



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ANALU ROCHA COSTA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE SULFÓXIDO DE RUTÊNIO(II)
COORDENADO A DITIOCARBAZATO E INTERAÇÕES COM MICELAS
POLIMÉRICAS**

ILHÉUS – BA
2017

ANALU ROCHA COSTA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE SULFÓXIDO DE RUTÊNIO(II)
COORDENADO A DITIOCARBAZATO E INTERAÇÕES COM MICELAS
POLIMÉRICAS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Santa Cruz
como requisito para a obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Recursos Naturais e Tecnologias

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Luis Silva Ribeiro Santos

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Salay

ILHÉUS- BA
2017

C837

Costa, Analu Rocha.

Síntese e caracterização de sulfóxido de rutênio (II) coordenado a ditiocarbazato e interações com micelas poliméricas / Analu Rocha Costa. – Ilhéus, BA: UESC, 2017.

75f. ; II.

Orientador: Rodrigo Luis Silva Ribeiro Santos.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui referências.

1. Físico - química. 2. Compostos de rutênio.
3. Agentes ativos de superfície. I. Título.

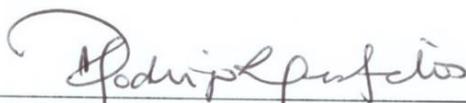
CDD 541.3

ANALU ROCHA COSTA

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE SULFÓXIDO DE RUTÊNIO(II)
COORDENADO A DITIOCARBAZATO E INTERAÇÃO COM MICELAS
POLIMÉRICAS

Ilhéus-BA, Ilhéus, 10 de abril de 2017.

COMISSÃO EXAMINADORA



Prof(a). Dr. Rodrigo Luis Silva Ribeiro Santos
Doutor em Química - USP
Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC
Orientador(a)



Prof(a). Dra. Carla Fernanda Fávoro (UESC)
Doutora em Química - UFPR
Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC



Prof(a). Dra. Vivian Chagas da Silveira (UFES)
Doutora em Química - USP
Universidade Federal do Espírito Santo - UFES



Prof(a). Dr. André Gustavo de Araujo Fernandes (UESC)
Doutor em Química - USP
Universidade Estadual de Santa Cruz - UESC

AGRADECIMENTOS

À Deus por está sempre presente em minha vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rodrigo Luis por aceitar me orientar, por compartilhar sua experiência, pela disponibilidade, compreensão, amizade, confiança e os puxões de orelhas. Sou muito grata pela oportunidade que me proporcionou na realização desse projeto. Foi ótimo trabalhar com o senhor, aprendi muito.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Luiz Carlos Salay, pela disposição, paciência, amizade, apoio e visão proporcionada durante graduação e mestrado.

Ao Prof. Dr. André Gustavo por todos os ensinamentos compartilhados, pela amizade, pelos momentos de resenhas e principalmente por acreditar em mim, mesmo quando eu não acreditava mais. Obrigada pela doação do ligante sem ele não seria possível executar parte do projeto.

À Profa. Denise de Oliveira Silva do Instituto de Química da Universidade de São Paulo por autorizar a realização de alguns ensaios em seu laboratório e também na Central Analítica do Instituto.

À Prof^a Dr^a Cristina Pungartnik do Laboratório de Biologia e Fungos (UESC) por autorizar o uso do Espectrofotômetro de infravermelho (FTIR).

Aos professores, funcionários e estagiários do Programa de Pós-Graduação em Modelagem Computacional em Ciências e Tecnologia (PPGMC), pelo fornecimento de infraestrutura para realização dos cálculos de otimização da estrutura do complexo.

Aos meus amigos de laboratório Ruan, Júnior, Adriana pelo apoio, pela ajuda e por todas as resenhas compartilhadas e em especial a amiga Thacilla, pelo carinho, apoio e por me aguentar todos esses anos de graduação e mestrado.

À minha família por sempre me apoiar nas minhas escolhas e nos momentos difíceis.

Ao meu namorado Luiz Justino por sempre me incentivar e compreender os momentos difíceis, principalmente naqueles momentos em que me encontrava estudando.

Aos meus amigos de Republica e do mestrado, pela experiência compartilhada e pelos momentos de descontração no período em que estivemos juntos.

A banca examinadora pela disponibilidade e pelas contribuições.

A FAPESB pela bolsa de mestrado.

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE SULFÓXIDO DE RUTÊNIO(II) COORDENADO A DITIOCARBAZATO E INTERAÇÕES COM MICELAS POLIMÉRICAS

RESUMO

A doença de Chagas é uma enfermidade endêmica que atinge milhares de pessoas, em especial aquelas de baixa renda. Apenas dois fármacos estão disponíveis comercialmente para o seu tratamento, e sendo que sua eficácia é apenas na fase aguda e ainda pode causar graves efeitos colaterais. Uma alternativa para a modificação deste cenário é a investigação do desenvolvimento de potenciais metalofármacos. Os complexos de rutênio têm se destacado com essa finalidade, visto que alguns compostos têm apresentado propriedades antitripanocida. O presente trabalho descreve a caracterização do ligante derivado de ditio-carbazato 3-metil-5-fenil-pirazolínico-1-(S-benzilditio-carbazato) (dtca), a síntese e caracterização do complexo precursor sulfóxido de rutênio(II) e também a investigação da viabilidade da formação de um sistema micelar polimérico de plurônico contendo o ligante ditio-carbazato. O ligante dtca e os dois complexos rutênio(II) foram caracterizados por análise elementar, espectroscopia (IVFT, UV-Vis, Fluorescência, RMN ^1H), espectrometria de massas (MS-ESI) e condutividade molar. A partir dos dados obtidos foi possível propor uma fórmula em que o ligante dtca encontra-se coordenado monodentado via átomo de nitrogênio $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_3(\text{N-dtca})]$. Nos ensaios de fluorescência com o ligante dtca foi observado uma banda de emissão 365 nm possibilitando assim o uso desta técnica para a investigação da sua interação com surfactante plurônico F127. Estudos indicaram que esse surfactante é capaz de formar um sistema micelar auto-organizado e promover a estabilidade do ligante dtca em meio aquoso.

Palavras-chaves: complexos de rutênio(II), dtca e plurônico F127

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF SULFOXIDE RUTHENIUM(II) COORDINATED TO DITHIOCARBAZATE AND INTERACTION WITH POLIMERIC MICELLES

ABTRACT

Chagas disease is an endemic disease that affects thousands of people, especially those with low incomes. Only two drugs are commercially available for its treatment, and their effectiveness is only in the acute phase and can still cause serious side effects. An alternative for the modification of this scenario is the investigation of the development of potential metal-drugs. Ruthenium complexes have been prominent for this purpose, since some compounds have shown anti-retinocidal properties. The present work describes the characterization of the ligand derived from dithiocarbazate 3-methyl-5-phenyl-pyrazoline-1- (S-benzylthiocarbazate) (dtca), the synthesis and characterization of the ruthenium (II) sulfoxide precursor complex, Viability of the formation of a pluronic polymeric micellar system containing the dithiocarbazate linker. The dtca ligand and the two ruthenium (II) complexes were characterized by elemental analysis, spectroscopy (FTIR, UV-Vis, Fluorescence, ^1H NMR), mass spectrometry (MS-ESI) and molar conductivity. From the data obtained it was possible to propose a formula in which the dtca ligand is coordinated monodentate via nitrogen atom $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_3(\text{N-dtca})]$. In the fluorescence tests with the dtca ligand a band was observed of 365 nm emission, thus allowing the use of this technique to investigate its interaction with pluronic surfactant F127. Studies have indicated that this surfactant is able to form a self-organized micellar system and promote stability of the duct ligand in aqueous medium.

Keywords: complexes of ruthenium (II), dtca and pluronic F127.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 Metalofármaco de Rutênio.....	16
1.2 Ditiocarbazatos e Doença de Chagas	19
1.3 Micelas poliméricas de plurônico F127 com aplicação farmacêutica	22
2. OBJETIVOS	24
3. PARTE EXPERIMENTAL	25
3.1 Reagentes e solventes	25
3.2 Materiais	25
3.3 Equipamentos.....	25
3.4 Técnicas Instrumentais	26
3.4.1 Análise Elementar.....	26
3.4.2 Condutividade Molar	26
3.4.3 Espectrometria de Massas por Ionização por Eletrospray (MS-ESI).....	26
3.4.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	26
3.4.5 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho	26
3.4.6 Espectroscopia Eletrônica de Absorção UV-Vis.....	27
3.4.7 Espectroscopia de Fluorescência	27
3.5 METODOLOGIA E MÉTODOS	28
3.5.1 Síntese do Ligante Derivado de Ditiocarbazato	28
3.5.2 Síntese do complexo precursor $[RuCl_2(dmsO)_4]$	29
3.5.3 Síntese do complexo $[RuCl_2(dmsO)_4(dtca)]$	29
3.5.4. Estudos em Solução do Ligante e dos Complexos Sintetizados	30
3.5.4.1. Estabilidade do Ligante dtca em Meio Aquoso	30
3.5.4.2. Reação de substituição de Ligante no Complexo $[RuCl_2(dmsO)_4]$	30
3.5.4.3. Cinética da Reação de Formação do Complexo $[RuCl_2(dmsO)_3(dtca)]$	30
3.5.4.4. Estequiometria da Reação de Formação do Complexo $[RuCl_2(dmsO)_3(dtca)]$..	31
3.5.5. Estudos da Interação do Ligante dtca com o Plurônico F127	31
3.5.5.1. Estudos Preliminares.....	31
3.5.5.2. Determinação da Concentração Micelar Crítica.....	32
3.5.5.3. Ensaio de Titulação	32
3.5.5.4. Influência dos Ânions da Série de Hofmeister.....	32

3.5.5.5. <i>Supressão da Fluorescência com Acrilamida</i>	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1 Síntese e Caracterização do Ligante e dos Complexos de Rutênio	34
4.1.1 Análise Elementar e Condutividade Molar	35
4.1.2 Espectrometrias de Massa por Ionização por Eletrospray (MS-ESI).....	35
4.1.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	37
4.1.5 Espectroscopia Eletrônica de Absorção UV-Vis	45
4.1.6 Espectroscopia de Fluorescência.....	48
4.2 Estudos em Solução do Ligante e dos Complexos Sintetizados.....	49
4.2.2 Reação de Aquação do Complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$	52
4.2.3 Cinética da Reação de Formação do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_3(\text{dtca})]$	53
4.2.4 Estequiometria da Reação de Formação do Complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_3(\text{dtca})]$	54
4.3 Estudos da Interação do Ligante dtca com o Plurônico F127.....	55
4.3.1 Estudos Preliminares	55
4.3.2 Determinação da Concentração Micelar Crítica	55
4.3.3 Ensaio de Titulação.....	57
4.3.4 Influência dos Ânions da Série de Hofmeister.....	59
4.3.5 Supressão da Fluorescência com Acrilamida.....	61
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	67

ABREVIATURAS

ACN = Acetonitrila

CMC = Concentração Micelar Crítica

dmsO = Dimetilsulfóxido

DNA = Ácido Desoxirribonucleico

dtca = 3-metil-5-fenil-pirazolínico-1-(S-benzilditiocarbazato)

ESI-MS = Espectrometria de massas com ionização por eletrospray

FTIR = Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

F127 = Copolímero plurônico

IC₅₀ = Concentração necessária para inibir 50% das células humanas

KP1019 = [indazol trans-[tetracloridobis(1-H-indazolrutenato(III))]

NAMI-A = trans-[tetraclorido(1-H-imidazol)dimetilsulfóxidorutênio(III)]

PBC = Tampão de ácido bórico – ácido cítrico – fosfato monobásico de potássio

RMN - ¹H = Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio

Ru-dmsO = dicloridotetraquis(dimetilsulfóxido)rutênio(II)

Ru-dtca = dicloridotris(dimetilsulfóxido)mono(dtca)rutênio(II)

TCML = Transferência de Carga Metal-Ligante

UV-Vis = Espectroscopia de Absorção Eletrônica da Região do Ultravioleta-Visível

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química de composto cisplatina	15
Figura 2. Estruturas dos complexos de rutênio NAMI-A e KP1019.....	17
Figura 3. Estrutura química dos complexos de rutênio <i>cis</i> e <i>trans</i> - [RuCl ₂ (dms _o) ₄]	18
Figura 4. Derivados de rutênio(II) a partir do [RuCl ₂ (dms _o) ₄], em que L ¹ = 1,10-fenantrolina ou 2,2-bipiridina; L ² = piridina ou 3-metilpiridina; L ³ = 2-aminopiridina; L ⁴ = 2-mercaptobenzotiazol.....	18
Figura 5. Representação esquemática das ligações de retrodoação de Ru ^{II} → S-dms _o	19
Figura 6. Estrutura química dos fármacos nifurtimox (a) e benzoidazol (b).....	19
Figura 7. Estrutura genérica da classe dos compostos de ditiocarbazato derivados de bases de Schiff	20
Figura 8. Estrutura química do ligante derivado de ditiocarbazato 5-hidroxi-3-metil-5-pirazolínico-1-(S-benzilditiocarbazato), dtca-OH	20
Figura 9. Estruturas tautoméricas do ditiocarbazato	21
Figura 10. Representação da estrutura química do Plurônico F127	23
Figura 11. Espectro de MS-ESI no modo positivo [M+H] ⁺ do ligante dtca em metanol.....	36
Figura 12. Espectro de massa MS-ESI no modo positivo [M+H] ⁺ do complexo [RuCl ₂ (dms _o) ₃ (N-dtca)].....	37
Figura 13. Espectro de RMN ¹ H do dtca (300 MHz, CD ₃ OD).....	38
Figura 14. Espectro de RMN ¹ H do complexo [RuCl ₂ (dms _o) ₃ (dtca)] (300 MHz, CD ₃ OD) .	39
Figura 15. Espectro de FTIR do ligante dtca em KBr na proporção (1:100 m/m).....	40
Figura 16. Espectro FTIR do complexo precursor [RuCl ₂ (dms _o) ₄]	41
Figura 17. Espectro FTIR do complexo [RuCl ₂ (dms _o) ₃ (dtca)] em KBr na proporção (1:100 m/m)	42
Figura 18. Espectro eletrônico de absorção na região do Uv-vis para o ligante dtca em etanol, hexano e acetonitrila.....	45
Figura 19. Espectro de absorção na região do Uv-Vis para o complexo [RuCl ₂ (dms _o) ₄] em dimetilsulfóxido e água	47
Figura 20. Espectro de absorção na região do UV-vis para os complexos [RuCl ₂ (dms _o) ₄], [RuCl ₂ (dms _o) ₃ (dtca)] e o ligante dtca	47
Figura 21. Espectro eletrônico do complexo [RuCl ₂ (dms _o) ₃ (dtca)] sólido disperso em BaSO ₄	48

Figura 22. Espectros de emissão ($\lambda_{ex} = 220$ nm) e excitação ($\lambda_{em} = 360$ nm) do ligante dtca em água.....	49
Figura 23. Espectros eletrônico do dtca (1×10^{-5} mol.L ⁻¹) no tampão PBC (5 μ mol.L ⁻¹) em pH 3,0 (a), pH 7,4 (b) e pH 10 (c) m função do tempo. Inset: curva cinética.....	50
Figura 24. Espectros de fluorescência do dtca (1×10^{-5} mol.L ⁻¹) em tampão PBC (5 μ mol.L ⁻¹) pH 3,0 (a), pH 7,4 (b) e pH 10 (c) em função do tempo. Inset: curva cinética ($\lambda_{em} = 368$ nm).....	51
Figura 25. Espectro eletrônico no UV-vis do ensaio de cinético da reação de aquação do complexo [RuCl ₂ (dmsO) ₄].....	52
Figura 26. Espectros de eletrônicos do complexo precursor do ligante dtca em concentrações equimolares (1×10^{-3} mol.L ⁻¹) em etanol a 80 °C.....	53
Figura 27. Curva cinética da reação de formação do complexo [RuCl ₂ (dmsO) ₃ (dtca)] em etanol.....	53
Figura 28. Gráfico da fração molar versus absorvância da reação do complexo precursor e do ligante dtca.....	54
Figura 29. Espectros eletrônicos do dtca na presença de diferentes concentrações de plurônico F127. Tampão PBC, pH = 7,4.....	55
Figura 30. Interação do ligante dtca com diferentes concentrações de plurônico F127 em tampão PBC (pH 7,4); (a) Espectros de emissão de fluorescência ($\lambda_{ex} = 220$ nm) e (b) intensidade da fluorescência ($\lambda_{em} = 365$ nm) em função da concentração de F127.....	56
Figura 31. Intensidade de fluorescência (365 nm) em função do ln[F127].....	57
Figura 32. Espectros de emissão de fluorescência do dtca em micelas F127 em tampão PBC na ausência de NaCl (a), presença de NaCl (b) Tratamento matemático a partir dos dados de fluorescência: {1(F - F ₀) versus [F127]} (c) e {1(F - F ₀) versus 1/[F127]}.....	58
Figura 33. Série de Hofmeister.....	59
Figura 34. Espectros de fluorescência do dtca na presença do Plurônico F127 (tampão PBC 5 mol.L ⁻¹ , pH = 7,4) em função da concentração dos sais Na ₂ SO ₄ (a), NaCl (b) e NaSCN (c).60	
Figura 35. Intensidade da fluorescência (F/F ₀) do ligante dtca na presença do plurônico F127 em função da concentração dos sais NaCl, Na ₂ SO ₄ e NaSCN.....	61
Figura 36. Espectros de emissão de fluorescência do dtca (20 μ M) em tampão PBC (5 mM) em pH 7,4 após a adição do supressor acrilamida (a) sem adição de NaCl e (b) com adição NaCl.....	63
Figura 37. Curvas da intensidade de fluorescência (F/F ₀) em função de elevadas concentrações do supressor acrilamida (λ_{ex} 220 nm; tampão PBC pH 7,4).....	64

Figura 38. Curvas da intensidade de fluorescência (F/F_0) em função de baixas concentrações do supressor acrilamida (λ_{ex} 220 nm; tampão PBC pH 7,4).....	64
Figura 39. Curvas de Stern-Volmer modificada da interação de dtca-plurônico F127 com supressor acrilamida, em solução tampão PBC pH 7,4 em $\lambda_{ex} = 220$ nm	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Volumes utilizados no ensaio de <i>Job's Plot</i>	31
Tabela 2. Dados dos valores da análise elementar dos complexos de rutênio(II).	35
Tabela 3. Atribuição tentativa das principais frequências vibracionais (cm^{-1}) observadas nos espectros FTIR dos reagentes.	44
Tabela 4. Atribuições das transições eletrônicas do ligante dtca em etanol, hexano e acetonitrila.	46

LISTA DE ESQUEMA

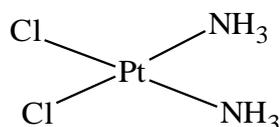
Esquema 1. Síntese do ligante 3-metil-5-fenil-pirazol-1-(S-ditiocarbazato) (dtca)	28
Esquema 2. Síntese do complexo <i>cis</i> -dicloridotetraquis(dimetilsulfóxido)rutênio(II)	29
Esquema 3. Síntese do complexo dicloriodotris(dimetilsulfóxido)mono(dtca)rutênio(II)	30
Esquema 4. Rota sintética de obtenção dos ligantes ditiocarbazato (dtca-OH e dtca).....	34
Esquema 5. Propostas de etapas de fragmentação do ligante dtca	36
Esquema 6. Reação de aquação do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$	52

1. INTRODUÇÃO

Atualmente os compostos de coordenação tornaram-se destaque em diversos estudos principalmente com o desenvolvimento da química bioinorgânica, no qual tem contribuído para o planejamento de novas substâncias que possam exibir propriedades farmacológicas. A utilização dos metais com aplicação medicinal é conhecido há 5000 anos, por exemplo, o cobre era bastante utilizado pelos egípcios para esterilização da água (BERALDO, 2005). Desde então vários metais de transição tem sido estudados com intuito de explorar suas propriedades medicinais.

Tal interesse foi motivado, ao grande sucesso da descoberta das propriedades antitumorais do composto inorgânico cisplatina, *cis*-[PtCl₂(NH₃)₂] (Figura 1) por volta de 1969 (ROSENBERG et al., 1969). A cisplatina é o metalofármaco usado até os dias atuais no tratamento de câncer, seu mecanismo de ação encontra-se elucidado na literatura. Sua administração ocorre por via intravenosa por apresentar baixa solubilidade. Estudos mostraram que ao entrar na célula a cisplatina sofre hidrólise, ligando-se ao DNA irreversivelmente, causando uma distorção na estrutura do DNA, esse processo inibe a replicação do DNA que resulta na morte celular via apoptose (FLOREA; BÜSSELBERG, 2011; ROSETTE, 2002). Sabe-se que a ligação platina com o DNA corre principalmente via átomo de nitrogênio de guanina ou de adenina, apresentando maior estabilidade, uma vez, que pode formar ligações de hidrogênio através do grupo NH₃ da cisplatina com o oxigênio da guanina (FLOREA; BÜSSELBERG, 2011; PRANCZK et al., 2014).

Figura 1. Estrutura química de composto cisplatina



No entanto, vários compostos derivados da platina foram testados contra o *Trypanossoma cruize*, uma vez que o metabolismo das células tumorais tem semelhança com o metabolismo dos tripanossomos. Dentre os complexos estudados, os que apresentaram atividade tripanocida foram à cisplatina e carboplatina [(1,1-ciclobutanodicarboxilatodiaminoplatina(II)] (FARRELL, 1984; SÁNCHEZ-DELGADO; ANZELLOTTI, 2004).

Por sua vez, a cisplatina e seus derivados apresenta graves efeitos colaterais, nos quais se incluem nefrotoxicidade, problemas auditivos e neurotoxicidade, além de apresentar elevada

toxicidade (WONG; GIANDOMENICO, 1999). Outro problema encontrado é o surgimento de resistência celular após o tratamento de 4 a 6 ciclos (KARTALOU; ESSIGMANN, 2001). A fim de contornar esse cenário, vários complexos de outros íons metálicos são investigados com a finalidade de reduzir efeitos colaterais.

1.1 Metalofármaco de Rutênio

Os complexos contendo o metal rutênio vêm se mostrando, ao longo dos anos como promissores metalofármacos. Apesar de ser não essencial, o rutênio tem propriedades físico-químicas muito interessantes, uma vez que encontra-se localizado no mesmo grupo do ferro e portanto pode mimetizá-lo em reações bioquímicas (PAGE, 2012). O rutênio apresenta uma fácil acessibilidade a diferentes estados de oxidação (Ru^{II} , Ru^{III} e Ru^{IV}) em condições fisiológicas conferindo assim uma grande possibilidade de combinações com ligantes o que podem modificar e potencializar sua ação farmacológica (BERGAMO et al., 2012; JAKUPEC et al., 2008).

A química sintética de complexos de rutênio é muito bem descrita na literatura, particularmente com ligantes aminas e iminas. Estes ligantes contêm átomo de nitrogênio que atuam como base de Lewis estabilizando seus complexos (CLARKE, 2002). A aplicabilidade dos complexos de rutênio pode ser encontrados em diversas áreas da química, da catálise ou bioinorgânica, entre outras (DAVIDSON et al., 2016; IVANOVIĆ et al., 2013; KOYYADA et al., 2016; NYAWADE; FRIEDRICH; OMONDI, 2016; PATRA et al., 2016; SELVAMURUGAN et al., 2016). Na eletroquímica são utilizados em reações de transferência de elétrons que estão envolvidos nos processos de redução $\text{Ru}^{\text{III}} \rightarrow \text{Ru}^{\text{II}}$ (ROCHA; TOMA, 2002).

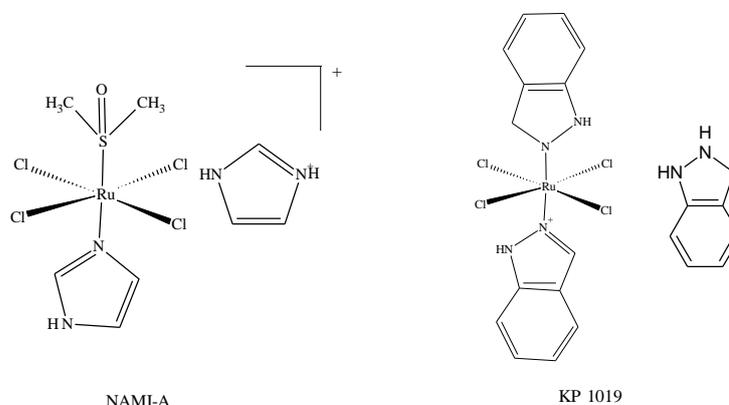
Existe na literatura um grande número de compostos de rutênio que reportam sua ação biológica tais como: a) atividade imunossupressora (SILVEIRA-LACERDA et al., 2010); b) atividade antimicrobiana (KLJUN et al., 2011; PANDRALA et al., 2013; TUREL et al., 2010); c) atividade antimalárica (GLANS et al., 2012); d) atividade chagásica do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{ctz})_2]$ em que ctz corresponde ao clotimazol, os estudos realizados em *in vitro* mostraram uma inibição de 90% da proliferação epimastigota do *T. cruzi* (SÁNCHEZ-DELGADO; ANZELLOTTI, 2004)

É importante ressaltar que estudos envolvendo os complexos de rutênio(III), como é o caso do KP1019 e do NAMI-A (Figura 2) mostraram uma elevada atividade antitumoral *in vitro* e *in vivo* e uma baixa toxicidade, sendo eles os primeiros complexos à base de rutênio a

entrarem em ensaios clínicos avançados (HARTINGER et al., 2006; SAVA et al., 2003; TRONDL et al., 2014).

Na primeira fase de triagem clínica, o complexo NAMI-A apresentou a eficácia em inibir e prevenir o crescimento de metástase pulmonar. Já segunda fase de triagem observou-se que o NAMI-A podem interagir com o DNA *in vitro*, porém essa ligação ao DNA não parece contribuir para sua eficiência antimetastático (FRASCA; GEHRIG; CLARKE, 2001). Além disso, sua atividade biológica está relacionada com a dissociação dos ligantes cloretos presente no composto (BERGAMO et al., 2002, 2012; HARTINGER et al., 2006).

Figura 2. Estruturas dos complexos de rutênio NAMI-A e KP1019

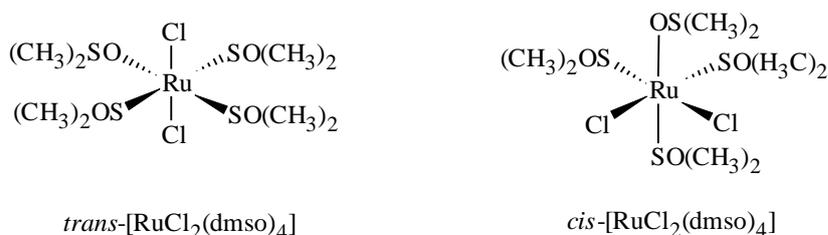


Uma das principais diferenças existentes entre os complexos de rutênio e a cisplatina está relacionada com sua estrutura, uma vez que os complexos de rutênio apresentam estrutura octaédrica, em contraste a platina que tem geometria quadrado planar. Essa característica faz com que o mecanismo de ação e reatividade seja diferenciado. Como por exemplo, o composto KP1019 mostrou atividade antitumoral contra tumores que são resistentes à cisplatina (HARTINGER et al., 2006). Vale enfatizar que os complexos a base de rutênio também podem apresentar menor toxicidade tornando-o muito atraentes para o desenvolvimento de metalofármacos.

Estudos realizados com os isômeros *cis* e *trans* $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$ onde dmsO = dimetilsulfóxido (Figura 3), mostrou ser um bom agente anticancerígeno, apresentando uma diminuição da toxicidade no sangue e nos tecidos normais. A importância medicinal desta classe de compostos é relatada desde 1970, sendo descrita sua atividade tumoral contra câncer de mama, pulmão e melanoma (ALESSIO et al., 1993; MESTRONI et al., 1989). Experimentos posteriores com o isômero *trans*- $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$, mostraram a atividade tumoral e ação antimetásticas em ratos que apresentaram carcinoma pulmonar (SAVA et al.,

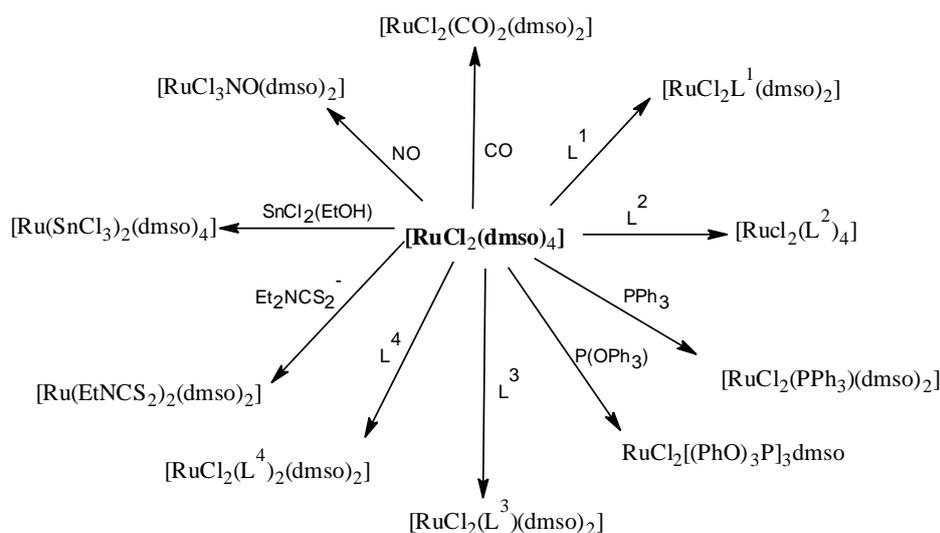
1992). Outros estudos realizados com essa classe de complexo indicou atividade tripanocida menor do que os derivados da platina, no entanto exibiu uma menor toxicidade (FARRELL, 1984; SÁNCHEZ-DELGADO; ANZELLOTTI, 2004).

Figura 3. Estrutura química dos complexos de rutênio *cis* e *trans* - $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$



Os ligantes do tipo dmsO são muito versáteis, pois são capazes de coordenar-se ao centro metálico tanto via átomo de enxofre (*S*-dmsO) quanto via átomo de oxigênio (*O*-dmsO), essa dinâmica em sua estrutura evidencia o caráter ambidentado deste ligante, e conseqüentemente, confere ao complexo um excelente precursor para síntese de compostos de rutênio com diferentes ligantes (SILVA; OLIVEIRA; TOMA, 1993) como pode ser visualizado na Figura 4, além de ligantes da classe das semicarbazonas e tiosemicarbazonas (MAHALINGAM et al., 2010).

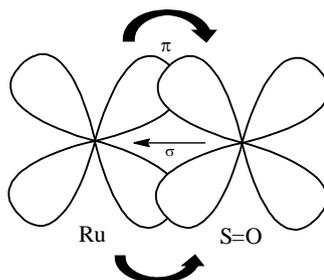
Figura 4. Derivados de rutênio(II) a partir do $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$, em que $L^1 = 1,10$ -fenantrolina ou 2,2-bipiridina; $L^2 =$ piridina ou 3-metilpiridina; $L^3 = 2$ -aminopiridina; $L^4 = 2$ -mercaptobenzotiazol



Fonte: (EVANS; SPENCER; WILKINSON, 1973)

Outra característica interessante da classe dos sulfóxidos de rutênio(II) é sua estabilidade a oxidação. Essa resistência à oxidação está associada com a retrodoação- π do metal ao ligante ($\text{Ru}^{\text{II}} \rightarrow \text{S-dmso}$) (Figura 5) (RILEY, 1985; SILVA; OLIVEIRA; TOMA, 1993). O enxofre possui orbital de simetria π vazio entorno do eixo da ligação metal-ligante, o qual pode receber densidade eletrônica π do orbital d ocupado do íon metálico.

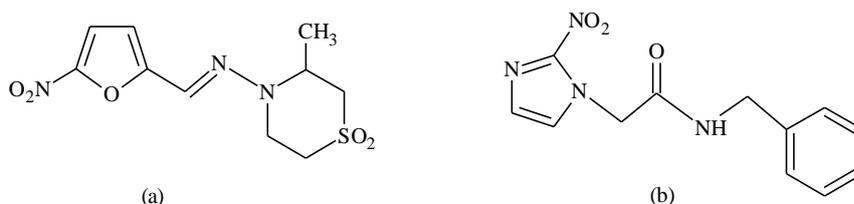
Figura 5. Representação esquemática das ligações de retrodoação de $\text{Ru}^{\text{II}} \rightarrow \text{S-dmso}$



1.2 Ditiocarbazatos e Doença de Chagas

A doença de Chagas é uma enfermidade endêmica que atinge milhares de pessoas, em especial aquelas de baixa renda que vivem em países da América Latina. O tratamento atual para a Doença de Chagas é insatisfatório e restringe-se apenas a dois fármacos, como o nifurtimox (3-metil-4-(5-nitrofurfurilidenoamino)tetra-hidro-4H-1,4-tiazina-1,1-dióxido) e benzonidazol (N-benzil-2-nitro-imidazol-1-acetamida) (Figura 6). Porém a eficácia desses medicamentos é apenas na fase aguda (DIAS et al., 2009). Diante das limitações e ineficácia das terapias existentes para doenças de Chagas, vários estudos têm sido desenvolvidos no intuito de obter novos compostos que possam ajudar na modificação do cenário atual.

Figura 6. Estrutura química dos fármacos nifurtimox (a) e benzoidazol (b)

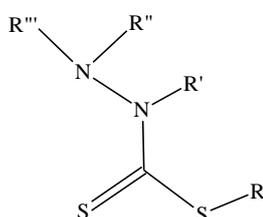


Fonte: (Dias et., 2009)

A estrutura dos ditiocarbazatos (Figura 7) permite a obtenção de vários ligantes cuja ação biológica pode ser modulada pela introdução de diferentes substituintes (TARAFDER et

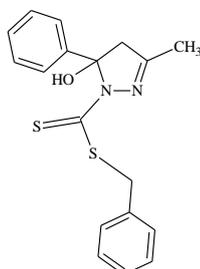
al., 2002). Os pesquisadores Akabar Ali e Livingstone (1974) fizeram um estudo de revisão com o comportamento químico de complexos metálicos coordenados a ditiocarbazato contendo nitrogênio e oxigênio (AKBAR ALI; LIVINGSTONE, 1974). A partir desse estudo houve um crescimento de pesquisas voltadas para síntese de metais de transição coordenados a bases de Schiff derivado do ditiocarbazato (AKBAR ALI et al., 2011; CATTABRIGA et al., 1998; HOW et al., 2008; KHOO et al., 2014; PAVAN et al., 2010).

Figura 7. Estrutura genérica da classe dos compostos de ditiocarbazato derivados de bases de Schiff

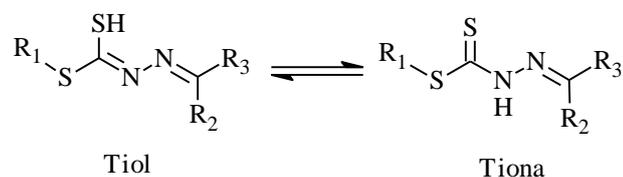


Na literatura a classe dos ditiocarbazatos tem se destacado diante da ação tripanocida, como por exemplo, o composto 5-hidroxi-3-metil-5-fenil-pirazolínico-1-(S-benzilditiocarbazato), (abreviado aqui por dtca-OH, Figura 8) mostrou-se mais ativo ($IC_{50} = 0,6 \mu M$) que o benzonidazol medicamento utilizado no tratamento da doença de Chagas (CARNEIRO, 2014; MAIA et al., 2010). Outros, compostos derivados dos ditiocarbazatos também têm sido relatados por apresentarem ação farmacológica tais como: antitumorais, bactericidas, fungicidas e inseticidas (CROUSE et al., 2004; TARAFDER et al., 2002).

Figura 8. Estrutura química do ligante derivado de ditiocarbazato 5-hidroxi-3-metil-5-pirazolínico-1(S-benzilditiocarbazato), dtca-OH



Os ditiocarbazatos podem existir nas duas formas tautomérica (Figura 9) tiona ($C=S$) e tiol ($C-SH$), sendo que o grupo tiona é relativamente instável em sua forma monomérica em comparação com a forma tiol e tende a formar uma ligação simples, se houver pelo menos um átomo de hidrogênio próximo a ligação dupla (MANAN et al., 2012; RAVOOF et al., 2007).

Figura 9. Estruturas tautoméricas do ditiocarbazato

Fonte: (MANAN et al., 2012)

Estudos realizados por Zhanh et al. (2011) com os ligantes 2-piridinacarboxaldeído derivado do *S*-metilditiocarbazato e *S*-benzilditiocarbazato e seus respectivos complexos de zinco(II) e manganês(II) mostraram que ambos apresentaram propriedades antitumorais significativas contra linhagem de celular K562 (células de leucemia) com valores de $IC_{50} = 31\mu\text{M}$ e $37\mu\text{M}$ respectivamente (ZHANG et al., 2011). Neste caso, a eficácia da atividade do ligante foi melhorada com a complexação aos centro metálicos de zinco e manganês.

Os complexos de Mn^{II} e Co^{II} coordenados com o 2-acetilpiridina derivado do *S*-metilditiocarbazato foram estudados *in vitro* contra a linhagem de células de leucemia K562 e os resultados mostram que ambos os compostos apresentam atividade antitumoral, uma vez que exibiram valores significativos de IC_{50} (CHEN et al., 2011).

O composto bidentado *O,S*-doador derivado do *S*-benzil- β -*N*-benzoil-ditiocarbazato complexado com os metais Cu^{II} , Ni^{II} e Pb^{II} exibiram ação citotóxica contra a linhagens de células cancerígenas (leucemia mielóide). Um fato interessante desses complexos foi que não houve um aumento na citotoxicidade mediante a coordenação do ligante com íons metálicos. Entretanto o aumento da citotoxicidade tem sido observado para os complexos que contêm ligantes *N,S*-doadores (HOW et al., 2008).

Os íons metálicos Pt^{II} e Pd^{II} coordenados com as bases de Schiff tridentada *O,N,S*-derivado do *S*-benzilditiocarbazato preparado a partir do 2-hidroxiacetofenona e o 4-fenil-3-butadiona mostraram atividade significativa contra cepas (Tulahuen LacZ) da forma epimastigota do *T. cruzi* (MAIA et al., 2010). Os valores de IC_{50} dos compostos sintetizados sobre formas tripomastigotas mostraram que neste caso, a eficiência do ligante foi aprimorada pela formação dos complexos platina e paládio.

Outros estudos com os ditiocarbazatos complexados com os metais de transição paládio, platina e rênio, mostram propriedades biológicas promissoras como agentes tripanocida e antiproliferativo para doenças de Chagas, resultados esses que motivaram o depósito do pedido de patente registrado (FERNANDES, 2012).

1.3 Micelas poliméricas de plurônico F127 com aplicação farmacêutica

Como já discutido anteriormente, a classe de ditiocarbazato possui um grande potencial farmacológico, porém por serem compostos orgânicos geralmente possuem baixa solubilidade em meio aquoso, tornando sua ação limitada. Na literatura encontram-se vários procedimentos que visam a melhora da solubilidade e biodisponibilidade de fármacos poucos solúveis, tais como: ciclodextrinas, surfactantes, nanopartículas e polímeros (KALEPU; NEKKANTI, 2015; ROLIM-NETO et al., 2015). Desta forma, a expectativa na utilização da matriz polimérica de F127 poderia melhorar a solubilidade do composto derivado de ditiocarbazato aumentando conseqüentemente sua biodisponibilidade do meio.

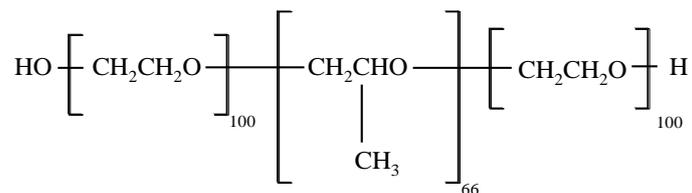
As micelas poliméricas vêm se mostrando ao longo dos anos bastante promissoras, especialmente as micelas formadas a base de copolímeros em bloco com caráter anfifílico, ou seja, possuem unidades monoméricas com propriedade hidrofóbica (apolar) e outro bloco de propriedade hidrofílica (polar). Esses copolímeros podem auto-organizar-se de forma a promover a formação de agregados micelares cujas características físico-químicas são moduladas através da concentração micelar crítica (CMC), parâmetro essencial na formação de micelas (TORCHILIN, 2001).

A micelização ocorre a partir da CMC do composto no qual é possível obter um equilíbrio monômero/micela em solução. Esse processo de auto-organização é reversível, estável e dependente da termodinâmica do sistema. Em concentrações baixas, os polímeros estão na forma de monômeros, a medida que concentração do polímero aumenta, a formação de micela é favorecida tornando-o mais estáveis. (CHO et al., 2010).

As utilizações de micelas poliméricas têm sido o foco de muitos estudos, bem como no (a) sistema de liberação controlada de fármacos (AHMAD et al., 2014; HARADA et al., 2011; NISHIYAMA; MATSUMURA; KATAOKA, 2016; YOKOYAMA, 2014; ZHANG; HUANG; LI, 2014); (b) na solubilização de fármacos insolúveis em meio aquoso (GAO; LI; ZHAI, 2008; NAKSURIYA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2011). (c) na estabilização do fármaco (GAUCHER et al., 2005, 2010; MOURYA et al., 2011).

Dentro da categoria de copolímeros que vem expondo bons resultados podemos destacar o Plurônico F-127 (Figura 10). Esse copolímero consiste em arranjo estrutural em tribloco (ABA), formado por poli(óxido de etileno) – poli(óxido de propileno) – poli(óxido de etileno) com massa molecular de 12600 g/mol (ALEXANDRIDIS; HOLZWARTH; HATTON, 1994).

Figura 10. Representação da estrutura química do Plurônico F127



Diante de seu caráter anfifílico o plurônico P127 é capaz de interagir com membranas biológicas, e também de auxiliar na solubilização de fármacos pouco solúveis em meio aquoso. Outra capacidade associada do plurônico F127 é habilidade de formar géis com o aumento da temperatura, no qual o processo de geleificação acontece pela desidratação do bloco hidrofóbicos de óxido de etileno cominando uma estrutura tridimensional ordenada das micelas em que o bloco de poli(óxido de etileno) interagem entre si (HOARE; KOHANE, 2008).

Outra característica importante dos copolímeros F127 é sua capacidade de manter a estabilidade do composto incorporado em sua matriz (ANDRADE et al., 2015). England, (1999) realizou um estudo teórico em que simulou o comportamento do copolímero num ambiente hidratado para prever a interação com a proteína e os resultados mostraram que o plurônico F127 apresenta características benéficas tornando-o um potencial candidato à liberação de proteínas (ENGLAND, 1999).

Kadam et al., (2011) investigaram a influência da concentração do F127 na solubilidade do fármaco hidroclorotiazida. Os resultados indicaram que com o aumento da concentração de plurônico, a solubilidade do fármaco aumentou significativamente (KADAM et al., 2011). Segundo Taha et al., (2014), o plurônico F127 foi utilizado para solubilização e a administração ocular da droga ciprofloxacina e os resultados mostraram que a liberação do fármaco foi mais rápida em pH baixos (< 6,0) se comparado ao pH neutro (7,0). Além disso, os resultados *in vivo* indicaram que o sistema micelar proporcionou um aumento de 40% na biodisponibilidade do fármaco em comparação ao produto comercial (TAHA et al., 2014).

2. OBJETIVOS

O principal objetivo do presente trabalho foi investigar a síntese de um novo complexo de rutênio(II) coordenado com o ligante 3-metil-5-fenil-pirazol-1-S-(benzilditiocarbazato), e investigar a viabilidade da formação de um sistema micelar polimérico de plurônico F127 com este mesmo ligante de ditiocarbazato. Os objetivos específicos foram:

- i. Sintetizar e caracterizar o complexo precursor de sulfóxido de rutênio(II);
- ii. Caracterizar o ligante derivado de ditiocarbazato;
- iii. Sintetizar e caracterizar um novo complexo metálico de sulfóxido de rutênio(II) coordenado com o ligante ditiocarbazato;
- iv. Avaliar a estabilidade e a reatividade do ligante ditiocarbazato e dos complexos de rutênio(II) em solução utilizando diferentes condições;
- v. Investigar a interação do ligante dtca com o copolímero plurônico F127 visando à formação de um sistema micelar polimérico;
- vi. Avaliar a influência dos ânions sulfato, cloreto e tiocianato na formação do sistema micelar polimérico;
- vii. Estudar a supressão da fluorescência do ligante dtca no sistema micelar polimérico utilizando acrilamida como agente supressor.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e solventes

- Acetona, grau de pureza p.a – Synth
- Acetonitrila, grau de pureza p.a. – Merck
- Ácido bórico, grau de pureza p.a – Sigma Aldrich
- Ácido cítrico, grau de pureza p.a – Synth
- Acrilamida, grau de pureza p.a – Sigma Aldrich
- Cloreto de rutênio(III) hidratado – Sigma Aldrich
- Cloreto de sódio, grau de pureza p.a – Sigma Aldrich
- Clorofórmio, grau de pureza p.a – Synth
- Diclorometano, grau de pureza p.a – Synth
- Dimetilsulfóxido, grau de pureza p.a – Synth
- Etanol, grau de pureza p.a. – Vetec
- Fosfato monobásico de potássio, grau de pureza p.a – Synth
- Hexano, grau de pureza p.a. – Biotec
- Metanol, grau de pureza p.a. – Vetec
- Plurônico F127, grau de pureza p.a – Sigma Aldrich
- Sulfato de sódio, grau de pureza p.a – Sigma Aldrich
- Tiocianato de sódio, grau de pureza p.a – Sigma Aldrich

3.2 Materiais

- Cubeta de quartzo retangular caminho ótico de 1 cm
- Cubeta de quartzo retangular com os quatros lados polidos caminho ótico de 1 cm
- Micropipetas automáticas de 20, 100, 200 e 1000 μ L - Sciloge
- Almofariz de ágata
- Termômetro
- Vidrarias em geral

3.3 Equipamentos

- Agitador magnético com aquecimento – marca Fisatom
- Agitador vortex, marca Nova
- Balança analítica – marca Shimadzu

- Manta com agitação e aquecimento – marca Fisatom
- Medidor de pH, marca Nova
- Rotaevaporador, marca Fisatom

3.4 Técnicas Instrumentais

3.4.1 Análise Elementar

Os teores de carbono, hidrogênio e nitrogênio foram determinados em análise elementar no equipamento Elementar Analyzer CHN, modelo 2400 da Perkin Elmer. O teor de cloro foi determinado através do método de Schöniger (FLORES et al., 2007; SCHÖNIGER, 1955). As medidas foram realizadas no Laboratório da Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo.

3.4.2 Condutividade Molar

As medidas de condutividade molar foram realizadas utilizando um condutivímetro Digimed, modelo DM-31. Utilizou-se uma solução padrão de cloreto de sódio de condutância $147,4 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$. As medidas foram realizado no Laboratório de Química Inorgânica Sintética e Estrutural – Bioinorgânica e Metalofármacos do Instituto de Química da Universidade de São Paulo.

3.4.3 Espectrometria de Massas por Ionização por Eletrospray (MS-ESI)

Os espectros de massas dos compostos foram obtidos por um espectrômetro de massa modelo Amazon Speed ETD – Bruker na Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo.

3.4.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio foram realizados no equipamento modelo INOVA operado a 300 MHz para o núcleo de hidrogênio, pertencente ao Laboratório da Central Analítica do IQ-USP. As amostras foram dissolvidas em metanol deuterado.

3.4.5 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro da Spectrum 400 da Perkin Elmer (UK), pertencente ao Laboratório de

Fungos da Universidade Estadual de Santa Cruz. Para todas as amostras os registros foram obtidas na região de 4000 a 400 cm^{-1} no modo de transmitância. As amostras foram maceradas com brometo de potássio em almofariz de ágata e analisadas em forma de pastilha.

3.4.6 Espectroscopia Eletrônica de Absorção UV-Vis

Os espectros eletrônicos de absorção em solução foram obtidos em espectrofotômetro marca/modelo Nova 1600 UV, utilizando, cubetas de quartzo com 1,0 cm de caminho ótico, pertencente ao Laboratório de Pesquisa em Química da UESC. Os espectros de absorção do complexo Ru-dtca no estado sólido foi registrado em um espectrofotômetro ASD-Analytical Spectral Devices, modelo FieldSpec 3 spectrodimeters, equipado com fibra ótica. Os espectros foram obtidos no Laboratório de Química Supramolecular e Nanotecnologia do Instituto de Química – USP.

3.4.7 Espectroscopia de Fluorescência

Os espectros de emissão e excitação da fluorescência foram registrados no espectrofluorímetro de marca Shimadzu, modelo RF-5301 PC, utilizando cubetas de quartzo com todos os lados polidos e 1,0 cm de caminho ótico, pertencente ao Laboratório de Pesquisa em Química da UESC.

Para os ensaios quantitativos, a intensidade da fluorescência nos espectros de emissão do ligante dtca foi corrigida pela equação (1) devido ao efeito de sobreposição do espectro de reabsorção da fluorescência (LAKOWICZ, 2006; SANTOS; SANCHES; DE OLIVEIRA SILVA, 2015), essa correção fez necessária, pois revela a real intensidade de fluorescência do fluoróforo no meio. Esse fenômeno é conhecido como efeito de filtro.

$$F_{cor} = F_{obs} \times 10^{\left[\frac{A_{em} + A_{ex}}{2}\right]} \exp\left[\frac{A_{em} + A_{ex}}{2}\right] \quad \text{Equação (1)}$$

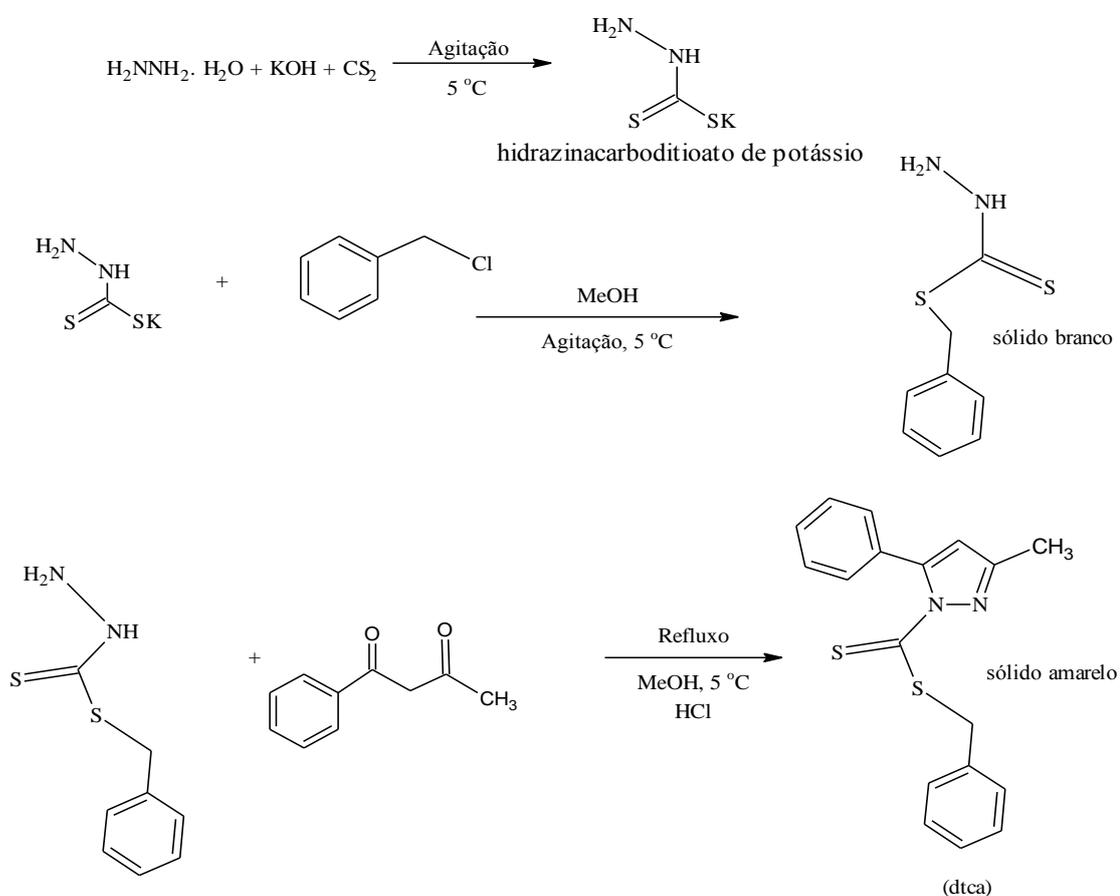
onde F_{cor} e F_{obs} correspondem respectivamente as intensidades de fluorescência corrigida e observada. A_{em} e A_{ex} são as absorvâncias da solução nos comprimentos de onda de excitação e de emissão (LAKOWICZ, 2006; SANTOS; SANCHES; DE OLIVEIRA SILVA, 2015).

3.5 Metodologia e Métodos

3.5.1 Síntese do Ligante Derivado de Ditiocarbazato

O ligante 3-metil-5-fenil-pirazol-1-S-benzilditiocarbazato (dtca) foi sintetizado no Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo durante o doutoramento do Prof. André Gustavo de Araujo Fernandes. Resumidamente, a síntese deste composto ocorreu em três etapas: sendo a primeira para preparar a hidrazinacarboditioato de potássio que é um óleo amarelo. Na segunda etapa foi adicionado quantidades equimolares de cloreto de benzila e a reação permaneceu em agitação até obter o hidrazinacarboditioato de benzila, um sólido branco; na última etapa, o sólido foi adicionando a benzoilacetona em metanol e uma gota de ácido clorídrico concentrado, sendo mantida a reação em refluxo por 2 horas até obter o sólido amarelo. O esquema 1 exemplifica a obtenção deste ligante.

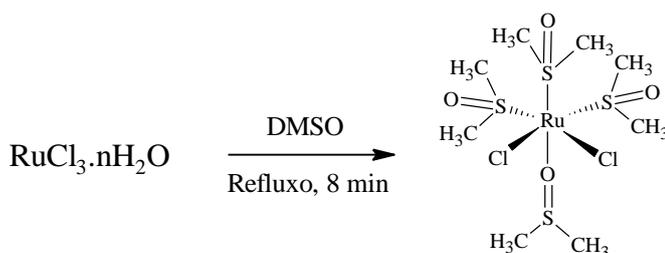
Esquema 1. Síntese do ligante 3-metil-5-fenil-pirazol-1-(S-ditiocarbazato) (dtca)



3.5.2 Síntese do complexo precursor $[\text{RuCl}_2(\text{dms})_4]$

O complexo precursor dicloridotetraquis(dimetilsulfóxido)rutênio(II), $[\text{RuCl}_2(\text{dms})_4]$, abreviado por Ru-dms, foi sintetizado no Instituto de Química de São Paulo, utilizando procedimento já descrito na literatura (EVANS,1973). Foi adicionado 1,0 g de $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ em 5 mL de dimetilsulfóxido. A solução ficou sob refluxo por 8 minutos. Após este período, o volume da mistura foi reduzido à metade com auxílio de um rota-evaporador. A esta solução foi adicionada 20,0 mL de acetona e a solução foi mantida sob refrigeração até ocorrer a precipitação de um sólido coloração verde claro. O sólido foi isolado por filtração a vácuo e lavado com acetona e éter etílico e seco em dessecador com pentóxido de fósforo. O rendimento foi de 58%. O esquema 2 exemplifica a obtenção deste complexo precursor.

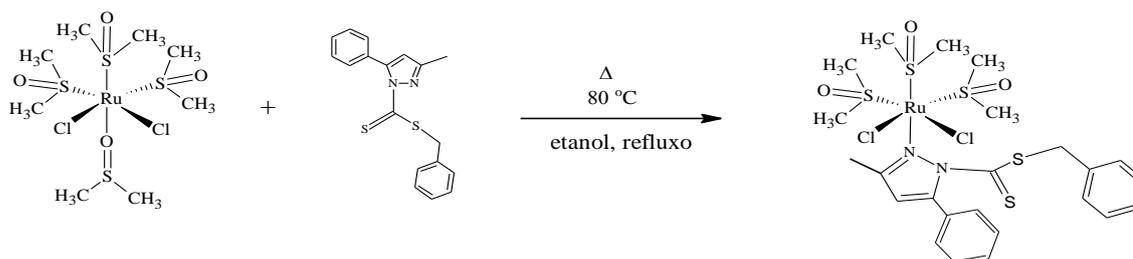
Esquema 2. Síntese do complexo *cis*-dicloridotetraquis(dimetilsulfóxido)rutênio(II)



3.5.3 Síntese do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dms})_4(\text{dtca})]$

A síntese do complexo *cis*-dicloridotris(dimetilsulfóxido)mono(dtca)rutênio(II), abreviado por Ru-dtca é inédita, e por isso, alguns ensaios explanatório foram realizados. O procedimento que obteve o melhor resultado está descrito a seguir: em um balão de uma boca foi adicionado 0,5 mmol (0,245 g) do precursor dissolvido em 5 mL de etanol, sob agitação e aquecimento à 80 °C. Em seguida, a esta solução foi adicionada 0,5 mmol (0,162 g) do ligante dtca previamente dissolvido em 5 mL de etanol. Logo após a adição do ligante observou-se uma alteração da coloração esverdeada do complexo precursor para o violeta a qual tornou mais intensa com passar do tempo. A mistura ficou em refluxo por 20 minutos e logo após o volume da solução foi reduzido aproximadamente a 5 mL com auxílio de um rotaevaporador. Finalmente, a solução restante foi transferida para um béquer o qual ficou a temperatura ambiente até a completa evaporação do solvente por aproximadamente cinco dias. O sólido de coloração roxa obtido foi retirado do béquer e seco em dessecador com pentóxido de fósforo sob vácuo. O rendimento foi de 64%. O esquema 3 exemplifica a obtenção deste complexo.

Esquema 3. Síntese do complexo dicloriodotris(dimetilsulfóxido)mono(dtca)rutênio(II)



3.5.4. Estudos em Solução do Ligante e dos Complexos Sintetizados

3.5.4.1. Estabilidade do Ligante dtca em Meio Aquoso

A estabilidade do ligante dtca em tampão borato-citrato-fosfato (PBC) foi investigada por Espectroscopia Eletrônica UV-Vis e também por Espectroscopia de Fluorescência. Uma solução estoque do ligante dtca ($1,0 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) foi preparada em etanol e em seguida diluída a concentração final $1,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ utilizando o tampão PBC (5 mmol.L^{-1}) em três valores de pH (3,0; 7,4; 10,0). Os espectros eletrônicos de absorvância e de emissão de fluorescência ($\lambda_{\text{exc}} = 220 \text{ nm}$) foram registrados em temperatura ambiente em função do tempo (até 270 min).

3.5.4.2. Reação de substituição de Ligante no Complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dms})_4]$

A reação de aquação do complexo precursor Ru-dms foi investigada por Espectroscopia Eletrônica. Preparou-se uma solução do Ru-dms ($1,5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) em água destilada. Em seguida uma alíquota desta solução foi transferida para uma cubeta de quartzo de 1 cm de caminho ótico e o espectro eletrônico foi registrado em temperatura ambiente em função do tempo (até 270 min).

3.5.4.3. Cinética da Reação de Formação do Complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dms})_3(\text{dtca})]$

Para entender o comportamento cinético da reação entre o complexo precursor e ligante dtca, preparou-se soluções equimolares ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) desses dois reagentes em etanol. Em seguida, adicionou-se 5 mL de cada solução em tudo Falcon e deixou a solução incubando em banho-maria ($80 \text{ }^\circ\text{C}$). Alíquotas foram retiradas e os espectros eletrônicos foram registrados com intervalos de 5 min (para os primeiros 30 min) e com intervalos (10 min) para os demais.

3.5.4.4. Estequiometria da Reação de Formação do Complexo $[RuCl_2(dmsO)_3(dtca)]$

Para verificar a estequiometria da reação entre o complexo precursor e o ligante dtca foi utilizado o método da variação contínua, conhecida também como *Job's Plot* (RENNY et al., 2013). Resumidamente, preparou-se soluções equimolares ($1,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) desses dois reagentes em etanol. Em seguida, alíquotas de cada solução (vide Tabela 1) foram transferidas para tubos Falcon os quais ficaram em banho-maria por aproximadamente 30 minutos. Na sequência registrou-se o espectro eletrônico de cada solução.

Tabela 1. Volumes utilizados no ensaio de *Job's Plot*

Ensaio	Aliquotas adicionada (mL)		Fração molar $V_{Ru}/(V_{dtca} + V_{Ru})^*$
	$[RuCl_2(dmsO)_4]$	dtca	
0	0	3	0
1	1	7	0,125
2	2	6	0,25
3	2,5	5,5	0,313
4	4	4	0,50
5	4,5	3,5	0,563
6	5	3	0,625
7	5,5	2,5	0,688
8	6	2	0,75
9	7	1	0,875
10	3	0	1

* V_{Ru} = volume do $[RuCl_2(dmsO)_4]$; V_{dtca} = volume do ligante

3.5.5. Estudos da Interação do Ligante dtca com o Plurônico F127

3.5.5.1. Estudos Preliminares

Os estudos preliminares da interação do ligante dtca com o copolímero plurônico F127 foi realizado utilizando a técnica de Espectroscopia Eletrônica de Absorção. Soluções estoques do plurônico F127 ($3000 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e do ligante ($1,0 \mu\text{mol.L}^{-1}$) foram preparadas em tampão PBC ($5 \mu\text{mol.L}^{-1}$, pH 7,4) em etanol, respectivamente. Titulações e diluições foram realizadas diretamente em uma cubeta de quartzo de forma a obter diferentes concentrações finais de plurônico ($600\text{-}1600 \mu\text{mol.L}^{-1}$) mas mantendo-se fixa a concentração do dtca ($20 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e o teor % (v/v) de etanol em 2,0 %. Na sequência, a solução foi cuidadosamente agitada e o espectro eletrônico foi registrado em temperatura ambiente.

3.5.5.2. *Determinação da Concentração Micelar Crítica*

A concentração micelar crítica (CMC) do plurônico F127 na presença do ligante dtca foi determinada utilizando a técnica de Espectroscopia de Fluorescência. Soluções estoques do plurônico F127 ($3000 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e do ligante dtca ($1,0 \mu\text{mol.L}^{-1}$) foram preparadas em tampão PBC ($5 \mu\text{mol.L}^{-1}$, pH 7,4) em etanol, respectivamente. Titulações e diluições foram realizadas diretamente em uma cubeta de quartzo de forma a obter diferentes concentrações finais de plurônico ($600-1600 \mu\text{mol.L}^{-1}$) mas mantendo-se fixa a concentração do dtca ($20 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e o teor % (v/v) de etanol em 2,0 %. Na sequência, a solução foi cuidadosamente agitada e o espectro de emissão ($\lambda_{\text{ex}} = 220 \text{ nm}$) foi registrado em temperatura ambiente. Um gráfico da fluorescência ($\lambda_{\text{em}} 365 \text{ nm}$) em função do logaritmo natural da concentração do P127 foi construído e a CMC foi estimada a partir da intersecção das duas retas que melhor se ajustaram aos pontos (PI??EIRO; NOVO; AL-SOUFI, 2015).

3.5.5.3. *Ensaio de Titulação*

Soluções estoques do plurônico F127 ($3000 \mu\text{mol.L}^{-1}$) foram preparadas em tampão PBC ($5 \mu\text{mol.L}^{-1}$, pH 7,4), contendo e não cloreto de sódio (300 mmol.L^{-1}), e a solução estoque do ligante dtca ($1,0 \mu\text{mol.L}^{-1}$) foi preparada em etanol. Titulações e diluições foram realizadas diretamente em uma cubeta de quartzo de forma a se obter diferentes concentrações finais de plurônico ($500 - 2500 \mu\text{mol.L}^{-1}$) mas mantendo-se fixa a concentração do dtca ($20 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e o teor % (v/v) de etanol em 2,0 %. Na sequência, a solução foi cuidadosamente agitada e o espectro de emissão ($\lambda_{\text{ex}} = 220 \text{ nm}$) foi registrado em temperatura ambiente.

3.5.5.4. *Influência dos Ânions da Série de Hofmeister*

A influência dos sais Na_2SO_4 , NaSCN e NaCl na interação do dtca com plurônico F127 foi investigada por Espectroscopia de Fluorescência. Soluções estoque do plurônico F127 ($3000 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e dos sais Na_2SO_4 ($2,0 \text{ mol.L}^{-1}$), NaSCN ($2,0 \text{ mol.L}^{-1}$) e NaCl ($2,0 \text{ mol.L}^{-1}$) foram preparadas em tampão PBC ($5 \mu\text{mol.L}^{-1}$, pH 7,4), e a solução estoque do ligante ($1,0 \mu\text{mol.L}^{-1}$) foi preparada em etanol. Titulações e diluições foram realizadas diretamente em uma cubeta de quartzo de forma a se obter diferentes concentrações dos ($100 - 1000 \mu\text{mol.L}^{-1}$), mas mantendo-se fixa a concentração do dtca ($20 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e do F127 ($1500 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e o teor % (v/v) de etanol em 2,0 %.. Na sequência, a solução foi cuidadosamente agitada e o espectro de emissão ($\lambda_{\text{ex}} = 220 \text{ nm}$) foi registrado em temperatura ambiente.

3.5.5.5. Supressão da Fluorescência com Acrilamida

A supressão da fluorescência do ligante dtca na presença do plurônico F127 foi investigada utilizando o agente supressor acrilamida. Soluções estoques do plurônico F127 ($3000 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e da acrilamida ($6,0$ e 300 mmol.L^{-1}) foram preparadas em tampão PBC ($5 \mu\text{mol.L}^{-1}$, pH 7,4), ambas contendo e não cloreto de sódio (300 mmol.L^{-1}), e a solução estoque do ligante dtca ($1,0 \text{ mmol.L}^{-1}$) foi preparada em etanol. Titulações e diluições foram realizadas diretamente em uma cubeta de quartzo de forma a se obter diferentes concentrações finais de acrilamida (0 - 1000 μL), mas mantendo-se fixa a concentração do dtca ($20 \mu\text{mol.L}^{-1}$) do F127 ($2000 \mu\text{mol.L}^{-1}$) e NaCl (300 mmol.L^{-1}) e o teor % (v/v) de etanol em 2,0 %. Na sequência, a solução foi cuidadosamente agitada e o espectro de emissão ($\lambda_{\text{ex}} = 220 \text{ nm}$) foi registrado em temperatura ambiente.

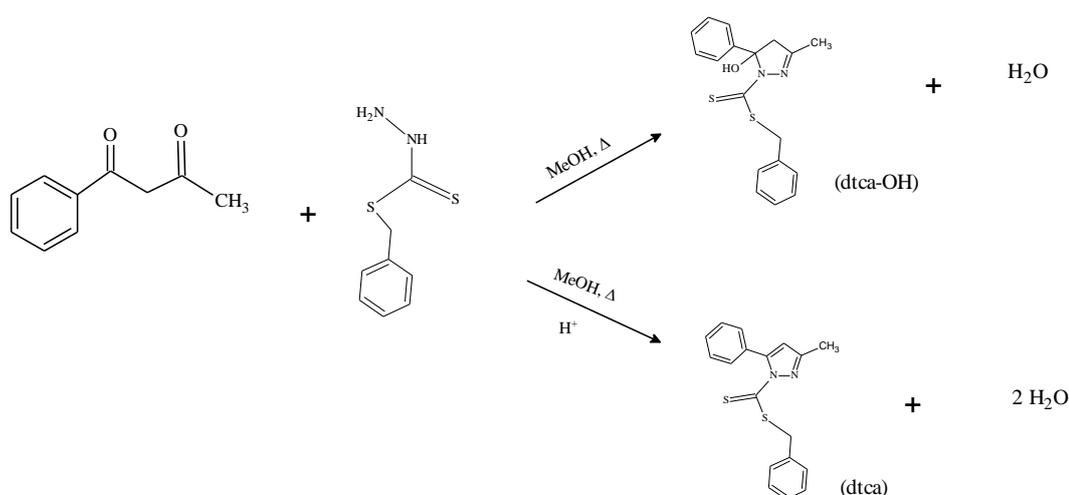
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Síntese e Caracterização do Ligante e dos Complexos de Rutênio

Como mencionado anteriormente, o complexo *cis*-[RuCl₂(dms_o)₄] (vide Figura 3) é um precursor muito versátil e um importante material de partida para síntese de complexos de Ru(II), uma vez que os ligantes dms_o coordenados ao íon metálico possuem características peculiares. O ligante *O*-dms_o (doador- σ) é lábil, assim como o *S*-dms_o (receptor- π), que encontra-se *trans* posicionado ao ligante cloreto (doador- π), uma vez que promove uma competição pelos elétrons π envolvidos na ligação de retroação- π com o íon metálico (SILVA; TOMA, 1993; SILVA, 1990). Essa labilidade dos ligantes no complexo Ru-dms_o pode proporcionar reação de substituição de ligantes, além disso, sabe-se que o rutênio(II) tem caráter mole e tende a coordenar-se com bases de Lewis mole, justificando, assim, a labilidade do *O*-dms_o que é considerado uma base dura.

O ligante dtca (Esquema 4) possui em sua estrutura, átomos N-doador e S-doador e portanto pode atuar como ligante ambidentado ou até mesmo bidentado em uma reação de troca de ligante. Na literatura as rotas sintéticas e elucidação estrutural do dtca e outros derivados análogos encontra-se bem descrita, na qual o composto dtca-OH sofre desidratação em meio ácido e forma o dtca (vide Esquema 4) (DE SOUSA et al., 2011).

Esquema 4. Rota sintética de obtenção dos ligantes ditiocarbazato (dtca-OH e dtca)



Fonte: (DE SOUSA et al., 2011)

4.1.1 Análise Elementar e Condutividade Molar

Para determinar a fórmula empírica dos complexos sintetizados foram avaliados os teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio e cloro, cujos resultados estão apresentados na Tabela 2. Os valores experimentais obtidos são consistentes com os valores teóricos correspondentes com as fórmulas estruturais propostas. No caso do complexo Ru-dtca, os valores obtidos sugerem a substituição de uma molécula de *O*-dmsso por uma molécula do ligante dtca.

Tabela 2. Dados dos valores da análise elementar dos complexos de rutênio(II)

Complexos Metálicos	[RuCl ₂ (dmsso) ₄] - (Ru-dmsso)		[RuCl ₂ (dmsso) ₃ (dtca)] - (Ru-dtca)	
Fórmula Empírica	RuCl ₂ C ₈ H ₂₄ S ₄ O ₄		RuCl ₂ C ₂₄ H ₃₄ S ₅ O ₃ N ₂	
Massa Molecular	484,5 g/mol		730,8 g/mol	
Teor	Calculado	Experim.	Calculado	Experim.
%C	19,8	20,0	39,4	38,9
%H	4,99	4,98	4,89	4,90
%N	--	--	3,98	3,9
%Cl	--	--	9,7	9,8

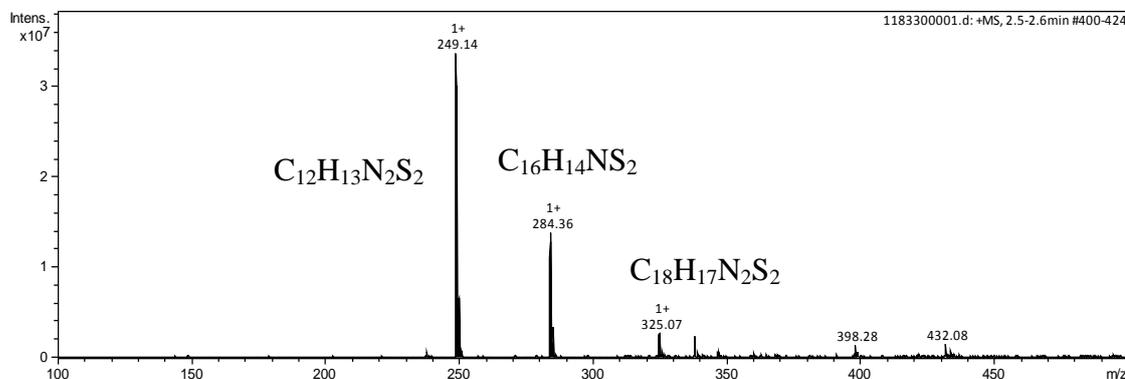
O baixo valor de condutividade molar ($30 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), obtida em metanol, para o complexo Ru-dtca indica que ele é um não eletrólito, uma vez que este valor encontra-se abaixo da faixa aceita ($80\text{-}115 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ para metanol) para complexos metálicos que são classificados como eletrólitos do tipo 1:1 (GEARY, 1971). Deste modo, o resultado sugere que complexo Ru-dtca é um composto neutro e que os dois ligantes cloretos estão coordenados à esfera interna do metal.

4.1.2 Espectrometrias de Massa por Ionização por Eletrospray (MS-ESI)

A espectrometria de massas por ionização por eletrospray é uma técnica analítica muito útil na caracterização de substâncias e está sendo cada vez mais usada para o estudo de biomoléculas e complexos metálicos (COLTON; D'AGOSTINO; TRAEGER, 1995; HECK; VAN DEN HEUVEL, 2004; LOO, 2000).

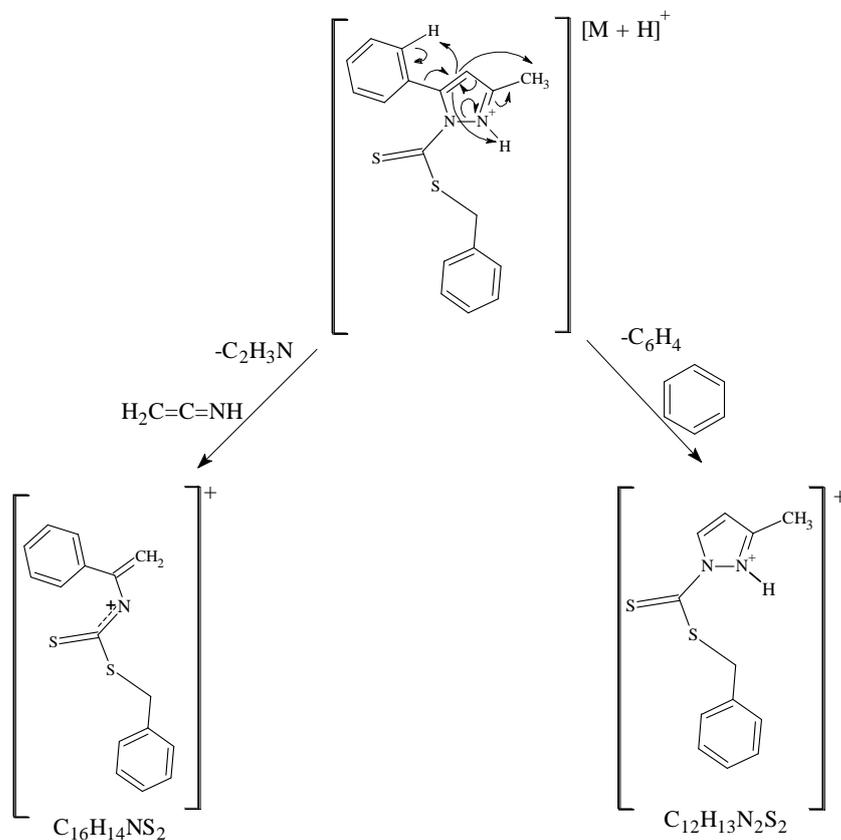
Na Figura 11 é apresentado o espectro de massa/carga do ligante dtca cuja massa molecular teórica de 324,5 g/mol corresponde ao pico da molécula protonada em m/z 325,07 [dtca + H].

Figura 11. Espectro de ESI/MS no modo positivo $[M+H]^+$ do ligante dtca em metanol



No esquema 5 é mostrada duas possíveis fragmentações do composto dtca que são coerentes com os picos observados no espectro de massa da Figura 11.

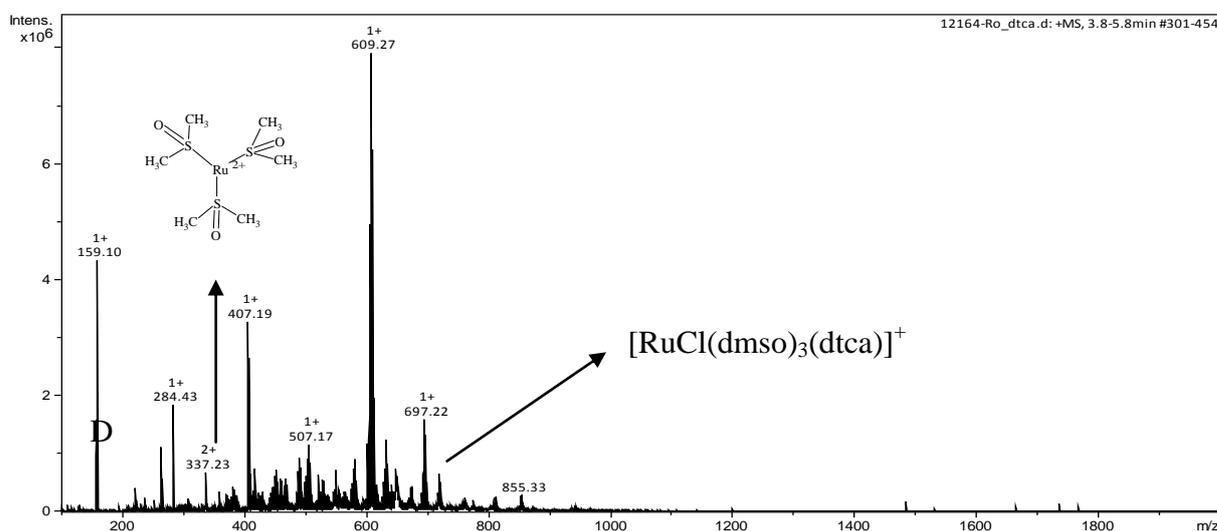
Esquema 5. Propostas de etapas de fragmentação do ligante dtca



Na Figura 12 está apresentado o espectro de massa/carga obtido por ESI-MS para o complexo Ru-dtca. Normalmente, os espectros de massas de compostos contendo átomo de rutênio são bastantes peculiares devido ao elevado número de isótopos que este elemento possui, justificando assim o espectro apresentar bastante “ruído”. Além disso, nessa mesma imagem que não há o aparecimento do pico referente ao íon molecular correspondente a estrutura $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_3(\text{dtca})]$ em m/z 730,8. Isto provavelmente, porque conforme descrito anteriormente, o complexo é um não eletrólito e a análise foi realizada em modo positivo, e portanto, detecta apenas espécies carregadas positivamente. No entanto, no momento em que ocorre o processo de ionização da amostra o composto pode sofrer algumas fragmentações durante este processo e espécies neutras podem ser ionizadas por processos eletrolíticos em fase líquida e na formação de agregados iônicos durante o processo de eletrospray (MORAES et al., 2003; TUREL et al., 2010).

Uma vez que, o complexo Ru-dtca foi solubilizado em metanol a protonação do complexo pode ser realizada seguida com a perda de um ligante cloreto cujo pico m/z 697 pode ser atribuído a estrutura carregada positivamente $[\text{RuCl}(\text{dmsO})_3(\text{dtca})]^+$.

Figura 12. Espectro de massa ESI/MS no modo positivo $[\text{M}+\text{H}]^+$ do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_3(\text{N-dtca})]$



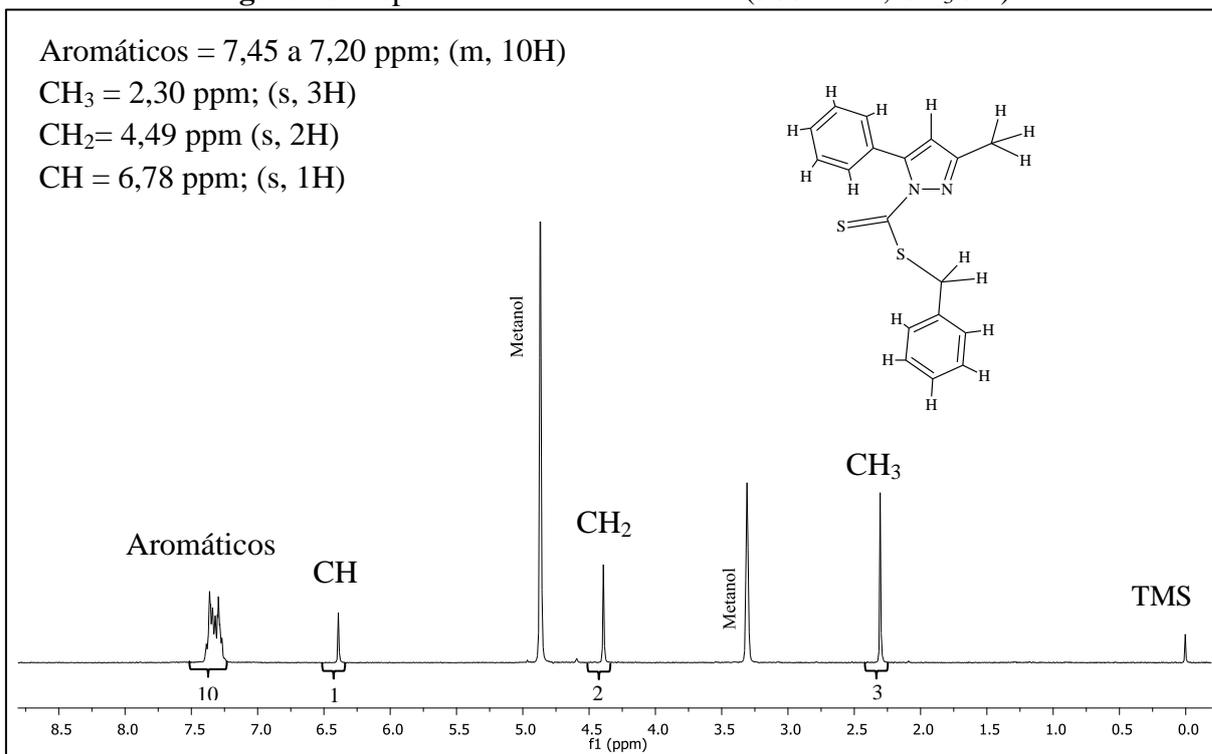
4.1.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

A técnica de ressonância magnética nuclear de hidrogênio foi utilizada com o propósito de auxiliar na elucidação da estrutura dos compostos. A partir dos resultados de RMN ^1H do ligante dtca (Figura 13) pode-se confirmar que o composto mantém sua estrutura

cíclica em solução metanólica, devido a presença do sinal referente ao hidrogênio em 6,39 ppm do anel pirazolínico (FERREIRA, 2015).

Os picos com deslocamento químico em 3,31 e 4,87 ppm correspondem aos hidrogênios residuais do solvente (metanol), sendo o primeiro referente aos hidrogênios da metila (-CH₃) e o segundo ao hidrogênio da hidroxila (-OH). O deslocamento químico para os hidrogênios da metila são observados em 2,30 ppm (s, 3H). O sinal referente ao hidrogênio ligado ao carbono sp² do anel pirazolínico é observado em 6,39 ppm (s, 1H), esse deslocamento químico é consequência da densidade eletrônica gerada pela circulação de elétrons π , proveniente do sistema π -conjugado. Isto proporciona uma maior desblindagem fazendo com que este sinta o campo magnético e ressoe em frequências de campo mais baixo (PAVIA et al., 2009). O sinal em 4,39 ppm (s, 2H) referente aos dois hidrogênio ligados ao carbono sp³ são magneticamente equivalentes. Os sinais dos hidrogênios aromáticos são observados em um multiplete entre 7,45 – 7,20 ppm (m, 10H) (CARNEIRO, 2014; DE SOUSA et al., 2011; MAIA et al., 2010b).

Figura 13. Espectro de RMN ¹H do dtca (300 MHz, CD₃OD)

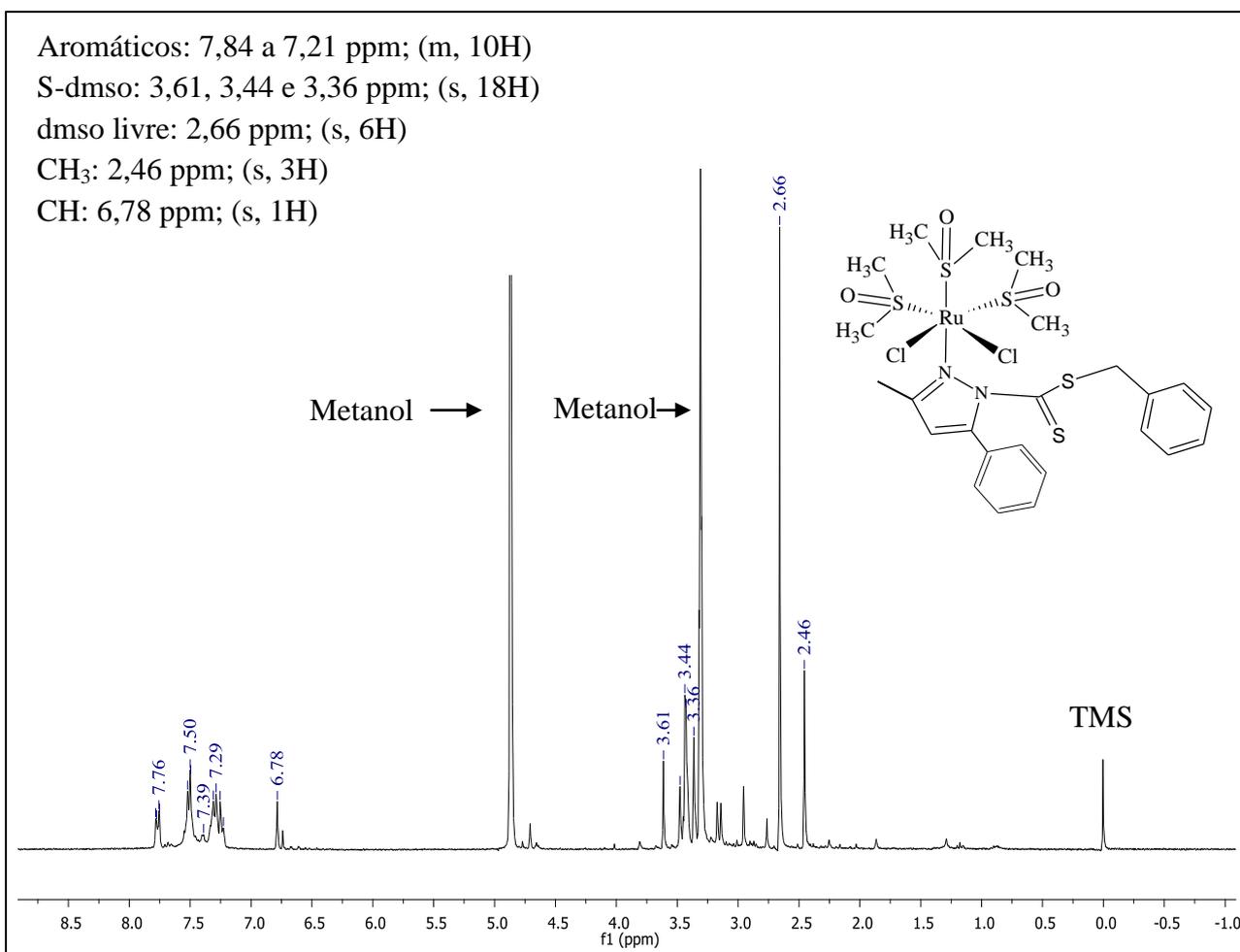


A coordenação do rutênio com ligante dtca teve como consequência alguns deslocamentos químicos dos hidrogênios. Na Figura 14 é apresentado o espectro de RMN ¹H obtido em solução de metanol deuterado para o complexo Ru-dtca.

Uma observação importante que auxilia na compreensão da doação de densidade eletrônica do ligante dtca para o metal rutênio pode ser avaliada, por meio do efeito indutivo do grupo metila, ou seja, a coordenação via átomo de nitrogênio promove um deslocamento da nuvem eletrônica do átomo de nitrogênio em direção ao rutênio, fazendo com que a metila torna-se mais desblindagem apresentando uma variação de 0,16 ppm, quando comparados ao deslocamento químico dos hidrogênios metílicos no dtca livre (FERNANDES, 2012).

O simpleto observado em 2,66 ppm refere-se aos hidrogênios do ligante dmsco livre. Os hidrogênios dos grupos metilas dos ligantes dmsco coordenado ao íon metálico via átomo de enxofre (*S*-dmsco) aparecem como um simpleto na região em 3,61, 3,44 e 3,36 ppm (BRATSOS; ALESSIO, 2010). O sinal referente ao hidrogênio ligado ao carbono sp^2 do anel pirazolínico também foi deslocado com a coordenação, no complexo aparece mais desblindado na região de 6,78 ppm e no ligante esse sinal é observado em 6,39 ppm.

Figura 14. Espectro de RMN ^1H em MeOD do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dmsco})_3(\text{dtca})]$

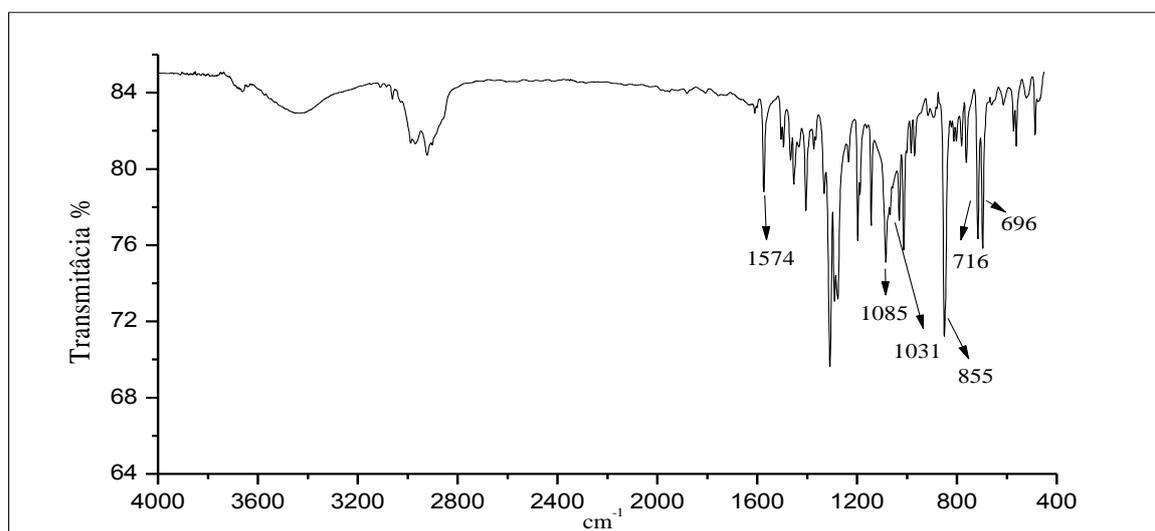


4.1.4 Espectroscopia Vibracional no Infravermelho

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho é uma das principais técnicas para elucidar os grupos funcionais de compostos orgânicos e o modo de coordenação do ligante ao metal. Nas Figuras 15, 16 e 17 são apresentados os espectros vibracionais FTIR do ligante e dos dois complexos sintetizados, e a atribuição das principais bandas estão apresentadas na Tabela 3.

As bandas características de vibração $\nu(\text{O-H})$ aparecem na região de 3500 a 3300 cm^{-1} e do estiramento $\nu(\text{C-OH})$ em 1225 cm^{-1} (GRAMINHA, 2010). No espectro vibracional do ligante dtca (Figura 15) é possível observar uma pequena banda na região de 3330 cm^{-1} que corresponde a contaminação com água. No entanto a ausência de bandas intensas características de hidroxila, evidência que este grupamento de fato não está presente na estrutura do anel pirazolínico do dtca. Além disso, não foi encontrada nenhuma banda intensa na região de 3060 a 3260 cm^{-1} (ALI et al., 2005; CROUSE et al., 2004; ISLAM et al., 2015), característico do estiramento $\nu(\text{N-H})$, confirmando que os átomos de nitrogênio do anel pirazolínico estão desprotonados.

Figura 15. Espectro de FTIR do ligante dtca em KBr na proporção (1:100 m/m)

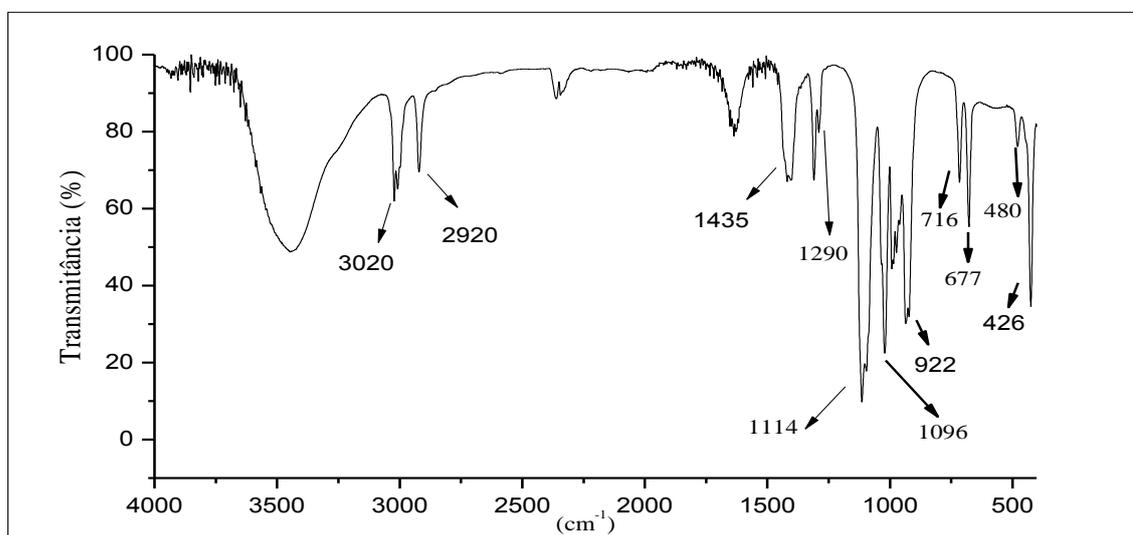


O tautomerismo presente na classe dos ditiocarbazato é observado no espectro FTIR do ligante dtca, uma banda intensa em 1085 cm^{-1} que pode ser atribuída ao estiramento $\nu(\text{C=S})$ indicativo de que a forma tautomérica é a tiona. Na literatura tal banda é encontrada em 1050 cm^{-1} (ISLAM et al., 2015; TAKJOO; CENTORE, 2013), enquanto o grupamento tiol $\nu(\text{S-H})$ aparece na região de 2500 - 2700 cm^{-1} (CROUSE et al., 2004; ISLAM et al., 2015). As

bandas intensas referentes aos modos vibracionais $\nu(\text{C}=\text{N})$ e $\nu(\text{N}-\text{N})$, encontram-se respectivamente, em 1574 e 1031 cm^{-1} . Essas bandas são sensíveis a coordenação, uma vez que o deslocamento de suas frequências para menores números de onda comprovaria a coordenação via átomo de nitrogênio do anel pirazolínico (TARAFDER et al., 2001)

Para o complexo precursor $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$, (Figura 16) as bandas que aparecem na região de 3020 a 2920 cm^{-1} correspondem a modos vibracionais de estiramento $\nu(\text{CH})$ referente aos grupos metilas. A região de 1435 a 1290 cm^{-1} são característicos de vibração de deformação angular simétrica e antissimétrica dos grupos metilas $\delta[(\text{CH}_3)]$ do ligante dmsO (SILVA, 1990). A banda referente ao estiramento $\nu(\text{SO})$ presente na molécula de dmsO livre geralmente aparece próximo a 1040 cm^{-1} . No entanto, quando o ligante é coordenado ao centro metálico esta banda normalmente sofre um desdobramento (SILVA, 1990), no qual foi observado pelos estudos realizados por WilKson, em 1973, com o metal rutênio, em 1120 e 1090 cm^{-1} para a coordenação via átomo de enxofre e em 915 cm^{-1} para a coordenação via oxigênio (EVANS; SPENCER; WILKINSON, 1973). No complexo precursor sintetizado as bandas aparecem em 1114 , 1096 e 922 , respectivamente.

Figura 16. Espectro FTIR do complexo precursor $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$



Outras bandas que aparecem em 716 e 677 cm^{-1} referente aos modos vibracionais de estiramento antissimétrico e simétrico $\nu_{\text{as}}(\text{CSC})$ e $\nu_{\text{s}}(\text{CSC})$ são fundamentais para sua caracterização visto que essas bandas quando deslocadas evidencia que ocorreu a coordenação ao metal pelo átomo de enxofre ou oxigênio, uma vez que a diferença no valor Δcm^{-1} está

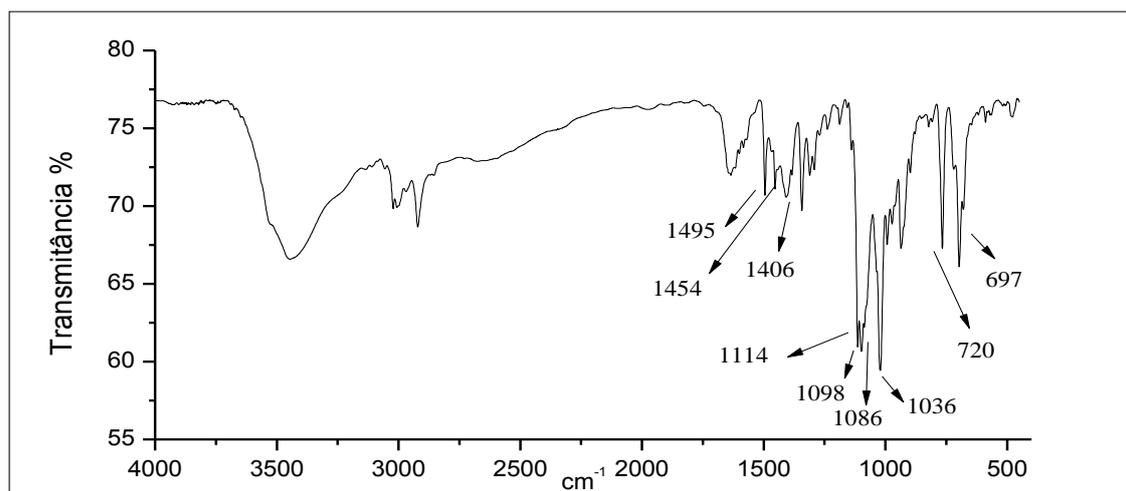
relacionado com a mudança na geometria da molécula referente ao comprimento das ligações carbono – enxofre (SILVA, 1990).

Por fim, as bandas para as ligações referentes aos estiramentos $\nu(\text{Ru-O})$ e $\nu(\text{Ru-S})$ encontram-se em 480 e 425 respectivamente (EVANS; SPENCER; WILKINSON, 1973). Os modos vibracionais da ligação Ru-Cl não são observadas no espectro, uma vez que surgem na região de baixa energia.

No espectro FTIR do complexo Ru-dtca (Figura 17), observa-se deslocamentos e ausência de algumas bandas que estavam nos reagentes de partida. Conforme já mencionado, o complexo Ru-dmso apresenta um sítio lábil em que o rutênio encontra-se coordenado pelo átomo de oxigênio (O-dmso), o que proporciona reações de substituição. Nesta situação o cátion Ru^{2+} , por ser um ácido mole tende a ligar-se com base mole, e como o O^{2-} é uma base dura sua labilidade é favorecida (SILVA, 1990).

A ausência da banda atribuído ao estiramento da ligação $\nu(\text{SO})$, coordenado via átomo de oxigênio em 922 cm^{-1} é indicio que houve a substituição da molécula O-dmso e que o ligante coordenou-se ao centro metálico e também não foi observado a banda referente a ligação Ru-O atribuída anteriormente em 480 cm^{-1} , o que evidência que os três ligantes dmso encontra-se coordenado via átomo de enxofre (1114 e 1098 cm^{-1}).

Figura 17. Espectro FTIR do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dmso})_3(\text{dtca})]$ em KBr na proporção (1:100 m/m)



Além disso, o ligante dtca pode-se coordenar ao metal de duas maneiras: ambidentado (via S ou N) ou bidentado (S e N). Uma maneira de confirmar este modo de coordenação é monitorar o deslocamento das bandas atribuídas ao C=N . No caso do ligante dtca, o estiramento $\nu(\text{C=N})$ foi observado em 1574 cm^{-1} , enquanto que para o complexo Ru-dtca,

essa mesma banda está localizada em 1495 cm^{-1} . Este grande deslocamento da banda pode ser justificado devido à coordenação do metal-ligante via *N*-dtca. Esta alteração é coerente visto que o deslocamento para frequências mais baixas pode ser atribuída a uma redução da ordem de ligação do grupo C=N, como resultado da deslocalização dos elétrons π nos orbitais do anel pirazolínico e enfraquecendo o sistema π -conjugado, com a formação da ligação metal ligante (CROUSE et al., 2004). As bandas características do anel pirazolínico não foi possível atribuir uma vez que elas coincidem com as bandas do ligante dmsso que também estão presente no complexo (SILVA, 1990).

Assim não foi observada a banda em 922 cm^{-1} , atribuído ao estiramento da ligação $\nu(\text{SO})$, coordenado via átomo de oxigênio e também não foi observado a banda referente a ligação Ru-O atribuída anteriormente em 480 cm^{-1} , o que evidência que os três ligantes dmsso encontra-se coordenado via átomo de enxofre (1114 e 1098 cm^{-1}).

Tabela 3. Atribuição das principais frequências vibracionais (cm^{-1}) observadas nos espectros FTIR dos reagentes

Atribuições	[RuCl ₂ (dms _o) ₄]	(Ref.)	dtca	(Ref.)	[RuCl ₂ (dms _o) ₃ (dtca)]
v(C=N)	---	---	1574 m	1575 ^(c) ;	1495 (f)
---	---	---	---	1628 ^{(d)(e)}	---
---	---	---	---	1617 ^(f) ;	---
---	---	---	---	1596 ^(g)	---
v(NNC)	---	---	1405 m	1375 ^(e)	1406 (m)
v(CH₂)	---	--	1454 f	1441 ^(e)	1454 mf
v(SO)	1114 F	1100 ^(a) ;	---	---	---
---	1096 F	1120 ^(b)	---	---	---
---	---	1085 ^(a) ;	---	---	---
---	---	1090 ^(b)	---	---	---
v(C=S)	---	---	1085	1069 ^(d) ;	1086 F
---	---	---	---	1038 ^(g)	---
---	---	---	---	1275, 853 ^(c)	---
v(N-N)	---	---	1031 mf	1024 ^(d) ;	1036 F
---	---	---	---	1047 ^(f) ;	---
---	---	---	---	1050-	---
---	---	---	---	1065 ^(h) ;	---
v(CSS)	---	--	984	969 ^(c)	993 m
v(SO)	922 mF	935 ^(a) , 915 ^(b)	--	---	ausente
vas(CSC)	716 mF	722 ^(a) , 705 ^(b)	716 mF	---	720 m
vs(CSC)	677 mF	680 ^(a) , 670 ^(b)	696 mF	---	697 mF
v(Ru-O)	480 f	485 ^(a) ; 479 ^(b)	---	---	ausente
v(Ru-S)	426 F	430 ^(a)	---	---	---

F= forte; f = fraca; m = média; mf = média fraca; mF = média forte;

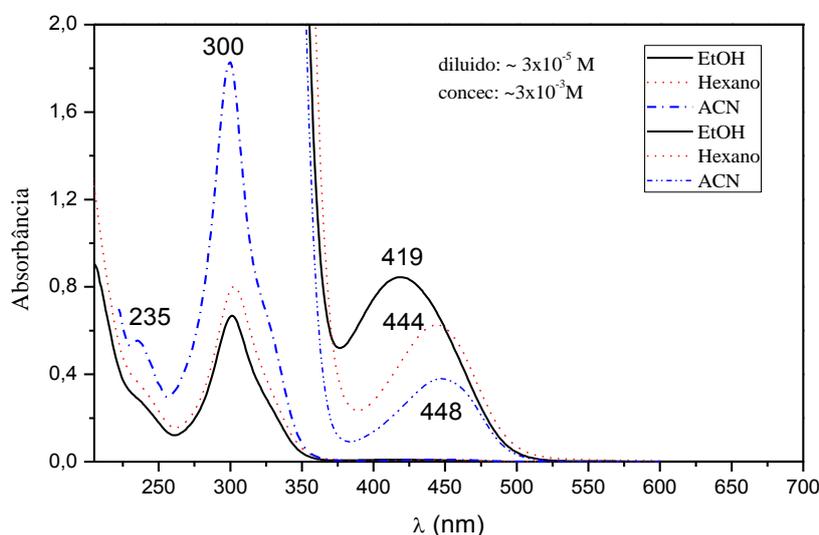
(a) (SILVA, 1990); (b) (EVANS; SPENCER; WILKINSON, 1973); (c) (DE SOUSA et al., 2011); (d) (GRAMINHA; SP, 2010); (e) (CARNEIRO, 2014); (f) (ALI et al., 2005); (g) (ISLAM et al., 2015); (h) (CROUSE et al., 2004).

4.1.5 Espectroscopia Eletrônica de Absorção UV-Vis

A espectroscopia eletrônica consiste na observação da absorção da radiação eletromagnética nas regiões do visível (Vis) e do ultravioleta (UV). A energia envolvida provoca transições eletrônicas entre os orbitais HOMO (orbital molecular ocupado de mais alta energia) e LUMO (orbital molecular desocupado mais baixa energia) (SHRIVER & ATKINS 2008). Na Figura 18 estão apresentados os espectros eletrônicos obtidos de soluções do ligante dtca em diferentes solventes.

As bases de Schiff ($-R_2C=N-R$) também conhecidas simplesmente como grupamento azometina, apresentam bandas de absorção intensas na região do UV-Vis. Por exemplo, os estudos feitos por Offiong et al. (2000) em clorofórmio mostram que as transições $\pi \rightarrow \pi^*$ do grupo (C=N) aparecem em torno em 410 – 425 nm (OFFIONG et al., 2000). Enquanto no trabalho de Adli et al. (2013) a mesma transição eletrônica ($\pi \rightarrow \pi^*$) é atribuída a banda 300 nm (ADLI et al., 2013). Por fim, as transições do tipo $n \rightarrow \pi^*$ costumam aparecer na região de 300 - 390 nm (ALI et al., 2005; CROUSE et al., 2004; TAKJOO; CENTORE, 2013).

Figura 18. Espectro eletrônico de absorção na região do Uv-vis para o ligante dtca em etanol, hexano e acetonitrila



Como pode ser observada na Figura 18 a banda de maior energia em 300 nm são atribuídas as transições $\pi \rightarrow \pi^*$ do grupo (C=N). Enquanto a transições $n \rightarrow \pi^*$ aparecem como um ombro em 330 nm devido a grande intensidade da banda em 300 nm (ALI et al., 2005; CROUSE et al., 2004; ISLAM et al., 2015). A banda que aparece em 235 nm, um pouco melhor definida quando dissolvida em acetonitrila é atribuída aos dois

anéis aromáticos. Observa-se também uma larga banda na região do visível que provavelmente corresponde à transferência de carga (TC). Sabemos que as bandas TC costumam apresentar deslocamentos de λ com uso de solventes, os chamados efeitos solvatocrômicos, o que pode ser observado nos espectros apresentados na Figura 18. Na tabela 4 são apresentadas as atribuições das transições eletrônicas dtca.

Tabela 4. Atribuições das transições eletrônicas do ligante dtca em etanol^(a), hexano^(b) e acetonitrila^(c)

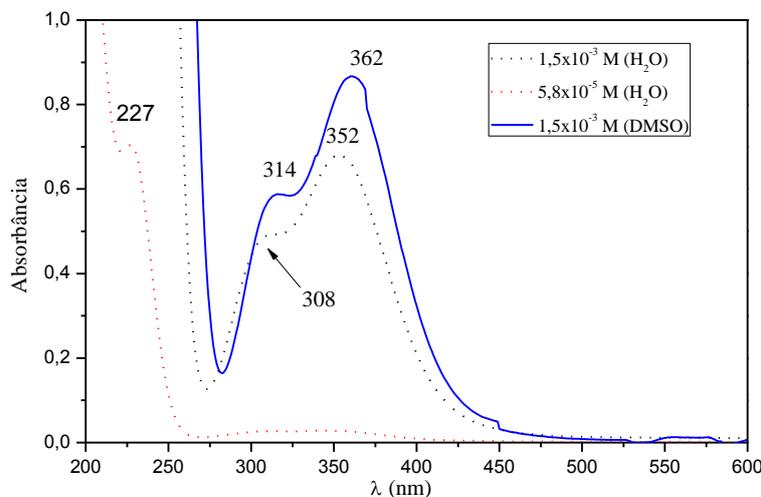
λ (nm)	Transições	Atribuição	ϵ (mol ⁻¹ .cm ⁻¹ .L)	Ref.
235	$\pi - \pi^*$	Anel aromático	2000	(PAVIA et al., 2009)
300	$\pi - \pi^*$	C=N	60000	(ALI et al., 2005; CROUSE et al., 2004)
330	$n - \pi^*$	Ombro (ditiocarbazato)	2062	(ISLAM et al., 2014)
419 ^(a)			277 ^(a)	
444 ^(b)		Transferência de carga	208 ^(b)	(PAVIA et al., 2009)
448 ^(c)			128 ^(c)	

No caso dos compostos de coordenação, o comportamento dos metais e ligantes são considerados doadores e receptores de elétrons ou vice-versa. Esse comportamento são refletidos em seus espectros eletrônicos no qual, podem ocorrer no campo do ligante, transferência de carga ligante-metal, transferência de carga metal-ligante e as transições interna dos ligantes (TOMA, 2013).

Para o complexo precursor Ru-dmso em solução aquosa e dimetilsulfóxido são observados duas bandas pouco intensa na região do visível, uma em 314 nm ($\epsilon = 390 \text{ mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) e 362 nm ($\epsilon = 576 \text{ mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) que são característica de transições *d-d* (SILVA, 1990), como pode ser visto na Figura 19.

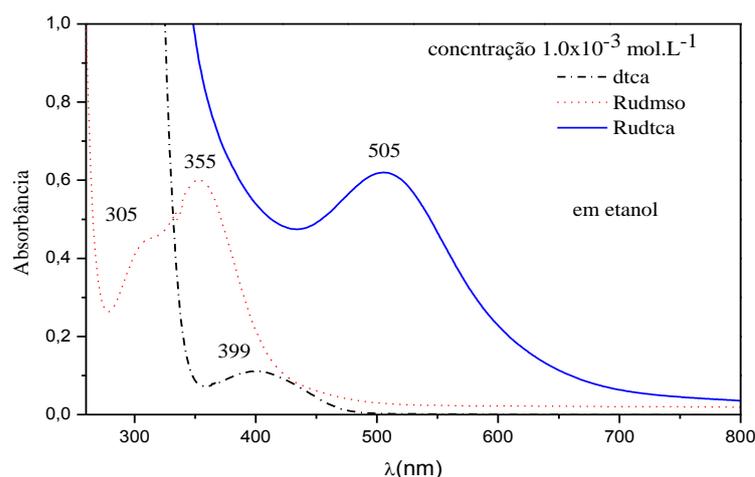
Em solução aquosa as bandas aparecem deslocadas para a região de menor energia quando comparadas as bandas do complexo dissolvido em dmso. Esse deslocamento é consequência da substituição do ligante *O*-dmso pela molécula de água. Esse comportamento já foi relatado na literatura uma vez, que o precursor tem em sua estrutura um sítio lábil, favorecendo a substituição da molécula de *O*-dmso pela molécula de água (BRINDELL et al., 2007). A banda em 227 nm corresponde às transições interna do ligante neste caso o dimetilsulfóxido (SILVA, 1990).

Figura 19. Espectro de absorção na região do Uv-Vis para o complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$ em dimetilsulfóxido e água



Na Figura 20 são mostrados os espectros eletrônicos do complexo sintetizado Ru-dtca e seus respectivos reagentes de partida. É possível verificar que ao substituir o ligante *O*-dmsO do complexo Ru-dmsO pelo ligante dtca, ocorre a formação de uma nova banda em 505 nm, que corresponde a transferência de carga metal-ligante. A evidência da natureza dessa transição TCML é que esta não é observada nos espectros eletrônicos dos reagentes de partida obtido em etanol.

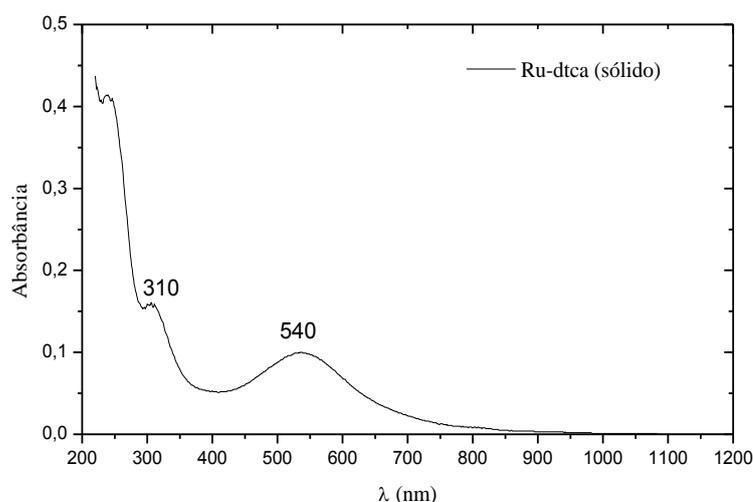
Figura 20. Espectro de absorção na região do UV-vis para os complexos $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$, $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_3(\text{dtca})]$ e o ligante dtca



Foi registrado também, o espectro eletrônico no estado sólido do complexo Ru-dtca (Figura 21), o qual são observadas duas bandas em aproximadamente em 310 nm e 540 nm, que podem ser atribuídas às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ do grupo azometina ($\text{C}=\text{N}$) do ligante dtca e à

transição de carga metal-ligante (TCML) no Ru-dtca, respectivamente. Transições de campo cristalino são proibidas por Laporte e possuem baixos valores de absorvidade molar, desta forma, favorece a ocorrência de transferência de carga metal-ligante, principalmente na presença de ligantes aceitadores- π (TOMA, 2013). Como pode ser notado, a banda em 540 nm referente à transições $d-d$ do metal rutênio está encobertas pelas TCML.

Figura 21. Espectro eletrônico do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_3(\text{dtca})]$ sólido disperso em BaSO_4



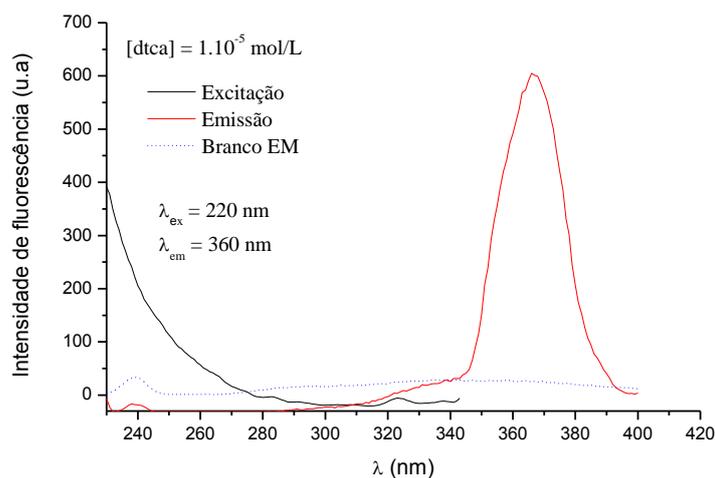
4.1.6 Espectroscopia de Fluorescência

A técnica de espectroscopia de fluorescência é um método ideal para fornecer informações de mudanças conformacionais e interações de moléculas de interesse biológico. No fenômeno de fluorescência ocorre a emissão de fótons no processo de relaxação entre os estados $S_1 \rightarrow S_0$ (estado excitado – estado eletrônico fundamental). Para que ocorra a fluorescência a molécula precisa estar em meio que favoreça a desativação radiativa dos estados $S_1 \rightarrow S_0$ (LAKOWICZ, 2006). A técnica de fluorescência é muito empregada para estudar equilíbrios químicos e cinéticos, além de ser possível estudar reações em concentrações baixas em decorrência da alta sensibilidade da técnica (SKOOG; WEST, 2005).

Com a finalidade de investigar a fluorescência do ligante dtca, preparou-se uma solução estoque em etanol ($1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) e a partir desta a solução de trabalho foi preparada com diluição em água para concentração final de $1 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ e o espectro de emissão ($\lambda_{\text{ex}} =$

220 nm) e excitação ($\lambda_{em} = 360$ nm) foram registrados imediatamente (Figura 22). No espectro de emissão pode ser observada uma banda intensa na região de 360 nm.

Figura 22. Espectros de emissão ($\lambda_{ex} = 220$ nm) e excitação ($\lambda_{em} = 360$ nm) do ligante dtca em água

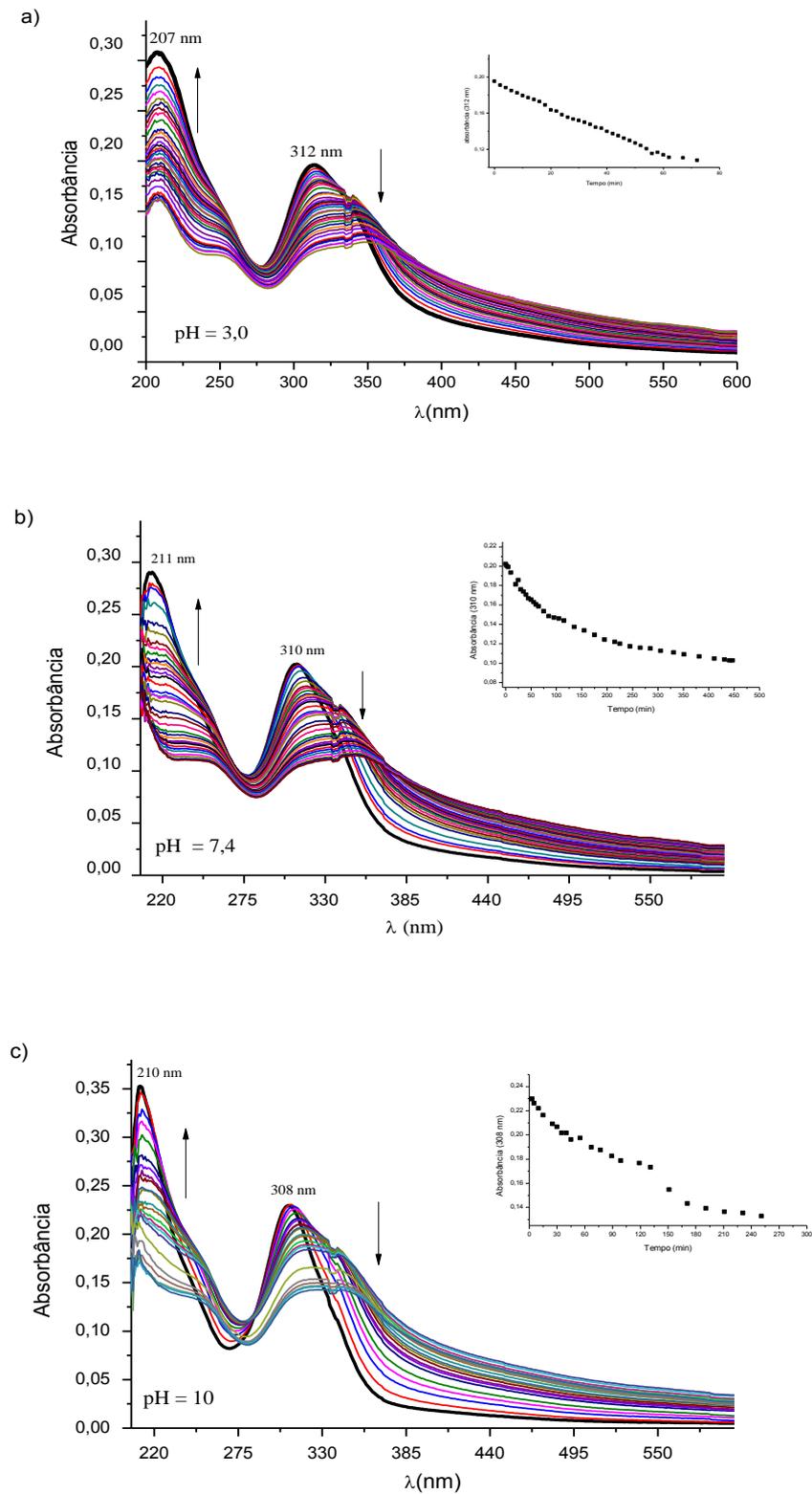


4.2 Estudos em Solução do Ligante e dos Complexos Sintetizados

4.2.1 Estabilidade do Ligante dtca em Meio Aquoso

Com a finalidade de verificar a estabilidade do ligante dtca (1×10^{-5} mol.L⁻¹) em meio aquoso (tampão PBC em diferentes valores de pH), seus espectros eletrônicos (Figura 23) foram registrados em função do tempo. Observa-se que a banda atribuída à transições $\pi \rightarrow \pi^*$ do grupamento azometina (C=N) sofreu um pequeno deslocamento para maiores energias quando utilizou diferentes valores de pH. Além disso, a mesma diminui a sua intensidade e perde a definição com o passar do tempo, indicando uma possível decomposição do ligante dtca.

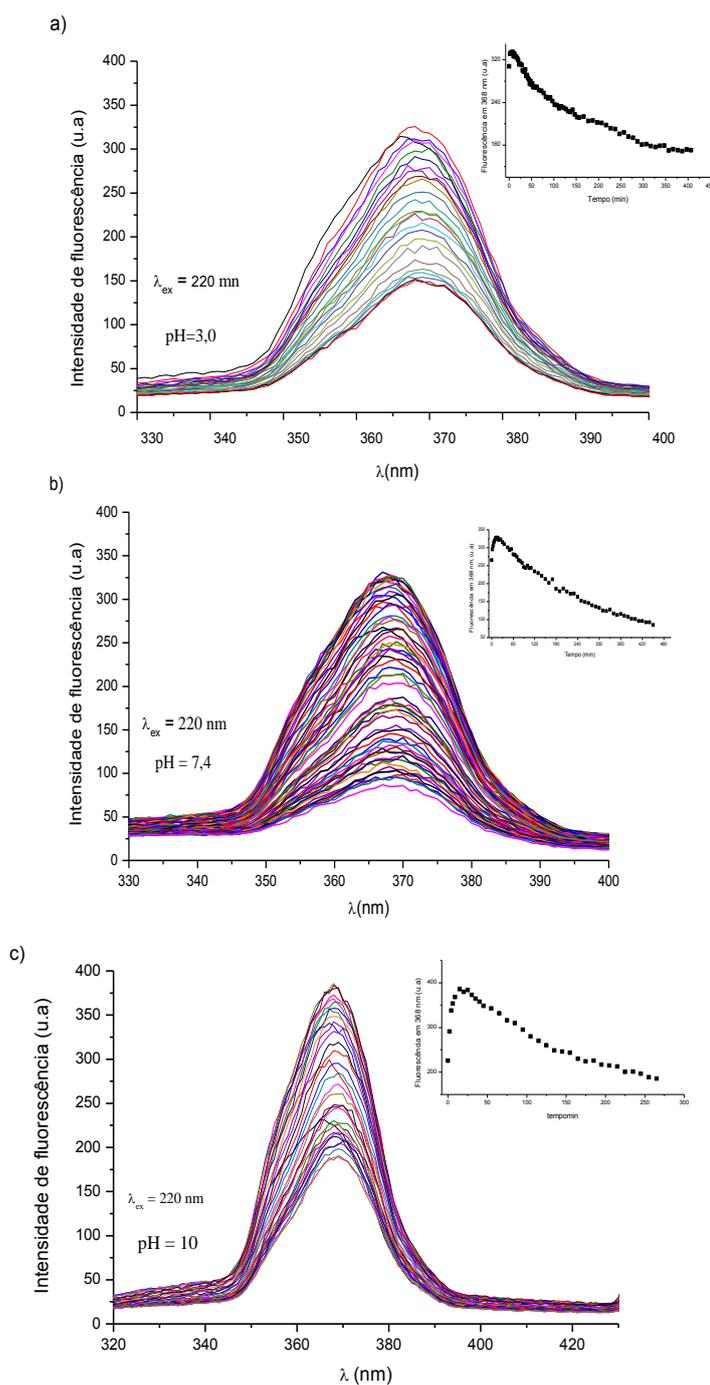
Figura 23. Espectros eletrônico do dtca ($1 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) no tampão PBC ($5 \mu\text{mol.L}^{-1}$) em pH 3,0 (a), pH 7,4 (b) e pH 10 (c) m função do tempo. Inset: curva cinética



O mesmo estudo também foi investigado utilizando a técnica de Espectroscopia de Fluorescência, sendo que na Figura 24 são apresentados as três curvas cinéticas de

estabilidade/decomposição do dtca nos diferentes pH estudados. A partir dessas curvas cinéticas, pode-se observar um rápido aumento da intensidade da fluorescência nos primeiros minutos, seguida de uma lenta redução de intensidade, a qual pode estar associada a possível decomposição do fluoróforo. Nota-se que em meio neutro e básico o ligante dtca apresentou uma estabilidade de (~30 min) um pouco maior em relação ao meio ácido (~10 min).

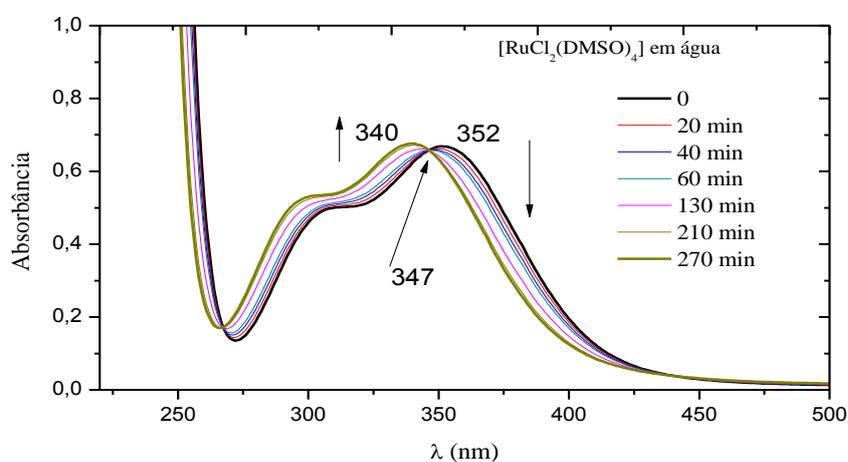
Figura 24. Espectros de fluorescência do dtca (1×10^{-5} mol.L $^{-1}$) em tampão PBC ($5 \mu\text{mol.L}^{-1}$) pH 3,0 (a), pH 7,4 (b) e pH 10 (c) em função do tempo. Inset: curva cinética ($\lambda_{\text{em}} = 368$ nm)



4.2.2 Reação de Aquação do Complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$

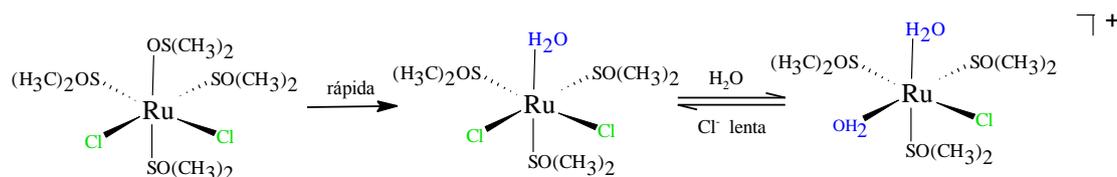
O presente estudo foi realizado com objetivo de verificar as possíveis modificações no espectro eletrônico (Figura 25) em função do tempo durante a reação de aquação do complexo precursor Ru-dmsO. Nota-se que com o decorrer do tempo a banda em 352 nm é deslocada para maiores energias formando um ponto isobéstico em 347 nm. Esse deslocamento é o indicativo da reação de troca, ou seja, o ligante cloreto é substituído por um ligante aquo. Esse comportamento evidência a existência de um sítio lábil no complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$.

Figura 25. Espectro eletrônico no UV-vis do ensaio de cinético da reação de aquação do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$



Conforme já mencionado anteriormente, assim que o complexo Ru-dmsO é dissolvido em meio aquoso, o ligante *O*-dmsO, que é lábil, é substituído rapidamente por um ligante aquo, seguindo pela lenta dissociação do ligante cloreto, gerando um composto catiônico (BRINDELL et al., 2007; SILVA; OLIVEIRA; TOMA, 1993) conforme pode ser visualizado no esquema 6.

Esquema 6. Reação de aquação do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$

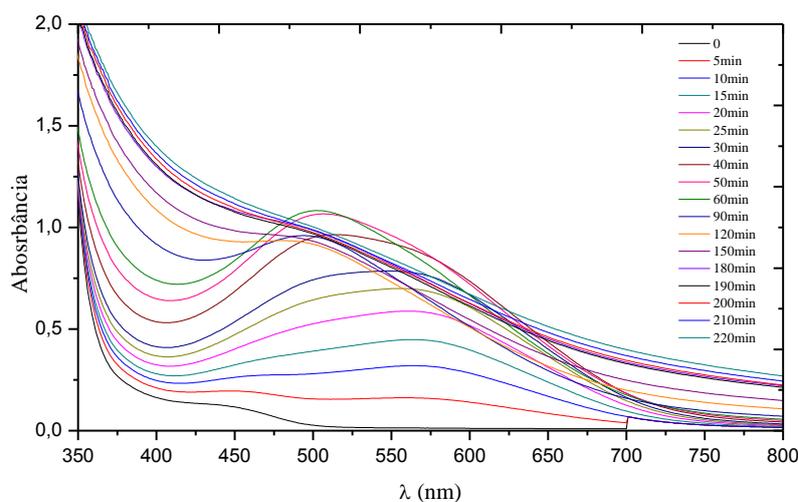


Fonte: (BRINDELL et al., 2007) adaptado

4.2.3 Cinética da Reação de Formação do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dms})_3(\text{dtca})]$

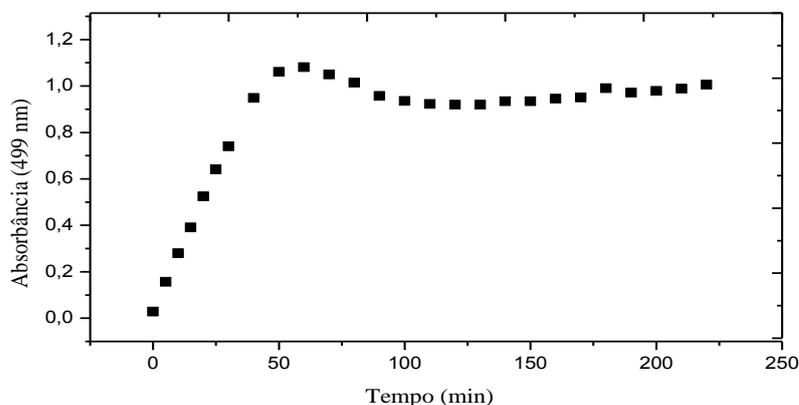
Realizou-se um estudo cinético da reação entre o complexo precursor e o ligante dtca com o objetivo de verificar o tempo necessário para que a reação de formação do Ru-dtca se processasse. Os espectros eletrônicos são apresentados na Figura 26.

Figura 26. Espectros de eletrônicos do complexo precursor do ligante dtca em concentrações equimolares ($1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) em etanol a 80°C



Como pode ser observada (Figura 26), logo nos primeiros minutos de reação uma nova banda ($\sim 500 \text{ nm}$) começa a ser formada e aos 60 min ela se estabiliza. Após este período, a banda começa diminuir sua intensidade e perder o seu perfil, sugerindo a decomposição do produto da reação. A curva cinética associada a esta reação é apresentada na Figura 27.

Figura 27. Curva cinética da reação de formação do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dms})_3(\text{dtca})]$ em etanol



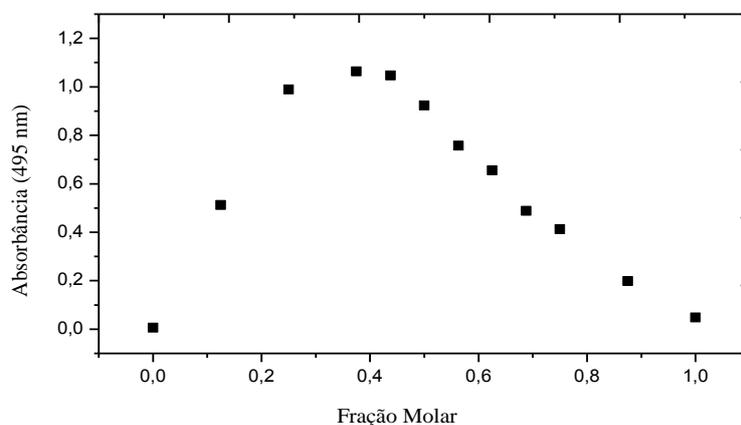
4.2.4 Estequiometria da Reação de Formação do Complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dms})_3(\text{dtca})]$

A estequiometria da reação de formação do complexo Ru-dms foi investigada pelo método Job's Plot utilizando a técnica de espectroscopia eletrônica. O presente método está fundamentado na variação da fração molar. Sabendo-se que as medidas de concentração do complexo é diretamente proporcional a absorbância (UV-Vis) é possível construir um gráfico a partir da absorbância em função da fração molar, onde o máximo da curva obtida indica o coeficiente estequiométrico da reação de complexação (OLSON; BÜHLMANN, 2011; RENNY et al., 2013).

Em 1928 Paul Job publicou um artigo que mostrou que o máximo da curva do gráfico absorção *versus* a fração molar do composto $\text{Tl}(\text{NO}_3)/\text{Tl}(\text{NH}_3)$ em solução indicava a razão estequiométrica 1:1. O gráfico plotado ficou conhecido como o método de variações contínuas ou método de Job's. Mais tarde, Renny e colaboradores (2013) publicaram um trabalho de revisão sobre a utilização do método de variação contínuas para determinação estequiométrica da reação de complexação em especial para compostos organometálicos (RENNY et al., 2013).

A estequiometria de complexação do $[\text{RuCl}_2(\text{dms})_3(\text{dtca})]$ foi determinada a partir de soluções equimolares do complexo $[\text{RuCl}_2(\text{dms})_4]$ e do ligante dtca misturas conforme (Tabela 1, p. 30). Na Figura 28 é mostrado o gráfico da fração molar *versus* absorbância (495 nm) onde, observa-se que o máximo da curva obtido está localizado em aproximadamente 0,5 (eixo da abscissa) indicando que a reação de formação do complexo Ru-dtca ocorre com uma estequiometria de 1:1.

Figura 28. Gráfico da fração molar versus absorbância da reação do complexo precursor e do ligante dtca

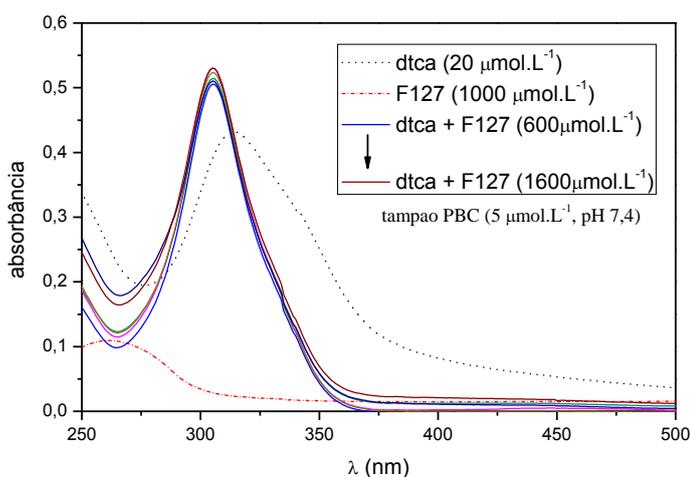


4.3 Estudos da Interação do Ligante dtca com o Plurônico F127

4.3.1 Estudos Preliminares

Conforme já relatado, o ligante dtca é pouco solúvel em meio aquoso e, além disso, começa a se decompor quando dissolvido em misturas de solvente que tenham mais de 30% (v/v) de água (págs. 47 e 48). No entanto, com a adição sucessiva do plurônico F127 o sistema formado foi capaz de estabilizar o ligante em meio aquoso, note que a banda na região de 300 nm está muito mais definida do que aquela em que não foi adicionada nenhuma alíquota do F127 (Figura 29). Essa estabilização pode ser justificada devido à formação de agregados micelares entre o plurônico F127 e o ligante dtca (BASAK; BANDYOPADHYAY, 2013). Além disso, foi possível observar no gráfico que não há diferenças significativas da estabilidade do dtca relacionada com o aumento da concentração do plurônico F127.

Figura 29. Espectros eletrônicos do dtca na presença de diferentes concentrações de plurônico F127. Tampão PBC, pH = 7,4



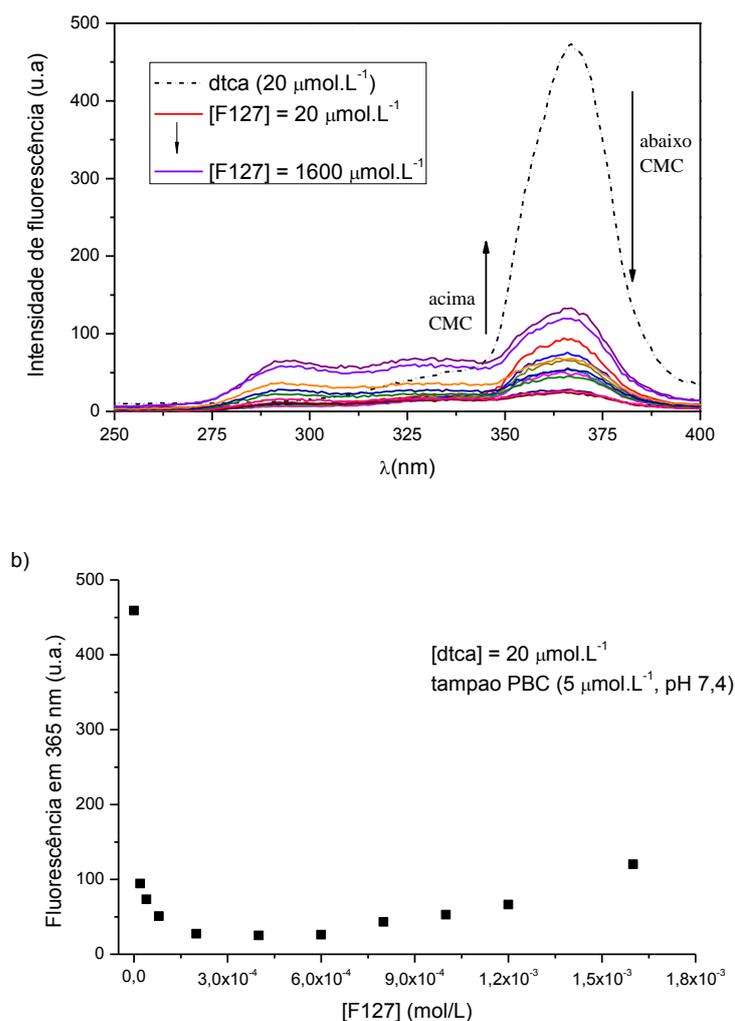
4.3.2 Determinação da Concentração Micelar Crítica

Surfactantes e alguns copolímeros possuem a propriedade de se auto-organizarem espontaneamente em solução aquosa formando estruturas micelares. Esta propriedade depende de vários fatores físico-químicos como a concentração, ou seja, a formação das unidades micelares está condicionada à determinada concentração, a chamada concentração micelar crítica (CMC). Através da CMC é possível manter o equilíbrio entre a formação micelar e a forma de monômeros do copolímero (GAO; EISENBERG, 1993; TORCHILIN, 2001). Uma característica importante das micelas é a sua capacidade de solubilizar os mais

variados compostos que possuem baixa solubilidade (NAKSURIYA et al., 2015; SINGH et al., 2013).

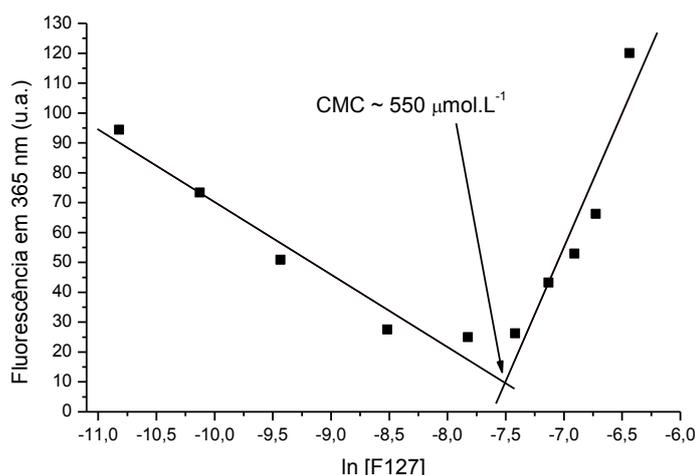
Na Figura 30 estão apresentados os espectros de emissão do dtca na presença de diferentes concentrações do F127 e também a sua respectiva curva obtida entre a intensidade da fluorescência (365 nm) em função da concentração do F127. Observa-se que a intensidade da fluorescência possui dois comportamentos: diminui em baixas concentrações de F127 e aumenta com elevadas concentrações de F127. Este diferente comportamento em função da concentração pode ser justificado provavelmente devido ao equilíbrio na reação de formação dos agregados micelares.

Figura 30. Interação do ligante dtca com diferentes concentrações de plurônico F127 em tampão PBC (pH 7,4); (a) Espectros de emissão de fluorescência ($\lambda_{\text{ex}} = 220 \text{ nm}$) e (b) intensidade da fluorescência ($\lambda_{\text{em}} = 365 \text{ nm}$) em função da concentração de F127



Utilizando estes mesmos resultados, um novo gráfico (Figura 31) foi plotado para a determinação da CMC deste sistema, e o valor obtido ($550 \mu\text{mol.L}^{-1}$) está em concordância com o valor encontrado ($575 \mu\text{mol.L}^{-1}$) na literatura (BASAK; BANDYOPADHYAY, 2013).

Figura 31. Intensidade de fluorescência (365 nm) em função do $\ln[\text{F127}]$



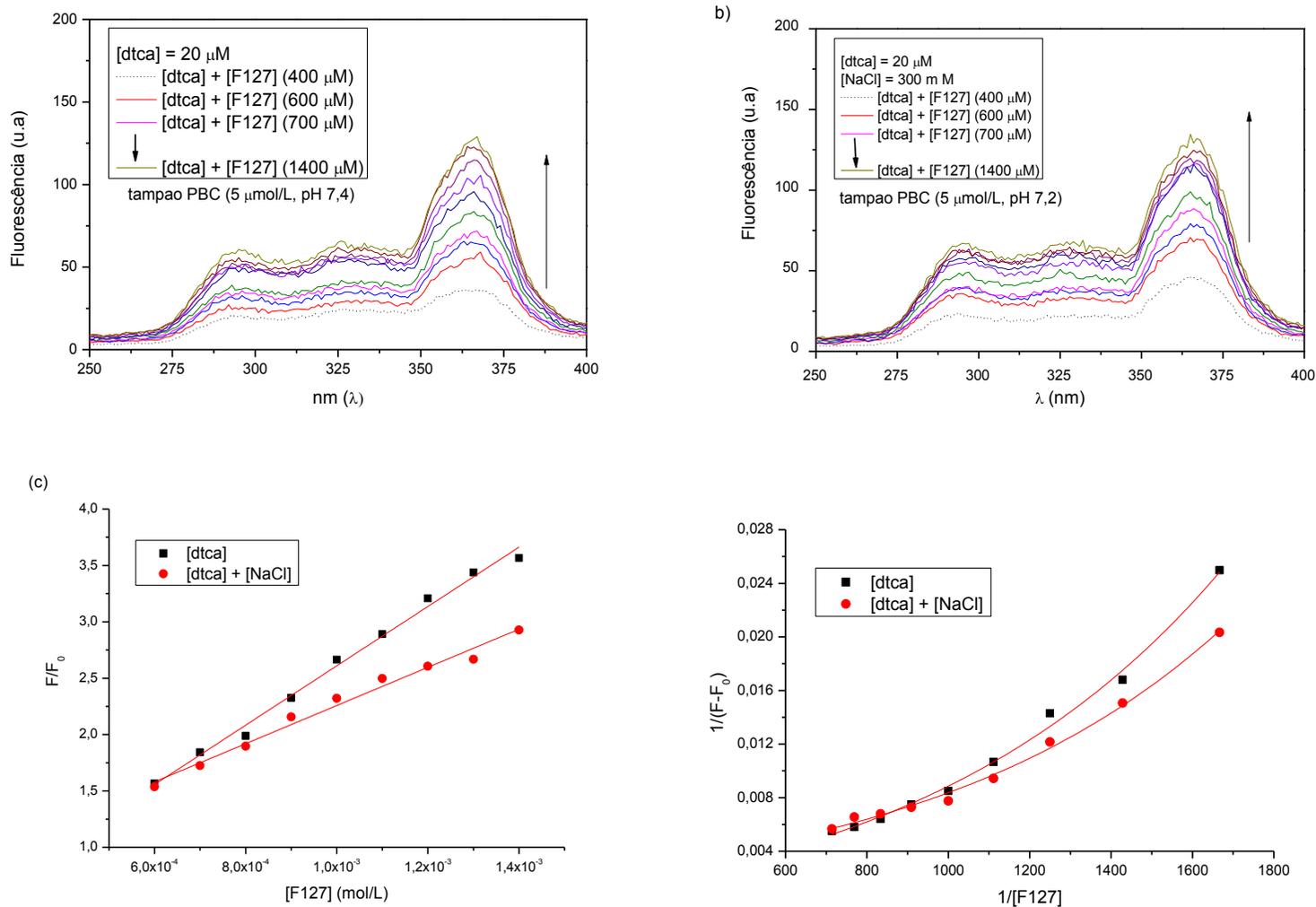
4.3.3 Ensaio de Titulação

As micelas poliméricas de plurônico F127 têm sido utilizadas na liberação prolongada de fármacos (IBRAHIM et al., 2012). Choi et al (1999) investigaram a influência da adição de NaCl na formação de géis de plurônico F127, os resultados mostram que o sal promove um aumento da bioadesividade (CHOI et al., 1999).

Na Figura 32 são apresentados os espectros de emissão da fluorescência do dtca em diferentes concentrações de plurônico (todas acima da CMC). Neste estudo foi investigado, também, se adição do excesso de cloreto de sódio (300mmol.L^{-1}) iria influenciar na formação dos agregados micelares entre o dtca e F127, visto este sal está presente no meio biológico.

Os resultados indicaram que a intensidade da fluorescência do dtca aumenta linearmente com o aumento da concentração do F127, e que a adição de excesso de cloreto de sódio não interferiu nesta tendência deste aumento. Assim, a adição de NaCl não perturba o sistema micelar, uma vez que a concentração de plurônico estão todas acima da CMC, neste ponto não há mudanças ocorrendo, pois as micelas já estão formadas (ASTAFIEVA; KHOUGAZ; EISENBERG, 1995). Além disso, os efeitos do cloreto de sódio são mais pronunciados em copolímeros iônicos (HAMLEY, 2005).

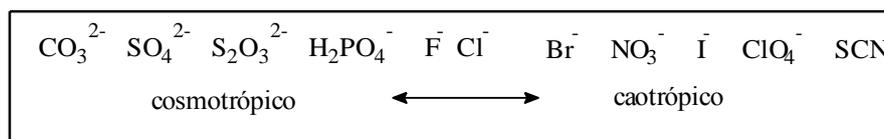
Figura 32. Espectros de emissão de fluorescência do dtca em micelas F127 em tampão PBC na ausência de NaCl (a), presença de NaCl (b) Tratamento matemático a partir dos dados de fluorescência: $\{1(F - F_0) \text{ versus } [F127]\}$ (c) e $\{1(F - F_0) \text{ versus } 1/[F127]\}$



4.3.4 Influência dos Ânions da Série de Hofmeister

No trabalho de Hofmeister, observou-se que alguns sais conseguiam precipitar e estabilizar proteínas em solução aquosa, no qual, a eficácia estava relacionada com a capacidade de alterar a estrutura da água, uma vez, que sempre seguia uma tendência com relação aos tipos de íons que eram utilizados. A partir dessa tendência originou-se a série de Hofmeister (BALDWIN, 1996; KUNZ; LO NOSTRO; NINHAM, 2004; TADEO; PONS; MILLET, 2007). A posição de um íon na série de Hofmeister é determinada pelo seu grau de hidratação como pode ser visualiza na Figura 33. As espécies à esquerda são classificadas como cosmotrópicos (forte interação com água), enquanto os que estão à direita são chamados de caotrópicos (baixa afinidade com água) (XIE; GAO, 2013). No decorrer dos anos percebeu-se que a série de Hofmeister poderia ser utilizada para prever como a presença de diferentes íons afeta as propriedades físico-químicas (ZAJFOROUSHAN MOGHADDAM; THORMANN, 2015).

Figura 33. Série de Hofmeister



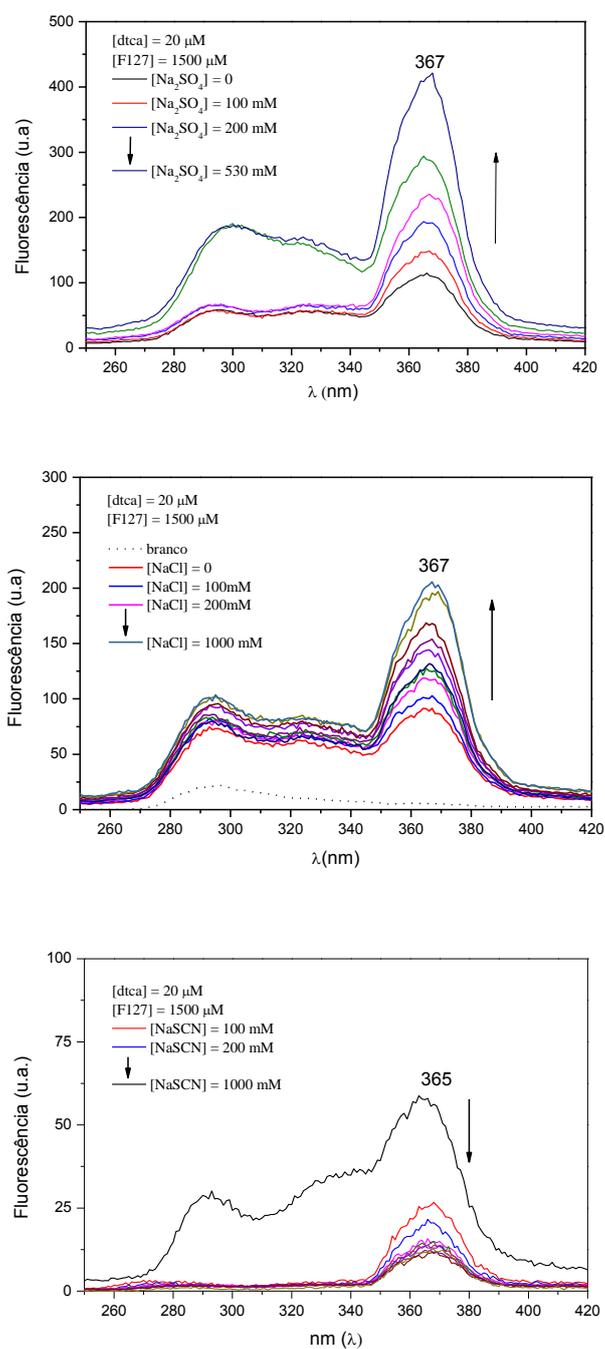
Fonte: (XIE; GAO, 2013)

Com a finalidade de avaliar a influência de alguns sais da série de Hofmeister (NaCl , Na_2SO_4 e NaSCN) na formação do sistema micelar de plurônico, foi investigado as modificações do espectro de emissão de fluorescência do ligante dtca na presença do plurônico e em função da concentração destes sais (Figura 34)

Nota-se que na presença do ânion cosmotrópico SO_4^{2-} , a intensidade da fluorescência aumenta exponencialmente. Uma explicação para esse comportamento é devido que o ânion SO_4^{2-} interage fortemente com as moléculas água que estão associadas com a superfície do dtca-micela. Isto leva uma organização das moléculas de água fazendo com que a micela polimérica minimize a área exposta ao solvente, favorecendo o aumento da fluorescência do dtca devido ao efeito hidrofóbico. Ao contrário, na presença do ânion SCN^- ocorre uma diminuição da intensidade da fluorescência, uma vez que esse ânion possui baixa afinidade com água fazendo com que haja uma desestabilização da interação dtca-micela (ZAJFOROUSHAN

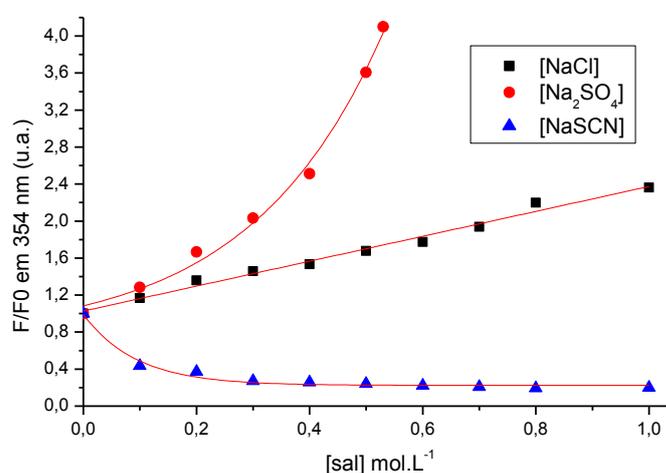
MOGHADDAM; THORMANN, 2015). No caso do ânion Cl^- da série de Hofmeister seu efeito é menos pronunciado e pode ser atribuída a sua baixa polarizabilidade e por ser fracamente hidratado. Sendo observada uma menor estabilidade na interface micela-água, fazendo consequentemente, com que a intensidade da fluorescência do dtca aumente linearmente.

Figura 34. Espectros de fluorescência do dtca na presença do Plurônico F127 (tampão PBC 5 mol.L^{-1} , $\text{pH} = 7,4$) em função da concentração dos sais Na_2SO_4 (a), NaCl (b) e NaSCN (c)



Uma avaliação quantitativa da interação foi realizada por tratamento dos dados de fluorescência levando em consideração a fluorescência inicial e final (F/F_0) do ligante dtca versus [sal]. A partir do gráfico mostrado na Figura 35 verificou-se uma tendência dos sais. Nota-se que, de forma geral, à medida que aumenta a concentração do sal a intensidade fluorescência começa a aumentar no caso dos ânions cosmotrópicos SO_4^{2-} e Cl^- e no caso do ânion caotrópico SCN^- a medida que aumenta a concentração do sal a intensidade da fluorescência diminui mantendo-se constante (FERREIRA et al., 1996).

Figura 35. Intensidade da fluorescência (F/F_0) do ligante dtca na presença do plurônico F127 em função da concentração dos sais NaCl, Na_2SO_4 e NaSCN



4.3.5 Supressão da Fluorescência com Acrilamida

A intensidade da fluorescência de um fluoróforo pode ser suprimida por muitos processos tal como formação de complexos no estado fundamental, por efeito de filtro, rearranjos moleculares e transferência de energia de colisões entre o fluoróforo e o supressor. Os processos de supressão de fluorescência mais comum são classificados em estático e dinâmico. No caso da supressão estática ocorre a formação de um complexo não fluorescente no estado fundamental. No processo dinâmico supressor colide com a espécie fluorescente durante o estado excitado sem a emissão de um fóton (LAKOWICZ, 2006).

A supressão dinâmica e estática da fluorescência pode ser analisada pela equação de Stern-Volmer (Equação 2), a qual fornece indicativos sobre a sensibilidade do fluoróforo e supressor.

$$\frac{F_0}{F} = 1 + k_S \tau_0 [S] = 1 + K_{SV} [Q] \quad \text{Equação (2)}$$

Onde F_0 e F são respectivamente a intensidade de fluorescência na ausência e na presença do supressor, k_S corresponde a constante de velocidade de supressão biomolecular; τ_0 é o tempo de vida no estado excitado do fluoróforo; K_{SV} é a constante de Stern-Volmer e $[Q]$ é a concentração do supressor (LAKOWICZ, 2006; MOREIRA et al., 2014). No entanto, podem ocorrer desvios da linearidade no ajuste dos dados experimentais e neste caso pode-se utilizar uma outra equação para sistema não linear chamada de equação de Stern-Volmer modificada, equação (3).

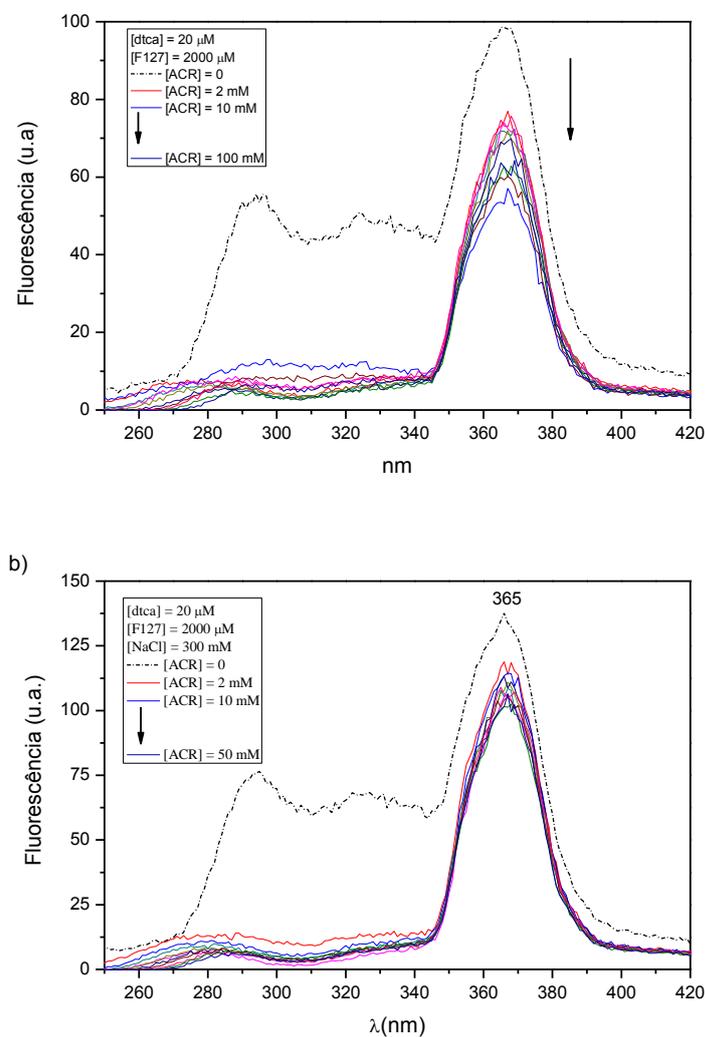
$$\frac{F_0}{F_0 - F} = \frac{1}{f} + \frac{1}{fK[S]} \quad \text{Equação (3)}$$

em que F_0 e F são as intensidades da fluorescência do dtca na ausência e na presença do supressor, f é a fração inicial que é acessível ao supressor, K é a constante de Stern-Volmer da fração acessível ao supressor e $[S]$ é a concentração do supressor. Nesta etapa a equação descreve a existência de diferentes fluoróforos em que o supressor tem acesso (LAKOWICZ, 2006).

Neste ensaio, teve como objetivo investigar a interação do dtca com micelas de plurônico F127 através do estudo da supressão da intensidade de fluorescência.

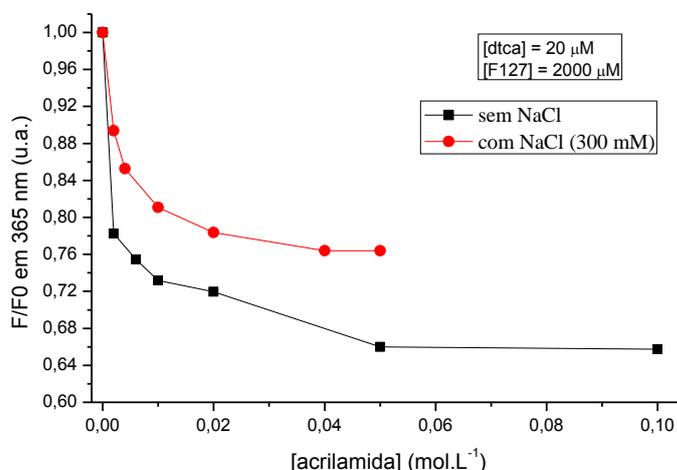
A análise da supressão de fluorescência do ligante dtca na presença do plurônico F127, foi investigada utilizando duas faixas de concentração (baixas e altas) do agente supressor acrilamida. Na Figura 36 são apresentados os espectros de emissão do dtca/F127 na presença e na ausência de NaCl com elevadas concentrações de acrilamida. De modo geral, é possível observar uma supressão de fluorescência a medida que aumenta a concentração do supressor acrilamida. Sem a presença de NaCl a intensidade de fluorescência é suprimida mais significativamente se comparada com a solução que contém o NaCl. Uma possível explicação para esse comportamento é que sistema que contém o cloreto de sódio tende a manter a fase micelar mais estável (DEY et al., 2014; ELISSEEVA et al., 2005) e conseqüentemente neste caso, protege a parte fluorescente do dtca, fazendo que ele não fique exposto ao supressor.

Figura 36. Espectros de emissão de fluorescência do dtca (20 μM) em tampão PBC (5 mM) em pH 7,4 após a adição do supressor acrilamida (a) sem adição de NaCl e (b) com adição NaCl



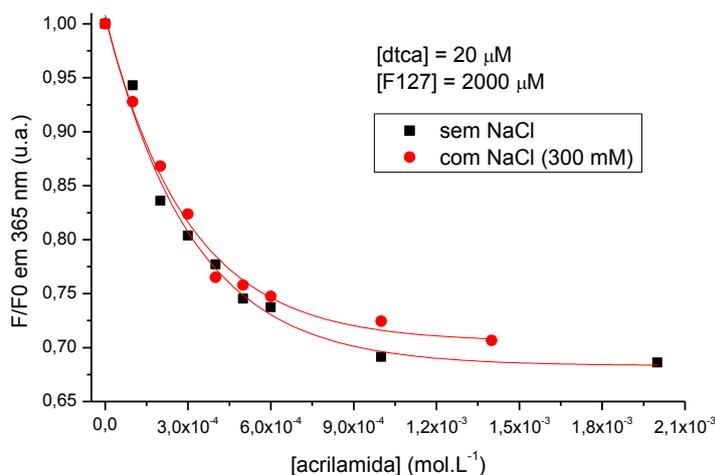
Na análise quantitativa de supressão da fluorescência, correlacionou-se a fluorescência inicial e final obtida em 365 nm antes adição da acrilamida e após adição. Como observado na Figura 37, para excitação em 220 nm constatou-se de modo geral, uma não linearidade da supressão de fluorescência do dtca com o aumento da concentração do supressor, na presença de NaCl a supressão não se observa uma supressão tão pronunciada.

Figura 37. Curvas da intensidade de fluorescência (F/F_0) em função de elevadas concentrações do supressor acrilamida (λ_{ex} 220 nm; tampão PBC pH 7,4)



Quando comparamos a supressão da fluorescência do dtca na presença do plurônico F127 utilizando baixas concentrações de acrilamida, observa-se que a micela polimérica interage mais fortemente com o fluoróforo protegendo-o, por isso que a supressão não foi muito pronunciada. Outra observação é que a supressão neste caso também houve um desvio da linearidade entre os gráficos de F/F_0 em função da concentração do supressor, como pode ser visualizada na Figura 38.

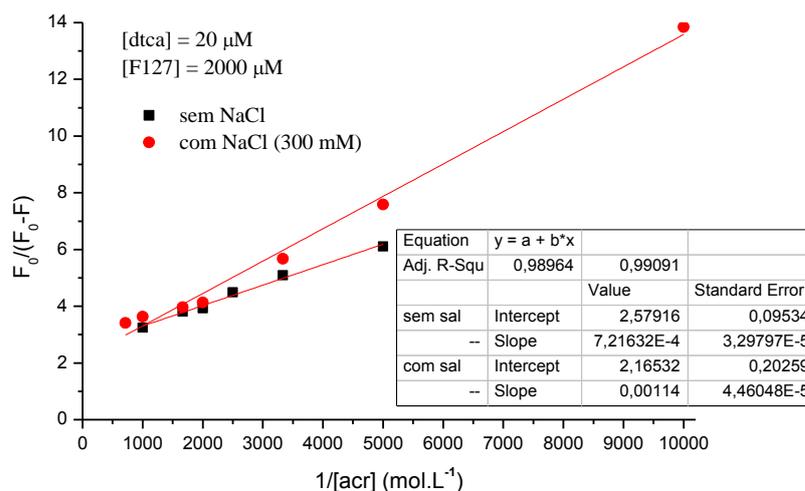
Figura 38. Curvas da intensidade de fluorescência (F/F_0) em função de baixas concentrações do supressor acrilamida (λ_{ex} 220 nm; tampão PBC pH 7,4)



Com base nessas informações, foi empregada a equação modificada de Stern-Volmer visto que o sistema não se ajustava linearmente. Para isso, os dados obtidos de

emissão de fluorescência em 365 nm foram ajustados aplicando-se a equação modificada de Stern-Volmer tanto na presença e ausência de NaCl (300 mM) foi construídos os gráficos de $F_0/(F - F_0)$ em função da concentração do agente supressor acrilamida, ilustrado na Figura 39.

Figura 39. Curvas de Stern-Volmer modificada da interação de dtca-plurônico F127 com supressor acrilamida, em solução tampão PBC pH 7,4 em $\lambda_{ex} = 220$ nm



Com base nas informações presente no gráfico da Figura 39, verificou-se uma diminuição da constante de Stern-Volmer ($1,9 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L}^1$) em função da presença do sal NaCl o que revela uma estabilidade da fração fluorescente acessível ao supressor. Enquanto que o valor da constante de Stern-Volmer sem adição de NaCl foi de $3,57 \times 10^4 \text{ mol}^{-1} \text{ L}$, evidenciando que o supressor difunde em direção ao fluoróforo no estado excitado (LAKOWICZ, 2006).

Dyszy, (2008) investigou a interação do peptídeo histatina (Hst) e seu análogo (TOAC⁰-Hst-5) presença de micelas preparadas a partir de lisofosfolipídios (1-palmitoil-2-hidroxi-sn-glicero-3-fosfocolina). Os resultados mostram que a medida que aumentava a concentração de micelas a intensidade de fluorescência também aumentava, evidenciando que o fluoróforo (resíduo de tirosina) estava em ambiente apolar diante da ligação peptídeo às micelas (DYSZY, 2008).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O complexo precursor $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_4]$ foi sintetizado de acordo com a metodologia já descrita na literatura, na qual o produto final apresentou um bom rendimento. Com este complexo precursor foi possível sintetizar um novo complexo de fórmula $[\text{RuCl}_2(\text{dmsO})_3(\text{N-dtca})]$, cujo rendimento foi satisfatório para realização dos ensaios. Sua caracterização foi realizada por técnicas de análise elementar, espectroscopia de infravermelho, espectroscopia de ressonância (RMN ^1H), espectroscopia eletrônica UV-Vis e medidas de condutividade molar. O espectro de FTIR revelou informações importantes em relação a coordenação do metal-ligante. Os dados de condutividade indicaram que o complexo é um não eletrólito.

Já sobre os resultados da interação do ligante dtca com o surfactante plurônico F127, foi possível concluir que com o aumento da concentração do plurônico F127 a intensidade de fluorescência do ligante dtca também aumentou e que a presença de cloreto de sódio não interferiu significativamente nesta fluorescência. Os dados de supressão mostraram que o dtca sofre supressão na presença da acrilamida e que a adição de NaCl faz com que essa supressão não seja tão intensa. A avaliação da influência de alguns sais da série de Hofmeister (NaCl , Na_2SO_4 e NaSCN), na formação das micelas de plurônico, observou-se que os ânions cosmotrópico (SO_4^{2-} e Cl^-) aumentou significativamente a intensidade de fluorescência do dtca e no caso o do ânion caotrópico ocorreu o inverso a intensidade diminuiu gradativamente. Por fim a aplicação da equação de Stern-Volmer modificada evidenciou duas classes de fluoróforo acessível ao supressor.

Os objetivos propostos para o desenvolvimento desse trabalho foram alcançados e os resultados abordados podem colaborar para o melhor entendimento da interação do dtca e micelas poliméricas de plurônico F127 através da técnica de fluorescência.

6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ADLI, H. K. et al. Several Organotin(IV) Complexes Featuring 1-Methylpiperazinedithiocarbamate and N -Methylcyclohexyldithiocarbamate as Ligands and Their Anti-Microbial Activity Studies. **Chiang Mai J. Sci.**, v. 40, n. 1, p. 117–125, 2013.

AHMAD, Z. et al. Polymeric micelles as drug delivery vehicles. **RSC Adv.**, v. 4, p. 17028, 2014.

AKBAR ALI, M. et al. Self-assembling dicopper(II) complexes of di-2-pyridyl ketone Schiff base ligands derived from S-alkyldithiocarbazates. **Polyhedron**, v. 30, n. 9, p. 1478–1486, 2011.

AKBAR ALI, M.; LIVINGSTONE, S. E. Metal complexes of sulphur-nitrogen chelating agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 13, n. 2-3, p. 101–132, 1974.

ALESSIO, E. et al. Synthesis and characterization of two new classes of ruthenium (III) -sulfoxide complexes with nitrogen donor ligands (L): Na [trans-RuCl₄(R₂SO)(L)] and mer cis-RuCl₄(DMSO)(NH₃).2DMSO, Na[trans-RuCl₄(DMSO) (im) . H₂O), Me₂Co (Im = imidazole) and mer, cis-RuCl₃(DMSO)(DMSO)(NH₃) **Inorgânica Chimica Acta.**, 203, p. 205–217, 1993.

ALEXANDRIDIS, P.; HOLZWARATH, J. F.; HATTON, T. A. Micellization of Poly(ethylene oxide)-Poly(propylene oxide)-Poly(ethylene oxide) Triblock Copolymers in Aqueous Solutions: Thermodynamics of Copolymer Association. **Macromolecules**, v. 27, n. 9, p. 2414–2425, 1994.

ALI, M. A. et al. Diphenyltin(IV) complexes of the 2-quinolinecarboxaldehyde Schiff bases of S-methyl- and S-benzylthiocarbamate (Hqaldsme and Hqaldsbz): X-ray crystal structures of Hqaldsme and two conformers of its diphenyltin(IV) complex. **Polyhedron**, v. 24, n. 3, p. 383–390, 2005.

ANDRADE, F. et al. Solid state formulations composed by amphiphilic polymers for delivery of proteins: Characterization and stability. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 486, n. 1-2, p. 195–206, 2015.

ASTAFIEVA, I.; KHOUGAZ, K.; EISENBERG, A. Micellization in block polyelectrolyte solutions. 2. Fluorescence study of the critical micelle concentration as a function of soluble block length and salt concentration. **Macromolecules**, v. 28, n. 21, p. 7127–7134, 1995.

BALDWIN, R. L. How Hofmeister Ions Affect Protein Stability. **Biophysics J.**, v. 71, n. October, p. 2056–2063, 1996.

BASAK, R.; BANDYOPADHYAY, R. Encapsulation of hydrophobic drugs in pluronic F127 micelles: Effects of drug hydrophobicity, solution temperature, and pH. **Langmuir**, v. 29, n. 13, p. 4350–4356, 2013.

BERALDO, H. Contribuições da química inorgânica para a química medicinal. **Química Nova na Escola**, n. 6, p. 4–6, 2005.

BERGAMO, A. et al. Ruthenium-based NAMI-A type complexes with in vivo selective metastasis reduction and in vitro invasion inhibition unrelated to cell cytotoxicity. **International journal of oncology**, v. 21, n. 6, p. 1331–1338, 2002.

BERGAMO, A. et al. Approaching tumour therapy beyond platinum drugs: Status of the art and perspectives of ruthenium drug candidates. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 106, n. 1, p. 90–99, 2012.

BRATSOS, I.; ALESSIO, E. Ruthenium(II)-chlorido complexes of dimethylsulfoxide. **Inorganic Syntheses**, v. 35, 10, p. 152-155, 2010.

BRINDELL, M. et al. Photochemistry of trans- and cis-[RuCl₂(dmsO)₄] in Aqueous and Nonaqueous Solutions. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2007, n. 16, p. 2353–2359, 2007.

CARNEIRO, Z. A. **Avaliação de atividade tripanocida in vitro e in vivo do composto 5-hidroxi-3-metil-5-fenil-pirazolina-1- (S-benzilditiocarbazato) em meio.** Tese de doutorado - USP de Ribeirão Preto, p. 150, 2014.

CATTABRIGA, M. et al. Complexes Containing Derivatized Amino Acids. **Journal Chemical Dalton Trans.**, n. Scheme 1, p. 1453–1459, 1998.

CHEN, C. L. et al. Antitumor activity of manganese(II) and cobalt(III) complexes of 2-acetylpyridine schiff bases derived from S-methyldithiocarbazate: Synthesis, characterization, and crystal structure of the manganese(II) complex of 2-acetylpyridine S-methyldithiocarbazate. **Russian Journal of Coordination Chemistry**, v. 37, n. 6, p. 435–438, 2011.

CHO, H. K. et al. Polymeric nanoparticles, micelles and polymersomes from amphiphilic block copolymer. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 27, n. 3, p. 731–740, 2010.

CLARKE, M. J. Ruthenium metallopharmaceuticals. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 232, n. 1-2, p. 69–93, 2002.

COLTON, R.; D'AGOSTINO, A.; TRAEGER, J. C. Electrospray mass spectrometry applied to inorganic and organometallic chemistry. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 14, n. 2, p. 79–106, 1995.

CHOI, H. G. et al. Effect of additives on the physicochemical properties of liquid suppository bases. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 190, n. 1, p. 13–19, 1999.

CROUSE, K. A. et al. Synthesis, characterization and bio-activity of S-2-picolylthiocarbamate (S_2 PDTC), some of its Schiff bases and their $Ni^{(II)}$ complexes and X-ray structure of S-2-picolyl- β -N-(2-acetylpyrrole)dithiocarbamate. **Polyhedron**, v. 23, n. 1, p. 161–168, 2004.

DAVIDSON, R. J. et al. Chemical and physical behaviour of heteroleptic 2,6-bis(1H-benzimidazol-2-yl)pyridine and 2,2':6',2''-terpyridine substituted tricyclophosphazene ruthenium(II) complexes. **Polyhedron**, v. 103, p. 217–226, 2016.

DE SOUSA, G. F. et al. Synthesis, spectroscopic studies and X-ray crystal structures of new pyrazoline and pyrazole derivatives. **Journal of Chemical Crystallography**, v. 41, n. 3, p. 401–408, 2011.

DEY, J. et al. Additive induced core and corona specific dehydration and ensuing growth and interaction of Pluronic F127 micelles. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 415, p. 95–102, 2014.

DIAS, L. C. et al. Quimioterapia da doença de Chagas: estado da arte e perspectivas no desenvolvimento de novos fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2444–2457, 2009.

DYSZY, F. H. **Estudos Estruturais de Histatina-5 e seu análogo, TOAC 0 - Histatina-5: Interação com Metais e Sistemas Biomiméticos**. Tese de Doutorado - USP, p. 185, 2008.

ELISSEEVA, O. V. et al. Influence of NaCl on the behavior of PEO-PPO-PEO triblock copolymers in solution, at interfaces, and in asymmetric liquid films. **Langmuir**, v. 21, n. 11, p. 4954–4963, 2005.

ENGLAND, J. L. Stabilization and release effects of Pluronic F127 in protein drug delivery. **Journal of Undergraduate Sciences**, v. 5, n. 2, p. 17–24, 1999.

EVANS, I. P.; SPENCER, A.; WILKINSON, G. 204 J.C.S. **Dalton**. n. 204, p. 204–209, 1973.

FARRELL, N. P. Trypanocidal and antitumour activity of platinum-metal and platinum-metal-drug dual-function complexes. **Biochemical Pharmacology**, v. 33, n. 7, p. 961–971, 1984.

FERNANDES, A. G. A. **Quelato-Complexos de Rênio e Tecnécio com Potencial Aplicação Medicinal**. Tese de Doutorado - USP, p. 204, 2012.

FERREIRA, G. S. S. et al. Effect of Anions from the Hofmeister Series and Urea on the Binding of the Charged and Uncharged Forms of the Local Anesthetic Tetracaine to

Zwitterionic Micelles *. **Photochemistry and photobiology**, v. 63, n. 6, p. 755–761, 1996.

FERREIRA, V F. **Tiossemicarbazonas e ditiocarbazatos contendo anel pirazolínico: obtenção, estudos de atividade tripanocida e de formação de complexos com gálio.** Dissertação de mestrado – USP, São Carlos, p. 118, 2015.

FLOREA, A.-M.; BÜSSELBERG, D. Cisplatin as an Anti-Tumor Drug: Cellular Mechanisms of Activity, Drug Resistance and Induced Side Effects. **Cancers**, v. 3, p. 1351–1371, 2011.

FLORES, É. M. . et al. Sample preparation techniques based on combustion reactions in closed vessels - A brief overview and recent applications. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 62, n. 9, p. 1051–1064, 2007.

FRASCA, D. R.; GEHRIG, L. E.; CLARKE, M. J. Dominic R. Frasca, Lauren E. Gehrig, Michael J. Clarke *. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 83, p. 139–149, 2001.

GAO, Y.; LI, L. B.; ZHAI, G. Preparation and characterization of Pluronic/TPGS mixed micelles for solubilization of camptothecin. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 64, n. 2, p. 194–199, 2008.

GAO, Z. S.; EISENBERG, A. A model of micellization for block copolymers in solutions. **Macromolecules**, v. 26, n. 26, p. 7353–7360, 1993.

GAUCHER, G. et al. Block copolymer micelles: Preparation, characterization and application in drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 109, n. 1-3, p. 169–188, 2005.

GAUCHER, G. et al. Polymeric micelles for oral drug delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 76, n. 2, p. 147–158, 2010.

GEARY, W. J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 7, n. 1, p. 81–122, 1971.

GLANS, L. et al. Ruthenium(ii) arene complexes with chelating chloroquine analogue ligands: Synthesis, characterization and in vitro antimalarial activity. **Dalton Transactions**, v. 41, n. 9, p. 2764, 2012.

GRAMINHA, A. E.; SP, S. Ã. O. C. **Complexos de Ru e Pd com bases de Schiff de ditiocarbazatos com interesse bioinorgânico e quimioterápico.** dissertação de mestrado, p. 144, 2010.

HAMLEY, I. **Block Copolymers in solution: Fundamentals and Applications.** Editora John Wiley & Sons, 2005.

- HARADA, Y. et al. Effects of organic solvents on drug incorporation into polymeric carriers and morphological analyses of drug-incorporated polymeric micelles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 404, n. 1-2, p. 271–280, 2011.
- HARTINGER, C. G. et al. From bench to bedside - preclinical and early clinical development of the anticancer agent indazolium trans-[tetrachlorobis(1H-indazole)ruthenate(III)] (KP1019 or FFC14A). **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 100, n. 5-6, p. 891–904, 2006.
- HECK, A. J. R.; VAN DEN HEUVEL, R. H. H. Investigation of intact protein complexes by mass spectrometry. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 23, n. 5, p. 368–389, 2004.
- HOARE, T. R.; KOHANE, D. S. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. **Polymer**, v. 49, n. 8, p. 1993–2007, 2008.
- HOW, F. N.-F. et al. Synthesis, characterization and biological studies of S-benzyl- β -N-(benzoyl) dithiocarbamate and its metal complexes. **Polyhedron**, v. 27, n. 15, p. 3325–3329, 2008.
- ISLAM, M. A. A. A. et al. Synthesis, characterization and bio-activity of a bidentate NS Schiff base of S-allyldithiocarbamate and its divalent metal complexes: X-ray crystal structures of the free ligand and its nickel(II) complex. **Transition Metal Chemistry**, v. 39, n. 2, p. 141–149, 2014.
- ISLAM, M. A. A. A. et al. Synthesis, characterization and bio-activity of nickel(II) and copper(II) complexes of a bidentate NS Schiff base of S-benzyl dithiocarbamate. **Inorganica Chimica Acta**, v. 427, n. ii, p. 278–284, 2015.
- IVANOVIĆ, I. et al. New ruthenium(II)-arene complexes bearing hydrazides and the corresponding (thio)semicarbazones of 3- and 4-acetylpyridine: Synthesis, characterization, crystal structure determination and antiproliferative activity. **Polyhedron**, v. 61, n. 3, p. 112–118, 2013.
- JAKUPEC, M. A et al. Antitumour metal compounds: more than theme and variations. **Dalton transactions** (Cambridge, England : 2003), n. 2, p. 183–194, 2008.
- KADAM, Y. et al. Micelles from PEO-PPO-PEO block copolymers as nanocontainers for solubilization of a poorly water soluble drug hydrochlorothiazide. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 83, n. 1, p. 49–57, 2011.
- KALEPU, S.; NEKKANTI, V. Insoluble drug delivery strategies: Review of recent advances and business prospects. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 5, n. 5, p. 442–453, 2015.
- KARTALOU, M.; ESSIGMANN, J.M. Mechanisms of resistance to cisplatin. **Mutation Research**, v.478, p. 23-24, 2001.

KHOO, T.-J. et al. Synthesis, characterization and biological activity of two Schiff base ligands and their nickel(II), copper(II), zinc(II) and cadmium(II) complexes derived from S-4-picolylthiocarbamate and X-ray crystal structure of cadmium(II) complex derived from pyr. **Inorganica Chimica Acta**, v. 413, p. 68–76, 2014.

KLJUN, J. et al. Physicochemical studies and anticancer potency of ruthenium η^6 -p-cymene complexes containing antibacterial quinolones. **Organometallics**, v. 30, n. 9, p. 2506–2512, 2011.

KOYYADA, G. et al. New terpyridine-based ruthenium complexes for dye sensitized solar cells applications. **Inorganica Chimica Acta**, v. 442, p. 158–166, 2016.

KUNZ, W.; LO NOSTRO, P.; NINHAM, B. W. The present state of affairs with Hofmeister effects. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, v. 9, n. 1-2, p. 1–18, 2004.

LAKOWICZ, J. R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy Principles of Fluorescence Spectroscopy**. 3^a ed., Springer, New York, 2006.

LOO, J. A. Electrospray ionization mass spectrometry: A technology for studying noncovalent macromolecular complexes. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 200, n. 1-3, p. 175–186, 2000.

MAHALINGAM, V. et al. New Ru(II)-DMSO complexes of ON/SN chelates: Synthesis, behavior of Schiff bases towards hydrolytic cleavage of CN bond, electrochemistry and biological activities. **Polyhedron**, v. 29, n. 18, p. 3363–3371, 2010.

MAIA, P. I. D. S. et al. Dithiocarbamate complexes with the $[M(PPh_3)]_2^+$ (M=Pd or Pt) moiety. Synthesis, characterization and anti-Tripanosoma cruzi activity. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 104, n. 12, p. 1276–1282, 2010.

MANAN, M. A. F. A. et al. Synthesis, characterization and antibacterial activity of schiff base derived from S-methyldithiocarbamate and methylisatin. **Journal of Chemical Crystallography**, v. 42, n. 2, p. 173–179, 2012.

MESTRONV, G. et al. Chemical, Biological and Antitumor Properties of Ruthenium (II) Complexes with Dimethylsulfoxide. **Progress in Clinical Biochemical Medicine** v. 10, n. II, 1989.

MORAES, M. C. B. et al. Espectrometria de massas com ionização por “Eletrospray” aplicada ao estudo de espécies inorgânicas e organometálicas. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 556–563, 2003.

- MOREIRA, M. B. et al. Investigação da supressão de fluorescência de soro albumina bovina e humana por complexo de rutênio. **Química Nova**, v. 38, n. 2, p. 227–232, 2014.
- MOURYA, V. K. et al. Polymeric micelles: General considerations and their applications. **Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research**, v. 45, n. 2, p. 128–138, 2011.
- NAKSURIYA, O. et al. HPMa-based polymeric micelles for curcumin solubilization and inhibition of cancer cell growth. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 94, n. July, p. 501–512, 2015.
- NISHIYAMA, N.; MATSUMURA, Y.; KATAOKA, K. Development of polymeric micelles for targeting intractable cancers. **Cancer Science**, v. 107, n. 7, p. 867–874, 2016.
- NYAWADE, E. A.; FRIEDRICH, H. B.; OMONDI, B. Inorganica Chimica Acta pentamethylcyclopentadienyl) ruthenium(II) complex salts of. **Inorganica Chimica Acta**, v. 441, p. 9–14, 2016.
- OFFIONG, O. E. et al. Synthesis , spectral and cytotoxicity studies of palladium(II) and platinum(II) amino acid Schi base complexes. **Transition Metal Chemistry**, v. 25, n. II, p. 369–373, 2000.
- OLIVEIRA, C. P. et al. The effect of water-soluble polymers, PEG and PVP, on the solubilisation of griseofulvin in aqueous micellar solutions of Pluronic F127. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 421, n. 2, p. 252–257, 2011.
- OLSON, E. J.; BÜHLMANN, P. Getting more out of a job plot: Determination of reactant to product stoichiometry in cases of displacement reactions and n: N complex formation. **Journal of Organic Chemistry**, v. 76, n. 20, p. 8406–8412, 2011.
- PAGE, S. Ruthenium compounds as anticancer agents. **Education in chemistry**, January n. , p. 26–29, 2012.
- PANDRALA, M. et al. Chlorido-containing ruthenium(ii) and iridium(iii) complexes as antimicrobial agents. **Dalton Transactions**, v. 42, n. 13, p. 4686, 2013.
- PATRA, D. et al. Time resolved study of three ruthenium(II) complexes at micellar surfaces: A new long excited state lifetime probe for determining critical micelle concentration of surfactant nano-aggregates. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 138, p. 32–40, 2016.
- PAVAN, F. R. et al. Thiosemicarbazones, semicarbazones, dithiocarbazates and hydrazide/hydrazones: Anti - Mycobacterium tuberculosis activity and cytotoxicity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 5, p. 1898–1905, 2010.

PAVIA, D. L. et al. **Introduction to Spectroscopy**. 4^a ed, Cengage Learning, 2005

PIÑEIRO, L.; NOVO, M.; AL-SOUFI, W. Fluorescence Emission of Pyrene in Surfactant Solutions. **advances in Colloid and Interface Science**, v. 215 p. 1–12, 2015.

PRANCZK, J. et al. Platinum (II) and Palladium (II) Complex Compounds as Anti-cancer Drugs . Methods of Cytotoxicity Determination. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 10, p. 2–9, 2014.

RAVOOF, T. B. S. A. et al. Synthesis, characterization and bioactivity of mixed-ligand Cu(II) complexes containing Schiff bases derived from S-benzylthiocarbamate and saccharinate ligand and the X-ray crystal structure of the copper-saccharinate complex containing S-benzyl- β -N. **Polyhedron**, v. 26, n. 6, p. 1159–1165, 2007.

RENNY, J. S. et al. Method of continuous variations: Applications of job plots to the study of molecular associations in organometallic chemistry. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 52, n. 46, p. 11998–12013, 2013.

RILEY, D. trans-Dibromotetrakis(dimethyl sulfoxide)ruthenium(II): a Versatile starting Material for the Synthesis of Ruthenium(II) Complexes for Use as MOlecular Oxygen Oxidation Catalysts. **Inorganica Chimica Acta**, v. 99, p. 5–11, 1985.

ROCHA, R. C.; TOMA, H. E. Transferência de elétrons em sistemas inorgânicos de valência mista. **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 624–638, 2002.

ROLIM-NETO, P. J. et al. Estratégias utilizadas para o incremento da solubilidade do fármaco antiretroviral classe II: Efavirenz. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v. 36, n. 2, p. 239–249, 2015.

ROSENBERG, B. et al. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. **Nature**, v. 222, p. 385 – 386, 1969.

ROSETTE, M. R.-M. **Bioinorganic Chemistry**. John Wiley ed. 2002.

SÁNCHEZ-DELGADO, R. A.; ANZELLOTTI, A. Metal Complexes as Chemotherapeutic Agents Against Tropical Diseases: Trypanosomiasis, Malaria and Leishmaniasis. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 4, p. 23–30, 2004.

SANTOS, R. L. S. R.; SANCHES, R. N. F.; DE OLIVEIRA SILVA, D. Spectroscopic studies on interactions of the tetrakis(acetato)chloridodiruthenium(II,III) complex and the Ru 2 (II,III)-NSAID-derived metallodrugs of ibuprofen and ketoprofen with human serum albumin. **Journal of Coordination Chemistry**, v. 68, n. 17-18, p. 3209–3228, 2015.

SAVA, G. et al. Na[trans-RuCl₄(DMSO)Im], a metal complex of ruthenium with antimetastatic properties. **Clinical & Experimental Metastasis**, v. 10, n. 4, p. 273–280, 1992.

SAVA, G. et al. Dual Action of NAMI-A in Inhibition of Solid Tumor Metastasis : Selective Targeting of Metastatic Cells and Binding to Collagen Dual Action of NAMI-A in Inhibition of Solid Tumor Metastasis : Selective Targeting of Metastatic Cells and Binding to Collagen. **Clinical Cancer Research**, v. 9, n. May, p. 1898–1905, 2003.

SCHÖNIGER, V. W. Eine mikroanalytische Schnellbestimmung von Halogenen in organischen Substanzen . **Mikrochim. Acta**, v. 43, p. 123–129, 1955.

SELVAMURUGAN, S. et al. Ruthenium(II) carbonyl complexes containing bidentate 2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carbaldehyde hydrazone ligands as efficient catalysts for catalytic amidation reaction. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 803, p. 119–127, 2016.

SILVA; OLIVEIRA, D. DE; TOMA, H. E. Propriedades e importância dos sulfóxidos de rutênio. **Química Nova**, v. 16(1), p. 40–48, 1993.

SILVA, D. DE O. **Estrutura e reatividade de sulfóxido de rutênio com bases heterocíclicas nitrogenadas**. Tese de Doutorado - USP, p. 215, 1990.

SILVEIRA-LACERDA, E. D. P. et al. The ruthenium complex cis-(Dichloro)Tetraammineruthenium(III) chloride presents immune stimulatory activity on human peripheral blood mononuclear cells. **Biological trace element research**, v. 133, n. 3, p. 270–283, 2010.

SINGH, V. et al. Micelles, mixed micelles, and applications of polyoxypropylene (PPO)-polyoxyethylene (PEO)-polyoxypropylene (PPO) triblock polymers. **International Journal of Industrial Chemistry**, v. 4, n. 1, p. 12, 2013.

SHRIVER & ATKINS. **Química Inorgânica**. 4^a ed., Brookman, 2008.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M. **Fundamentos de química analítica**. 9^a ed. Cengage Learning, 2014.

TADEO, X.; PONS, M.; MILLET, O. Influence of the Hofmeister Anions on Protein Stability As Studied by Thermal Denaturation and Chemical Shift Perturbation Influence of the Hofmeister Anions on Protein Stability As Studied by Thermal Denaturation and Chemical Shift Perturbation †. **Biochemistry**, v. 46, p. 917–923, 2007.

TAHA, E. I. et al. Role of Pluronic F127 micelles in enhancing ocular delivery of ciprofloxacin. **Journal of Molecular Liquids**, v. 199, p. 251–256, 2014.

- TAKJOO, R.; CENTORE, R. Synthesis, X-ray structure, spectroscopic properties and DFT studies of some dithiocarbazate complexes of nickel(II). **Journal of Molecular Structure**, v. 1031, p. 180–185, 2013.
- TARAFDER, M. T. H. et al. Synthesis and characterization of Zn(II) and Cd(II) complexes of S-benzyl- β -N-(2-pyridyl)methylenedithiocarbazate (HNNS): Bioactivity of the HNNS schiff base and its Zn^(II), Cu^(II) and Cd^(II) complexes and the X-ray structure of the [Zn(NNS)₂] complex. **Polyhedron**, v. 20, n. 18, p. 2363–2370, 2001.
- TARAFDER, M. T. H. et al. Coordination chemistry and bioactivity of some metal complexes containing two isomeric bidentate NS Schiff bases derived from S-benzyl-dithiocarbazate and the X-ray crystal structures of S-benzyl- β -N-(5-methyl-2-furylmethylene) dithiocarbazate. **Polyhedron**, v. 21, p. 2691 – 2698, 2002.
- TOMA, H.E. **Química de Coordenação, Organometálico e Catálise**. Editora Blucher, 2013.
- TORCHILIN, V. P. Structure and design of polymeric surfactant-based drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 73, n. 2-3, p. 137–172, 2001.
- TRONDL, R. et al. NKP-1339, the first ruthenium-based anticancer drug on the edge to clinical application. **Chemical Science**, v. 5, n. 8, p. 2925–2932, 2014.
- TUREL, I. et al. First ruthenium organometallic complex of antibacterial agent ofloxacin. Crystal structure and interactions with DNA. **Inorganic Chemistry**, v. 49, n. 23, p. 10750–10752, 2010.
- WONG, E.; GIANDOMENICO, C. M. Current status of platinum-based antitumor drugs. **Chemical reviews**, v. 99, p. 2451–2466, 1999.
- XIE, W. J.; GAO, Y. Q. A Simple Theory for the Hofmeister Series A Simple Theory for the Hofmeister Series. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 4, p. 1–6, 2013.
- YOKOYAMA, M. Polymeric micelles as drug carriers: their lights and shadows. **J Drug Target**, v. 22, n. 7, p. 576–583, 2014.
- ZAJFOROUSHAN MOGHADDAM, S.; THORMANN, E. Hofmeister effect of salt mixtures on thermo-responsive poly(propylene oxide). **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 17, n. 9, p. 6359–6366, 2015.
- ZHANG, L. Z. et al. Biological activities of pyridine-2-carbaldehyde Schiff bases derived from S-methyl- and S-benzyl-dithiocarbazate and their zinc(II) and manganese(II) complexes. Crystal Structure of the Manganese(II) complex of pyridine-2-carbaldehyde S-benzyl-dithiocarbaz. **Russian Journal of Coordination Chemistry**, v. 37, n. 5, p. 356–361, 2011.

ZHANG, Y.; HUANG, Y.; LI, S. Polymeric Micelles: Nanocarriers for Cancer-Targeted Drug Delivery. **AAPS PharmSciTech**, v. 15, n. 4, p. 862–871, 2014.