INSTITUTO FEDERAL GOIANO – CAMPUS CERES LICENCIATURA EM QUÍMICA POLIANE GOMES ADRIANO

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO CITOTÓXICA DE COMPLEXO SEMI-SANDUÍCHE DE RUTÊNIO COM LIGANTE ACILTIOUREIA

POLIANE GOMES ADRIANO

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO CITOTÓXICA DE COMPLEXO SEMI-SANDUÍCHE DE RUTÊNIO COM LIGANTE ACILTIOUREIA

Projeto de Trabalho de Curso apresentado ao curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal Goiano – Campus Ceres, como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciada em Química, sob orientação da Profa. 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

Adriano, Poliane Gomes

A243s Síntese, Caracterização e Avaliação Citotóxica de Complexo Semi-sanduíche de Rutênio com Ligante Aciltioureia / Poliane Gomes Adriano; orientadora Beatriz Nogueira da Cunha. -- Ceres, 2021.

60 p.

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

1. Aciltioureia dissubstituída. 2. Complexo de rutênio. 3. Metalofármacos. I. Nogueira da Cunha, Beatriz , orient. II. Título.

Responsável: Johnathan Pereira Alves Diniz - Bibliotecário-Documentalista CRB-1 n°2376



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

Formulário 88/2021 - 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

[] Tese	[] Artigo Científico
[] Dissertação	[] Capítulo de Livro
[] Monografia – Especialização	[] Livro
[X] TCC - Graduação	[] Trabalho Apresentado em Evento
Produto Técnico e Educacional - Tip	00:
Nome Completo do Autor: Poliane Gome Matrícula: 2017103221550100	es Adriano
sector or 167 tone or year tonesty. The sector is	ção e Avaliação Citotóxica de Complexo Semi-sanduíche de Rutênio com
Ligante Aciltioureia	gao e Avallagao electorica de complexo sem sandalene de Naterno com
Restrições de Acesso ao Documento	
Documento confidencial: [x] Não [] S	Sim, justifique:
Informe a data que poderá ser disponibi	ilizado no RIIF Goiano: 15/03/2021
O documento está sujeito a registro de I	patente? []Sim [x]Não
O documento pode vir a ser publicado c	omo livro? []Sim [x]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 inclusos 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.

(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:

- Poliane Gomes Adriano, 2017103221550100 Discente, em 01/03/2021 09:42:11.
- Beatriz Nogueira da Cunha, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 01/03/2021 09:37:30.

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: 244107 Código de Autenticação: af9729137a



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 9/2021 - GE-CE/DE-CE/CMPCE/IFGOIANO

ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CURSO

Aos vinte e seis 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, Marcela Dias França e Ilmo Correia da Silva para examinar o Trabalho de Curso intitulado "Síntese, caracterização e citotoxicidade de complexo semi-sanduíche de rutênio com ligante aciltioureia dissubistituído" da estudante Poliane Gomes Adriano, Matrícula nº 2017103221550100 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

Orientadora

(Assinado Eletronicamente)

Marcela Dias França

Membro

(Assinado Eletronicamente)
Ilmo Correia Silva
Membro

Observação:

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

Documento assinado eletronicamente por:

- Marcela Dias Franca, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 05/02/2021 09:40:21.
- Ilmo Correia Silva, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 27/01/2021 12:23:26.
- Beatriz Nogueira da Cunha, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 27/01/2021 11:15:56.

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: 233667 Código de Autenticação: 93e91034b5



INSTITUTO FEDERAL GOIANO Campus Ceres Rodovia GO-154, Km.03, Zona Rural, None, CERES / GO, CEP 76300-000 (62) 3307-7100 Dedico este trabalho a Poliane de 2016, que ao receber um novo ânimo, acreditou novamente no sonho dantes esquecido e aparentemente inalcançável de se tornar uma profissional da Química.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus com sua infinita sabedoria e bondade, a seu inenarrável amor que sempre me guia, grata pelas inúmeras bênçãos concedidas, na qual, esta em particular me remete grandiosa alegria, a mesma que me permitiu conhecer uma pequena parcela da complexidade do mundo micro, invisível aos olhos e que ao mesmo tempo, me fez admirar imensamente mais a consciência do autor de toda criação.

Agradeço a minha estimada orientadora Prof^a. Dra. Beatriz Nogueira da Cunha, por quem tenho profunda admiração, por sua enorme competência e seriedade profissional, assim como pela sua inerente empatia e por sua impar dedicação e suporte nesse projeto que não seria possível sem ela. Grata por cada ensinamento e inspirada a ser como ela.

Agradeço aos meus pais, Adélio Gomes de Sá e Beatriz Claúdia Adriano, que com todo seu amor me incentivam a ser melhor a cada dia e vibram com cada conquista obtida. Em especial a minha mãe, amiga e confidente, um dos meus suportes, que por muitas vezes não me deixou abalar pelas dificuldades.

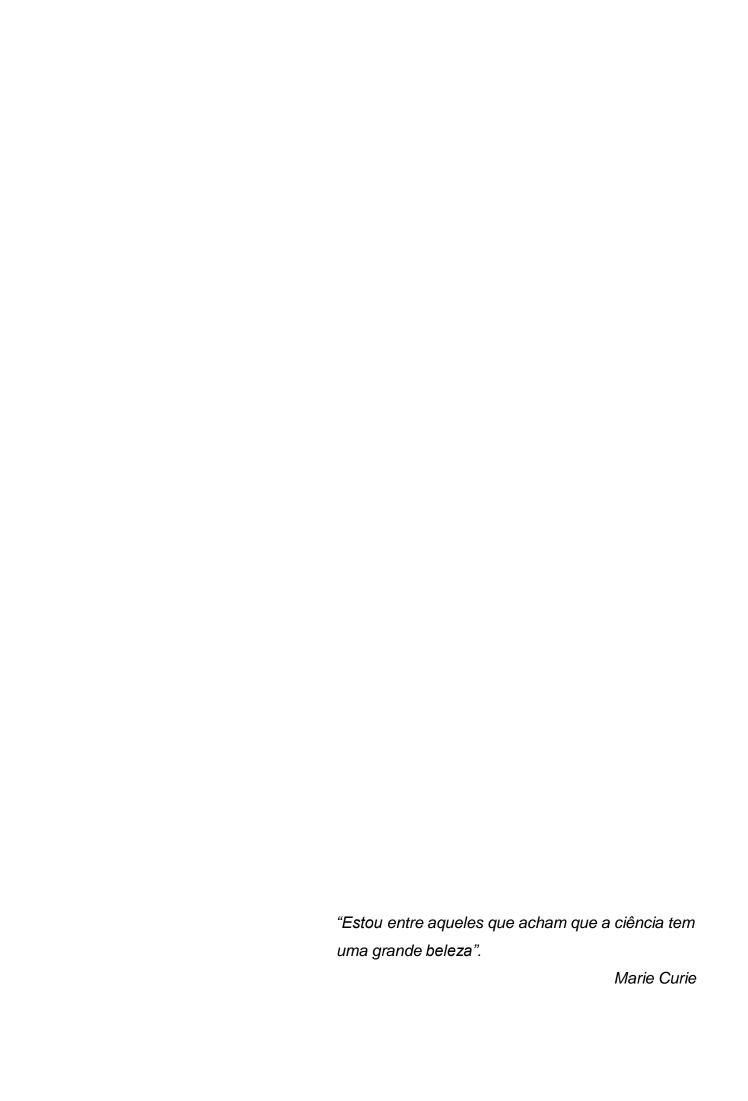
Agradeço ao meu amado esposo Daniel José Duarte, meu maior incentivador na vida acadêmica e em meus sonhos, cujo seu amor e admiração me impulsionam a acreditar no meu potencial, além de ter sido meu suporte nos demais pontos da vida.

Agradeço aos meus grandes amigos e colegas de curso, Maria Raquel Martins e Grosman Sann Gonçalves, aos quais devo muito por ter chegado até aqui, tanto pelo companheirismo, quanto pelo suporte em toda trajetória acadêmica. Grata a você Grosman por ser nossa base informática e por dividir os seus estimados livros. Grata a você Maria Raquel pelas boas cobranças, pelas palavras de ânimo de cada dia, e por nos emprestar seus organizados resumos para estudarmos antes das provas, além de ter sido um auxílio de grande importância na realização do presente trabalho. Grata por ter presenciado o crescimento e evolução acadêmica de vocês durante estes anos e por ter crescido junto a vocês.

Agradeço a cada um dos professores que ao longo do curso contribuíram com seus ensinamentos e exemplo profissional. Em especial a Professora Dra. Fabiana Aparecida Marques, Professor Dr. Jozemir Miranda dos Santos e Professora Ma. Maria Angélica Cezário, os quais indiretamente contribuíram na redação deste trabalho, através da minha evolução na escrita científica no decorrer de suas aulas,

assim como ao Professor Dr. Ilmo Correia Silva e a Professora Dra. Marcela Dias França, os quais diretamente colaboraram com a realização do presente trabalho dando suas ricas contribuições na apresentação do pré-projeto.

Agradeço as Instituições, Instituto Federal Goiano Campus Ceres e a Universidade Federal de São Carlos, que permitiram a realização deste projeto.



RESUMO

A química inorgânica medicinal compõe um campo da ciência que estuda e desenvolve agentes terapêuticos à base de compostos metálicos, este no qual vem ganhando espaço após o evidente sucesso de seu composto de maior destaque, o cisplatina, empregado no tratamento do câncer. Contemporaneamente, diversos outros compostos metálicos possuem aplicabilidade na área medicinal, promulgando maior interesse em explorar as propriedades dos metais para o desenho de novos metalofármacos. O presente projeto de pesquisa tem em vista à obtenção e caracterização de um novo complexo de rutênio com o ligante aciltioureia dissubstituída. Estes ligantes dispõem de interesse biológico devido seu reconhecimento no uso medicinal. Ademais, no contexto da química inorgânica possuem elevada versatilidade por possibilitarem a formação de diferentes centros de coordenação, permitindo-se obter distintas regiões não coordenadas de realizar interações intermoleculares com alvos biológicos. Sintetizou-se o composto de interesse que possui fórmula geral [Ru(η^6 -p-cimeno)(PPh₃)(T)](PF₆)], onde PPh₃= trifenilfosfina e T= N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia, obtendo-se rendimento de 87,77%. Caracterizou-se por meio de condutividade molar permitindo-se verificar a obtenção de um complexo catiônico de carga (+1) devido a proporção dos eletrólitos 1:1. Através da Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹H, ¹³C{¹H} e ³¹P{¹H}, assim como por análises bidimensionais como a Espectroscopia Heteronuclear de Coerência Quântica Única (HSQC), Espectroscopia Heteronuclear de CoerênciaQuântica Múltipla (HMBC) e Espectroscopia de Correlação (COSY), tornou-se possível atestar a obtenção do complexo de interesse com apreciável pureza. Avaliou- se sua citotoxicidade, apresentando-se promissora com o valor de IC₅₀ para alinhagem tumoral de mama (MDA-MB-231) de 1,34±0,19 µM, um valor menor do queo apresentado pelo cisplatina $(IC_{50} = 2,44 \mu M).$

Palavras-chave: Aciltioureia dissubstituída. Complexo de rutênio. Metalofármacos.

ABSTRACT

Inorganic medicinal chemistry is part of a field of science that studies and develops therapeutic agents based on metallic compounds, in which it has been gaining ground after the evident success of its most prominent compound, cisplatin, used in the treatment of cancer. At the same time, several other metallic compounds have applicability in the medical field, promulgating greater interest in exploring the properties of metals for the design of new metallopharmaceuticals. The present research project aims to obtain and characterize a new ruthenium complex with the disubstituted acylthiourea ligand. These binders are of biological interest due to their recognition in medical use. Furthermore, in the context of inorganic chemistry, they have high versatility because they allow the formation of different coordination centers, allowing to obtain different uncoordinated regions to carry out intermolecular interactions with biological targets. The compound of interest, which has the general formula [Ru (η^6 -p-cymene) (PPh₃) (T)] (PF₆)], where PPh₃ = triphenylphosphine and T = N, N- (diphenyl) -N'- benzoylthiourea, yielding 87.77%. It was characterized by molar conductivity allowing to verify the achievement of a cationic charge complex (+1) due to the proportion of electrolytes 1:1. Through ¹H, ¹³C{¹H} and ³¹P{¹H} Nuclear Magnetic Resonance (NMR), as well as two-dimensional analyzes such as Single Quantum Coherence Heteronuclear Spectroscopy (HSQC), Multiple Quantum Coherence Heteronuclear Spectroscopy (HMBC) and Spectroscopy of Quantum Correlation (COZY), it became possible to certify the achievement of the complex of interest with appreciable purity. Its cytotoxicity was evaluated, showing promise with an IC₅₀ value for the breast tumor line (MDA-MB-231) of 1.34 ± 0.19 µM, a value lower than that presented by cisplatin ($IC_{50} = 2.44 \mu M$).

Keywords: Acylthiourea disubstituted. Ruthenium complex. Metallodrugs.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura química do composto cisplatina, diaminodicloroplatina(II)6
Figura 2 – Estruturas químicas compostos de rutênio: KP1019 e NAMI-A7
Figura 3 – Estrutura genérica de uma aciltioureia9
Figura 4 – Espectro de RMN de 1 H do precursor [Ru(η^6 - p -cimeno)(PPh $_3$)Cl $_2$]12
Figura 5 – Espectro de RMN de 13 C $\{^1H\}$ do precursor [Ru $(\eta^6$ - p -cimeno)(PPh $_3$)Cl $_2$]. 14
Figura 6 – Aproximação do Espectro de RMN de $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ do precursor [Ru(6 - p -
cimeno)(PPh ₃)Cl ₂]15
Figura 7 – Análise bidimensional do espectro de RMN de ¹ H e de ¹³ C{ ¹ H} do precursor
[Ru(η ⁶ -p-cimeno)(PPh ₃)Cl ₂], pela técnica de HSQC16
Figura 8– Análise bidimensional do espectro de RMN de ¹ H e de ¹³ C{ ¹ H} do precursor
[Ru(η ⁶ -p-cimeno)(PPh ₃)Cl ₂], pela técnica de HMBC17
Figura 9 – Espectro de RMN de ¹ H do ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia18
Figura 10 – Aproximação da região aromática do espectro de RMN de ¹ H do ligante
N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia
Figura 11 – Experimento bidimensional entre as ligações H-H do ligante N,N-(difenil)-
N'-benzoiltioureia, pela técnica de COSY19
Figura 12 – Aproximação da região central da Figura 1120
Figura 13 – Espectro de RMN de ${}^{13}\text{C}\{{}^{1}\text{H}\}$ do ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia.
Figura 14 – Análise bidimensional do espectro de RMN de ¹ H e de ¹³ C{ ¹ H} do ligante
N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia], pela técnica de HSQC
Figura 15 – Análise bidimensional do espectro de RMN de ¹ H e de ¹³ C{ ¹ H} do ligante
N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia], pela técnica de HMBC
Figura 16 – Fases da síntese do complexo $[Ru(\eta^6-p\text{-cimeno})(PPh_3)(T)](PF_6)]$. (A)
Solução no momento inicial; (B) Solução após agitação magnética; (C) Solução com
o complexo precipitado25
Figura 17 – Espectro de RMN de $^{31}P\{^{1}H\}$ do complexo [Ru(η^{6} - p -cimeno) (PPh $_{3}$
)(T)](PF ₆)26
Figura 18 – Espectro de RMN de ¹ H do complexo [Ru(η^6 - p -cimeno) (PPh ₃)(T)](PF ₆).
27
Figura 19– Comparação região aromática espectro de RMN de ¹ H do complexo com
espectro de RMN de ¹ H do Ligante Livre

Figura 20 – Experimento bidimensional entre os acoplamentos H-H do complex	O
$[Ru(\eta^6-p$ -cimeno) (PPh ₃)(T)](PF ₆) pela técnica de COSY2	29
Figura 21 – Aproximação da Figura 20, região aromática do complexo [Ru(η ⁶ -μ	0 -
cimeno) (PPh3)(T)](PF6)2	29
Figura 22 – Espectro de RMN de $^{13}\mathrm{C}\{^1\mathrm{H}\}$ do complexo [Ru(η^6 - p -cimeno) (PPh	13
)(T)](PF ₆)3	3 1
Figura 23 – Aproximação da Figura 22, região aromática do complexo [Ru(η^6 - p -	
cimeno) (PPh ₃)(T)](PF ₆)3	3
Figura 24 – Análise bidimensional do espectro de RMN de ¹H e de ¹³C{¹H} d	0
complexo [Ru(η^6 - p -cimeno) (PPh ₃)(T)](PF ₆) pela técnica de HSQC3	35
Figura 25 – Aproximação da Figura 24, região aromática do complexo [Ru(η ⁶ - <i>μ</i>	0 -
cimeno) (PPh ₃)(T)](PF ₆)3	36
Figura 26 – Análise bidimensional do espectro de RMN de ¹H e de ¹³C{¹H} d	О
complexo [Ru(ŋ ⁶ -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF ₆), pela técnica de HMBC3	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Representação da análise do experimento de COSY do ligante N	۱,N-
(difenil)-N'-benzoiltioureia	20
Tabela 2 – Representação análise de COSY do complexo [Ru(η ⁶ - <i>p</i> -cimeno)	
(PPh ₃)(T)](PF ₆)	30
Tabela 3 – Representação da análise de HSQC do complexo [Ru(η ⁶ - <i>p</i> -cimeno) (P	Ph ₃
)(T)](PF ₆)	35

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	4
	2.1 Visão geral do Câncer	4
	2.2 Química Inorgânica Medicinal no tratamento do Câncer	5
	2.3 Ligantes Aciltioureias	8
3.	JUSTIFICATIVA	9
4.	OBJETIVOS	. 10
4.	1 Objetivo Geral	. 10
4.	2 Objetivos específicos	. 10
5.	MATERIAL E MÉTODOS	. 10
	5.3 Síntese do complexo [Ru(η^6 - p -cimeno) (PPh ₃)(T)](PF ₆)]	. 10
	5.4 Análise por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	. 11
	5.5 Condutividade Molar	. 11
	5.6 Ensaio de Citotoxicidade	. 11
6.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	. 12
	6.1 Caracterização do Precursor [Ru(1∮-p-cimeno)(PPh₃)Cl₂] e Ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia.	. 12
	6.1.1 Caracterização do Precursor [Ru(η ⁶ -p-cimeno)(PPh ₃)Cl ₂] por RMN de ¹ H	. 12
	6.1.2 Caracterização do Precursor [Ru(η ⁶ -p-cimeno)(PPh ₃)Cl ₂] por RMN de ¹³ C{ ¹ H}	
	6.1.3 Caracterização do Precursor [Ru(1 ⁶ -p-cimeno)(PPh₃)Cl₂] pelas técnicas de HSQC e	
	6.1.4 Caracterização do Ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia por RMN de 1 H	. 17
	6.1.5 Caracterização do Ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia por COSY	. 19
	6.1.6 Caracterização do Ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹³ C{ ¹ H}	. 21
	6.1.7 Caracterização do Ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia pelas técnicas de HSQC e	
	6.2 Complexo [Ru(η ⁶ - <i>p</i> -cimeno) (PPh ₃)(T)](PF ₆)]	. 24
	6.2.1 Análise da Síntese do complexo [Ru(η ⁶ -p-cimeno) (PPh ₃)(T)](PF ₆)]	. 24
	6.2.2 Caracterização do Complexo [Ru(η^6 - p -cimeno)(PPh ₃)(T)](PF) por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de 31 P{ 1 H}	. 25
	6.2.3 Caracterização do Complexo [Ru(η^6 - p -cimeno) (PPh $_3$)(T)](PF) por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de 1 H	. 26

	6.2.4 Caracterização do complexo [Ru(η ⁶ - <i>p</i> -cimeno)(PPh ₃)(T)](PF ₆) por Espectroscopia de Correlação (COSY)	
	6.2.5 Caracterização do complexo [Ru(η^6 - p -cimeno) (PPh $_3$)(T)](PF $_6$) por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de 13 C{ 1 H}	. 31
	6.2.6 Caracterização do complexo [Ru(η^6 - p -cimeno) (PPh $_3$)(T)](PF $_6$) pelas técnicas de HS e HMBC	
	6.2.7 Análise de Condutividade Molar	. 38
	6.2.8 Análise do Ensaio de Citotoxicidade	. 38
7	CONCLUSÃO	. 39
8	REFERÊNCIAS	. 40

1. INTRODUÇÃO

O câncer é uma das doenças que mais ocasiona temor na sociedade, por estar comumente associado a mortalidade e dor. Incidindo sobre a população, de forma assoladora, devido a transição demográfica bem como o acréscimo da exposição da população a agentes cancerígenos no meio ambiente. Contemporaneamente, o câncer tem como definição científica o termo neoplasia, que refere-se especificamente aos tumores malignos, os mesmos compõem um conjunto de doenças de diversas localidades e de diferentes tipos morfológicos, caracterizadas pelo crescimento descontrolado de células transformadas (ABC do Câncer, 2020; FRIGO, 2015).

De acordo com a Organização Pan-Americana da Saúde juntamente com a Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS Brasil), o câncer é classificado como a segunda maior causa de óbitos no mundo, responsável por 9,6 milhões de mortes em 2018. No Brasil, conforme estimativas apresentadas pelo INCA para os anos de 2020-2022 poderão haver a ocorrência de mais de 625 mil novos casos de câncer anualmente.

As principais modalidades de tratamento do câncer são as cirurgias, radioterapia e quimioterapia, os quais geralmente são empregadas por meio de terapia combinada, associando mais de um tipo de tratamento. O objetivo primário da quimioterapia é eliminar as células neoplásicas, preservando as normais. No entanto, como maioria dos agentes quimioterápicos não atua de maneira específica, lesionase tanto células malignas quanto normais, o que explica a maior parte dos efeitos colaterais da quimioterapia, como náuseas, perda de cabelo e susceptibilidade maior às infecções (FRIGO, 2015).

O cisplatina é um antineoplásico eficaz na quimioterapia quando administrado por via intraperitoneal ou por infusão intravenosa, com doses específicas para cada tipo de câncer, usualmente em um intervalo de 3 a 4 semanas. Sendo amplamente utilizado contra diversos tipos de câncer, tais como tumores do testículo e ovário, câncer da cabeça e pescoço, câncer do pulmão e de células germinativas, e, normalmente sendo a linha de tratamento inicial e mais efetiva (MARTELLO, 2018).

Houve um grande avanço na terapia do câncer com metalofármacos, desencadeado pelo cisplatina, no entanto, uma série de efeitos colaterais e o desenvolvimento de resistência, dificuldades comuns também em outros fármacos, têm limitado notadamente o tratamento da doença. Consoante a isto, a comunidade

científica tem realizado novas pesquisas baseadas em metalodrogas mais efetivas, com o propósito de desenvolver compostos com menor toxicidade. Neste contexto, as pesquisas de complexos com diferentes centros metálicos, como o rutênio, têm despertado muita atenção, isto se deve as suas propriedades químicas semelhantes ao ferro, metal que atua realizando diversas funções biológicas (CUNHA, 2018).

Em pesquisas relacionadas a metalodrogas como recurso terápico do câncer, os compostos organometálicos Ru(II)-areno apresentam-se como uma promissora categoria de compostos. Bem como as aciltioureias, compostos derivados das tioureias, tendo em sua estrutura principal a presença de uma carbonila ligada a tioureia, -C(O)NC(S)N-, estas nas quais, podem atuar como ligantes versáteis, visto que em sua estrutura existem diferentes átomos doadores de elétrons, O, N e S (SAEED, et al., 2013).

Tendo em vista os aspectos observados, o intuito central deste trabalho é combinar as propriedades do composto rutênio areno com um ligante aciltioureia, considerando que, as aciltioureias compreendem uma classe de compostos bem estabelecidos na literatura e dispõem de interesse biológico, espera-se que a complexação do ligante aciltioureia, proporcione um acréscimo na atividade biológica do composto de interesse, com vista a obter-se um novo complexo de rutênio com possível atividade citotóxica promissora. Atentando-se que as sínteses químicas permitem a construção de moléculas, em seus mais diversificados níveis de complexidade. Demonstrando características particulares, uma vez que, além de fundamentar uma sequência de etapas sintéticas, tem em vista a obtenção dos melhores rendimentos possíveis, sendo também imprescindível atribuir atenção ao grau de pureza e à escala da reação (MENEGATTI, 2001). Desde a síntese da ureia em 1828 realizada por Wohler, um marco para a química orgânica, a área de sínteses químicas modificou-se significativamente, passando por grandes avanços. Na atualidade, existem diversas alternativas de reações e métodos sintéticos, possibilitando sínteses de compostos complexos de modo muito mais eficiente comparado há algumas décadas (SANGI, 2016).

Assim, o objetivo nesta pesquisa, foi realizar a síntese, caracterização e avaliar a citotoxicidade na linhagem tumoral MDA-MB-231 do complexo de rutênio areno do tipo $[Ru(\eta^6-p\text{-cimeno}) (PPh_3)(T)](PF_6)$, onde PPh_3 = trifenilfosfina e T= N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Visão geral do Câncer

O câncer compõe um conjunto de mais de 100 doenças de variadas localidades e de diferentes tipos morfológicos, caracterizadas pelo crescimento descontrolado de células anormais, capazes de invadir tecidos e órgãos, vizinhos ou distantes. Os tecidos do corpo humano são formados por células que em um processo natural e contínuo se multiplicam, de uma maneira ordenada, crescem, multiplicam-se e morrem, respondendo as necessidades específicas do corpo. Todavia, as células denominadas cancerosas ou tumorais, ao invés de morrerem, continuam crescendo incontrolavelmente, gerando outras novas células anormais (ABC do Câncer, 2020).

Com a frequente multiplicação celular, há a necessidade da formação de novos vasos sanguíneos para a nutrição destas células, em um processo denominado angiogênese. A manutenção e o acúmulo de massa dessas células originam os tumores malignos, as quais podem adquirir a capacidade de se desprenderem do tumor de origem e de migrarem, invadindo inicialmente os tecidos vizinhos, podendo chegar ao interior de um vaso sanguíneo ou linfático e, através destes, propagaremse, chegando a órgãos distantes do local onde o tumor foi gerado, formando as metástases. O processo metastático é uma característica elementar do câncer de tumores malignos, estando diretamente ligado às taxas de mortalidade desta doença (ABC do Câncer, 2020; BACAC, 2008).

Conforme a Organização Pan-Americana da Saúde e a Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS Brasil), o câncer é considerado como a segunda maior causa de óbitos no mundo, responsável por 9,6 milhões de mortes em 2018. Sendo os tipos de câncer mais incidentes os de pulmão com 22,4% dos casos, de mama também com 22,4%, o colorretal com 19,29% e o de próstata com 13,72%. No Brasil, de acordo com as estimativas apresentadas pelo INCA para os anos de 2020-2022 poderão haver a ocorrência de mais de 625 mil novos casos anualmente, sendo o câncer de pele não melanoma o mais incidente com 28,32% dos casos, seguido peloscânceres de mama e próstata com 10,56% cada, cólon e reto com 6,56%, pulmão com 4,8% e os de estômago com 3,36%. Sendo os estados com maiores estimativas de novos casos, São Paulo, Rio de janeiro, Minas Gerais e Bahia, respectivamente (OPAS/OMS Brasil, 2018).

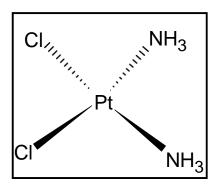
Reportando-se que, os fatores de risco de câncer podem ser ocasionados pelo meio ambiente ou podem ser hereditários. Acrescendo-se que a maioria dos casos, cerca de 80% estão relacionados ao meio ambiente, o qual entende-se por ambiente, o meio em geral, água, terra e ar, o ambiente ocupacional quando insalubre, o ambiente social e cultural como estilo e hábitos de vida e o ambiente de consumo, os alimentos e medicamentos (FRIGO, 2015).

As formas de tratamento do câncer depende de diversos fatores individuais, os quais incluem as características patológicas e moleculares específicas do câncer, sua localização, extensão da doença e o estado de saúde do paciente. Os principais recursos terapêuticos do câncer são as cirurgias, radioterapia e quimioterapia, estes que, comumente são empregados por meio de terapia combinada, associando mais de um tipo de tratamento. Sendo a cirurgia aplicada frequentemente em cânceres "iniciais", podendo apresentar-se como a curativa destes, a radioterapia é mais regularmente usada em um ambiente localizado e em simultâneo com procedimentos cirúrgicos. E, a quimioterapia, é geralmente utilizada quando há necessidade de uma abordagem sistêmica, a qual emprega um amplo grupo de drogas com efeitos citotóxicos que, preferencialmente, porém não exclusivamente, possuem como alvo as células tumorais que se dividem rapidamente (FRIGO, 2015; LUQMANI, 2005).

2.2 Química Inorgânica Medicinal no tratamento do Câncer

A química inorgânica medicinal tem como pioneiro o composto cisplatina (Figura 1), visto que, este é o composto de maior destaque desta área do conhecimento. Suas propriedades anticâncer foram descobertas acidentalmente, em 1965 por Barnett Rosenberg e Loretta VanCamp, enquanto realizavam estudos sobre efeito de uma corrente elétrica em bactérias *Escherichia coli*. Nestes ensaios notaram que o composto diaminodicloroplatina(II), cisplatina impediu a divisão celular destas bactérias e por meio de estudos posteriores, observaram que esta propriedade apresentou o mesmo comportamento em células tumorais. Desta forma, através de análises mais avançadas o cisplatina teve aprovação para uso clínico pela FDA (*Food and Drug Administration*) em 1978. Com isso, o cisplatina se tornou o pioneiro como agente medicinal à base de metal de transição empregado no uso clínico mundial para o tratamento do câncer (MJOS, 2014).

Figura 1 – Estrutura química do composto cisplatina, diaminodicloroplatina(II).



Fonte: Autoria própria, ChemSketch.

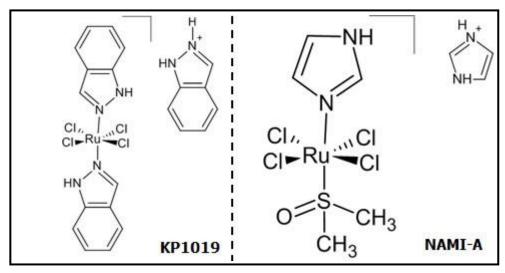
O composto cisplatina é aplicado contra diferentes tipos de cânceres humanos, tais como tumores do testículo e ovário, câncer da cabeça e pescoço, câncer do pulmão e de células germinativas. Sendo um antineoplásico eficaz na quimioterapia quando administrado por via intraperitoneal ou intravenosa, possuindo também potencial terapêutico em outras variedades de neoplasias humanas (MARTELLO, 2018).

A atividade antitumoral do cisplatina deve-se à sua interação com o DNA. Partindo-se através de reações de hidrólise no meio intracelular. O cisplatina é conservado em sua estrutura original na corrente sanguínea devido à elevada concentração de íons cloretos, contudo, no interior da célula a concentração dos íons cloretos diminui significativamente, favorecendo a ocorrência da hidrolização do composto. Ao adentrar no núcleo celular, as moléculas de água são labilizadas para formar ligações covalentes com a Pt²+, e mais especificamente ao N-7 das bases nitrogenadas do DNA, guanina (G) ou adenina (A). Ocasionando a reações fisiológicas que levam a parada do ciclo celular, reparo do DNA e apoptose (MJOS, 2014).

É evidente o avanço na terapia do câncer com metalofármacos, desencadeado pelo cisplatina, no entanto, apesar de sua eficiência terapêutica, o mesmo têm gerado uma série de efeitos colaterais e o desenvolvimento de resistência, dificuldades comuns também em outros fármacos. Consoante a isto, a comunidade científica tem realizado novas pesquisas baseadas em metalodrogas mais efetivas, com o propósito de desenvolver compostos com menor toxicidade. Neste contexto, as pesquisas de complexos com diferentes centros metálicos, o rutênio têm despertado muita atenção, isto se deve as suas propriedades químicas semelhantes ao ferro, metal que atua realizando diversas funções biológicas (CUNHA, 2018).

Nos estudos com rutênio tiveram dois compostos que se destacaram chegando a etapa de ensaios clínicos, o NAMI-A, (Him)[RuCl₄(DMSO)(Him)] (Him=imidazol) e o KP1019, (indH)[trans-RuCl₄(ind)₂] (ind=indazol) (Figura 2). O complexo NAMI-A destaca-se pela atividade e seletividade contra tumores metastáticos. Em que resultados pautados em estudos de modelos in vivo demonstraram evidente redução de metástase pulmonar, obtendo redução de até 100%. Já o composto KP1019 apresentou significativa atividade contra câncer de colón. Em modelos animais, a administração desse composto propiciou eficaz redução de até 95% do volume tumoral, não provocando óbitos (COSTICH, et al., 2016).

Figura 2 – Estruturas químicas compostos de rutênio: KP1019 e NAMI-A.



Fonte: Autoria própria, ChemSketch.

Em pesquisas relacionadas a metalodrogas como recurso terápico do câncer, os compostos organometálicos Ru(II)-areno apresentam-se como uma promissora categoria de compostos, sendo que a primeira pesquisa das atividades citotóxicas de metal de transição-areno, foi realizada em 1922 por Tocher e colaboradores (TOCHER, et al., 1922). Na química organometálica as terminologias "sanduíche" e "semi-sanduíche", referem-se a classificações dos complexos onde o metal liga-se paralelamente a dois anéis planos (sanduíche) ou a apenas um (semi-sanduíche). Estas ligações são formadas por meio dos orbitais e *πdo Ænel aromático com orbitais apropriados do metal, no qual a ligação é conservada pela ligação σ, originadapela interação dos orbitais moleculares p ligæntes ocupados, do areno, com o orbital σ aceptor, vazio, do rutênio. Como os arenos são ligantes -ácido/ -aceptores, a

retrodoação π da ligação se dá por meio da interação de um orbital 4d⁶ do metal com o orbital $p\pi^*$, vazio, do areno (MUETTERTIES, et al., 1982).

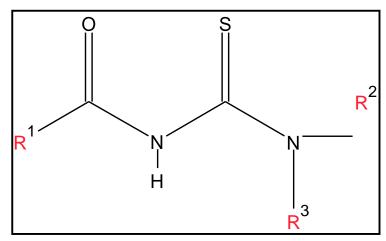
Os complexos Ru(II)-areno possuem uma proposta de mecanismo de ação que compreendem, de modo geral, a reação de hidrólise da ligação Ru-X originando as espécies Ru-OH₂. A aquação ocorre no meio intracelular, assim como no processo de hidrólise do cisplatina, constituindo dessa forma, uma via de ativação seletiva. Similar a maioria das metalodrogas com propriedades antitumorais, o DNA é o alvo elementar dos complexos Ru(II)-areno e essa interação complexo-DNA pode ocorrer por ligações covalentes, prioritariamente ao N7 da guanina (DOUGAN, 2007).

Muitos estudos têm focado na coordenação de ligantes com interesse biológico, como os ligantes aciltioureias. Ensaios in vitro de complexos de rutênio evidenciaram expressiva citotoxicidade em linhagens de câncer de pulmão e próstata, onde os complexos de Ru(II) coordenados a ligantes bifosfínicos, bipiridínicos e aciltioureas, com forma geral [Ru(dppb)(bipy)(T)]PF6 demonstraram significativamente mais ativos do que a cisplatina e seus respectivos ligantes livres. Tal resultado é um forte indicativo que a complexação dos ligantes pode potencializar suas atividades (CUNHA, 2018).

2.3 Ligantes Aciltioureias

As tioureias e seus derivados possuem eficientes aplicações medicinais, estando presentes em usos clínicos, utilizadas para tratamentos de infecções, devido possuir propriedades com atividades anti-inflamatórias, além de suas aplicações não medicinais na indústria, química analítica, metalurgia e agricultura. Os compostos aciltioureias, que são um dos derivados das tioureias, tem em sua estrutura principal a presença de uma carbonila ligada a tioureia, -C(O)NC(S)N- (Figura 3). Os mesmos possuem um grande número de substituintes (R) possíveis, podendo-se formar uma grande variedade de compostos. De acordo com os substituintes, as aciltioureias são classificadas como monossubstituídas ou dissubstituídas, apresentando a capacidade de serem ligantes versáteis, visto que em sua estrutura existem diferentes átomos doadores de elétrons, O, N e S, possibilitando a formação de distintas formas como ligantes, incluindo a neutra, monoaniônica e bianiônica (SAEED, et al., 2013; SHAKEEL, 2016).

Figura 3 – Estrutura genérica de uma aciltioureia.



Fonte: Autoria própria, ChemSketch

As aciltioureias apresentam notável potencial para atuarem como ligantes na química de coordenação, pois formam complexos estáveis em anéis de seis membros, comportando-se como agentes quelantes, devido à presença dos grupos funcionais (C=S) e (C=O). Conforme estas características, diversos modos de coordenação com distintos centros metálicos são descritos para esta classe de compostos: coordenação (aniônica) bidentada, via átomos de O e S; coordenação (neutra) monodentada, via átomo de S; coordenação (neutra) monodentada, via átomo de N; coordenação (aniônica) bidentada, via átomos de O e N; coordenação em ponte (aniônica) via átomo de N e coordenação (aniônica) bidentada, via átomos de S e N. Sendo dentre estes o modo de coordenação mais comum dessa classe de ligantes, o bidentado via átomos de enxofre e oxigênio (CUNHA, 2018; SHAKEEL, 2016).

3. JUSTIFICATIVA

O câncer é uma doença de âmbito global, sendo causa de inúmeras mortes, cujos tratamentos ainda causam muitos efeitos colaterais. Assumindo-se relevante esta pesquisa, visto o contexto atual de novos estudos com o metal de transição rutênio, assim como o respaldo do ligante aciltioureia, já utilizado no campo medicinal, portanto têm-se como finalidade o desenho de um novo complexo que poderá ser objeto de estudo futuro por áreas biológicas e farmacológicas, podendo apresentar potencial para tornar-se assim, base para um novo agente terápico contra o câncer.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Sintetizar, caracterizar e avaliar a citotoxicidade do complexo organometálico $[Ru(\eta^6-p\text{-cimeno})(PPh_3)(T)](PF_6)]$ onde $PPh_3=$ trifenilfosfina e T= N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia.

4.2 Objetivos específicos

- Sintetizar o complexo com fórmula geral $[Ru(\eta^6-p-cimeno)(PPh_3)(T)](PF_6)]$, onde $PPh_3=$ trifenilfosfina e T=N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia.
- Caracterizar o complexo com auxílio de técnicas espectroscópicas de RMN de ¹H, ¹³C{¹H} e ³¹P{¹H}, assim como por análises com técnicas bidimensionais HSQC, HMBC e COSY; e condutividade molar.
- Avaliar a citotoxicidade do composto obtido em células tumorais de mama (MDA-MB-231).

5. MATERIAL E MÉTODOS

Os reagentes precursores para a síntese do complexo reportado neste trabalho, o precursor [Ru(η^6 -p-cimeno) (PPh₃)Cl₂] e o ligante aciltioureia N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia, foram cedidos pela Universidade Federal de São Carlos (UFSCARSP), onde suas respectivas sínteses basearam em métodos já descritos na literatura (BAROLLI, et al., 2017; COLINA-VEGAS, et al., 2017; SAEED, et al., 2010). Também, as medidas de condutividade molar, RMN e ensaio de citotoxicidade foram realizadas nesta mesma instituição.

5.3 Síntese do complexo [Ru(η^6 -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF₆)]

Realizou-se a síntese do complexo organometálico [Ru(η^6 -p-cimeno)(PPh₃)(T)](PF₆) no Instituto Federal Goiano Campus Ceres, conforme metodologia previamente descrita por Cunha. Adicionou-se o precursor, o ligante e o NaHCO₃, em quantidades estequiométricas 1:1:1, em um balão volumétrico de fundo redondo com o solvente. Deixou-se a mistura sob agitação por 2h e 30min. Adicionou-se excesso de NH₄PF₆ e água destilada resfriada para a obtenção do sólido. Filtrouse a solução, em filtração a vácuo, lavou-se repetidas vezes e coletou-se o precipitado (CUNHA et. al, 2020).

5.4 Análise por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

Realizou-se as análises no equipamento BRUKER 9.4 T, modelo AVANCE III para obtenção dos espectros de RMN de 1 H (400 MHz), 13 C{ 1 H} (100 MHz) e 31 P{ 1 H} (162 MHz). Utilizou-se o solvente deuterado (acetona) para as medidas relacionadas aos ensaios de 1 H, 13 C{ 1 H}, COSY, HSQC e HMBC, e para os experimentos de 31 P{ 1 H} usou-se capilar D₂O.

5.5 Condutividade Molar

As medidas de condutância molar foram realizadas por meio do aparelho Meter Lab., modelo CDM230. As medidas foram feitas através da solução do complexo sintetizado em diclorometano com concentração de 10⁻³ mol. L⁻¹. Utilizando-se faixas de valores previamente tabeladas por Velho (VELHO, 2006).

5.6 Ensaio de Citotoxicidade

A citotoxicidade do complexo sintetizado foi avaliada pelo método MTT (Metil-Tiazolil-Tetrazólio) na linhagem de células tumorais humanas de mama (MDA-MB-231). Este ensaio consiste em um método colorimétrico muito aplicado para determinar proliferação celular e citotoxicidade. Neste ensaio o MTT reduz-se apenas à formazan, cristais de coloração violeta, por células viáveis, dessa forma o número de células é proporcional ao número de cristais formados.

Utilizou-se uma densidade de 1,5 x 10⁴ células/poço, em 150μL de meio suplementado, plaqueadas em placas de 96 poços. Após 24 h de incubação (5% de CO₂ a 37°C), tratou-se as células com diferentes concentrações do composto (dissolvidos em DMSO estéril) e incubou-as novamente por 48 h. Adicionou-se 30μL de uma solução de MTT (1 mg/mL) em cada poço e após 4 h de incubação, os cristais de formazan foram solubilizados em 100μL de isopropanol. Determinou a atividade óptica (medidas de absorbância) a 540 nm em um leitor de microplacas. Os controles receberam 0,5 % do solvente DMSO. Verificou-se os valores de IC₅₀ (concentração correspondente à inibição do crescimento celular em 50%) do complexo determinado a partir de uma curva de concentração utilizando o software GraphPad Prism . Utilizou-se a citotoxicidade do cisplatina como controle positivo.

6. RESULTADOS E DISCUSSÕES

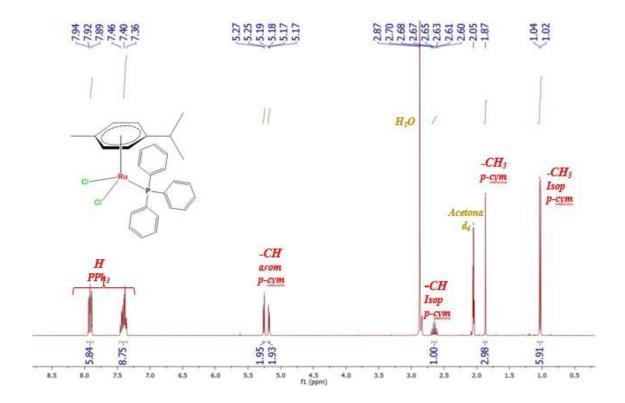
6.1 Caracterização do Precursor $[Ru(\eta^6-p\text{-cimeno})(PPh_3)Cl_2]$ e Ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia.

Realizou-se a caracterização do precursor e do ligante, a fim de verificar a pureza destes compostos, para não haver interferências na síntese do complexo de interesse.

6.1.1 Caracterização do Precursor [Ru(η⁶-p-cimeno)(PPh₃)Cl₂] por RMN de ¹H.

Na análise de RMN de ¹H utilizou-se a acetona deuterada como solvente, sendo observado seu sinal característico no espectro (Figura 4), em 2,05 ppm e o sinal em 2,87 indica a presença da água.

Figura 4 – Espectro de RMN de ¹H do precursor [Ru(η^6 -p-cimeno)(PPh₃)Cl₂].



Fonte: Autoria própria, MestreNova.

Observando o espectro, têm-se um dubleto em 1,03 ppm, que compreende a região característica de grupos -CH₃. A integral deste sinal indica a presença de 6 átomos de H, inferindo que o mesmo refere-se aos dois grupos metil (-CH₃) do isopropil do ligante *p*-cimeno. Já o singleto em 1,87 ppm com integral 2,98, indica a presença de 3 átomos de H, cujo sinal pode ser atribuído ao grupo metil (-CH₃) ligado diretamente ao anel aromático do *p*-cimeno. Há um hepteto na faixa entre 2,60 e 2,70

ppm, o que é característico do grupo -CH ligado a anel aromático, por ser um hepteto pode identificar este como o grupo -CH do isopropil (PAIVA, 2013, 632 p).

Na região de 5,17 e 5,27 ppm têm-se dois dubletos, em 5,19 e 5,26 ppm, respectivamente, com integral indicando a presença de 4 átomos de H, atribuindo estes sinais aos H do anel aromático do *p*-cimeno. Entretanto, apenas com esta técnica não é possível realizar a atribuição especifica desses H aromáticos. Geralmente, os H aromáticos ficam em faixas de 6,5-8,0 ppm, regiões do espectro mais desblindadas do que as observadas aqui, esta diferença no deslocamento químico deve-se a influência da coordenação do ligante *p*-cimeno com o centro de Ru²+, pois ao complexar a este metal há o fenômeno de retroação, onde há a transferência de densidade eletrônica do metal para o ligante, deixando os átomos de H mais blindados do que o esperado.

Por fim, têm-se dois multipletos entre as faixas de 7,36 ppm a 7,94 ppm, sinais característicos de H aromáticos, podendo-se inferir estes sinais aos H do ligante trifenilfosfina, onde a integral do primeiro multipleto em 7,40 ppm indica a presença de 9 átomos de H e o segundo em 7,92 ppm indica a presença de 6 átomos de H.

6.1.2 Caracterização do Precursor [Ru(η^6 -p-cimeno)(PPh₃)Cl₂] por RMN de 13 C{ 1 H}.

Também realizou-se a caracterização do precursor pela técnica de RMN de ¹³C{¹H}. No espectro apresentado na Figura 5, os sinais observados em 29,8 ppm e 206,0 ppm compreendem ao solvente utilizado na análise, acetona deuterada, sendo o primeiro sinal referente ao carbono dos grupos CH₃ e o segundo ao carbono da carbonila (PAIVA, 2013, 655 p).

206.3 0.4.0.00 82 82 82 7.1 6.0.00 82 82 82 82 7.1 Acetono Acetona de $-CH_3$ CH arom Isop -СН p-cym p-cvm Isop C arom p-cvm $-CH_3$ p-cym p-cym 120 110 100 fl (ppm)

Figura 5 – Espectro de RMN de $^{13}C\{^1H\}$ do precursor [Ru($^{16}-p$ -cimeno)(PPh₃)Cl₂].

Fonte: Autoria própria, MestreNova.

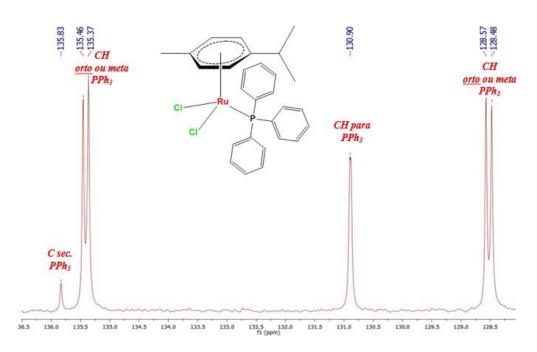
Têm-se dois sinais em 17 ppm e 22 ppm, cujo deslocamentos químicos são característicos de grupos metil (-CH₃), que compreendem a faixa de 8-30 ppm (PAIVA, 2013, 655 p). Sugere-se que o sinal em 17 ppm refere se ao carbono do grupo metil ligado diretamente ao anel aromático o que acarretaria em um sinal mais blindado quando compara-se aos grupos metil do grupo isopropil do *p*-cimeno, os quais atribuem-se ao sinal em 22 ppm. O sinal em 31 ppm compreende a faixa característica de grupos –CH sendo atribuído ao carbono do grupo –CH do isopropil do *p*-cimeno.

Observando-se o espectro, na faixa de 87,9 a 90,8 ppm, há dois dubletos um em 87,9 ppm e o outro em 90,8 ppm, que são mais visíveis observando a aproximação dessa região do espectro (Figura 5), atribuindo estes aos quatro -CH do anel aromático do *p*-cimeno, o qual possui deslocamento químico característico em faixas de 110-175 ppm, mas que à efeitos da aromaticidade e da retrodoação com o Ru²⁺, estes C ficam em uma região mais blindada, porém, somente com essa técnica não pode-se inferir cada sinal a um C específico.

Há dois sinais de baixa intensidade em 96,6 ppm e em 110,1 ppm, que podem ser atribuídos aos C aromáticos terciários do *p*-cimento, os sinais destes carbonos aromáticos encontram-se em uma região mais blindada do que o esperado para este

tipo de carbono (110-175 ppm), devido ao fenômeno da retrodoação, anteriormente comentado. Contudo, apenas com esta técnica não se faz possível atribuir qual é o C correspondente ao sinal em 96,6 ppm e em 110,1 ppm.

Figura 6 – Aproximação do Espectro de RMN de ¹³C{¹H} do precursor [Ru(η⁶-p-cimeno)(PPh₃)Cl₂].



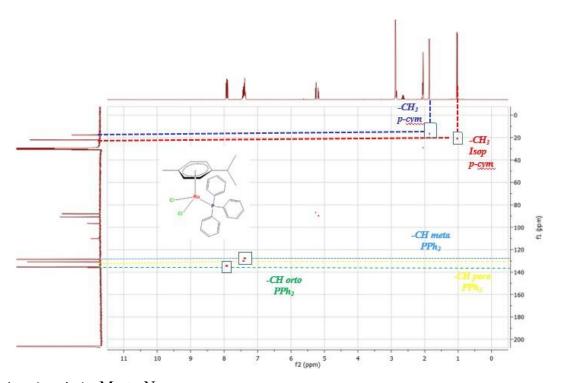
Fonte: Autoria própria, MestreNova.

Observa-se um singleto em 130,9 ppm (Figura 6) com média intensidade, entre dois dubletos, um em 128,53 ppm e outro em 135,8 ppm, sinais com maiores intensidades, estes podem ser inferidos aos C do grupo fenil do ligante da trifenilfosfina, pois estão em faixas de deslocamento químico característico (110-175 ppm) e o acoplamento dos átomos de C com o átomo de P resulta na multiplicidade observada (dubletos),dessa forma o singleto pode-se atribuir aos carbonos *para*, pois estão mais distantes do átomo de P, não sofrendo acoplamento e os dubletos aos carbonos *orto* e *meta*, contudo, não sendo possível atribuir cada sinal apenas com esta técnica. Por fim, há um pequeno dubleto em 135,9 ppm, de baixa intensidade, o qual está parcialmente sobreposto pelo sinal em 135,4 ppm, estando este na faixa de deslocamento químico característico de C de anel aromático, 110-175 ppm, pode-se atribuir este sinal aos C secundários ligados diretamente ao átomo de P da trifenilfosfina.

6.1.3 Caracterização do Precursor [Ru(ή-p-cimeno)(PPh₃)Cl₂] pelas técnicas de HSQC e HMBC.

Utilizou-se as técnicas de HSQC e HMBC, técnicas bidimensionais, que interrelacionam os espectros de RMN de ¹H e de ¹³C{¹H}, possibilitando avançar na caracterização estrutural dos compostos conferindo maior confiabilidade nas atribuições realizadas. A técnica HSQC permite a correlação dos sinais dos H e C diretamente ligados, sendo que a técnica de HMBC tal correlação pode ser realizada a longas distâncias.

Figura 7 – Análise bidimensional do espectro de RMN de ¹H e de ¹³C{¹H} do precursor [Ru(ή-p-cimeno)(PPh₃)Cl₂], pela técnica de HSQC.

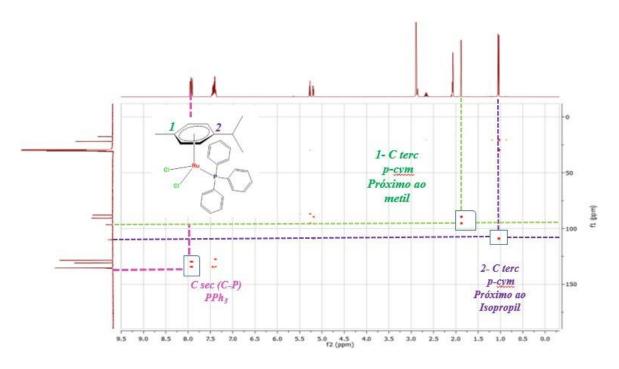


Fonte: Autoria própria, MestreNova.

Pelo experimento de HSQC, observando o espectro da Figura 7, confirmou-se que os H em 1,03 ppm encontram-se ligados aos C em 22 ppm, inferindo-os aos grupos metil do isopropil do *p*-cimeno, assim como os H em 1,87 ppm encontram-se ligados ao C em 17 ppm, confirmando estes como o do grupo metil ligado diretamente ao anel aromático do *p*-cimeno. Também, certifica as atribuições dos sinais ao ligante trifenilfosfina, em que os H em 7,41 ppm encontram-se ligados aos C em 128,58 ppm e 130,90 ppm, que pela integral de 9 átomos de H do RMN ¹H, confirma ser os C *meta* em 128,58 ppm e os *para* em 130,9 ppm, assim também atribui-se que os C em 135,47

ppm ligados aos H com sinal em 7,94 ppm (integral de 6 H) referem-se aos C *orto* da trifenilfosfina.

Figura 8– Análise bidimensional do espectro de RMN de ¹H e de ¹³C{¹H} do precursor [Ru(ή-p-cimeno)(PPh₃)Cl₂], pela técnica de HMBC.



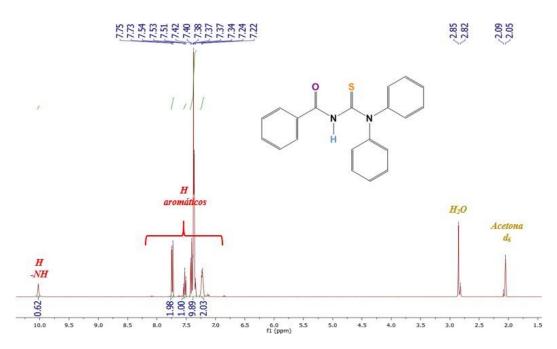
Fonte: Autoria própria, MestreNova.

Pela técnica HMBC, no espectro da Figura 8, pôde-se verificar que o C terciário em 110,1 ppm acopla-se com o sinal referente ao hidrogênio do CH₃ do grupo isopropil do *p*-cimeno, assim como que o C terciário em 96,6 ppm está acoplando com os H de 1,87 ppm, sinal do grupo –CH₃ ligado diretamente ao *p*-cimeno, dessa forma, possibilitou-se inferir o sinal de cada C terciário do *p*-cimeno. Também, tornou-se possível confirmar que o singleto em 135,9 ppm refere-se aos C secundários ligados diretamente ao átomo de P da trifenilfosfina, pois estão acoplando aos H *orto* da PPh₃.

6.1.4 Caracterização do Ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia por RMN de ¹H.

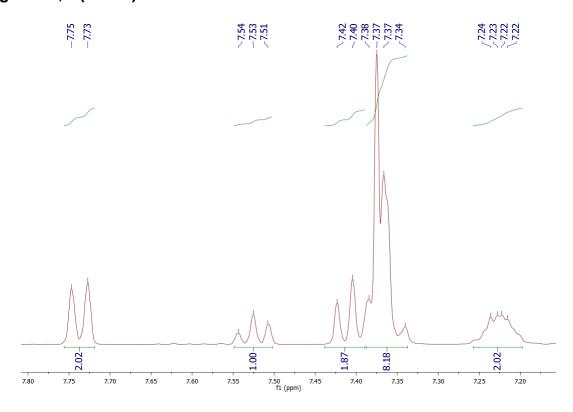
Na análise de RMN de ¹H utilizou-se a acetona deuterada como solvente, sendo observado seu sinal característico no espectro da Figura 9 em 2,06 ppm e o sinal em 2,86 indica a presença da água.

Figura 9 – Espectro de RMN de ¹H do ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia.



Fonte: Autoria própria, MestreNova.

Figura 10 – Aproximação da região aromática do espectro de RMN de ¹H do ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia.

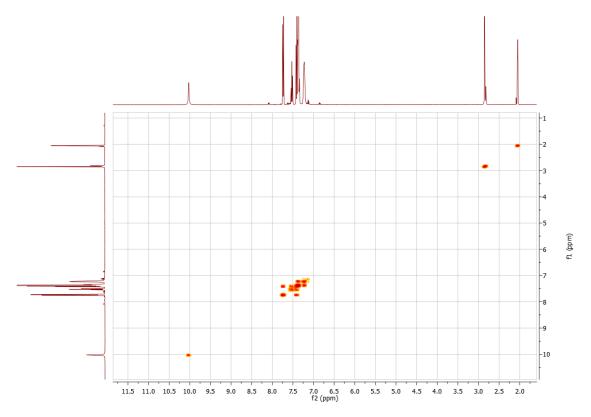


Observando-se o espectro (Figura 10) nota-se multipletos formados pelos sinais em 7,23 ppm com integral de 2 H, 7,38 ppm com integral de 8 H, 7,41 ppm com integral de 2 H e em 7,53 ppm com integral de 1 H. Havendo também um sinal em 7,74 ppm, o qual se assemelha a um dubleto com integral de 2 H, identificando assim estes sinais como sendo as regiões aromáticas do ligante, totalizando 15 átomos de hidrogênio aromáticos como o esperado. Na região mais desblindada do espectro há um sinal em 10,23 ppm (Figura 9), inferindo este ao H ligado ao N, visto que a eletronegatividade do N retira a densidade eletrônica do H, deixando-o nesta região característica.

6.1.5 Caracterização do Ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia por COSY.

A técnica de COSY permite a análise bidimensional entre as ligações H-H (Figura 11).

Figura 11 – Experimento bidimensional entre as ligações H-H do ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia, pela técnica de COSY.



Fonte: Autoria própria, MestreNova.

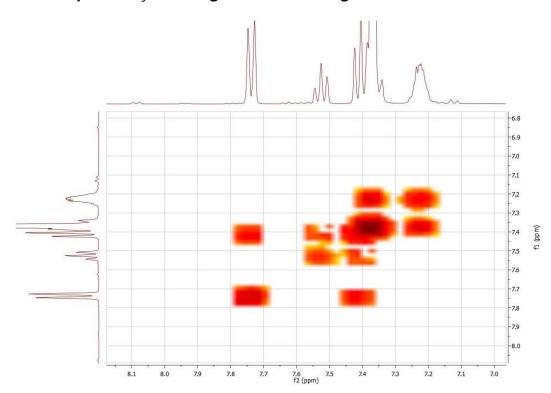


Figura 12 – Aproximação da região central da Figura 11.

Devido à proximidade dos sinais referentes aos H em regiões de 7,23 ppm ao 7,74 ppm (Figura 12) a análise de COSY de seus respectivos acoplamentos foi dificultada, o que se deve a sobreposição dos sinais. A interpretação deste experimento está expressa na Tabela 1.

Tabela 1 – Representação da análise do experimento de COSY do ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia.

(ppm)	2,05	2,86	7,23	7,37	7,41	7.53	7,74	10,03
2,05	Х							
2,86		Х						
7,23			Х	Х				
7.37			Х	Х				
7,41					Х	Х	Х	
7,53					Х	Х		
7,74					X		X	
10,03								Х

Fonte: Autoria própria.

As regiões coloridas da Tabela 1, representam as ilhas de acoplamentos, sendo a vermelha a ilha 1, a verde a ilha 2 e a amarela a ilha 3. Na ilha 1, os sinais em 7,23 ppm e 7,37 ppm referem-se ao acoplamento dos H *orto, meta* e *para,* no qual atribuise o sinal em 7,37 ppm aos H *orto* e *meta* dos dois anéis aromáticos ligados ao átomo de N, visto que este sinal possui uma integral de 8 H e os mesmos acoplam-se devido à proximidade dos sinais. O sinal em 7,23 ppm compreende aos H *para,* em virtude deste possuir uma integral de 2 H. A ilha 1 não evidencia acoplamento com as ilhas 2 e 3, o que corrobora com a atribuição dos dados.

As ilhas de acoplamento 2 e 3 estão integradas pela proximidade dos sinais, as quais correspondem aos H do anel aromático ligado ao grupo carbonila (C=O). O sinal em 7,53 ppm é o único que apresenta integral de 1 H, desta forma, atribui-se este sinal ao H *para*, que está interagindo apenas com os H *meta*, desse modo, estes últimos podem ser inferidos ao sinal em 7,41 ppm com integral de 2 H, correspondendo assim a ilha 2, que compreende ao acoplamento do H em 7,53 ppm com os H em 7,41 ppm. Em consequência o sinal em 7,74 ppm com integral de 2 H, reporta-se aos H *orto*, o que é coerente, pois este sinal está numa região mais desblindada, devido ao grupo carbonila, retirador de densidade eletrônica e interagindo apenas com os H *meta* em 7,41 ppm, correspondendo a ilha 3.

6.1.6 Caracterização do Ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹³C{¹H}.

No espectro de RMN de ¹³C{¹H} (Figura 13) os sinais observados em 29,93 ppm e 206,26 ppm compreendem ao solvente utilizado na análise, acetona deuterada, sendo o primeiro sinal referente ao carbono dos grupos CH₃ e o segundo ao carbono da carbonila (PAIVA, 2013, 655 p).

Figura 13 – Espectro de RMN de ¹³C{¹H} do ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia.

C- 1

C- 2

C-15 C-

140

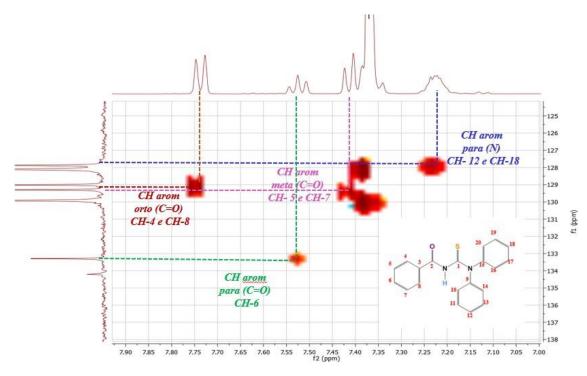
130 120 f1 (ppm)

Observando-se a região mais desblindada do espectro há sinais de baixa intensidade em 185,12 ppm, 163,88 ppm, 147,00 ppm e em 134,32 ppm, sendo que o sinal em 185,12 ppm pode ser atribuído ao C do grupo C=S ligado diretamente aos átomos de N e S, devido à elevada eletronegatividade destes átomos, que retiram densidade eletrônica do C. O sinal em 163,88 ppm pode ser inferido ao C da carbonila (C=O), por estar ligado diretamente ao átomo de O, o qual segue-se essa perspectiva dos sinais mais desblindados pela maior proximidade dos átomos eletronegativos, ao sinal em 147,00 ppm sugere-se aos C quimicamente idênticos dos anéis aromáticos ligados ao N e o sinal em 134,32 ppm, pode ser atribuído ao C aromático ligado à carbonila (C=O). Contudo não se faz possível apenas com esta técnica atribuir os sinais em 133,30 ppm, 129,92 ppm, 129,30 ppm, 129,1 ppm, 128,1 ppm e 127, 88 ppm.

6.1.7 Caracterização do Ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia pelas técnicas de HSQC e HMBC.

Pela técnica de HSQC, pôde-se atribuir os sinais dos H ligados aos seus respectivos C.

Figura 14 – Análise bidimensional do espectro de RMN de ¹H e de ¹³C{¹H} do ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia], pela técnica de HSQC.



Observando-se o espectro da Figura 14, o sinal dos H em 7,23 ppm com integral de 2 H, está ligado aos C em 127,88 ppm, inferindo a estes aos C *para* dos anéis aromáticos ligados ao N, o sinal em 7,37 ppm, atribuídos no COSY aos H *ortoe meta* destes mesmos anéis aromáticos, apresentam-se ligados aos C com sinais em 128,11 e 129,92 ppm, não sendo possível diferenciar com precisão os C *meta* dos*orto*. O sinal em 7,41 ppm com integral de 2 H encontra-se ligado aos C em 129,30 ppm, o qual foi atribuído na análise de COSY aos H *meta*, do anel aromático ligado àcarbonila, já o sinal em 7,53 ppm está ligado ao C em 133,30 ppm, sendo este o C *para* deste mesmo anel aromático e por fim os H em 7,74 ppm ligados aos C em 129,01 ppm, sendo os C *orto*.

Na análise de HMBC, confirmou-se algumas atribuições devido as interações dos sinais.

C-arom sec (C=O)

C-3

140

C-qrom sec (N)

C-9 e C-15

150

C-9 e C-15

150

160

165

170

175

Figura 15 – Análise bidimensional do espectro de RMN de ¹H e de ¹³C{¹H} do ligante N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia], pela técnica de HMBC.

Observando o espectro da Figura 15, nota-se que o sinal do C em 147 ppm interage com os H em 7,38 ppm e 7,23 ppm, confirmando assim, a inferência desses C secundários, sendo-os ligados diretamente ao átomo de N. Também possibilita verificar que o sinal do C secundário em 134,32 ppm interage com maior intensidade com os H em 7,74 ppm e 7,41 ppm, além de interagir menos intensamente com os H em 7,53 ppm, constatando-se este como o C aromático ligado à carbonila. Em sequência, verifica-se que o sinal do C em 163,38 ppm interage com os H em 7,74 ppm, atestando-se este como o C da carbonila, assim como, corrobora com a atribuição dos H em 7,74 ppm correspondentes aos H *orto* deste anel aromático.

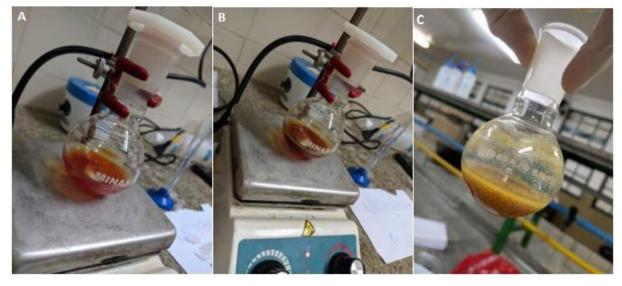
6.2 Complexo [Ru(η^6 -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF₆)]

6.2.1 Análise da Síntese do complexo [Ru(η^6 -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF₆)]

Na síntese do complexo utilizou-se o sal bicarbonato de sódio NaHCO₃ para abstrair o próton ligado ao átomo de N do ligante aciltioureia, propiciando um melhor ambiente químico para a ocorrência da reação. Inicialmente, obteve-se uma solução

laranja avermelhada (Figura 16_(A)), após retirar da agitação, a solução apresentou uma coloração amarelo acastanhado (Figura 16_(B)), nesta, adicionou-se o sal NH₄PF₆ o qual fornece o contra íon PF₆-, pois, conforme a literatura os complexos de rutênio com ligantes aciltioureias possuem como modo de coordenação mais frequente o bidentado (S,O). Considerando tal comportamento é de se esperar que o complexo sintetizado tenha forma catiônica, partindo-se disto, o contra íon estabiliza a carga e facilita a precipitação do complexo, e ao adicionar a água resfriada obteve-se um precipitado amarelo escuro (Figura 16 _(C)), coloração comum de complexos catiônicos de rutênio com ligantes aciltioureias, com rendimento de 87,77%.

Figura 16 – Fases da síntese do complexo [Ru(η^6 -p-cimeno)(PPh₃)(T)](PF₆)]. (A) Solução no momento inicial; (B) Solução após agitação magnética; (C) Solução com o complexo precipitado.



Fonte: Autoria própria.

6.2.2 Caracterização do Complexo [Ru(η⁶-*p*-cimeno)(PPh₃)(T)](PF) por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ³¹P{¹H}.

Utilizou-se a técnica de RMN de ³¹P{¹H} para a caracterização do complexo, devido a existência do átomo de fósforo na estrutura de um de seus ligantes, a trifenilfosfina. Esta técnica fornece informações quanto a pureza do composto obtido.

RMN ³¹P{¹H}

Figura 17 – Espectro de RMN de $^{31}P\{^{1}H\}$ do complexo [Ru(η^{6} -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF₆).

O espectro de RMN de ³¹P{¹H} (Figura 17) do composto apresentou um sinal bem definido em 35,47 ppm, um singleto, indicando-se a obtenção de um complexo puro. Além deste há também outro sinal, um hepteto, na região de 135,89 a 153,33 ppm, referente ao átomo de fósforo do PF₆-, confirmando a presença do contra-íon. Tal multiplicidade se dá devido ao acoplamento do átomo de fósforo com os átomos de flúor.

6.2.3 Caracterização do Complexo [Ru(η^6 -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF) por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de 1 H.

Na análise de RMN de ¹H utilizou-se a acetona deuterada como solvente, sendo observado seu sinal característico no espectro em 2,05 ppm.

 CH_3 CH3 Isop p-cvm Acetoni E (d) 5.23 C(s) 1.87 H arom -CH PPh3 e (T) arom p-cvm -CH Isop p-cym 888 6.5 5.5 3.5 3.0 2.5 2.0 4.5 f1 (ppm)

Figura 18 – Espectro de RMN de ¹H do complexo [Ru(η^6 -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF₆).

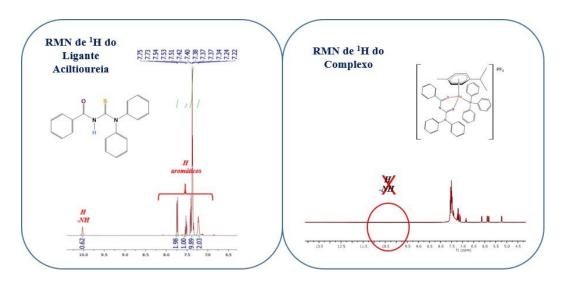
Observando-se o espectro da Figura 18, nota-se alguns sinais similares ao do precursor em regiões similares, têm-se um multipleto na região de 1,26 a 1,29 ppm, que compreende a região característica de grupos -CH₃. A integral destes sinais indica a presença de 6 átomos de H, induzindo que os mesmos referem-se aos dois grupos metil (-CH₃) do isopropil do ligante *p*-cimeno. O singleto em 1,87 ppm com integral 3,02, indica a presença de 3 átomos de H, podendo-se atribuí-lo ao grupo metil (-CH₃) ligado diretamente ao anel aromático do *p*-cimeno. Há um hepteto em 2,84 ppm, sinal característico do grupo -CH ligado a anel aromático, por ser um hepteto pode identificar este como o grupo -CH do isopropil (PAIVA, 2013, 632 p).

Nota-se quatro dubletos de baixa intensidade, em 5,23, 5,81, 5,88 e 6,13 ppm, cada um destes sinais possuem integral de 1 H, indicando no total a presença de 4 átomos de H, atribuindo estes sinais aos H do anel aromático do *p*-cimeno, pois apesar de H ligados a anéis aromáticos ficarem em faixas de 6,5-8,0 ppm, essa diferença no deslocamento químico deve-se a influência do fenômeno de retroação, como já mencionado anteriormente. Dessa forma, apenas com esta técnica não é possível realizar a atribuição especifica desses hidrogênios aromáticos (PAIVA, 2013, 632 p).

Observa-se também multipletos entre as faixas de 6,84 ppm a 7,59 ppm, sinais característicos de H ligados a anéis aromáticos, podendo-se inferir estes sinais aos H

aromáticos do ligante trifenilfosfina e da aciltioureia, visto que as integrais destes multipletos totalizam 30 H, contudo, apenas com esta técnica não se faz possível distingui-los.

Figura 19– Comparação região aromática espectro de RMN de ¹H do complexo com espectro de RMN de ¹H do Ligante Livre.



Fonte: Autoria própria, MestreNova.

Na Figura 19, é possível observar na região mais desblindada do espectro de RMN de ¹H do ligante aciltioureia o sinal em 10,23 ppm referente ao H do grupo –NH, presente apenas no ligante livre, pois este sinal não é encontrado após a coordenação, como mostra no RMN de ¹H do complexo dessa região, certificando assim, a desprotonação do ligante, que coordena-se ao rutênio em sua forma aniônica, indicio que viabiliza a coordenação bidentada via átomos de S e O.

6.2.4 Caracterização do complexo $[Ru(\eta^6-p\text{-cimeno})(PPh_3)(T)](PF_6)$ por Espectroscopia de Correlação (COSY).

A técnica de COSY permite a análise bidimensional entre os acoplamentos H-H como mostra a Figura 20.

Figura 20 – Experimento bidimensional entre os acoplamentos H-H do complexo $[Ru(\eta^6-p\text{-cimeno}) (PPh_3)(T)](PF_6)$ pela técnica de COSY.

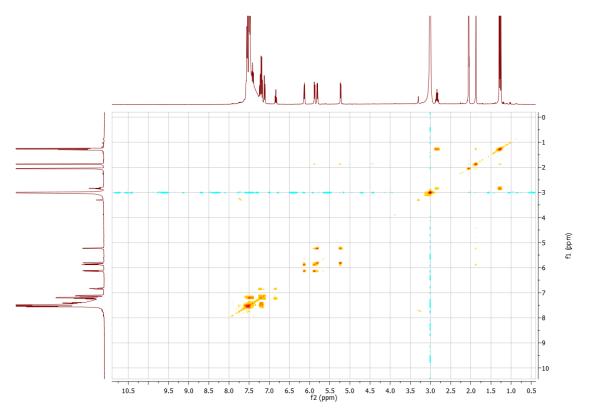
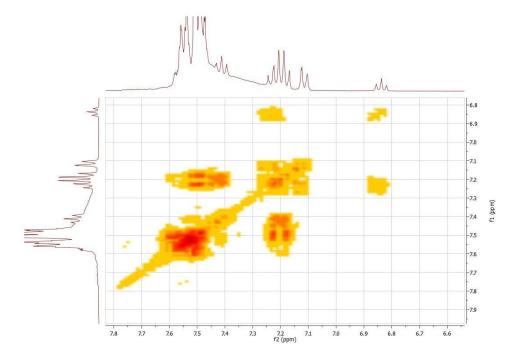


Figura 21 – Aproximação da Figura 20, região aromática do complexo [Ru(η^6 -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF₆).



Fonte: Autoria própria, MestreNova.

Devido à proximidade dos sinais referentes aos H nas regiões de 6,84 ppm a 7,50 ppm (Figura 21) a análise de COSY de seus respectivos acoplamentos foi dificultada, o que se deve a sobreposição dos sinais. Sugerindo-se uma análise expressa na Tabela 2 abaixo.

Tabela 2 – Representação análise de COSY do complexo [Ru(η^6 -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF₆).

	1,26	1,29	1,87	2,84	5,23	5,81	5,88	6,13	6,84	7,12	7,21	7,50
1,26	Х	Х		Х								
1,29	Х	Х		Х								
1,87			Х		•		•					
2,84	Χ	Χ		Χ								
5,23			•		X	X						
5,81					Х	Х						
5,88							Х	Х				
6,13							Х	Х				
6,84									Х	•	Х	
7,12									•	Χ	Χ	
7,21									Х	Χ	Х	Х
7,50											Х	Х

Fonte: Autoria própria.

As regiões coloridas representam as ilhas de acoplamentos, sendo a verde escura a ilha 1, a vermelha a ilha 2, a amarela a ilha 3, a rosa a ilha 4, dentro desta observa-se a azul escuro que corresponde a ilha 5, sobreposta a essa tem-se a azul claro como a ilha 6. Os pontinhos pretos, representam uma interação de baixa intensidade.

Na ilha 1, observa-se que os sinais em 1,26 e 1,29 ppm sofrem acoplamento e possuem integral total de 6 H, confirmando assim estes como os H dos grupos –CH₃ do isopropil do *p*-cimeno, além de que estes acoplam-se com o sinal em 2,84 ppm, o qual possui integral de 1 H e por ser um hepteto, atesta-se como sendo o H do grupo –CH do isopropil do *p*-cimeno. O sinal em 1,87 ppm, interage apenas consigo mesmo e possui pequenas interações de baixa intensidade com os sinais em 5,23 e 5,88 ppm, reforçando a atribuição deste sinal ao grupo metil (-CH₃) ligado diretamente ao anel aromático do *p*-cimeno. A ilha 2 em vermelho, compreende ao acoplamento dos sinais

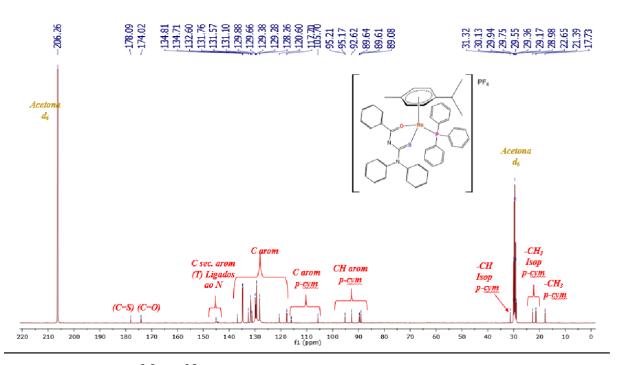
em 5,23 ppm e 5,81 ppm, já a ilha 3 em amarelo, trata-se do acoplamento entre os sinais em 5,88 e 6,13 ppm, interações que contribuem para as inferências destes sinais aos H aromáticos do *p*-cimeno.

Observa-se que as ilhas 4, 5, e 6, são acoplamentos que se sobrepõem, com isto torna-se difícil diferenciar os H aromáticos apenas com esta técnica.

6.2.5 Caracterização do complexo [Ru(η^6 -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF₆) por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de 13 C{ 1 H}.

Realizou-se a caracterização do complexo pela técnica de RMN de ¹³C{¹H}. Observando o espectro da Figura 22, os sinais em 29,55 ppm e 206,26 ppm compreendem ao solvente utilizado na análise, acetona deuterada, sendo o primeiro sinal referente ao carbono dos grupos -CH₃ e o segundo ao carbono da carbonila (PAIVA, 2013, 655 p).

Figura 22 – Espectro de RMN de $^{13}C\{^1H\}$ do complexo [Ru(η^6 -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF₆).



Fonte: Autoria própria, MestreNova.

Observa-se três sinais em 17,73 ppm, 21,39 e 22,65 ppm, cujo deslocamentos químicos são característicos de grupos metil (-CH₃), que compreendem a faixa de 8-30 ppm. Sugere-se o sinal em 17,73 ppm ao carbono do grupo metil ligado diretamente ao anel aromático do *p*-cimeno, estando mais blindado quando compara-se aos grupos metil do grupo isopropil do *p*-cimeno, os quais podem ser atribuídos aos sinais em 21,39 e 22,65 ppm. O sinal em 31.32 ppm compreende a faixa característica de

grupos –CH, sendo atribuído ao carbono do grupo –CH do isopropil do *p*-cimeno (PAIVA, 2013, 644 p).

Nota-se no espectro (Figura 22), quatro sinais em 89,08 ppm, 89,61 ppm, 92,62 ppm e 95,19 ppm, atribuindo estes aos quatro C do anel aromático do *p*-cimeno, os quais deveriam possuir deslocamento químico característicos em faixas de 110-175

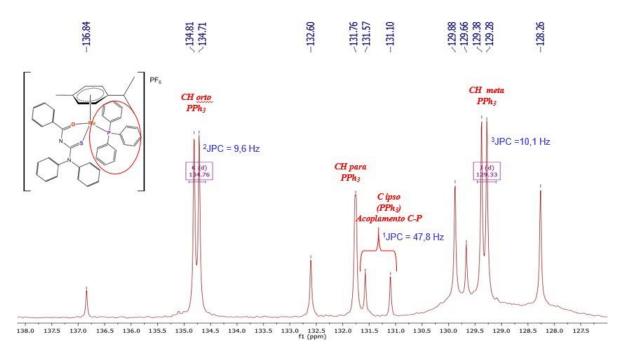
ppm, mas que ficam em uma região mais blindada devido ao fenômeno de retrodoação, porém, somente com essa técnica não torna-se possível atribuir cada sinal ao seu respectivo carbono. Há dois sinais de baixa intensidade em 105,70 ppm e em 115,95 ppm, que podem ser atribuídos aos C aromáticos terciários do *p*-cimento, os sinais destes carbonos aromáticos encontram-se em uma região mais blindada, também devido ao fenômeno da retrodoação. Contudo, apenas com esta técnica não se faz possível atribuir qual é o C correspondente a cada sinal (PAIVA, 2013, 644 p).

Os sinais que compreendem a região de 117,7 ppm a 136, 84 ppm, constituem os sinais dos carbonos aromáticos, região de maior dificuldade de atribuições de sinais, dentre estes observa-se na Figura 23, três dubletos, um em 129,33 ppm, outro em 131,33 ppm e outro em 134,76, sugere-se a estes sinais aos carbonos do grupo fenil do ligante da trifenilfosfina, pois o acoplamento dos átomos de C com o átomo de P resulta na multiplicidade observada (dubletos). Sendo os dubletos em 129,33 e 134,76 ppm de maior intensidade, sugerindo a estes aos C *orto* e *meta*, por estes sofrerem acoplamento com o átomo de P, todavia, não sendo possível diferenciá-los apenas com esta técnica. Já o dubleto de menor intensidade em 131,33 pode-se sugerir a este como sendo aos C secundários ligados diretamente ao átomo de P (C acoplando-se com P é chamado de Ipso). Sugere-se que o sinal de média intensidade em 131,76 pode ser atribuído aos C *para*, pois estão mais distantes do átomo de P, não sofrendo acoplamento e portando não gerando multiplicidade.

Um modo de se distinguir os carbonos ipso, *orto* e *meta* de forma confiável do ligante trifenilfosfina baseia-se nas constantes de acoplamento C-P. Comumente no ligante livre, estes acoplamentos apresentam-se na ordem ²JPC>¹JPC>³JPC, no entanto, após a coordenação do ligante, essa ordem sofre uma alteração, ¹JPC>³JPC>²JPC, em consequência da perda do par isolado de elétrons do átomo de fósforo (KÜHL, 2008). Constatando-se este comportamento no complexo, onde observou-se ¹JPC (C_{ipso}) em torno de 47,8 Hz, ³JPC (C_{meta}) 10,1 Hz e ²JPC (C_{orto}) 9,6

Hz, e como esperado não houve acoplamento P-C para o C *para*. Os demais sinais desta região aromática não se fazem possível atribuí-los apenas com esta técnica.

Figura 23 – Aproximação da Figura 22, região aromática do complexo [Ru(η^6 -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF₆).



Fonte: Autoria própria, MestreNova.

Por fim observa-se na Figura 22, quatro sinais de baixa intensidade em 144,35 ppm, 145,03 ppm, 174,02 ppm e 178,09 ppm, sugerindo os sinais em 144,35 e 145,03 aos C secundários do ligante aciltioureia ligados diretamente ao átomo de N, por estarem em uma região desblindada. O sinal em 174,02 ppm pode ser atribuído ao C da carbonila (C=O) do ligante aciltioureia, pois encontra-se numa região desblindada e numa faixa de deslocamento químico característico de carbonila ligada ao N, que compreende faixas entre 155-185 ppm. Já o sinal em 178,09 ppm, o mais desblindado, pode ser atribuído ao C ligado ao átomo de S, que também está ligado a dois átomos de N, os quais são átomos eletronegativos e consequentemente retiram densidade eletrônica, deixando o C mais desblindado (PAIVA, 2013, 644 p).

A coordenação bidentada (S,O) do ligante aciltioureia, tende a ser a mais comum e para suportar a inferência desta, pode-se analisar o deslocamento químico dos sinais referentes ao C=O e C=S do ligante livre para o complexo, os mesmos costumam apresentar significativos deslocamentos, próximos a 10 ppm. Em sequência a coordenação bidentada (S,O), segue uma tendência em que o sinal C=S quando coordenado passa de uma região mais desblindada do espectro para uma

região mais blindada, em contra partida, o sinal C=O passa de uma região mais blindada para uma região mais desblindada do espectro (CUNHA, 2018).

No presente complexo, observando o espectro de RMN de ¹³C{¹H} do ligante livre o sinal C=O encontra-se na região de 163,88 ppm e o sinal C=S em 185,12 ppm, após a coordenação nota-se que estes sinais no complexo sofrem pronunciados deslocamentos, no qual o C=O passa para uma região de 174,02 ppm e o C=S para 178,09 ppm, havendo os deslocamentos de 10,14 ppm e 7,03 ppm, respectivamente. Este comportamento se deve à deslocalização dos elétrons no quelato de seis membros, formado após a complexação da aciltioureia ao rutênio, dando ao composto uma maior estabilidade, o que justifica esta forma de coordenação (S,O) ser a mais comum. Além de manter-se a tendência em que o sinal C=O passou para uma região mais desblindada do espectro, enquanto o C=S passou para uma região mais blindada do espectro, comportamento este, no qual pode estar relacionado com uma deslocalização de carga dos átomos de N para o grupo C=S, compensando a perda de carga do átomo de S com a coordenação. Assim, o grupo C=O perde um pouco da sua densidade eletrônica devido demanda de carga do átomo de N para o S (CUNHA, 2018).

6.2.6 Caracterização do complexo [Ru(η^6 -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF₆) pelas técnicas de HSQC e HMBC.

Como a técnica HSQC permite a correlação dos sinais dos hidrogênios e carbonos diretamente ligados, pela análise do espectro (Figura 24), construiu-se a Tabela 03 com as correlações dos C e seus respectivos H.

Figura 24 – Análise bidimensional do espectro de RMN de 1H e de $^{13}C\{^1H\}$ do complexo [Ru(η^6 -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF₆) pela técnica de HSQC.

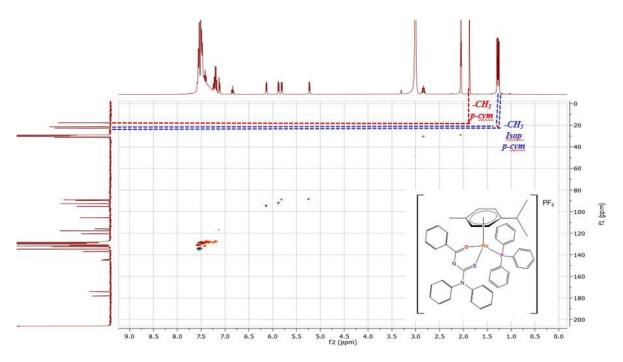


Tabela 3 – Representação da análise de HSQC do complexo [Ru(η^6 -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF₆).

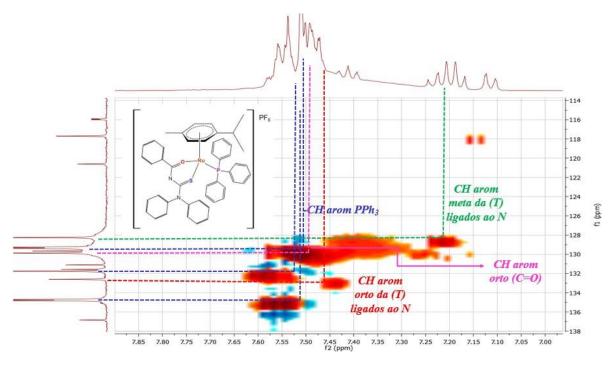
Sinais do espectro de RMN de ¹ H (ppm)	Integrais sinais RMN de ¹ H	Sinais do espectro de RMN de ¹³ C{ ¹ H} (ppm)
1,26	3 H	22,65
1,29	3 H	21,39
1,87	3 H	17,73
2,84	1 H	31,32
5,24	1 H	89,09
5,81	1 H	89,61
5,88	1 H	92,62
6,13	1 H	95,19
6,84	1 H	120,60
7,12	1 H	117,70
7,21	4 H	128,26
7,50	24 H	129,33 (PPH ₃); 129,66; 129,88; 131,76 (PPH ₃); 132,60, 134,76 (PPH ₃).

Fonte: Autoria própria.

Pela HSQC (Figura 24), confirmou-se que os H em 1.26 e 1,29 ppm encontram-se ligados aos C em 22,65 e 21,39 ppm respectivamente, inferindo-os aos grupos metil do isopropil do *p*-cimeno, assim como os H em 1,87 ppm encontram-se ligados ao C em 17,73 ppm, confirmando este como o grupo metil ligado diretamente ao anel aromático do *p*-cimeno. Também corrobora com as atribuições dos sinais do ligante

trifenilfosfina (Figura 25), em que os H em 7,50 ppm encontram-se ligados aos C em 129,33 ppm, 131,76 ppm e 134,76 ppm, que pela integral de 24 átomos de H do RMN ¹H, 9 H destes, são do ligante trifenilfosfina.

Figura 25 – Aproximação da Figura 24, região aromática do complexo [Ru(η^6 -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF₆).

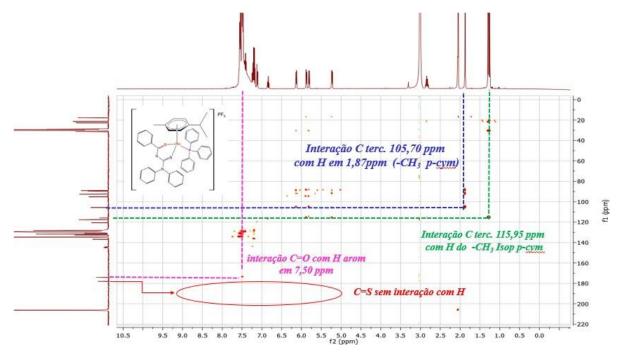


Fonte: Autoria própria, MestreNova.

É notável que a região aromática (Figura 25) possui um maior grau de dificuldade em inferir com certeza os sinais e mesmo pela HSQC a diferenciação dos sinais dos anéis aromáticos do ligante aciltioureia torna-se complexa. Desta forma, supõe-se que os H em 7,21 ppm ligados aos C em 128,26 ppm, referem-se as posições *meta* dos anéis aromáticos ligados ao átomo de N, visto que, os H em 7,21 ppm possui integral de 4 H e pelo COSY este sinal possui diversas interações formando diferentes ilhas de acoplamento, assim este tende a ser um H *meta*. Ainda, o mesmo possui interações com os H em 6,84 ppm e 7,12 ppm ligados aos C em 120,60 e 117,70 ppm respectivamente, estes sinais possuem integrais de 1 H cada, induzindo-se que estes compreendem aos H *para*. Neste sentido, o sinal em 7,50 ppm com integral de 24 H, ligados aos C em 129,33 ppm (PPH₃); 129,66 ppm; 129,88ppm; 131,76 ppm (PPH₃); 132,60 ppm, 134,76 ppm (PPH₃), pode-se sugerir a atribuição do sinal em 132,60 ppm a posição *orto* destes anéis aromáticos, por estar em uma região desblindada devido à proximidade com o átomo de N. Haja vista, quepelas atribuições feitas ao ligante trifenilfosfisna, falta atribuir 5 H do sinal em 7,50

ppm, que pela HSQC, este sinal possui acoplamento com o C em 129,66 ppm e 129,88 ppm, podendo-se atribuir estes como sendo os sinais dos C do anel aromáticoligado diretamente à carbonila do ligante aciltioureia, apesar de não ser possível diferenciálos com certeza, sugere-se o sinal em 129,66 ppm aos C *meta* e *para,* e o sinal em 129,88 ppm aos C *orto*, por ser um pouco mais desblindado devido à maior proximidade com a carbonila.

Figura 26 – Análise bidimensional do espectro de RMN de 1 H e de 13 C $\{^1$ H $\}$ do complexo [Ru(η^6 -p-cimeno) (PPh₃)(T)](PF₆), pela técnica de HMBC.



Fonte: Autoria própria, MestreNova.

Pela técnica HMBC (Figura 26), pôde-se verificar que o C terciário em 115,95 ppm possui maior interação com o H em 1,26 e 1,29 ppm atribuídos aos — CH₃ do isopropil do *p*-cimeno, assim como, o C terciário em 105,70 ppm interage com os H de 1,87 ppm, dessa forma, possibilitou-se inferir o sinal de cada C terciário do *p*-cimeno, confirmando a sugestão realizada durante a análise dos espectros de RMN de ¹³C{¹H}. Também tornou-se possível confirmar as posições dos -CH aromáticos do *p*-cimeno, pois ao analisar o sinal referente ao C em 17,73 ppm, nota-se que este acopla com os H em 5,23 e 5,88 ppm, portanto estes estão mais próximos do grupo metil, enquanto que o C em 31,32 ppm (-CH do isopropil) interage com os H em 5,81 e 6,13 ppm, assim estes estão mais próximos do grupo isopropil do *p*-cimeno. Além de corroborar na confirmação das sugestões dos C do C=S e C=O do ligante aciltioureia, pois o sinal em 178.09 ppm inferido ao C=S, não possui nenhum

acoplamento com átomos de H, o que é esperado, visto que o mesmo está entre dois átomos de N, já o sinal em 174,02 ppm atribuído ao C=O, o qual está ligado a um anel aromático, interage com o sinal em 7,50 ppm, região aromática do espectro de RMN de ¹H.

6.2.7 Análise de Condutividade Molar

A condutividade molar varia com a concentração dos eletrólitos em solução, de modo que com a labilização dos ligantes cloro do precursor para a coordenação do ligante aciltioureia via modo bidentado (S e O), o complexo muda de carga neutra para forma catiônica com carga (+1), apresentando desta forma, condutividade elétrica. Assim, os dados da condutividade molar permitem a determinação da proporção dos eletrólitos presentes no composto, o qual apresentou o valor de condutividade de 53,9 ohm-1cm2mol-1.Tal valor compreende a faixa de 12-77 do solvente diclorometano, o qual foi realizado na análise, (VELHO, 2006), indicando a proporção de eletrólitos 1:1 como esperado, sendo mais um indicativo do modo de coordenação do complexo, suportando assim a carga do composto e a presença do contra-íon PF₆, como já descrito na análise do espectro de RMN ³¹P{¹H}.

6.2.8 Análise do Ensaio de Citotoxicidade

O valor de IC₅₀ do complexo em análise, avaliado para a linhagem tumoral de mama (MDA-MB-231) foi de 1,34 \pm 0,19 μ M, apresentando-se como valor promissor, pois, a atividade citotóxica do composto em estudo foi consideravelmente maior comparado ao do fármaco de referência, cisplatina (2,44 μ M). Ressaltando que, a coordenação do ligante aciltioureia ao rutênio, apresentou significativo aumento na citotoxicidade do composto, visto que o valor de IC₅₀ do precursor para a mesma linhagem tumoral é de 21,63 \pm 1,31 μ M e do ligante livre > 200 μ M (CUNHA, 2018; PLUTIN, et al., 2014).

O ligante trifenilfosfina também apresenta relevância na estrutura do complexo, visto que, segundo a literatura apresentaram atividade citotóxica da ordem de 80 vezes maior comparado aos complexos análogos sem este ligante (CUNHA, 2018). Bem como em pesquisas com compostos de Pd(II) com ligantes, trifenilfosfina e aciltioureias, no qual evidenciaram satisfatórios resultados para diferentes linhagens tumorais de próstata DU-145 e mama MDA-MB-231 (PLUTIN, et al., 2014).

7. CONCLUSÃO

Realizou-se a síntese e obteve-se um composto de coloração amarelo escuro, propriedade física comum de complexos catiônicos de rutênio coordenados a ligantes aciltioureia, com rendimento de 87,77%. Realizou-se a caracterização por meio de medidas de condutividade molar e através da técnica de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹H, ¹³C{¹H} e ³¹P{¹H}, assim como por análises com técnicas bidimensionais HSQC, HMBC e COSY. Por meio dos dados de condutividade molar, permitiu-se verificar a obtenção de um complexo catiônico de carga (+1) devido a proporção dos eletrólitos 1:1, sendo um indicativo do modo de coordenação bidentada via (S e O). A análise do espectro de ¹³C{¹H} do complexo também suporta a inferência

desta coordenação, devido a observação do deslocamento químico dos sinais referentes ao carbono dos grupos C=O e C=S do ligante livre para o complexo, onde os mesmos costumam apresentar significativos deslocamentos, próximos a 10 ppm. Tal tendência foi observada, pois no ligante livre o sinal do carbono, C=O, encontrase na região de 163,88 ppm e o sinal do carbono do C=S em 185,12 ppm, após a coordenação nota-se que estes sinais no complexo sofrem pronunciados deslocamentos, no qual o C=O passa para uma região de 174,02 ppm e o C=S para 178,09 ppm, havendo os deslocamentos de 10,14 ppm e 7,03 ppm, respectivamente.

As análises dos espectros permitiram verificar a obtenção do composto de interesse, o complexo [Ru(η^6 -p-cimeno)(PPh₃)(T)](PF₆)], onde PPh₃ = trifenilfosfina e T= N,N-(difenil)-N'-benzoiltioureia, com pureza apreciável. Apresentando uma estrutura semi-sanduíche ("piano-stool"), em que o rutênio possui uma geometria pseudo-octaédrica. Desta forma, o ligante p-cimeno ocupa três dos seis sítios de coordenação, hapticidade η^6 , ao passo que os outros três sítios são ocupados pela a coordenação do ligante trifenilfosfina e do ligante aciltioureia. Por fim, o valor de IC₅₀ para a linhagem tumoral de mama (MDA-MB-231) de 1,34± 0,19 μ M, confirmou a esperada atividade citotóxica do complexo, além de apresentar-se como resultado promissor, pois foi consideravelmente maior que o fármaco de referência, cisplatina, do precursor e do ligante livre, evidenciando que este composto de fato é promissor.

8. REFERÊNCIAS

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. Disponivel em: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/livro-abc-4-edicao.pdf > acesso em 15 de out. 2020.

BACAC, M.; STAMENKOVIC, I. Metastatic cancer cell. **Annual review of pathology**, v.3, p.221-247, 2008.

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.

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, n.38, p.12865, 2017.

COSTICH, T.L.; SETHURAMAN, J.; CROUSE, R.; BAKEWELL, S. Abstract 284: IT-139 holds potential for combination therapy. **Cancer Research**, v.76 (14 Supplement): p.284, 2016.

CUNHA, B. N. Avaliação das Propriedades Anticâncer de Compostos Organometálicos de Ru(II) com Aciltioureias. 2018. **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.

CUNHA, B. N.; et al. Selective Coordination Mode of Acylthiourea Ligands in Half-Sandwich Ru(II) Complexes and Their Cytotoxic Evaluation. **Inorganic Chemistry**, v.59, n.7, p.5072-5085, 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, 2007.

FRIGO, L. F.; ZAMBARDA,S.O; Câncer do colo de útero: efeitos do tratamento. **Cinergis**, v.16, n.3, p. 164-168, 2015.

INCA. Estimativa | 2020 Incidência de Câncer no Brasil. Ministério da Saúde, Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), Rio de Janeiro-RJ, 2019. Disponível em: < https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>. Acessado em: 08 de fevereiro de 2020.

KÜHL, O. **Phosphorus-31 NMR Spectroscopy:** A Concise Introduction for the Synthetic Organic and Organometallic Chemist. Ed. Springer, 2008.

- LUQMANI, Y. A. Mechanisms of drug resistance in cancer chemotherapy. Medical principles and practice: **international journal of the Kuwait University**, Health Science Centre, 14 Suppl v.1, p.35, 2005.
- MARTELLO, C. L. Desenvolvimento e caracterização de duas linhagens celulares de adenocarcinoma de pulmão com níveis clinicamente relevantes de resistência à cisplatina. 2018. **Dissertação de Mestrado (Biologia Celular e Molecular)** Centro de Biotecnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS.
- MENEGATTI, R; et al. A Importância da Síntese de Fármacos. **Qnesc,** n.3, 2001.
- MJOS, K.D.; ORVIG, C. Metallodrugs in medicinal inorganic chemistry. **Chemical reviews**, v.114, n.8, p.4540-4563, 2014.
- MUETTERTIES, E.L.; BLEEKE, J.R.; WUCHERER, E.J. & ALBRIGHT, T. Structural, stereochemical, and electronic features of arene-metal complexes. **Chemical reviews**, v.82, n.5, p.499, 1982.
- OPAS Brasil. Folha Informativa- Câncer. Organização Pan-Americana de Saúde/ Organização Mundial de Saúde, 2018. Disponível em:<https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5588 :folha-informativa-cancer&Itemid=1094 >. Acessado em 08 de fevereiro de 2020.
- PAIVA, D. L; et al. **Introdução à espectroscopia**. Revisão técnica Paulo Sergio Santos; [tradução Pedro Barros]. São Paulo: Cengage Learning, p.632-655, 2013.
- PLUTIN, A. M.; et al. On the cytotoxic activity of Pd(II) complexes of N,N-disubstituted-N'-acyl thioureas. **Journal of inorganic biochemistry**, v.134, p.76, 2014.
- SAEED, A.; FLÖRKE, U.; ERBEN, M.F. A review on the chemistry, coordination, structure and biological properties of 1-(acyl/aroyl)-3-(substituted) thioureas. **Journal of Sulfur Chemistry**, v. 35, n.3, p. 318. 2013.
- 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, n.3, p. 221, 2010.
- SANGI, D. P.; Estratégias de Síntese na Descoberta de Fármacos: O Emprego da Síntese Orientada pela Diversidade Estrutural. **Quim. Nova**, v. 39, n. 8, 995-1006, 2016.
- SHAKEEL, A.; Thiourea Derivatives in Drug Design and Medicinal Chemistry: A Short Review. **Journal of Drug Design and Medicinal Chemistry**, v.2, n.1, p.10, 2016.
- TOCHER, J.H.; DALE, L.D.; DYSON, T.M.; EDWARDS, D.I. & TOCHER, D.A. Studies on DNA damage and induction of SOS repair by novel multifunctional bioreducible compounds. II. A metronidazole adduct of a ruthenium-arene compound. **Anti-cancer drug design**, v.7, n.1, p.3, 1992.

VELHO, R. G. Programa de Pós-Graduação em Química -UFSCar, 2006. **Dissertação de Mestrado**, 60 p.