug Development for Leishmaniasis.

**Indian J. Biochem. Biophys.**, v. 50, p. 363–376, 2013.

DASARI, S.; TCHOUNWOU, P. B. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 740, p. 364–378, 2014.

DEMORO, B. *et al.* Interaction with Blood Proteins of a Ruthenium (II) Nitrofuryl Semicarbazone Complex : Effect on the Antitumoral Activity. **Molecules**, v. 24, n. 16, p. 2861, 2019.

DENNINGTON, R.; KEITH, T.; MILLAM, J. **GaussView, Version 5. Semichem Inc., Shawnee Mission, KS**, 2009.

DEU, E. Proteases as Antimalarial Targets: Strategies for Genetic, Chemical, and Therapeutic Validation. **FEBS J.**, v. 284, p. 2604–2628, 2017.

DHANANJEYAN, M. R. *et al.* Synthesis and Activity of Substituted Anthraquinones against a Human Filarial Parasite , *Brugia malayi*. **J. Med. Chem.**, v. 48, p. 2822–2830, 2005.

DIAS, J. S. M. *et al.* Pro-apoptotic activity of ruthenium 1-methylimidazole complex on non-small cell lung cancer. **J. Inorg. Biochem.**, v. 187, p. 1–13, 2018.

DIAS, J. S. M. *et al.* Novel Ruthenium(II) Complexes With Cimetidine: Dft Calculations and In Vi- tro Cytotoxic Activities Against Glioblastoma Cell Lines. **Inorg. Chim. Acta**, v. 506, p. 119501, 2020.

DIAS, J. S. M. *et al.* Novel Ruthenium(III) Complexes With Hydroxybenzophenones: Experimental and Theoretical Characterization and in vitro Leishmanicidal Activity Comparing Complexes and Ligands. **New J. Chem.**, 2021.

DIAZ-MUÑOZ, G. *et al.* Anthraquinones : An Overview. In: RAHMAN, A.- (Ed.). **Studies in Natural Products Chemistry**. 1 st ed. Elsevier, 2018. v. 58p. 313–338.

DÍAZ-TORRES, R.; ALVAREZ, S. Coordinating ability of anions and solvents towards transition metals and lanthanides. **Dalton Trans.**, v. 40, p. 10742–10750, 2011.

DINELLI, L. R. *et al.* Synthesis and Characterization of [RuCl<sub>3</sub>(P-P)(H<sub>2</sub>O)] Complexes; P-P ) Achiral or Chiral, Chelating Ditertiary Phosphine Ligands. **Inorg. Chem.**, v. 38, n. 12, p. 5341–5345, 1999.

DOLOMANOV, O. V *et al.* OLEX2: a complete structure solution, refinement and analysis program. **J. Appl. Cryst.**, v. 42, p. 339–341, 2009.

DORIGUETTO, A. C. *et al.* 2,2',4-Trihydroxybenzophenone: Crystal Structure, and Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities. **Chem. Biodiversity**, v. 4, p. 488–499, 2007.

DUCHEN, M. R. Mitochondria and calcium: From cell signalling to cell death. **J. Physiol.**, v. 529, n. 1, p. 57–68, 2000.

DUFOURC, E. J. Sterols and membrane dynamics. **J. Chem. Biol.**, n. 1, p. 63–77, 2008.

DUNNING, T. H. Gaussian basis sets for use in correlated molecular calculations. I. The atoms boron through neon and hydrogen. **J. Chem. Physics**, v. 90, n. 2, p. 1007–1023, jan. 1989.

DURONIO, R. J.; COLD, Y. X. Signaling Pathways that Control Cell Proliferation Signaling Pathways that Control Cell Proliferation. **Cold Spring Harb. Perspect. Biol.**, v. 5, n. 3, p. a008904, 2013.

DUTTA, P. K.; HUTT, J. A. Infrared and Resonance Raman Spectroscopic studies of 1-hydroxy-9,10-anthraquinone and its metal complexes. **J. Raman Spectrosc.**, v. 18, p. 339–344, 1987.

DUVAL, J. *et al.* Research advances for the extraction , analysis and uses of anthraquinones : A review. **Ind. Crop. Prod.**, v. 94, p. 812–833, 2016.

ECHEVERRI, M. *et al.* Using phosphine ligands with a biological role to modulate reactivity in novel platinum complexes. **R. Soc. Open Sci.**, v. 5, p. 171340, 2018.

EJIDIKE, I. P.; AJIBADE, P. A. Synthesis , characterization , and in vitro antioxidant and anticancer studies of ruthenium (III) complexes of symmetric and asymmetric tetradentate Schiff bases. **J. Coord. Chem.**, v. 68, p. 37–41, 2015.

EJIDIKE, I. P.; AJIBADE, P. A. Ruthenium (III) Complexes of Heterocyclic Tridentate (ONN) Schiff Base : Synthesis, Characterization and its Biological Properties as an Antiradical and Antiproliferative Agent. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 17, p. 1–11, 2016.

ELGRISHI, N. *et al.* Molecular polypyridine-based metal complexes as catalysts for the reduction of CO<sub>2</sub>. **Chem. Soc. Rev.**, v. 46, n. 3, p. 761–796, 2017.

ELGRISHI, N. *et al.* A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. **J. Chem. Educ.**, v. 95, p. 197–206, 2018.

ESPURI, P. F. *et al.* Synthesis and evaluation of the antileishmanial activity of silver compounds containing imidazolidine-2-thione. **J. Biol. Inorg. Chem.**, v. 24, n. 3, p. 419–432, 2019.

FARRUGIA, L. J. WinGX and ORTEP for Windows: an update. **J. Appl. Cryst.**, v. 45, p. 849–854, 2012.

FERRARO, M. G. *et al.* Breast Cancer Chemotherapeutic Options : A General Overview on the Preclinical Validation of a Multi - Target Ruthenium (III) Complex Lodged in Nucleolipid Nanosystems. **Cells**, v. 9, p. 1412, 2020.

FERREIRA-SILVA, G. A. *et al.* [Ru(pipe)(dppb)(bipy)]PF<sub>6</sub>: A novel ruthenium complex that effectively inhibits ERK activation and cyclin D1 expression in A549 cells. **Toxicol. In Vitro**, v. 44, n. June, p. 382–391, 2017.

FERREIRA, L. L. G.; ANDRICOPULO, A. D. Chemoinformatics Strategies for Leishmaniasis Drug Discovery. **Front. Pharmacol.**, v. 9, n. November, p. 1–11, 2018.

FIGUEIREDO, K. A. *et al.* Prospecção de Alvos Bioquímicos para Estudo in silico na Quimioterapia Antileishmania. **Rev. Virtual Quim.**, v. 10, n. 5, p. 1485–1501, 2018.

FILHO, J. M. **Medicina Farmacêutica - Conceitos e aplicações**. Porto Alegre: Artmed, 2016.

FIOCRUZ. **Tudo sobre os flebotomíneos do Brasil**. Disponível em: [http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=3107&sid=32&tpl=printer view](http://www.fiocruz.br/ioc/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=3107&sid=32&tpl=printer_view). Acesso em: 1 dez. 2019.

FIOCRUZ. **Leishmaniose**. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/taxonomia-geral-7-doencas-relacionadas/leishmaniose-0>. Acesso em: 28 set. 2019.

FRANÇA, R. R. F. *et al.* Inibidores Potentes da Enzima Esterol 14 $\alpha$  -desmetilase Contra Trypanosoma cruzi. **Rev. Virtual Quim.**, v. 6, n. 5, p. 1483–1516, 2014.

FRANZ, K. J.; METZLER-NOLTE, N. Introduction: Metals in Medicine. **Chem. Rev.**, v. 119, p. 727–729, 2019.

FRISCH, M. J. *et al.* **Gaussian 09, Revision A.02. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.**, 2016.

FUKUYAMA, M. *et al.* Overexpression of a novel superoxide-producing enzyme , NADPH oxidase 1 , in adenoma and well differentiated adenocarcinoma of the human colon. **Cancer Lett.**, v. 221, p. 97–104, 2005.

FURCHE, F.; AHLRICHS, R. Adiabatic time-dependent density functional methods for excited state properties. **J. Chem. Phys.**, v. 117, n. 16, p. 7433–7447, out. 2002.

GABBIANI, C. *et al.* Outstanding plasmodicidal properties within a small panel of metallic compounds : Hints for the development of new metal-based antimalarials. **J. Inorg. Biochem.**, v. 103, p. 310–312, 2009.

GAMA, N. H. *et al.* Activity of phosphino palladium(II) and platinum(II) complexes against HIV-1 and Mycobacterium tuberculosis. **BioMetals**, v. 29, n. 4, p. 637–650, 2016.

GAMBINO, D.; OTERO, L. Perspectives on what ruthenium-based compounds could offer in the development of potential antiparasitic drugs. **Inorg. Chim. Acta**, v. 393, p. 103–114, 2012.

GAYNOR, D.; GRIFFITH, D. M. The prevalence of metal-based drugs as therapeutic or diagnostic agents: beyond platinum. **Dalton Trans.**, v. 41, n. 43, p. 13239, 2012.

GEARY, W. J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. **Coord. Chem. Rev.**, v. 7, n. 1, p. 81–

122, 1971.

GEORGIADOU, S. P.; MAKARITSIS, K. P.; DALEKOS, G. N. Leishmaniasis revisited: Current aspects on epidemiology, diagnosis and treatment. **J. Transl. Inter. Med.**, v. 3, n. 2, p. 43–50, 2015.

GLENDENING, E. D. *et al.* **NBO 6.0.**, 2013. Theoretical Chemistry Institute, University of Wisconsin, Madison, WI, 2013.

GONÇALVES, C. B. **Síntese, Caracterização e determinação estrutural de complexos de cobre(II) com derivados de hidroxibenzofenonas.** 2016. 77 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas. Alfenas, MG, 2016.

GONÇALVES, C. B. *et al.* Synthesis, characterization and structural determination of copper (II) complexes with alkyl derivatives of hydroxybenzophenones. **J. Coord. Chem.**, v. 70, n. 5, p. 898–913, 2017.

GOODEN, V. M. *et al.* The synthesis and characterization of monomeric complexes of Ru (bpy)<sub>2</sub> with dihydroxyanthraquinones. **Inorg. Chim. Acta**, v. 255, p. 105–110, 1997.

GOPINATHAN, S.; DESHPANDE, S. S.; GOPINATHAN, C. Insertions of phenylacetylene with chelated bis(triphenylphosphine) - ruthenium(II)hydridocarbonyl complexes. **Trans. Met. Chem.**, v. 18, n. 4, p. 406–408, 1993.

GOPINATHAN, S.; PARDHY, S. A.; GOPINATHAN, C. Chelated ruthenium(II) carbonyl complexes of 2-hydroxy-phenones. **Synth. React. Inorg. Met. Org. Chem.**, v. 16, n. 4, p. 475–483, 1986.

GORDON, R. Skin cancer: an overview of epidemiology and risk factors. **Semin. Oncol. Nurs.**, v. 29, n. 3, p. 160–169, 2013.

GOTO, Y. *et al.* Leishmania infantum sterol 24-c-methyltransferase formulated with MPL-SE induces cross-protection against L. major infection. **Vaccine**, v. 27, n. 21, p. 2884–2890, 2009.

GRAF, N.; LIPPARD, S. J. Redox activation of metal-based prodrugs as a strategy for drug delivery ☆. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 64, n. 11, p. 993–1004, 2012.

GRAMINHA, A. E. *et al.* Evaluation of the biological potential of ruthenium (II) complexes with cinnamic acid. **J. Inorg. Biochem.**, v. 206, p. 111021, 2020.

GROESSL, M. *et al.* Reactivity of anticancer metallodrugs with serum proteins : new insights from size exclusion chromatography-ICP-MS and ESI-MS †. **J. Anal. At. Spectrom.**, v. 25, p. 305–313, 2010.

GUEDES, C. E. S. *et al.* In vitro evaluation of the anti-leishmanial activity and toxicity of PK11195. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 113, n. 4, p. 1–9, 2018.

GUICHARD, N. *et al.* Antineoplastic drugs and their analysis: A state of the art review. **Analyst**, v. 142, n. 13, p. 2273–2321, 2017.

GUIN, P. S.; DAS, S.; MANDAL, P. C. Electrochemical Reduction of Quinones in Different Media: A Review. **Int. J. Electrochem.**, v. 2011, p. 1–22, 2011.

GUPTA, N. S. Visceral leishmaniasis: Experimental models for drug discovery. **Indian J. Med. Res.**, v. 133, p. 27–39, 2011.

HABTEMARIAM, A. *et al.* Structure - Activity Relationships for Cytotoxic Ruthenium (II) Arene Complexes Containing N,N-, N,O-, and O,O-Chelating Ligands. **J. Med. Chem.**, v. 49, n. 23, p. 6858–6868, 2006.

HAN, L. *et al.* Study of the Effects of Intramolecular and Intermolecular Hydrogen-Bonding Systems on the Polymerization of Amide-Containing Benzoxazines. **Macromol. Chem. Phys.**, v. 218, p. 1–10, 2017.

HANWELL, M. D. *et al.* Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. **J. Cheminformatics**, v. 4, n. 8, p. 17, dez. 2012.

HARRIS, T. V.; SZILAGYI, Æ. R. K.; HOLMAN, K. L. M. Electronic structural investigations of ruthenium compounds and anticancer prodrugs. **J. Biol. Inorg. Chem.**, v. 14, p. 891–898, 2009.

HARTINGER, C. G. *et al.* KP1019, a new redox-active anticancer agent-preclinical development and results of a clinical phase I study in tumor patients. **Chem. Biodiversity**, v. 5, n. 10, p. 2140–2155, 2008.

HASSANPOUR, S. H.; DEGHANI, M. Review of cancer from perspective of molecular. **J. Cancer Res. Pract.**, v. 4, n. 4, p. 127–129, 2017.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous Electron Gas. **Phys. Rev.**, v. 136, n. B864, 1964.

HORTON, D. A.; BOURNE, G. T.; SMYTHE, M. L. The Combinatorial Synthesis of Bicyclic Privileged Structures or Privileged Substructures. **Chem. Rev.**, v. 103, p. 893–930, 2003.

HOSSAIN, S. *et al.* Synthesis, Characterization and Biological Activity Studies of Mixed Ligand Complexes with Schiff base and 2,2'-Bipyridine. **Int. J. Appl. Sci.**, v. 6, p. 1–7, 2019.

HOTEZ, P. J. *et al.* What constitutes a neglected tropical disease? **PLOS Negl. Trop. Dis.**, p. 1–6, 2020.

HOUSECROFT, C. E.; SHARPE, A. G. **Inorganic Chemistry**. 4 th ed. Pearson Education, 2012.

HUANG, W.-Y.; CAI, Y.-Z.; ZHANG, Y. Natural Phenolic Compounds From Medicinal Herbs and Dietary Plants : Potential Use for Cancer Prevention. **Nutr. Cancer**, v. 62,

n. 1, p. 1–20, 2009.

HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: Visual molecular dynamics. **J. Mol. Graph.**, v. 14, n. 1, p. 33–38, fev. 1996.

HUSSAIN, H. *et al.* A fruitful decade from 2005 to 2014 for anthraquinone patents. **Expert Opin. Ther. Pat.**, v. 25, p. 1–12, 2015.

IIDA, J. *et al.* Inhibition of cancer cell growth by ruthenium complexes. **J. Transl. Med.**, v. 14, p. 1–10, 2016.

INCA. Bases do tratamento. In: **Ações de Enfermagem para o controle do Câncer**. 3ª ed. Rio de Janeiro: p. 371–556.

INCA. **Como surge o câncer?** Disponível em: <https://www.inca.gov.br/como-surge-o-cancer>. Acesso em: 27 abr. 2020.

INCA. **Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil**. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil>. Acesso em: 15 fev. 2021.

INCA. **Tratamento do câncer**. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tratamento>. Acesso em: 8 nov. 2019.

INFANTES, L.; MOTHERWELL, S. Water clusters in organic molecular crystals. **Cryst. Eng.Comm.**, v. 4, p. 454–461, 2002.

IONASHIRO, M. **Giolito: Fundamentos da Termogravimetria, Análise Térmica Diferencial e Calorimetria Exploratória Diferencial**. São Paulo: GIZ, 2004.

JACQUEMIN, D.; MENNUCCI, B.; ADAMO, C. Excited-state calculations with TD-DFT : from benchmarks to simulations in complex environments. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, v. 13, p. 16987–16998, 2011.

JAIN, A.; BLUM, C.; SUBRAMANIAM, V. Fluorescence lifetime spectroscopy and imaging of visible fluorescent proteins. In: VERDONCK, P. (Ed.). **Advances in Biomedical Engineering**. First Edit ed. Elsevier, 2009. p. 145–174.

JAIN, V.; JAIN, K. Molecular targets and pathways for the treatment of visceral leishmaniasis. **Drug Discov. Today**, v. 23, n. 1, p. 161–170, 2018.

JAKOVLJEVIĆ, K. *et al.* Novel 1,3,4-thiadiazole-chalcone hybrids containing catechol moiety: Synthesis, antioxidant activity, cytotoxicity and DNA interaction studies. **Med. Chem. Comm.**, v. 9, n. 10, p. 1679–1697, 2018.

JAMALZADEH, L. *et al.* Cytotoxic Effects of Some Common Organic Solvents on MCF-7, RAW-264. 7 and Human Umbilical Vein Endothelial Cells. **Avicenna J. Med. Biochem.**, v. 4, n. 1, p. 1–6, 2016.

JAUMOT, J.; GARGALLO, R. Experimental Methods for Studying the Interactions between G-Quadruplex Structures and Ligands. **Curr. Pharm. Des.**, v. 18, p. 1900–

1916, 2012.

JOHNSON, D. S.; LI, J. J. **The Art of Drug Synthesis**. New Jersey, USA: John Wiley & Sons, 2007.

JOSEPH, K. *et al.* Novel Ruthenium (II) Carbonyl Compounds. **Inorg. Chim. Acta**, v. 82, n. 1, p. 59–61, 1984.

KAES, C.; KATZ, A.; HOSSEINI, M. W. Bipyridine : The Most Widely Used Ligand . A Review of Molecules Comprising at Least Two 2, 2' -Bipyridine Units. **Chem. Rev.**, v. 100, p. 3553–3590, 2000.

KANTCHEV, E. A. B.; NORSTEN, T. B.; SULLIVAN, M. B. Time-dependent density functional theory (TDDFT) modelling of Pechmann dyes: From accurate absorption maximum prediction to virtual dye screening. **Org. Biomol. Chem.**, v. 10, p. 6682–6692, 2012.

KATZKE, V. A.; KAAKS, R.; KÜHN, T. Lifestyle and cancer risk. **Cancer J.**, v. 21, n. 2, p. 104–110, 2015.

KEMULA, W., GRABOWSKI, Z.R., KALINOWSKI, M. K. Electrochemical Method of Studying the Reactions of Free Ketyl Radicals. **Sci. Nat.**, v. 47, p. 514, 1960.

KEPPLER, B. K.; RUPP, W. Antitumor activity of imidazolium-bisimidazole-tetrachlororuthenate (III). **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, v. 111, n. 2, p. 166–168, 1986.

KIM, H. K. *et al.* Cardiac Response to Oxidative Stress Induced by Mitochondrial Dysfunction. **Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.**, v. 170, p. 101–127, 2016.

KIM, H. K. *et al.* Current and upcoming mitochondrial targets for cancer therapy. **Semin. Cancer Biol.**, v. 47, p. 154–167, 2017.

KLINKERT, M.-Q.; HEUSSLER, V. The Use of Anticancer Drugs in Antiparasitic Chemotherapy. **Mini-Rev. Med. Chem.**, v. 6, p. 131–143, 2006.

KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. **Phys. Rev.**, v. 385, n. 1951, p. A1133–A1138, 1965.

KOMOR, A. C.; BARTON, J. K. The path for metal complexes to a DNA target. **Chem. Commun.**, v. 49, n. 35, p. 3617–3630, 2013.

KOSTJUKOV, V. V. *et al.* Calculation of the Electrostatic Charges and Energies for Intercalation of Aromatic Drug Molecules With DNA. **Int. J. Quantum Chem.**, v. 111, p. 711–721, 2011.

KRISHNAN, R. *et al.* Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions. **J. Chem. Phys.**, v. 72, n. 1, p. 650–654, 1980.

KUETE, V. *et al.* Cytotoxicity and modes of action of four naturally occurring benzophenones: 2,2',5,6'-Tetrahydroxybenzophenone, guttiferone E, isogarcinol and

isoxanthochymol. **Phytomedicine**, v. 20, n. 6, p. 528–536, 2013.

KUMAR, A. Transmission of leishmaniasis from human to other vertebrates: a rapid zoonanthroponotic evolution. **Int. Microbiol.**, v. 22, n. 3, p. 399–401, 2019.

KYSEL', O.; JÁNY, I. The effect of the substituents upon the acid-base properties of benzophenone derivatives. **Chem. zvesti**, v. 28, n. 1, p. 70–76, 1974.

LAKOWICZ, J. R. (ED.). **Topics in Fluorescence Spectroscopy**. 6. ed. New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow: Kluwer Academic, 2002.

LALIA-KANTOURI, M. *et al.* Different geometries of novel cobalt (II) compounds with 2-hydroxy-benzophenones and neocuproine: Crystal and molecular structures of [Co(2-hydroxy-benzophenone)<sub>2</sub>(neoc)], [Co(2-hydroxy-4-methoxybenzophenone)(neoc)Br] and [Co(neoc)Br<sub>2</sub>] $\cdot$ CH<sub>3</sub>OH $\cdot$ H<sub>2</sub>O. **Polyhedron**, v. 52, p. 1306–1316, 2013.

LANDSKRON, K. Electronic spectra of Coordination Compounds. Disponível em: [https://chem.libretexts.org/Courses/Saint\\_Marys\\_College\\_Notre\\_Dame\\_IN/CHEM\\_431%3A\\_Inorganic\\_Chemistry\\_\(Haas\)/CHEM\\_431\\_Readings/13%3A\\_Spectroscopic\\_and\\_Magnetic\\_Properties/13.02%3A\\_Electronic\\_Spectra\\_of\\_Coordination\\_Compounds](https://chem.libretexts.org/Courses/Saint_Marys_College_Notre_Dame_IN/CHEM_431%3A_Inorganic_Chemistry_(Haas)/CHEM_431_Readings/13%3A_Spectroscopic_and_Magnetic_Properties/13.02%3A_Electronic_Spectra_of_Coordination_Compounds). Acesso em: 1 dez. 2019.

LARSEN, M. T. *et al.* Albumin-based drug delivery: harnessing nature to cure disease. **Mol. Cell. Ther.**, v. 4, n. 3, p. 1–12, 2016.

LASHANIZADEGAN, M.; ALAVIJEH, R. K.; ANAFCHEH, M. Facile synthesis of Co(II) and Cu(II) complexes of 2-hydroxybenzophenone: An efficient catalyst for oxidation of olefins and DFT study. **J. Mol. Struct.**, v. 1146, n. li, p. 450–457, 2017.

LAZAREVIC, T.; RILAK, A.; BUGARCIC, Z. D. Platinum, palladium, gold and ruthenium complexes as anticancer agents: Current clinical uses, cytotoxicity studies and future perspectives. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 142, p. 8–31, 2017.

LEE, S. Y.; KIM, C. Y.; NAM, T.-G. Ruthenium Complexes as Anticancer Agents: A Brief History and Perspectives. **Drug Des. Devel. Ther.**, v. 14, p. 5375–5392, 2020.

LEIJEN, S. *et al.* Phase I/II study with ruthenium compound NAMI-A and gemcitabine in patients with non-small cell lung cancer after first line therapy. **Invest. New Drugs**, v. 33, p. 201–214, 2015.

LI, F.; COLLINS, J. G.; KEENE, F. R. Ruthenium complexes as antimicrobial agents. **Chem. Soc. Rev.**, v. 44, p. 2529–2542, 2015.

LIANG, J.-X. *et al.* Recent development of transition metal complexes with *in vivo* antitumor activity. **J. Inorg. Biochem.**, v. 177, p. 276–286, 2017.

LIN, K. *et al.* Applications of Ruthenium Complex in Tumor Diagnosis and Therapy. **Front. Pharmacol.**, v. 9, p. 1–10, 2018.

LIU, H.; SADLER, P. J. Metal Complexes as DNA Intercalators. **Acc. Chem. Res.**, v. 44, n. 5, p. 349–359, 2011.

LOVELL, A. B.; BREZINSKY, K.; GLASSMAN, I. The Gas Phase Pyrolysis of Phenol. **Int. J. Chem. Kinet.**, v. 21, p. 547–560, 1989.

LUO, Y.-H. *et al.* Quinalizarin induces cycle arrest and apoptosis via reactive oxygen species-mediated signaling pathways in human melanoma A375 cells. **Drug Dev. Res.**, v. 80, p. 1040–1050, 2019.

MACÍAS-RUVALCABA, N. A.; EVANS, D. H. Association reactions of the anion radicals of some hydroxyquinones: Evidence for formation of  $\pi$ - and  $\sigma$ -dimers as well as a neutral-anion radical complex. **J. Phys. Chem. C**, v. 114, n. 2, p. 1285–1292, 2010.

MACIEL-REZENDE, C. M. *et al.* Synthesis and biological evaluation against *Leishmania amazonensis* of a series of alkyl-substituted benzophenones. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 21, n. 11, p. 3114–3119, 2013.

MACRAE, C. F. *et al.* Mercury CSD 2.0 – new features for the visualization and investigation of crystal structures. **J. Appl. Cryst.**, v. 41, p. 466–470, 2008.

MANDAL, B. *et al.* Cu II complex of emodin with improved anticancer activity as demonstrated by its performance on HeLa and Hep G2 cells. **RSC Adv.**, v. 7, p. 41403–41418, 2017.

MARENICH, A. V.; CRAMER, C. J.; TRUHLAR, D. G. Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions. **J. Phys. Chem. B**, v. 113, n. 18, p. 6378–6396, 2009.

MARKOVIC, V. *et al.* Synthesis, cytotoxic activity and DNA-interaction studies of novel anthraquinone e thiosemicarbazones with tautomerizable methylene group. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 64, p. 228–238, 2013.

MARQUES, M. A. L.; BOTTI, S. O que é e para que serve a Teoria dos Funcionais da Densidade? **Gazeta de Física**, v. 29, n. 4, p. 10–15, 2006.

MARTÍNEZ, A. *et al.* Searching for New Chemotherapies for Tropical Diseases: Ruthenium – Clotrimazole Complexes Display High in Vitro Activity against *Leishmania major* and *Trypanosoma cruzi* and Low Toxicity toward Normal Mammalian Cells. **J. Med. Chem.**, v. 55, p. 3867–3877, 2012.

MARTINS, F. T. *et al.* Natural polyprenylated benzophenones inhibiting cysteine and serine proteases. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 44, p. 1230–1239, 2009.

MARTINS, G. B. C.; SUCUPIRA, R. R.; SUAREZ, P. A. Z. A Química e as Cores. **Rev. Virtual Quim.**, v. 7, n. 4, p. 1508–1534, 2015.

MAYER, I. Charge, bond order and valence in the AB initio SCF theory. **Chem. Phys. Lett.**, v. 97, n. 3, p. 270–274, 1983.

MBABA, M.; GOLDING, T. M.; SMITH, G. S. Recent Advances in the Biological Investigation of Organometallic Platinum-Group Metal (Ir, Ru, Rh, Os, Pd, Pt) Complexes as Antimalarial Agents. **Molecules**, v. 25, n. 22, p. 5276, 2020.

MCCALL, L.-I. *et al.* Targeting Ergosterol Biosynthesis in *Leishmania donovani*: Essentiality of Sterol 14 $\alpha$ -demethylase. **PLOS Negl. Trop. Dis.**, v. 9, p. 1–18, 2015.

MCCAULEY, J.; ZIVANOVIC, A.; SKROPETA, D. Bioassays for Anticancer Activities. **Methods Mol. Biol.**, v. 1055, p. 191–205, 2013.

MEDICI, S. *et al.* Noble metals in medicine: Latest advances. **Coord. Chem. Rev.**, v. 284, p. 329–350, 2015.

MEEGAN, M. J.; BOYLE, N. M. O. Anticancer Drugs. **Pharmaceuticals**, v. 12, n. 3, p. 134, 2019.

MEHTA, J. V.; GAJERA, S. B.; PATEL, M. N. Biological applications of pyrazoline-based half-sandwich ruthenium (III) coordination compounds. **J. Biomol. Struct. Dyn.**, v. 35, p. 1599–1607, 2017.

MEIRA, C. S. *et al.* Betulinic acid derivative BA5, a dual NF- $\kappa$ B/calcineurin inhibitor, alleviates experimental shock and delayed hypersensitivity. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 815, p. 156–165, 2017.

MELOS, J. L. R.; ECHEVARRIA, A. Sistemas Enzimáticos de Tripanossomatídeos como Potenciais Alvos Quimioterápicos. **Rev. Virtual Quim.**, v. 4, n. 4, p. 374–392, 2012.

MERRILL, J. R. Measurements of intramolecular hydrogen bonding by nuclear magnetic resonance and infrared spectroscopy. **J. Phys. Chem.**, v. 65, p. 2023–2026, 1961.

MICEK, S. T.; ERNST, M. E. Tolcapone: A novel approach to Parkinson's disease. **Am. J. Health-Syst. Pharm.**, v. 56, n. 21, p. 2195–2203, 1999.

MIESSLER, G. L.; FISCHER, P. J.; TARR, D. A. **Química Inorgânica**. 5<sup>a</sup> ed. São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2014.

MISHRA, A. K.; MISHRA, L. **Ruthenium Chemistry**. 1<sup>st</sup> ed. Pan Stanford Publishing Pte. Ltd., 2018.

MJOS, K. D.; ORVIG, C. Metallodrugs in Medicinal Inorganic Chemistry. **Chem. Rev.**, v. 114, p. 4540–4563, 2014.

MOLDOVEANU, S. Pyrolysis of Alcohols and Phenols. In: **Pyrolysis of Organic Molecules Applications to Health and Environmental Issues**. 2<sup>nd</sup> ed. Elsevier Science, 2019. p. 207–278.

MONTEIRO, M. C. R. *et al.* Experimental and Theoretical Study of the Kinetics of Dissociation in *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(P-P)(N-N)] Type Complexes. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 21, n. 10, p. 1992–1999, 2010.

MOREIRA, M. B. *et al.* Investigação da supressão de fluorescência de soro albumina bovina e humana por complexo de rutênio. **Quim. Nova**, v. 38, n. 2, p. 227–232, 215.

MRKALIĆ, E. *et al.* Synthesis, characterization, thermal and DNA-binding properties of new zinc complexes with 2-hydroxyphenones. **J. Inorg. Biochem.**, v. 134, p. 66–75, 2014.

MUKHERJEE, A. Entropy Balance in the Intercalation Process of an Anti-Cancer Drug Daunomycin. **J. Phys. Chem. Lett.**, v. 2, p. 3021–3026, 2011.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds, Part B: Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry**. 6th ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2009.

NASCIMENTO, N. R. F. *et al.* *In vitro* and *in vivo* leishmanicidal activity of a ruthenium nitrosyl complex against *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Acta Trop.**, v. 192, p. 61–65, 2019.

NAVARRO, M. *et al.* Metal-based drugs for malaria, trypanosomiasis and leishmaniasis: recent achievements and perspectives. **Drug Discov. Today**, v. 15, n. 23–24, p. 1070–1078, 2010.

NAVEENRAJ, S.; ANANDAN, S. Binding of serum albumins with bioactive substances – Nanoparticles to drugs. **J. Photochem. Photobiol. C**, v. 14, p. 53–71, 2013.

NDAGI, U.; MHLONGO, N.; SOLIMAN, M. Metal complexes in cancer therapy – an update from drug design perspective. **Drug Des. Dev. Ther.**, v. 11, p. 599–616, 2017.

NETO, G. L. B. *et al.* Interações Competitivas de complexos de rutênio contendo dimetilsulfóxido e ligantes N-heretocíclicos com albumina de soro humano. **Quim. Nova**, v. 43, n. 3, p. 261–270, 2020.

NIKOLAOU, V.; STRATIGOS, A. J. Emerging trends in the epidemiology of melanoma. **Br. J. Dermatol.**, v. 170, p. 11–9, 2014.

NISHIMOTO, Y. *et al.* Esters as Acylating Reagent in a Friedel - Crafts Reaction: Indium Tribromide Catalyzed Acylation of Arenes Using Dimethylchlorosilane. **J. Org. Chem.**, v. 73, p. 9465–9468, 2008.

NOVOTNÝ, J. *et al.* Hyperfine Effects in Ligand NMR : Paramagnetic Ru (III) Complexes with 3-Substituted Pyridines. **Inorg. Chem.**, v. 57, p. 641–652, 2018.

NUSRAT, S. *et al.* A Comprehensive Spectroscopic and Computational Investigation

to Probe the Interaction of Antineoplastic Drug Nordihydroguaiaretic Acid with Serum Albumins. **PLOS ONE**, v. 11, p. 1–20, 2016.

OKBA, M. M. *et al.* In vitro antiprotozoal activity of some medicinal plants against sleeping sickness, Chagas disease and leishmaniasis. **Future Med. Chem.**, v. 10, n. 22, p. 2607–2617, 2018.

OLIVEIRA, A. M. **Introdução à modelagem molecular para Química, Engenharia e Biomédicas**. Curitiba PR: Appris Editora e Livraria Eireli, 2018.

OLIVEIRA, K. M. **Complexos de Rutênio Contendo Lapachol e Lausona: Síntese, Caracterização e suas Propriedades Quimioterapêuticas**. 2014. 122 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, SP, 2014.

ORTEGA, M. M. **Síntese, caracterização e avaliação das propriedades antitumorais de complexos de fórmula geral  $[Ru(O-O)(P-P)(N-N)]PF_6$ , onde (O-O) = ácidos carboxílicos aromáticos; P-P = 1,4 – bisdifenilfosfina butano; N-N = 2,2'-bipiridina**. 2016, 78 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal de Alfenas. Alfenas, MG, 2016.

ORTHABER, K. *et al.* Skin Cancer and Its Treatment: Novel Treatment Approaches with Emphasis on Nanotechnology. **J. Nanomater.**, v. 2017, p. 1–20, 2017.

OTTO, T.; SICINSKI, P. Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. **Nat. Rev.**, v. 17, p. 93–115, 2017.

PACHECO, W. F. *et al.* Voltametrias : Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. **Rev. Virtual Quim.**, v. 5, n. 4, p. 516–537, 2013.

PAGES, B. J. *et al.* Metal complex interactions with DNA. **Dalton Trans.**, v. 44, n. 8, p. 3505–3526, 2015.

PAL, M.; NANDI, U.; MUKHERJEE, D. Detailed account on activation mechanisms of ruthenium coordination complexes and their role as antineoplastic agents. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 150, p. 419–445, 2018.

PAL, S. Pyridine : A Useful Ligand in Transition Metal Complexes. In: PANDEY, P. P. (Ed.). **Pyridine**. London: IntechOpen, 2018. p. 57–73.

PANDEY, K. B.; RIZVI, S. I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxid. Med. Cell. Longev.**, v. 2, n. 5, p. 270–278, 2009.

PAULI, F. P.; BARREIRO, E. J.; BARBOSA, L. D. C. Características Estruturais das Proteínas Cinases e Seus Inibidores em Uso Clínico. **Rev. Virtual Quim.**, v. 10, n. 5, p. 1280–1303, 2018.

PEARSON, R. G. **Chemical Hardness**. Weinheim: Wiley-VCH, 1997.

PERDEW, J. P.; BURKE, K.; ERNZERHOF, M. Generalized gradient approximation made simple. **Phys. Rev. Lett.**, v. 77, n. 18, p. 3865–3868, 1996.

PERPEROPOULOU, F. D. *et al.* 2,2'-Dihydroxybenzophenones and their carbonyl N-analogues as inhibitor scaffolds for MDR-involved human glutathione transferase isoenzyme A1-1. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 22, n. 15, p. 3957–3970, 2014.

PILLERON, S. *et al.* Global cancer incidence in older adults, 2012 and 2035: A population-based study. **Int. J. Cancer**, v. 144, n. 1, p. 49–58, 2019.

POUGY, K. C.; MACHADO, S. P. Uso da Teoria do Funcional de densidade na análise de spin crossover em aulas de Química Inorgânica. **Quim. Nova**, v. 43, n. 1, p. 127–130, 2020.

QUEIROZ, S. L. *et al.* The reactivity of five-coordinate Ru(II) (1,4-bis(diphenylphosphino) butane) complexes with the N-donor ligands: ammonia, pyridine, 4-substituted pyridines, 2,2'-bipyridine, bis(o-pyridyl)amine, 1,10-phenanthroline, 4,7-diphenylphenanthroline and ethyle. **Inorg. Chim. Acta**, v. 267, p. 209–221, 1998.

RAJA, N.; RAMESH, R.; LIU, Y. Paramagnetic ruthenium(III) complexes bearing O,O chelating ligands: Synthesis, spectra, molecular structure and electron transfer properties. **Polyhedron**, v. 31, n. 1, p. 196–201, 2012.

RAJAPAKSE, R. M. G.; DUNUWEERA, S. P. Discovery, Chemistry, Anticancer Action and Targeting of Cisplatin. **Int. J. Clin. Oncol.**, v. 2, n. 3, p. 65–74, 2017.

RAJU, V. V *et al.* Synthesis, characterization, antimicrobial activities and DNA-Binding studies of some Ru(III) complexes of Schiff bases. **Int. J. Appl. Biol. Pharm.**, v. 3, n. 2, p. 76–87, 2012.

RANJITHA, S. *et al.* Structural and Spectral Properties of 1,2-dihydroxy-9,10-anthraquinone Dye Sensitizer for Solar Cell Applications. **Acta Phys. Pol.**, v. 126, n. 3, p. 833–839, 2014.

REDDY, T. S. *et al.* Anti-cancer gold(I) phosphine complexes: Cyclic trimers and tetramers containing the P-Au-P moiety. **J. Inorg. Biochem.**, v. 175, p. 1–8, 2017.

REFAT, M. S. *et al.* Spectroscopic, Structural and Electrical Conductivity Studies of Co(II), Ni (II) and Cu (II) Complexes derived from 4- Acetylpyridine with Thiosemicarbazide. **Int. J. Electrochem. Sci.**, v. 8, p. 9894–9917, 2013.

REGUERA, R. M. *et al.* DNA Topoisomerases of Leishmania Parasites; Druggable Targets for Drug Discovery. **Curr. Med. Chem.**, v. 26, p. 5900–5923, 2019.

REIS, J. A. A. S. **Introdução à Teoria do Funcional da Densidade Dependente do Tempo**. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Física) - Universidade Federal do Maranhão. São Luís, p. 69. 2015.

REISNER, E. *et al.* Electron-transfer activated metal-based anticancer drugs. **Inorg. Chim. Acta**, v. 361, p. 1569–1583, 2008.

RICCARDI, C. *et al.* Anticancer Ruthenium(III) Complexes and Ru(III)-Containing Nanoformulations: An Update on the Mechanism of Action and Biological Activity. **Pharm.**, v. 12, p. 146, 2019.

RIJT, S. H. VAN; SADLER, P. J. Current applications and future potential for bioinorganic chemistry in the development of anticancer drugs. **Drug Discov. Today**, v. 14, n. 23/24, p. 1089–1097, 2009.

ROSA, I. M. L. *et al.* A monohydrate pseudopolymorph of 3,4-dihydroxybenzophenone and the role of water in the crystal assembly of benzophenones. **Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.**, v. C66, p. o463-465, 2010.

ROSA, I. M. L. “**Síntese, cristalquímica e atividade biológica de complexos de Paládio (II), Cobre (II) e Níquel (II) com benzofenonas hidroxiladas.**” 2012. 118 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas. Alfenas, MG, 2012.

ROSA, I. M. L. *et al.* Pseudopolymorphism in hydroxy-benzophenones: the dihydrate of 2,2', 4,4'-tetrahydroxybenzophenone. **Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.**, v. C68, p. 156–159, 2012.

ROSA, I. M. L. *et al.* Influence of synthetic methods in the structure and dimensionality of coordination polymers. **Cryst. Growth Des.**, v. 16, n. 3, p. 1606–1616, 2016.

ROSENKRANZ, V.; WINK, M. Alkaloids Induce Programmed Cell Death in Bloodstream Forms of Trypanosomes (*Trypanosoma b. brucei*). **Molecules**, v. 13, p. 2462–2473, 2008.

ROSENSON, R. S. Fenofibrate: Treatment of hyperlipidemia and beyond. **Expert Rev. Cardiovasc. Ther.**, v. 6, n. 10, p. 1319–1330, 2008.

ROSS, P. D.; SUBRAMANIAN, S. Thermodynamics of Protein Association Reactions: Forces Contributing to Stability. **Biochemistry**, v. 20, p. 3096–3102, 1981.

ROSSI, S. *et al.* Anthraquinones Danthron and Quinizarin Exert Antiproliferative and Antimetastatic Activity on Murine B16-F10 Melanoma Cells. **Anticancer Res**, v. 30, p. 445–450, 2010.

ROY, L. E.; HAY, P. J.; MARTIN, R. L. Revised Basis Sets for the LANL Effective Core Potentials. **J. Chem. Theory Comput.**, v. 4, n. 7, p. 1029–1031, jul. 2008.  
RSC, R. S. OF C. **Ultraviolet - Visible Spectroscopy (UV)**. Disponível em: [http://www.rsc.org/learn-chemistry/content/filerepository/CMP/00/001/304/UV-Vis\\_Student\\_resource\\_pack\\_ENGLISH.pdf](http://www.rsc.org/learn-chemistry/content/filerepository/CMP/00/001/304/UV-Vis_Student_resource_pack_ENGLISH.pdf). Acesso em: 12 fev. 2019.

RUNGE, E.; GROSS, E. K. U. Density-Functional Theory for Time-Dependent Systems. **Phys. Rev. Lett.**, v. 52, n. 12, p. 997–1000, 1984.

SAHA, K. *et al.* Synthesis of damnacanthal, a naturally occurring 9,10- anthraquinone and its analogues, and its biological evaluation against five cancer cell lines. **Med. Chem. Res.**, v. 22, p. 2093–2104, 2013.

SALAS, J. M. *et al.* Leishmanicidal and Trypanocidal Activity of Metal Complexes with 1,2,4-Triazolo[1,5-a]pyrimidines: Insights on their Therapeutic Potential against Leishmaniasis and Chagas Disease. **Curr. Med. Chem.**, v. 24, n. 25, p. 2796–2806, 2017.

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

SARASWATHI, R.; NARAYAN, R. Electrochemical reduction of some benzophenones in molten acetamide at 85°C. **J. Chem. Sci.**, v. 97, p. 403–416, 1986.

SARAVANAN, V.; DAS, P. Recent progress in drug targets and inhibitors towards combating leishmaniasis. **Acta Trop.**, v. 181, p. 95–104, 2018.

SAVA, G. *et al.* Targeted therapy vs. DNA-adduct formation-guided design: thoughts about the future of metal-based anticancer drugs. **Dalton Trans.**, v. 41, p. 8226–8234, 2012.

SCALMANI, G. *et al.* Geometries and properties of excited states in the gas phase and in solution: Theory and application of a time-dependent density functional theory polarizable continuum model. **J. Chem. Phys.**, v. 124, p. 94107, 2006.

SCALMANI, G.; FRISCH, M. J. Continuous surface charge polarizable continuum models of solvation. I. General formalism. **J. Chem. Phys.**, v. 132, n. 11, p. 114110, 2010.

SCHADENDORF, D. *et al.* Melanoma. **Lancet**, v. 392, p. 971–984, 2018.

SCHUBERTOVIÁ, N.; HRDLOVIČ, P. Polarographic Reduction of 2-Hydroxybenzophenone Derivatives. **Chem. zvesti**, v. 23, p. 495–500, 1969.

SEIGLER, D. S. **Plant Secondary Metabolism**. Illinois: Springer Science & Business Media, 2012.

SEYFRIED, T. N.; HUYSENTRUYT, L. C. On the origin of cancer metastasis. **Crit. Rev. Oncog.**, v. 18, n. 1–2, p. 43–73, 2013.

SHAHSAVANI, M. B. *et al.* Comparative study on the interaction of two binuclear Pt(II) complexes with human serum albumin: Spectroscopic and docking simulation assessments. **J. Photochem. Photobiol. B**, v. 164, p. 323–334, 2016.

SHARMA, M. *et al.* A Systematic Reconstruction and Constraint-based Analysis of Leishmania donovani Metabolic Network: Identification of Potential Antileishmanial Drug Targets. **Mol. Biosyst.**, v. 13, p. 955–969, 2017.

SHELDRICK, G. M. Crystal structure refinement with SHELXL. **Acta Crystallogr., Sect. C**, v. 71, p. 3–8, 2015.

SHIUNG, Y.-C. *et al.* Determination of the pKa of Benzophenones by capillary zone electrophoresis. **J. Chin. Chem. Soc.**, v. 65, p. 465–471, 2018.

SHUM, J.; LEUNG, P. K.-K.; LO, K. K.-W. Luminescent Ruthenium(II) Polypyridine Complexes for a Wide Variety of Biomolecular and Cellular Applications. **Inorg. Chem.**, v. 58, n. 4, p. 2231–2247, 2019.

SIDDIQUI, I. A. *et al.* Resveratrol nanoformulation for cancer prevention and therapy. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v. 1348, p. 20–31, 2015.

SILVA-LÓPEZ, R. E. Proteases de Leishmania: novos alvos para o desenvolvimento racional de fármacos. **Quim. Nova**, v. 33, n. 7, p. 1541–1548, 2010.

SILVA, M. M. **Busca por complexos de rutênio (II) com propriedades quimioterapêuticas: avaliação da atividade antitumoral, potencial mutagênico e inibição da enzima topoisomerase IB**. 2017. 198 f. Tese (Doutorado em Química). Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, 2017.

SILVA, M. M. *et al.* Non-mutagenic Ru(II) complexes: cytotoxicity, Topoisomerase IB inhibition, DNA and HSA binding. **Dalton Trans.**, v. 48, p. 14885–14897, 2019.

SILVA, G. L. *et al.* Synthesis, crystal structure and leishmanicidal activity of new trimethoprim Ru(III), Cu(II) and Pt(II) metal complexes. **J. Inorg. Biochem.**, v. 205, p. 111002, 2020.

SILVA, H. V. R. *et al.* Phosphine/diimine ruthenium complexes with Cl<sup>-</sup>, CO, NO<sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and pyridine ligands: Pro-apoptotic activity on triple-negative breast cancer cells and DNA/HSA interactions. **Polyhedron**, v. 144, n. 2, p. 55–65, 2018.

SILVEIRA-LACERDA, E. D. P. *et al.* The ruthenium complex cis-(Dichloro)Tetraammineruthenium(III) chloride presents immune stimulatory activity on human peripheral blood mononuclear cells. **Biol. Trace Elem. Res.**, v. 133, n. 3, p. 270–283, 2010.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7. ed. LTC, 2006.

SIMÕES, M. C. F.; SOUSA, J. J. S.; PAIS, A. A. C. C. Skin cancer and new treatment perspectives: a review. **Cancer Lett.**, v. 357, n. 1, p. 8–42, 2015.

SIMOVIC, A. R. *et al.* Chemistry and reactivity of ruthenium(II) complexes: DNA/protein binding mode and anticancer activity are related to the complex structure. **Coord. Chem. Rev.**, v. 398, p. 1–26, 2019.

SINGH, A. **Herbal Drugs as Therapeutic Agents**. CRC Press., 2014.

SINGH, N. *et al.* Natural product based leads to fight against leishmaniasis. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 22, n. 1, p. 18–45, 2014.

- SINGH, N.; KUMAR, M.; SINGH, R. K. Leishmaniasis: Current status of available drugs and new potential drug targets. **Asian Pac. J. Trop. Med.**, v. 5, n. 6, p. 485–497, 2012.
- SIQUEIRA-NETO, J. L. *et al.* Cysteine proteases in protozoan parasites. **PLOS Negl. Trop. Dis.**, v. 12, p. 1–20, 2018.
- SIRAJUDDIN, M.; ALI, S.; BADSHAH, A. Drug – DNA interactions and their study by UV – Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. **J. Photochem. Photobiol. B**, v. 124, p. 1–19, 2013.
- SOUSA, E. T. *et al.* Evaluation of thermal stability of quinones by thermal analysis techniques. **Thermochim. Acta**, v. 529, p. 1–5, 2012.
- SOUTHAM, H. M. *et al.* The Microbiology of Ruthenium Complexes. In: **Advances in Microbial Physiology**. 1. ed. Elsevier Ltd., 2017. p. 1–96.
- STEPHENSON, T. A.; WILKINSON, G. New complexes of ruthenium (II) and (III) with triphenylphosphine, triphenylarsine, trichlorostannate, pyridine and other ligands. **J. Inorg. Nucl. Chem.**, v. 28, p. 945–956, 1966.
- SUBBARAJ, P. *et al.* Synthesis, characterization, DNA interaction and pharmacological studies of substituted benzophenone derived Schiff base metal (II) complexes. **J. Saudi Chem. Soc.**, v. 19, n. 2, p. 207–216, 2015.
- SUFFNESS, M.; PEZZUTO, J. M. Assays related to cancer drug discovery. In: **Methods in Plant Biochemistry: Assays for Bioactivity**. London: Academic Press, 1990. p. 71–133.
- SUJARANI, S.; RAMU, A. Synthesis, characterization, antimicrobial and DNA interaction studies of benzophenone – ethanamine schiff base with transition metal (II) [Cu(II), Co(II), Mn(II) and Ni(II)] complexes. **J. Chem. Pharm. Res.**, v. 5, n. 4, p. 347–358, 2013.
- SUN, H. *et al.* A stabilizing and denaturing dual-effect for natural polyamines interacting with G-quadruplexes depending on concentration. **Biochimie**, v. 93, n. 8, p. 1351–1356, 2011.
- SURANA, K. *et al.* Benzophenone: A Ubiquitous Scaffold in Medicinal Chemistry. **Med. Chem. Commun.**, v. 9, n. 11, p. 1803–1817, 2018.
- SUTHAN, T. *et al.* Growth and characterization of 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone single crystal using modified vertical Bridgman technique. **Spectrochim. Acta, Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.**, v. 78, n. 2, p. 771–776, 2011.
- TABARES, J. P. G. *et al.* A Ru(II)-p-cymene compound bearing naproxen-pyridineamide. Synthesis, spectroscopic studies, computational analysis and *in vitro* anticancer activity against lung cells compared to Ru(II)-p-cymene-naproxen and the corresponding drug ligands. **Inorganica Chim. Acta**, v. 489, p. 27–38, 2019.

- TANNEBERGER, K. *et al.* Effects of Solvents and Dosing Procedure on Chemical Toxicity in Cell-Based in Vitro Assays. **Environ. Sci. Technol.**, v. 44, n. 12, p. 4775–4781, 2010.
- THOTA, S. *et al.* Ru(II) Compounds: Next-generation anticancer metallotherapeutics? **J. Med. Chem.**, v. 61, p. 5805–5821, 2018.
- TIKUM, A. F. *et al.* Cytotoxic and anticancer properties of new ruthenium polypyridyl complexes with different lipophilicities. **J. Inorg. Biochem.**, v. 180, p. 204–210, 2018.
- TILLEY, R. J. D. **Cristalografia - Cristais e estruturas cristalinas**. 1. ed. ed. São Paulo: Oficina de Textos, 2014.
- TIMM, M. *et al.* Considerations regarding use of solvents in in vitro cell based assays. **Cytotechnology**, v. 65, n. 5, p. 887–894, 2013.
- TOPALA, T. *et al.* Experimental Techniques employed in the study of metal complexes DNA interactions. **FARMACIA**, v. 62, p. 1049–1061, 2014.
- TORRES-GUERRERO, E. *et al.* Leishmaniasis: a review. **F1000Res.**, v. 6, n. 750, p. 1–15, 2017.
- TSIERKEZOS, N. G. Investigation of the Electrochemical Reduction of Benzophenone in Aprotic Solvents Using the Method of Cyclic Voltammetry. **J. Solution Chem.**, v. 36, p. 1301–1310, 2007.
- TSIPIS, A. C. DFT flavor of coordination chemistry. **Coord.Chem. Rev.**, v. 272, p. 1–29, 2014.
- UIVAROSI, V. *et al.* Thermal degradation behavior of some ruthenium complexes with fluoroquinolone derivatives as potential antitumor agents. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 105, p. 645–650, 2011.
- ULIANA, S. R. B.; TRINCONI, C. T.; COELHO, A. C. Chemotherapy of leishmaniasis: Present challenges. **Parasitology**, v. 145, n. 4, p. 464–480, 2018.
- VALLE, E. M. A. *et al.* Sobre uma degenerescência acidental nos deslocamentos químicos de RMN de  $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$  em complexos difosfínicos de rutênio. **Quim. Nova**, v. 31, n. 4, p. 807–812, 2008.
- VAN CAILLIE, C.; AMOS, R. D. Geometric derivatives of density functional theory excitation energies using gradient-corrected functionals. **Chem. Phys. Lett.**, 2000.
- VANNIER-SANTOS, M. A. *et al.* The putrescine analogue 1, 4-diamino-2-butanone affects polyamine synthesis, transport, ultrastructure and intracellular survival in *Leishmania amazonensis*. **Microbiology**, v. 154, p. 3104–3111, 2008.
- VENKATACHALAM, G.; RAMESH, R. Catalytic and biological activities of Ru(III) mixed ligand complexes containing N, O donor of 2-hydroxy-1-naphthylideneimines.

**Spectrochim. Acta A**, v. 61, p. 2081–2087, 2005.

VILLEMIN, E. *et al.* Polymer encapsulation of ruthenium complexes for biological and medicinal applications. **Nat. Rev. Chem.**, v. 3, n. 4, p. 261–282, 2019.

VOLLHARDT, P.; SCHORE, N. E. **Química Orgânica - Estrutura e Função**. 6<sup>a</sup> ed. Bookman, 2013.

VOSKO, S. H.; WILK, L.; NUSAIR, M. Accurate spin-dependent electron liquid correlation energies for local spin density calculations: a critical analysis. **Can. J. Phys.**, v. 58, p. 1200–1211, 1980.

WALKER, R. A. Metal complexes of 1-hydroxy-9, 10-anthraquinone-I. Infrared spectra (4000-350 cm<sup>-1</sup>) of complexes formed with divalent cations. **Spectrochim. Acta**, v. 27, n. 1966, p. 1785–1791, 1971.

WARE, W. R. Oxygen quenching of fluorescence in solution: An experimental study of the diffusion process. **J. Phys. Chem.**, v. 66, p. 455–458, 1962.

WARING, M. J. Complex Formation between Ethidium Bromide. **J. Mol. Biol.**, v. 13, n. 1, p. 269–282, 1965.

WELLER, M. *et al.* **Química Inorgânica**. 6<sup>a</sup> ed ed. Bookman, 2017.

WHEATE, N. J. *et al.* DNA Intercalators in Cancer Therapy: Organic and Inorganic Drugs and Their Spectroscopic Tools of Analysis. **Mini-Rev. Med. Chem.**, v. 7, p. 627–648, 2007.

WHO. **Cancer**. Disponível em: [https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1). Acesso em 4 de fev.de 2021.

WIBERG, K. B. Application of the pople-santry-segal CNDO method to the cyclopropylcarbiny and cyclobutyl cation and to bicyclobutane. **Tetrahedron**, v. 24, n. 3, p. 1083–1096, 1968.

WOHNRATH, K. "**Aplicação do [RuCl<sub>3</sub>(dppb)H<sub>2</sub>O] na obtenção de Complexos Mono e Binucleares**". 1999. 242 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual Paulista - UNESP. Araraquara, SP, 1999.

WOLFE, A.; SHIMER, G. H.; MEEHAN, T. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Physically Intercalate into Duplex Regions of Denatured DNA. **Biochemistry**, v. 26, n. 20, p. 6392–6396, 1987.

WU, J.; HU, X.; MA, L. Synthesis and biological evaluation of polyhydroxy benzophenone as mushroom tyrosinase inhibitors. **J. Enzyme Inhib. Med. Chem.**, v. 26, n. 3, p. 449–452, 2011.

WU, S.-B.; LONG, C.; KENNELLY, E. J. Structural diversity and bioactivities of natural benzophenones. **Nat. Prod. Rep.**, v. 31, p. 1158–1174, 2014.

WUDDIVIRA, M. N. *et al.* Estimation of Soil Clay Content from Hygroscopic Water Content Measurements. **Soil Sci. Soc. Am. J.**, v. 76, p. 1529–1535, 2012.

WYLLIE, S.; CUNNINGHAM, M. L.; FAIRLAMB, A. H. Dual action of antimonial drugs on thiol redox metabolism in the human pathogen *Leishmania donovani*. **J. Biol. Chem.**, v. 279, n. 38, p. 39925–39932, 2004.

XUE, J.; LIU, W.; KANNAN, K. Bisphenols, Benzophenones, and Bisphenol A Diglycidyl Ethers in Textiles and Infant Clothing. **Environ. Sci.**, v. 51, p. 5279–5286, 2017.

YAN, Y. K. *et al.* Organometallic chemistry, biology and medicine: ruthenium arene anticancer complexes. **Chem. Commun.**, n. 38, p. 4764–4776, 2005.

YANG, M.; BIERBACH, U. Metal-Containing Pharmacophores in Molecularly Targeted Anticancer Therapies and Diagnostics. **Eur. J. Inorg. Chem.**, v. 12, p. 1561–1572, 2017.

YANG, S.-Q. *et al.* Antibacterial anthraquinone derivatives isolated from a mangrove-derived endophytic fungus *Aspergillus nidulans* by ethanol stress strategy. **J. Antibiot.**, v. 71, n. 9, p. 778–784, 2018.

YEO, S. J. *et al.* Anti - malarial effect of novel chloroquine derivatives as agents for the treatment of malaria. **Malar. J.**, v. 16, n. 1, p. 1–9, 2017.

ZEGLIS, B. M.; PIERRE, V. C.; BARTON, J. K. Metallo-intercalators and metallo-insertors. **Chem. Comm.**, v. 7345, n. 44, p. 4565–4579, 2007.

ZENG, L. *et al.* The development of anticancer ruthenium(II) complexes: from single molecule compounds to nanomaterials. **Chem.Soc.Rev.**, v. 46, n. 19, p. 5771–5804, 2017.

ZHANG, L. M. *et al.* Thermal behavior of five free anthraquinones from rhubarb. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 100, n. 1, p. 215–218, 2010.

ZHANG, P.; SADLER, P. J. Redox-Active Metal Complexes for Anticancer Therapy. **Eur. J. Inorg. Chem.**, v. 2017, n. 12, p. 1541–1548, 2017.

ZHAO, X. *et al.* The interaction between Ag<sup>+</sup> and bovine serum albumin: A spectroscopic investigation. **Sci. Total Environ.**, v. 409, n. 5, p. 892–897, 2011.

ZORODDU, M. A. *et al.* The essential metals for humans: a brief overview. **J. Inorg. Biochem.**, v. 195, p. 120–129, 2019.

ZUMAN, P. *et al.* Polarographic reduction of aldehydes and ketones. Linear free energy treatment of substituted benzophenones. **Collect. Czech. Chem. Commun.**, v. 33, p. 3213–3226, 1968.

## GLOSSÁRIO

**ANTIFIBRÓTICA** – Auxilia a reduzir a inflamação e a diminuir a velocidade de cicatrização nos pulmões.

**ANTIPIRÉTICO** – Medicamento que diminui a temperatura do corpo combatendo a febre.

**APOPTOSE** – Processo biológico natural de autodestruição de células e que é essencial para a manutenção do desenvolvimento dos seres vivos, sendo importante para eliminar células defeituosas.

**AUXOCROMOS** – Substituintes que aumentam a intensidade da absorção e possivelmente o comprimento de onda. São exemplos os grupos: metila, hidroxila, alcoxi, halogênio e amina.

**AXÊNICA** - Descreve o estado de uma cultura em que apenas uma única espécie, variedade ou cepa de organismo está presente e completamente livre de todos os outros organismos contaminantes

**BIOEQUIVALÊNCIA** - Consiste na demonstração de equivalência farmacêutica entre produtos apresentados sob a mesma forma farmacêutica, contendo idêntica composição qualitativa e quantitativa de princípio(s) ativo(s), e que tenham comparável biodisponibilidade, quando estudados sob um mesmo desenho experimental.

**CÉLULAS BASAIS** – São as células mais profundas do tecido epitelial que ficam alinhadas ao longo da lâmina basal, são mitoticamente ativas e substituem as células em diferenciação das camadas superiores.

**CÉLULAS ESCAMOSAS** – Ou ceratinócitos são as principais células da epiderme (camada externa da pele).

**CICLINAS** – Consiste em uma família de proteínas que controla a progressão de uma célula ao longo do ciclo celular, ativando enzimas quinase dependente de ciclina (CDK) ou um grupo de enzimas necessárias para a síntese do ciclo celular.

**CITOCINESE** - Fase final dos processos de divisão celular das células eucarióticas, caracterizada pela efetiva separação das duas células após a formação completa dos dois novos núcleos.

**CLUSIACEA** - Família do reino Plantae que designa árvores com seiva leitosa produtoras de frutos em formato de cápsulas. Distribuem-se nas regiões tropicais do planeta.

**DIGENÉTICO** - São os parasitos que só completam o seu ciclo evolutivo passando pelo menos por dois hospedeiros.

**ENDÊMICO** - Nativo de, restrito a determinada região geográfica (diz-se de espécie, organismo ou população).

**FABACEAE** – Família de plantas angiospérmicas (plantas com flor) que pode se apresentar como árvores, arbustos ou ervas. Consiste na família de maior representatividade da Caatinga, contendo cerca de um terço da riqueza de espécies catalogadas.

**HEPATOMA** – É o mais frequente câncer originado no fígado.

**IMUNOSSUPRESSÃO** - Supressão das reações imunitárias do organismo, induzida por medicamentos ou agentes imunoterápicos que é utilizada em alergias e doenças autoimunes.

**LÍQUEN** – Combinação de uma alga verde com um fungo, em que os organismos existem por meio de uma relação mutualística (associação entre organismos de espécies diferentes em que ambos parceiros se beneficiam).

**MACRÓFAGO** – Célula importante do sistema imunológico que participa na imunidade inata e condiciona a adaptativa, através da fagocitose de partículas estranhas ao hospedeiro.

**MIELOTOXICIDADE** - Caracterizada basicamente pela leucopenia (diminuição do número de linfócitos, granulócitos e neutrófilos), trombocitopenia (diminuição do número de plaquetas) e anemia (diminuição da concentração de glóbulos vermelhos ou eritrócitos circulantes).

**MURINO** - Parecido, similar ou pertencente a ratos.

**NEFROTOXICIDADE** - Efeito deletério sobre a função renal causado por um agente químico específico.

**POLYGONACEAE** – Família de plantas angiospérmicas, distribuídas principalmente em regiões temperadas do hemisfério Norte. No Brasil ocorrem 9 gêneros e 95 espécies com ampla distribuição em todos os estados.

**QUIMIOPREVENTIVOS** – Agentes químicos naturais ou sintéticos que atuam na reversão, bloqueio ou prevenção do surgimento do câncer.

**RECOZIMENTO** – Uma das etapas de síntese de DNA, em que os primers, que são cadeias curtas de DNA personalizadas, são projetados especificamente para se unirem a locais no início e no final do segmento a ser copiado. Se os primers forem projetados incorretamente ou a temperatura nesse estágio estiver errada, o primer se

ligará aleatoriamente ao DNA, resultando na cópia do segmento incorreto.

**RUBIACEAE** – Família de plantas angiospérmicas que pode se apresentar como árvores, arbustos ou ervas, principalmente em regiões tropicais e subtropicais.

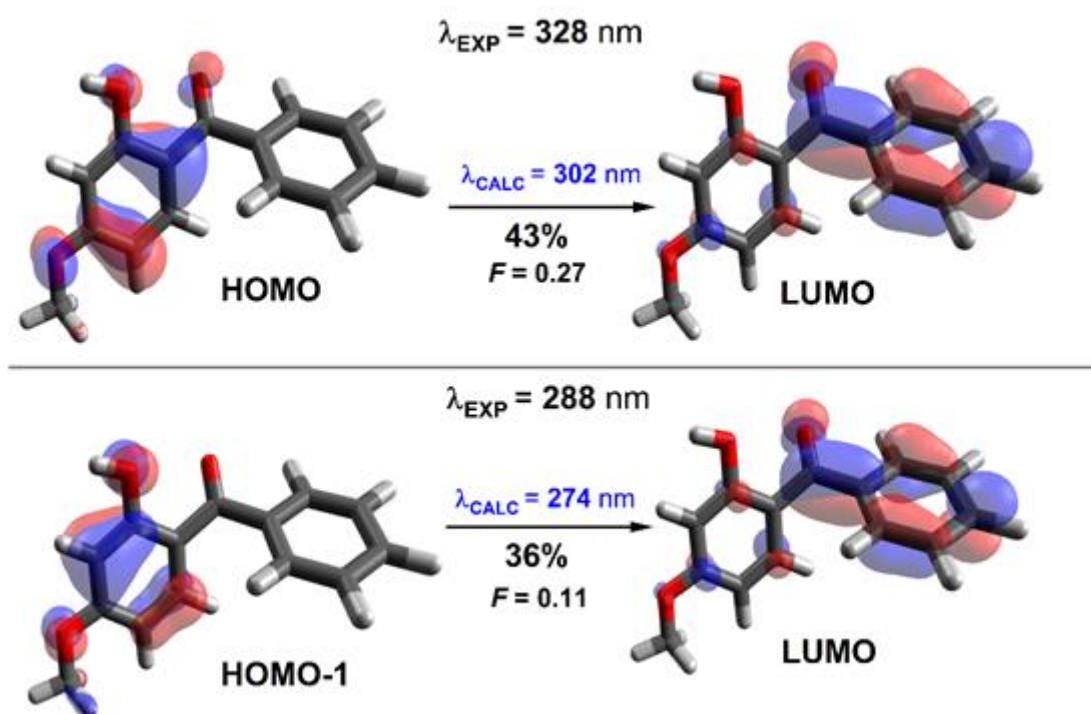
**TECIDO EPITELIAL** – Camada de células altamente coesas que cobre ou reveste as superfícies do corpo como: pele, intestino, glândulas salivares, fígado.

**TERATOGENICO** – Agentes que provocam malformações congênitas (anatômicas, funcionais ou estéticas) podendo, muitas vezes, levar à morte.

**TRACOMA** - Doença inflamatória ocular, uma conjuntivite causada pela bactéria *Chlamydia trachomatis* que ocorre em áreas de maior concentração de pobreza, deficientes condições de saneamento básico e acesso à água.

**VIA PARENTERAL** - Consiste na administração de medicamentos através das seguintes vias: **intradérmica** - São aplicadas rente à pele, entre a derme e a epiderme, a agulha não chega a camadas profundas. Um exemplo clássico de vacina intradérmica é a BCG; **subcutânea** – São aplicadas na hipoderme, no tecido subcutâneo. Os locais para injeção incluem as regiões superiores externas (braços), o abdômen, a região anterior das coxas e a região superior do dorso; **intramuscular** – Administração direta do injetável na massa muscular. Esta via permite a administração de medicamentos em soluções aquosa e oleosa. É a via mais apropriada quando se trata de vacinas com soluções mais irritantes, pois a região dentro dos músculos tem menos sensibilidade que as camadas da pele; **intravenosa ou endovenosa** - a administração intravenosa ou endovenosa é efetuada introduzindo o medicamento diretamente na veia, na corrente sanguínea. Por estas vias se administram na maioria das vezes preparações aquosas, em menor caso as suspensões aquosas ou emulsões de óleo em água.

APÊNDICE A – Energias de excitação PBE0 computadas ( $\lambda_{\text{CALC}}$ , em nm) com a força do oscilador associada ( $F$ , em u.a.) para HB2, bem como a contribuição do processo de transferência de carga (em %) para a transição eletrônica calculada.



**APÊNDICE B - Energias de excitação calculadas de PBE0 ( $\lambda_{\text{CALC}}$ , em nm) para (1) com a força do oscilador associada ( $F$ , em u.u.).**

$\lambda_{\text{EX}}$ P	$\lambda_{\text{CALC}}$	$F$	Orbitais moleculares	Atribuições	
	809.	0.0	H-3→L(28%)/H-	$\pi_{\text{dppb/hbz}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT/MLMLC
	1	5	1→L(19%)	// $(d_{\text{Ru}} - \eta_{\text{Cl}}) \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	T
682	690.	0.0	H-7→L(21%)/H-	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$ //	LMLCT
	6	3	8→L(14%)/H- 9→L(13%)	$\pi_{\text{hbz/dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	
	631.	0.1	H-10→L(33%)/	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	5	1	H-9→L(14%)		
	606.	0.0	H-	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	3	4	13→L(37%)/H- 14→L(14%)		
346	344.	0.0	13→L(15%)/H-	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	0	1	14→L(15%)/H- 15→L(14%)	$(\sigma_{\text{hbz}} - \eta_{\text{Cl}}) \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$ )	
	335.	0.0	H-14→L(30%)	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	3	1			
297	324.	0.1	H→L+1(24%)/H	$(d_{\text{Ru}} - \eta_{\text{Cl}}) \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \eta_{\text{Cl/O}})$	MLMLCT
	0	3	-1→L+1(11%)		
	315.	0.1	H-	$(d_{\text{Ru}} - \eta_{\text{Cl}}) \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \eta_{\text{Cl/O}})$	MLMLCT/
	6	4	1→L+1(27%)/H- 3→L+1(12%)	$\pi_{\text{dppb/hbz}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \eta_{\text{Cl/O}})$	LMLCT

**APÊNDICE C - Energias de excitação calculadas de PBE0 ( $\lambda_{\text{CALC}}$ , em nm) para (2) com a força do oscilador associada (F, em u.u.).**

$\lambda_{\text{EXP}}$	$\lambda_{\text{CALC}}$	F	Orbitais moleculares	Atribuições	
	802.5	0.05	H-3→L(33%)/H- 1→L(13%)	$\pi_{\text{hbz/dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}}) //$ $\pi_{\text{hbz}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	700.5	0.03	H-7→L(18%)/H- 8→L(15%)	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}}) //$ $\pi_{\text{hbz/dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
680	688.2	0.01	H-7→L(18%)/H- 8→L(15%)	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}}) //$ $\pi_{\text{hbz/dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	637.1	0.09	H-10→L(30%)	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	611.8	0.05	H-13→L(36%)	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	584.0	0.04	H-12→L(24%)/H- 15→L(21%)	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}}) //$ $\eta \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
353	345.1	0.01	H-23→L(18%)/H- 21→L(17%)/ H- 22→L(13%)	$\eta \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}}) //$ $\sigma \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	338.8	0.02	H-21→L(20%)	$\sigma \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	336.6	0.01	H-22→L (37%)	$\sigma \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
			H-24→L(17%)/	$\sigma \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}}) //$	LMLCT/
	329.8	0.03	H-1→L+1(15%) / H→L+1(15%)	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow \pi_{\text{hbz}}^* //$ $d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb}} \rightarrow \pi_{\text{hbz}}^*$	LLCT/ MLLCT
	323.4	0.07	H-24→L (17%)/ H→L+1 (15%)	$\sigma \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}}) //$ $d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb}} \rightarrow \pi_{\text{hbz}}^*$	LMLCT/MLLCT
			H-25→L(18%) /	$\pi_{\text{hbz}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}}) //$	
	322.2	0.09	H-3→L+1(15%) / H-23→L(13%)	$\pi_{\text{dppb/hbz}} \rightarrow \pi_{\text{hbz}}^* //$ $\sigma \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT/LLCT
296	302.5	0.06	H-4→L+1 (46%)	$(d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb/hbz}}) \rightarrow \pi_{\text{hbz}}^*$	MLLCT
	300.3	0.01	H-6→L+1 (30%)	$\pi_{\text{dppb/hbz}} \rightarrow \pi_{\text{hbz}}^*$	LLCT
	296.7	0.05	H-26→L (31%)	$\pi_{\text{hbz}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT

**APÊNDICE D - Energias de excitação calculadas de PBE0 ( $\lambda_{\text{CALC}}$ , em nm) para (3) com a força do oscilador associada ( $F$ , em u.u.).**

$\lambda_{\text{EX}}$	$\lambda_{\text{CAL}}$	$F$	Orbitais moleculares	Atribuições	
P	C				
	807.	0.0	H-6→L(20%)/H-	$\pi_{\text{dppb/hbz}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	7	4	5→L(15%)		
	707.	0.0	H-8→L(31%)	$(d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb/hbz}}) \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	MLMLCT
	1	5			T
674	681.	0.0	H-11→L(22%)/H-	$\pi_{\text{dppb/hbz}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	1	3	8→L(22%)		
	655.	0.0	H-10→L(40%)	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	6	4			
	618.	0.0	H-13→L(37%)/H-	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	8	5	11→L(19%)		
472	499.	0.0	H-16→L(48%)	$\eta_{\text{Cl}}/\eta_{\text{P}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	3	5			
					MMLCT
	459.	0.0	H-17→L(24%)/H-	$d_{\text{Ru}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	/
	8	3	18→L(16%)	$(d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}) \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	MLMLCT
					T
368	366.	0.1	H-	$\sigma_{\text{P}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb}}^* - \eta_{\text{Cl}}) //$	LMLCT
	7	3	21→L(20%)/H→L+1(16%)	$\pi_{\text{hbz}}^* \rightarrow \pi_{\text{hbz}}^*$	ILCT
			(%)		
	363.	0.2	H→L+1(37%)	$\pi_{\text{hbz}}^* \rightarrow \pi_{\text{hbz}}^*$	ILCT
	8	9			
302	301.	0.1	H-5→L+1(38%)	$\pi_{\text{dppb/hbz}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	7	2			

**APÊNDICE E - Energias de excitação calculadas de PBE0 ( $\lambda_{\text{CALC}}$ , em nm) para (4) com a força do oscilador associada ( $F$ , em u.u.).**

$\lambda_{\text{EXP}}$	$\lambda_{\text{CALC}}$	$F$	Orbitais moleculares	Atribuições	
	797.4	0.05	H-2→L(24%)/H- 4→L(24%)/H- 5→L(13%)	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$ $(d_{\text{Ru}} - \eta_{\text{Cl}}) \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}}) //$ $(d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb}} / \text{hbz} - \eta_{\text{Cl}}) \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT/ MLMLCT
671	671.6	0.02	H-8→L(29%)/H- 7→L(15%)/H- 10→L(15%)	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}}) /$ $\pi_{\text{hbz}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	631.2	0.05	H-9→L(24%)/H- 10→L(17%)/H- 13→L(15%)	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}}) /$ $\pi_{\text{hbz}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	614.2	0.07	H- 12→L(25%)/H- 13→L(14%)	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	586.6	0.06	H- 12→L(24%)/H- 13→L(20%)	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
481	479.7	0.03	H- 16→L(32%)/H- 17→L(17%)	$(d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}} - \eta_{\text{Cl}}) \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	MLMLCT
	454.8	0.05	H- 17→L(33%)/H- 16→L(18%)	$(d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}} - \eta_{\text{Cl}}) \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	MLMLCT
370	386.0	0.20	H→L+1(52%)	$\pi_{\text{hbz}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^*)$	LMLCT

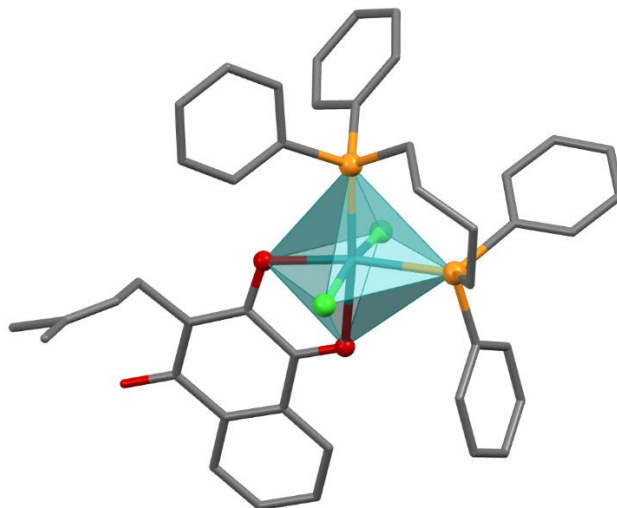
**APÊNDICE F - Energias de excitação calculadas de PBE0 ( $\lambda_{\text{CALC}}$ , em nm) para (5) com a força do oscilador associada ( $F$ , em u.u.).**

$\lambda_{\text{EXP}}$	$\lambda_{\text{CALC}}$	$F$	Orbitais moleculares	Atribuições	
	764.4	0.03	H-4→L(19%)/H- 6→L(15%)	$\pi_{\text{hbz/dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}}) //$ $\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	716.2	0.03	H-7→L(33%)/H- 4→L(21%)	$\pi_{\text{hbz/dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
			H-		
654	671.9	0.06	11→L(21%)/H- 10→L(17%)	$\pi_{\text{hbz/dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	625.6	0.05	H-9→L(43%)	$\pi_{\text{hbz/dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
			H-		
	367.1	0.02	19→L(22%)/H- 20→L(17%)	$\sigma_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
			H-		
352	352.0	0.02	2→L+2(18%)/H- 1→L+2 (12%)	$(d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb}}) \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \eta_{\text{Cl/P}}) //$ $\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \eta_{\text{Cl/P}})$	MLMLCT/ LMLCT
			H-		
	301.5	0.05	7→L+1(23%)/H- 3→L+1(14%)	$\pi_{\text{dppb/hbz}} \rightarrow \pi_{\text{hbz}}^* //$ $(d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb}}) \rightarrow \pi_{\text{hbz}}^*$	LLCT MLLCT
			H-28→L (16%)/H-24→ L(11%)	$\pi_{\text{dppb/hbz}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$ $\sigma_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
	298.4	0.06			
			H-		
293	297.6	0.11	28→L(13%)/H- 29→L(10%)	$\pi_{\text{dppb/hbz}} \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$ $(d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{dppb/hbz}}) \rightarrow (d_{\text{Ru}} - \pi_{\text{hbz}}^* - \eta_{\text{Cl}})$	LMLCT/ MLMLCT

**APÊNDICE G - Energias de excitação calculadas de PBE0 ( $\lambda_{\text{CALC}}$ , em nm) para (6) com a força do oscilador associada ( $F$ , em u.u.).**

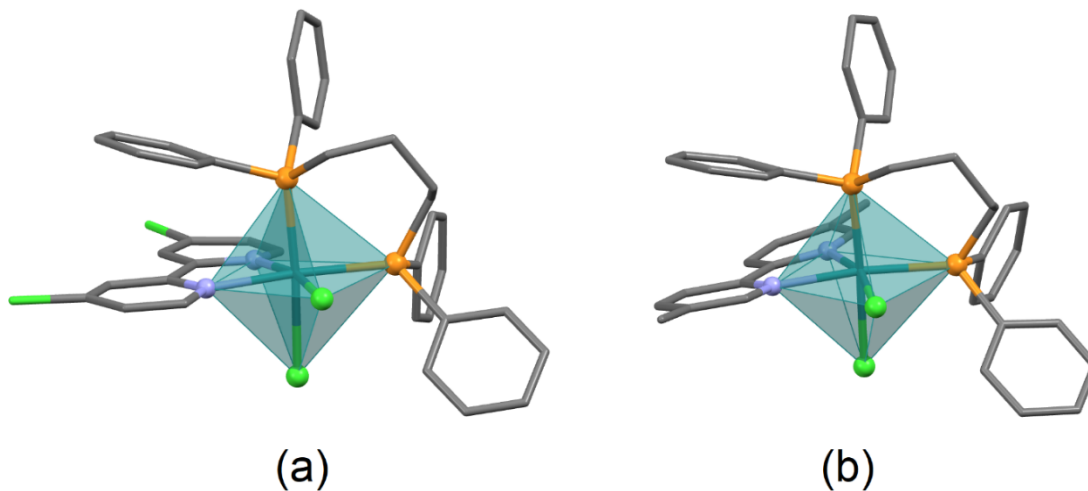
$\lambda_{\text{EXP}}$	$\lambda_{\text{CALC}}$	$F$	Orbitais moleculares	Atribuições	
	769.8	0.03	H-5→L(43%)	$(d_{\text{Ru}}-\pi_{\text{hbz/dppb}}-\eta_{\text{Cl}}) \rightarrow (d_{\text{Ru}}-\pi^*_{\text{hbz}}-\eta_{\text{Cl}})$	MLMLCT
	695.4	0.03	H-7→L(29%)/ H-6→L(12%)	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}}-\pi^*_{\text{hbz}}-\eta_{\text{Cl}}) /$ $(d_{\text{Ru}}-\pi_{\text{hbz/dppb}}) \rightarrow (d_{\text{Ru}}-\pi^*_{\text{hbz}}-\eta_{\text{Cl}})$	LMLCT/ MLMLCT
658	637.3	0.12	H-9→L (31%)/ H-11→L(14%)	$\pi_{\text{hbz/dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}}-\pi^*_{\text{hbz}}-\eta_{\text{Cl}})$ $(d_{\text{Ru}}-\pi_{\text{hbz}}-\eta_{\text{Cl}}) \rightarrow (d_{\text{Ru}}-\pi^*_{\text{hbz}}-\eta_{\text{Cl}})$	LMLCT/ MLMLCT
348	349.7	0.26	H→L+1(37%) H-	$\pi_{\text{hbz}} \rightarrow \pi^*_{\text{hbz}}$	ILCT
	342.3	0.15	21→L(19%)/H- 23→L(17%) H-	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow (d_{\text{Ru}}-\pi^*_{\text{hbz}}-\eta_{\text{Cl}})$	LMLCT
			2→L+1(12%)/ H-	$\pi_{\text{dppb}} \rightarrow \pi^*_{\text{hbz}}$	LLCT /
295	295.1	0.03	3→L+1(12%)/ H-	$(d_{\text{Ru}}-\pi_{\text{hbz}}-\eta_{\text{Cl}}) \rightarrow \pi^*_{\text{hbz}}$ $(d_{\text{Ru}}-\pi_{\text{hbz/dppb}}-\eta_{\text{Cl}}) \rightarrow \pi^*_{\text{hbz}}$	MMLCT
			5→L+1(12%)		

**APÊNDICE H - Representação da estrutura cristalina do complexo [RuCl<sub>2</sub>(Lap)(dppb)], onde Lap = lapachol**



Fonte: CCDC CIF ZOJHIR (BARBOSA *et al.*, 2014a), software Mercury MACRAE *et al.* (2008).

**APÊNDICE I - Representação da estrutura cristalina dos complexos (a) dicloro-((5-cloro-2-(hidroxi)-4-metilfenil)-(fenil)metanoato)-bis(trifenilfosfina)-rutênio(III) e (b) cloro-( $\eta^6$ -cimeno)-(2-(óxido(fenil)metilfenolato-O,O'))-rutênio(II).**



Fonte: CCDC CIF ZOJHIR (BARBOSA *et al.*, 2014a), software Mercury MACRAE *et al.* (2008).

**APÊNDICE J - Proposição do arranjo estrutural de (2) após dissolução dos complexos em DMSO e DMF.**

