



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO PIAUÍ
CAMPUS PARNAÍBA
LICENCIATURA EM QUÍMICA

LORENA MARIA BORGES PEREIRA

**COMPLEXO DE RUTÊNIO: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DA
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIBACTERIANA**

PARNAÍBA

2018

LORENA MARIA BORGES PEREIRA

COMPLEXO DE RUTÊNIO: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DA
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIBACTERIANA

Trabalho de Conclusão de Curso (monografia)
apresentado como exigência parcial para obtenção
do diploma do Curso de Licenciatura em Química
do Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Piauí. *Campus Parnaíba*.

Orientadora: Prof^a. Dra. Marcia Valéria Silva Lima.

PARNAÍBA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Pereira, Lorena Maria Borges

P436c Complexo de rutênio: síntese, caracterização e estudo da atividade antioxidante e antibacteriana / Lorena Maria Borges Pereira. - 2018. 55 f.: il. color.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí, Campus Parnaíba Licenciatura em Química, 2018.

Orientadora : Profa Dra. Marcia Valéria Silva Lima.

1. Espectroscopia. 2. Complexo de rutênio. 3. Atividade antioxidante. 4. Atividade antibacteriana. I.Título.

CDD - 540

Elaborado por Micheline Angélica Aragão Gouveia CRB 3/1244

LORENA MARIA BORGES PEREIRA

COMPLEXO DE RUTÊNIO: SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DA
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E ANTIBACTERIANA

Trabalho de Conclusão de Curso (monografia)
apresentado como exigência parcial para obtenção
do diploma do Curso de Licenciatura em Química
do Instituto Federal de Educação, Ciência e
Tecnologia do Piauí. *Campus Parnaíba*.

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Marcia Valéria Silva Lima (Orientadora)
Instituto Federal do Piauí (IFPI) – *Campus Parnaíba*

Me. Thais Danyelle Santos Araújo
Universidade Federal do Ceará (UFC) – *Campus Pici*

Esp. Taiane Maria de Oliveira
Universidade Federal do Piauí (UFPI) – *Campus Ministro Reis Velloso*

Dedico este trabalho, primeiramente, a Deus, que me concedeu força e sabedoria para concluir mais esta etapa de minha vida. Ao meu pai, Marco Aurélio Veras Pereira e a minha mãe, Elinalda Borges de Araújo Pereira, pelo incentivo, compreensão e carinho no decorrer dessa jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus que me concedeu força, sabedoria e saúde para elaboração desse trabalho.

Ao meu pai Marco Aurélio Vêras Pereira, e minha mãe, Elinalda Borges de Araújo Pereira que são meus exemplos de vida, que sempre me incentivaram e priorizaram minha educação mesmo diante de todas as dificuldades. Por todo apoio, confiança, amor e compreensão, sou grata.

A minha vó Elba Maria de Jesus e aos meus tios Maria Dorotéia Borges de Araujo, Irapuan Borges de Araujo e Francisco das Chagas Alves Pereira pelo apoio e por sempre desejarem o melhor para mim.

A minha orientadora, professora Dra. Márcia Valéria Silva Lima, pelas suas orientações, incentivo e confiança que contribuíram de maneira significativa para esse trabalho e para minha formação.

Agradeço, especialmente, ao Mestrando Raí Emanuel da Silva por toda ajuda na realização dos ensaios de atividade antibacteriana, ensinamentos e correções deste trabalho. Por tudo isso, eu sou imensamente grata.

A Doutoranda Thais Danyelle Santos Araújo pela realização dos ensaios de atividade antioxidante, ensinamentos e por ter aceitado ao convite de participar da banca avaliadora.

A Mestranda Taine Maria de Oliveira pela realização da espectroscopia na região do Infravermelho e por ter aceitado compor a banca avaliadora.

A técnica do Laboratório de Química, Isabel Pereira de Oliveira Holanda por sempre ter demonstrando interesse em me ajuda nas etapas de síntese dos complexos e durante todos os procedimentos experimentais que realizei durante esses 4 anos, pela paciência e apoio.

Agradeço a minhas amigas Thayná Silva Vêras e Vitória Daiane Amaral de Araújo que sempre torceram pelas minhas conquistas.

Agradeço a Luma Brisa Pereira dos Santos que sempre foi minha parceira nos trabalhos acadêmicos, tornando-os mais alegres e suaves.

Agradeço a todos meus amigos de curso, principalmente, Maria Helena Alves Feitosa, José Augusto Carneiro Oliveira, Vagner da Silva Santos, João Victor da Silva Santos, Igor da Silva Galvão, Marcio André Moreira Araújo, Rayna Relana Teixeira de Sousa, Sabrina Teixeira de Sousa Silva e Ruth Helly Ferreira Cardoso pelos

momentos inesquecíveis, companhia, incentivo e ajuda. Vocês são maravilhosos e foi um imenso prazer ter vivenciado o curso de Licenciatura em Química com vocês

A todas as professoras do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí – *Campus* Parnaíba, em especial a professora Dra. Maria de Fátima Cardoso Soares, Me. Vilma Dias de Araújo, Esp. Iriane do Nascimento Rosa, Esp. Janete Cezar Ribeiro, Dra. Buana de Carvalho Almeida, Dra. Ana Maria Athayde Uchoa Thomaz, Dra. Simone Cristiane Gallani Rodrigues e Me. Evânia Carvalho dos Santos que foram fundamentais para minha formação, pelo carinho e dedicação. Por tudo que aprendi com vocês, eu agradeço.

Um agradecimento especial a professora Mestranda Maria Durciane Oliveira Brito por todo incentivo e compreensão, você é um exemplo de professora e pessoa.

Aos professores do Instituto Federal, em especial ao professor Dr. Bartholomeu Araújo Barros Filho, Dr. Haroldo Luís Sousa Neres, Me. José Venâncio de Deus Leão e Me. Itamar Viera de Sousa Júnior pelo exemplo de profissionalismo, incentivo e compreensão.

Ao Sr. Vagner Lira que me incentivou a concluir o curso em 4 anos, possibilitando minha locomoção para Instituto Federal, mesmo diante de todas as dificuldades.

A todos tios e tias do refeitório e da limpeza que proporcionaram alimentações maravilhosas, ambientes limpos e agradáveis

Enfim, agradeço a todos que contribuíram e me ajudaram a concluir mais esta etapa de minha vida.

“Sou grata para com aquele que me fortaleceu,
Cristo Jesus, nosso Senhor que me concedeu
forças [...]”.

(I Timóteo 1:12)

RESUMO

As propriedades anticancerígenas da cisplatina representa um marco histórico para a Química Inorgânica Medicinal. Entretanto, os efeitos colaterais ao organismo humano associados ao uso clínico desse fármaco como náuseas e alta toxicidade resultaram na busca pelo desenvolvimento de novos fármacos baseados em compostos metálicos com efeitos mais eficazes e menos danosos. Entre os metais de transição destaca-se o rutênio, tendo em vista as diversas aplicações farmacológicas e biológicas dos compostos metálicos a base de rutênio, incluindo atividade antioxidante e antibacteriana. Diante disso, este trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antioxidante e antibacteriana do complexo *cis*-[Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ sintetizado através do precursor *cis*-[Ru(phen)₂Cl₂]. Trata-se de uma pesquisa experimental, em que o composto obtido foi caracterizado pelas técnicas de Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (IV) e Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis). Além disso, o ligante livre e os complexos de rutênio sintetizados foram submetidos a avaliação da capacidade antioxidante pelo método de captura do radical ABTS^{•+} e os ensaios de atividade antibacteriana contra as espécies *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) baseado no método de microdiluição em caldo, em microplacas de 96 poços. O complexo *cis*-[Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ demonstrou capacidade antioxidante superior quando comparado ao ligante livre e a espécie precursora. Assim como, apresentou melhores resultados contra todas as espécies bacterianas utilizadas neste estudo.

Palavras-chave:Complexo de rutênio. Síntese. Atividade antioxidante e antibacterina.

ABSTRACT

The anticancer properties of cisplatin represent a historical milestone for the Inorganic Medicinal Chemistry. However, the side effects to the human organism associated with the clinical use of this drug, such as nausea and high toxicity, led to the search for the development of new drugs based on metals with more effective and less harmful effects. Among transition metals, in view of the various pharmacological and biological applications of the ruthenium based metal compounds, including antioxidant and antibacterial activity. This work aims to evaluate the antioxidant and antibacterial activity of the *cis*-[Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ complex synthesized through the *cis*-[Ru(phen)₂Cl₂] precursor. It is an experimental research, which the compound obtained was characterized by the techniques of absorption spectroscopy in the infrared region (IR) and electron spectroscopy in the ultraviolet-visible region (UV-Vis). In addition, the free ligand and the ruthenium complexes synthesized were subjected to the evaluation of the antioxidant capacity by the method capture of ABTS^{•+} radical and to antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) and *Escherichia coli* (ATCC 25922) based on the broth microdilution method. The complex *cis*-[Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ demonstrated superior antioxidant capacity when compared to the free ligand and precursor species. As well, it presented better results against all the bacterial species used in this study.

Keywords: Ruthenium complex. Synthesis. Antioxidant and antibacterial activity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura da Cisplatina.....	19
Figura 2 – Estrutura do Imidazol.....	22
Figura 3 – Estrutura dos complexos polipiridínicos de rutênio (II).....	25
Figura 4 – Estrutura de novos complexos de piridina carboxamida (II).....	26
Figura 5 – Esquema de síntese do complexo <i>cis</i> -[Ru(phen) ₂ Cl ₂].....	32
Figura 6 – Esquema de síntese do complexo <i>cis</i> -[Ru(phen) ₂ (ImAA)]PF ₆	33
Figura 7 – Espectrofotômetro Shimadzu IRAffinity-1S.....	34
Figura 8 – Espectrofotômetro Shimadzu UV-1800.....	34
Figura 9 – Representação gráfica da curva de calibração, preparada com Trolox...35	
Figura 10 – O complexo <i>cis</i> -[Ru(phen) ₂ (ImAA)]PF ₆ sobre a superfície do cristal de ATR.....	38
Figura 11 – Espectros de infravermelho do ligante imidazol ácido acético (ImAA) e do complexo <i>cis</i> -[Ru(phen) ₂ (ImAA)]PF ₆	39
Figura 12 – Deslocalização eletrônica no ligante imidazol ácido acético coordenado ao Ru (II)	40
Figura 13 – Espectros de UV-Vis em solução de acetonitrila para os complexos <i>cis</i> -[Ru(phen) ₂ Cl ₂] e <i>cis</i> -[Ru(phen) ₂ (ImAA)]PF ₆ , respectivamente	41
Figura 14 – Representação gráfica da capacidade de eliminar o radical ABTS ^{•+} em comparação com o Trolox (mg.L ⁻¹) em 6 e 30 minutos com (A) 2 mg.mL ⁻¹ e (B) 4 mg.mL ⁻¹	42
Figura 15 – Resultados dos ensaios de Concentração Bactericida Mínima (CBM). A) complexo <i>cis</i> -[Ru(phen) ₂ (ImAA)]PF ₆ contra <i>S. epidermidis</i> . B) ligante ImAA e complexo <i>cis</i> -[Ru(phen) ₂ Cl ₂]	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades atômicas e físicas do rutênio.	20
Tabela 2 – Número de mols, procedência e grau de pureza dos reagentes.....	31
Tabela 3 – Equipamentos e vidrarias utilizados na síntese do complexo de rutênio.	31
Tabela 4 – Procedência das bactérias empregadas nos ensaios de atividade antibacteriana.	36
Tabela 5 – Os principais modos vibracionais e suas atribuições para o ligante livre.	40
Tabela 6 – Valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do Imidazol Ácido Acético e dos complexos <i>cis</i> - [Ru(phen) ₂ (Cl) ₂] e <i>cis</i> - [Ru(phen) ₂ (ImAA)]PF ₆	44
Tabela 7 – Valores da Concentração Bactericida Mínima (CBM) do Imidazol Ácido Acético (ImAA) e dos complexos <i>cis</i> - [Ru(phen) ₂ (Cl) ₂] e <i>cis</i> - [Ru(phen) ₂ (ImAA)]PF ₆	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	Radical 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico).
Ampy	Ligante 2-aminometilpiridina.
AsPh ₃	Ligante trifenilarsina.
ATR	<i>Attenuated Total Reflectance</i> .
BHA	2,3-terc-butil-4-hidroxianisol.
BHT	Hidroxitolueno butilado.
BIOMIC	Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Microrganismo e Plantas.
BIOTEC	Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia.
Bpy	Ligante 2,2'-bipiridina.
CBM	Concentração Bactericida Mínima.
CIM	Concentração Inibitória Mínima.
DPPH	Radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil.
ERN	Espécies reativas de nitrogênio.
ERO	Espécies reativas de oxigênio.
EtOH	Etanol.
FTIR	Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier.
h	Horas.
IFPI	Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí.
ImAA	Imidazol Ácido Acético.
IV	Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho.
Maip	Ligante 2-(3-aminofenil) imidazol-1,10- fenantrolina.
Mcbtz	Ligante 2- mercaptobenzotiazolina.
Mctz	Ligante 2- mercaptotiazolina.
MLCT	Transferência de carga do metal para o ligante
Mmols	Milimol.
OH ⁻	Radical hidroxila.
Paip	Ligante 2-(4-aminofenil) imidazol-1,10-fenantrolina
Phen	Ligante fenantrolina.
PPh ₃	Ligante trifenilfosfina.
TEAC	Concentração Antioxidante Equivalente de Trolox.
UFPI	Universidade Federal do Piauí.

UV-Vis

Ultravioleta-Visível.

LISTA DE SÍMBOLOS

Ru	Rutênio.
Cl	Ligante cloreto.
Z	Número atômico.
A	Massa atômica.
d	Densidade.
T _f	Temperatura de fusão.
H ₂ O	Água.
%	Porcentagem
mL	Mililitro.
nm	Nanómetro.
μM	Micromolar.
μL	Microlitro.
μg	Micrograma.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
2.1 ELEMENTOS METÁLICOS: UM BREVE HISTÓRICO SOBRE A APLICAÇÃO TERAPÊUTICA	19
2.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO RUTÊNIO	20
2.2.1 Complexos de rutênio	21
2.4 RADICAIS LIVRES	23
2.4.1 Atividade antioxidante	24
2.4.2 Ação antioxidante do complexo de rutênio	25
2.4 ATIVIDADE ANTIBACTERINA DE COMPLEXOS DE RUTÊNIO	27
3 OBJETIVOS	29
3.1 OBJETIVO GERAL	29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4 METODOLOGIA	30
4.1 TIPO DE PESQUISA	30
4.2 LOCAL E SUJEITO DA PESQUISA	30
4.3 MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.3.1 Reagentes químicos	31
4.3.2 Equipamentos e vidrarias	31
4.3.3 Síntese dos complexos de rutênio	32
4.3.3.1 Síntese do complexo precursor <i>cis</i> – [Ru(phen) ₂ (Cl) ₂]	32
4.3.3.2 Síntese do complexo <i>cis</i> – [Ru(phen) ₂ ImAA]PF ₆	33
4.3.4 Técnicas de caracterização	33
4.3.4.1 Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (IV)	33
4.3.4.2 Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-Visível (UV- Vis)	34
4.3.5 Ensaio de atividade antioxidante	35
4.3.6 Ensaio de atividade antibacteriana	36
4.4 TRATAMENTO DOS DADOS	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1 SÍNTESE DO COMPLEXO <i>cis</i> - [Ru(phen) ₂ (ImAA)]PF ₆	38
5.2 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA	39

5.2.1 Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (IV)	39
5.2.2 Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta- Visível (UV-Vis)	41
5.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	42
5.4 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	43
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
7 PERSPECTIVAS FUTURAS	48
REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

A descoberta das propriedades anticancerígenas da cisplatina representa um marco histórico para a Química Inorgânica Medicinal. Entretanto, os graves efeitos colaterais envolvendo a aplicação clínica desse fármaco como náuseas e alta toxicidade resultaram na busca pelo desenvolvimento de novos fármacos baseados em compostos metálicos com efeitos menos tóxicos às células humanas (GILEWSKA et al., 2018). Diante das limitações associadas ao uso da cisplatina, aumentou-se o interesse pela busca de fármacos com novos metais de transição mais eficazes e menos danoso ao organismo. Entre os metais de transição, destaca-se o rutênio.

Nos estudos com atividade cancerígena verificou-se que o rutênio apresenta efeitos menos tóxicos às células normais quando comparado aos fármacos anticancerígenos de platina, como *cis*-diaminodicloroplatina (II). Além disso, a semelhança na atividade antitumoral, faz com que os complexos metálicos de rutênio (II) tenham sido amplamente avaliados como promissores agentes antitumorais (PORTO, 2012).

A geometria de coordenação octaédrica confere ao rutênio a capacidade para formar moléculas mais estáveis que os complexos de platina de geometria quadrada planar. Ademais, a similaridade com o ferro em formar ligações com a transferrina, entre outras proteínas, tornam os antitumorais à base de rutênio menos nocivos ao organismo do que aqueles sintetizados a partir da platina (JAKUPEC et al., 2008).

Além dos compostos metálicos de rutênio apresentarem resultados positivos como agentes antitumorais em diversos tratamentos de câncer, como no carcinoma de pulmão humano (SILVA, 2017), cabe salientar o desenvolvimento de diversas pesquisas relacionadas com complexos de rutênio, incluindo atividade antioxidante e biológica.

De acordo com literatura a síntese de dois novos complexos de rutênio, $[\text{RuH}(\text{HL})(\text{PPh}_3)_2(\text{CO})]$ e $[\text{RuH}(\text{HL})(\text{AsPh}_3)_2(\text{CO})]$, apresentam atividade antioxidante superiores aos antioxidantes padrões, como a vitamina C e o antioxidante sintético BTH (KAMATCHI et al., 2013), outros complexos sintetizados a partir do rutênio (II), $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{maip})]^{2+}$ e $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{paip})]^{2+}$, são avaliados quanto ao potente efeito antioxidante contra o radical hidroxila, sendo assim úteis como agentes terapêuticos contra algumas patologias (LIU et al., 2010).

A pesquisa realizada com dois complexos de rutênio (II) contendo ligantes polipiridinos, $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{APIP})](\text{ClO}_4)_2$ e $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{HAPIP})](\text{ClO}_4)_2$, demonstram que os complexos e ligantes podem ser eficientes agentes farmacológicos na eliminação de radicais livres (LIU et al., 2011).

Além disso, complexos de rutênio também são avaliados quanto a atividade antimicrobiana. Appelt et al. (2015) sintetizaram novos complexos *cis*- $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$ e *cis*- $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$, os quais foram caracterizados como agentes promissores e específicos contra bactérias *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli*, visto que não causam danos significativos as células humanas, sendo assim considerados eficientes no tratamento de infecções bacterianas.

Kannan et al. (2008) descreveram no seu trabalho de pesquisa a síntese de uma série de cinco novos compostos carbonilo de rutênio (II) que mostraram resultados consideráveis contra a bactéria Gram positiva do tipo *Staphylococcus aureus* e Gram negativa do tipo *Escherichia coli* e atividades antifúngicas promissoras contra espécies patogênicas, incluído *Candida albicans* e *Aspergillus niger*.

Tendo em vista as propriedades que os compostos de rutênio apresentam e a busca pelo desenvolvimento de complexos de coordenação com potentes aplicações biológicas, esse trabalho justifica-se na necessidade de sintetizar e investigar as atividades antioxidante e antibacteriana do complexo de rutênio contendo o ligante imidazol ácido acético. Partindo desse viés, esse trabalho tem como objetivo avaliar a atividade antioxidante e antibacteriana do complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ImAA})]\text{PF}_6$ sintetizado através do complexo precursor *cis*- $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{Cl}_2]$.

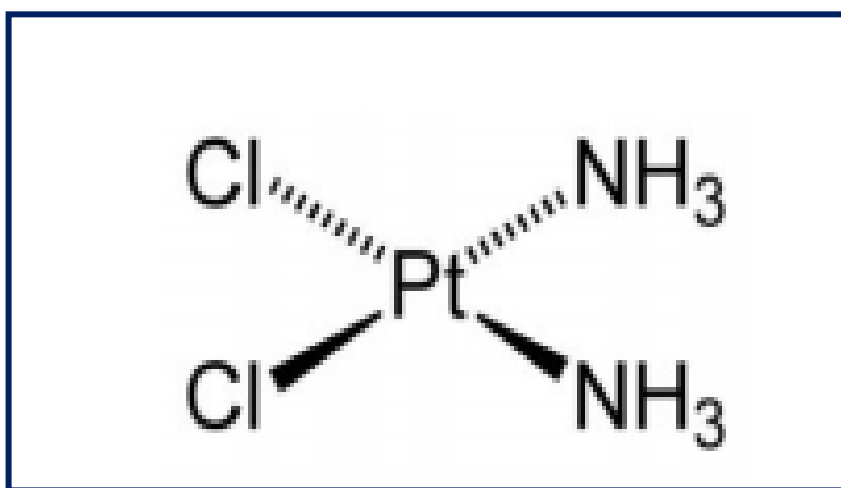
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ELEMENTOS METÁLICOS: UM BREVE HISTÓRICO SOBRE A APLICAÇÃO TERAPÊUTICA

Registros históricos apontam que há pelo menos 3500 anos elementos à base de metais são utilizados para fins terapêuticos, incluído a aplicação de ouro em diversos medicamentos na Arábia e na China. Nessa época, acreditavam-se que os efeitos benéficos à saúde estavam associados a raridade desses metais preciosos (ALLARDYCE; DYSON, 2001). Ademais, por volta do ano 1500 a.C, no Egito elementos metálicos como ferro foram utilizados na produção de medicamentos, enquanto que na mesma época foi identificado a ação do zinco no tratamento de feridas (BERALDO, 2005).

Sintetizado pela primeira vez em 1884, o complexo à base de platina, comumente denominado de cisplatina teve sua estrutura química (Figura 1) identificada por Alfred Werner, em 1893. Entretanto, somente a partir de 1965 Barneett Rosember em conjunto com outros colaboradores apontaram a propriedade desse complexo em inibir a divisão celular da bactéria bacilar Gram-negativa, *Escherichia coli*. Essa propriedade identificada na *cis* – diaminodicloroplatina (II) foi responsável pelo grande interesse pelos complexos metálicos de platina, paládio, dentre outros metais de transição para área farmacológica (ROSENBERG; VANCAMP; KRIGAS, 1995; BERALDO, 2005).

Figura 1 – Estrutura da Cisplatina.



Fonte: Autoria própria, (2018).

A descoberta das propriedades citotóxicas da cisplatina apresentou-se bastante relevante no tratamento de câncer (ARNESANO et al., 2011). No entanto, as desvantagens clínicas relacionadas com a neuro-toxidez, nefro-toxidez e toxidez ao trato intestinal, bem como resistência celular e baixa solubilidade em água desse composto inorgânico levaram a busca pelo desenvolvimento de novos antitumorais, utilizando elementos metálicos com propriedades menos tóxicas e mais eficazes (FONTES; CÉSAR; BERALDO, 2005; BRABEC; NOVÁKOVÁ, 2006).

Diante disso, os complexos à base do rutênio têm atraído bastante interesse como agentes antitumorais alternativos à cisplatina (BRABEC; NOVÁKOVÁ, 2006), assim como têm-se demonstrado eficazes, em outras aplicações biológicas, como agentes antioxidantes e antibacterianos (APPELT et al., 2017).

2.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS DO RUTÊNIO

Em 1844, enquanto analisava resíduos de platina o químico russo Karl Karlovitch isolou e identificou um novo elemento metálico denominado de rutênio em homenagem ao país de origem ruthenia, do latim Rússia. O rutênio de configuração eletrônica $[\text{Kr}] 4d^7 5s^1$ pertence ao grupo 8 dos metais de transição, estando localizado no quinto período da tabela periódica. Trata-se de um elemento químico caro de caráter duro, quebradiço, brilhante, resistente à corrosão, de densidade e ponto de fusão elevado, apresentando boa condutividade elétrica e excelentes propriedades catalíticas (SILVA; GUERRA, 2012). A Tabela 1 apresenta as propriedades atômicas e físicas do rutênio.

Tabela 1 – Propriedades atômicas e físicas do rutênio.

Rutênio	
Número atômico	$z = 44$
Massa Molar	$A = 101,07 \text{ g. mol}^{-1}$
Densidade	$d = 12,45 \text{ g. cm}^{-3}$
Ponto de fusão	$T_f = 2334^\circ \text{ C}$

Fonte: Shriver; Atkins, (2003).

O rutênio apresenta vários estados de oxidação (0 a +8), sendo o Ru (II), Ru (III) e Ru (IV) os mais comuns (LEE, 2003; ZENG et al., 2017). Tendo em vista, a variabilidade nos estados de oxidação torna-se fácil tanto à obtenção de seus minérios,

como também sua manipulação em laboratório (RAMOS, 2017). A capacidade desse elemento químico em formar uma ampla variedade de complexos metálicos tem se tornado bastante relevante, uma vez que os compostos à base de rutênio têm apresentado elevado potencial como inibidores de células cancerígenas (CHEN et al., 2018), biossensores e agentes antimicrobianos (YILDIRIM et al., 2014); dentre outras aplicações.

2.2.1 Complexos de rutênio

A síntese de complexos de rutênio têm sido amplamente desenvolvida, permitindo grandes vantagens clínicas, principalmente no tratamento de carcinomas, uma vez que os complexos de Ru (II) e Ru (III) apresentam cinéticas de trocas de ligantes semelhante aos compostos de platina (II), essas substituições de ligantes são determinantes para a atividade biológica desenvolvida pelos fármacos derivado de metais, já que a maioria dos fármacos de origem metálica não atingem o alvo biológico sem estarem modificados (ALLARDYCE; DYSON, 2001).

Além dessa relevante propriedade, a capacidade dos complexos de rutênio em imitar a ligação do ferro com muitas biomoléculas, incluído a transferrina sérica e a albumina confere a esses compostos metálicos uma baixa toxicidade em seres humanos, favorecendo a aplicabilidade no desenvolvimento de novos metalofármacos (ANG; DYSON, 2006).

A geometria octaédrica dos complexos à base de rutênio concede tanto maiores possibilidades de coordenar alvos moleculares mais relevantes, como também exibe mudanças de estados de oxidação sem elevadas exigências energéticas. Ademais, os estados de oxidantes do Ru (II), Ru (III), Ru (IV) biologicamente mais importantes demonstram versatilidade de coordenação com átomos de enxofre e de nitrogênio, presentes em moléculas como o DNA e proteínas (GAMBINO; OTERO, 2012).

Geralmente, nesses estados de oxidação o rutênio forma compostos octaédricos hexacoordenados, sendo que complexos Ru (III) se tornam biologicamente inertes quando comparados com compostos de Ru (II) e Ru (IV). A substituição dos ligantes produz alteração no potencial redox desses compostos, de modo que essas modificações podem ser exploradas para uso clínico (ALLARDYCE; DYSON, 2001).

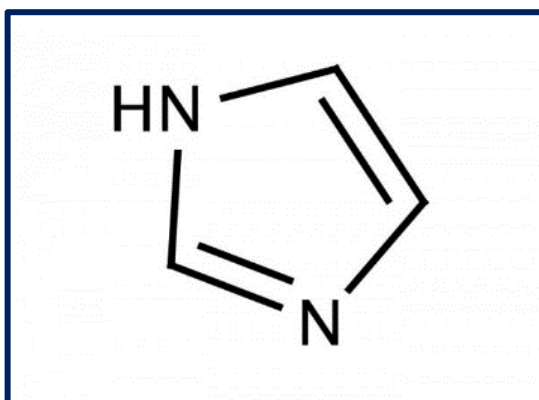
Além dessas propriedades atribuírem aos complexos de rutênio potenciais efeitos anticancerígenos, também tornam os compostos metálicos a base de rutênio promissores agentes antioxidantes, antiparasitários, antibacteriano e antifúngicos (LI; COLLINS; KEENE, 2015).

2.3 LIGANTES IMIDAZÓLICOS

A natureza dos ligantes desempenha funções relevantes no desenvolvimento de compostos de coordenação, uma vez que controlam a reatividade dos metais, assim como participam das interações envolvidas no reconhecimento de sítios-alvos biológicos, como DNA, enzimas e receptores de proteínas (SAEED et al., 2014). Além disso, a interação entre um íon metálico e um ligante permite a obtenção de uma ampla variedade de números de coordenação, estados de oxidação e geometria (BORTOLETTO, 2017).

Dentre os ligantes empregados na síntese dos compostos de coordenação, destaca-se o composto orgânico imidazol, no qual constitui-se por um heterocíclico contendo três átomos de carbonos e dois átomos de nitrogênios na posição 1,3 (GRIMMETT, 1984; ROSA, 2006), conforme demonstra a Figura 2.

Figura 2 – Estrutura do imidazol.



Fonte: Materazzi; Vasca, (2001).

Nas últimas décadas, complexos metálicos coordenados com ligantes imidazólicos tem sido alvos de bastante atenção em razão tanto da versatilidade no modo de ligação com os dois átomos de N do anel imidazólico, como também em virtude da porção imidazólico apresentar importantes funções nos sistemas biológicos. Os complexos metálicos contendo ligantes imidazólico são de grande interesse

biológico em virtude de os mesmos apresentarem similaridades com sítios ativos de metaloproteínas (BEHERA; MANIVANNAN, 2018).

De acordo com a literatura, o desenvolvimento de complexos metálicos contendo derivados de imidazol, incluindo imidazol ácido acético tem desempenhado relevantes aplicações farmacológicas, tais como: ação antimicrobiana (NAKAHATA et al., 2017; ABDOLMALEKI et al., 2018) e antitumorais (DIREM et al., 2018).

2.4 RADICAIS LIVRES

Os radicais livres representam átomos ou um conjunto de átomos unidos através de ligação covalente, cuja presença de elétrons desemparelhados na última camada tornam essas espécies instáveis e bastante reativas (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). Nos diversos ramos da biologia e medicina, os radicais livres são comumente conhecidos como espécies reativas de oxigênio (ERO) ou espécies reativas de nitrogênio (ERN), dentre as espécies reativas de oxigênio destaca-se os radicais hidroxila (HO), o ânion radical superóxido (O_2^-), óxido nítrico (NO) e radicais peróxido (ROO) (FIRUZI et al., 2011).

Algumas dessas espécies reativas podem ser gerados naturalmente a partir dos processos metabólicos que ocorrem no organismo dos seres vivos, sendo assim derivados de fontes endógenas. Há também aqueles derivados de fontes exógenas, que são produzidos através de fatores não fisiológicos, como pela exposição a fumaças ou a certos poluentes, solventes, medicamentos e pesticidas (RAO et al., 2001). Os radicais livres exercem diversas funções fisiológicas importantes para o funcionamento dos organismos vivos, como a produção de energia e de substâncias biológicas, ativação de genes, fagocitose, fertilização do óvulo; dentre outras funções (BARREIROS; DAVID M.; DAVID P., 2006).

Dessa forma, os radicais livres apresentam efeitos benéficos ao organismo em níveis moderados, mas em concentrações elevadas podem causar danos ao DNA, lípidos, proteínas e ainda causar ruptura da homeostase celular e acúmulo de células danificadas pelo estresse oxidativo (JAKUS, 2000; RAO et al., 2001), resultante do desequilíbrio entre a formação de radicais livres e capacidade do organismo em eliminar intermediários reativos ou de reparar os danos causados por essas espécies reativas (POPRAC et al., 2017).

Diversas pesquisas demonstram que elevadas concentrações de radicais livres no organismo podem contribuir para o surgimento de diversas patologias, incluído a doença de Alzheimer (FERREIRA; MATSUBARA, 1997), doença de Parkinson (WHITTON, 2007), carcinomas (POPRAC et al., 2017) e doenças cardiovasculares (BHATTACHARYA; AHMED; CHAKRABORTY, 2011). Além dessas patologias, o estresse oxidativo também é responsável pelo envelhecimento celular e por mutações genéticas no DNA (OLIVEIRA; SCHOFFEN, 2010).

2.4.1 Atividade antioxidante

Os antioxidantes constituem pequenas moléculas como o ácido úrico ou moléculas grandes como a albumina, que exercem a função de neutralizar o excesso de radicais livres, prevenindo os danos causados pelo estresse oxidativo, tal fato os tornam agentes eficientes contra as patologias associadas com os danos oxidativos (PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008; FIRUZI et al., 2011).

Em razão da constante produção de radicais livres pelas ações metabólicas o organismo apresenta dois tipos de mecanismo de defesa antioxidante, sendo a interna proveniente do próprio corpo e a externa derivada da alimentação, esses mecanismos regulam a quantidade de radicais através da inativação dos mesmos pela reação com os agentes antioxidantes, evitando dessa forma os efeitos nocivos causados pelo estresse oxidativo (WOJTUNIK-KULESZA et al., 2016).

Os antioxidantes endógenos podem ser classificados como enzimáticos e não enzimáticos (PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008). Entre as principais enzimas envolvidas no processo de defesa do corpo humano destaca-se a catalase, superóxido dismutase e a glutathione peroxidase, representando a primeira defesa endógena contra as espécies reativas de oxigênio (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1990). Já os compostos não enzimáticos são divididos em antioxidantes metabólicos e antioxidantes nutrientes, os metabólicos são produzidos pelo metabolismo, incluído o ácido lipoídico, glutathione, ácido úrico, bilirrubina; entre outros (DRÖGE, 2002).

Enquanto que os compostos nutrientes pertencem aos antioxidantes exógenos, isto é, aqueles que não são produzidos pelo organismo, mas adquiridos através da alimentação ou suplementos como a vitamina E, vitamina C, carotenóides, metais traço (selênio, manganês, zinco), flavonóides, ômega-3 e ômega-6, ácidos graxos; entre outros (PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008). Dessa forma, os antioxidantes

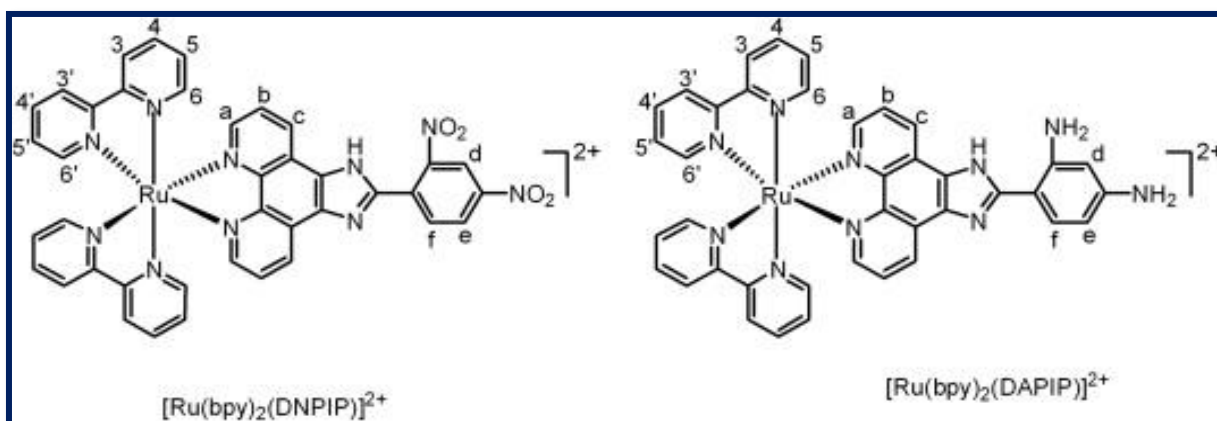
auxiliam moderando as concentrações de radicais livres no organismo através de duas linhas de defesa contra as espécies reativas de oxigênio. A primeira linha de defesa, consiste na desintoxicação, impedindo que as espécies reativas atuem. E a segunda linha, desempenha a função de reparar as lesões causadas, sendo constituída pelo ácido ascórbico, pela glutatona-redutase e glutamina peroxidase (HEBBEL, 1986).

Cabe ressaltar ainda, os antioxidantes sintéticos bastante utilizados na indústria alimentícia, tais como: BHA e BHT. A estrutura fenólica desses compostos permite a doação de um próton as espécies reativas, impedindo o mecanismo de oxidação por radicais livres (RAMALHO; JORGE, 2006).

2.4.2 Ação antioxidante do complexo de rutênio

Desde os últimos anos, houve o interesse crescente pelos compostos de rutênio (II) em diversos ramos da aplicação biológica, incluído a atividade antioxidante (KIRUTHIKA; DHARMALINGAM, 2017), visando o desenvolvimento de potenciais agentes antioxidantes que minimizem os efeitos graves relacionados com estresse oxidativo. De acordo com a literatura a síntese de dois novos complexos polipiridínicos de rutênio (II) (Figura 3) mostraram alta atividade antioxidante, sendo considerados promissores agentes na eliminação dos radicais hidroxila (HUANG et al., 2011).

Figura 3 – Estrutura dos complexos polipiridínicos de rutênio (II).

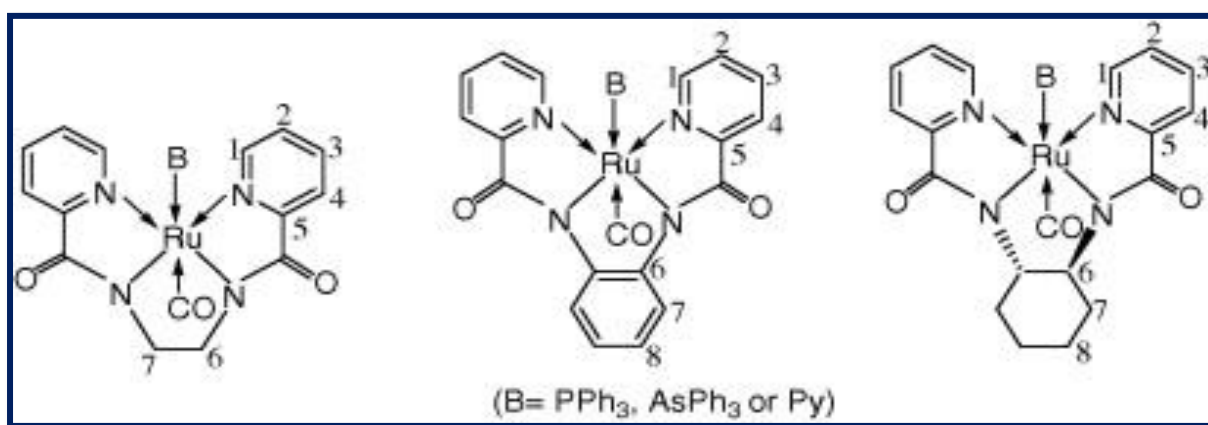


Fonte: Huang et al., (2011).

Os dados obtidos nos ensaios de DPPH e de eliminação da radical hidroxila em uma nova série de complexos de rutênio octaédrico (II) com ligantes tridentados derivados de fenantrenoquinona e derivados de tiosemicarbazida / semicarbazida também demonstram resultados positivos na eliminação dos radicais livres. Contudo,

que esses complexos exibiram maior eficácia na eliminação dos radical hidroxila do que o radical DPPH (ANITHA et al., 2013). Ademais, a síntese de novos complexos de rutênio (II) contendo ligantes piridina carboxamida e trifenilfosfina / trifenilarisina / piridina (Figura 4) apresentam resultados positivos nos teste de eliminação dos radicais livres nos ensaios antioxidantes *in vitro* com radical DPPH, radical óxido nítrico, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio, exibindo capacidade antioxidante superior aos agentes antioxidantes padrões como a vitamina C e hidroxitolueno butilado (BHT) (RAMACHANDRAN ;VISWANATHAMURTHI, 2013).

Figura 4 – Estrutura de novos complexos de piridina carboxamida (II).



Fonte: Ramachandran; Viswanathamurthi, (2013).

O trabalho de pesquisa desenvolvido Mohanraj et al. (2016) apontam resultados positivos na capacidade de eliminar radicais livres em uma série de novos complexos de rutênio (II) com ligantes de hidrazona, (2,4-di-hidroxi-benzilideno)-hidrazida, ácido 4-metoxi-benzóico (2,4-di-hidroxi-benzilideno)-hidrazida do ácido 4-metil-benzóico, ácido 4-bromo-benzóico (2,4-di-hidroxi-benzilideno) -hidrazida a partir de ensaios *in vitro* realizados com radicais DPPH, hidroxila (OH) e óxido nítrico (NO).

Além disso, a pesquisa desenvolvida por Silva (2016) descreve a capacidade antioxidante dos complexos *cis*-[Ru(phen)₂(3,4-Apy)₂]²⁺ e *cis*-[Ru(phen)₂(4-Apy)₂]²⁺, bem como dos ligantes 3,4-diaminopiridina e 4-aminopiridina em eliminar os radicais livres pelo sequestro do radical hidroxila e pelo método DPPH e ABTS, demonstrando que o complexo *cis*-[Ru(phen)₂(3,4-Apy)₂]²⁺ e o ligante 3,4-diaminopiridina exibiram potencial antioxidante.

2.4 ATIVIDADE ANTIBACTERINA DE COMPLEXOS DE RUTÊNIO

O aumento da resistência dos microrganismo contra agentes antimicrobianos tornou-se uma grande preocupação, tendo em vista que esse fato reflete um aumento nos gastos com assistência à saúde, aumento de ocorrência de mortes, além de dificultar a prevenção e o tratamento de diversas infecções (VERÇOZA et al., 2009, WHO, 2014).

Diante disso, atualmente, tem existido a busca pelo desenvolvimento de novos compostos, visando combater as espécies resistentes, além de minimizar o número de mortes causadas, principalmente por bactérias (ANDRADE, 2018).

Recentemente, muitos estudos têm explorado os efeitos benéficos dos complexos metálicos no diagnóstico e tratamento de diversas patologias (BOTA, 2017). Entre os compostos de coordenação, aqueles que contém rutênio como átomo central tem apresentado resultados positivos em diversas pesquisas envolvendo a ação antimicrobiana (LI et al., 2012). O primeiro trabalho a demonstrar atividade antimicrobiana dos complexos de rutênio cineticamente inertes foi desenvolvido por Dwyer e colaboradores (DWYER, GYARFAS, ROGERS E KOCH, 1952; DWYER, MELLOR, 1964)

Conforme Yildirim et al. (2014) o desenvolvimento do complexo $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{RuClTSC}]\text{Cl}$, aponta resultados significativos no controle do crescimento de *Bacillus subtilis* (ATCC11774), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615) e isolados clínicos *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*. Enquanto que o segundo complexo sintetizado, $[\text{Ru}(\text{CO})\text{Cl}(\text{PPh}_3)_2\text{TSC}]$, não apresentou atividade antibacteriana nas espécies testadas.

Ensaio realizados para determinar o efeito inibitório de um complexo de rutênio com ligantes polipiridínicos, $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ponta})](\text{ClO}_4)_2$, contra a espécie Gram-negativa *Escherichia coli* e a bactéria Gram positiva *Staphylococcus aureus* revelam ação antibacteriana significativa dependente da concentração empregada (SUN et al., 2015).

O estudo desenvolvido por Appelt et al., (2015) descrevem o potencial antimicrobiano de novos complexos de rutênio(II), *cis*- $[\text{Ru}(\text{mctz})_2(\text{PPh}_3)_2]$, e *cis*- $[\text{Ru}(\text{mcbtz})_2(\text{PPh}_3)_2]$, tendo em vista que ambos complexos apontaram alta atividade antibacterina e baixa toxicidade sobre as células humanas, inibindo o crescimento das espécies de *Bacillus subtilis* e *Escherichia coli*.

Ademais, o trabalho desenvolvido por Andrade (2018) demonstra a eficácia do complexo $cis-[RuCl_2(dppb)(NN-R)]^{2+}$ contra as espécies Gram positivas, tanto isolado, como combinado com os antibióticos ampicilina e tetraciclina, podendo assim ser utilizada no tratamento de infecções bacterianas causadas por *Staphylococcus spp.*

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade antioxidante e antibacteriana do complexo *cis*-[Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ sintetizado através do complexo precursor *cis*-[Ru(phen)₂Cl₂].

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar o complexo *cis* - [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ a partir do complexo precursor *cis*-[Ru(phen)₂Cl₂];
- Caracterizar o complexo obtido pelos técnicas de Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (IV) e Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis);
- Avaliar a atividade antioxidante do complexo *cis* - [Ru(phen)₂ImAA]PF₆ através do método ABTS;
- Avaliar a atividade antibacteriana, utilizando as bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) e *Escherichia coli* (ATCC 25922).

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DE PESQUISA

A primeira parte da pesquisa consistiu em uma revisão bibliográfica através da busca de artigos, dissertações e teses em bancos de dados brasileiros e internacionais, incluindo *Scielo*, *Capes*, *Science Direct*, *Web of Science* e *Scopus*, visando a obtenção de um extenso suporte teórico. Conforme Gil (2002) o levantamento bibliográfico se caracteriza pelo levantamento de dados mediante uma pesquisa em bancos de dados nacionais e internacionais que visa rever determinado conteúdo de interesse do pesquisador.

Por outro lado, a segunda etapa caracterizou-se como de cunho experimental visto que “consiste em determinar um objeto de estudo, selecionar as variáveis que seriam capazes de influenciá-lo, definir as formas de controle e de observação dos efeitos que a variável produz no objeto”. (GIL, 2002, p. 47). Baseando-se Marconi e Lakatos (2016), esta investigação, quanto à abordagem, classifica-se como de natureza quanti-qualitativa, pois se propõe tanto a caracterizar a estrutura do complexo *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ImAA})]\text{PF}_6$, como também avaliar atividade antioxidante e antibacteriana do composto sintetizado.

4.2 LOCAL E SUJEITO DA PESQUISA

Os procedimentos experimentais de síntese dos compostos de rutênio foram realizados no Laboratório de Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí (IFPI), *Campus* Parnaíba e no Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia (BIOTEC) da Universidade Federal do Piauí (UFPI), *Campus* Ministro Reis Velloso.

A caracterização do complexo *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ImAA})]\text{PF}_6$ foi feita a partir das técnicas de Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (IV) e Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-Visível (UV- Vis) realizadas no BIOTEC. Os ensaios de atividade antioxidante e antibacteriano ocorreram no BIOTEC e no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular de Microrganismos e Plantas (BIOMIC), respectivamente.

4.3 MATERIAIS E MÉTODOS

4.3.1 Reagentes químicos

O número de mols, procedência e grau de pureza dos reagentes que foram empregados na síntese dos complexo de rutênio estão listados na Tabela 2.

Tabela 2 - Número de mols, procedência e grau de pureza dos reagentes.

Reagentes	nº de mmols	Pureza / Procedência
Cloreto de rutênio ($\text{RuCl}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)	0,38	99% Sigma-Aldrich
1, 10 – Fenantrolina ($\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2$)	0,79	99% Sigma-Aldrich
Cloreto de lítio (LiCl)	2,54	99% Sigma-Aldrich
Hexafluorofosfato de amônio (NH_4PF_6)	0,20	99% Sigma-Aldrich
Imidazol Ácido Acético (ImAA)	0,10	99% Sigma-Aldrich

Fonte: Autoria própria, (2018).

Os solventes utilizados na síntese dos compostos de rutênio, incluindo dimetilformamida (DMF), acetona e etanol foram de procedência HPLC.

4.3.2 Equipamentos e vidrarias

Na Tabela 3 constam os equipamentos e vidrarias que foram utilizados na síntese dos complexos de rutênio.

Tabela 3 - Equipamentos e vidrarias utilizados na síntese do complexo de rutênio.

Equipamentos	Vidrarias
Manta aquecedora	Balão de fundo redondo 50 mL
Placa de agitação	Filtro de placa porosa
Sistema de Refluxo	

Fonte: Autoria própria, (2018).

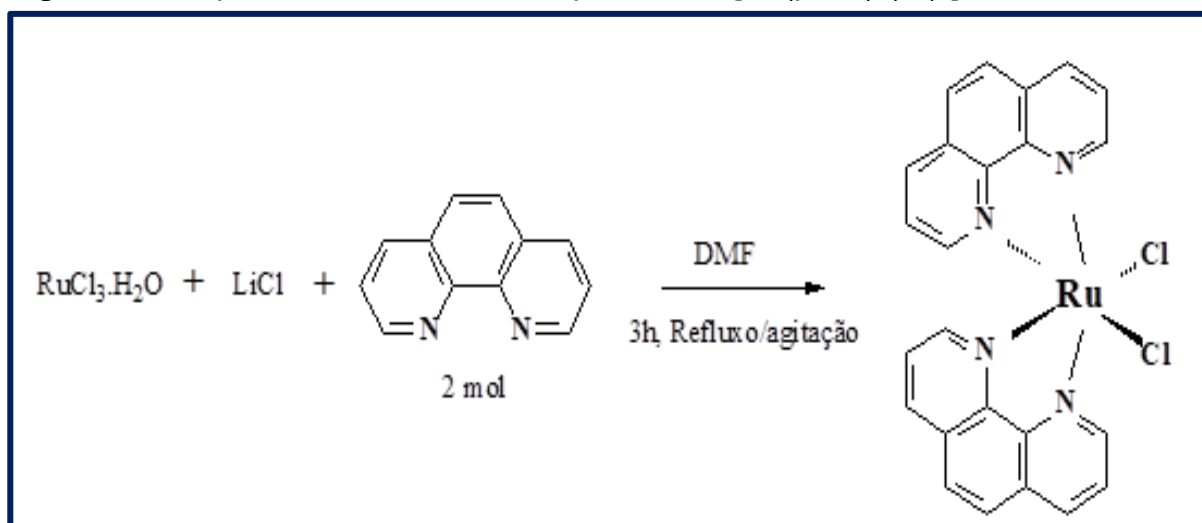
4.3.3 Síntese dos complexos de rutênio

4.3.3.1 Síntese do complexo precursor *cis* – [Ru(phen)₂(Cl)₂]

A síntese do complexo percurso foi baseado pelo método descrito por Sullivan, Salmon e Meyer (1883), com modificação. A preparação do complexo *cis* – [Ru(phen)₂(Cl)₂], ocorreu a partir da adição de 0,38 mmols de Cloreto de rutênio, 0,79 mmols de 1,10 – Fenantrolina e 2,54 mmols de Cloreto de lítio em 10 mL de DMF previamente desareado em uma balão de fundo redondo. O sistema permaneceu sob refluxo em atmosfera de nitrogênio durante 15 minutos, aquecimento e agitação constante. O balão reacional foi recoberto com papel de alumínio para evitar a exposição com a luz.

Após o tempo de síntese foi adicionado no balão reacional 200 mL acetona. Em seguida, a mistura foi mantida em refrigeração durante 24 horas para completa precipitação do complexo. Posteriormente, o precipitado sofreu o processo de filtração à vácuo e lavagem com água destilada e, em seguida o composto metálico foi seco a temperatura ambiente e estocado no dessecador para ser posteriormente utilizado na síntese do complexo *cis* – [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆. Na Figura 5 segue o esquema de síntese do complexo *cis* – [Ru(phen)₂(Cl)₂].

Figura 5 – Esquema de síntese do complexo *cis* – [Ru(phen)₂(Cl)₂].



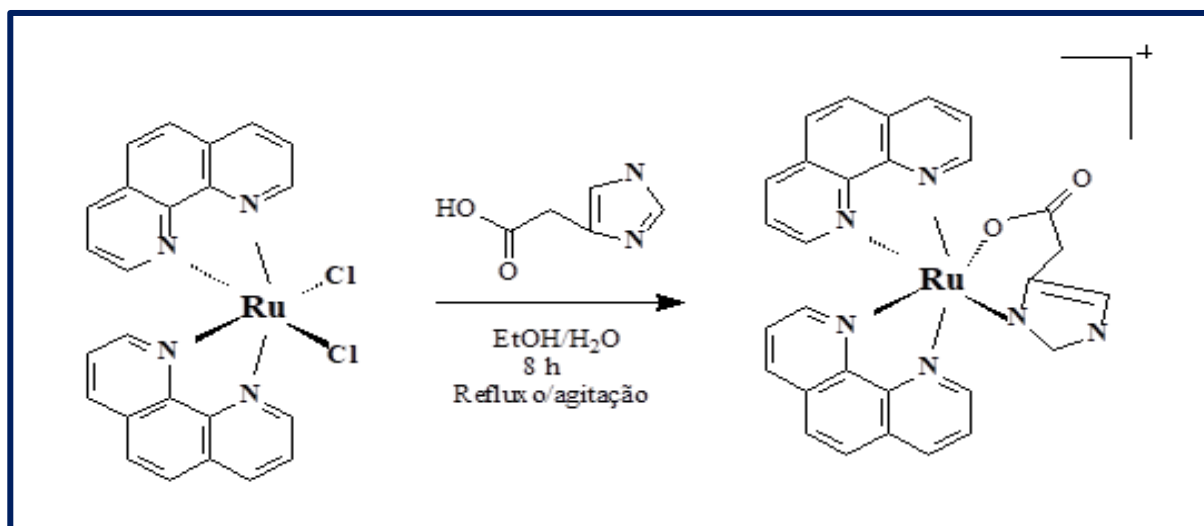
Fonte: Autoria própria, (2018).

4.3.3.2 Síntese do complexo *cis* – [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆

O complexo de rutênio final foi alcançado mediante a troca dos ligantes cloretos do complexo precursor *cis* - [Ru(phen)₂Cl₂], baseado no método descrito por Lima (2014). Para síntese, foram utilizados 0,10 mmol de imidazol ácido acético, na qual os reagentes foram dissolvidos em 10 ml de etanol/ água previamente desaerados, sob agitação continua e aquecimento. O sistema permaneceu sob refluxo durante 8 horas em uma atmosfera de nitrogênio, aquecimento, agitação e ausência de luz.

Após esse tempo, o sistema esfriou e, em seguida, foram adicionados 0,20 mmol do contra íon hexafluorofosfato de amônio (NH₄PF₆). A mistura permaneceu sob refrigeração durante 24 horas para completa precipitação do composto. Após isso, realizou-se o processo de filtração à vácuo e lavagem com água gelada do complexo. Em seguida, o mesmo foi seco à temperatura ambiente e estocado para posterior caracterização. Na Figura 6 segue o esquema da reação de síntese do complexo de rutênio *cis* - [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆.

Figura 6 – Esquema de síntese do complexo *cis* – [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆.



Fonte: Autoria própria, (2018).

4.3.4 Técnicas de caracterização

4.3.4.1 Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (IV)

A Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (IV) caracteriza-se pelo processo de absorção na região do infravermelho, resultando em transições

vibracionais das espécies químicas (SKOOG; HOLLER; CROUCH, 2009). Os espectros vibracionais na região do infravermelho foram determinados através do aparelho de espectrofotômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier Shimadzu IRAffinity-1S (Figura 7) na faixa compreendida entre 700-4000 nm. Em modelo ATR (*Attenuated Total Reflectance*) em cristal de seleneto de zinco.

Figura 7 – Espectrofotômetro Shimadzu IRAffinity-1S.



Fonte: Autoria própria, (2018).

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

A Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis) baseia-se na absorção de fótons pelas amostras na região do visível do ultravioleta. Os espectros de espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-Visível (UV-Vis) foram obtidos a partir do espectrofotômetro Shimadzu UV-1800 (Figura 8) utilizando cubeta de quartzo

Figura 8 – Espectrofotômetro Shimadzu UV-1800.



Fonte: Autoria própria, (2018).

4.3.5 Ensaio de atividade antioxidante

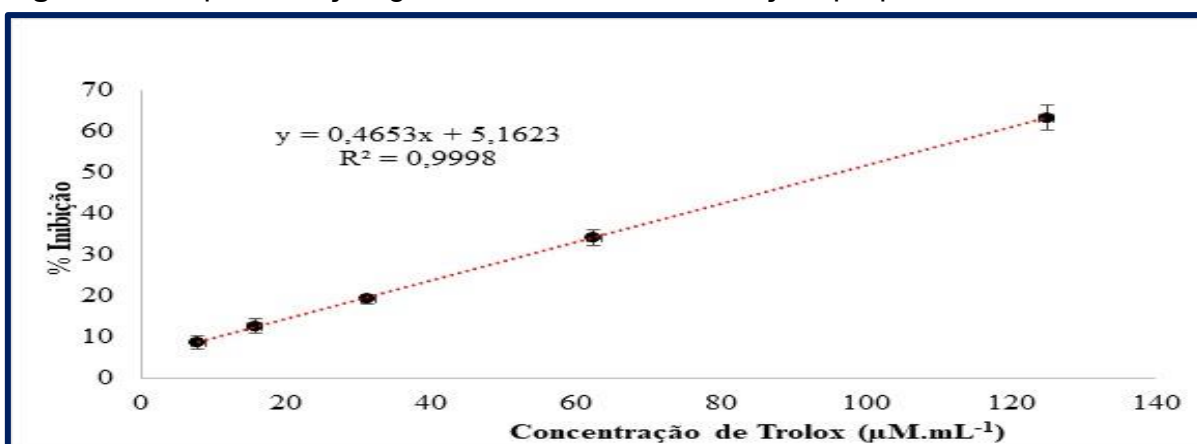
A capacidade antioxidante do ligante livre e dos complexos de rutênio foi determinada pela metodologia descrita por Gião et al. (2007), com adaptações. Trata-se de um método que consiste na remoção de radicais com o ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico), através da comparação da atividade antioxidante das amostras com o potencial antioxidante do Trolox, vitamina E, como padrão.

A capacidade antioxidante dos compostos foi avaliada nas concentrações de 2 mg.mL⁻¹ e 4 mg.mL⁻¹. A solução de ABTS^{•+}, previamente preparada, foi obtida a partir da reação de 7 mmol.L⁻¹ de ABTS com 2,45mmol.L⁻¹ de solução de persulfato de potássio, durante 16 horas em ambiente escuro. Após o tempo de reação, a solução foi estocada sob refrigeração até as análises. Em seguida, a solução de ABTS^{•+} foi devidamente diluída em água ultrapura, para ajuste da absorbância entre 0,700 ± 0,020, a 734nm, medida em espectrofotômetro Shimadzu UV-1800. Dessa forma, a capacidade antioxidante total foi expressa como percentagem de inibição (PI), conforme a Equação 1.

$$PI = \frac{AbsABTS^{•+} - AbsAmostra}{AbsABTS^{•+}} \times 100 \quad \text{Eq.(1)}$$

Sendo AbsABTS^{•+} referente a absorbância inicial do ABTS diluído e AbsAmostra correspondente a absorbância da amostra por 6 ou 30 minutos de reação. Dessa forma, o resultado final foi expresso em Concentração Antioxidante Equivalente de Trolox (TEAC) (µm. mL⁻¹ de amostra), a partir da curva de calibração, previamente preparada com Trolox (Figura 9).

Figura 9 – Representação gráfica da curva de calibração, preparada com Trolox.



Fonte: Autoria própria, (2018).

4.3.6 Ensaio de atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana do imidazol ácido acético e dos complexos de rutênio foi avaliada pelo método de microdiluição em caldo, em microplacas de 96 poços, preconizado pelas *Clinical and Laboratory Standard Institute* - CLSI (2015). Esse método consiste na técnica de diluição que permite visualizar ou não o crescimento bacteriano (OSTROSKY et al., 2008). As cepas utilizadas no presente estudo foram provenientes da cultura estoque do Setor de Microbiologia do Núcleo de Pesquisa em Biodiversidade e Biotecnologia - BIOTEC, da Universidade Federal do Piauí, *Campus* Ministro Reis Velloso. A Tabela 4 apresenta a identificação das espécies empregadas para os ensaios de atividade antibacteriana.

Tabela 4 - Procedência das bactérias empregadas nos ensaios de atividade antibacteriana.

Bactérias	Procedência
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922

Fonte: Autoria própria, (2018).

Inicialmente, foram adicionadas 50 µL de solução de Muller Hinton esterilizado, em todos os poços das placas. Em seguida, os três compostos foram ajustados à concentração de 2000 µg.mL⁻¹ e submetidos a diluição seriada de razão dois, obtendo-se as concentrações de 1000 µg.mL⁻¹; 500 µg.mL⁻¹; 250 µg.mL⁻¹; 125 µg.mL⁻¹; 62,5 µg.mL⁻¹; 31,25 µg.mL⁻¹; 15,62 µg.mL⁻¹ e 7,8 µg.mL⁻¹.

A partir das colônias previamente repicadas e desenvolvidas em Ágar Muller-Hinton, preparou-se uma suspensão do inóculo bacteriano ajustado com base na escala de McFarland (1,5 X 10⁸ UFC.mL⁻¹). Desta suspensão, 50 µL foram adicionados nas microplacas, sendo a concentração final desses microrganismo igual a 5 x 10⁵ UFC. mL⁻¹, terminado essa etapa as mesmas foram incubadas em uma estufa bacteriológica em uma temperatura de 37 ° C durante 24 horas. Após o tempo de incubação, os valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foram obtidos a partir da interpretação visual dos poços que apresentaram o crescimento bacteriano visível.

A Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi avaliada em triplicada, considerando os resultados da CIM. Dos poços que apresentaram resultados iguais

ou superiores a CIM transferiu-se 10 μ L das substâncias em estudo para placas de Petri contendo Ágar Mueller-Hinton, em seguida as mesmas foram incubadas em estufa bacteriológica durante 24 horas, a 37°C. A CBM foi determinada como a menor concentração capaz de exercer uma ação letal contra o microrganismo, representado assim pela ausência de crescimento bacteriano na superfície do meio de cultura.

4.4 TRATAMENTO DOS DADOS

Os resultados alcançados na foram tratados no programa OriginPro 8, obtendo assim os espectros de Infravermelho e UV-Vis. Enquanto que a representação gráfica da capacidade de eliminar o radical ABTS^{•+} em comparação com o Trolox foi alcançado a partir do programa GraphPad Prism 8.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta secção iremos apresentar e discutir os resultados alcançados a partir das análises desenvolvidas durante a pesquisa.

5.1 SÍNTESE DO COMPLEXO *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ImAA})]\text{PF}_6$

Conforme descrito no esquema de síntese da Figura 7 o complexo *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ImAA})]\text{PF}_6$ foi obtido por meio do mecanismo de substituição dos ligantes cloretos do precursor *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2\text{Cl}_2]$ pelo ligante imidazol ácido acético, no término da síntese adicionou-se o contra íon hexafluorofosfato de amônio (NH_4PF_6), para alcançar o complexo final precipitado. No final da síntese foi obtido um complexo sólido em pó de coloração vermelho escuro, como demonstra a Figura 10.

Figura 10 – O complexo *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ImAA})]\text{PF}_6$ sobre a superfície do cristal de ATR.



Fonte: Autoria própria, (2018).

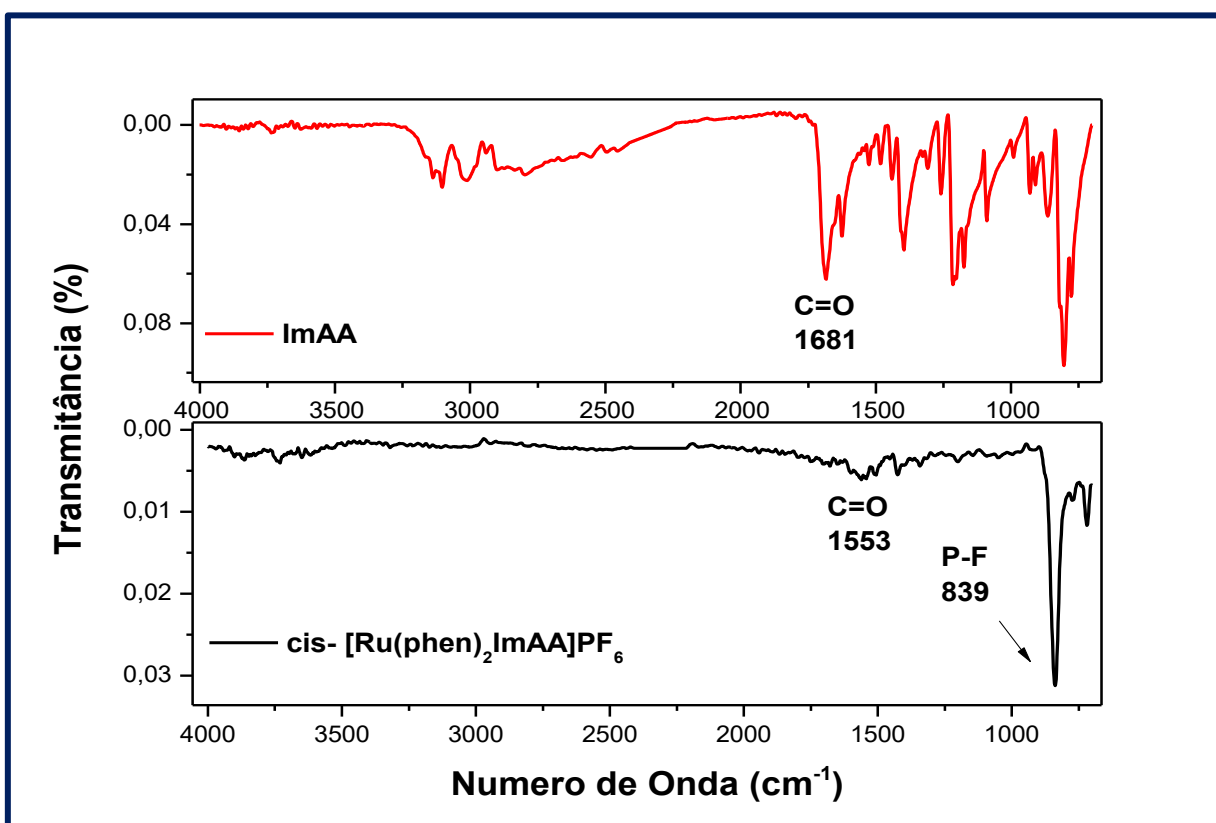
O complexo *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ImAA})]\text{PF}_6$ foi posteriormente caracterizado por Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (IV) e Espectroscopia eletrônica na região do Ultravioleta-Visível (UV- Vis), tendo em vista que o composto já foi descrito pela literatura (LIMA, 2014).

5.2 CARACTERIZAÇÃO ESPECTROSCÓPICA

5.2.1 Espectroscopia de absorção na região do Infravermelho (IV)

O ligante livre e o complexo *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ImAA})]\text{PF}_6$ foram submetidos a análises de espectroscopia de adsorção na região do Infravermelho, a fim de obter informação estrutural sobre o complexo final com base na faixa de absorção das ligações dos compostos (PAVIA et al., 2012). A Figura 11 representa os espectros de infravermelho obtidos para o imidazol ácido acético (ImAA) e para o complexo *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ImAA})]\text{PF}_6$.

Figura 11 - Espectros de infravermelho do ligante imidazol ácido acético (ImAA) e do complexo *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ImAA})]\text{PF}_6$.



Fonte: Autoria própria, (2018).

Conforme o espectro obtido para o ligante livre foi possível confirmar a presença da banda referente à carbonila na região de 1681 cm^{-1} , esse resultado está em concordância com a literatura, uma vez que o estiramento C=O se encontra na região entre $1850\text{--}1650\text{ cm}^{-1}$ (PAVIA et al., 2012). Na Tabela 5 constam os principais modos vibracionais e suas atribuições para o ligante livre.

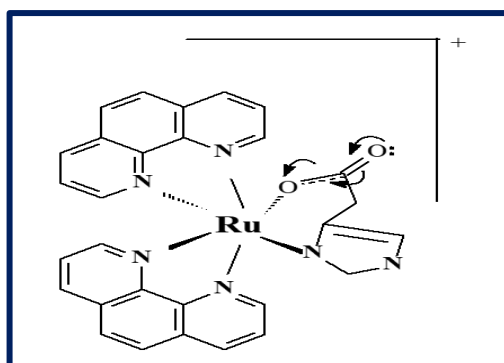
Tabela 5 - Os principais modos vibracionais e suas atribuições para o ligante livre.

Modos Vibracionais (cm ⁻¹)	Atribuição
3400-3100	ν N-H
1600-1400	ν C=C
1500-1700	ν C=O
1200-1000	ν N-C

Fonte: Autoria própria, (2018).

Através da análise do espectro obtido para o complexo *cis* - [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ foi verificado a presença de uma banda de pequena intensidade na região de 1553 cm⁻¹ e outra banda bastante intensa na região de 839 cm⁻¹. Silverstein, Webster e Kiemle (2005) atribui essas bandas ao grupo carbonila do ligante imidazol ácido acético e ao contra-íon PF₆, respectivamente.

Comparando as regiões referentes à carbonila para as duas espécies estudadas, verifica-se que a carbonila do complexo *cis* - [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ deslocou-se para uma região de menor frequência, confirmando a coordenação do ligante com o centro metálico Ru (II). Segundo Pavia et al. (2012) e Lima (2014) o deslocamento da carbonila no complexo de rutênio pode estar associado ao efeito de conjugação, isto é, ocorre a deslocalização eletrônica do ligante, uma vez que quando coordenado com o Ru (II) doa densidade eletrônica, suprimindo a deficiência eletrônica do metal. Dessa forma, a ligação dupla passa assumir caráter de ligação simples, devido a ressonância (Figura 12), deslocando a banda C=O para menor frequência e, consequentemente absorvendo em menor energia.

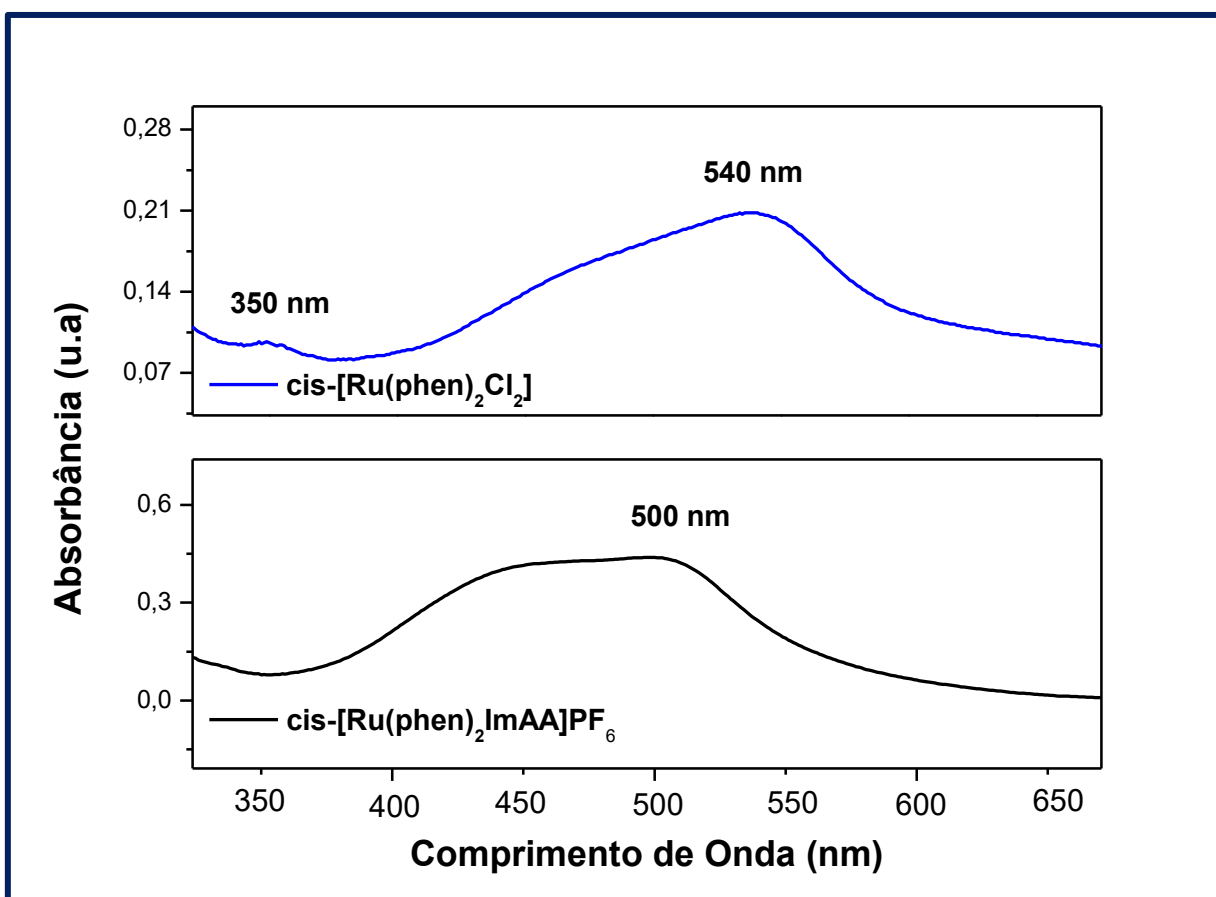
Figura 12 – Deslocalização eletrônica no ligante imidazol ácido acético coordenado ao Ru (II).

Fonte: Autoria própria, (2018).

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

A caracterização dos complexos *cis*-[Ru(phen)₂Cl₂] e *cis*-[Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ pela técnica de espectroscopia de absorção na região do UV-Vis consistiu em identificar, por comparação entre os espectros as bandas de transferências de carga mental para o ligante (MLCT). Na Figura 13 estão contidos os espectros eletrônicos dos complexos de rutênio que foram obtidos em solução de acetonitrila, no intervalo de 350-650 nm.

Figura 13 – Espectros de UV-Vis em solução de acetonitrila para os complexos *cis* - [Ru(phen)₂Cl₂] e *cis* - [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆, respectivamente.



Fonte: Autoria própria, (2018).

A partir da análise dos espectros eletrônicos verifica-se o deslocamento da banda MLCT do complexo *cis*-[Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ para um menor comprimento de onda quando comparado com o complexo precursor. Esse deslocamento ocorre devido a estabilidade eletrônica adquirida pela substituição dos ligantes cloretos no complexo precursor pelo ligante imidazólico, uma vez que este ligante apresenta a

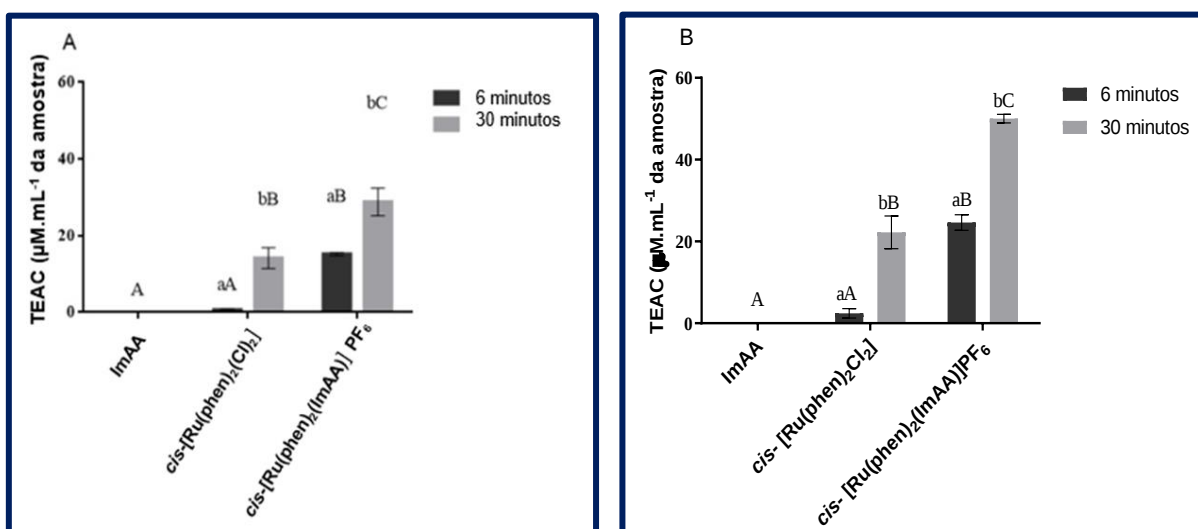
característica de ser tanto doador σ , como também ser receptor π , enquanto que os ligantes cloretos que são doadores σ e π (JONES, 2002).

No complexo *cis*- [Ru (phen)₂Cl₂], também se observou uma banda em 350 nm referente a transferência de carga centrada no metal Ru(II) $\rightarrow$ Ru(II) ($d\pi \rightarrow d\pi^*$). A ausência dessa banda no complexo contendo ligante imidazólico, pode ser atribuída a uma sobreposição dessa banda pela banda MLCT.

5.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante do ligante imidazol ácido acético e dos complexos *cis* - [Ru(phen)₂Cl₂] e *cis* - [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ foi avaliada quanto à capacidade de eliminação do radical ABTS^{•+}. Esses compostos foram estudados nas concentrações de 2 mg. mL⁻¹ e 4 mg. mL⁻¹ e nos tempos de 6 e 30 minutos. A Figura 14 exibe a representação gráfica da capacidade de eliminação do radical ABTS^{•+} pelos referidos compostos.

‘Figura 14 – Representação gráfica da capacidade de eliminar o radical ABTS^{•+} em comparação com o Trolox (mg.L⁻¹) em 6 e 30 minutos com (A) 2 mg.mL⁻¹ e (B) 4 mg.mL⁻¹. Letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre a mesma amostras em tempos diferentes e letras maiúsculas indicam diferença estatística entre o mesmo tempos de amostras diferentes pelo teste de Tukey (p<0.05).



Fonte: Autoria própria, (2018).

A partir da análise das representações gráficas, observa-se que o ligante ImAA não apresentou atividade antioxidante frente ao radical ABTS^{•+}, nas concentrações testadas. Por outro lado, ambos os complexos demonstraram habilidade de

eliminação do radical. Entretanto, o complexo *cis*-[Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ desempenhou melhores resultados, podendo essa capacidade está associada ao efeito combinado do centro metálico Ru (II) com o ligante imidazólico.

Os agentes antioxidantes podem ser classificados quanto aos mecanismos de ação que impedem a oxidação dos componentes celulares, como primários, sinergistas, removedores de oxigênio, antioxidantes mistos, biológicos e agentes quelantes. Entre estes mecanismos podemos destacar os agentes quelantes/sequestradores que atuam promovendo a doação de elétrons e, assim estabilizando as espécies reativas (BAILEY, 1996).

Os resultados demonstram que o ligante imidazol ácido acético livre não é doador de elétrons, consequentemente a capacidade antioxidante dos complexos metálicos está relacionada com a coordenação dos ligantes que atuam como base de Lewis, isto é, doando elétrons tanto para centro metálico, como também para as espécies reativas (LEE, 2003). A substituição dos ligantes cloretos no complexo precursor, potencializa a doação de elétrons, uma vez o ligante Imidazol Ácido Acético coordena através de dois átomos o íon metálico, fazendo com que a interação do Ru (II) com o imidazol ácido acético desenvolva melhores resultados contra o radical ABTS^{•+}.

Comparando os resultados nos tempos de 6 e 30 minutos, vê-se que tanto o complexo precursor, como também o complexo *cis* - [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ demonstraram melhor atividade antioxidante no último tempo. Além disso, os resultados obtidos em diferentes concentrações demonstraram um aumento na capacidade de eliminar o radical ABTS^{•+}, para os complexos de rutênio, sendo assim classificado como dose-dependendo, tendo em visto que o aumento na concentração provoca aumento da atividade antioxidante.

5.4 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

A atividade antibacteriana do ligante livre, imidazol ácido acético (ImAA), e dos complexos *cis*-[Ru(phen)₂(Cl)₂] e *cis* -[Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ foi avaliada através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM). A Tabela 6 apresenta os valores de CIM obtidos no referido ensaio.

Tabela 6 - Valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do imidazol ácido acético e dos complexos *cis* - [Ru(phen)₂(Cl)₂] e *cis* - [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆.

Bactérias	ImAA CIM	<i>cis</i> - [Ru(phen) ₂ (Cl) ₂] CIM	<i>cis</i> - [Ru(phen) ₂ (ImAA)]PF ₆ CIM
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1000 µg.mL ⁻¹	1000 µg.mL ⁻¹	250 µg.mL ⁻¹
<i>Staphylococcus aureus</i>	>1000 µg.mL ⁻¹	>1000 µg.mL ⁻¹	500 µg.mL ⁻¹
<i>Escherichia coli</i>	>1000 µg.mL ⁻¹	>1000 µg.mL ⁻¹	1000 µg.mL ⁻¹

Fonte: Autoria própria, (2018).

A partir dos valores da CIM, cabe ressaltar que o complexo *cis* - [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ apresentou melhores resultados contra as cepas utilizadas nesse estudo, tendo em vista que quanto menor o valor da CIM, menor a concentração do complexo necessária para inibir o crescimento das colônias bacterianas (APPELT, 2017). Esse resultado deve-se a presença de algumas características importantes que determinam a atividade antimicrobiana dos complexos metálicos, incluindo efeito quelante, a carga total do complexo e a natureza do ligante (EFTHIMIADOU et al., 2007).

A presença de ligantes bidentados, 1,10 – Fenantrolina e ImAA, no complexo *cis* - [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ faz com que o mesmo apresente efeito quelante, resultando assim na atividade antibacteriana. Além disso, outro fator determinante é a carga total do complexo, uma vez que a eficiência antimicrobiana diminui na ordem catiônica > neutra > aniônico, o complexo catiônico *cis* - [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ deve apresentar maior facilidade de permeabilidade na membrana plasmática que o complexo neutro *cis* - [Ru(phen)₂(Cl)₂], essas características estão em concordância com os valores da CIM para o complexo *cis* - [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ (EFTHIMIADOU et al., 2007; KUCINSKI; HRECZYCHO; 2017).

Pode-se inferir ainda que os resultados apresentados pelo complexo final podem está relacionados com o efeito sinérgico, resultado da interação ligante Imidazol ácido acético com o Ru (II) (ZANVETTOR, 2016; NAKAHATA et al., 2017; ABDOLMALEKI et al., 2018).

Quando se compara os valores da CIM do complexo *cis* - [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ para as espécies *S.epidermidis* e *S.aureus*, observa-se a

obtenção de uma CIM de $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. Por outro lado, para a espécie *E. coli* verificou-se uma CIM igual a $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Os diferentes valores da concentração podem estar associados a resistência dessas bactérias, haja visto que bactérias Gram negativas apresentam paredes celulares mais complexas que Gram positivas e, conseqüentemente dificulta que antibióticos ou outros agentes adentrem no seu interior (ANDRADE, 2018).

Os agentes antimicrobianos podem ser classificados como bactericidas, isto é, quando causam a morte dos microrganismos e bacteriostáticas, quando inibem o crescimento microbiano (MELO; DUARTE; SOARES, 2012). O ligante e os complexos sintetizados foram avaliados quanto a Concentração Bactericida Mínima (CBM), conforme descrito na Tabela 7.

Tabela 7- Valores da Concentração Bactericida Mínima (CBM) do imidazol ácido acético (ImAA) e dos complexos *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{Cl})_2]$ e *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ImAA})]\text{PF}_6$.

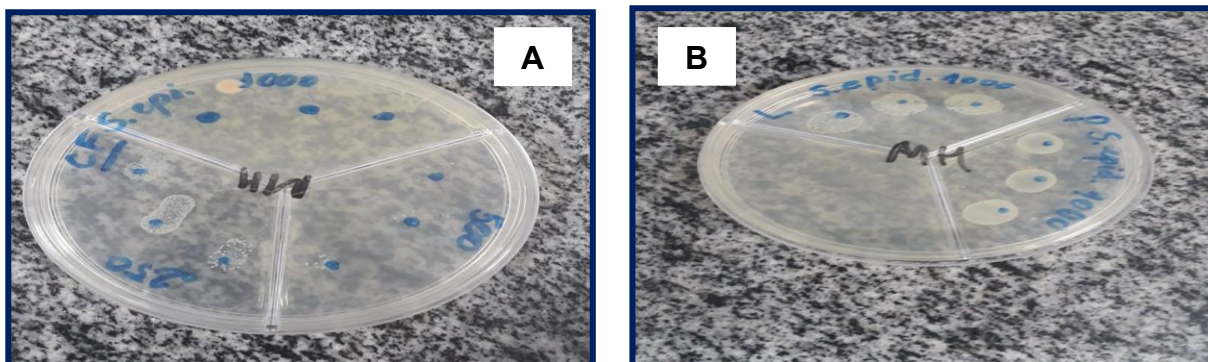
Bactérias	ImAA CBM	<i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{Cl})_2]$ CBM	<i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ImAA})]\text{PF}_6$ CBM
<i>Staphylococcus epidermitis</i>	$> 1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$	$> 1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$	$500 \mu\text{g.mL}^{-1}$
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	$>1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$
<i>Escherichia coli</i>	-	-	$>1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$

* - Não foram observadas

Fonte: Autoria própria, (2018).

De acordo os resultados da CBM, pode-se observar que o complexo *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ImAA})]\text{PF}_6$ apresenta potencial bactericida frente a cepa *S. epidermidis* na concentração de $500 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Enquanto que para *S. aureus* e *E. coli* este efeito não é observado, sendo assim classificado como agente bacteriostático, isto é, capaz apenas de inibir a proliferação das bactérias, em concordância com a Figura 15.A. O ligante e o complexo *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{Cl})_2]$ também não desenvolveram atividade bactericida até a concentração de $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$, conforme demonstra a Figura 15.B.

Figura 15 – Resultados dos ensaios de Concentração Bactericida Mínima (CBM). A) complexo *cis*-[Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ contra *S. epidermidis*. B) ligante ImAA e complexo *cis*-[Ru(phen)₂Cl₂].



Fonte: Autoria própria, (2018).

Diante dos resultados apresentados, o complexo *cis* – [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ torna-se um promissor agente antibacteriano contra infecções causadas pela espécie *S. epidermidis*., que segundo Wang et al. (2011) representa a causa mais comum de mortes em crianças recém nascidas, principalmente de baixo peso nos hospitais. Além disso, essa bactéria é responsável por infecções relacionadas com sistema urinário, próteses de válvulas cardíacas e infecções de marcapassos permanentes (MICKELSEN et al., 1985).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A síntese do complexo *cis* -[Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ foi obtida com sucesso, sendo as técnicas espectroscópicas na região do Infravermelho e do UV-Vis importantes para confirmarem a coordenação do ligante imidazol ácido acético com o centro metálico da maneira como foi proposto no mecanismo de síntese desse complexo. Os resultados deste trabalho demonstraram que o complexo *cis* - [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ apresenta capacidade antioxidante superior ao complexo precursor, sendo esse resultado atribuído a interação do ligante imidazol ácido acético com Ru (II).

Cabe ressaltar ainda, que o complexo *cis* - [Ru(phen)₂(ImAA)]PF₆ desenvolveu melhores resultados contra todas as cepas bacterianas utilizadas, esse resultado está associado com algumas características apresentadas pelo composto, como efeito quelante, carga total do complexo e efeito sinérgico. De modo geral, o complexo alcançado pela substituição dos ligantes cloretos mostrou-se mais eficaz contra a espécie *S.epidermidis*, apresentando os menores valores para CIM e CBM, podendo ser eficaz contra as infecções relacionadas com essa espécie, incluindo infecções hospitalares.

7 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Avaliar atividade antifúngica do complexo *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ImAA})]\text{PF}_6$;
- Investigar atividade hemolítica do *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ImAA})]\text{PF}_6$;
- Examinar atividade antioxidante do *cis* - $[\text{Ru}(\text{phen})_2(\text{ImAA})]\text{PF}_6$, utilizando outros métodos de capacidade antioxidante, incluindo a captura do radical DPPH.

REFERÊNCIAS

- ABDOLMALEKI, S. et al. Cobalt (II), zirconium (IV), calcium (II) complexes with dipicolinic acid and imidazole derivatives: X-ray studies, thermal analyses, evaluation as in vitro antibacterial and cytotoxic agents. **Inorganica Chimica Acta**, v. 480, p. 70-82, aug. 2018.
- ALLARDYCE, C.S; DYSON, P.J. Ruthenium in Medicine: Current Clinical Uses and Future Prospects, **Platinum Metals Rev**, v. 45, p. 62-69, 2001.
- ANDRADE, A. L. **Atividade antibacteriana e antibiofilme de complexos de rutênio do tipo *cis*-[RuCl₂(dppb)(NN-R)]²⁺ sobre bactérias resistentes e o efeito destes combinados aos antibióticos ampicilina e tetraciclina**. 2018. 104 f. Dissertação (Mestrado Biotecnologia de Recursos Naturais) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018
- ANG, W. H; DYSON, P. J. Classical and Non-Classical Ruthenium- Based anticancer drugs: Towards Targeted Chemotherapy. **Eur. J. Inorg. Chem**, p. 4003-4018, out. 2006.
- ANITHA, P. Synthesis, characterization, DNA interaction, antioxidant and anticancer activity of new ruthenium(II) complexes of thiosemicarbazone/semicarbazone bearing 9,10-phenanthrenequinone. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 129, p. 17-26, dez. 2013.
- APPELT, P. **Complexos de Rutênio (II) contendo ligantes N-S doadores: síntese, caracterização, reatividade e atividade biológica**. 2013. 91 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.
- APPELT, P. et al. Ruthenium (II) complexes containing 2-mercaptothiazolines as ligands and evaluation of their antimicrobial activity. **Inorganica Chimica Acta**, v. 436, p. 152-158, set. 2015.
- APPELT, P. et al., New heterobimetallic ruthenium (II) complexes [Ru(NS)(bipy)(dppf)]PF₆: Synthesis, molecular structure, electrochemistry, DFT, antioxidant and antibacterial potential. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 846, p. 326-334, out.2017.
- ARNESANO, F. et al. Probing the interaction of cisplatin with the human copper chaperone Atox1 by solution and in-cell NMR spectroscopy. **J. Am. Chem. Soc**, v.133, n. 45, p.18361–18369, out. 2011.
- BAILEY, A. E. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. 5 ed. New York: John Wiley, 1996.
- BARREIROS, A. L. B. S; DAVID, J. M; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n.1, p. 113-123, jan/fev. 2006.

BEHERA, N.; MANIVANNAN, V. Molecular structures of some bivalent metal complexes of 1-(4-acetylphenyl) imidazole and co-ligantes. **Polyhedron**, v.149, p. 84-94, jul.2018.

BERALDO, H. Contribuições da Química Inorgânica para a Química Medicinal. **Química Nova na Escola**, n.6, p. 4-6, jul. 2005.

BHATTACHARYA, S.; AHMED, K.K. M.; CHAKRABORTY, S. Free Radicals Cardiovascular Diseases: An Update. **Free Radicals and Antioxidants**, v.1, p.17-22, jan.2011.

BORTOLETTO, J. **Síntese, caracterização e investigação da atividade tuberculostática de complexos de prata contendo ligantes 2,2'-diimínicos e imidazolidina-2-tiona**. 2017. 69 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2017.

BOTA, A. S. D. **Complexos de rutênio com potencial antineoplásico e estudos de encapsulamento em cucurbiturilos**. 2017. 90 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade do Algarve, Algarve, 2017.

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

CHEN, G.-H et al. Synthesis, characterization and cancer cell growth inhibition activity of ruthenium(II) complexes bearing bidentate pyrrole-imine ligands, **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 868, p. 122-130, ago. 2018.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI).. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bactéria That Grow Aerobically. **Wayne, PA, USA**: CLSI, 2015.

DIREM, A. et al. Sev and pcu topological nets in one-pot newly synthesized mixed-ligand imidazole-containing Cu (II) coordination frameworks: Crystal structure, intermolecular interactions, theoretical calculations, magnetic behavior and biological activity. **Inorganica Chimica Acta**, v. 478, p. 59-70, jun. 2018.

DRÖGE, W. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. **Physiological Reviews**, v. 82, n. 1, p. 47-95, jan. 2002.

DWYER, F. P.; GYARFAS, E. C.; ROGERS, W. P.; & KOCH, J. H. Biological activity of complex ions. **Nature**, v. 170, p. 190–191, 1952.

DWYER, F. P.; MELLOR, D. P. Chelating agents and metal chelates. New York: Academic **Press**, p. 530, 1964

EFTHIMIADOU, E. K. et al. Mononuclear Copper (II) Complexes with Quinolones and Nitrogen-donor Heterocyclic Ligands: Synthesis, Characterization, Biological Activity and Interaction with DNA. **Inorganica Chimica Acta**, v. 360, p. 4093-4102, 2007.

FERREIRA, A. L. A; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceito, doenças relacionadas, sistemas de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, p. 61-68, 1997.

FIRUZI, O. et al. Antioxidant therapy: current status and future prospects. **Current Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 3871-3888, 2011.

FONTES, A.P.S; CÉSAR, E.T; BERALDO, H. A Química Inorgânica na terapia do câncer. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n.6, p. 13-18, jul.2005.

GAMBINO, D; OTERO, L. Perspectives on what ruthenium-based compounds could offer in the development of potential antiparasitic drugs. **Inorganica Chimica Acta**, v. 393, p. 103-114, dec. 2012.

GIÃO, M. S. et al. Infusions of Portuguese medicinal plants: Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, n. 14, p. 2638-2647, 2007.

GIL, A. C. **Como Elaborar um Projeto de Pesquisa**. 4 ed. São Paulo: Atlas, 2002.

GILEWSKA, A. et al. Synthesis, structure, DNA binding and anticancer activity of mixed ligand ruthenium (II) complex. **Journal of Molecular Structure**, v. 1155, p. 288-296, mar. 2018.

GRIMMETT, M. R. Imidazoles and their Benzo Derivatives: (i). **Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering**, v.5, p. 345-372, 1984.

HALLIWEL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. The Antioxidants of Human Extracellular Fluids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 280, p. 1-8, jul.1990.

HEBBEL, R. P. Erythrocyte antioxidants and membrane vulnerability. **The Journal of laboratory and clinical medicine**, v. 107, p. 399-400, mai.1986.

HUANG, H-L. et al. Synthesis, cellular uptake, apoptosis, cytotoxicity, cell cycle arrest, interaction with DNA and antioxidant activity of ruthenium(II) complexes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 46, p. 3282-3290, ago. 2011.

JAKUPEC, M. A. et al. Antitumour metal compounds: more than theme and variations. **Dalton Trans**, n. 2, p. 183-94, jan. 2008.

JAKUS, V. The role of free radicals, oxidative stress and antioxidant systems in diabetic vascular disease. **Bratislava medical journal**, v. 101, p. 541-551, fev.2000.
JONES, C. J. **A Química dos Elementos de Transição dos Blocos d e f**. Porto alegre, Bookman, 2002.

KAMATCHI, T. S. et al. Ruthenium (II) complexes of 2,2'-bipyridine-5,5'-dicarboxylic acid: Synthesis, structure, DNA binding, cytotoxicity and antioxidant activity. **Inorganica Chimica Acta**, v. 404, p. 58-67, ago. 2013.

KANNAN, S. et al. Ruthenium (II) carbonyl complexes of dehydroacetic acid thiosemicarbazone: Synthesis, structure, light emission and biological activity. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 693, p. 2251-2257, jun. 2008.

KIRUTHIKA, M.; DHARMALINGAM, P. Heteroleptic mononuclear ruthenium(II) complexes: synthesis, characterization, dna cleavage, antioxidant and cytotoxic activities. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 8, p. 1485-1491, 2017.

KUCIŃSKI, K.; HRECZYCHO, G. Ruthenium-catalyzed hydrosilylation of C=N bond in benzothiazole. **Journal of Organometallic Chemistry** v. 846, p. 321-325, 2017.

LEE, J. D. **Química Inorgânica não tão concisa**. 1. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2003.

LI, F. et al., *In vitro* susceptibility and cellular uptake for a new class of antimicrobial agents: dinuclear ruthenium(II) complexes. **Jornal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.67, p. 2686–2695, nov. 2012.

LI, F.; COLLINS, J. G.; KEENE, F. R. Ruthenium complexes as antimicrobial agentes. **Chemical Society Reviews**, v. 44, p. 2529-2542, abr. 2015.

LIMA, M. V. S. **Complexos de Metais de Transição: Aplicações no tratamento e diagnóstico da doença de Alzheimer**. 2014. 124 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade de São Carlos, São Paulo, 2014.

LIU, Y-J. et al. Cellular uptake, cytotoxicity, apoptosis, antioxidant activity and DNA binding of polypyridyl ruthenium (II) complexes. **Journal of Organometallic Chemistry**, v.696, p. 2728-2735, jul. 2011.

LIU, Y-J. et al. Synthesis DNA- binding, photocleavage, cytotoxicity and antioxidante activity of ruthenium (II) polypyridyl complexes. **European Jornal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 564-571, feb. 2010.

MARCONI, M. de A.; LAKATOS, E. M. **Fundamentos de Metodologia Científica**. 7 ed. São Paulo: Atlas, 2016.

MATERAZZZI, S.; VASCA, E. Thermoanalytical investigation of Ni(II), Co (II) and Cu (II) complexes with imidazol-4-acetic acid. **Thermochimica Acta**, v. 373, p. 7-11, jun. 2011.

MELO, V. V; DUARTZE, I. P; SOARES, A. Q. **Guia Antimicrobianos**. 1 ed. Goiânia, 2012.

MICKELSEN, P. A. et al. Instability of antibiotic resistance in a strain of *Staphylococcus epidermidis* isolated from an outbreak of prosthetic valve endocarditis. **J. Infect. Dis.**, n. 152, p. 50-58, 1985.

MOHANRAJ, M. et al., Evaluation of DNA binding, DNA cleavage, protein binding, radical scavenging and *in vitro* cytotoxic activities of ruthenium(II) complexes containing 2,4-dihydroxy benzylidene ligands. **Materials Science and Engineering: C**, v. 69, p. 1297-1306, dez. 2016.

NAKAHATA, D. H et al. Synthesis, characterization and preliminary antimicrobial assays of copper (II) complexes with 2-(imidazole-2-yl) heteroaryl ligands. **Inorganica Chimica Acta**, v. 458, p. 224-232, mar. 2017.

NAVES, M. A. **Avaliação dos efeitos antitumorais do complexo de rutênio [Ru(GA)(dppe)₂]PF₆ em células não-tumorais e tumorais de mama cultivadas *in vitro***. 2017. 96 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2017.

OLIVEIRA, M. C.de; SCHOFFEN, J. P. F. Ação do estresse oxidativo no envelhecimento celular. **Braz. arco. biol. technol.** Curitiba, v. 53, n. 6, p. 1333-1342, dez. 2010.

OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Rev. bras. farmacogn.** v.18, p. 301-307, abr./jun. 2008.

PAVIA, D.L. et al. **Introdução à Espectroscopia**. 4 ed. São Paulo: Cengage Learning, 2012.

PHAM-HUY, L. A; HE, H.; PHAM-HUY, C. Free radicals, Antioxidants in Disease and Health. **International Journal of Biomedical Science**, v. 4, n. 2, p.89-96, jun. 2008.

POPRAC, P. et al.Targeting Free Radicals in Oxidative Stress-Related Human Diseases. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 38, n. 7, p. 598-607, jul. 2017.

PORTO, H. K. P. **Avaliação do potencial antioxidante de dois novos complexos de rutênio (II) contendo alanina e triptofano em suas estruturas**. 2012. 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de Goiás, Goiânia, 2012.

RAMACHANDRAN, R. ;VISWANATHAMURTHI,P. Ruthenium(II) carbonyl complexes containing pyridine carboxamide ligands and PPh₃/AsPh₃/Py coligands: Synthesis, spectral characterization, catalytic and antioxidant studies. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 103, p. 53-61, fev. 2013.

RAMALHO, V. C; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, p.755-760, 2006.

RAMOS, T. dos.S. **Síntese e caracterização de complexos organometálicos de rutênio (II) contendo ligantes n-n doadores aplicados na hidrogenação de arilcetonas**. 2017. 117 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

RAO, S.P et al. Free Radicals and Tissue Damage: Role of Antioxidants. **Free Rad. Antiox**, v. 1, p. 2-7, dec. 2011.

ROSA, T. F. Imidazole. **Advances in Synthetic Organic Chemistry and Methods Reported in US Patents**, p. 292-298, 2006.

ROSENBERG, B.; VANCAMP, L.; KRIGAS, T. Inhibition of cell division in escherichia coli by electrolysis products from a platinum electrode. **Nature**, v. 205, p. 698–699, 1965. Disponível em: < <https://www.nature.com/articles/205698a0>>. Acesso em: 15 fev. 2018.

SAEED, A. et al. Synthesis Characterization and Antimicrobial Activities of Azithromycin Metal Complexes. **Modern Chemistry & Applications**, v.2, p. 1-5, 2014.

SHRIVER, D.F; ATKINS, P.W. **Química Inorgânica**. 4 ed. Porto Alegre: Editora Bookman, 2004.

SILVA, D. E. S. **Complexos de metais de transição multifuncionais para o tratamento e diagnóstico da doença de Alzheimer**. 2016. 84 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2016.

SILVA, G. A. F. **Estudo in vitro do potencial antitumoral de complexos de rutênio (II) coordenados a ácidos orgânicos sobre carcinoma de pulmão humano**. 2017. 90 f. Dissertação (Mestrado em Biociências) - Universidade Federal de Alfenas, Alfazenas, 2017.

SILVA, P. P; GUERRA, W. Rutênio. **Química Nova na Escola**, v. 34, n. 2, p. 99 – 100, mai. 2012.

SILVERSTEIN, R.M; WEBSTER, F. X; KIEMLE, D.J. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 7a ed. 2005.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6ª ed. Porto Alegre: Editora Bookman, 2009.

SULLIVAN, B. P.; SALMON, D. J.; MEYER, T. J. Mixed phosphine 2,2'-bipyridine complexes of ruthenium. **Inorg. Chem.**, v. 17, p. 3334–3341, 1978.

SUN, D. et al., Investigation of antibacterial activity and related mechanism of a ruthenium (II) polypyridyl complex. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 56, p. 17-21, 2015.

VERÇOZA, G. L.; FEITOZA, D.D.; ALVES, J.A.; AQUINO, T.M.; LIMA, J.G. Síntese e avaliação da atividade antimicrobiana de novas 4-tiazolidinonas obtidas a partir de formilpiridina tiossemicarbazonas. **Química Nova**, vol. 32, p. 1405-1410, 2009.

WANG, J. H. et al. Sigma S-dependent antioxidant defense protects stationary-phase Escherichia coli against the bactericidal antibiotic gentamicin. **Antimicrob Agents Chemother**, n. 58, p. 5964–5975. 2010.

WHITTON, P. S. Inflammation as a causative factor in the aetiology of Parkinson's disease. **British Journal of Pharmacology**, v. 150, p. 963-976, 2007.

WHO. Antimicrobial resistance. Global Report on Surveillance. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 61, p. 383–94, 2014.

WOJTUNIK-KULESZA, K. A. et al. The influence of common free radicals and antioxidants on development of Alzheimer's Disease. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 78, p. 39-49, mar. 2016.

YILDIRIM, H. et al. Ruthenium (II) complexes of thiosemicarbazone: Synthesis, biosensor applications and evaluation as antimicrobial. **Materials Science and Engineering: C**, v. 44, p. 1-8, nov.2014.

ZANVETTON, N. T. **Complexos metálicos de Pt (II), Pd (II) e Ag (I) com ligante 2 - tiofen-2-imidazol: síntese, caracterização e ensaios biológicos**. 2016. 126 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2016.

ZENG, L. et al. The development of anticancer ruthenium (II) complexes: from single molecule compounds to nanomaterials. **Chemical Society Reviews**, v.46, n. 19, p. 5681–6076, out. 2017.