

INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS CERES

**LICENCIATURA EM QUÍMICA
MARIA RAQUEL MARTINS DA SILVA**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E CITOTOXICIDADE DE COMPLEXO
ORGANOMETÁLICO DE RUTÊNIO COM LIGANTE ACILTIOUREIA
DISSUBSTITUÍDO**

**CERES – GO
2021**

MARIA RAQUEL MARTINS DA SILVA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E CITOTOXICIDADE DE COMPLEXO
ORGANOMETÁLICO DE RUTÊNIO COM LIGANTE ACILTIOUREIA
DISSUBSTITUÍDO**

Projeto de Trabalho de Curso apresentado ao curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal Goiano – Campus Ceres, como requisito para a obtenção do título de Licenciado em Química, sob orientação da Prof^a. Dra. Beatriz Nogueira da Cunha.

**CERES – GO
2021**

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

SSI586
s
SILVA, Maria Raquel Martins da
Síntese, Caracterização e Citotoxicidade de
Complexo Organometálico de Rutênio com Ligante
Aciltiourea Dissubstituído / Maria Raquel Martins
da SILVA; orientadora Beatriz Nogueira da Cunha; co-
orientadora Rafael Gomes da Silveira . -- Ceres,
2021.
68 p.

Monografia (Graduação em Licenciatura em Química) -
- Instituto Federal Goiano, Campus Ceres, 2021.

1. Câncer. 2. Citotoxicidade . 3. Complexos de
Rutênio . 4. Metalofármacos. 5. Quimioterápicos . I.
Cunha, Beatriz Nogueira da, orient. II. Silveira ,
Rafael Gomes da, co-orient. III. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Formulário 87/2021 - GE-CE/DE-CE/CMPCE/IFGOIANO

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- | | |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese | <input type="checkbox"/> Artigo Científico |
| <input type="checkbox"/> Dissertação | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro |
| <input type="checkbox"/> Monografia - Especialização | <input type="checkbox"/> Livro |
| <input checked="" type="checkbox"/> TCC - Graduação | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ | |

Nome Completo do Autor: Maria Raquel Martins da Silva

Matrícula: 2017103221550053

Título do Trabalho: Síntese, Caracterização e Citotoxicidade de Complexo Organometálico de Rutênio com Ligante Aciltioureia Dissubstituído

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 15/03/2021

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Ceres - GO, 26 /02 /2021.

Maria Raquel Martins da Silva

(Assinado Eletronicamente)
Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

Beatriz Nogueira da Cunha
(Assinado Eletronicamente)
Assinatura do(a) orientador(a)

Documento assinado eletronicamente por:

- **Maria Raquel Martins da Silva**, 2017103221550053 - Discente, em 02/03/2021 17:06:13.
- **Beatriz Nogueira da Cunha**, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 01/03/2021 09:31:13.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 01/03/2021. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 244099
Código de Autenticação: cb789a66a4



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Ceres
Rodovia GO-154, Km.03, Zona Rural, None, CERES / GO, CEP 76300-000
(62) 3307-7100



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Ata nº 8/2021 - GE-CE/DE-CE/CMPCE/IFGOIANO

ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CURSO

Aos vinte e cinco dias do mês de janeiro de dois mil e vinte um, às 19 horas e 00 minutos, reuniu-se a banca examinadora composta pelos docentes: Beatriz Nogueira da Cunha, Bruna de Araujo Costa e Ilmo Correia da Silva para examinar o Trabalho de Curso intitulado “Síntese, caracterização e citotoxicidade de complexo organometálico de rutênio com ligante aciltioureia dissubstituído” da estudante Maria Raquel Martins da Silva, Matrícula nº 2017103221550053 do Curso de Licenciatura em Química do IF Goiano – Campus Ceres. A palavra foi concedida a estudante para a apresentação oral do TC, houve arguição da candidata pelos membros da banca examinadora. Após tal etapa, a banca examinadora decidiu pela APROVAÇÃO da estudante. Ao final da sessão pública de defesa foi lavrada a presente ata que segue assinada pelos membros da Banca Examinadora.

(Assinado Eletronicamente)

(Beatriz Nogueira da Cunha)

Orientador(a)

(Assinado Eletronicamente)

(Bruna de Araújo Costa)

Membro

(Assinado Eletronicamente)

(Ilmo Correia Silva)

Membro

Observação:

() O(a) estudante não compareceu à defesa do TC.

Documento assinado eletronicamente por:

- Ilmo Correia Silva, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 03/02/2021 15:11:33.
- Bruna de Araujo Costa, TECNICO DE LABORATORIO AREA, em 27/01/2021 11:20:24.
- Beatriz Nogueira da Cunha, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 27/01/2021 11:07:17.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 27/01/2021. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 233660
Código de Autenticação: 59fa1859dd



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Ceres
Rodovia GO-154, Km.03, Zona Rural, None, CERES / GO, CEP 76300-000
(62) 3307-7100

A minha família pelo amor, compreensão e apoio, me fortalecendo em todos os momentos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus por me conceder saúde, sabedoria e esperança nos momentos difíceis, reforçando minha fé, permitindo-me conquistar mais uma vitória em minha vida.

Agradeço, em especial ao meu esposo, Rhafael Brandão, por ser meu alicerce e motivação durante a graduação, por compartilhar minhas angustias e aflições, compreender minha ausência, me fortalecendo a cada dia.

Agradeço imensamente a minha orientadora, Dra. Beatriz Nogueira da Cunha, pela disponibilidade e suporte durante o desenvolvimento do projeto de iniciação científica, por se prontificar e contribuir significativamente durante a elaboração deste trabalho, por todo conhecimento compartilhado.

Agradeço as amigas construídas durante minha trajetória acadêmica, Poliane Gomes e Grosman Sann, pela cumplicidade e amparo, por compartilhar comigo os conhecimentos, as alegrias, aflições, tristezas e as conquistas adquiridas em cada etapa do curso. Em especial, a Poliane Gomes, que me acompanhou durante o desenvolvimento do projeto, companheira de laboratório, estudos e trabalhos, agradeço por toda troca de conhecimento, incentivo e pelos inúmeros desafios enfrentados, tornando meus dias mais leves e minha caminhada mais agradável e feliz.

Agradeço ao Instituto Federal Goiano – Campus Ceres e seu corpo docente, que demonstrou em estar comprometido com a qualidade e excelência do ensino. A Universidade Federal de São Carlos pela parceria. Ao CNPq pela bolsa concedida durante o desenvolvimento da pesquisa.

“Não há ensino sem pesquisa e pesquisa sem ensino. Esses que-fazerem que se encontram um no corpo do outro. Enquanto ensino continuo buscando, reprocurando. Ensino porque busco, porque indaguei, porque indago e me indago. Pesquiso para constatar, constatando intervenho, intervindo educo e me educo. Pesquiso para conhecer o que ainda não conheço e comunicar ou anunciar a verdade”.

Paulo Freire

RESUMO

A Química Bioinorgânica Medicinal é uma área da ciência que compreende as funções e aplicações de compostos metálicos em sistemas biológicos como agentes terapêuticos, e vem estabelecendo-se como campo promissor do conhecimento em decorrência da eficácia da utilização do composto cisplatina no tratamento do câncer. Atualmente, a área científica têm impulsionado o desenvolvimento de novos quimioterápicos a base de íons metálicos. O presente projeto de pesquisa propõe a obtenção e caracterização de um novo complexo de rutênio com o ligante aciltiourea com possível atividade citotóxica promissora. O composto foi obtido e caracterizado mediante a técnica de Ressonância Magnética Nuclear dos átomos de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e ^1H , assim como as técnicas bidimensionais HMBC, HSQC e COSY, além de medidas de condutividade molar. Realizou-se a avaliação citotóxica do complexo na linhagem tumoral de mama, MDA-MB-231. Os dados obtidos indicam que o composto apresenta pureza apreciável, onde os sinais atribuídos convergem para a estrutura esperada. Por meio destas análises sugere-se que o ligante coordena-se ao metal de forma bidentada, via átomos de S e O. Mediante o ensaio de proliferação celular, o composto demonstrou potencialidade para a aplicabilidade na área medicinal apresentando valor de IC_{50} ($2,48 \pm 0,19 \mu\text{M}$) similar ao do cisplatina e consideravelmente menor do que o precursor e ligante, respectivamente.

Palavras-chave: Câncer. Citotoxicidade. Complexos de rutênio. Metalofármaco.

ABSTRACT

Medical Bioinorganic Chemistry is an area of science that understands the functions and applications of metallic compounds in biological systems as therapeutic agents, and has been establishing itself as a promising field of knowledge due to the effectiveness of using the cisplatin compound in the cancer treatment. Currently, the scientific area has driven the development of new metal ion based chemotherapy. The present research project proposes to obtain and characterize a new ruthenium complex with the acylthiourea ligand with possible promising cytotoxic activity. The compound was obtained and characterized using the Nuclear Magnetic Resonance technique of the atoms of ^{31}P { ^1H }, ^{13}C { ^1H } and ^1H , as well as the two-dimensional techniques HMBC, HSQC and COZY. In addition to molar conductivity measurements. Performed the cytotoxic evaluation of the complex in the breast tumor lineage, MDA-MB-231. The data obtained indicate that the compound presents appreciable purity, where the assigned signals converge to the expected structure. Through these analyzes it is suggested that the ligand coordinates with the metal in a bidentate form, via S and O atoms. Through the cell proliferation assay, the compound demonstrated potential for applicability in the medicinal area, presenting an IC_{50} value similar to that of cisplatin and considerably less than the precursor and ligand, respectively.

Keywords: Cancer. Cytotoxicity. Ruthenium complexes. Metalodrugs.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura química do composto cis-diaminodicloroplatina(II), conhecido como cisplatina.....	4
Figura 2 - Esquema representativo da entrada do composto cisplatina na célula e sua posterior ligação com o DNA no núcleo.....	5
Figura 3 - Estruturas químicas dos compostos de rutênio: (A) KP418, (B) KP1339/KP1019 e (C) NAMI-A.....	6
Figura 4 - Estrutura proposta do $[\text{RuCl}(\eta^6\text{-p-cimeno})(\text{L}_1)(\text{L}_2)]$	8
Figura 5 - Estruturas químicas dos compostos (a) RAED-C e (b) RAPTA-C.....	9
Figura 6 - Mecanismo de hidrólise do complexo RAPTA-C no meio intracelular.....	9
Figura 7 - Estrutura básica dos compostos aciltioureas.....	10
Figura 8 - Espectro de RMN de ^1H do precursor.....	15
Figura 9 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do precursor.....	16
Figura 10 - Espectro RMN – HSQC ampliado, do precursor.....	16
Figura 11 - Espectro RMN – HSQC ampliado, do precursor.....	17
Figura 12 - Espectro RMN – HMBC do precursor.....	18
Figura 13 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do precursor ampliado.....	19
Figura 14 - Espectro RMN – HSQC do precursor.....	20
Figura 15 - Espectro RMN – HMBC ampliado, do precursor.....	20
Figura 16 - Espectro de RMN de ^1H do ligante aciltiourea.....	22
Figura 17 - Espectro COSY (H-H) ligante aciltiourea.....	25
Figura 18 - Espectro COSY (H-H) ligante aciltiourea.....	25
Figura 19 - Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do ligante aciltiourea.....	26
Figura 20 - Espectro RMN – HSQC ampliado, do ligante aciltiourea.....	27
Figura 21 - Espectro RMN – HSQC ampliado, do ligante aciltiourea.....	28
Figura 22 - Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ ampliado, do ligante aciltiourea.....	29
Figura 23 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ da mistura reacional no momento inicial.....	30
Figura 24 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ da mistura reacional após 2hrs.....	31
Figura 25 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo sólido.....	31
Figura 26 - Espectro de RMN de ^1H do complexo.....	33
Figura 27 - Espectro RMN - COSY (H-H) ampliado, do complexo.....	34
Figura 28 - Espectro RMN - COSY (H-H) ampliado, do complexo.....	35
Figura 29 - Espectro de RMN – HSQC ampliado, do complexo.....	37
Figura 30 - Espectro RMN – HMBC ampliado, do complexo.....	38
Figura 31 - Espectro RMN - $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ ampliado, do complexo.....	38
Figura 32 - Espectro RMN – HSQC ampliado, do complexo.....	39

Figura 33 - Espectro de RMN ^{13}C $\{^1\text{H}\}$, ampliado, do complexo.	39
Figura 34 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, ampliado, do complexo.	41
Figura 35 - Espectro RMN – HSQC ampliado, do complexo.	41
Figura 36 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, ampliado, do complexo.	43
Figura 37 - Espectro RMN – HMBC ampliado, do complexo.	43
Figura 38 - Espectro RMN – HMBC ampliado, do complexo.	45
Figura 39 - Deslocamento químico dos grupos C=O e C=S do ligante livre para o complexo formado.	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Correlação RMN – HSQC ligante p-cimeno do precursor.....	18
Tabela 2 - Correlação RMN– HSQC ligante trifenilfosfina do precursor.	21
Tabela 3 - Ilustração que representa a interpretação da análise bidimensional COSY (H-H) do ligante.	24
Tabela 4 - Correlação entre os ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da região aromática, espectro de RMN – HSQC.	28
Tabela 5 - Ilustração da análise bidimensional COSY (H-H) do complexo.	36
Tabela 6 - Correlação RMN – HSQC ligante p-cimeno do complexo.	40
Tabela 7 - Correlação RMN– HSQC ligante trifenilfosfina do complexo.	42
Tabela 8 - Correlação RMN – HSQC dos carbonos aromáticos da carbonila, ligante aciltioureia do complexo.	44
Tabela 9 - Valores de IC_{50} (μM) na linhagem tumoral MDA-MB-231.	47

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. O Câncer: aspectos gerais	2
2.2. A Química Bioinorgânica Medicinal: metalofármacos na terapia do câncer	3
2.3. Complexos organometálicos de rutênio na terapia do câncer	7
2.4. Tiouréia e seus derivados: ligantes aciltioureias	10
3. JUSTIFICATIVA	11
4. OBJETIVOS	11
4.1. Objetivo geral	11
4.2. Objetivo específico	11
5. METODOLOGIA.....	12
5.1. Síntese do complexo $[Ru(\eta^6\text{-}p\text{-cimen})(PPh_3)(T)]PF_6$	12
5.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)	12
5.3. Condutância molar	12
5.4. Ensaio de proliferação celular	12
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
6.1. Análise de RMN de 1H do precursor	14
6.2. Análise de RMN $^{13}C\{^1H\}$ do precursor	15
6.3. Análise de RMN 1H do ligante aciltioureia	21
6.4. Análise bidimensional COSY (H-H) do ligante aciltioureia	22
6.5. Análise de RMN $^{13}C\{^1H\}$ do ligante aciltioureia	26
6.6. Análise de RMN $^{31}P\{^1H\}$ do complexo	29
6.7. Análise de RMN 1H do complexo.....	32
6.8. Análise bidimensional RMN – COSY (H-H) do complexo	33
6.9. Análise de RMN $^{13}C\{^1H\}$ do complexo.....	36
6.10. Avaliação biológica do complexo: ensaio de citotoxicidade	47
7. CONCLUSÃO.....	48
8. REFERÊNCIAS	49

1. INTRODUÇÃO

A química de coordenação consiste no estudo de espécies metálicas, uma área destaque da química, por sua aplicabilidade em processos ambientais, industriais e biológicos. Neste âmbito, a química bioinorgânica tem se destacado e apresentado inúmeros avanços que envolvem o estudo de elementos inorgânicos que já existem naturalmente em sistemas biológicos, bem como a introdução de novas espécies nesse sistema pela utilização de metalofármacos (MACÊDO, 2019).

A Química Bioinorgânica Medicinal compreende o metabolismo, funções e aplicações de íons inorgânicos e seus complexos em sistemas biológicos como agentes terapêuticos, e vem estabelecendo-se como campo promissor do conhecimento em decorrência da eficácia da utilização do composto *cis*-diaminodichloridoplatina(II), cisplatina, no tratamento do câncer. Entretanto, as limitações apresentadas por este fármaco têm impulsionado a comunidade científica a buscar por novos metalofármacos que reduzem significativamente as reações adversas (CUNHA, 2018).

Os complexos de rutênio despertaram o interesse da comunidade científica em 1980, após Clarke M. J. e colaboradores evidenciar seus resultados de testes com complexos de rutênio, onde estes apresentaram maior seletividade frente a células cancerígenas (MOTSWAINYANA, 2015). Uma nova perspectiva promissora para os compostos de rutênio vem sendo estabelecida pelos grupos de pesquisa dos Professores Dyson e Sadler, onde suas investigações são baseadas em complexos organometálicos semi-sanduíches de Ru(II)-areno, no qual, as séries RAPTA e RAED têm apresentado resultados animadores (MURRAY et al, 2016).

As aciltioureias compreende a uma classe de compostos derivados da tiouréia, sendo reconhecidas por sua ampla faixa de aplicações, sobretudo no campo biológico, atuando como ligantes versáteis na química de coordenação em função dos átomos presente em sua estrutura, oxigênio, nitrogênio e enxofre (CUNHA et al, 2020).

Diante de tais características, este estudo sugere a obtenção de um novo composto organometálico de rutênio (II) com possível atividade biológica promissora, combinando a versatilidade dos ligantes aciltioureias associada ao potencial biológico

dos compostos de rutênio. Assim, este trabalho propõe a síntese, caracterização e avaliação citotóxica do complexo com fórmula geral $[Ru(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(PPh_3)(T)](PF_6)$, onde, PPh_3 = trifenilfosfina e T= N’N-(dibenzil)-N’-benzoiltioureia.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O Câncer: aspectos gerais

O câncer é uma doença celular caracterizada pelo crescimento desordenado das células. A palavra câncer é originária do grego karkínos, que significa caranguejo, sendo utilizada pela primeira vez por Hipócrates (460 e 377 a.C), considerado o pai da medicina. Segundo a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), a abrangência dessa doença é a segunda principal causa de mortalidade no mundo, sendo responsável por 9,6 milhões de mortes em 2018, a nível global, uma a cada seis mortes estão diretamente relacionadas ao câncer (INCA, 2018).

O câncer integra o núcleo das doenças e agravos não transmissíveis (DANT), de acordo com o Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA, 2020), “estima-se que para o biênio 2018-2019 tenha ocorrido 600 mil novos casos de câncer no Brasil, para cada ano. Entre os mais incidentes estão os cânceres de próstata, pulmão, mama, cólon e reto”.

O processo de carcinogênese ocorre quando células alteradas passam a se comportar de forma anormal, multiplicando-se de maneira descontrolada. Conforme as células cancerosas vão substituindo as normais, os tecidos invadidos vão perdendo suas funções, o que resultam em tumores. Essa mutação genética pode ser ocasionada por fatores internos, como condições genéticas pré-determinadas, ou fatores externos, relacionados ao ambiente e estilo de vida. Em geral, os tumores são classificados como benignos ou malignos, os tumores benignos são caracterizados pelo crescimento celular ordenado com lenta expansão, em contrapartida, os tumores malignos crescem de forma contínua e pronunciada, possuindo a capacidade de se infiltrar em tecidos diferentes ao de origem e se espalhar por todo o corpo humano, processo denominado de metástase (FERREIRA, R.G.R; FRANCO, L.F.R, 2017).

A carcinogênese geralmente ocorre lentamente, onde, uma célula cancerosa passa por três estágios antes de ser detectada como um tumor, sendo eles, estágio de iniciação: nesta fase as células encontram-se geneticamente alteradas, ou seja, as células normais sofrem o efeito de um agente carcinogênico, não sendo possível a identificação de um tumor. No estágio de promoção, as células alteradas são transformadas de forma lenta e gradual em células malignas, pelo contato com o agente cancerígeno promotor, desta forma, o processo avança para o estágio de progressão, caracterizado pela multiplicação celular desordenada, nesta fase, o câncer já está instalado, evoluindo até o surgimento das primeiras manifestações clínicas da doença (BRASIL,2015).

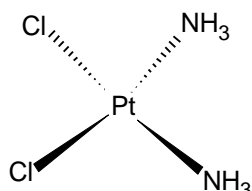
As principais modalidades de tratamentos contra o câncer consistem na cirurgia, radioterapia e quimioterapia, podendo ser utilizada em conjunto, conforme a especificidade de cada caso. O diagnóstico precoce aumenta a possibilidade de cura e eficácia do tratamento, além de reduzir a mortalidade resultante da doença. A cirurgia é utilizada em casos anteriores a metástase, o que resulta em um tratamento efetivo para tumores localizados. A radioterapia é um método de tratamento local ou locorregional que utiliza equipamentos para irradiar áreas alvo do organismo humano, objetivando a diminuição do tumor, minimização de sintomas associados a doença, ou ainda, a cura do paciente. A quimioterapia é uma forma de tratamento sistêmico do câncer que usa medicamentos quimioterápicos, os quais podem ser administrados por via oral ou intravenosa, atuando tanto em tumores localizados, quanto para metastáticos. Portanto, a radioterapia e a quimioterapia podem ser utilizadas em vários estágios do tratamento. Entretanto, alguns fatores limitantes durante o tratamento quimioterápico, tais como os efeitos colaterais e a resistência adquirida ao longo do processo ainda são um empecilho (SANTOS, 2020).

2.2. A Química Bioinorgânica Medicinal: metalofármacos na terapia do câncer

A Química Bioinorgânica estuda o metabolismo, funções e aplicações de íons inorgânicos e seus complexos em sistemas biológicos, através da utilização de metalofármacos, contribuindo para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos (MARTINS, 2017).

O primeiro composto de coordenação contendo platina usado no tratamento contra o câncer foi o composto *cis*-diaminodicloroplatina(II), de nome comercial “cisplatina” (Figura 1). As propriedades antitumorais da cisplatina foram descobertas acidentalmente, em 1965, durante um estudo acerca da corrente elétrica em bactérias *Escherichia coli*, realizado por Barnett Rosenberg e Loretta VanCamp, onde foi observado atividade inibitória na divisão destas bactérias. Posteriormente, após análises científicas, concluíram que tal propriedade se estendia para às células tumorais, e em 1978 foi aprovada para uso clínico pela FDA (*Food and Drug Administration*). Embora sua atividade citotóxica tenha sido descoberta em 1965, o composto foi sintetizado pela primeira vez em 1844 pelo químico italiano Michele Peyrone (1813–1883), sendo denominada como cloreto de Peyrone. A cisplatina foi o primeiro agente medicinal a base de metal a entrar em uso clínico mundial para a terapia contra o câncer (MJOS & ORVIG, 2014).

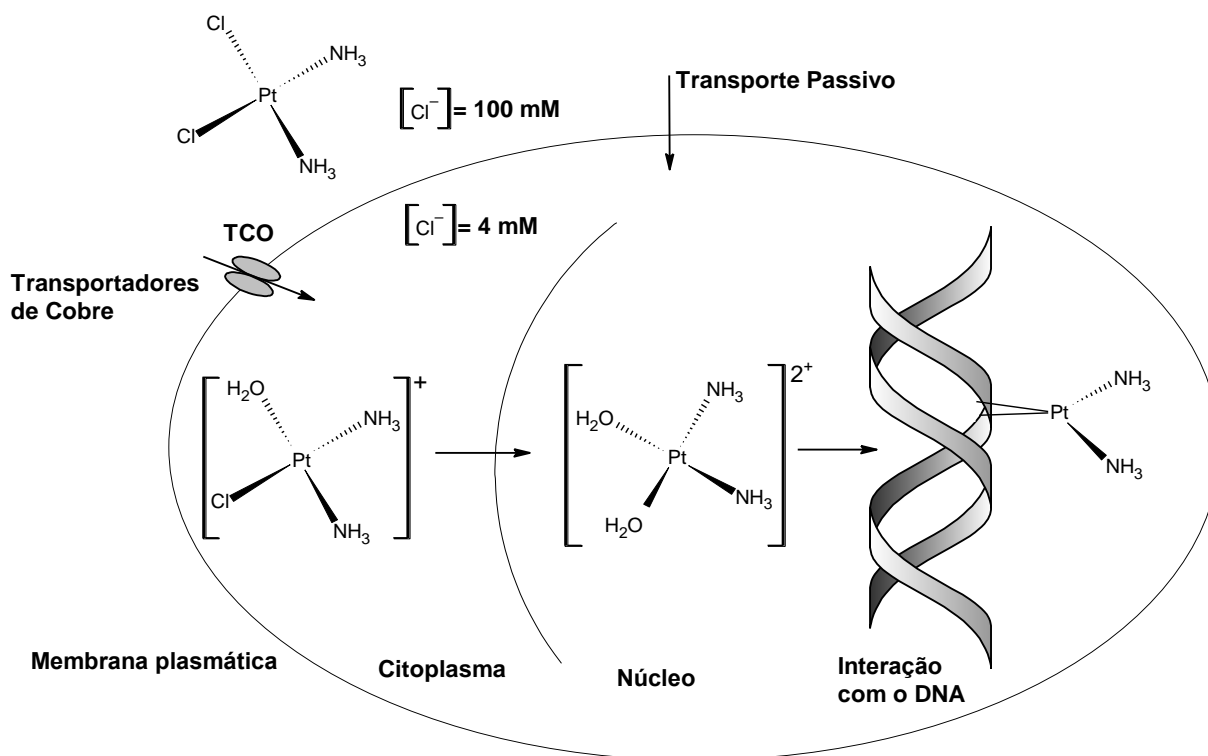
Figura 1 - Estrutura química do composto *cis*-diaminodicloroplatina(II), conhecido como cisplatina.



Fonte: Elaborado pela autora, chemsketch.

O mecanismo de ação do cisplatina baseia-se em sua interação com o DNA, processo iniciado pelas reações de hidrólises que ocorrem nas células (Figura 2). Ao entrar na corrente sanguínea a estrutura do composto não é danificada devido à presença em maior concentração de íons cloreto, entretanto, ao penetrar na célula ocorre a reação de substituição dos cloretos por moléculas de água, pois há baixa concentração de íons cloreto no meio intracelular. Desta forma, após a permeação no núcleo celular, as moléculas de água são labilizadas para a formação de ligações covalente entre a platina (II) e os átomos N-7 das bases purinas do DNA, guanina (G) ou Adenina (A), são os sítios preferenciais de coordenação da Pt^{2+} por ser mais acessíveis e nucleofílicos (MJOS & ORVIG, 2014).

Figura 2 - Esquema representativo da entrada do composto cisplatina na célula e sua posterior ligação com o DNA no núcleo.



Fonte: Elaborado pela autora, chemsketch (adaptado de NEVES, 2011).

Após entrar em testes clínicos, a cisplatina foi aprovada para o tratamento do câncer de próstata, ovário, bexiga, cervical, pulmão, dentre outros tipos de câncer. Estima-se que 70% dos pacientes com câncer utilizaram a cisplatina durante o tratamento. No entanto, sua alta eficácia é limitada por sua toxicidade e aquisição de resistência associados à sua administração, o que motiva a comunidade científica a buscar por novos metalofármacos que reduzem significativamente as reações adversas (UIVAROSI et al, 2017).

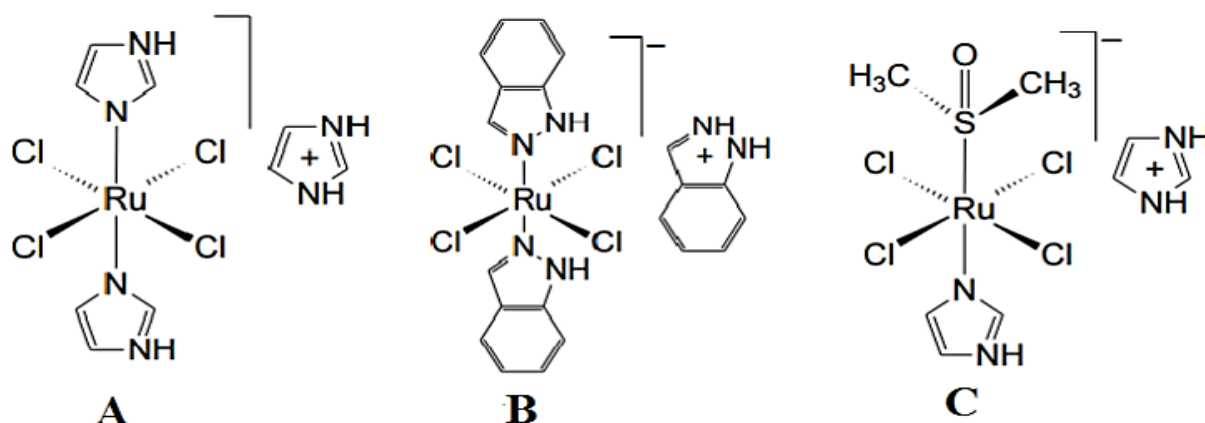
Compostos derivados de platina como a carboplatina e oxaliplatina foram aprovados pelo FDA, e outros estão sendo investigados para uma possível atuação na terapia do câncer, tais como o nedaplatina, lobaplatina e heptaplatina. Entretanto, as limitações apresentadas por estes fármacos têm impulsionado a área científica quanto ao estudo e desenvolvimento de quimioterápicos a base de outros íons metálicos, visando menor toxicidade, diferentes modos de ação e maior seletividade, tanto para os tumores primários como para os tumores secundários/metástases.

Compostos metálicos de rutênio têm demonstrado consideráveis resultados como agentes anticancerígenos (IMRAN et al, 2013).

A aplicação de espécies metálicas no âmbito medicinal, tornou-se possível através da relação de alguns mecanismos biológicos, com características farmacológicas que essas espécies possuem e que muitas vezes não são alcançáveis por moléculas orgânicas não coordenadas. Logo, a escolha do tipo de metal, o seu estado de oxidação, bem como o sistema de ligantes adicionados à sua esfera de coordenação, fornece diversas possibilidades de compostos complexados com uma gama de aplicações em meios biológicos (GONZÁLEZ et al, 2017).

Os complexos de rutênio que promoveram considerável destaque para estudos com este metal, são o NAMI-A, (Him)[RuCl₄(DMSO)(Him)], (Him=imidazol) e o KP1019, (indH)[trans-RuCl₄(ind)₂], (ind=indazol), os quais alcançaram a etapa de ensaios clínicos, apresentando atividade contra metástase, consolidando a pesquisa de metalofármacos com o metal rutênio. Ambos os compostos são derivados do complexo KP418 (Figura 3), no qual, constatou-se atividade terapêutica contra leucemia e melanoma (ALESSIO, 2017).

Figura 3 - Estruturas químicas dos compostos de rutênio: (A) KP418, (B) KP1339/KP1019 e (C) NAMI-A.



Fonte: THOMÉ, 2016.

2.3. Complexos organometálicos de rutênio na terapia do câncer

Os complexos de rutênio despertaram o interesse da comunidade científica em 1980, após Clarke M. J. e colaboradores evidenciar seus resultados de testes com complexos de rutênio, onde estes apresentaram maior seletividade frente a células cancerígenas. Desde então, as pesquisas demonstram que estes compostos também podem contornar problemas de resistência. Desta forma, têm sido estudadas as interações entre o complexo de rutênio com alguns alvos biológicos, como o DNA, RNA, albumina, transferrina e citocromo C (MOTSWAINYANA, 2015).

Portanto, o elemento rutênio é um metal de transição que confere versatilidade na escolha de ligantes, coordenação e estado de oxidação. Sendo assim, essas características possibilitam o desenvolvimento de complexos distintos, podendo ser formulado conforme o tipo de interações, alvos e mecanismos de ação, atendendo a especificidade de cada caso (PEREIRA, 2016).

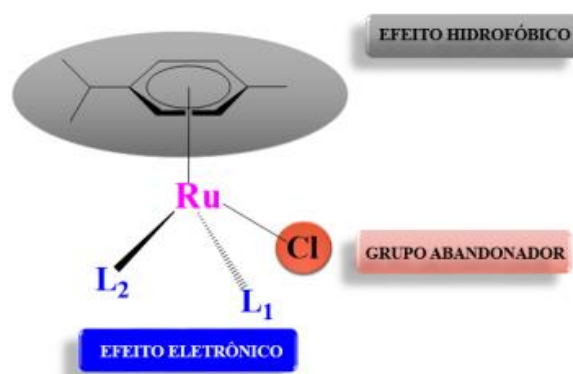
De modo geral, a química organometálica desenvolveu-se em 1950, após a elucidação estrutural do ferroceno. Desde então, os complexos onde o íon metálico se liga paralelamente a dois anéis planos receberam as termologias “sanduiche”, ou quando ligado apenas a um anel “semi-sanduiche”. Considerando os complexos Ru(II)-areno a ligação é estabelecida pela ligação σ , formada pela interação dos orbitais moleculares $p\pi$ ligantes cheios, do areno, com o orbital σ aceitador, vazio, do rutênio (CUNHA, 2018).

Em 1992, Tocher e colaboradores reportaram o primeiro estudo acerca de um metal de transição-areno com atividade citotóxica, a partir das pesquisas utilizando o antibiótico metronidazol, incorporando-o como ligante para a formação do complexo $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-benzeno(metrodonidazol)}\text{Cl}_2)]$, o qual apresentou seletividade e citotoxicidade superiores ao metrodonidazol livre (CUNHA, 2018).

Observando a estrutura geral de complexos rutênio areno, é possível verificar que o grupo *p*-cimeno confere ao metal, Ru^{2+} , maior estabilidade, em função das ligações π existentes, favorecendo as reações de substituição. As propriedades anfífilas resultantes da combinação do caráter hidrofóbico do ligante areno e o caráter hidrofílico do centro metálico (Figura 4) influenciam diretamente na interação

com biomoléculas, já que a hidrofobicidade facilita o transporte da espécie ativa até a molécula-alvo no meio celular (KUMAR et al, 2018; NIKOLIC et al, 2015; PASTUSZKO et al, 2016).

Figura 4 - Estrutura proposta do $[\text{RuCl}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{L}_1)(\text{L}_2)]$.

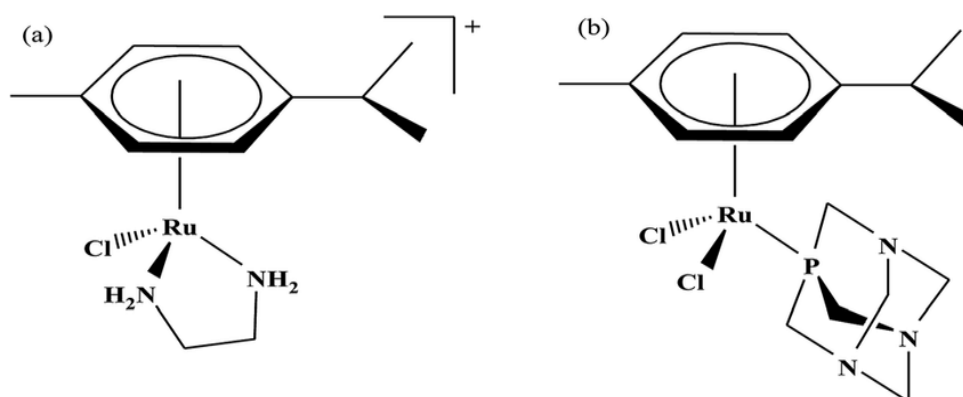


Fonte: MACÊDO, 2019.

Desta forma, a reatividade dessas espécies é conferida através da labilidade do ligante clorido. Esse efeito é causado pela característica σ -doadora e π -receptora da ligação Ru(II)-areno, onde, a retrodoação π da ligação compreende a interação de um orbital $4d^6$ do metal com o orbital $p\pi^*$, vazio, do areno (CUNHA, 2018).

Diante de tais perspectivas, o grupo de pesquisa dos professores Dyson e Sadler têm apresentado resultados promissores para os complexos organometálicos semi-sanduíches de Ru(II)-areno referentes as séries RAPTA e RAED (Figura 5). Os compostos da série RAED, $[\text{Ru}(\eta^6\text{-areno})(\text{en})\text{Cl}]^+$, apresentam em comum o ligante etilenodiamina (en), no qual, constatou-se citotoxicidade em diversos tipos de linhagens celulares que incluem cisplatina resistente. Da série RAPTA, o composto em destaque é o RAPTA-C, $([\text{RuCl}_2(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{pta})])$, sendo pta=1,3,5-triaza-7-fosfaticiclododecano), por apresentar similaridade ao NAMI-A; visto que ambos apresentam baixa citotoxicidade *in vitro*, mas são capazes de inibir metástase *in vivo*, apresentando alta seletividade (ADHIREKSAN et al, 2014; MURRAY et al, 2016).

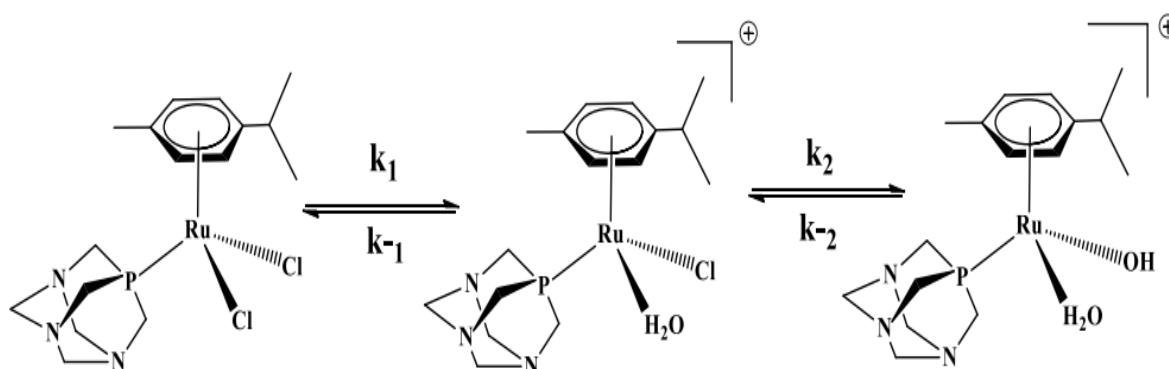
Figura 5 - Estruturas químicas dos compostos (a) RAED-C e (b) RAPTA-C.



Fonte: ZAKI, 2019.

O mecanismo de ação de complexos Ru(II)-areno ocorre, inicialmente, pela reação de hidrólise da ligação Ru-Cl, levando a formação da espécie Ru-OH₂ (Figura 6). Este processo ocorre em meio intracelular, cujo, o DNA é o alvo primário para os complexos Ru(II)-areno, sendo as ligações complexo-DNA estabelecida por ligação covalente com o átomo N7 guanina. No entanto, ligações de hidrogênio e intercalação também são características da classe destes complexos (DOUGAN & SADLER, 2014).

Figura 6 - Mecanismo de hidrólise do complexo RAPTA-C no meio intracelular.

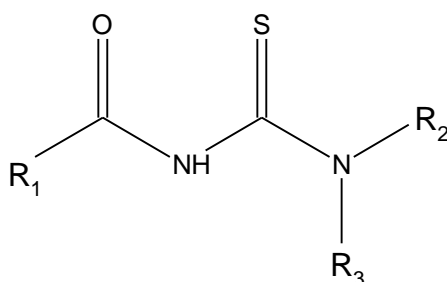


Fonte: MACÊDO, 2019.

2.4. Tiouréia e seus devidados: ligantes aciltioureias

A química de complexos de metais de transição, no que se refere à coordenação a metais, a tiouréia e seus derivados constituem uma importante classe de ligantes moleculares, por apresentarem bioatividade e natureza ambidentada, ou seja, podem se coordenar a um metal através dos átomos de nitrogênio ou enxofre. Dentre as classes derivada da tiouréia constitui-se os ligantes aciltioureias, apresentando-se em sua estrutura uma carbonila ligada ao cerne da tioureia, -C(O)NC(S)N-, desta forma, estes ligantes são conhecidos pela diversidade de compostos que podem ser formados a partir de seu substituinte (R). Conforme o número substituinte que compõe a estrutura as aciltioureias podem ser classificadas como monossubstituídas ou dissusstituídas (CUNHA et al, 2020).

Figura 7 - Estrutura básica dos compostos aciltioureias.



Fonte: Elaborado pela autora, chemsketch.

A versatilidade dos ligantes aciltioureias correspondem ao grupo de átomos presente em sua estrutura, oxigênio, nitrogênio e enxofre. Devido a característica destes átomos em doar elétrons, as aciltioureias são capazes de se coordenarem a diferentes centros metálicos em diferentes formas, tais como a neutra (monodentada via átomo de S ou N), aniônica (bidentada pelos átomos de O e S, N e S ou O e N) e bianiônica (coordenação aniônica bidentada, via átomos de O e S, e em ponte aniônica via átomo de N) (EGAN et al, 2004). Consoante a literatura, a primeira síntese da aciltioureia data a mais de um século, contudo, essa classe de compostos tem despertado o interesse da comunidade científica, visto que, tais compostos englobam uma extensa variedade de áreas destaques, como medicina e agricultura, por apresentarem atividades biológicas (SHAKEEL, 2016).

3. JUSTIFICATIVA

Os compostos organometálicos de rutênio (II) têm sido bastante explorados e empregados no desenvolvimento de novos fármacos para diversos tipos de doenças diante da potencial capacidade biológica, inclusive antitumoral. Os dois compostos de rutênio que promoveram considerável destaque para estudos com este metal, são o NAMI-A e o KP1019, os quais alcançaram a etapa de ensaios clínicos, consolidando a pesquisa de metalofármacos com o rutênio. As moléculas da classe aciltioureias são reconhecidas na literatura por sua vasta gama de aplicações que inclui a biológica. Desta forma, neste trabalho combinaremos as propriedades do composto rutênio-areno com o ligante aciltioureia, a fim de se obter um composto com possível atividade citotóxica promissora. Acreditamos que a complexação do ligante aciltioureia, que possui interesse biológico, propiciará um aumento da atividade biológica do composto sintetizado.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Este trabalho tem por finalidade combinar as propriedades do composto rutênio-areno (*p*-cimeno) com o ligante aciltioureia dissustituído, com a finalidade de se obter um composto com possível atividade citotóxica.

4.2. Objetivo específico

Para contemplar o objetivo geral será necessário:

- Sintetizar o complexo de rutênio-areno do tipo $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{PPh}_3)(\text{T})](\text{PF}_6)$, onde, PPh_3 = trifenilfosfina e T= N'N-(dibenzil)-N'-benzoiltioureia;
- Caracterizar o complexo obtido mediante as técnicas de condutância molar e de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$;
- Avaliar a citotoxicidade do complexo na linhagem tumoral de mama (MDA-MB-231).

5. METODOLOGIA

O precursor e o ligante foram sintetizados e caracterizados, como descrito previamente na literatura (CUNHA, 2020; BAROLLI et al, 2017). Avaliou-se a citotoxicidade de ambos em células tumorais de mama (MDA-MB-231), através do ensaio de MTT. Os procedimentos foram realizados na Universidade Federal de São Carlos e cedidos para o Instituto Federal Goiano – Campus Ceres para o desenvolvimento da pesquisa.

5.1. Síntese do complexo $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{PPh}_3)(\text{T})]\text{PF}_6$

Realizou-se a síntese do complexo conforme a metodologia descrita por CUNHA et al (2020), mediante a reação entre o precursor, $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{PPh}_3)\text{Cl}_2]$, dissolvido em 10 mL de metanol, com o respectivo ligante aciltiourea na proporção de 1:1. Adicionamos à solução o sal bicarbonato de sódio, NaHCO_3 . O sistema foi mantido em agitação por 2h. Adicionou-se à solução resultante excesso do contra íon Hexafluorofosfato, NH_4PF_6 , e água gelada para a precipitação do sólido. Lavou-se o sólido com água gelada sucessiva vezes e secou-o utilizando o sistema de filtração a vácuo.

5.2. Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de RMN de ^1H (400 MHz), $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ (100 MHz) e $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ (162 MHz) foram registrados a partir de análises realizadas no equipamento BRUKER 9.4 T, modelo AVANCE III. Utilizou-se solvente deuterado (acetona) para as medidas relacionadas aos experimentos de ^1H , $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, COSY, HSQC e HMBC, enquanto que para os experimentos de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ foi utilizado capilar D_2O (referência externa).

5.3. Condutância molar

As medidas de condutância foram feitas utilizando o aparelho Meter Lab, modelo CDM230. As medidas foram realizadas mediante soluções do complexo em diclorometano na concentração de 10^{-3} mol.L⁻¹. As faixas de valores foram previamente tabeladas por VELHO (2006).

5.4. Ensaio de proliferação celular

Avaliou-se a citotoxicidade do complexo em células tumorais de mama (MDA-MB-231) mediante o ensaio de MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil brometo de tetrazolium). Consoante a MOSMANN (1983), este ensaio consiste em um método colorimétrico amplamente utilizado para determinar proliferação celular e

citotoxicidade. Esta avaliação foi realizada pelo Laboratório de Estrutura e Reatividade de Compostos Inorgânicos no Instituto de Química da Universidade Federal de São Carlos.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A síntese do complexo de fórmula geral $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{PPh}_3)(\text{T})]\text{PF}_6$ foi realizada através da reação do precursor $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{PPh}_3)\text{Cl}_2]$ com o respectivo ligante aciltiourea dissubstituído em metanol, onde foi acrescentado ao meio reacional o sal bicarbonato de sódio. O NaHCO_3 é um sal que sofre hidrólise básica o que possibilita a desprotonação do ligante aciltiourea, favorecendo a coordenação bidentada do ligante aciltiourea ao centro metálico.

Inicialmente, observou-se no espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ a labilização dos ligantes cloro do precursor, no qual, consoante a Cunha (2018), os deslocamentos dos sinais do sistema reacional durante o momento inicial da reação (Figura 23) é um indicativo para a coordenação bidentada do ligante aciltiourea, um deslocamento químico esperado, visto que, esse modo de coordenação é uma característica comum dessa classe de ligantes. Em decorrência da troca de ligantes verifica-se alteração da carga do complexo, sendo neutra para o precursor e catiônica (+1) para o complexo formado. Portanto, a adição do contra-íon NH_4PF_6 permitiu a estabilização da carga do complexo sintetizado bem como facilitou o processo de precipitação do composto. Os dados de condutividade molar, ($54,1 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$), suportam essa alteração, compreendendo a faixa de eletrólitos 1:1 ($12\text{-}77 \text{ S cm}^2 \text{ mol}^{-1}$), indicando a presença do contra-íon PF_6^- na estrutura do complexo. Outra evidencia é observada no espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, onde o sinal em aproximadamente -140 ppm (Figura 25) aponta a existência do átomo de fósforo no PF_6^- .

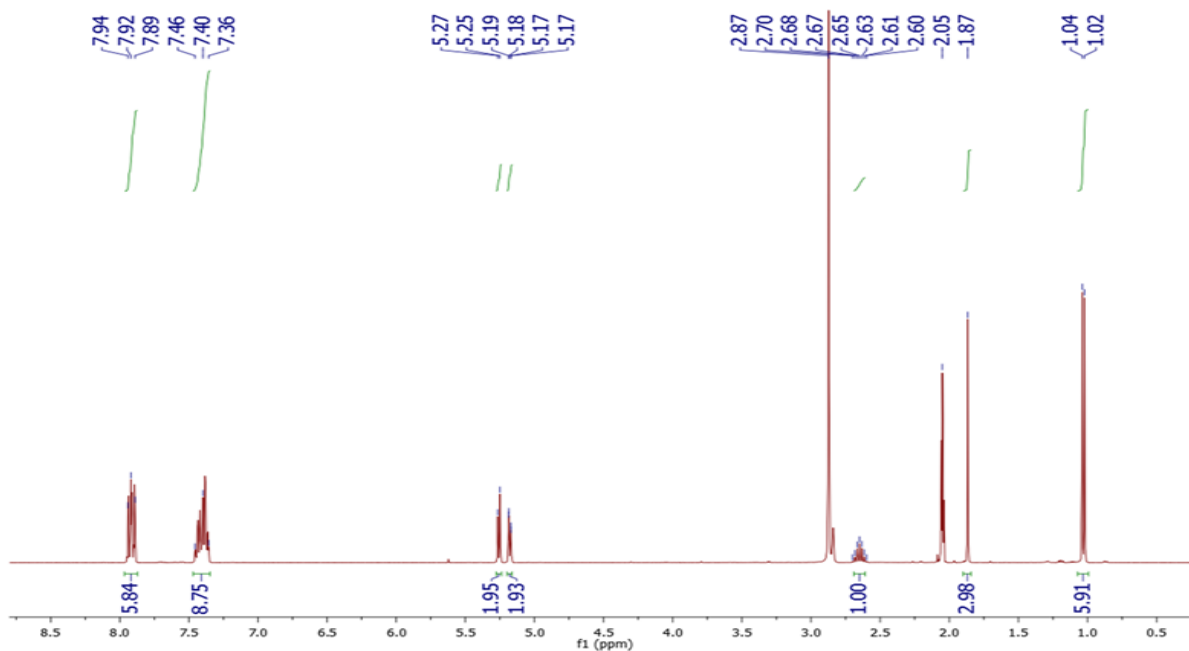
Mediante a análise de RMN dos átomos de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e ^1H do precursor e do ligante aciltiourea, atribuímos os sinais correspondentes a suas estruturas, no qual, contribuiu significativamente para as análises do composto obtido. Além disso, estas análises forneceram indicativos sobre a pureza dos reagentes de partida para a síntese do complexo de interesse.

6.1. Análise de RMN de ^1H do precursor

O espectro de RMN de H^1 do precursor apresenta sinais dos átomos de hidrogênio dos ligantes *p*-cimeno e da trifenilfosfina, conforme observado na Figura 8. Identificou-se primeiramente os sinais referentes ao solvente, um singleto em 2,05 ppm correspondente aos hidrogênios da acetona deuterada e um singleto de maior intensidade em 2,67 ppm referente aos átomos de hidrogênio da água. O hepteto em aproximadamente 2,60 ppm compreende ao átomo de hidrogênio do grupo -CH do isopropil, visto que este deslocamento químico é influenciado pela aromaticidade do anel.

O dubleto em 1,03 ppm refere-se aos hidrogênios dos grupos metilas do isopropil, por serem equivalentes são representados por apenas um sinal, com integral de 5,91, logo, conclui-se que neste ponto há 6 hidrogênios. Pressupõe-se que o singleto em 1,87 ppm correspondem aos átomos de hidrogênio do grupo metila ligado ao carbono terciário na outra extremidade do anel aromático, visto que este apresenta uma integral igual a 2,98. Os dubletos em 5,17 ppm e 5,26 ppm possuem integrais correspondente a quatro átomos de hidrogênio, posteriormente, baseando-se nas análises bidimensionais HSQC e HMBC foi possível verificar que o sinal destes duplos dubletos referem-se aos quatro hidrogênios do *p*-cimeno. Este deslocamento químico é explicado pela retrodoação estabelecida entre o rutênio e o areno, deslocando-se para regiões mais blindadas do espectro devido a densidade eletrônica. Os multipletos em 7,91 ppm e 7,40 ppm refere-se aos hidrogênios do ligante trifenilfosfina encontrando-se em uma região mais desblindada do espectro, cujo as integrais 5,94 e 8,75 correspondem a quantidade de átomos de hidrogênio nesta região. Após o estudo da técnica bidimensional HSQC, identificou-se e atribuiu corretamente os hidrogênios aromáticos a suas respectivas orientações, orto, meta e para.

Figura 8 - Espectro de RMN de ^1H do precursor.

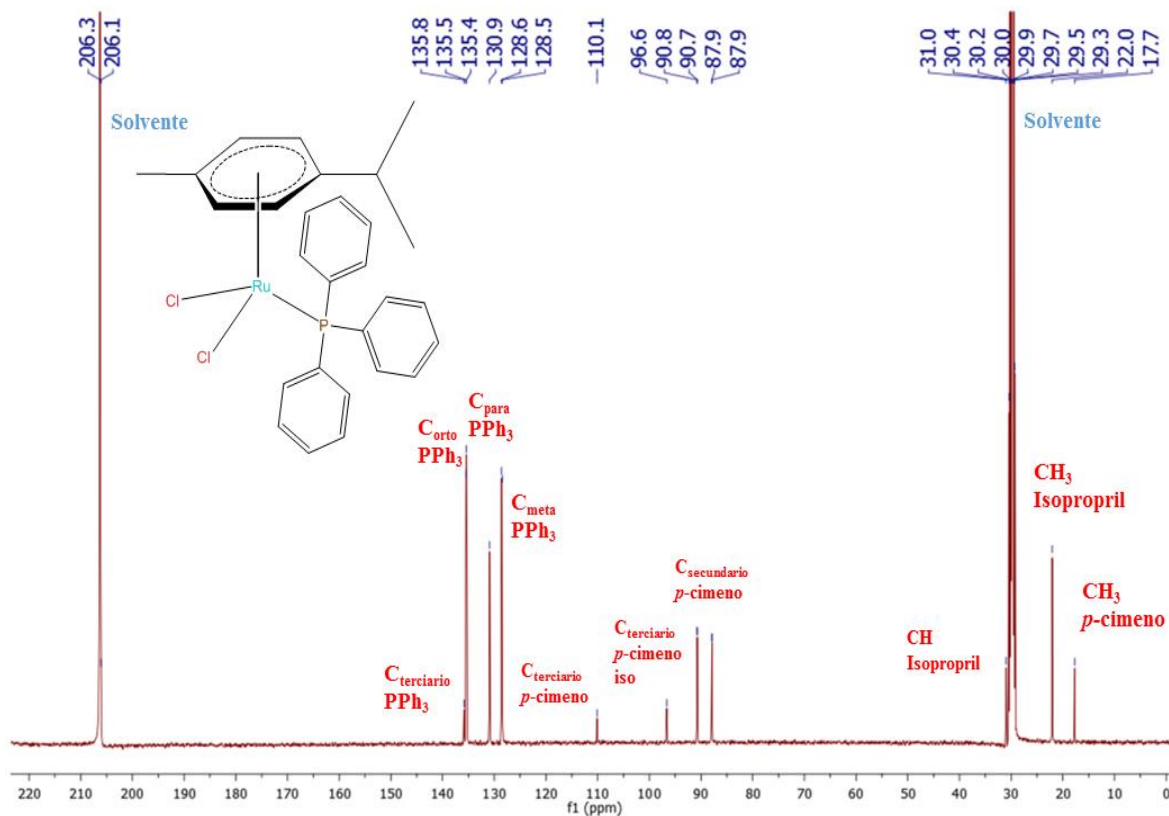


Fonte: Fonte própria, MestreNova.

6.2. Análise de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do precursor

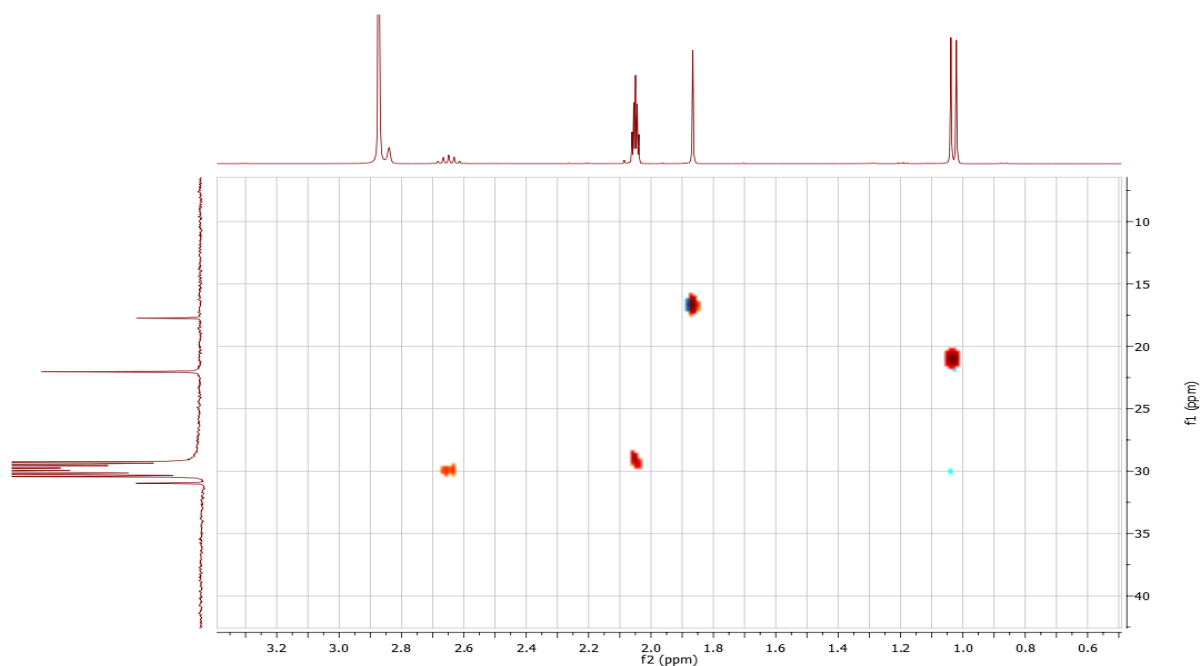
O espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do precursor apresenta sinais dos átomos de carbonos dos ligantes *p*-cimeno e da trifenilfosfina, como mostra a Figura 9. Os sinais mais blindados do espectro correspondem aos singletos em 17,7 ppm e 22,0 ppm referentes aos carbonos dos grupos metilas, no qual, o singlete de menor intensidade, 17,7 ppm, refere-se ao carbono ligado diretamente ao carbono aromático do *p*-cimeno e o sinal de maior intensidade, 22,0 ppm, representa os dois carbonos dos grupos metilas ligados ao carbono terciário do isopropil. As análises da técnica HSQC justificam as afirmações acima (Figura 10). O singlete em 31,0 ppm referente ao carbono terciário do isopropil apresenta-se por um sinal com intensidade baixa. Os sinais de maior intensidade em 30,07 ppm e 206,3 ppm correspondem aos átomos de carbono da acetona deuterada.

Figura 9 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do precursor.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

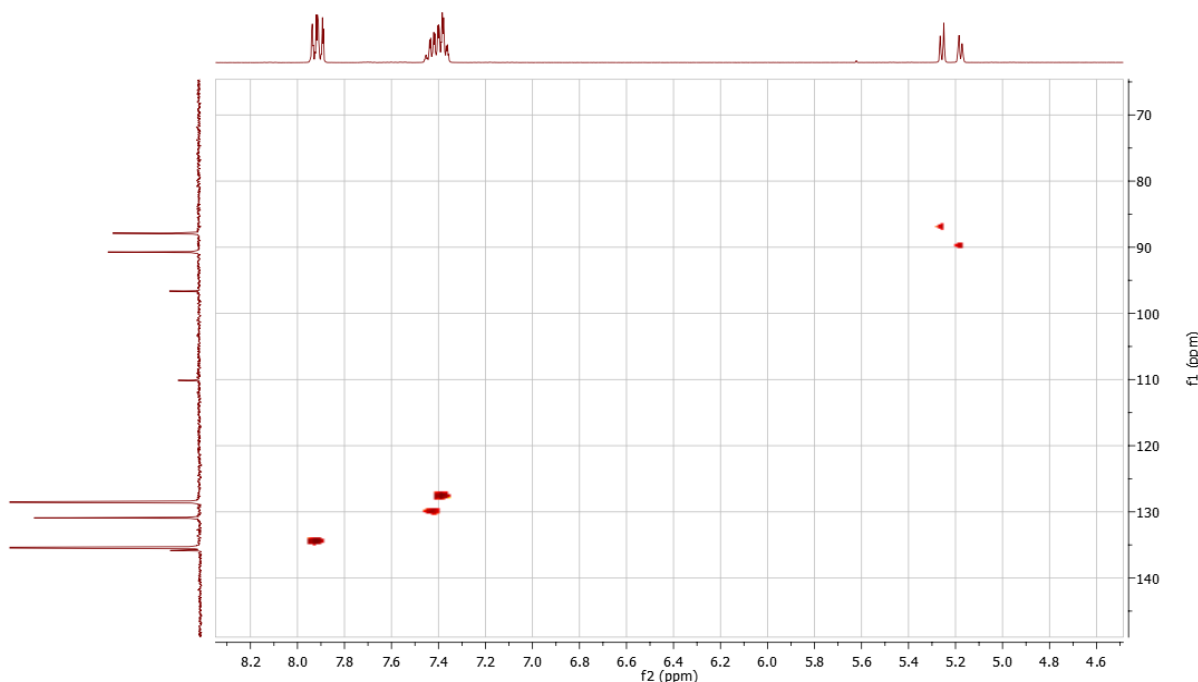
Figura 10 - Espectro RMN – HSQC ampliado, do precursor.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

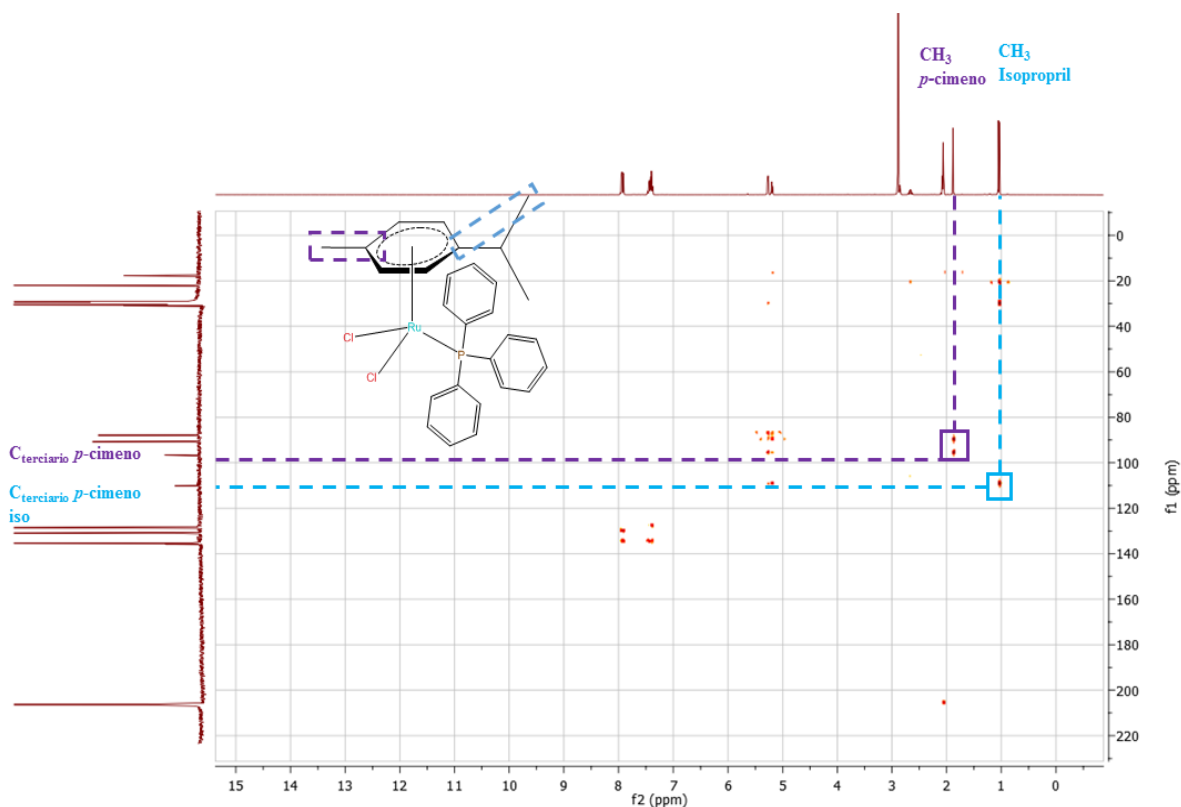
Através do estudo da técnica bidimensional HSQC, identificou-se os singletos em 90,7 ppm e 87,9 ppm, referentes aos carbonos secundários aromáticos do *p*-cimeno e os respectivos átomos de hidrogênio correspondentes, como mostra a Figura 11. Os singletos em 96,6 ppm e 110,1 ppm correspondem aos carbonos aromáticos terciários do *p*-cimeno, no qual, o carbono em 96,6 ppm está ligado a metila e o carbono em 110,1 ppm ao isopropiril. Esta identificação se fez possível mediante a técnica bidimensional HMBC, através das interações observadas entre os sinais dos átomos de hidrogênios em 1,03 ppm com o sinal em 110,1 ppm, ou seja, verificou-se interações entre os hidrogênios dos grupos metilas do isopropiril com o carbono aromático terciário do *p*-cimeno. Também foi observado interações dos hidrogênios do grupo metila em 1,87 ppm com o carbono aromático terciário do *p*-cimeno em 96,6 ppm, na outra extremidade do anel (Figura 12).

Figura 11 - Espectro RMN – HSQC ampliado, do precursor.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

Figura 12 - Espectro RMN – HMBC do precursor.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

Portanto, para uma melhor compreensão a Tabela 1 ilustra a correlação dos sinais dos hidrogênios com os respectivos carbonos do ligante *p*-cimeno do precursor a partir da análise do experimento de HSQC.

Tabela 1 - Correlação RMN – HSQC ligante *p*-cimeno do precursor.

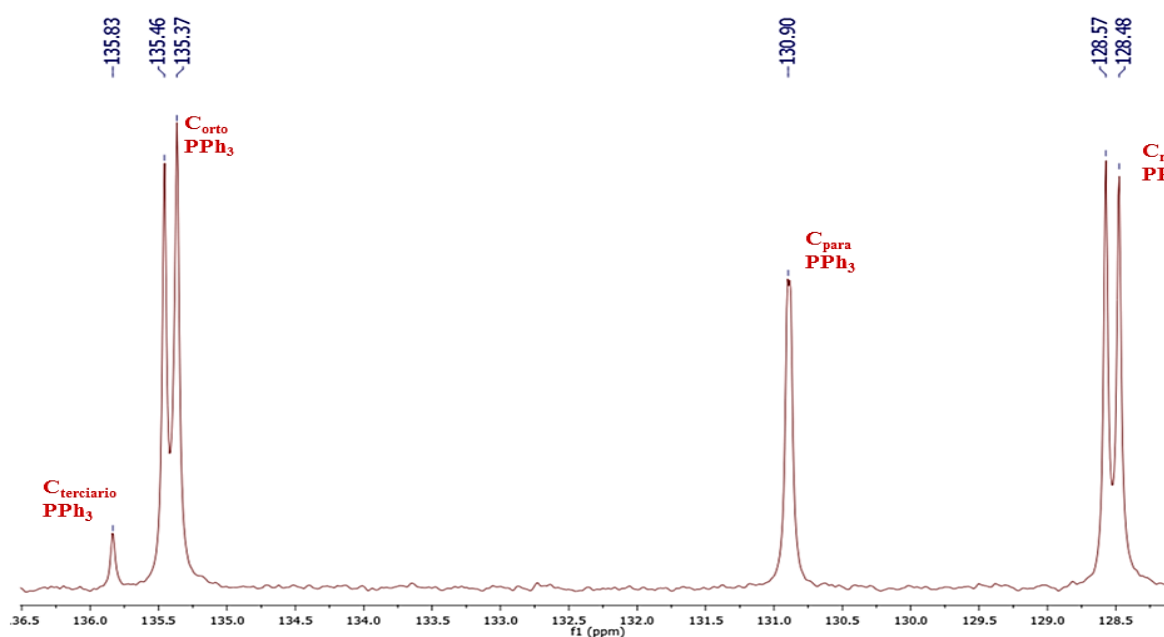
RMN - HSQC		
Grupos	¹³ C	¹ H
-CH ₃	17,7 ppm	1,87 ppm
-CH ₃ isopropiril	22,0 ppm	1,03 ppm
-CH isopropiril	30,97 ppm	2,60 ppm
-CH secundário <i>p</i> -cimeno	87,9 ppm	5,26 ppm
	90,7 ppm	5,17 ppm

Fonte: Dados da pesquisa.

Mediante o RMN – HSQC (Figura 14), identificou-se os sinais referentes aos carbonos aromáticos do ligante trifenilfosfina. Os dubletos em 128,52 ppm e 135,41 ppm correspondem aos átomos de carbonos secundários orto e meta do ligante, tal multiplicidade se deve ao acoplamento entre os átomos de carbono orto e meta do anel aromático com o átomo de fósforo. O singlete em 130,90 ppm refere-se ao carbono secundário na posição para, como este átomo de carbono está distante do átomo de fósforo, logo, este não sofre acoplamento comparado aos carbonos nas posições orto e meta. Através do RMN – HMBC (Figura 15) identificou-se os átomos de carbonos terciários representado pelo singlete de baixa intensidade em 135,83 ppm, observando-se interações deste sinal com os hidrogênios aromáticos do ligante trifenilfosfina.

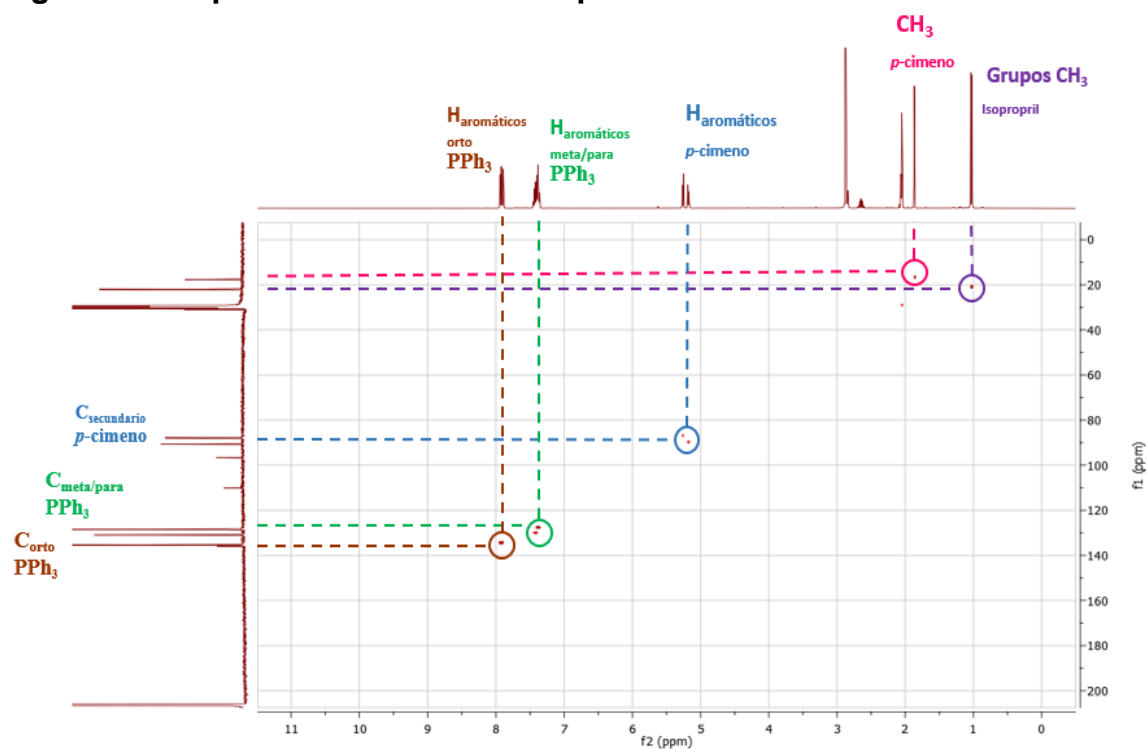
As técnicas bidimensionais HMBC e HSQC permitiu uma correta atribuição dos átomos de hidrogênios aos átomos de carbonos dos ligantes *p*-cimeno e trifenilfosfina (Figura 13), além de possibilitar identificar a posições orto, meta e para dos carbonos dos anéis aromáticos conforme descrito na Tabela 2.

Figura 13 - Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do precursor ampliado.



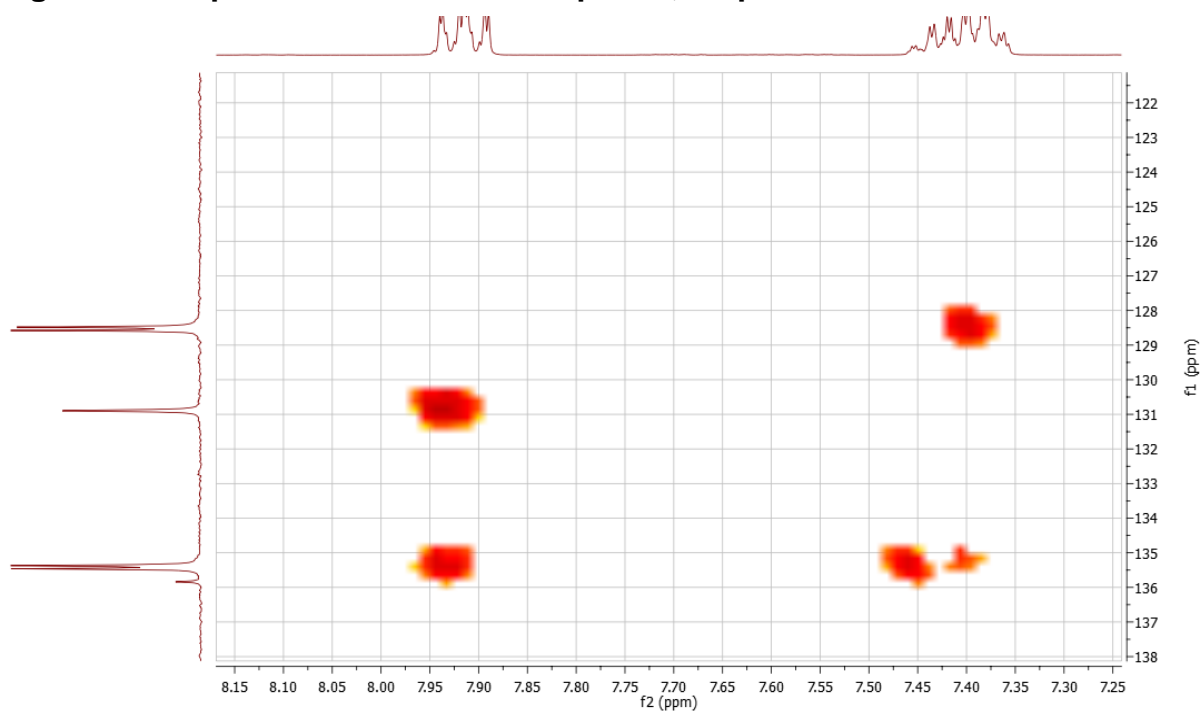
Fonte: Fonte própria, MestreNova.

Figura 14 - Espectro RMN – HSQC do precursor.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

Figura 15 - Espectro RMN – HMBC ampliado, do precursor.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

Tabela 2 - Correlação RMN– HSQC ligante trifenilfosfina do precursor.

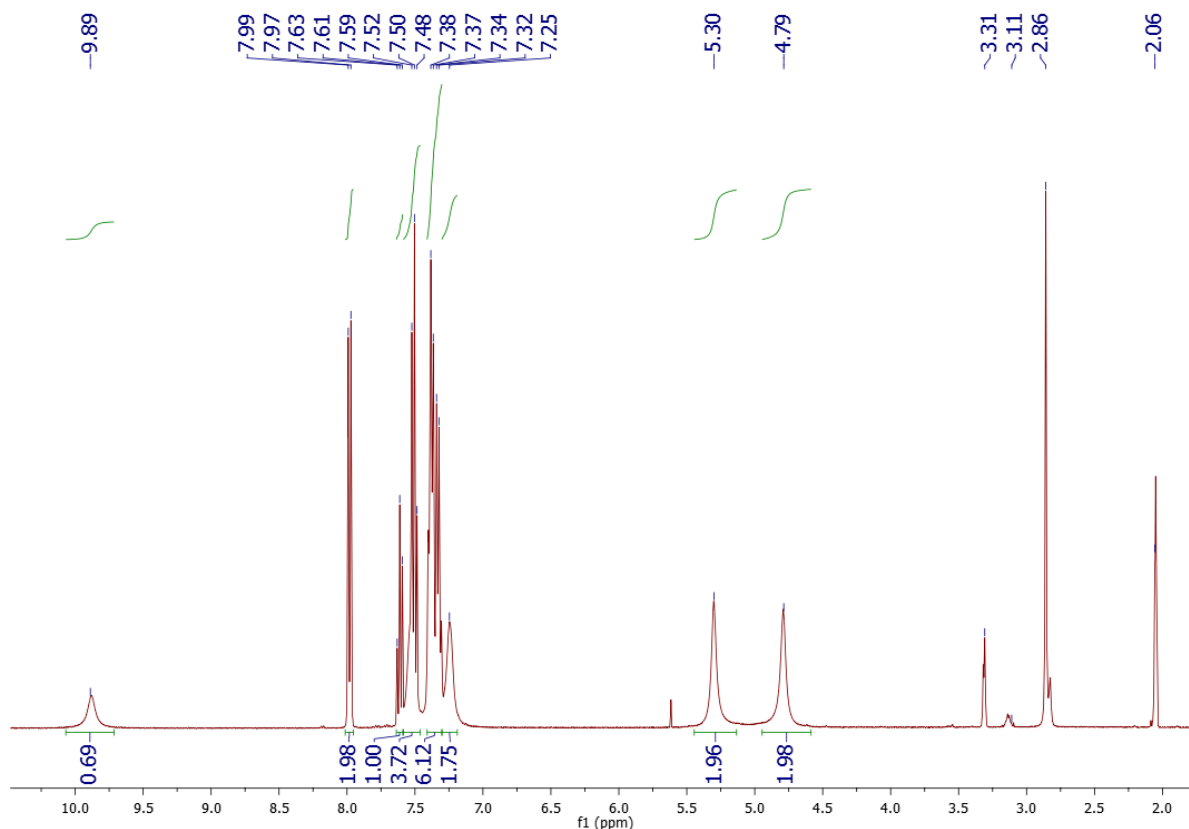
RMN – HSQC		
	¹³ C	¹ H
Orto	135,41 ppm	7,91 ppm
Meta	128,52 ppm	7,40 ppm
Para	130,90 ppm	7,40 ppm

Fonte: Dados da pesquisa.

6.3. Análise de RMN ¹H do ligante aciltiourea

O espectro de RMN de H¹ apresenta sinais dos átomos de hidrogênio do ligante aciltiourea dissustituído. Identificou-se primeiramente os sinais referentes ao solvente, um singlete em 2,05 ppm e 2,86 ppm, correspondente aos hidrogênios da acetona deuterada e água residual do solvente, sendo os singletos de menor intensidade em 3,31 ppm e 5,62 ppm referentes as impurezas do meio (Figura 16). Os singletos em 4,79 ppm e 5,30 ppm referem-se aos grupos –CH₂ ligados diretamente ao átomo de nitrogênio, sendo suas integrais de 1,98 e 1,96, indicando que nesse ponto é possível identificar 4 hidrogênios respectivamente. Os sinais em multipletos entre 7,25 ppm e 7,99 ppm correspondem aos hidrogênios dos anéis aromáticos, visto que, em sua estrutura o ligante aciltiourea possui três anéis aromáticos, sendo um ligado ao grupo carbonila e dois ligados ao nitrogênio do grupo tiocarbonila. Desta forma, pressupõe que esses sinais e suas integrais correspondem a quantidade de átomos de hidrogênio nesta região aromática, sendo verificado os sinais de 15 hidrogênios. O singlete em 9,89 ppm refere-se ao átomo de hidrogênio ligado ao nitrogênio do grupo carbonila, se encontrando em uma região mais desblindada do espectro.

Figura 16 - Espectro de RMN de ^1H do ligante aciltiourea.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

6.4. Análise bidimensional COSY (H-H) do ligante aciltiourea

A técnica bidimensional, COSY, permitiu uma correta atribuição dos átomos de hidrogênios dos anéis aromáticos do ligante aciltiourea. Os sinais em 2,05 ppm e 2,86 ppm correspondentes ao solvente deuterado e água residual, e os em 3,31 ppm e 5,62 ppm referem-se as impurezas, visto que não há interações destes sinais com regiões vizinhas. Os sinais dos átomos de hidrogênios dos grupos $-\text{CH}_2$ apresentam o mesmo deslocamento químico, entretanto, observa-se a diferenciação desses hidrogênios nos sinais em 4,79 ppm e 5,30 ppm (Figura 17), ambos com integral correspondente a 2 átomos de hidrogênios, esse comportamento se deve a livre rotação dos grupos $-\text{CH}_2$, resultando neste comportamento de diferenciação dos sinais.

Nas regiões em 7,25 ppm, 7,34 ppm e 7,50 ppm observa-se duas ilhas de acoplamento referentes aos átomos de hidrogênios dos anéis aromáticos ligados ao nitrogênio do grupo tiocarbonila. Observando-se as interações pressupõem-se que a

região em 7,25 ppm representa os 2 átomos de hidrogênios para, na região em 7,34 ppm verifica-se a presença de 6 hidrogênios, onde 4 hidrogênios são meta e 2 hidrogênios orto, acoplados aos átomos de hidrogênios do grupo $-CH_2$ em 4,79 ppm. No sinal em 7,50 ppm, a partir de sua integral observa-se que há 4 átomos de hidrogênios, cujo 2 hidrogênios orto interagem com os hidrogênios do grupo $-CH_2$ na região de 5,30 ppm, em contrapartida, os outros 2 hidrogênios deste mesmo ambiente químico, 7,50 ppm, correspondem aos hidrogênios meta do anel aromático ligado ao grupo carbolina, visto que há interações deste com os sinais referente aos hidrogênios orto, 7,98 ppm e para em 7,61 ppm.

Nas regiões em 7,50 ppm, 7,61 ppm e 7,98 ppm verifica-se a integração de duas ilhas de acoplamento dos átomos de hidrogênios do anel aromático ligado a carbonila. Como já mencionado anteriormente, dos 4 átomos de hidrogênios presente em 7,50 ppm, 2 correspondem aos hidrogênios meta. Para o sinal em 7,61 ppm é proposto que o mesmo corresponda ao hidrogênio para, visto que sua integral é igual a 1. Observa-se que o sinal em 7,98 ppm, com integral igual a 2, referem-se aos hidrogênios orto, visto que o ambiente químico que estes se encontram é mais desblindado, devido a carbonila apresentar capacidade de retirar densidade eletrônica. O sinal em 9,88 ppm, região desblindada do espectro de COSY corresponde ao átomo de hidrogênio ligado ao nitrogênio do grupo carbonila, não apresentando interação, onde sua integral refere-se a um único átomo de hidrogênio.

Para melhor compreensão e interpretação do experimento bidimensional COSY 1H , a Tabela 03 ilustra as interações e as ilhas formadas entre os átomos de hidrogênios. A partir dos acoplamentos 1H - 1H diferenciamos os hidrogênios pertencentes aos grupos CH_2 , carbonila e tiocarbonila do ligantes aciltioureia, sendo muito importante para a atribuição dos hidrogênios aromáticos as suas orientações correspondentes.

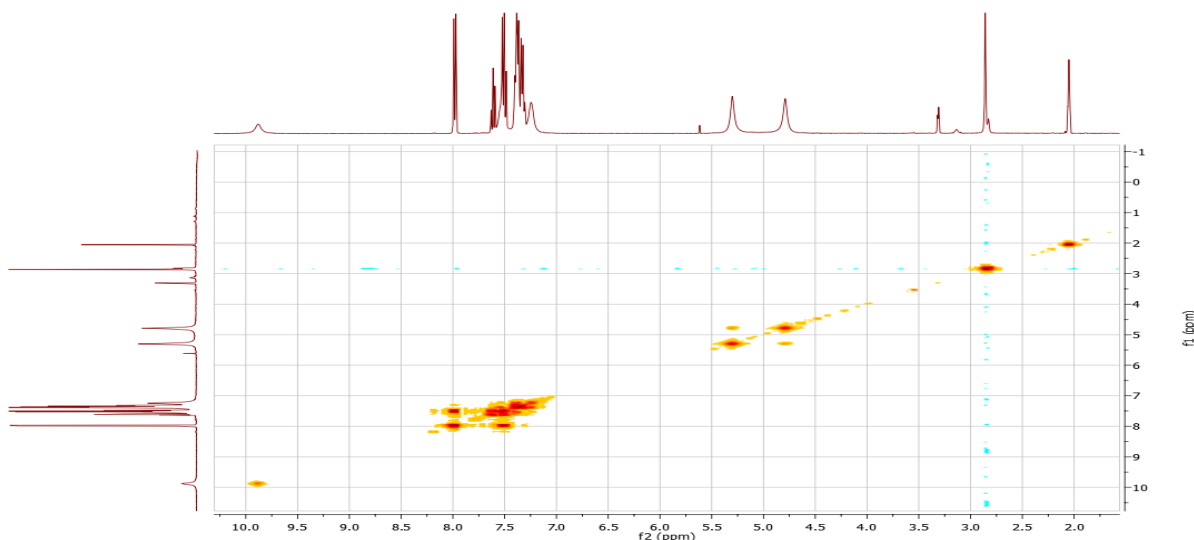
Tabela 3 - Ilustração que representa a interpretação da análise bidimensional COSY (H-H) do ligante.

	2,05	2,86	3,31	4,79	5,30	5,62	7,25	7,34	7,50	7,61	7,98	9,88
2,05	X											
2,86		X										
3,31			X									
4,79				X	X							
5,30				X	X							
5,62						X						
7,25							X	X				
7,34							X	X	X			
7,50									X	X	X	
7,61									X	X		
7,98									X		X	
9,88												X

Grupo CH₂	- - - - -	Grupo CH <u>tiocarbonila</u>	- - - - -
		- - - - -	
		Grupo CH <u>carbonila</u>	- - - - -

Fonte: Dados da pesquisa.

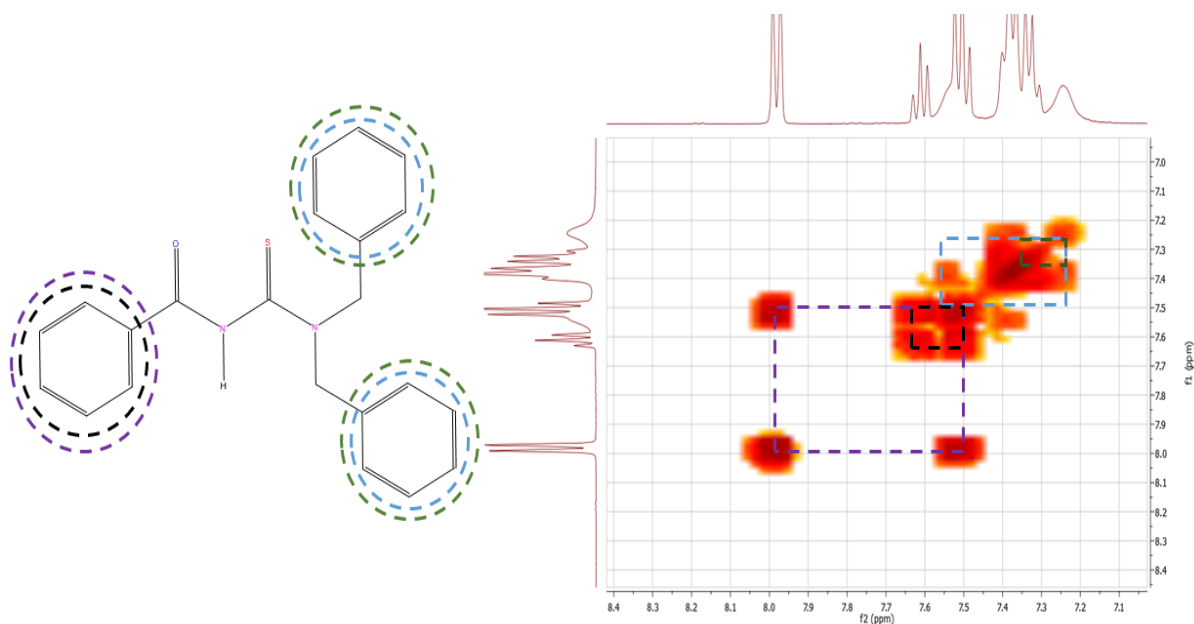
Figura 17 - Espectro COSY (H-H) ligante aciltiourea.



Fonte: Dados da pesquisa.

Portanto, na análise do espectro de COSY, observa-se a presença de 4 ilhas de acoplamento, onde, duas ilhas ilustrada pelas cores verde e azul estão sobrepostas, ou seja, as ilhas na região de 7,25 ppm a 7,50 ppm estão integradas e representam o acoplamento dos átomos de hidrogênios aromáticos do grupo tiocarbonila. As ilhas ilustradas pelas cores roxo e preto também estão sobrepostas, representando o acoplamento dos átomos de hidrogênios aromáticos do grupo carbonila, na região entre 7,50 ppm a 7,98 ppm, conforme a Figura 18.

Figura 18 - Espectro COSY (H-H) ligante aciltiourea.

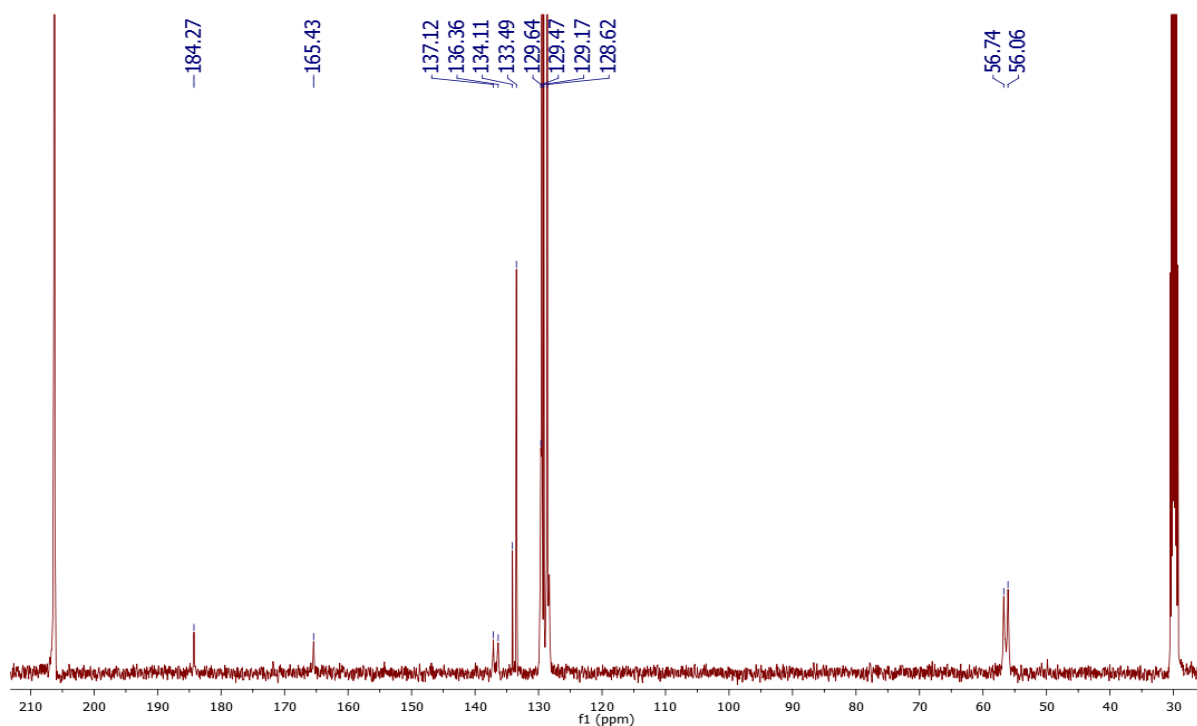


Fonte: Fonte própria, MestreNova.

6.5. Análise de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do ligante aciltiourea

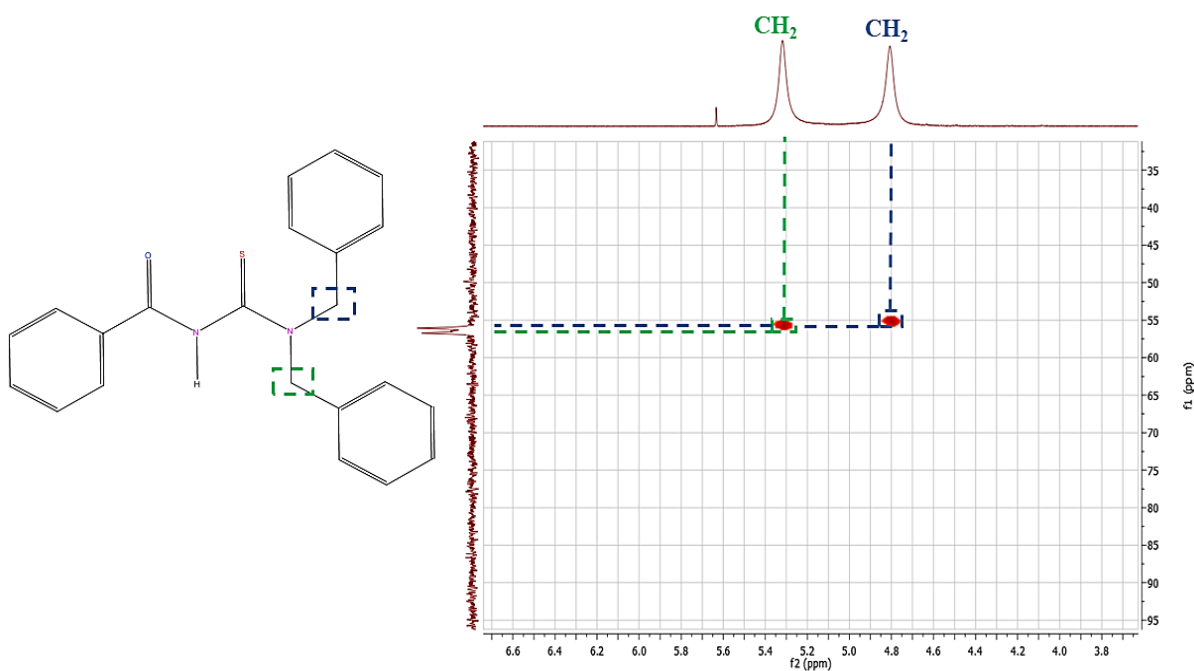
A partir do estudo do espectro de RMN de ^{13}C , identificou-se inicialmente os sinais referentes ao solvente, nas regiões em 30 ppm e 206 ppm aproximadamente. Observa-se uma sobreposição dos sinais dos carbonos do grupo $-\text{CH}_2$ em 56,06 ppm e 56,74 ppm (Figura 19), verificando-se interações destes sinais em os hidrogênios em 4,79 ppm e 5,30 ppm mediante a análise de RMN – HSQC, como evidenciado pela Figura 20.

Figura 19 - Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do ligante aciltiourea.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

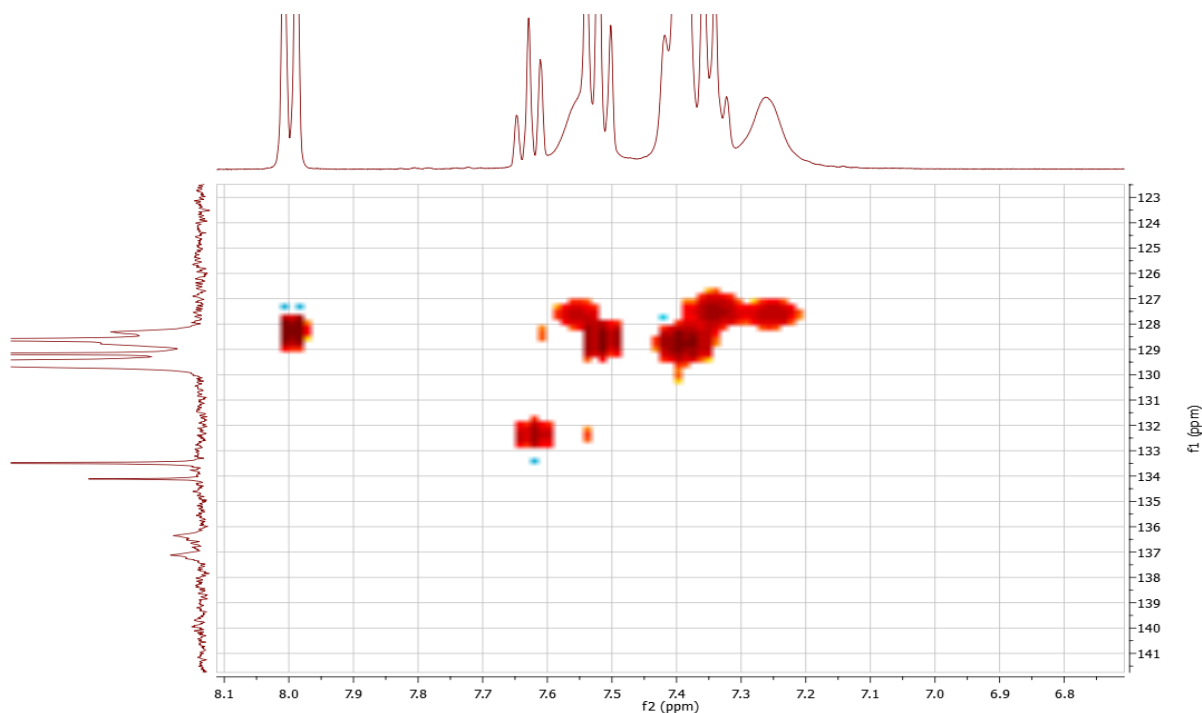
Figura 20 - Espectro RMN – HSQC ampliado, do ligante aciltiourea.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

Os multipletos nas regiões em 128,62 ppm, 129,17 ppm, 129,55 ppm e o singlete em 133,49 ppm referem-se aos carbonos aromáticos (Figura 15). Para uma correta atribuição de suas orientações orto, meta e para, utilizou-se as técnicas de RMN bidimensionais, HSQC e COSY, visto que, a análise dos espectros de RMN – HSQC possibilitou correlacionar os sinais dos hidrogênios orto, meta e para (conforme identificado pelo COSY) com seus respectivos carbonos, de acordo com a Figura 21 e Tabela 4.

Figura 21 - Espectro RMN – HSQC ampliado, do ligante aciltiourea.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

Tabela 4 - Correlação entre os ^1H e $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ da região aromática, espectro de RMN – HSQC.

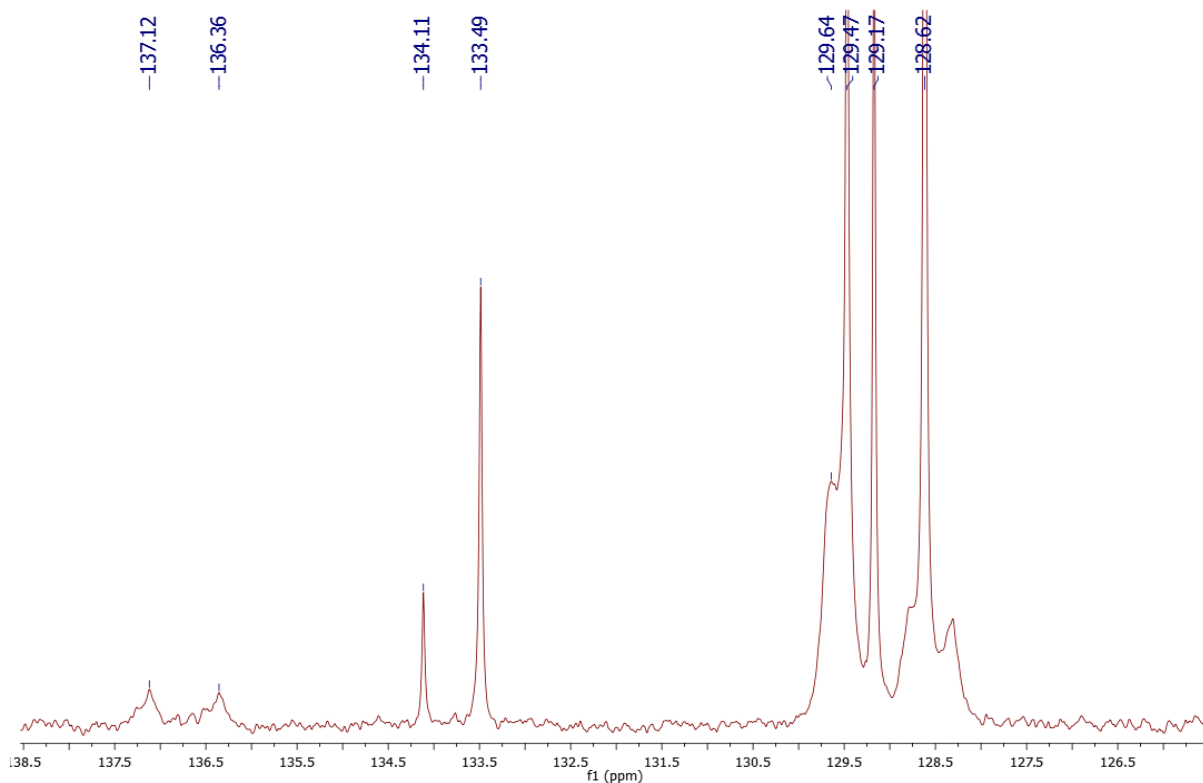
RMN - HSQC	
^1H	^{13}C
7,25 ppm 7,98 ppm	128,62 ppm
7,50 ppm	129,17 ppm
7,34 ppm	129,55 ppm
7,61 ppm	133,49 ppm

Fonte: Dados da pesquisa.

Os singletos de menor intensidade em 134,11 ppm, 136,36 ppm e 137,12 ppm, (Figura 22) pressupõe-se que sejam correspondentes aos carbonos terciários dos anéis aromáticos, pois, conforme verificado no espectro RMN – HSQC, nesta região não há interações com átomos de hidrogênio. Entretanto, apenas o estudo do

espectro bidimensional HMBC confirmaria que estes sinais correspondem aos átomos de carbonos terciários do ligante aciltiourea.

Figura 22 - Espectro RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ ampliado, do ligante aciltiourea.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

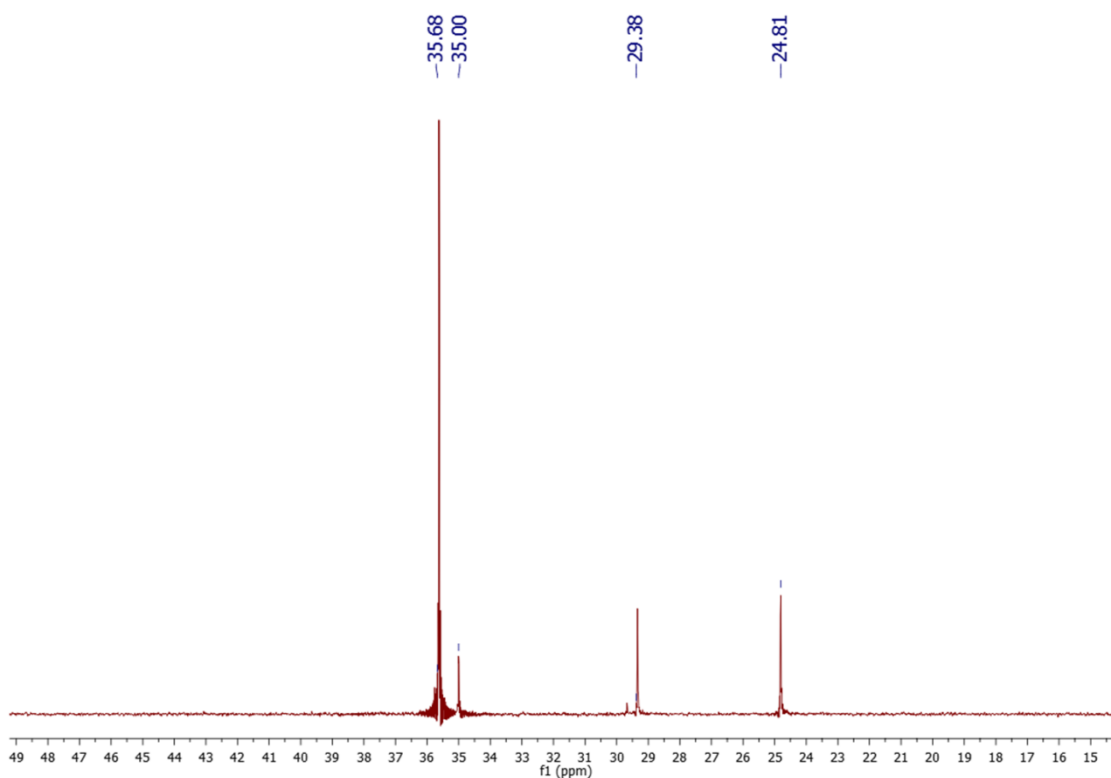
Os sinais mais desblindados do espectro RMN de ^{13}C correspondem aos átomos de carbonos C=O e C=S, em 165,43 ppm e 184,27 ppm, respectivamente (Figura 19). A análise do espectro de RMN – HSQC contribui para esta atribuição, visto que, nesta região não há interações. Este comportamento químico é esperado devido a estrutura do ligante aciltiourea, no qual o carbono do grupo C=S encontra-se ligado a dois átomos de nitrogênio, enquanto que o carbono do grupo C=O está ligado apenas a um átomo de nitrogênio.

6.6. Análise de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo

Para acompanhamento da reação de formação do composto de coordenação, fez-se a análise do espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ no momento inicial da reação (Figura 23), observando-se singletos próximos a 24,81 ppm, 29,38 ppm 35,0 ppm e 35,68

ppm; sendo o primeiro sinal referente ao átomo de fósforo do ligante trifenilfosfina do precursor que está sendo consumido durante a reação, o segundo corresponde ao átomo de fósforo da trifenilfosfina em ambiente onde há a complexação monodentada do ligante aciltioureia. O terceiro, em 35 ppm, sugere-se que seja a coordenação da água e o ligante aciltioureia na coordenação monodentada, visto que os estes possuem capacidade de se ligarem ao metal a partir de coordenações monodentada e bidentada, enquanto que a coordenação bidentada pode ser observada pelo singlete na região de 35,68 ppm, como sugerido pela literatura (Cunha, 2018).

Figura 23 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ da mistura reacional no momento inicial.

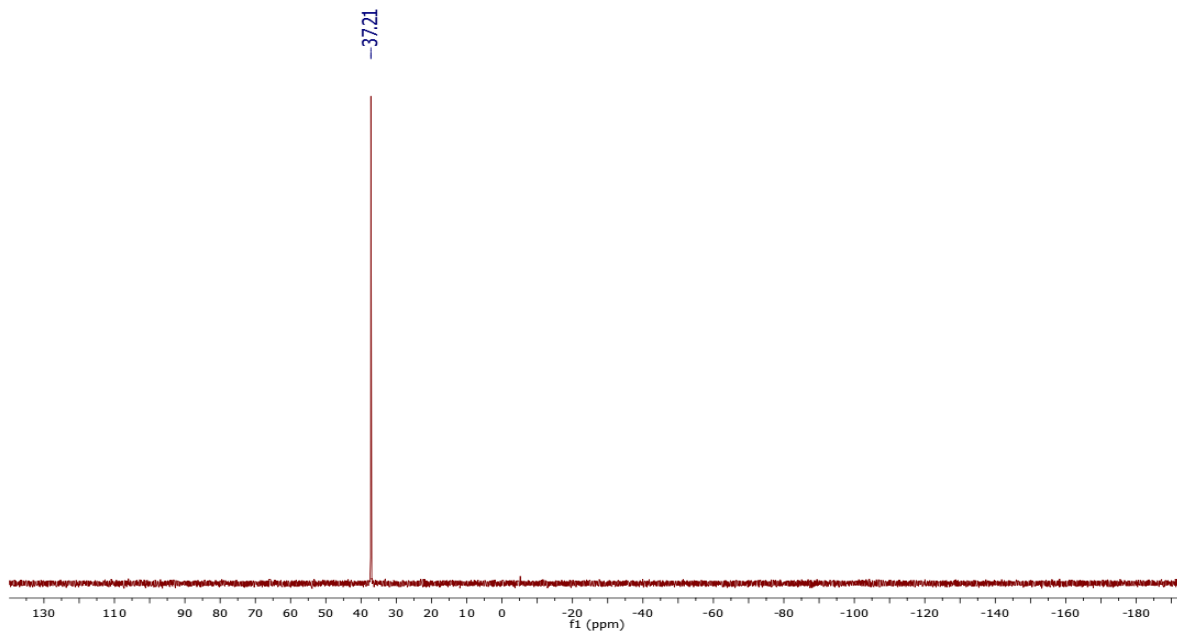


Fonte: Fonte própria, MestreNova.

Após o período de 2 horas foi detectado um singlete próximo a 37,21 ppm (Figura 24), correspondente ao átomo de fósforo do ligante trifenilfosfina do complexo bidentado catiônico. Após o período de agitação, adicionamos o contra-íon NH_4PF_6 , no qual, a atribuição da carga do complexo foi corroborada pela presença do contra-íon PF_6^- , onde, observa-se na Figura 25 um septeto em aproximadamente -140 ppm que evidencia a presença do mesmo. Portanto, a partir de tais resultados da análise

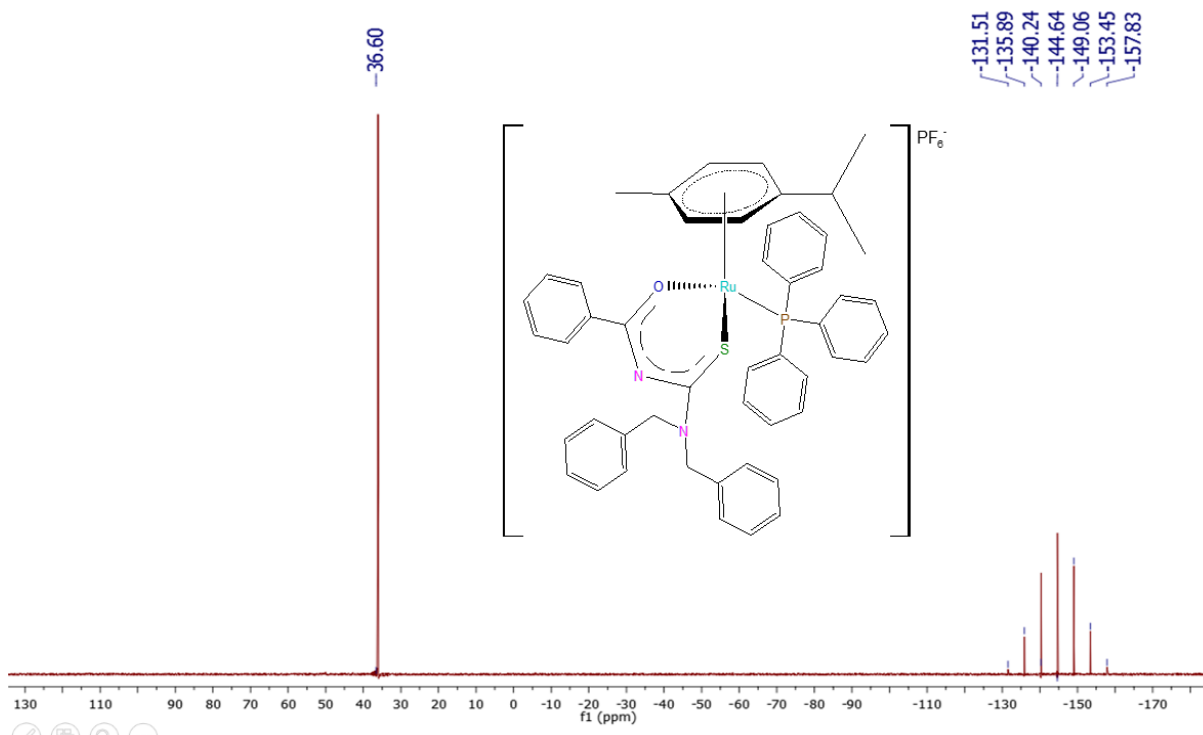
de RMN $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ em diferentes momentos da reação pode-se pressupor que o composto formado apresenta considerável pureza.

Figura 24 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ da mistura reacional após 2hrs.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

Figura 25 - Espectro de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ do complexo sólido.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

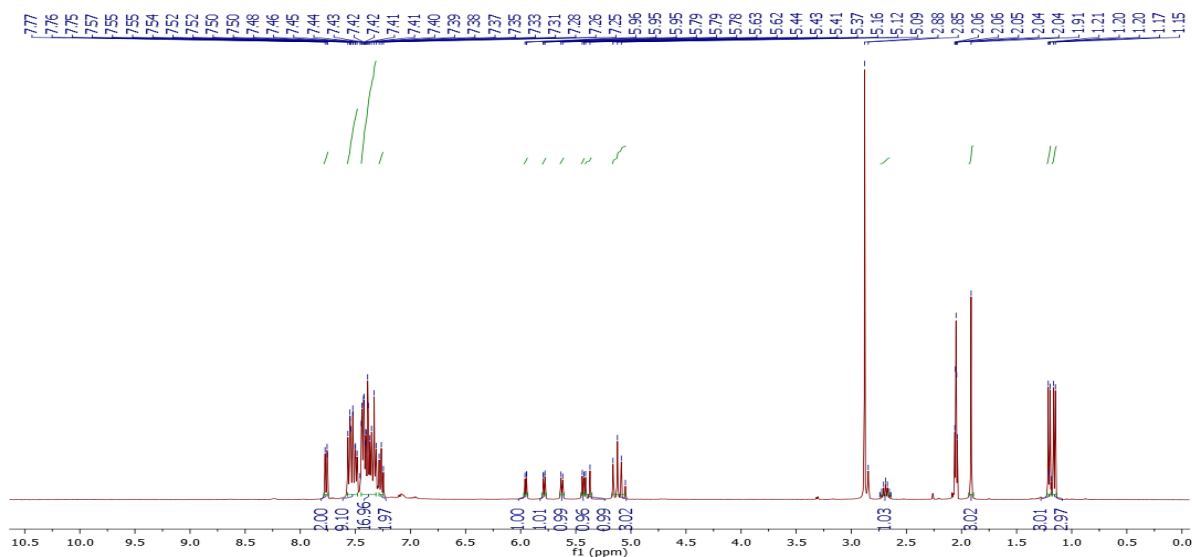
6.7. Análise de RMN ^1H do complexo

Inicialmente fez-se a análise do espectro de RMN de ^1H do complexo identificando os sinais do solvente, um sinal em aproximadamente 2,05 ppm correspondente aos hidrogênios da acetona deuterada e um singleto de maior intensidade em 2,88 ppm referente aos átomos de hidrogênio da água. O hepteto em 2,69 ppm compreende ao átomo de hidrogênio do grupo -CH do isopropil do ligante *p*-cimeno, visto que este deslocamento químico é influenciado pela aromaticidade do anel. Os dubletos em 1,16 ppm e 1,20 ppm referem-se aos hidrogênios dos grupos -CH₃ do isopropil, com integrais 3,02 e 2,96, respectivamente. O singleto em 1,91 ppm corresponde aos átomos de hidrogênios do grupo -CH₃ ligado ao carbono terciário na extremidade oposta do grupo isopropil do *p*-cimeno (Figura 26).

Apenas a análise do espectro unidimensional de RMN de ^1H não foi suficiente para a identificação dos demais átomos de hidrogênios do complexo, pois, os sinais nas regiões entre 5,11 ppm a 5,95 ppm pressupõe-se que estes referem-se aos hidrogênios dos grupos -CH₂ do ligante aciltioureia e dos grupos CH do *p*-cimeno, devido à similaridade destes sinais com os obtidos no espectro do precursor e ligante. Os multipletos observados nas regiões entre 7,26 ppm a 7,77 ppm referem-se aos hidrogênios dos anéis aromáticos presentes no composto, grupos PPh₃ e do ligante aciltioureia encontrando-se em uma região mais desblindada do espectro, cujo a soma das integrais é igual a 30, correspondendo a quantidade de átomos de hidrogênios esperada nesta região.

Observou-se que não há a presença do sinal referente ao átomo de hidrogênio do grupo NH, evidenciado na análise de RMN de ^1H do ligante aciltioureia, sendo um forte indicativo da desprotonação deste próton e conseqüentemente a coordenação aniônica do ligante aciltioureia.

Figura 26 - Espectro de RMN de ^1H do complexo.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

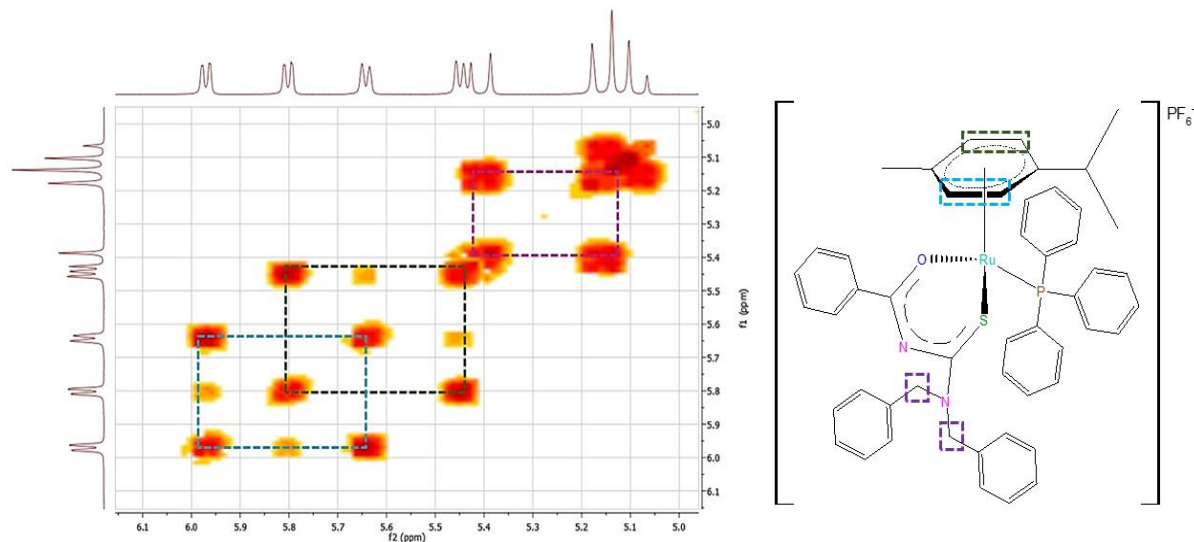
6.8. Análise bidimensional RMN – COSY (H-H) do complexo

A técnica bidimensional, COSY, permitiu uma maior confiabilidade na atribuição dos hidrogênios do composto, sendo útil em regiões de sobreposição de sinais que compreende a faixa de 5,11 ppm a 5,95 ppm e 7,26 ppm a 7,77 ppm. A Figura 27 ilustra uma ampliação do espectro de COSY ^1H na faixa 5,11 ppm a 5,95 ppm, onde a ilha de acoplamento ilustrada pela cor roxa representa as interações entre os sinais 5,11 ppm e 5,39 ppm, cujo a soma de suas integrais sendo igual a 4 hidrogênios, desta forma, constata-se que estes sinais referem-se aos átomos de hidrogênios dos grupos $-\text{CH}_2$ ligados ao nitrogênio do ligante aciltioureia.

As ilhas de acoplamento ilustradas em verde e azul (Figura 27) representam as interações dos quatro dubletos em 5,43 ppm, 5,63 ppm, 5,79 ppm e 5,95 ppm, que correspondem aos grupos CH aromáticos do *p*-cimeno, que no precursor apresentavam-se como pares de dois dubletos. De acordo com Cunha (2018), essa mudança de multiplicidade indica uma perda de simetria do anel *p*-cimeno, em decorrência da formação do centro estrogênio após coordenação do ligante aciltioureia ao metal. Desta forma, os hidrogênios do *p*-cimeno deslocam-se para regiões mais desblindadas do espectro, pelo enfraquecimento da ligação de retrodoação entre o rutênio e o areno, que ocorre em consequência da diminuição da

densidade eletrônica demandada do metal para o *p*-cimeno. A atribuição de suas orientações orto e meta fez-se possível após a análise bidimensional HSQC e HMBC.

Figura 27 - Espectro RMN - COSY (H-H) ampliado, do complexo.



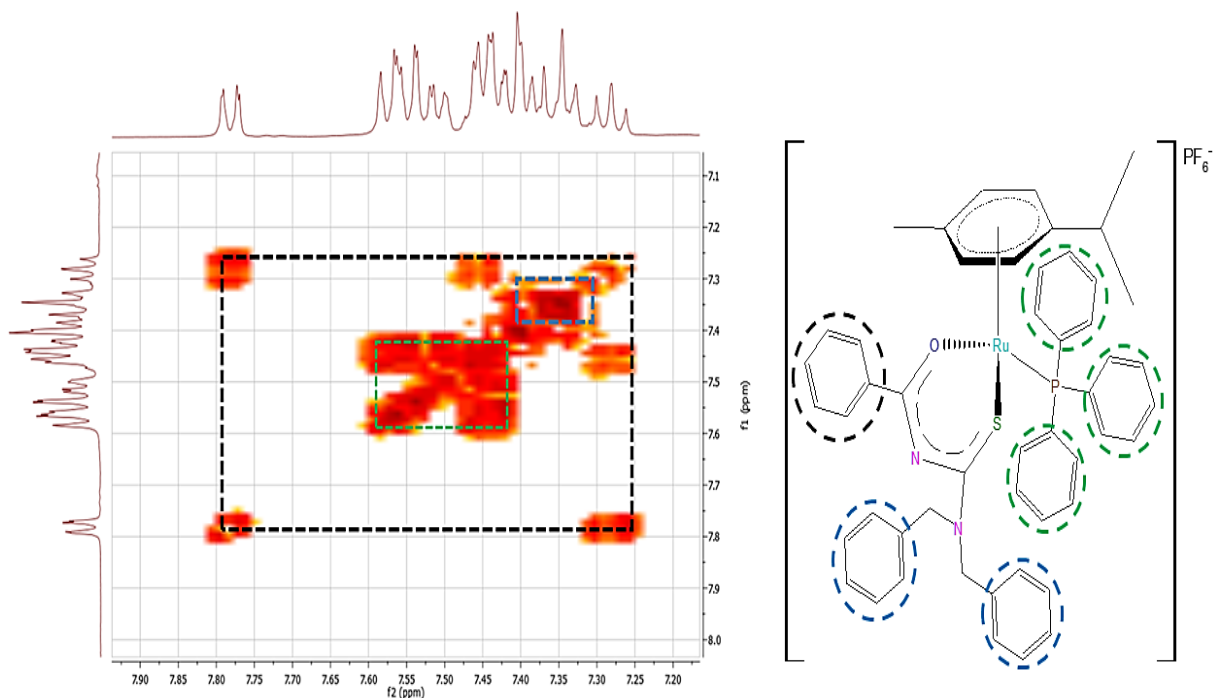
Fonte: Fonte própria, MestreNova.

A Figura 28 ilustra a ampliação do RMN – COSY na região aromática compreendendo a faixa entre 7,26 ppm a 7,77 ppm, onde observa-se a sobreposição dos sinais referentes aos ligantes trifenilfosfina e aciltiourea. Verifica-se uma ilha de acoplamento, representado pela cor verde, entre os sinais dos átomos de hidrogênios em 7,43 ppm, 7,50 ppm e 7,65 ppm, correspondente aos hidrogênios meta, para e orto da trifenilfosfina, respectivamente. Tais observações permitiram a correta atribuição dos hidrogênios a suas orientações a partir da análise da Tabela 05, no qual identificamos que o sinal em 7,43 ppm corresponde ao hidrogênio meta devido a interação com os sinais em 7,50 ppm e 7,65 ppm. O sinal em 7,50 ppm refere-se ao hidrogênio para, por haver apenas interações com o sinal em 7,43 ppm, uma característica do hidrogênio para, visto que este interage apenas com o hidrogênio meta. Portanto, o sinal em 7,65 ppm corresponde ao hidrogênio orto, pois, este interage apenas com o 7,43 ppm (H meta).

Uma outra ilha de acoplamento, indicada pela cor azul, é formada em 7,32 ppm e 7,37 ppm, constatando-se que estes hidrogênios referem-se aos anéis aromáticos ligado ao nitrogênio do grupo tiocarbonila (4 hidrogênios meta e 6 hidrogênios orto/para, respectivamente). A ilha de acoplamento evidenciada pela cor preta,

formada entre o duplete em 7,77 ppm e o multiplete em 7,43 ppm e 7,26 ppm correspondem aos átomos de hidrogênios orto, para e meta, respectivamente do anel aromático ligado ao grupo carbonila. Em geral, o estudo de outras técnicas bidimensionais, como o HSQC e HMC foram úteis para uma correta análise, de forma integrada, do COSY.

Figura 28 - Espectro RMN - COSY (H-H) ampliado, do complexo.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

Para melhor compreensão e interpretação do experimento bidimensional COSY, a Tabela 5 ilustra as interações e as ilhas formadas entre os átomos de hidrogênios. A partir dos acoplamentos ¹H-¹H diferenciamos os hidrogênios pertencentes a diferentes grupos dos ligantes do complexo, sendo muito importante para a atribuição dos hidrogênios aromáticos as suas orientações correspondentes.

Tabela 5 - Ilustração da análise bidimensional COSY (H-H) do complexo.

	3H 1,16	3H 1,20	3H 1,91	1H 2,69	3H 5,11	1H 5,39	1H 5,43	1H 5,63	1H 5,79	1H 5,95	2H 7,26	4H 7,32	6H 7,37	7H 7,43	3H 7,50	6H 7,65	2H 7,77
1,16	X			X													
1,20		X		X													
1,91			X														
2,69	X	X		X													
5,11					X	X											
5,39					X	X											
5,43							X	X									
5,63							X	X	X								
5,79							X	X	X								
5,95							X	X	X								
7,26											X	X	X	X	X	X	X
7,32											X	X					
7,37											X	X					
7,43													X	X	X		
7,50													X	X			
7,65													X	X	X		
7,77											X	X	X	X	X	X	X

Grupo CH₂ - - - - Grupo CH p-cimeno - - - -

Grupo CH carbonila - - - - Grupo CH tiocarbonila - - - - Grupo CH trifenilfosfina - - - -

Fonte: Dados da pesquisa.

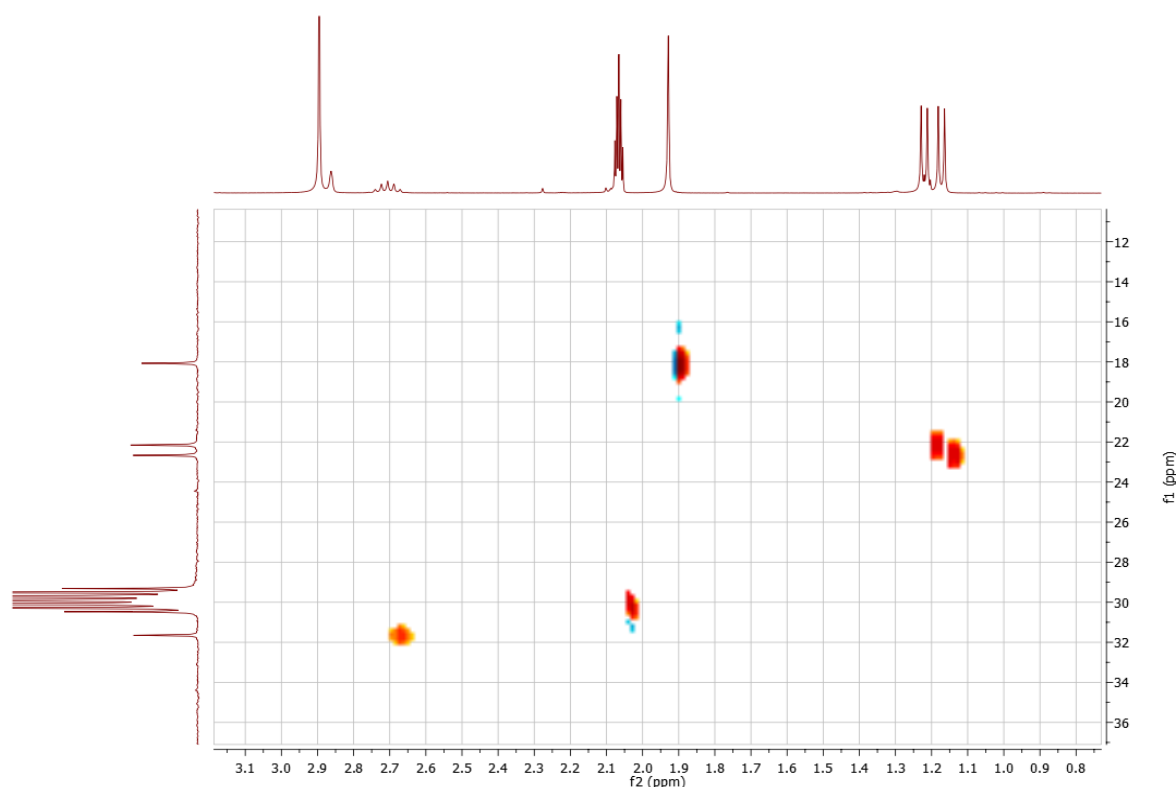
6.9. Análise de RMN ¹³C{¹H} do complexo

O espectro de RMN de ¹³C{¹H} do composto possibilitou a identificação de alguns sinais de carbonos compatíveis com a estrutura do complexo, a partir da análise do ambiente químico e intensidade dos sinais, que compreendem aos ligantes *p*-cimeno, trifenilfosfina e aciltiourea. Na região mais desblindada do espectro pressupõe-se que estejam presentes os sinais dos átomos de carbonos dos grupos carbonila e tiocarbonila.

Entretanto, a correta atribuição de todos os átomos de carbonos foi facilitada mediante a interpretação dos espectros bidimensionais HSQC e HMBC. A técnica bidimensional HSQC correlaciona o sinal acoplado do carbono com o respectivo hidrogênio ligado a ele, enquanto que o HMBC consiste na visualização de acoplamentos entre carbonos e hidrogênios a longas distâncias.

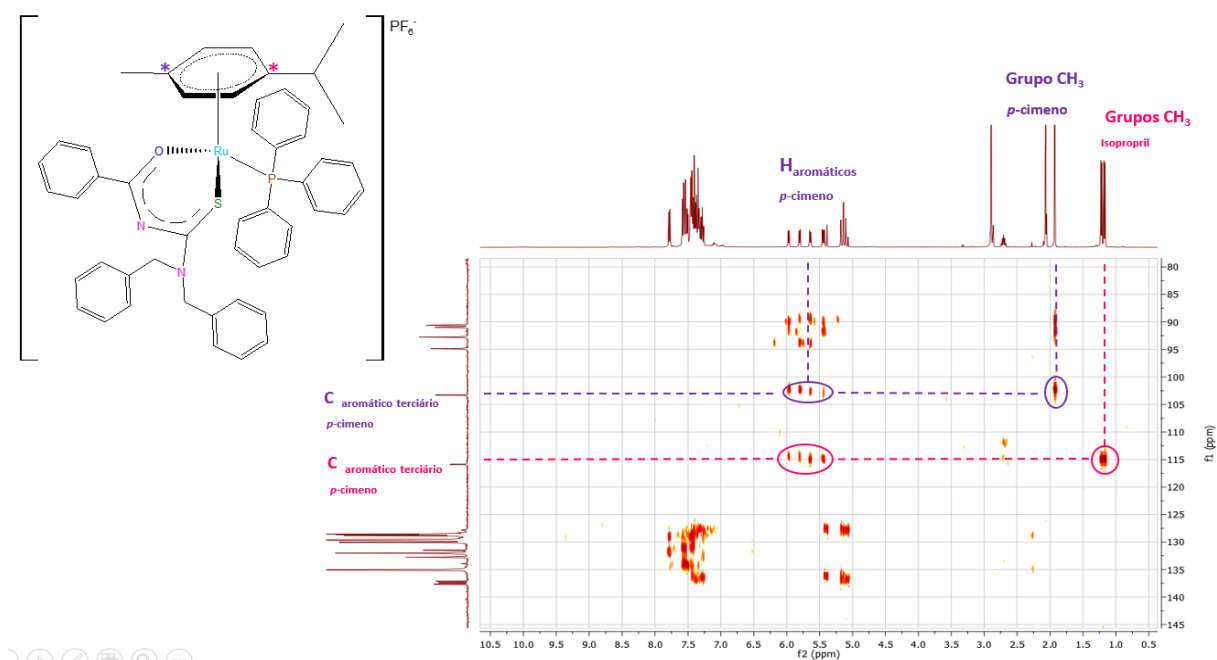
Os singletos nas regiões mais blindadas do espectro, 18,02 ppm, 22,11 ppm e 22,62 ppm, referem-se aos átomos de carbonos dos grupos $-CH_3$. Mediante a análise do experimento bidimensional HSQC correlacionou-se os sinais destes carbonos aos seus respectivos hidrogênios, 1,91 ppm, 1,20 ppm e 1,16 ppm, respectivamente (Figura 29). A partir do estudo do espectro bidimensional HMBC, identificou-se o acoplamento entre o sinal do carbono na região de 115,86 ppm com o sinal dos hidrogênios referentes aos grupos $-CH_3$ do isopropiril em 1,16 ppm e 1,20 ppm. Também observou-se interações entre os hidrogênios do grupo $-CH_3$ ligados ao *p*-cimeno em 1,91 ppm com o carbono em 103,24 ppm (Figura 30). Desta forma, constatou-se que o sinal em 115,86 ppm pertence ao carbono aromático terciário do *p*-cimeno, ligado diretamente ao isopropiril, e o sinal em 103,24 ppm refere-se ao carbono aromático terciário do *p*-cimeno na outra extremidade, pois, além de estarem acoplados com os sinais descritos acima, ambos interagem com os sinais dos hidrogênios do *p*-cimeno. Portanto, identificou-se também o carbono do grupo isopropiril ($-CH$) em 31,61 ppm mediante as interações observadas.

Figura 29 - Espectro de RMN – HSQC ampliado, do complexo.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

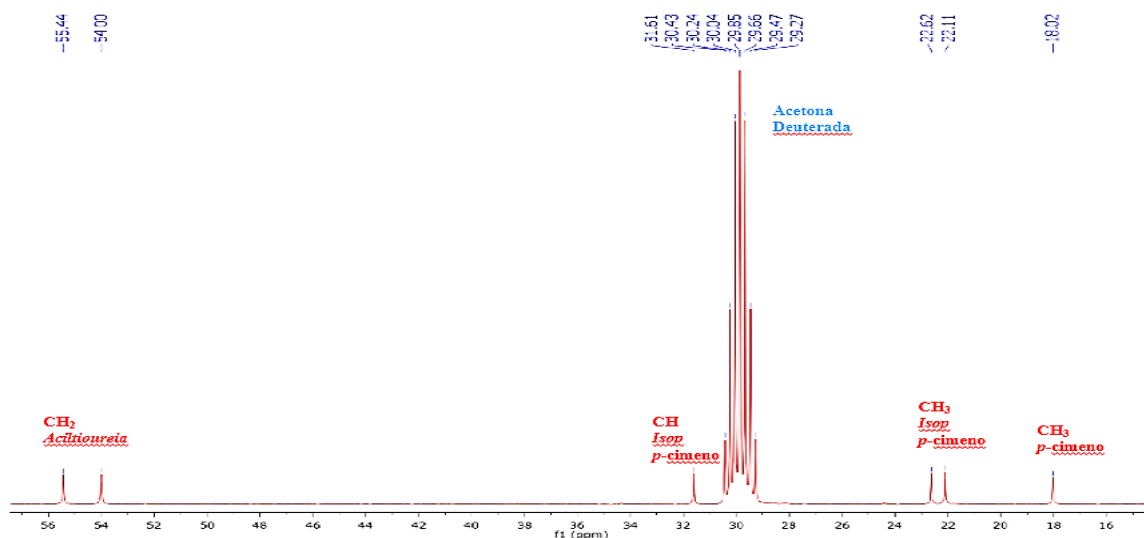
Figura 30 - Espectro RMN – HMBC ampliado, do complexo.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

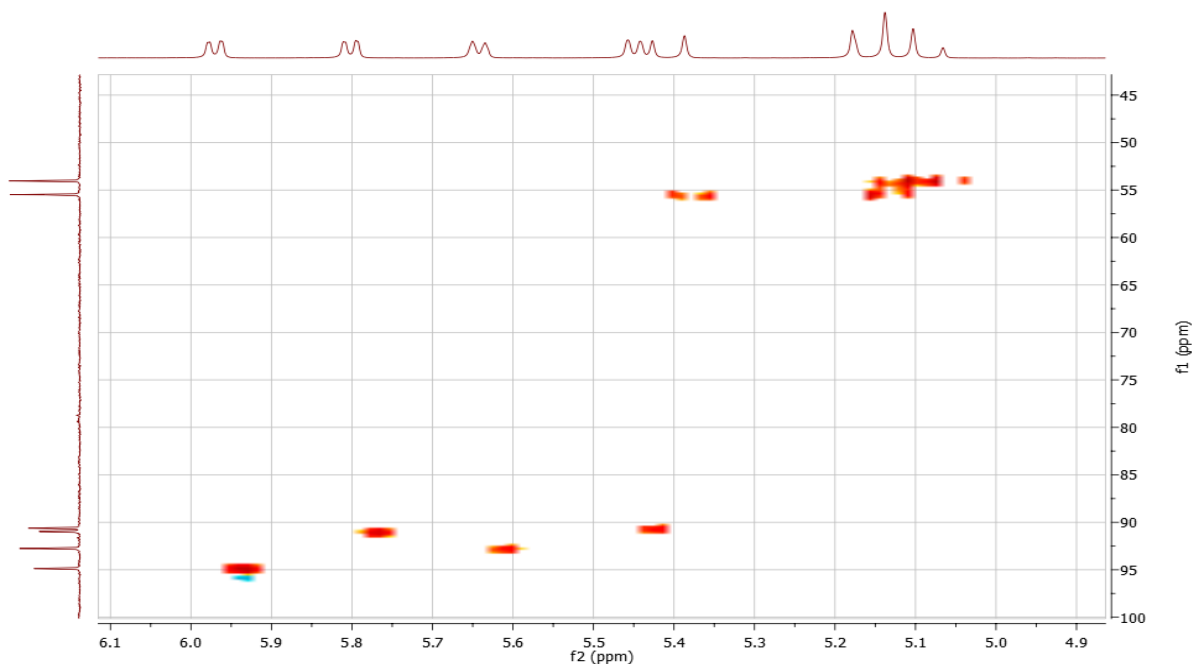
O sinal de maior intensidade no espectro, em 30 ppm aproximadamente, corresponde ao solvente. Os singletos em 54 ppm e 55,44 ppm (Figura 31) referem-se aos carbonos dos grupos –CH₂ do ligante aciltiourea, constatando-se a interação destes carbonos com os seus respectivos hidrogênios em 5,11 ppm e 5,39 ppm, respectivamente como mostra a Figura 32.

Figura 31 - Espectro RMN - ¹³C{¹H} ampliado, do complexo.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

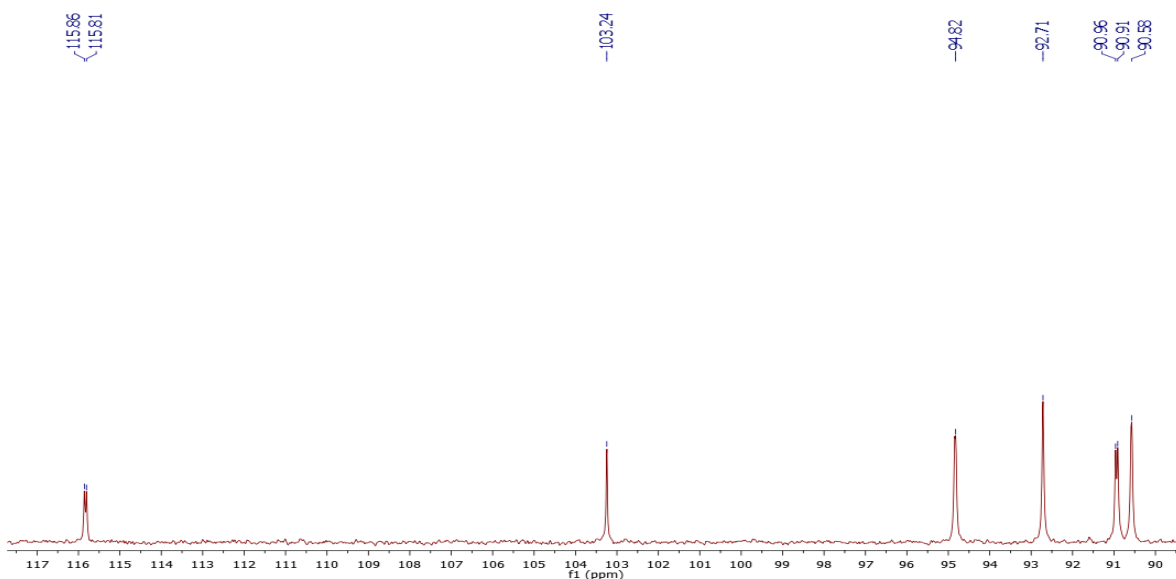
Figura 32 - Espectro RMN – HSQC ampliado, do complexo.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

Os singletos observados na região em 90,58 ppm, 90,91 ppm, 92,97 ppm e 94,82 ppm correspondem aos carbonos do *p*-cimeno (Figura 33). Conforme os dados dos espectros de RMN bidimensional HSQC (Figura 32) e HMBC (Figura 30), se fez possível a atribuição correta da orientação orto e meta destes carbonos a seus respectivos hidrogênios.

Figura 33 - Espectro de RMN ¹³C {¹H}, ampliado, do complexo.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

Portanto, para uma melhor compreensão a Tabela 06 abaixo ilustra a correlação dos sinais dos hidrogênios com os respectivos carbonos do ligante *p*-cimeno do complexo.

Tabela 6 - Correlação RMN – HSQC ligante *p*-cimeno do complexo.

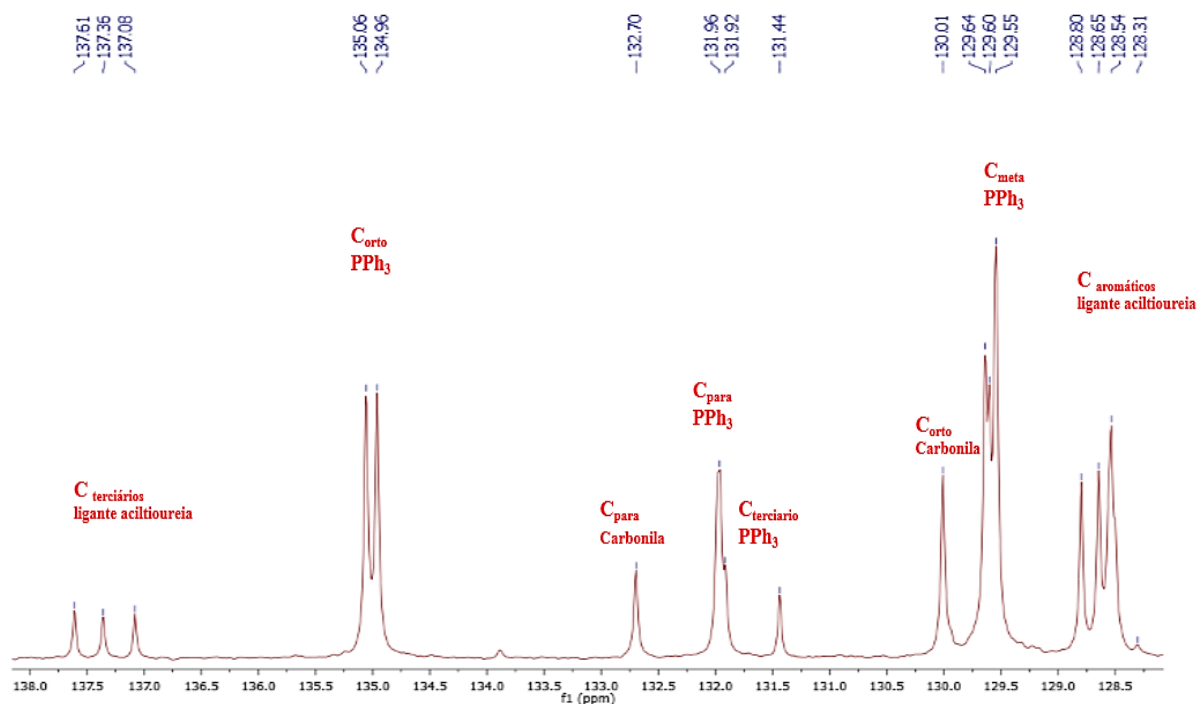
RMN - HSQC		
Grupos	¹³ C	¹ H
-CH ₃	18,02 ppm	1,91 ppm
-CH ₃ isopropil	22,11 ppm	1,20 ppm
-CH ₃ isopropil	22,62 ppm	1,16 ppm
-CH isopropil	31,61 ppm	2,69 ppm
-CH <i>p</i> -cimeno	90,58 ppm	5,43 ppm
	90,91 ppm	5,79 ppm
	92,71 ppm	5,63 ppm
	94,82 ppm	5,95 ppm

Fonte: Dados da pesquisa.

Na região em 135,01 ppm observou-se o acoplamento entre os átomos de carbonos orto com o átomo de fósforo do ligante trifenilfosfina, resultando na multiplicidade de dubletos para os sinais dos carbonos orto e meta do anel aromático do ligante. O dubleto em 129,60 ppm referem-se aos carbonos meta, diferenciamos os carbonos para através do singlete em 131,96 ppm, pois, não há acoplamento entre o átomo de fósforo e o carbono para, devido a distância dos mesmos (Figura 34). Além da multiplicidade de sinais, a análise do COSY permitiu a identificação dos hidrogênios orto, meta e para deste ligante, no qual, possibilitou a diferenciação dos carbonos orto, meta e para da trifenilfosfina a partir das análises bidimensionais HSQC (Figura 35), como ilustrado na Tabela 07. Verificou-se ainda, mediante o estudo do espectro HMBC, o acoplamento do sinal dos carbonos terciários da trifenilfosfina com o sinal

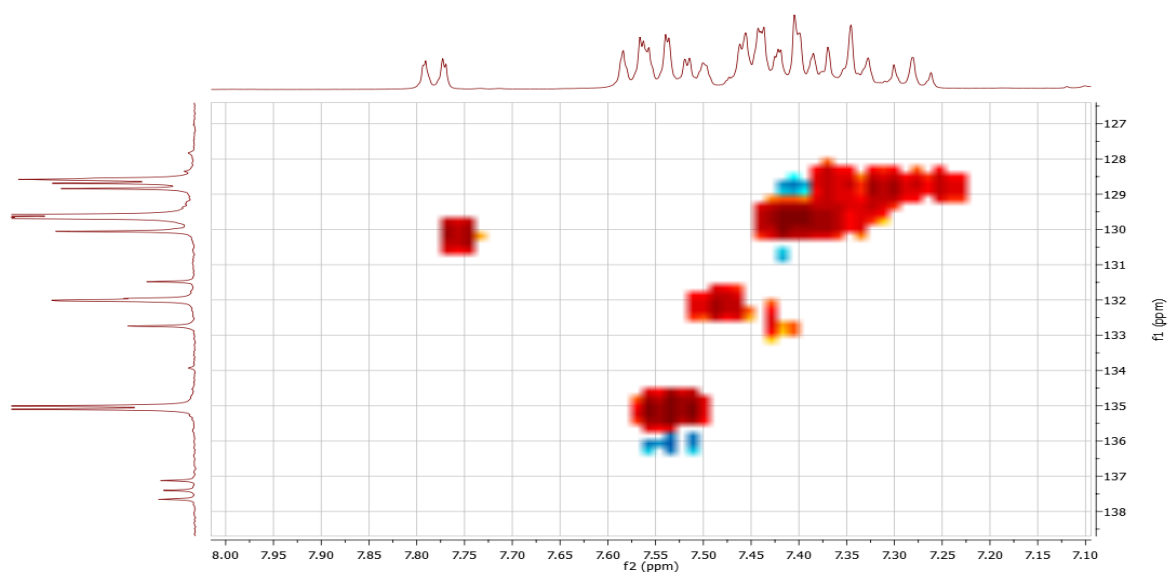
do carbono aromático para, em 131,92 ppm (parcialmente sobreposto com o sinal do C para) e 131,44 ppm, conforme a Figura 34.

Figura 34 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, ampliado, do complexo.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

Figura 35 - Espectro RMN – HSQC ampliado, do complexo.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

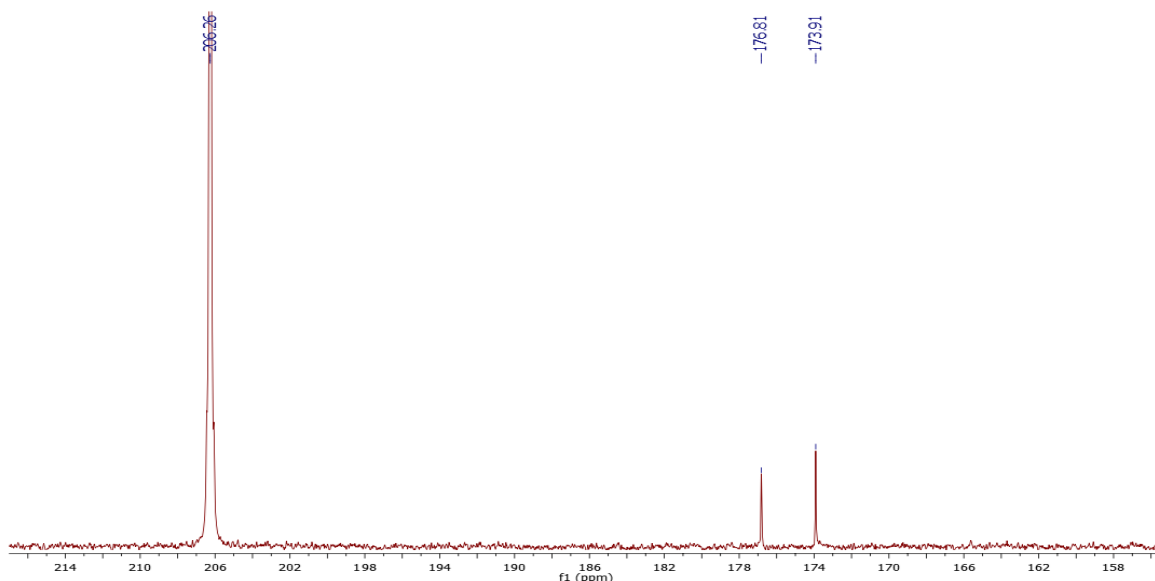
Tabela 7 - Correlação RMN– HSQC ligante trifenilfosfina do complexo.

RMN - HSQC		
	¹³ C	¹ H
Orto	135,01 ppm	7,65 ppm
Meta	129,60 ppm	7,43 ppm
Para	131,96 ppm	7,50 ppm

Fonte: Dados da pesquisa.

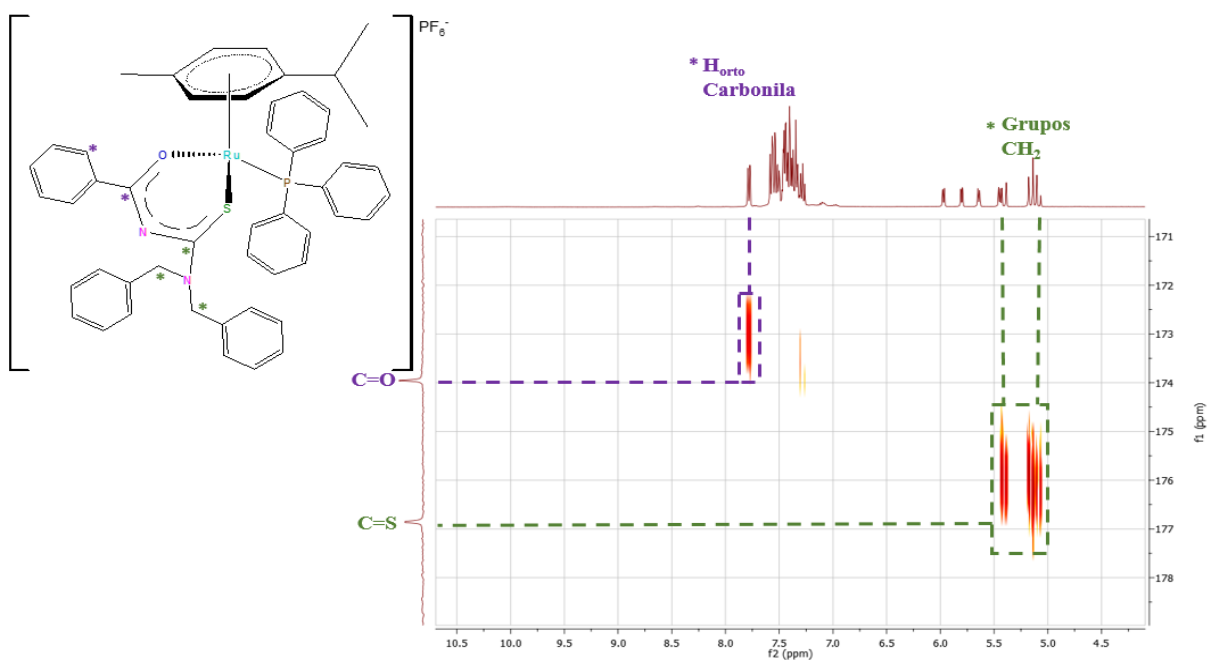
Os sinais mais desblindados do espectro RMN de ¹³C{¹H} (Figura 36) correspondem aos átomos de carbonos dos grupos C=O e C=S, em 173,91 ppm e 176,81 ppm, respectivamente. O estudo do RMN – HMBC possibilitou a atribuição destes sinais, a partir das observações das interações entre os sinais 173,91 ppm com os hidrogênios orto do anel aromático ligado a carbonila, em 7,77 ppm. O mesmo foi observado para o sinal em 176,81 ppm, verificando-se interações deste com os hidrogênios do grupo CH₂, como ilustrado pela Figura 37. Este comportamento químico é esperado, uma vez que na estrutura do ligante aciltiourea o carbono do grupo C=S encontra-se ligado a dois átomos de nitrogênio, enquanto que o carbono do grupo C=O está ligado apenas a um átomo de nitrogênio. A atribuição dos demais carbonos aromáticos do ligante aciltiourea foram baseadas nas análises do espectro de RMN-HMBC destes grupos.

Figura 36 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$, ampliado, do complexo.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

Figura 37 - Espectro RMN – HMBC ampliado, do complexo.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

A correta atribuição dos carbonos e dos hidrogênios orto do anel aromático ligado ao grupo carbonila foi possível mediante a análise do espectro HMBC (Figura 37), onde verificou-se a interação do sinal do carbono $\text{C}=\text{O}$ em 173,91 ppm com os hidrogênios orto em 7,77 ppm, desta forma, constatou-se o sinal deste carbono orto após o estudo do espectro HSQC, em 130,01 ppm. O singlete em 132,70 ppm

corresponde ao carbono para do anel aromático ligado ao grupo carbonila. Entretanto, não se fez possível a atribuição do carbono meta deste anel aromático, devido a sobreposição dos sinais, porém, pressupõe que o carbono meta esteja em aproximadamente 128 ppm, pois, de acordo com o HSQC, os multipletos neste deslocamento químico apresenta interações com os sinais dos hidrogênios meta, em 7,26 ppm (Figura 35). Para melhor compreensão e interpretação dos espectros bidimensionais desta região, a Tabela 8 exemplifica a interação observada entre os carbonos deste anel aromático com seus respectivos hidrogênios.

Tabela 8 - Correlação RMN – HSQC dos carbonos aromáticos da carbonila, ligante aciltioureia do complexo.

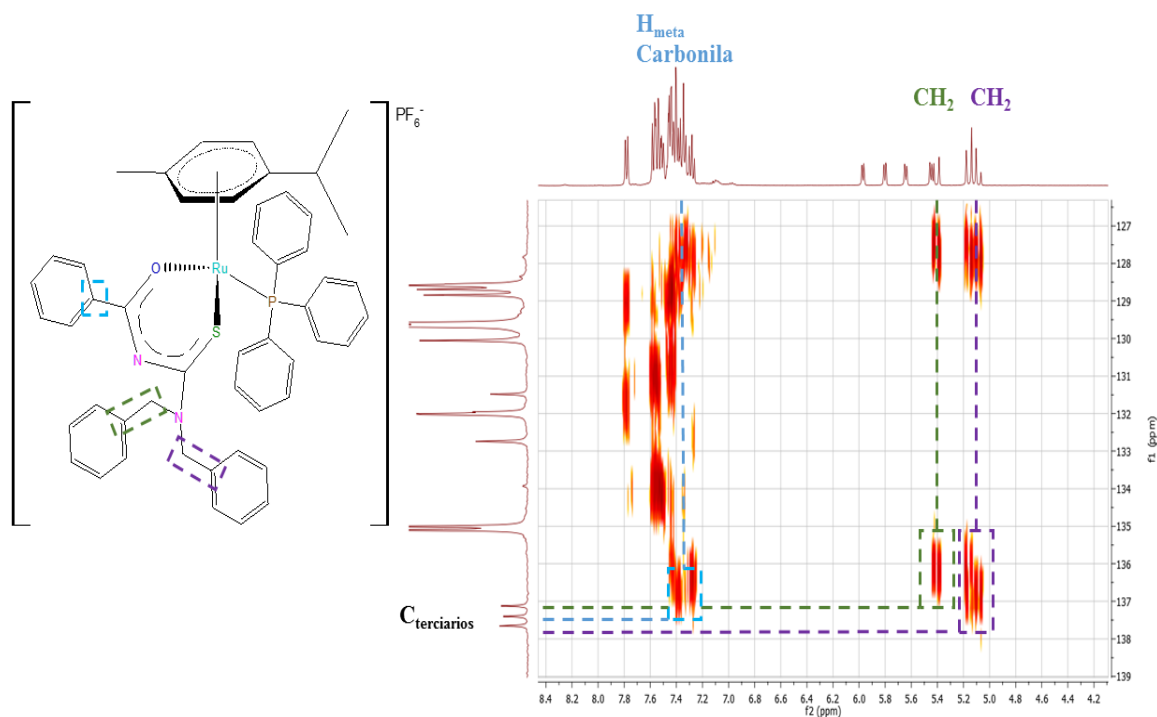
RMN - HSQC		
	¹³ C	¹ H
Orto	130,01 ppm	7,77 ppm
Meta (aproximadamente)	128,80 ppm 128,65 ppm 128,54 ppm	7,26 ppm
Para	132,07 ppm	7,43 ppm

Fonte: Dados da pesquisa.

Para os carbonos dos anéis aromáticos ligados ao N do grupo tiocarbonila não foi possível uma correta atribuição das orientações orto, meta e para, devido a sobreposição de sinais. Contudo, no tópico anterior (análise RMN – COSY) verificou-se os hidrogênios pertencentes a estas orientações, sendo assim, pressupõe-se que estes carbonos aromáticos estejam nas regiões em 128,54 ppm, 128,65 ppm e 128,80 ppm (Figuras 34 e 35).

Mediante a análise de RMN – HMBC verificou-se as interações entre os singletos dos carbonos em 137,08 ppm, 137,36 ppm e 137,61 ppm com os hidrogênios em 5,11 ppm, 5,39 ppm e 7,26 ppm, como mostra a Figura 38. Portanto, constata-se que essa região pertence aos carbonos terciários do ligante aciltioureia.

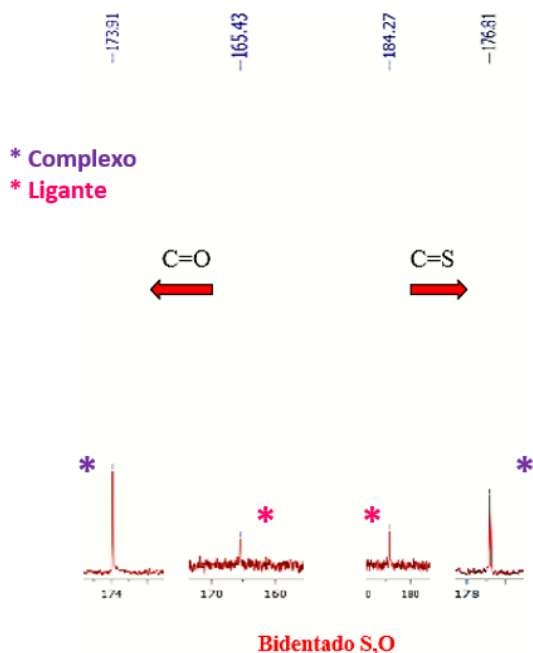
Figura 38 - Espectro RMN – HMBC ampliado, do complexo.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

Consoante a Cunha (2018), diferentes tendências em relação aos deslocamentos dos sinais de RMN de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ e ^{13}C , mais especificamente dos sinais dos carbonos dos grupos C=O e C=S, foram observadas quando comparados aos seus respectivos ligantes livres (Figura 32). Verificando-se o deslocamento dos sinais de RMN de ^{31}P $\{^1\text{H}\}$ durante a reação, observa-se que o singlete em aproximadamente 36,18 ppm é um indicativo para a coordenação bidentada do complexo, como descrito pela literatura. Em relação ao deslocamento dos sinais de RMN ^{13}C dos grupos C=O e C=S, quando comparados os sinais do ligante livre com o deslocamento destes grupos após a coordenação ao metal, observa-se que o sinal do carbono do grupo C=S deslocou-se para uma região mais blindada do espectro, enquanto que o sinal do carbono do grupo C=O deslocou-se para uma região mais desblindada do espectro, como mostra a Figura 39. Logo, essa variação é de aproximadamente 9 ppm, sendo assim, baseado nesta análise inferimos que a coordenação é bidentada via S e O.

Figura 39 - Deslocamento químico dos grupos C=O e C=S do ligante livre para o complexo formado.



Fonte: Fonte própria, MestreNova.

Portanto, esta análise é sustentada pela técnica de difração de raio-X, como evidenciado por Cunha (2018), onde, a mesma tendência é observada em seus estudos com compostos organometálicos de rutênio com ligantes aciltioureias, no qual, a coordenação do ligante aciltioureia via átomo de enxofre resulta no enfraquecimento da ligação C=S e aumento da distância da ligação. Os comprimentos das ligações N¹-C(S) e N²-C(S) apresentam discreta diminuição, enquanto que a distância da ligação N-C(O) apresentou um discreto aumento. De acordo com a literatura, este comportamento está associado com a deslocalização de carga dos átomos de nitrogênio para o grupo C=S, de forma a compensar a perda do enxofre após a coordenação ao metal. Sendo assim, como consequência da carga demanda do átomo de nitrogênio para o enxofre, o grupo C=O perde um pouco de sua densidade eletrônica. Desta forma, a técnica de RMN de ¹³C mostra-se útil na predição do modo de coordenação dos ligantes aciltioureia a diferentes centros metálicos, baseando-se apenas nos deslocamentos dos grupos C=O e C=S dos complexos em relação ao ligante livre.

6.10. Avaliação biológica do complexo: ensaio de citotoxicidade

Para avaliar o efeito citotóxico sobre a linhagem tumoral MDA-MB-231 foi empregado o método de redução do MTT. O valor de IC₅₀ é equivalente a concentração correspondente a inibição do crescimento celular em 50%, no qual, foram determinados a partir do tempo de 48 h de exposição do complexo sintetizado a células tumorais. A substância de referência utilizada como controle foi o composto cisplatina. Cunha (2018), avaliou a citotoxicidade de diversos compostos de rutênio frente a células tumorais MDA-MB-231, os quais, inclui o precursor utilizado para a obtenção do nosso complexo. Plutín (2014) em seu trabalho, avaliou a citotoxicidade do ligante aciltiourea (N'N-(dibenzil)-N'-benzoiltiourea). Neste âmbito, a Tabela 9 evidencia os valores de IC₅₀ do ligante, precursor, complexo e do cisplatina.

Tabela 9 - Valores de IC₅₀ (µM) na linhagem tumoral MDA-MB-231.

MDA-MB-231	
Ligante aciltiourea	>200
Precursor	21,63 ± 1,31
[Ru(η ⁶ - <i>p</i> -cimeno)(PPh ₃)(T)]PF ₆	2,48 ± 0,19
Cisplatina	2,44 ± 0,20

Fonte: Dados da pesquisa (Plutín, 2014; Cunha, 2018).

O complexo obtido [Ru(η⁶-*p*-cimeno)(PPh₃)(T)]PF₆, apresentou atividade antiproliferativa com valor menor de IC₅₀, quando comparado aos valores referenciais do precursor e ligante livre. Assim, a coordenação do ligante aciltiourea ao centro metálico rutênio aumentou a citotoxicidade de ambos, precursor e ligante, em consequência da formação de um novo composto com característica distinta. O fármaco de referência, cisplatina, e o nosso composto, apresentaram valores similares de IC₅₀.

De acordo com a literatura, o ligante trinefilfosfina, presente na estrutura do complexo, também exerce uma influência significativa na atividade citotóxica de complexos Ru(II)-arenos. Pois, o ligante trifenilfosfina pode interferir na lipofilicidade dos complexos, permitindo que os mesmos permeiem com maior facilidade a

membrana celular, acarretando maior acumulação do composto na célula (CUNHA,2019).

7. CONCLUSÃO

O complexo de formula geral $[\text{Ru}(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})(\text{PPh}_3)(\text{T})]\text{PF}_6$ foi sintetizado e caracterizado mediante a técnica de RMN de $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ e ^1H , no qual, utilizou-se análises bidimensionais COSY, HSQC e HMBC por possibilitar maior confiabilidade durante a atribuição de dados, além de medidas de condutividade molar.

O complexo sintetizado possui em sua estrutura os ligantes *p*-cimeno, trifenilfosfina e aciltioureia coordenados ao centro metálico rutênio. Mediante o estudo do RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do complexo podemos prever o modo de coordenação do ligante aciltioureia ao centro metálico a partir dos deslocamentos dos sinais dos carbonos dos grupos C=O e C=S. Quando comparados os sinais do ligante livre com o deslocamento destes grupos após a coordenação ao metal, observa-se que o sinal do carbono do grupo C=S deslocou-se para uma região mais blindada do espectro, enquanto que o sinal do carbono do grupo C=O deslocou-se para uma região mais desblindada do espectro. Portanto, baseando-se nesta análise inferimos que a coordenação é bidentada via S e O.

O complexo obtido é mais citotóxico quando comparado ao precursor e o respectivo ligante aciltioureia na linhagem tumoral de mama, indicando que a coordenação do ligante aciltioureia ao centro metálico rutênio favoreceu a formação de um novo composto que potencializa a atividade de ambos, ligante e precursor. No entanto, obtivemos valores similares de IC_{50} para o nosso complexo, $2,48 \mu\text{M}$, em relação ao fármaco de referência, cisplatina, $2,44 \mu\text{M}$, no qual, essa proximidade no índice de citotoxicidade evidencia a potencialidade do nosso composto. De modo geral, os dados obtidos contribuem para a pureza do complexo sintetizado, no qual, fundamentando-se tanto na parte química quanto na biológica, o composto demonstrou relevância para a aplicabilidade na área medicinal.

8. REFERÊNCIAS

ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – 4. ed. rev. atual. – Rio de Janeiro: **INCA**, 2018. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//livro-abc-4-edicao.pdf> >> acesso em 15 jan.2020.

ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – 6. ed. rev. atual. – Rio de Janeiro: **INCA**, 2020. Disponível em: << <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/livro-abc-4-edicao.pdf> >> acesso em 15 jan. 2020.

ADHIREKSAN, Z., et al. "Ligand substitutions between ruthenium-cymene compounds can control protein versus DNA targeting and anticancer activity". **Nature communications**, v.5, p.3462, 2014. Disponível em: << <https://doi.org/10.1038/ncomms4462> >> acesso em 20 Fev.2020.

ALESSIO, E. "Thirty Years of the Drug Candidate NAMI-A and the Myths in the Field of Ruthenium Anticancer Compounds: A Personal Perspective". **European Journal of Inorganic Chemistry**, p.1549, 2017. Disponível em: << <https://doi.org/10.1002/ejic.201600986> >> acesso em 15 fev.2020.

BAROLLI, J.P. et al. "Heteroleptic tris-chelate ruthenium(II) complexes of N , N -disubstituted- N '-acylthioureas: Synthesis, structural studies, cytotoxic activity and confocal microscopy studies". **Polyhedron**, p.126-33, 2017. Disponível em: << <https://doi.org/10.1016/j.poly.2017.01.002> >> acesso em 10 fev.2020.

BARRY, N.P.E.; SADLER, P.J. Exploration of the medical periodic table: Towards new targets. **Chemistry Community**, v.49, p.5106–5131, 2013. Disponível em: << <https://doi.org/10.1039/C3CC41143E> >> acesso em 10 de fev. 2020.

BRASIL. Ministerio da Saúde. Secretaria Nacional de Assistência à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Estimativas da incidência e mortalidade por câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA,2015.

CAIRO, R.R. et al. "Understanding the conformational changes and molecular structure of furoyl thioureas upon substitution". *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy* (176) p. 8-17, 2017. Disponível em: << <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.12.038> >> acesso em 14 de fev.2020.

COLINA-VEGAS, L. et al. "Ru(II)-arene acylthioureas complexes: DNA/HSA-binding, anti-migration and cell death in a triple negative breast tumor cell line". **Dalton transactions**, v.46 (38): 12865, 2017. Disponível em: << <https://doi.org/10.1039/C7DT01801K> >> acesso em 08 de fev.2020.

CUNHA, B. N. **Avaliação das Propriedades Anticâncer de Compostos Organometálicos de Ru(II) com Aciltioureas**. Tese (Doutorado em Química) - Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia, Departamento de Química Programa de Pós-graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos, São Paulo. 2018.

CUNHA, B. N; et al. Hydrolysis reaction promotes changes in coordination mode of Ru(II)/acylthiourea organometallic complexes with cytotoxicity against human lung tumor cell lines. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.186, p.147-156, 2018. Disponível em: << <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2018.06.007> >> acesso em 05 de jan.2021.

CUNHA, B. N; et al. Selective Coordination Mode of Acylthiourea Ligands in HalfSandwich Ru(II) Complexes and Their Cytotoxic Evaluation. **Inorganic Chemistry**, v.59 (7), p.5072-5085, 2020. Disponível em: << <https://pubs.acs.org/action/showCitFormats?doi=10.1021/acs.inorgchem.0c00319&ref=pdf> >> acesso em 20 jun.2020.

DOUGAN, S.J. & SADLER, P.J. The Design of Organometallic Ruthenium Arene Anticancer Agents. **CHIMIA International Journal for Chemistry**, v.61, n°11, p.704, 2014. Disponível em: << <https://doi.org/10.2533/chimia.2007.704> >> acesso em 20 Fev.2020.

FERREIRA, R.G.R; FRANCO, L.F.R. Efeitos colaterais decorrentes do tratamento quimioterápico no câncer de mama: revisão bibliográfica. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v.15, n.2, p.633-638, 2017. Disponível em: << <http://dx.doi.org/10.5892/ruvrd.v15i2.3759> >> acesso em 05.Jan.2021.

GONZÁLEZ, L.P.F; et al. **Avaliação toxico-genética de fármacos à base de platina através do cruzamento padrão do teste smart em *drosophila***. In: 3° colóquio ulbra de extensão, pesquisa e ensino. 2017. Disponível em: << <http://www.eventos.ulbra.br/index.php/eucf/eucf3/paper/viewFile/2602/1165> >> acesso em 05.Jan.2021.

IMRAN ALI, W.A.W et al. Platinum Compounds: A Hope for Future Cancer Chemotherapy. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v.13 p.296, 2013. Disponível em: << <https://doi.org/10.2174/1871520611313020016> >> acesso em 20 Fev. 2020.

KUMAR, R. R.; RAMESH, R.; MAŁECKI, J. G. Synthesis and structure of arene ruthenium(II) benzhydrazone complexes: Antiproliferative activity, apoptosis induction and cell cycle analysis. **Journal of Organometallic Chemistry**, v.862, p.95-104, 2018. Disponível em: << <https://doi.org/10.1016/j.jorgchem.2018.03.013> >> acesso em 10 mar.2020.

MACÊDO, R. R. **Síntese, caracterização, estrutura eletrônica e atividade leishmanicida de complexos organometálicos de rutênio (II) contendo b-dicetonas**. Dissertação de mestrado- Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, 2019.

MARTINS, T. M. **Síntese e caracterização de ligantes orgânicos e complexos metálicos com potencial farmacológico**. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Goiás. 2017.

MJOS, K.D. & ORVIG, C. "Metallo drugs in medicinal inorganic chemistry". **Chemical reviews**, 114 (8), p.4540, 2014. Disponível em: << <https://doi.org/10.1021/cr400460s> >> acesso em 08 Fev.2020.

MOTSWAINYANA, W. M; AJIBADE, P. A. "Anticancer activities of mononuclear ruthenium(II) coordination complexes". **Hindawi Publ. Corp**, p. 1-21, 2015. Disponível em: << <http://dx.doi.org/10.1155/2015/859730> >> acesso em 07 de fev.2020.

MURRAY, B.S. et al. "The development of RAPTA compounds for the treatment of tumors". **Coordination Chemistry Reviews**, p. 306-86, 2016. Disponível em: << <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2015.06.014> >> acesso em 05 de fev.2020.

NIKOLIĆ, S. et al. Strong in Vitro Cytotoxic Potential of New ruthenium–Cymene Complexes. **Organometallics**, v.34, p.3464–3473, 2015. Disponível em: << <https://doi.org/10.1021/acs.organomet.5b00041> >> acesso em 20 mar.2020.

PAIVA, D L. et al. **Introdução a espectroscopia**. São Paulo:Cegage Learning, ed 4^o. p.169-278, 2013.

PASTUSZKO, A. et al. The synthesis, lipophilicity and cytotoxic effects of new ruthenium(II) arene complexes with chromone derivatives. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.159, p.133–141, 2016. Disponível em: << <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2016.02.020> >> acesso em 20 mar.2020.

PEREIRA, M. I. G. **Desenvolvimento de metalofármacos: novos complexos de rutênio contendo ligandos macromoleculares como agentes antitumorais**. Dissertação – Universidade de Lisboa, 2016. Disponível em: << https://repositorio.ul.pt/bitstream/10451/27459/1/ulfc121640_tm_Maria_In%c3%aas_Pereira.pdf>> acesso em 24 jan. 2020.

PLUTÍN, A. M. et al. On the cytotoxic activity of Pd(II) complexes of N, N-disubstituted -N-acyl thiourea. **Journal of Inorganic Biochemistry**. V.134, p.76-82, 2014. Disponível em: << <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2014.01.022> >> acesso em 12 jan.2021.

SAEED, S. et al. "Synthesis, spectroscopic characterization, crystal structure and pharmacological properties of some novel thiophene-thiourea core derivatives". **European Journal of Chemistry**, v.1 (3), p. 221, 2010. Disponível em: << <https://doi.org/10.5155/eurjchem.1.3.221-227.124> >> acesso em 03 de mar.2020.

SANTOS, M. DE O. Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 64, n. 1, p. 119-120, 30 mar. 2018. Disponível em: << <https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2018v64n1.115> >> acesso em 20 de mar. 2020.

SHAKEEL, A. "Thiourea Derivatives in Drug Design and Medicinal Chemistry: A Short Review". **Journal of Drug Design and Medicinal Chemistry**, 2 10, 2016. Disponível em: << <https://www.researchgate.net/deref/http%3A%2F%2Fdx.doi.org%2F10.11648%2Fj.jddmc.20160201.12> >> acesso em 25 Fev.2020.

UIVAROSI, V.; OLAR, R. & BADEA, M. Nanoformulation as a Tool for Improve the Pharmacological Profile of Platinum and Ruthenium Anticancer Drugs. **Descriptive Inorganic Chemistry Researches of Metal Compounds**, Chapter 1, 2017. Disponível em: << <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.68306> >> acesso em 08 Fev.2020.

VELHO, R.G. **Medidas de Condutividade na Caracterização de Complexos Inorgânicos**: Um Levantamento Bibliográfico. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Química - UFSCar, p.60, 2006.