



UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA
CAMPUS I SALVADOR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA APLICADA

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE Ru(II) E Co(III)
CONTENDO HIDROXIUREIA E 1,10-FENANTROLINA COM POTENCIAIS
ATIVIDADES BIOLÓGICAS**

ALEXSANDRO ASSIS LOPES
ORIENTADOR: DR. CARLOS DANIEL SILVA DA SILVA
COORIENTADORA: DR^a. DENISE SANTOS DE SÁ

SALVADOR – BAHIA
2023

ALEXSANDRO ASSIS LOPES

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS DE Ru(II) E Co(III)
CONTENDO HIDROXIUREIA E 1,10-FENANTROLINA COM POTENCIAIS
ATIVIDADES BIOLÓGICAS

Dissertação de mestrado
apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Química Aplicada da
Universidade do Estado da Bahia –
Campus I, como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em
Química.

Área de concentração: Química
Inorgânica.

Alexsandro Assis Lopes
Mestrando

Dr. Carlos Daniel Silva da Silva
Orientador

Dr^a. Denise Santos de Sá
Coorientadora

FICHA CATALOGRÁFICA

Biblioteca Professor **Edivaldo Machado Boaventura - UNEB – Campus I**

Bibliotecária: Célia Maria da Costa – CRB5/918

L864s Lopes, Alexsandro Assis

Síntese e caracterização de complexos de Ru(II) e Co(III) contendo hidroxíureia e 1,10-fenantroline com potenciais atividades biológicas / Alexsandro Assis Lopes . – Salvador, 2023.

89 f. : il.

Orientador: Carlos Daniel Silva da Silva.

Coorientadora: Denise Santos de Sá.

Dissertação (Mestrado Acadêmico). Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Ciências Exatas e da Terra. Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada – PGQA. Campus I. 2023.

Contém referências.

1. Complexos de rutênio. 2. Cobalto. 3. Hidroxíureia. I. Silva, Carlos Daniel Silva da. II Sá, Denise Santos de. III. Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Ciências Exatas e da Terra. Campus I. IV. Título.

CDD: 547

AGRADECIMENTOS

Ao final desse período do mestrado, acredito que esse tempo reservado para pensar e registrar sobre que temos a agradecer é também um momento importante para o desenvolvimento profissional e pessoal. No dia a dia pensamos muito sobre as dificuldades que encontramos no caminho, ou até antecipamos a preocupação com dificuldades que nem sequer são concretas ainda, e geralmente esses pensamentos tomam mais espaço do que a reflexão sobre o que já temos a agradecer. Agradecer também é um ato muito importante, que faz parte da maturação de um entendimento próprio e para com os outros que nos cercam, por isso, é importante dizer que ao fim dessa etapa sou grato a muitas pessoas e coisas.

Sou grato ao meu orientador Carlos (Carlos Daniel Silva da Silva), pela oportunidade, confiança e todo conhecimento compartilhado. Pelo excelente papel de professor e orientador, por toda atenção dada, muitas vezes em dias e horários inoportunos, mas sempre bastante solícito. Agradeço à minha coorientadora Denise (Denise Santos de Sá), pelo suporte dado durante todo o período.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Química Aplicada (PGQA) e à Universidade do Estado da Bahia (UNEB), pela oportunidade de ingressar no programa e por todo suporte dado no período e ao Instituto Federal da Bahia (IFBA), pela infraestrutura disponível utilizada no desenvolvimento do trabalho. Agradeço também a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), visto que esse trabalho faz parte do projeto “Complexos Metálicos como potencial alternativa à Hidroxiureia no tratamento da Doença Falciforme” financiado (Termo de Outorga nº PET0008/2021, edital 0005/2019) por esta Fundação.

Agradeço às parcerias estabelecidas, que foram fundamentais para a execução de partes chave do trabalho: à técnica Débora Hellen Almeida de Brito e ao CENAUREMN (Universidade Federal do Ceará), pelas análises de ressonância magnética nuclear; ao professor Cássio Santana Meira e ao Instituto Gonçalo Muniz (Fiocruz/BA), pelos ensaios tripanocidas e citotóxicos; à técnica Antônia Oliveira e à Universidade do Estado da Bahia, pelas análises

termogravimétricas; à Gabriela Fernandes e à professora Lourdes Cardoso de Souza Neta (PGQA/UNEB) pelos ensaios de atividade antimicrobiana; à Valdinéa Santos Dias, à professora Edith Cristina Laignier Cazedey e à Faculdade de Farmácia (UFBA) pela análise da capacidade de geração do metabólito hidroxilamina; ao professor Maurício de Almeida Pereira e ao Instituto Federal Baiano, pelas análises de difração de raios X e ao professor Walter Alves Gomes Júnior pelo auxílio na discussão das curvas de termogravimétricas.

Agradeço ao Grupo de Pesquisa e Inovação em Química e aos colegas que tive a oportunidade de conhecer e me ajudaram com diversas contribuições ao trabalho: Vanessa Miranda, Gabriela Fernandes, Sthefany Nolasco e Felipe Cardoso. Sou grato também pelos amigos e colegas mantidos no mestrado, que me acompanham desde a graduação, em especial Mylena Paiva e Mônica Nascimento.

À minha família, em especial meus pais (Mariana e Jurandir), minha avó (Gaudina) e minhas tias (Maria Gildenice e Angélica Maria), por todo apoio e torcida dados durante esse período e por toda minha vida. E gratidão a Deus, pela vida, pela saúde e pela permissão de poder buscar e conquistar meus objetivos de vida.

RESUMO

Com o objetivo de fornecer contribuições ao desenvolvimento de novas espécies com potenciais atividades biológicas no tratamento de doenças, tentou-se obter novos compostos de coordenação com formulação *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂]Cl₂, *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂](PF₆)₂ e *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃, aproveitando as potencialidades conhecidas de complexos em modificar propriedades em prol de determinado objetivo. Os compostos de Ru(II) foram caracterizados por espectrometria nas regiões do infravermelho, ultravioleta e visível e ressonância magnética nuclear, porém com dados inconclusivos nessa última técnica. Já o composto de Co(III) foi caracterizado por todas as técnicas supracitadas, além de análise elementar, cromatografia líquida, difração de raios X em pó e análise termogravimétrica. Com base nos resultados obtidos, foram identificadas bandas atribuídas à carbonila da hidroxiiureia nos compostos obtidos, bem como bandas associadas à transferência de carga ligante-metal; também foi possível determinar características no comportamento em água para os complexos, com reações que indicam substituição de ligante e influenciam no pH da solução para o complexo de Co(III); além disso foi possível obter dados cristalográficos para ambos precursores – de rutênio e de cobalto – e também para o complexo *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃. Para o complexo *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃ e o seu precursor, também foi possível obter detalhes sobre suas estabilidades térmicas e mais dados acerca de suas composições, com o auxílio da termogravimetria. Por fim, o precursor *cis*-[CoCl₂(phen)₂]Cl e o composto *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃ foram submetidos a ensaios biológicos, onde apresentaram atividade tripanocida sobre formas tripamastigotas e sobre formas amastigotas em cardiomiócitos, com o precursor apresentando valor CI₅₀ ainda menor que uma droga referência nos testes realizados, além disso, o composto *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃ demonstrou inibição de atividade microbiana frente a duas linhagens de bactérias testadas. Em paralelo, nenhum dos dois compostos apresentaram citotoxicidade frente a cardiomiócitos saudáveis nas concentrações utilizadas.

Palavras-chaves: Complexos de rutênio. Complexos de cobalto. Hidroxiiureia. Atividade tripanocida.

ABSTRACT

In pursuit of advancing the development of novel species with potential biological activities for disease treatment, we endeavored to synthesize new coordination compounds bearing the formulations *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂]Cl₂, *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂](PF₆)₂, and *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃. This approach leveraged the well-documented ability of complexes to modify and enhance desired properties. The Ru(II) compounds were subject to characterization using infrared, ultraviolet-visible spectrometry, and nuclear magnetic resonance techniques, although the latter yielded inconclusive data. The Co(III) compound underwent comprehensive characterization, encompassing elemental analysis, liquid chromatography, X-ray powder diffraction, thermogravimetric analysis, and the aforementioned spectroscopic methods. Our findings revealed characteristic bands associated with hydroxyurea carbonyl in the synthesized compounds, as well as bands related to ligand-metal charge transfer. Notably, we observed distinctive behavior in water, with reactions indicating ligand substitution and influencing the pH of the solution, for the Co(III) complex. Additionally, crystallographic data were obtained for both ruthenium and cobalt precursors and the *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃ complex. Thermal stability and composition details were elucidated through thermal analysis, specifically for the *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃ complex and its precursor. Remarkably, the precursor *cis*-[CoCl₂(phen)₂]Cl and the compound *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃ were subjected to biological assays, revealing notable trypanocidal activity against trypomastigote and amastigote forms in cardiomyocytes. The precursor even exhibited an IC₅₀ value lower than that of a reference drug used in the tests, while neither of the compounds exhibited cytotoxicity against healthy cardiomyocytes at the concentrations employed. In addition, the compound *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃ demonstrated inhibition of microbial activity against two strains of bacteria tested.

Keywords: Ruthenium complexes. Cobalt complexes. Hydroxyurea. Trypanocidal activity.

LISTA DE FIGURAS

1. Estruturas propostas para os complexos sintetizados: a) <i>cis</i> -[Ru(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₂ ; b) <i>cis</i> -[Ru(HU) ₂ (phen) ₂](PF ₆) ₂ ; c) <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₃	18
2. Estruturas moleculares do benzonidazol (a) e nifurtinox (b).....	24
3. Estrutura molecular da hidroxiiureia.....	25
4. Estruturas moleculares da 1,10-fenantrolina (a) e 2,2-bipiridina (b).....	28
5. Sistema de síntese do complexo <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₃	37
6. Sistema de síntese para o <i>cis</i> -[Ru(HU) ₂ (phen) ₂]X ₂	38
7. Espectro na região do infravermelho, em pastilha de KBr, do composto FGB26	43
8. Espectros comparativos na região do infravermelho, em pastilha de KBr, do complexo FGB26 e do ligante hidroxiiureia.....	43
9. Espectro na região do infravermelho para o complexo <i>cis</i> -[Ru(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₂	46
10. Espectro na região do infravermelho para o <i>cis</i> -[Ru(HU) ₂ (phen) ₂](PF ₆) ₂ ...	46
11. Espectro na região do infravermelho para hidroxiiureia e complexos de rutênio(II).....	47
12. Curva de calibração da hidroxiiureia em meio aquoso.....	48
13. Espectro nas regiões UV-Vis para o composto FGB26 em água (4 µmol.L ⁻¹)	49
14. Espectro nas regiões UV-Vis para o composto <i>cis</i> -[Ru(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₂ em água	50
15. Espectro nas regiões UV-Vis para o composto <i>cis</i> -[Ru(HU) ₂ (phen) ₂](PF ₆) ₂ em água	50
16. Monitoramento dos perfis espectrais na região do visível para o FGB26 em água, ao longo de 60 minutos	51
17. Curva cinética: absorbância em função do tempo de exposição do composto FGB26 em água.....	53
18. Curva cinética: ln da razão entre absorbância (t) e absorbância (0) em função do tempo de exposição do composto FGB26 em água.....	53
19. Curva cinética: inverso da absorbância em função do tempo de exposição do composto FGB26 em água.....	54
20. Curva cinética: inverso da absorbância em função do tempo de exposição do composto FGB26 em água até o tempo 10 minutos	55
21. Variação de cor da solução aquosa do complexo FGB26 em temperatura ambiente.....	56
22. Espectros de absorção no UV-Vis da hidroxiiureia em diferentes meios	57
23. Monitoramento dos perfis espectrais na região do visível para o FGB26 em solução de tampão fosfato, ao longo de 60 minutos	58
24. Espectros de absorção no UV-Vis do complexo FGB26 em diferentes solventes	59
25. Monitoramento dos perfis espectrais na região do ultravioleta para o FGB26 em água, ao longo de 60 minutos	60
26. Espectro nas regiões UV-Vis para a 1,10-fenantrolina.....	61
27. Espectro nas regiões UV-Vis para a hidroxiiureia	61

28. Monitoramento dos perfis espectrais nas regiões do ultravioleta e visível para o <i>cis</i> -[Ru(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₂ , ao longo de 60 minutos.....	62
29. Monitoramento dos perfis espectrais na região do ultravioleta e visível para o <i>cis</i> -[Ru(HU) ₂ (phen) ₂](PF ₆) ₂ em água, ao longo de 60 minutos.....	63
30. Espectros de absorção no UV-Vis do complexo <i>cis</i> -[Ru(HU) ₂ (phen) ₂](PF ₆) ₂ em diferentes solventes	64
31. Espectros de absorção no UV-Vis do complexo <i>cis</i> -[Ru(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₂ em diferentes solventes	64
32. Monitoramento dos perfis espectrais na região do visível para o <i>cis</i> -[Ru(HU) ₂ (phen) ₂](PF ₆) ₂ em solução de tampão fosfato, ao longo de 60 minutos	65
33. Difratoograma obtido para o FGB26	66
34. Comparação dos perfis cristalográficos do FGB26 (em vermelho) e seu precursor (em preto).....	67
35. Difratoograma obtido para o precursor <i>cis</i> -[RuCl ₂ (phen) ₂]	68
36. Espectro de RMN de ¹ H da hidroxiiureia em óxido de deutério (D ₂ O)	70
37. Espectro de RMN de ¹ H do complexo <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₃ (DMSO- <i>d</i> 6)	70
38. Estrutura da hidroxiiureia	71
39. Estrutura numerada do cátion-complexo <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂] ³⁺	72
40. Espectro COSY do complexo <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₃ (DMSO- <i>d</i> 6)	73
41. Espectro de RMN de ¹³ C da hidroxiiureia (D ₂ O)	75
42. Espectro de RMN de ¹³ C do <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₃ (DMSO- <i>d</i> 6)	75
43. Espectro de RMN de ¹³ C DEPT-135 do <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₃ (DMSO- <i>d</i> 6)	76
44. Curva TG obtida para o <i>cis</i> -[CoCl ₂ (phen) ₂]Cl.3H ₂ O	77
45. Curva TG obtida para o <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₃ .2H ₂ O	77

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1. Cálculo de absorbância (A)	29
Equação 2. Lei de Lambert-Beer	29
Equação 3. Diferença de energia entre spins	31
Equação 4. Diferença de energia entre spins (completa)	31
Equação 5. Equação de Bragg	32
Equação 6. Equação de Scherrer	32
Equação 7. Representação da reação de substituição de ligante do cátion-complexo <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂] ³⁺	56
Equação 8. Representação da reação de substituição de ligante do cátion-complexo <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂] ³⁺	56
Equação 9. Representação da reação de substituição de ligante do cátion-complexo <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂] ³⁺	56
Equação 10. Representação da reação de substituição de ligante do cátion-complexo <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂] ³⁺	56
Equação 11. Representação da reação de substituição de ligante do cátion-complexo <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂] ³⁺	56
Equação 12. Representação da reação de substituição de ligante do cátion-complexo <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂] ³⁺	56
Equação 13. Representação da reação de substituição de ligante do cátion-complexo <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂] ³⁺	56
Equação 14. Representação da reação de saída do ligante hidroxireuia em evento de decomposição térmica do complexo <i>cis</i> -[CoCl ₂ (phen) ₂]Cl.3H ₂ O	78
Equação 15. Representação da reação de desidratação em evento de decomposição térmica do complexo <i>cis</i> -[CoCl ₂ (phen) ₂]Cl.3H ₂ O	79
Equação 16. Representação da reação de saída dos ligantes cloretos em evento de decomposição térmica do complexo <i>cis</i> -[CoCl ₂ (phen) ₂]Cl.3H ₂ O	79
Equação 17. Representação da reação de saída do ligante 1,10-fenantrolina em evento de decomposição térmica do complexo <i>cis</i> -[CoCl ₂ (phen) ₂]Cl.3H ₂ O	79
Equação 18. Representação da reação de saída do ligante 1,10-fenantroline em evento de decomposição térmica do complexo <i>cis</i> -[CoCl ₂ (phen) ₂]Cl.3H ₂ O	79
Equação 19. Representação dos estágios finais da decomposição térmica do complexo <i>cis</i> -[CoCl ₂ (phen) ₂]Cl.3H ₂ O	79

LISTA DE TABELAS

1. Percentagens dos elementos nos compostos a base de cobalto(III)	42
2. Números de onda e respectivas atribuições do composto FGB26	44
3. Números de onda e respectivas atribuições das principais bandas de identificação da hidroxureia	45
4. Dados espectroscópicos nas regiões do UV-Vis do complexo FGB26 e suas respectivas atribuições, em solução aquosa	62
5. Características cristalográficas do sólido FGB26	66
6. Características cristalográficas do sólido <i>cis</i> -[CoCl ₂ (phen) ₂]Cl	68
7. Características cristalográficas do sólido <i>cis</i> -[RuCl ₂ (phen) ₂]	69
8. Deslocamentos químicos (δ) dos prótons no complexo <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₃	73
9. Dados termogravimétricos para o precursor <i>cis</i> -[CoCl ₂ (phen) ₂]Cl.3H ₂ O e o complexo <i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₃ .2H ₂ O	80
10. Atividade antimicrobiana de soluções do complexo FGB26, do seu precursor, ligante e dos controlos positivos/antibióticos para concentração de 400 μmol	82

LISTA DE ABREVIATURAS

2,3-DPG	2,3-bifosfoglicerato
CC ₅₀	Concentração citotóxica
CI ₅₀	Concentração inibitória
COSY	Homonuclear correlation spectroscopy
DEPT-135	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DTA	Análise térmica diferencial
FGB21	<i>cis</i> -[CoCl ₂ (phen) ₂]Cl
FGB26	<i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₃
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FT-IR	Fourier-transform infrared spectroscopy
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
HU	Hidroxiureia
INCA	Instituto Nacional de Câncer
MBC	Concentração bactericida mínima
MIC	Concentração inibitória mínima
NTD	Neglected tropical diseases
PA	Para análise

phen	1,10-fenantrolina
ppb	Partes por bilhão
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RNA	Ácido ribonucleico
<i>T. cruzi.</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
TG ou TGA	Termogravimetria
TMS	Tetrametilsilano
UV-Vis	Ultravioleta-visível
WHO	World Health Organization
XRD	X-ray diffraction

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS.....	17
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
3.1 A Doença Falciforme: Aspectos genéticos, ocorrência e tratamento.....	19
3.2 O Câncer: Aspectos celulares, ocorrência e tratamento	21
3.3 A doença de Chagas.....	22
3.3 A hidroxureia: características gerais e mecanismos de ação	24
3.4 Complexos: centro metálico e demais ligantes	25
3.4.1 Rutênio	26
3.4.2 Cobalto	27
3.4.3 1,10-fenantrolina.....	28
3.5 Fundamentos teóricos das técnicas	28
3.5.1 Espectroscopia eletrônica nas regiões do UV-Vis	29
3.5.2 Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho.....	30
3.4.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	30
3.4.5 Difractometria de Raios-X	32
3.4.6 Termogravimetria	34
3.4.7 Citotoxicidade e ensaios biológicos	34
4 METODOLOGIA	37
4.1 Síntese do complexo <i>cis</i>-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃ (FGB26)	37
4.2 Síntese do complexo <i>cis</i>-[Ru(HU)₂(phen)₂]Cl₂	38
4.3 Síntese do complexo <i>cis</i>-[Ru(HU)₂(phen)₂](PF₆)₂	39
4.4 Caracterização e reatividade	39
4.5 Citotoxicidade e ensaios biológicos.....	40
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1 Caracterização dos sólidos sintetizados	42
5.1.1 Análise elementar.....	42
5.1.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho.....	42
5.1.3 Ensaio de liberação da hidroxureia por cromatografia líquida de alta eficiência.....	47
5.1.3 Espectroscopia eletrônica nas regiões do UV-Vis	49
5.1.4 Difractometria de Raios-X em Pó	65
5.1.5 Ressonância Magnética Nuclear	69
5.1.6 Termogravimetria	76

5.2 Citotoxicidade e ensaios biológicos.....	81
6 CONCLUSÃO.....	83
7 REFERÊNCIAS.....	85

1 INTRODUÇÃO

No cenário da evolução contínua da medicina, é fundamental observar que os progressos nos estudos médicos muitas vezes acontecem de maneira desigual, variando conforme a localização geográfica e o público alvo das enfermidades que esses estudos buscam combater (BARRENHO, MIRALDO e SMITH, 2019).

Muitas doenças ainda são carentes de formas de tratamento que combinem efetividade e bem-estar aos seus portadores. Alguns exemplos que se enquadram nesse contexto são a doença de Chagas (WHO, 2023), a doença falciforme (BRASIL, 2010) e o câncer. O primeiro exemplo, a doença de Chagas, é considerada pela própria World Health Organization (WHO) como uma doença negligenciada, estando dentro do grupo das NTDs (neglected tropical diseases), conforme classificado pela organização. A doença falciforme tem uma situação parecida; ela não é classificada como uma NTD, mas é notória a escassez de opções de medicamentos para o tratamento da doença sem ter tantos efeitos colaterais para o usuário (BRASIL, 2010), tendo a hidroxiureia como único fármaco disponível.

O câncer está em uma posição diferente do que as duas condições anteriores, no quesito de esforços para desenvolvimento de novas opções de tratamento. O câncer, diferente da doença de Chagas e da doença falciforme, não tem sua ocorrência associada a localidades específicas, portanto, grupos mais diversos estão sujeitos à doença. Embora não se possa dizer que os esforços são poucos nesse último caso, o fato é que formas de tratamento efetivas e não prejudiciais ao paciente são também escassas, ou até inexistentes.

A literatura já repercute bem as possibilidades e vantagens da utilização de espécies coordenadas a espécies metálicas como fármacos, e em diversos casos, vantagens frente ao uso das espécies livres (BRABEC e KASPARKOVA, 2018; NIGOVIĆ, KUJUNDŽIĆ e SANKOVIĆ, 2005; RENFREW et al., 2018; SÁ et al, 2015; SALES et al, 2021), dessa forma, se torna pertinente a investigação de opções de compostos de coordenação para auxiliar a sanar as deficiências supracitadas. Dentre os elementos utilizados como centro metálico para os

complexos, alguns que merecem atenção são o rutênio e o cobalto (BRABEC e KASPARKOVA, 2018; RENFREW et al., 2018). A utilização de espécies desses elementos metálicos em complexos contendo ligantes com conhecidas atividades biológicas, pode dar origem a compostos com propriedades versáteis, que sejam mais eficientes no tratamento da doença e ao mesmo tempo menos agressivos ao organismo do usuário.

2 OBJETIVOS

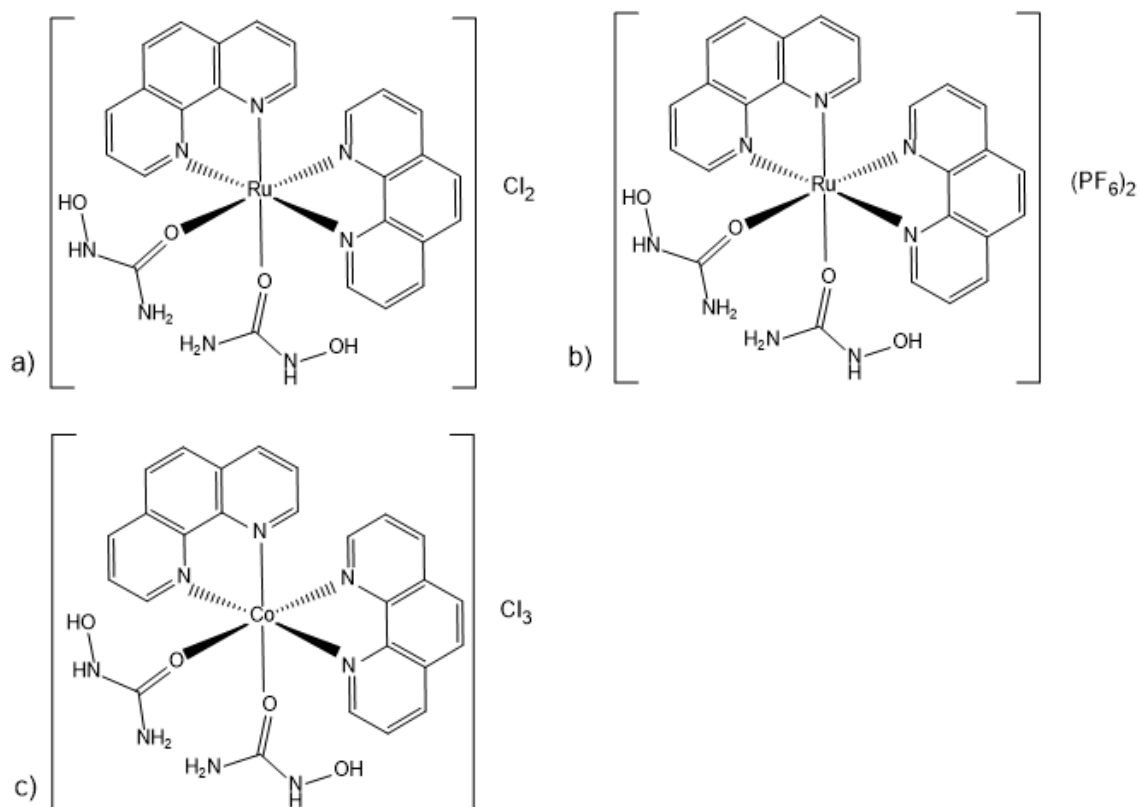
Objetivo Geral:

Sintetizar, caracterizar complexos de Ru(II) e Co(III), contendo hidroxiiureia (HU) como ligante, e avaliar a potencialidade biológica dos complexos em diferentes frentes.

Objetivos Específicos:

- Sintetizar os complexos de formulação *cis*-[M(HU)₂(phen)₂]Cl_n e *cis*-[M(HU)₂(phen)₂](PF₆)_n, em que para M = Ru(II), n=2 e M = Co(III), n=3; (Figura 1);
- Caracterizar os compostos sintetizados pelas técnicas de análise elementar, análise termogravimétrica, difratometria de raios-X, cromatografia líquida e por técnicas espectroscópicas, como UV-Vis, infravermelho e ressonância magnética nuclear;
- Analisar o comportamento dos complexos em diferentes meios: aquoso e não-aquoso;
- Avaliar a atividade citotóxica dos compostos sintetizados;
- Avaliar o comportamento dos compostos frente ao *Trypanosoma cruzi*, a células falcêmicas e não falcêmicas, a células cancerosas e não cancerosas e frente a linhagens de bactérias e fungos.

Figura 1 – Estruturas propostas para os complexos sintetizados: a) *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂]Cl₂; b) *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂](PF₆)₂; c) *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃



1. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 A Doença Falciforme: Aspectos genéticos, ocorrência e tratamento

A doença falciforme é uma comorbidade de origem genética associada a uma série de doenças e complicações, tais como a mais conhecida anemia falciforme, talassemia, hemólise e vasculopatia. Conforme apresentam Pauling (1949) e Rees, Williams e Gladwin (2010), o termo – equivalente em inglês *sickle-cell* – é usado para se referir a uma série de genótipos que causam desordens devido a alterações nos eritrócitos, em que a forma mais comum é associada à presença homozigótica do alelo β^s , ou seja, como uma doença autossômica recessiva. Bunn (1997) e Rees, Williams e Gladwin (2010) explicam que a variação HbS é causada devido a uma mutação no gene da β -globina, esse que é um dos peptídeos que compõem a metaloproteína hemoglobina, presente nas hemácias. Essa mutação é decorrente da substituição de uma timina por uma adenina no décimo sétimo nucleotídeo desse gene da β -globina e decorrente a essa variação o sexto códon da sequência passa a codificar valina ao invés do padrão ácido glutâmico. Kato et al. (2018) apresentam uma explicação mais ampla, abordando os outros genótipos com presença do alelo β^s e as codificações a partir desses. Há o genótipo formado pela presença de dois alelos HBB, ambos com configuração padrão de timina no décimo sétimo nucleotídeo, que codificam duas unidades de α -globina e duas unidades de β -globina, formando a hemoglobina normal (HbA); há o genótipo formado pela presença de um alelo HBB e outro β^s , já com a substituição da timina pela adenina. A pessoa com esse genótipo gera hemoglobinas de tipo HbAS, que não expressam a doença devido ao caráter recessivo do β^s ; quando ambos alelos são mutados (diferentes do HBB) e pelos menos um deles é do tipo β^s , já há a ocorrência de desordens relacionadas, como no genótipo supracitado homozigótico β^s , que ocasiona a forma mais comum de doença falciforme, que é a anemia falciforme (presença de HbS); ou nos casos da formação da hemoglobina HbSC, quando há um alelo β^s e o ou outro alelo tem substituição da citosina na décima sexta posição por uma timina (formando o alelo β^c) e

passando esse códon a codificar lisina; ou ainda no caso das pessoas com HbS β -talassemia, com a presença de um alelo β^s e o outro “nulo” (Hb β^0).

Ainda conforme Kato et al. (2018), as hemácias com hemoglobina tipo HbS têm alguns problemas como reduzida afinidade com o oxigênio em comparação às hemácias normais, além da ocorrência do fenômeno de polimerização. Rogers et al. (2013) atribuem a pouca afinidade com oxigênio à alta presença de 2,3-bifosfoglicerato ou 2,3-DPG, composto que atua regulando a atividade das hemoglobinas diminuindo sua afinidade com moléculas de oxigênio, e se apresenta em grande quantidade nos eritrócitos falcêmicos. Kato et al. (2018) ainda apontam que os HbS, quando desoxigenados, costumam se polimerizar através de ligações via β -globina, formando longos polímeros que também se alinham paralelamente e assumem um formato helicoidal, formando os eritrócitos deformados característicos da doença falciforme. Kuypers (2014) também explica que esse processo de polimerização também tem influência na formação das camadas lipídicas e proteicas das membranas das hemácias, o que leva à redução na hidratação celular e consequente aumento do processo de hemólise – rompimento da membrana das hemácias com liberação das hemoglobinas e demais componentes intracelulares para o meio extracelular – e apoptose – morte celular “programada”; essas ocorrências reduzem em pelo menos 75% o tempo de vida das células falcêmicas, conforme também explicam Alayash (2018) e Quinn et al. (2016). Kato et al. (2018) e Alayash (2018) continuam explicando que essas hemoglobinas liberadas no meio extracelular acabam ocasionando estresses oxidativos no meio, além de carregar moléculas de óxido nítrico, encontradas em células endoteliais e responsáveis por promover vasodilatação, diminuindo a biodisponibilidade de NO e resultando em disfunção vascular (REITER et al., 2002; KATO et al., 2018). Além dessas questões, há ainda a característica de maior adesão ao tecido endotelial vascular por parte das células falcêmicas, o que também promove a vasoclusão, conforme Hebbel et al. (1997) e Kato et al. (2018). De acordo com o Center for Disease Control and Prevention (2023), essas questões associadas à doença falciforme causam complicações como crises de dor aguda, anemia, maior propensão a infecções, Síndrome Torácica Aguda, sequestro esplênico, perda de visão, úlcera de perna, trombose venosa profunda e embolia pulmonar, com algumas dessas complicações oferecendo alto risco de vida.

De acordo com Piel, Steinberg e Rees (2017) e Piel et al. (2010), as regiões com maior incidência de variações da doença falciforme são países da África Subsaariana, Índia, Oriente Médio e ao redor da bacia do Mediterrâneo, regiões com histórico de endemia de malária; uma das evidências que apontam a mutação genética da doença falciforme como uma forma de proteção do organismo aos efeitos do protozoário causador da malária. Além das regiões citadas, há uma incidência considerável também em certos países da América, influência do tráfico de pessoas escravizadas no período colonial e, em menor escala, de movimentos de imigração contemporâneos. Dados da última década, que reportam as últimas análises mais completas, estimam nascimento de cerca de 300.000 bebês com doença falciforme por ano; a maior parte desses nascimentos em países como Nigéria, República Democrática do Congo e Índia, de acordo com dados recolhidos por Piel et al. (2013).

O principal tratamento utilizado atualmente para reduzir os efeitos da doença falciforme é através da hidroxiureia, um antimetabólito utilizado também em tratamentos contra o câncer (MADAAN, KAUSHIK e VERMA, 2012), que age através da inibição da enzima ribonucleotídeo reductanase e atua no aumento das quantidades de hemoglobina fetal (HbF), as quais têm um efeito positivo em organismos com incidência de hemoglobinas HbS e variações (KATO et al, 2018).

3.2 O Câncer: Aspectos celulares, ocorrência e tratamento

O que popularmente se conhece como câncer, na verdade engloba uma série de doenças, todas relacionadas a alterações no funcionamento celular que acarretam na multiplicação descontrolada das células afetadas (INCA, 2011). Conforme informações apresentadas no “ABC do câncer”, material do Instituto Nacional de Câncer (INCA) de 2011, a multiplicação celular é um processo natural, que acontece com grande parte das células do corpo. Existem células que não se dividem, como os neurônios, e existem células que se dividem de forma relativamente rápida, como células do tecido epitelial, porém com certas limitações ou controles existentes (INCA, 2011).

Porém, modificações genéticas podem inibir esses mecanismos de controle da multiplicação, o que permite a multiplicação não controlada das células, ou uma neoplasia; um passo inicial para desenvolvimento de câncer. Ainda conforme apresentado no material do INCA (2011), essas proliferações anormais, ou tumores formados, podem ser “benignos” ou “malignos”. Um tumor benigno, embora seja originado por um crescimento de tecido de forma anormal, tem o crescimento limitado a uma região, com limites de expansão; já um tumor maligno normalmente é formado por células mais diferentes do tecido normal, com maior grau de multiplicação e crescimento e tem a possibilidade de invadir outros tecidos e causar metástase (disseminação das células cancerosas por outros tecidos ou órgãos).

O câncer pode se dar através de diversos fatores. Há a influência de fatores genéticos, bem como de agentes cancerígenos externos. Os agentes externos podem ser químicos, físicos (p.ex. exposição à radiação), biológicos (p.ex. provocado por vírus ou infecções) ou fatores comportamentais. Exemplos práticos de fatores causadores podem ser o cigarro, que aumenta a probabilidade de desenvolvimento de câncer de pulmão; uso indiscriminado de bebidas alcóolicas, que pode levar danos a várias partes do corpo; exposição excessiva ao sol, o que pode causar problemas na pele; alguns vírus, que podem causar desordens em certas regiões e a exposição a outras formas de radiação, além da solar.

Assim como no tratamento da doença falciforme, a hidroxiureia é um dos fármacos utilizados no tratamento de alguns tipos de câncer, a exemplo da leucemia mieloide crônica, o que abre possibilidade para incluir esse grupo de doenças dentro das opções de oportunidades a serem tratadas com o desenvolvimento de compostos de coordenação derivados da molécula em questão.

3.3 A doença de Chagas

De acordo com dados do Ministério da Saúde (2023), a doença de Chagas é a infecção causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. A doença se apresenta em duas fases: a fase aguda, que pode ser sintomática ou não, e a

fase crônica, que pode se manifestar de forma assintomática, cardíaca, digestiva ou cardiodigestiva.

Uma vez infectado, o hospedeiro pode ter o protozoário presente no seu organismo de duas formas: formas tripomastigotas e formas amastigotas. A forma tripomastigota é a forma infectante, flagelada, que entra na corrente sanguínea e pode invadir várias células do hospedeiro, portanto é uma forma mais presente na fase aguda da infecção (PAN, 1997). Após invadir as células do hospedeiro, as formas tripomastigotas podem se diferenciar em formas amastigotas, que são não flageladas e se multiplicam por divisão binária no interior das células do hospedeiro, causando danos aos tecidos e contribuindo para os sintomas da doença (PAN, 1997; RODRIGUES et al, 2020; SIMIONI et al, 2019).

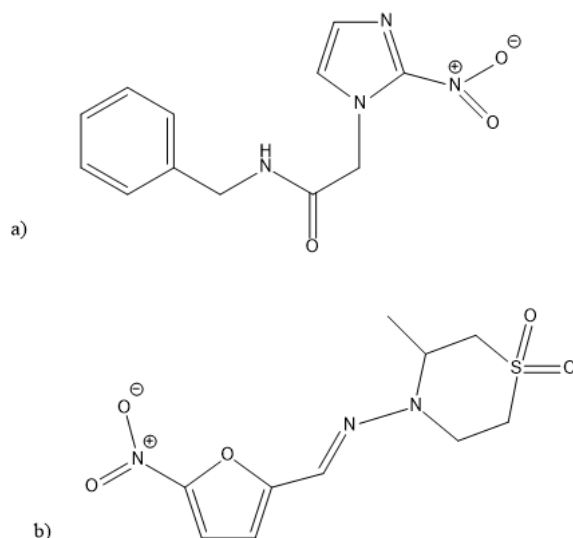
Os principais sintomas da doença na fase aguda são febre prolongada, dor de cabeça, fraqueza intensa, inchaço no rosto e pernas e possível aparição de lesão no local da picada (em caso de infecção via inseto barbeiro). Caso a pessoa não receba o tratamento adequado, após a fase aguda a doença pode evoluir para a fase crônica, inicialmente sem sintomas, porém podendo apresentar algumas complicações no decorrer dos anos, como problemas cardíacos e problemas digestivos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2023).

A doença de Chagas foi descoberta pelo médico brasileiro Carlos Chagas em 1909 (FIOCRUZ, 2023). Conforme dados da página sobre a doença no portal da World Health Organization (2023), é estimado que haja cerca de 6 a 7 milhões de pessoas infectadas com o *T. cruzi* ao redor do mundo, sendo concentradas principalmente em áreas endêmicas de 21 países continentais latino-americanos. Embora a princípio os casos da doença estavam restritos às Américas, há algum tempo já existem números de casos também na Europa, África e países do Pacífico.

Atualmente o tratamento da doença está praticamente restrito a duas drogas antiparasitárias, o benzonidazol (Figura 2a) e o nifurtimox (Figura 2b), ambos medicamentos com altas taxas de efetividade no tratamento durante a fase aguda, porém com perda da sua eficácia com o avanço da infecção (FIOCRUZ, 2023; WHO, 2023). Visto que a doença de Chagas é considerada uma das NDTs – do inglês para doenças tropicais negligenciadas (WHO, 2023)

–, com poucas opções de tratamento, ainda faz-se necessário estudos para ampliar a gama e qualidade dos recursos disponíveis.

Figura 2 – Estruturas moleculares do benzonidazol (a) e nifurtinox (b)

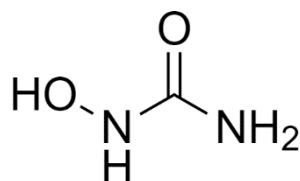


2. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

3.3 A hidroxiureia: características gerais e mecanismos de ação

De acordo com o Pubchem (2023), a hidroxiureia (Figura 3) é uma ureia monosubstituída, a qual tem um hidrogênio substituído por um grupo hidroxila, de fórmula $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}_2$. Tem massa molar de 76,055 g/mol e costuma se apresentar como um sólido cristalino branco, sem cheiro; apresenta ponto de fusão por volta de 140 °C e é solúvel em água. O composto foi sintetizado pela primeira vez em 1869, por Dresler e Stein (DRESLER e STEIN, 1869), porém só foi constatado como biologicamente ativo em 1928, em testes conduzidos por Rosenthal, Wislicki e Kollek, com administração de HU em coelhos, os quais tinham uma diminuição na produção de leucócitos após a administração da substância (ROSENTHAL, WISLICKI e KOLLEK, 1928). Posteriores estudos reportaram atividade da hidroxiureia em fins antitumorais contra o sarcoma 180 e na sequência foram realizadas investigações para utilidade como inibidor da síntese de DNA, agente quebra-cromossomo, antimitótico e relatados efeitos citotóxicos em diversos organismos (TIMSON, 1975).

Figura 3 – Estrutura molecular da hidroxiureia



3. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

O principal mecanismo de ação da hidroxiureia envolve a inibição da síntese de DNA, com redução significativa da mitose em células tratadas com o fármaco. Essa inibição, por sua vez, é devido a inibição da enzima ribonucleotídeo redutase, que atua na conversão ribonucleotídeos em desoxirribonucleotídeos (TIMSON, 1975). Esse mecanismo permite sua atuação no tratamento de diversas doenças relacionadas à síntese de DNA, tais como as variações da doença falciforme e alguns tipos de câncer.

Embora haja benefícios na utilização da hidroxiureia para combate às manifestações da doença falciforme e de câncer, é relatado que o próprio composto causa uma série de efeitos adversos no organismo. A Portaria Nº 55, de 29 de janeiro de 2010, do Ministério da Saúde, apresenta uma lista de contraindicações e possíveis desvantagens do uso do fármaco, como potencial carcinogênico e teratogênico, possibilidade de causar uricosúria, insuficiência renal, bem como está associado a efeitos neurológicos, gastrointestinais, dermatológicos, hepáticos, reprodutivos, entre outros.

Do ponto de vista químico, analisando a estrutura molecular da hidroxiureia, é possível perceber a presença de pares de elétrons não ligantes. Assim, essa molécula pode atuar como base de Lewis frente a um centro metálico (NIGOVIĆ, KUJUNDŽIĆ e SANKOVIĆ, 2005), abrindo espaço para desenvolvimento de compostos contendo a molécula na sua composição, compostos quais podem ser estudados para utilização como fármacos ou outros fins.

3.4 Complexos: centro metálico e demais ligantes

3.4.1 Rutênio

O rutênio é um elemento de símbolo Ru e número atômico 44, situado no grupo 8 da Tabela Periódica dos Elementos e classificado como um metal de transição, devido – assim como os outros elementos da mesma forma classificados – ter seus orbitais *d* semipreenchidos. Seus estados de oxidação mais comuns são +2, +3 e +4 (SILVA e GUERRA, 2012).

As primeiras citações ao rutênio datam dos anos 1820's, quando Gottfried Wilhelm Osann anunciou a descoberta de três novos metais (pluran, ruthen e polin) misturados na platina extraída dos montes Urais, na Rússia. No entanto, sua descoberta não pôde ser comprovada, pois as amostras enviadas desses metais que ele afirmou ter descoberto, eram uma mistura de óxidos contendo outros elementos já conhecidos (SEDDON, 2013). A descoberta do rutênio como elemento foi atribuída mais tarde a Carls Ernst Claus, na década de 1840, que isolou o novo metal a partir de resíduos de uma refinaria de platina (SEDDON, 2013).

O rutênio é um metal raro, com abundância natural da crosta terrestre na casa de 1 ppb (SEDDON, 2013), possui boa condutividade elétrica e excelentes propriedades catalíticas, além disso reage com oxigênio somente em temperaturas elevadas e é resistente a ação de ácidos (SILVA e GUERRA, 2012). Dentre as utilizações do rutênio, pode-se destacar a adição em ligas de platina e paládio a fim de aumentar a resistência ao desgaste, acréscimo ao titânio para melhorar a resistência à corrosão, confecção de liga supercondutora junto com o molibdênio, produção de catalisadores e aplicações farmacológicas (ALVES, SILVA e GUERRA, 2010).

Assim como platina e paládio, o rutênio tem sido amplamente utilizado na formação de compostos com potenciais antitumorais, e sua importância tem crescido nessa área (GAO et al, 2019; SALES et al, 2021; SIMOVIĆ et al, 2019). Além da produção de compostos antitumorais, sua aplicação medicinal é destacada também em outras vertentes, principalmente devido a fatores como: boas taxas de substituição de ligantes, seu *range* de estados de oxidação acessíveis e sua habilidade de mimetizar a ligação com o ferro em certas moléculas biológicas (ALLARDYCE e DYSON, 2001). Nesse contexto, é

oportuno o desenvolvimento de estudos com a utilização do rutênio como centro metálico em complexos em que seja esperada aplicação biológica.

3.4.2 Cobalto

O cobalto é um elemento de símbolo Co e número atômico 27, situado no grupo 9 da Tabela Periódica dos Elementos e faz parte do bloco *d*. Esse elemento costuma se apresentar nos estados de oxidação +2 e +3, e naturalmente é encontrado na forma de arsenitos, óxidos e sulfitos (BARCELOUX, 1999).

Os primeiros usos do cobalto que se têm registro foram como agente colorante para artigos fabricados no Egito e na Pérsia, ainda na Antiguidade. Ele foi primeiramente isolado em 1742, pelo cientista sueco G. Brandt e identificado como elemento em 1780, por T. O. Bergman (HAMILTON, 1994). Conforme Barceloux (1999), a partir do século XX foram iniciados os usos do cobalto para fins industriais, com aumento na sua utilização desde a Segunda Guerra Mundial e atingindo o pico de produção na década de 1980. Nos dias de hoje, o cobalto é bastante usado na produção de ligas e seus compostos têm diversos usos, como pigmentos, catalisadores (HAMILTON, 1994) e também há estudos sendo desenvolvidos para sua utilização no tratamento de alguns tipos de câncer (ALKIŞ et al, 2021).

O cobalto é um elemento essencial para a vida humana como constituinte da vitamina B12 (hidroxicobalamina), a qual é utilizada pelo corpo para regular a síntese de DNA (RENFREW et al, 2018). Embora o elemento seja essencial para as atividades do organismo humano, em concentrações excessivas pode causar algumas complicações endócrinas, cardiovasculares e neurológicas (BARCELOUX, 1999; NORDBERG, 2007).

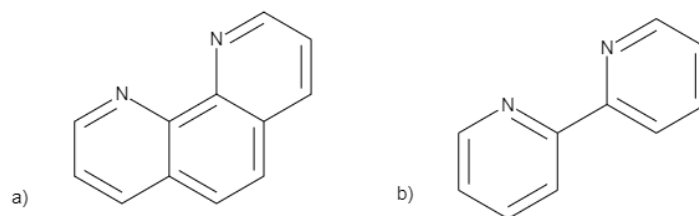
Nesse contexto, recentemente vêm sendo desenvolvidos estudos visando obtenção de compostos de cobalto com atividade biológica, aproveitando principalmente suas propriedades redox e magnéticas provenientes de suas variadas configurações eletrônicas; incluindo compostos de coordenação onde o cobalto atua como centro metálico (RENFREW et al, 2018).

3.4.3 1,10-fenantrolina

A 1,10-fenantrolina (Figura 4a), também conhecida como o-fenantrolina, é um composto orgânico de fórmula $C_{12}H_8N_2$ e massa molecular de 180,21 g/mol, que costuma ser utilizada em complexos como um agente quelante, o que contribui, entropicamente, para a estabilidade do composto formado, visto que assim reduz as probabilidades de alterações nas posições ou espécies dos ligantes. Além disso, devido à rigidez proporcionada pelo anel central em sua estrutura, tem maior probabilidade de atuar como ligante bidentado frente a um dado centro metálico do que ligantes similares, como 2,2-bipiridina (Figura 4b), na qual há possibilidade de rotação da ligação C-C de anéis distintos (SAMMES e YAHIOGLU, 1994). Essa característica favorece interações com o DNA de modo a formar compostos com conhecidas propriedades citotóxicas (LEVENTIS et al., 2004, NUNES et al., 2020).

Outra consequência da estrutura da 1,10-fenantrolina são suas propriedades intercalantes, podendo se inserir entre as bases nitrogenadas da dupla hélice de DNA (SAMMES e YAHIOGLU, 1994). Essa interação pode levar a efeitos como inibição da replicação do DNA, inibição na transcrição do RNA, entre outros. A coordenação da 1,10-fenantrolina a centros metálicos pode, inclusive, favorecer suas propriedades intercalantes em função de orientação e rigidez da estrutura (SAMMES e YAHIOGLU, 1994).

Figura 4 – Estruturas moleculares da 1,10-fenantrolina (a) e 2,2-bipiridina (b)



4. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

3.5 Fundamentos teóricos das técnicas

3.5.1 Espectroscopia eletrônica nas regiões do UV-Vis

Os métodos de espectroscopia se baseiam na interação da matéria com a radiação eletromagnética. Conforme explicam Shriver e Atkins (2008), a interação ocorre em frequências características, correspondendo à energia de uma transição entre níveis de energia (eletrônica, vibracional ou rotacional).

A espectroscopia ultravioleta-visível tem por base a interação das radiações nas regiões do ultravioleta e do visível. A absorção nessas regiões acontece através da excitação de elétrons nas espécies em análise para níveis eletrônicos mais altos. Normalmente as amostras analisadas por esta técnica estão em solução aquosa. Basicamente, a amostra é posta dentro de uma cubeta de material opticamente transparente, como vidro, quartzo, etc. (a depender da região trabalhada e da precisão esperada), e a cubeta contendo a amostra é colocada no caminho de uma fonte de luz, que passa pelo meio até chegar a um detector (SHRIVER E ATKINS, 2008).

A absorbância (A) de uma amostra é calculada através da eq. 1, onde I_0 é a intensidade incidente e I é a intensidade medida após passar através da amostra (SHRIVER E ATKINS, 2008).

$$A = \log(I_0/I) \quad (1)$$

Existe também a Lei de Lambert-Beer, que é usada para relacionar a absorbância (A) e concentração molar [J], usando também a medida do caminho óptico (l):

$$A = \epsilon[J]l \quad (2)$$

De acordo com Skoog (2002), a técnica, porém, tem limitações quando se trabalha com soluções muito diluídas ou muito concentradas. Com soluções muito diluídas, há um limite inferior para até onde são perceptíveis os traços do analito e para soluções muito concentradas, há um limite superior em que, a partir deste, as moléculas/íons do analito estão tão próximas que as forças eletrostáticas entre si influenciam na absorção da radiação.

3.5.2 Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho

Em sua maioria, os compostos que possuem ligação covalente, orgânicos ou inorgânicos, absorvem radiação na região do infravermelho. Essa região compreende comprimentos de onda maiores do que os relacionados à luz visível e menores do que os relacionados às micro-ondas – ou seja, aproximadamente que sejam maiores que 800 nm e menores que 1 mm (PAVIA et al, 2010).

Na espectroscopia vibracional na região do infravermelho, o espectro de uma amostra é obtido pela exposição desta à radiação infravermelha e pelo registro da variação da transmissão com a frequência. Seguindo o princípio da técnica, as ligações são concebidas como uma espécie de “mola”, que são alongadas ou encurtadas (estiramento) e/ou se aproximam e/ou afastam umas das outras, simetricamente ou não (deformação angular), de acordo com a energia incidida (SHRIVER E ATKINS, 2008).

Nos espectrômetros atuais, o espectro é obtido por um interferograma por **transformada de Fourier**, que utiliza a informação do tempo de viagem e na interferência de ondas que percorrem comprimentos diferentes, em relação à frequência. A amostra deve estar contida em um material que não absorva radiação infravermelha, a exemplo do brometo de potássio (KBr) (SHRIVER E ATKINS, 2008).

3.4.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Dentre as técnicas utilizadas para determinação estrutural de moléculas e compostos, a ressonância magnética nuclear se destaca como um método poderoso e bastante confiável. Conforme Shriver e Atkins (2008), a ressonância magnética nuclear (RMN) parte da indução de um campo magnético em compostos, os quais têm seus núcleos magnéticos (núcleos com spin diferente de zero) influenciados pelo campo aplicado e com isso, é gerada uma separação nos níveis de energia.

A separação energética provocada depende da orientação do spin dos núcleos, para qual um núcleo com spin I pode assumir até $2I + 1$ orientações em relação à direção do campo magnético aplicado. Cada orientação tem uma

energia diferente, com o nível de energia mais baixo sendo o que apresenta maior população (SHRIVER e ATKINS, 2008).

Conforme Pavia et al (2010), os núcleos mais comuns que possuem spin são ^1H , ^2H , ^{13}C , ^{14}N , ^{17}O e ^{19}F , todos com número de massa ou atômico ímpares. No caso do ^1H e ^{13}C , que possuem número quântico de spin $I = \frac{1}{2}$, são permitidos dois estados em seus núcleos, que são $-\frac{1}{2}$ e $+\frac{1}{2}$. Conforme supracitado, o fenômeno da ressonância ocorre quando, expostos a um campo, esses núcleos mudam de orientação de spin, absorvendo energia. Sabendo que se trata de um processo quantizado, é possível usar equações para descrever a diferença de energia entre os spins.

$$E_{\text{absorvida}} = (E^{-1/2\text{estado}} - E^{+1/2\text{estado}}) = h\nu \quad (03)$$

Com essa energia sendo em função da intensidade do campo aplicado B_0 . A equação de forma mais completa é expressa da seguinte forma:

$$\Delta E = h\nu B_0 \quad (04)$$

Onde:

h = constante de Planck

ν = razão giromagnética do núcleo

B_0 = valor do campo aplicado

Ainda explicado por Pavia et al (2010), as variações no quesito da ressonância não dependem somente do spin; mesmo prótons ou núcleos do mesmo tipo têm ressonâncias distintas. Isso deve-se principalmente ao fato da blindagem, termo utilizado para descrever o efeito dos elétrons e ambiente eletrônico ao redor. Normalmente quanto maior a densidade eletrônica ao redor, menor a influência que o campo externo terá sobre o núcleo em questão, por isso, menor o efeito da ressonância.

No método utilizado pela maioria dos espectrômetros, a medida é baseada na comparação entre a ressonância das espécies de interesse e a ressonância de uma substância referência padrão, o tetrametilsilano, $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$, (TMS); onde é calculado o deslocamento da medida de ressonância do núcleo ou próton em relação a medida do TMS (em hertz) e esse valor dividido pela

frequência do espectrômetro em megahertz. Essa medida obtida é chamada deslocamento químico (δ). Com base nos valores de deslocamentos químicos, e conhecendo as relações que ocasionam as diferenças nos valores, é feita a análise estrutural que objetiva a técnica de ressonância magnética nuclear.

3.4.5 Difratometria de Raios-X

A difratometria de raios-X é uma técnica amplamente empregada no estudo de materiais sólidos. Como o próprio nome já sugere, ela é baseada no fenômeno da difração; que é a interferência entre ondas, o que ocorre como resultado da presença de um objeto no caminho destas. De acordo com Shriver e Atkins (2008), o método permite a determinação das posições dos átomos e íons constituintes de um composto, e por meios dessas, os comprimentos, ângulos de ligação e posições na célula unitária – menor subdivisão que representa as características de um cristal e que se repete formando a estrutura do sólido –, sendo assim possível obter e interpretar dados estruturais do material.

Os raios X são espalhados pelos elétrons dos átomos e a difração pode ocorrer por um arranjo periódico de centros espalhadores separados por distâncias semelhantes à do comprimento de onda da radiação (cerca de 100 pm). Conhecendo o comprimento de onda trabalhado e obtendo-se os dados dessa onda após o espalhamento provocado pelos planos de reflexão formados pela estrutura repetitiva do sólido, é possível calcular a distância entre esses planos paralelos da estrutura cristalina, tamanho médio das partículas e outras informações utilizando-se as equações de Bragg (eq. 05) e Scherrer (eq. 06).

$$2d \sin \theta = \lambda \quad (05)$$

Onde:

d = distância entre os planos do cristal

θ = ângulo de difração

λ = comprimento de onda da radiação eletromagnética

$$D = K\lambda / \beta \cos(\theta) \quad (06)$$

Onde:

D = diâmetro médio das partículas

K = constante da forma das partículas (considera-se a esférica = 0,94)

λ = comprimento de onda da radiação eletromagnética

θ = ângulo de difração

β = largura na metade da altura do pico de difração

A intensidade da difração, observada pelos picos no difratograma, depende da repetição do arranjo que difratou os raios responsáveis por aquele pico; ou seja, quanto mais organizadamente o arranjo se repete, mais cristalina é a estrutura e melhor é a definição dos picos presentes no difratograma.

Ainda de acordo com Shriver e Atkins (2008), há duas principais técnicas que utilizam os raios X: a difratometria em pó e a difratometria em monocristal. A difração em pó analisa o composto na forma policristalina, com cristalitos dimensionados em poucos micrômetros, já a difração de monocristal analisa o composto na forma de um único cristal maior, com dimensão a partir de dezenas de micrômetros.

Na imensa maioria dos trabalhos envolvendo complexos metálicos (HOSKINS, ROBSON, WILLIAMS, 1976; KASHIF et al, 2012; KÜRKÇÜOĞLU et al, 2023), é utilizada a difratometria de monocristal, através da qual é possível analisar as posições, distâncias dos átomos e ângulos de ligação. Porém uma grande dificuldade nesse caso é a obtenção de monocristais, o que depende de fatores tanto relativos aos constituintes do composto, quanto ao ambiente (solvente, umidade, temperatura, etc).

Embora forneça informações que precisam ser tratadas de uma maneira diferente, a difratometria em pó também pode ser utilizada como alternativa quando se deseja uma discussão em termos cristalográficos, a exemplo do trabalho de TEIXEIRA et al (2014), que mostra como a difratometria de raios X em pó pode ser utilizada para corroborar a formação de um composto de coordenação, com picos que podem ser atribuídos tanto ao ligante quanto aos íons metálicos.

3.4.6 Termogravimetria

Dentre a variedade de técnicas utilizadas para análise de amostras sólidas, outro grupo que tem sua relevância é a análise térmica, que analisa as variações em certa propriedade de uma amostra de acordo com a variação da temperatura. As técnicas de análise térmica mais empregados são a análise termogravimétrica ou termogravimetria (TGA ou TG), análise térmica diferencial (DTA) e a calorimetria exploratória diferencial (DSC).

Conforme Shriver e Atkins (2008), a análise termogravimétrica se baseia no acompanhamento da variação de massa de uma amostra em função da variação de temperatura ou do tempo sob aquecimento. Para que as medidas sejam tomadas, é usada uma termobalança, que fica suspensa dentro de um forno, com a amostra analisada dentro. Nesse sistema fechado, são controlados fatores como aumento da temperatura – que pode ser linear ou em etapas – e a atmosfera do ambiente, que pode ser inerte ou reativa, além de poder também ser estática ou em fluxo.

Ao final do tempo de análise, são obtidos dados que podem ser transformados em gráficos, os quais geralmente ilustram estágios de perda ou ganho de massa, que podem ser atribuídos a fenômenos como dessorção (KING, 1975), decomposição (ABDOLMALEKI et al, 2018), desidratação (HALMOS, WENDLANDT, 1972) ou oxidação (ALLAN, MCCLOY e PATON, 1993).

A análise térmica, que embora seja pouco explorada na caracterização de compostos de coordenação, fornecem informações relevantes a depender da finalidade que se pretende aplicar o material.

3.4.7 Citotoxicidade e ensaios biológicos

Durante o desenvolvimento de pesquisas em diversas áreas que envolvem a produção e/ou avaliação de substâncias e o seu efeito em células vivas, costuma-se usar testes citotóxicos para esse fim. Os testes citotóxicos são justamente métodos utilizados na avaliação do efeito de substâncias químicas, medicamentos ou agentes biológicos na viabilidade e sobrevivência de células.

Através destes testes, é possível identificar se um agente é tóxico para determinadas células e, em caso positivo, qual concentração é necessária para lesá-las de diferentes formas observadas. Com base nos princípios e funções celulares aos quais se deseja observar o efeito da interação com o agente testado em questão, os testes de citotoxicidade podem ser divididos em diferentes métodos, avaliando: integridade da membrana celular, a proliferação celular, a sobrevivência e formação de colônias e a atividade metabólica (RISS et al, 2016; RISS et al, 2019; MÉRY et al, 2017; LONGHIN et al, 2022).

Um dos tipos de ensaios citotóxicos para avaliação da atividade metabólica é o método AlamarBlue, desenvolvido pela Alamar Biosciences®. O método se baseia no uso do reagente na forma oxidada, que é adicionado às células analisadas e caso essas estejam com funções mitocondriais ativas, com consequente produção enzimática, reduzem o reagente e confirmam a viabilidade celular (NOCIARI et al, 1998). Essa reação pode ser observada pela mudança na cor e aparecimento de fluorescência.

Dentre as demais análises realizadas, costuma-se determinar também valores de CI_{50} (concentração inibitória) ou CE_{50} (concentração efetiva), avaliando quanto de um composto em estudo é necessário para reduzir uma resposta biológica (inibição ou efeito) em 50%, seja essa resposta provocada por determinado vetor ou tipo específico de célula. Essa análise compreende na utilização de diferentes concentrações conhecidas do composto em questão e determinação da concentração em que ocorre a inibição em 50% da resposta biológica avaliada (JIROVETZ et al, 2006). A determinação de valores de CI_{50} (ou CE_{50}) normalmente é obtida por métodos como microscopia de luz (YILDIRIM, ÖZBILGIN e YERELI, 2023) ou outros métodos com uso de imagens (KAPPLER-GRATIAS et al, 2020).

Outro tipo de estudo importante para avaliar a atividade biológica de novos compostos são os testes de atividade antimicrobiana, que são fundamentais para determinar a eficácia destes frente a micro-organismos como bactérias e fungos. Para essa avaliação, costuma-se determinar parâmetros como MIC (concentração inibitória mínima) e MBC/MFC (concentração bactericida mínima/concentração fungicida mínima).

Para a determinação do MIC, são seguidas algumas etapas, conforme descrito no trabalho de Andrews (2001). A seguir são apresentadas algumas de forma mais genérica e resumida:

- Preparação de uma série de diluições do composto a ser analisado em meio de cultura, em diferentes concentrações;
- Inoculação do micro-organismo alvo nas placas contendo as diferentes concentrações do composto;
- Incubação por um período de tempo específico;
- Ao final da incubação, é avaliado onde houve inibição do crescimento a partir da comparação entre os poços das placas e assim, calculada a concentração inibitória mínima (MIC).

A partir desses resultados, são seguidas outras etapas para determinação do MBC. Santos et al. (2020) apresenta alguns desses procedimentos no seu trabalho. Na sequência, um resumo das etapas para determinação desse segundo parâmetro:

- Ao final do período de incubação, é realizado o repique dos poços onde houve inibição do crescimento;
- O conteúdo desses poços onde não houve crescimento é transferido para novos meios de cultura sem o composto antimicrobiano;
- As amostras são incubadas novamente por mais um período de tempo;
- Ao final da incubação, é verificado onde houve crescimento microbiano. Onde não houve, é indicado que os micro-organismos foram mortos pelo composto, e não apenas inibidos, e assim é determinada a contração bactericida mínima.

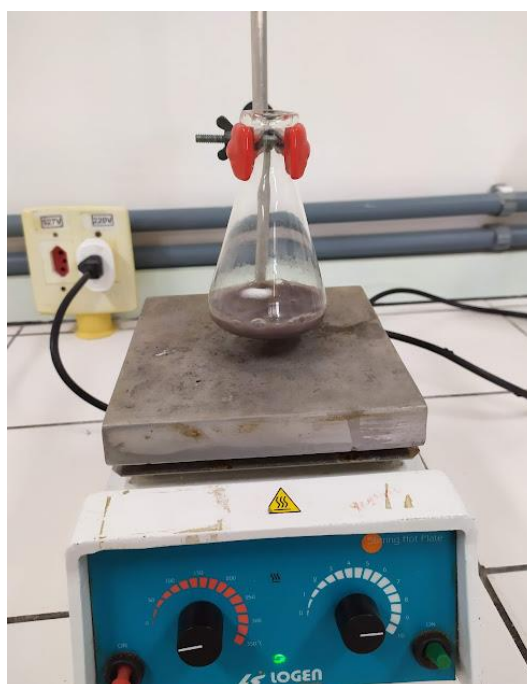
4 METODOLOGIA

Todas as etapas dos procedimentos experimentais foram feitas, no mínimo, em triplicata, sejam as sínteses, as formas de caracterização ou os ensaios biológicos. Os rendimentos informados tratam-se das médias obtidas e os procedimentos de síntese foram baseados em complexos análogos, apresentados por Grassini-Strazza, Sinibaldi e Messina (1980) e Sullivan, Salmon e Meyer (1978).

4.1 Síntese do complexo *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃ (FGB26)

400 mg de *cis*-[CoCl₂(phen)₂]Cl.3 H₂O (FGB21) (0,69 mmol) foram adicionados a um erlenmeyer de 50 mL, seguido por 10 mL de etanol PA. A mistura foi deixada sob agitação por 10 minutos e, após esse tempo, foi adicionado 123,8 mg de hidroxiiureia (1,63 mmol) e mantida a agitação no sistema (Figura 5) por mais 120 minutos. A suspensão obtida foi refrigerada e, após um tempo, filtrada à vácuo, sendo lavada com um pouco de etanol gelado. Por fim, o sólido foi deixado para secagem à vácuo. Rendimento médio: 71,3%.

Figura 5 – Sistema de síntese do complexo *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃

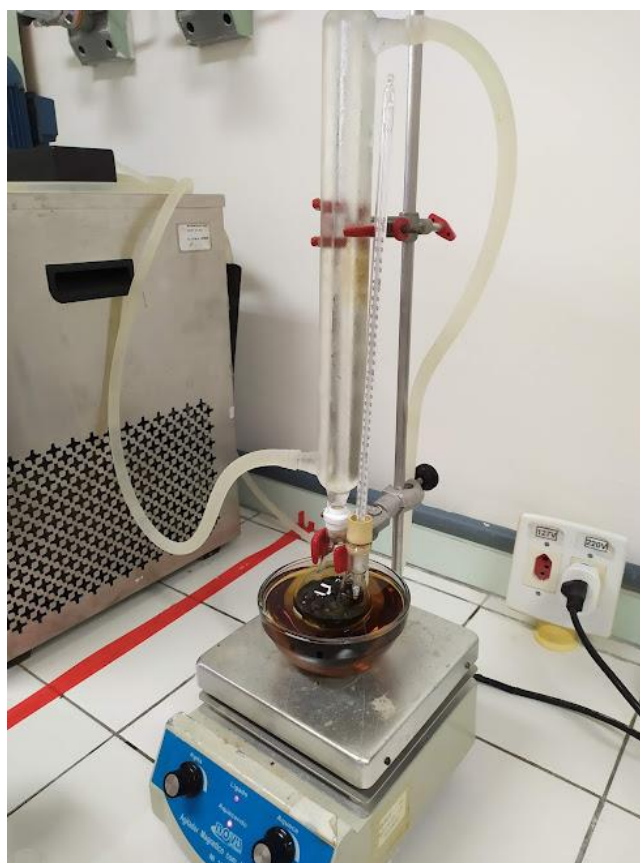


5. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

4.2 Síntese do complexo *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂]Cl₂

150 mg de *cis*-[RuCl₂(phen)₂] (0,28 mmol) foram adicionados a um balão de duas vias de 100 mL, seguido por 10 mL de etanol PA. Foi montado um sistema de refluxo e a mistura deixada sob agitação e aquecimento em banho de glicerina, tudo sobre uma placa de agitação/aquecimento (Figura 6). Após 15 minutos de refluxo iniciado, foi adicionado 45,17 mg de hidroxiiureia (0,59 mmol), junto com mais 5 mL de etanol e uma pequena fração de água para ajudar no arraste da hidroxiiureia. 180 minutos após adição da hidroxiiureia, o condensador utilizado para o refluxo foi retirado e o sistema mantido somente sob aquecimento e agitação por mais alguns minutos, para redução do volume. Na sequência, o aquecimento foi desligado e adicionados 1 mL de HCl PA. Após pouco mais de tempo, a agitação foi desligada e a suspensão deixada resfriando. A suspensão foi resfriada e submetida à filtração à vácuo. Por fim, deixado para secagem à vácuo. Rendimento médio: 18,1%

Figura 6 – Sistema de síntese para o *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂]X₂



6. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

4.3 Síntese do complexo *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂](PF₆)₂

150 mg de *cis*-[RuCl₂(phen)₂] (0,28 mmol) foram adicionados a um balão de duas vias de 100 mL, seguido por 10 mL de etanol PA. Foi montado um sistema de refluxo e a mistura deixada sob agitação e aquecimento em banho de glicerina, tudo sobre uma placa de agitação/aquecimento. Após 15 minutos de refluxo iniciado, foi adicionado 45,17 mg de hidroxiiureia (0,59 mmol), junto com mais 5 mL de etanol e uma pequena fração de água para ajudar no arraste da hidroxiiureia. 180 minutos após adição da hidroxiiureia, a coluna utilizada para o refluxo foi retirada e o sistema mantido somente sob aquecimento e agitação por mais alguns minutos, para redução do volume. Na sequência, o aquecimento foi desligado e adicionados 116 mg de KPF₆. Após pouco mais de tempo, a agitação foi desligada e a suspensão deixada resfriando. A suspensão foi resfriada e submetida à filtração à vácuo. Por fim, deixado para secagem à vácuo. Rendimento médio: 40,1%

4.4 Caracterização e reatividade

Os sólidos obtidos foram submetidos a testes de solubilidade e caracterizados pelas técnicas de espectrometria eletrônica nas regiões do ultravioleta e visível e espectrometria vibracional na região do infravermelho, conduzidos no Instituto Federal da Bahia – *Campus* Salvador; pela técnica de espectroscopia de ressonância magnética nuclear, realizada no Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear (CENAUREMN), na Universidade Federal do Ceará – *Campus* Fortaleza; pela técnica de difratometria de raios X, conduzida no Instituto Federal Baiano – *Campus* Catu; pela técnica de análise elementar CHN, conduzida na Central Analítica da Universidade de São Paulo (sob financiamento do IFBA/Edital nº 15/2021/PRPGI/IFBA), pela técnica de análise termogravimétrica, conduzida na Universidade do Estado da Bahia – *Campus* Salvador e por cromatografia líquida de alta eficiência, realizada na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia.

As análises espectroscópicas na região do infravermelho foram realizadas em um Espectrofotômetro FT-IR Spretum Two, PerkinElmer, utilizando pastilhas de KBr (brometo de potássio) como base para as análises.

O aparelho utilizado para as análises na região do ultravioleta e visível foi um Espectrofotômetro UV-Vis Varian Cary 50, com feixe duplo, fonte com lâmpada de xenônio, detectores duplos de diodo de silício, faixa de comprimento de onda de 190-1100 nm, largura de banda de aproximadamente 1,5 nm e taxa de varredura de até 24000 nm/min.

O aparelho de difração de raios X utilizado foi um Difratorômetro de Raios X XRD-7000 da marca Shimadzu, com potência de raios X gerada a voltagem de 40 kV e 30 mA, análise com faixa de varredura de 5° a 80,013°, velocidade de 0,05 a 25 graus/minuto e fonte de cobre, com radiação na faixa de 0,154 nm. Seu software, XRD Analysis foi usado para montagem e exportação dos dados.

A análise elementar foi realizada em um analisador Perkin Elmer 2400 series ii, com funcionamento baseado no método de Pregl-Dumas.

As curvas termogravimétricas e de análise térmica diferencial foram obtidas em uma termobalança SHIMADZU, modelo DTG 60H, em atmosfera de nitrogênio, com vazão constante de 50 mL.min⁻¹, utilizando-se um cadinho de alumina, contendo aproximadamente 10 mg da amostra, e razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ na faixa de 25 °C a 1000 °C.

4.5 Citotoxicidade e ensaios biológicos

Os compostos *cis*-[CoCl₂(phen)₂]Cl e *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃, bem como a hidroxíureia, tiveram suas citotoxicidades avaliadas em culturas de cardiomiócitos de ratos neonatos pelo método AlamarBlue. Já o efeito tripanocida foi avaliado pela determinação de valores de Cl₅₀, com uso de microscopia de luz, para formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*, o agente causador da doença de Chagas. Também foi avaliado o efeito sobre a proliferação de formas amastigotas – encontrados no interior de cardiomiócitos infectados –, utilizando a plataforma Cellinsight CX7 High Content Analysis. Essas etapas foram conduzidas no Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz – Fiocruz/Bahia

Os três compostos citados também foram testados em ensaios de atividade antimicrobiana, realizados no laboratório de Bioensaios do Prédio Especial do Departamento de Ciências Exatas e da Terra I da Universidade do Estado da Bahia – *Campus* Salvador, via método de microdiluição em caldo, aliada à determinação do MIC (concentração inibitória mínima) e do MBC (concentração bactericida mínima). Para os ensaios, foram utilizadas as linhagens de bactérias Sa - *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), Bs - *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), Ec-*Escherichia coli* (ATCC 94863) e Pa-*Pseudomonas aeruginosa* (Nº CCT = 0090; ATCC 27853), além das linhagens de fungos Ca - *Candida albicans* (ATCC =18804) e Cg-*Candida glabrata* (CCT 0728), obtidas da fundação André Tosello.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização dos sólidos sintetizados

5.1.1 Análise elementar

Os resultados de análise elementar para o *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃ e seu precursor são apresentados na Tabela 1, por meio dos quais é possível sugerir a quantidade de água de hidratação para cada um deles. Para o precursor, o indicado é que haja 3 mols de água para cada mol do sal complexo, enquanto para o *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃ o mais provável é de dois mols de água para cada mol do composto.

Tabela 1 – Percentagens dos elementos nos compostos a base de cobalto (III)

Elemento	FGB26		FGB21	
	%Calculado	%Experimental	%Calculado	%Experimental
C	43,75	45,57	49,72	48,25
N	15,70	14,39	9,66	9,40
H	3,95	3,65	3,82	3,81
O	13,45	-	8,28	-
Cl	14,90	-	18,35	-
Co	8,26	-	10,17	-

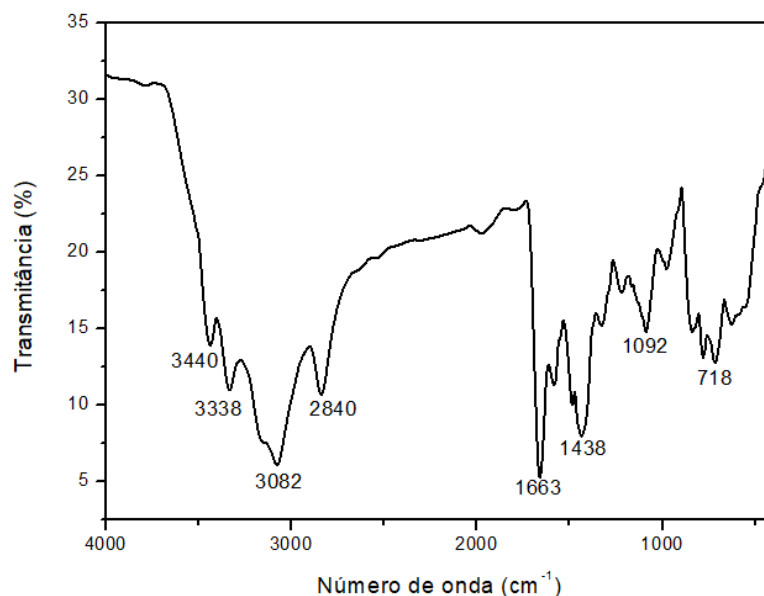
1. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

A relação entre percentuais calculados e experimentais na análise elementar CNH estão próximos ou abaixo dos encontrados em outros trabalhos consultados (MANIKSHETE et al., 2011 e CUNHA et al., 2012).

5.1.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

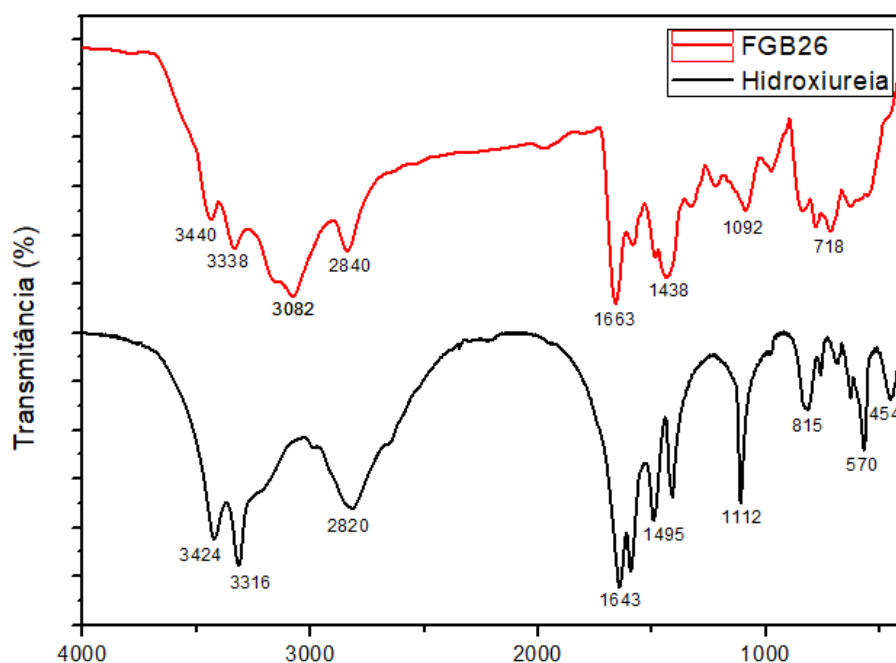
As Figuras 7 e 8 ilustram os perfis espectroscópicos na região do infravermelho para o complexo sintetizado FGB26 e para o ligante HU, respectivamente.

Figura 7 – Espectro na região do infravermelho, em pastilha de KBr, do composto FGB26



7. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Figura 8 – Espectros comparativos na região do infravermelho, em pastilha de KBr, do complexo FGB26 e do ligante hidroxiiureia



8. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Com base nas informações contidas nas Figuras 7 e 8 e Tabelas 2 e 3, é possível inferir a participação da hidroxureia na composição do complexo FGB26, visto a presença de bandas na região de 1663 cm^{-1} ($\nu\text{C=O}$), 3440 cm^{-1} ($\nu\text{N-H}$ amina primária alifática) e 3338 cm^{-1} ($\nu\text{N-H}$ amina secundária alifática), conforme Santos et al. (2020). Importante notar também o aumento no número de onda associado às vibrações $\nu\text{C=O}$, de 1643 cm^{-1} na hidroxureia para 1663 cm^{-1} no composto obtido, respaldando o caráter π -doador da hidroxureia enquanto ligante frente ao cobalto(III). O aumento de número de onda pode ser também observado para a maioria das outras ligações associadas à hidroxureia. Uma vez que o aumento no número de onda está associado a um aumento na força das ligações relacionadas, esse efeito é esperado após formação de complexos envolvendo conjunto de ligantes-centros metálicos como o perfil supracitado, já que com a “transferência” de densidade eletrônica para o centro metálico, conseqüentemente há um fortalecimento das demais ligações do ligante. Importante também considerar a possibilidade da hidroxureia estar se coordenando pelo oxigênio da hidroxila, porém os dados obtidos não sugerem algo específico para essa configuração, além da probabilidade maior ser a considerada antes devido à maior polarização da ligação C=O em comparação à C-O .

Tabela 2 – Números de onda e respectivas atribuições do composto FGB26

Número de onda (cm^{-1})	Atribuição
700 – 850	$\delta\text{C-H}$ deformação angular fora do plano no anel piridínico
1092	νC alquil - N amina
1438	$\nu\text{C=C}$ anel piridínico
1663	$\nu\text{C=O}$
2840	$\nu\text{O-H}$
3082	$\nu\text{C-H}$ estiramento da ligação
3338	$\nu\text{N-H}$ amina secundária alifática
3440	$\nu\text{N-H}$ amina primária alifática

2. Fonte: elaborado pelo autor (2023) com base em Lopes e Fascio (2004)

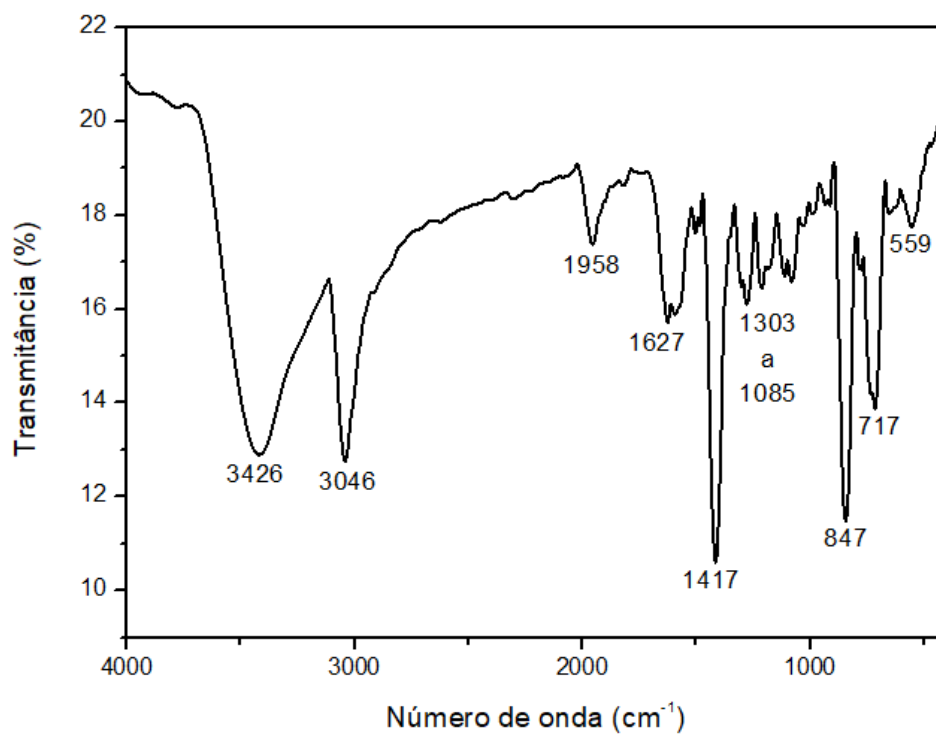
Tabela 3 – Números de onda e respectivas atribuições das principais bandas de identificação da hidroxiureia

Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição
1112	vC-N alquil-amina
1643	vC=O
3316	vN-H amina secundária alifática
3424	vN-H amina primária alifática

3. Fonte: elaborado pelo autor (2023) com base em Lopes e Fascio (2004)

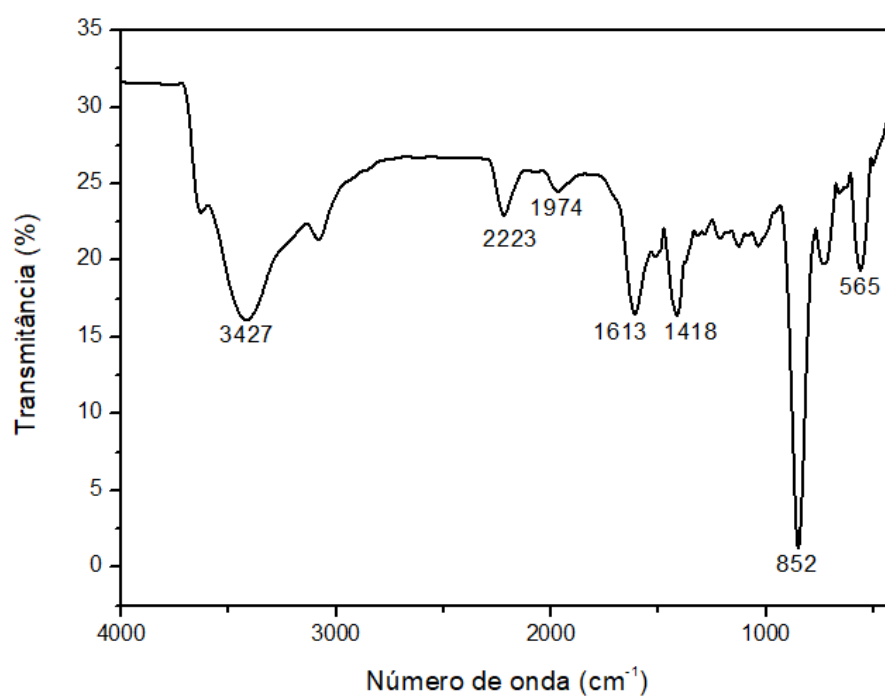
Para os complexos *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂]Cl₂ (Figura 9) e *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂](PF₆)₂ (Figura 10), também há indicativos da presença da hidroxiureia na sua composição, tais como as bandas nas regiões de 1613 e 1627 cm⁻¹ (vC=O), 3427 e 3426 cm⁻¹ (vN-H amina primária alifática), além do deslocamento da banda associada a ligação vC=O. No caso desses complexos de Ru(II), porém, observa-se diminuição nesse número de onda (ligação vC=O) em relação ao ligante isolado hidroxiureia (Figura 11), o que pode estar associado ao potencial existente de retrodoação do Ru(II), já reportado em outros trabalhos (MASUI, LEVER e DODSWORTH, 1993) e que pode ser avaliado via cálculos computacionais. Para esse caso de retrodoação envolvendo o Ru(II), é esperado um efeito no ligante oposto do observado quando o centro metálico tem característica de π -receptor, como o Co(III). No caso do Ru(II), quando esse retrodoa densidade eletrônica para orbitais antiligantes do ligante, há uma diminuição na força das demais ligações desse ligante.

Figura 9 – Espectro na região do infravermelho para o complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{HU})_2(\text{phen})_2]\text{Cl}_2$



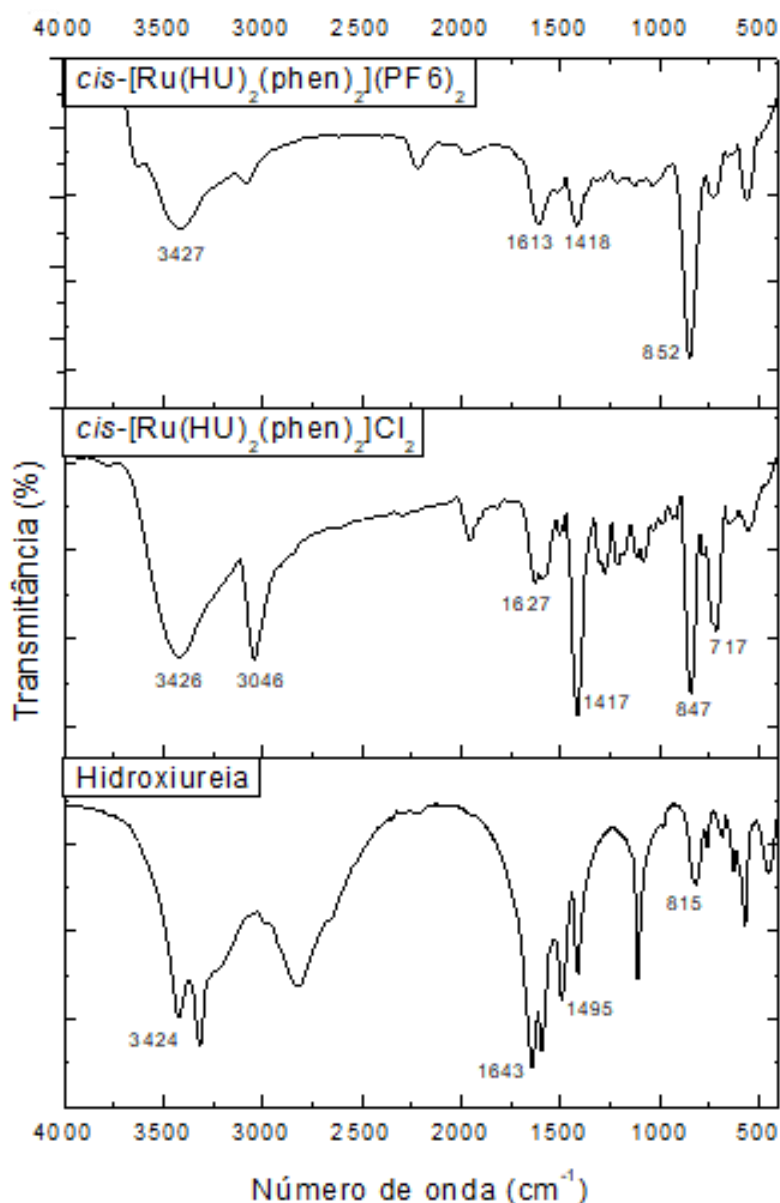
9. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Figura 10 – Espectro na região do infravermelho para o *cis*- $[\text{Ru}(\text{HU})_2(\text{phen})_2](\text{PF}_6)_2$



10. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Figura 11 – Espectro na região do infravermelho para hidroxiureia e complexos de rutênio(II)

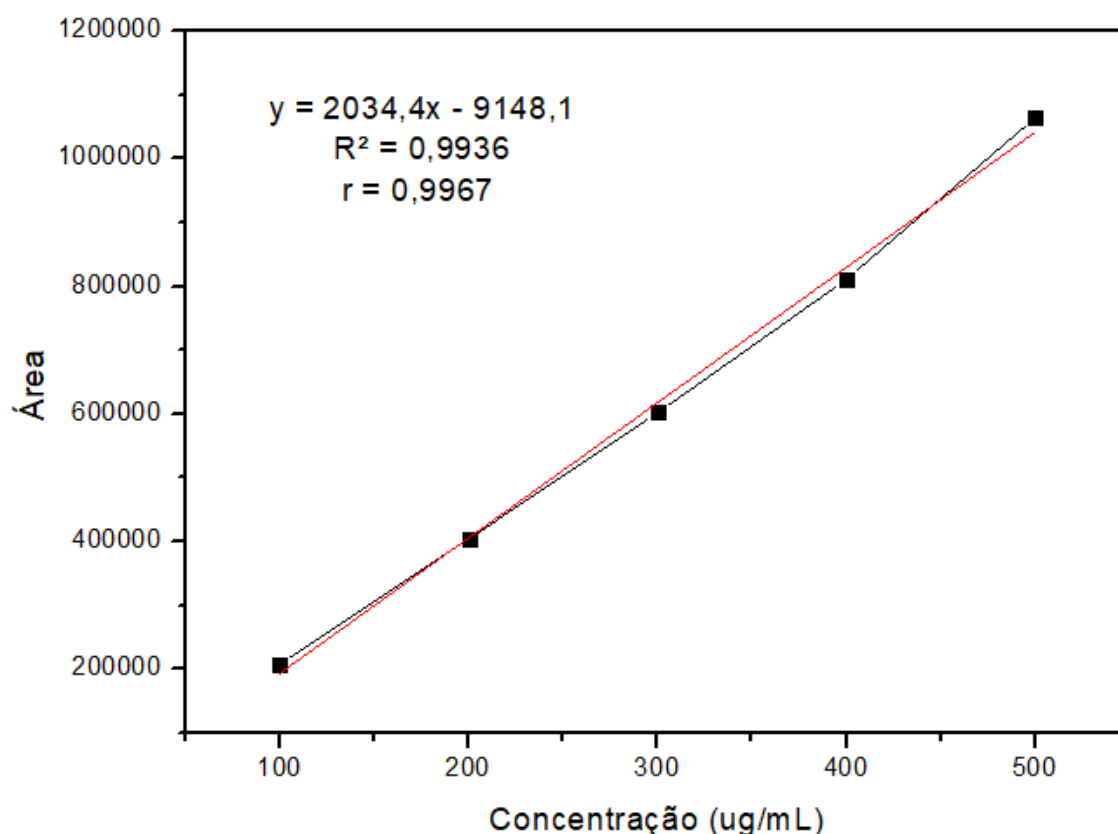


11. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

5.1.3 Ensaio de liberação da hidroxiureia por cromatografia líquida de alta eficiência

A Figura 12 mostra a curva analítica da hidroxiureia em água, a partir da qual foi obtida a equação da reta utilizada para calcular sua concentração em solução aquosa formada a partir do composto $cis-[Co(HU)_2(phen)_2]Cl_3 \cdot H_2O$.

Figura 12 – Curva de calibração da hidroxiureia em meio aquoso



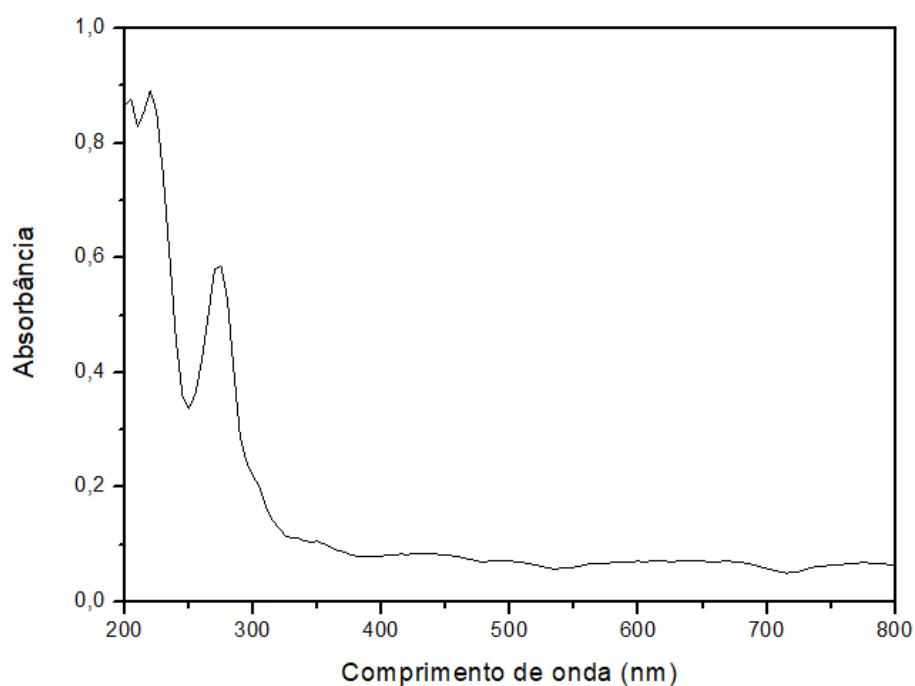
12. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

A partir do cromatograma no tempo de retenção da HU foi determinada a área, obtendo o valor médio de 36623. Substituindo esse valor na equação da reta, obtém-se a concentração de 22,5 µg de hidroxiureia por mililitro de solução. Assim, considerando duas moléculas de HU para cada mol do complexo e 100% de rendimento, 300 ug em 1 mL de solução geraria uma solução de $8,4 \times 10^{-4}$ mol.L⁻¹ de hidroxiureia, o que equivale a 63,92 µg.mL⁻¹. Logo, 35,20% de HU liberado se mantém em solução. Como no cromatograma há também sinal da hidroxilamina, que é produzida a partir de HU, não se pode afirmar se a coordenação potencializa a formação da hidroxilamina ou se essa substância se forma após a liberação de HU. Nesta última hipótese, mais de 35,20% de HU seria liberado da esfera de coordenação do Co(III) e rapidamente parte de HU seria convertido a hidroxilamina. De todo modo, o complexo FGB26 libera HU em água.

5.1.3 Espectroscopia eletrônica nas regiões do UV-Vis

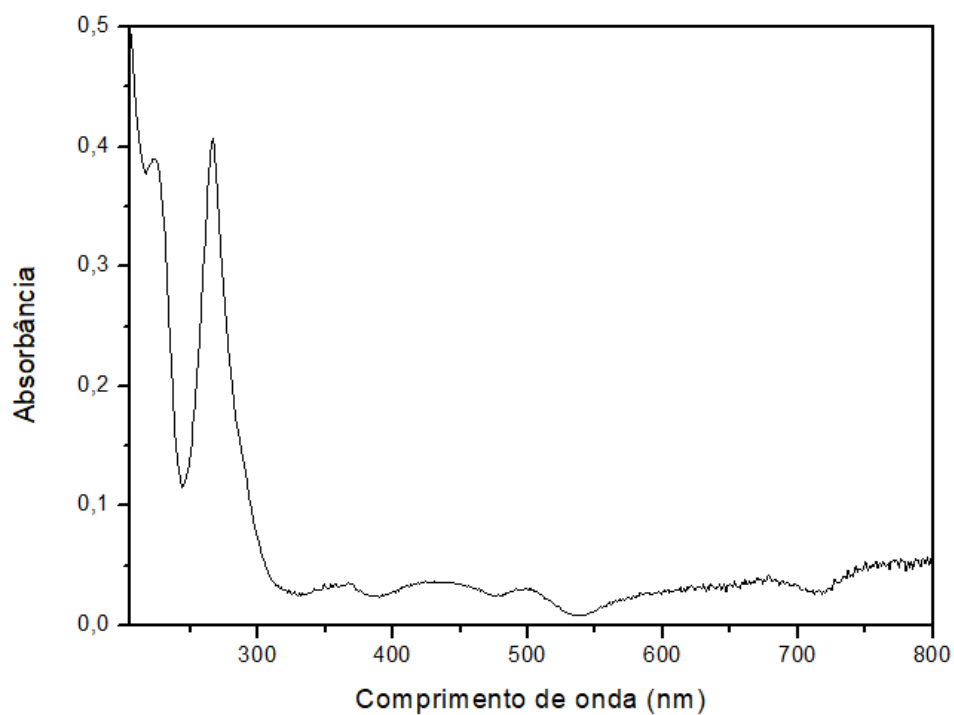
As Figuras 13 a 15 demonstram os perfis espectroscópicos nas regiões do ultravioleta e visível (UV-Vis) para os complexos sintetizados: *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃, *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂]Cl₂ e *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂](PF₆)₂, respectivamente.

Figura 13 – Espectro nas regiões UV-Vis para o composto FGB26 em água (4 $\mu\text{mol.L}^{-1}$)



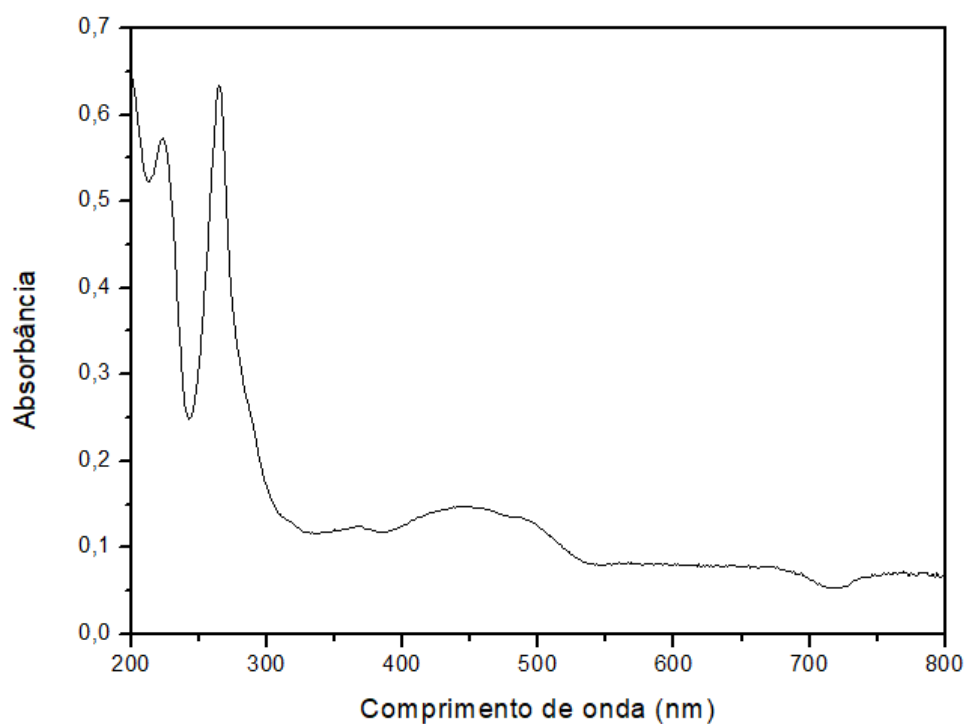
13. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Figura 14 – Espectro nas regiões UV-Vis para o composto *cis*- $[\text{Ru}(\text{HU})_2(\text{phen})_2]\text{Cl}_2$ em água



14. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Figura 15 – Espectro nas regiões UV-Vis para o composto *cis*- $[\text{Ru}(\text{HU})_2(\text{phen})_2](\text{PF}_6)_2$ em água

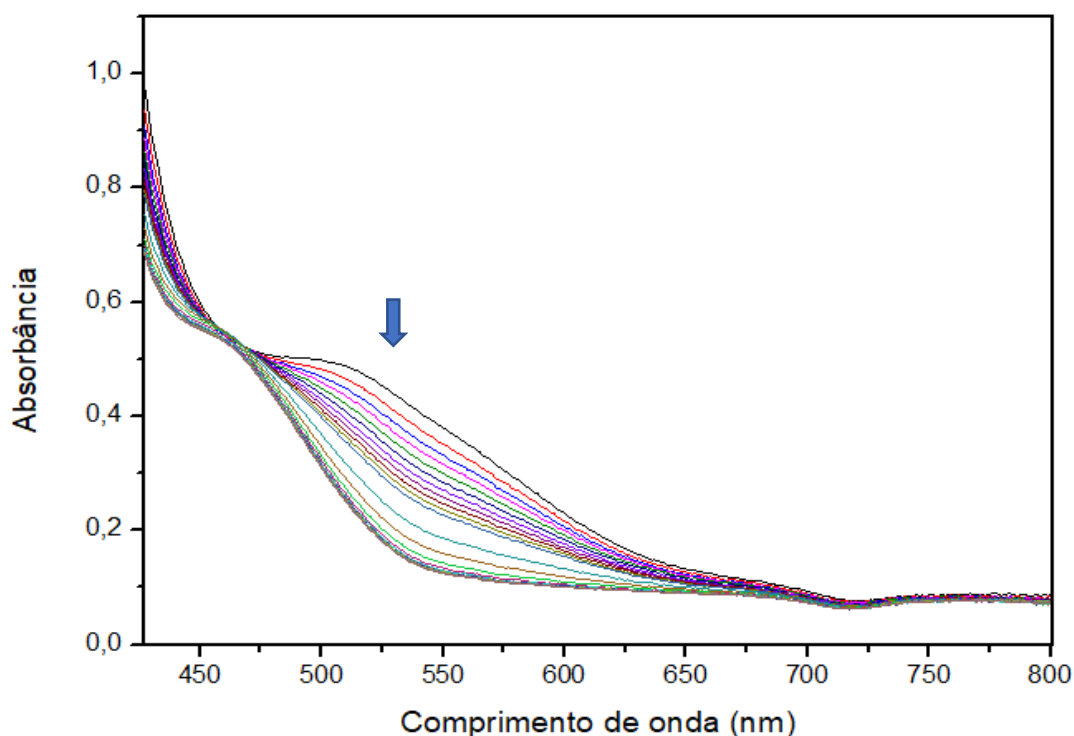


15. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Importante destacar que, como os compostos *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂]Cl₂ e *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂](PF₆)₂ têm o mesmo cátion-complexo, era de se esperar que seus espectros nas regiões UV-Vis fossem iguais. Na região do UV de fato ambos têm bandas nas mesmas regiões e com intensidades praticamente proporcionais, porém na região do visível é possível perceber algumas sutis diferenças. Ambos possuem bandas de absorção na região de 450 – 460 nm, com indícios de se tratarem do mesmo tipo de transição eletrônica, conforme será discutido mais adiante. Contudo, no espectro para o *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂]Cl₂ é possível identificar outras bandas com intensidades próximas nas regiões do visível (500 nm e 680 nm) e ultravioleta (360 nm), o que pode ser um indício de diferenças na composição química dos sólidos. Talvez devido a alguma reação ocasionada na acidificação do meio provocada pela adição de HCl.

Com o objetivo de avaliar o comportamento do FGB26 em água, foram registrados espectros dos complexos ao longo do tempo, indicados nas Figuras 16 (região do visível) e 25 (região do ultravioleta).

Figura 16 – Monitoramento dos perfis espectrais na região do visível para o FGB26 em água, ao longo de 60 minutos



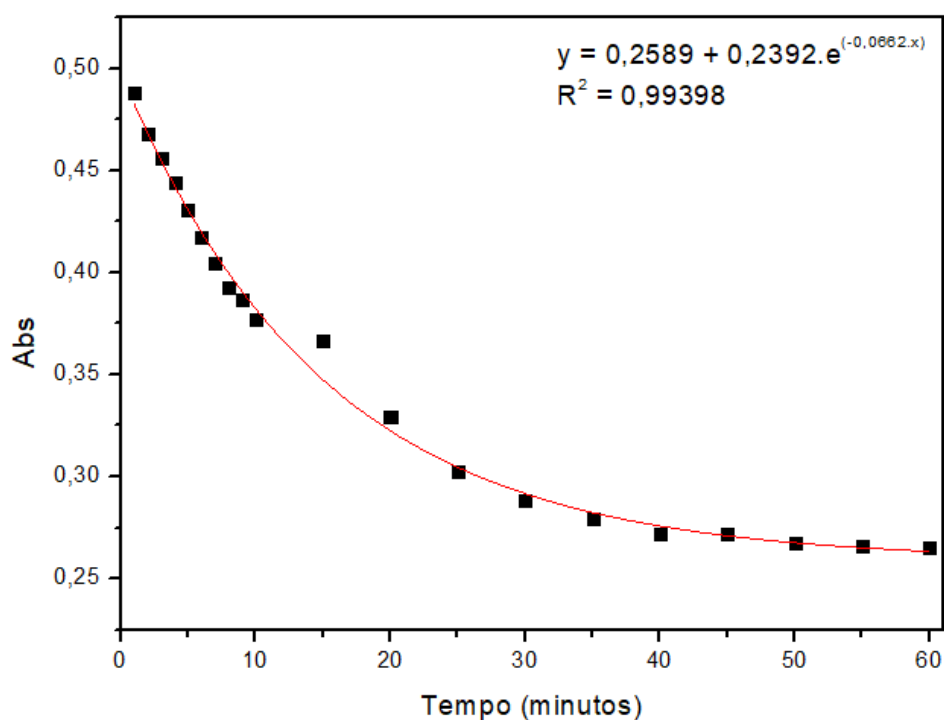
16. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Conforme ilustra a Figura 16, percebe-se que conforme avanço do tempo, há o deslocamento do máximo de absorção para comprimentos de onda mais baixos, o que acompanha a alteração de cor da solução, a qual inicia púrpura e vai até o amarelo (Figura 21). A alteração na cor está coerente com o deslocamento da banda, visto que a absorção na região de 530 nm (verde) tem cor complementar associada entre o violeta e o vermelho e a absorção na região de 490 nm (azul), tem cor complementar associada ao laranja, podendo tender ao amarelo (PRIDMORE, 2021; ATKINS, JONES e LAVERMAN, 2012).

O perfil do conjunto de espectros formado, com a presença de um ponto isosbético próximo ao máximo de absorção, indica a existência de mais de uma espécie em solução, com a provável geração da segunda espécie decorrente da reação do composto com a água. Existem três principais possibilidades a serem consideradas: reação de aquação, reação de substituição por ânions OH^- (agindo como uma base de Lewis) ou mesmo os dois tipos acontecendo.

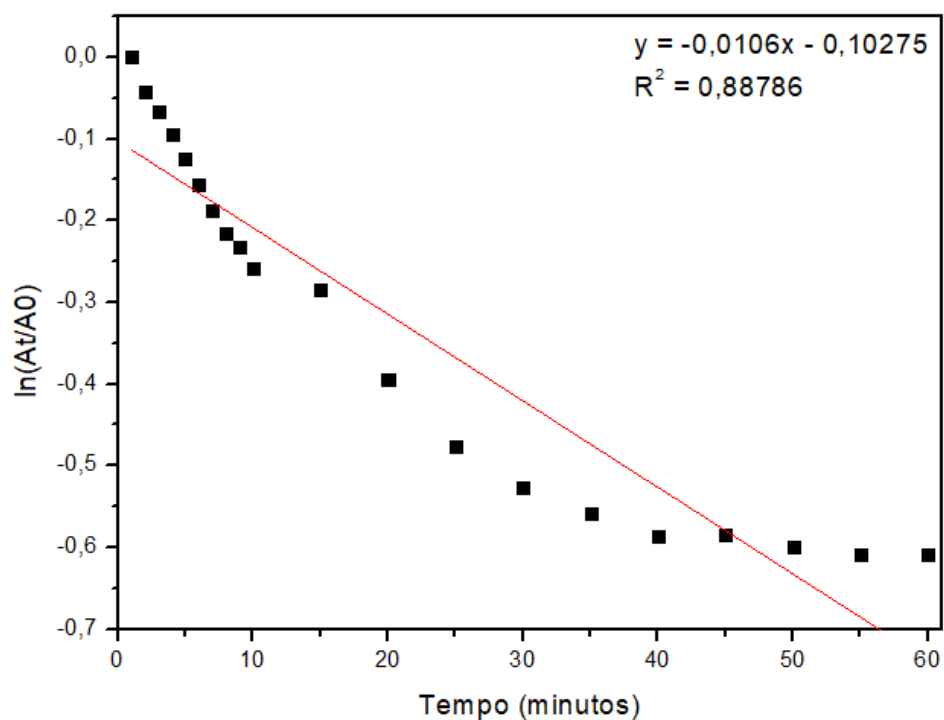
Posto que o monitoramento foi realizado utilizando água como solvente e a literatura apresenta diversos casos de reação de aquação para complexos de cobalto(III) em água (PEARSON, BOSTON e BASOLO, 1953; DASGUPTA e HARRIS, 1969), é muito provável que após adição do composto em água, já comece a ocorrer uma substituição do ligante hidroxureia por moléculas de água (eq. 07 e eq. 08) ou por ânions OH^- (eq. 09 e eq. 10). A liberação de moléculas de HU em meio aquoso também está de acordo com os dados cromatográficos obtidos. A fim de obter mais informações sobre o mecanismo, foi realizado também um estudo cinético com base no monitoramento tomado, considerando $\text{Abs} \times \text{tempo}$ (Figura 17), $\ln(\text{At}/\text{A0}) \times \text{tempo}$ (Figura 18) e $1/\text{Abs} \times \text{tempo}$ (Figura 19). O perfil obtido para esses gráficos (não lineares) já indica que não se trata de reação de ordem zero; porém também dificulta afirmar que seja de primeira ou segunda ordem, portando, deve se tratar de uma cinética complexa, envolvendo mais de um tipo de reação conforme sugerido acima. Dentre as duas opções avaliadas através de função linear, o que apresentou valor de R^2 mais preciso foi o obtido a partir de $1/\text{Abs}$ (Figura 19). Contudo, é importante frisar que para determinar que uma reação seja de segunda ordem, seria ainda preciso realizar o estudo cinético em diferentes concentrações de reagentes.

Figura 17 – Curva cinética: absorvância em função do tempo de exposição do composto FGB26 em água



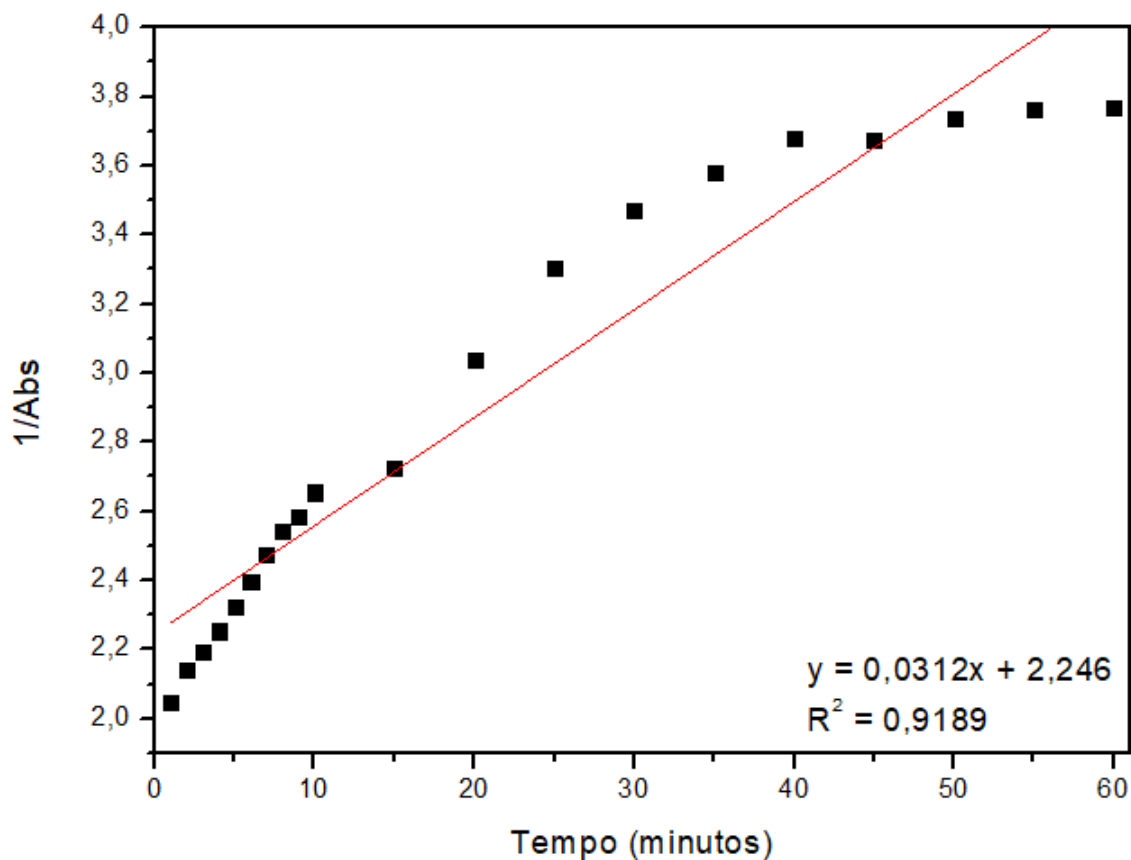
17. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Figura 18 – Curva cinética: $\ln$ da razão entre absorvância (t) e absorvância (0) em função do tempo de exposição do composto FGB26 em água



18. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Figura 19 – Curva cinética: inverso da absorvância em função do tempo de exposição do composto FGB26 em água

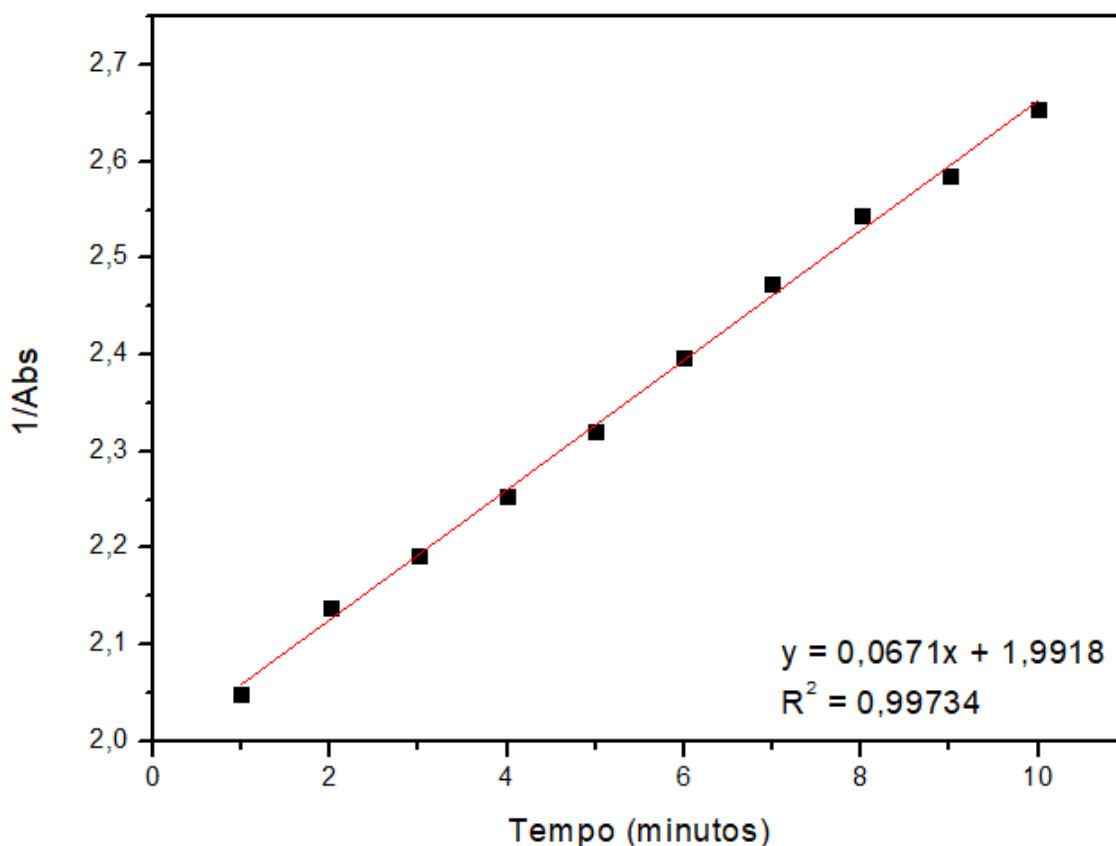


19. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Fazendo um recorte dos gráficos até o minuto 10, nota-se uma certa linearidade nos gráficos, principalmente nos de eixo Y $\ln(A_t/A_0)$ e $1/Abs$ (Figura 20), com seus R^2 de 0,99472 e 0,99734, respectivamente. Partindo dos pressupostos que uma boa linearidade no $\ln(A_t/A_0)$ está associado a uma reação de primeira ordem e boa linearidade no $1/Abs$ está associada uma reação de segunda ordem e levando em conta que, para uma reação de aquação é esperada uma reação de primeira ordem e para uma reação com a hidroxila é esperada uma reação de segunda ordem, é possível que já aconteça a substituição tanto por H_2O quanto por OH^- já nos primeiros minutos da reação. Outro pressuposto importante a se considerar é que quando um dos reagentes está em quantidade muito superior ao outro (seria o caso da água frente ao FGB26), é possível que uma reação de segunda ordem aparente ser de primeira, ou seja, também pode-se considerar que mesmo que esteja acontecendo majoritariamente a substituição por OH^- , não ficaria explícito de início. Para essa

etapa é esperada uma acidificação do meio pela liberação de H^+ , então estaria de acordo com a variação observada no pH da solução – que mudou de 7,53 da água antes da adição do composto, para 3,07 após a adição.

Figura 20 – Curva cinética: inverso da absorbância em função do tempo de exposição do composto FGB26 em água até o tempo 10 minutos



20. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

A partir do tempo 10 min, a reação já fica mais complexa. O estudo realizado por PEARSON, BOSTON e BASOLO (1953), que apresenta reação de aquação para um complexo de $Co(III)$, mostrou que com a acidificação do meio, há uma tendência maior da formação do complexo com H_2O em detrimento ao OH^- , com formação de um equilíbrio. É possível que aconteça algo semelhante nessa etapa mais complexa (eq. 11 a eq. 13). No entanto, nota-se que mesmo nesse intervalo de tempo o pH da solução continua a baixar, o que pode estar relacionado à tendência do equilíbrio entre ligante H_2O e ligante OH^- ou ainda, a

uma contribuição da hidroxíureia, que demonstra caráter ácido frente à água conforme Figura 22 e artigo de Kofod (1955).

Figura 21 – Variação de cor da solução aquosa do complexo FGB26 em temperatura ambiente



21. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

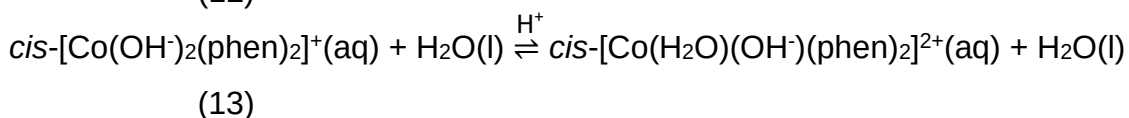
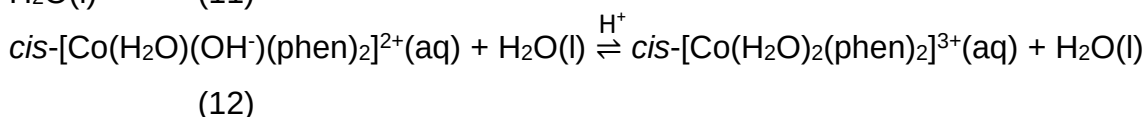
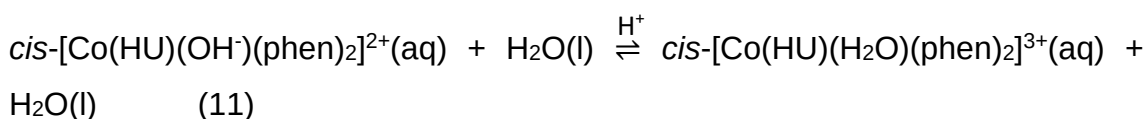
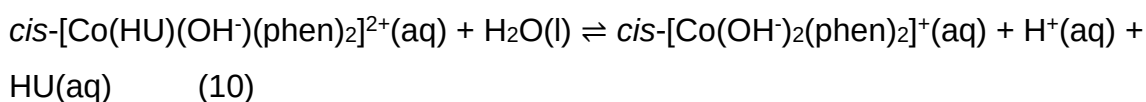
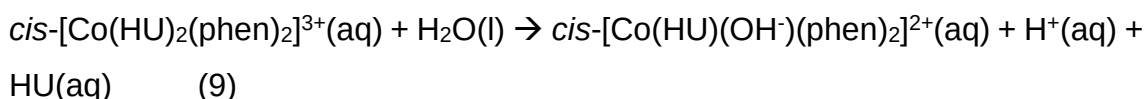
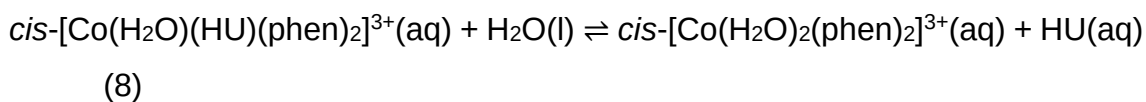
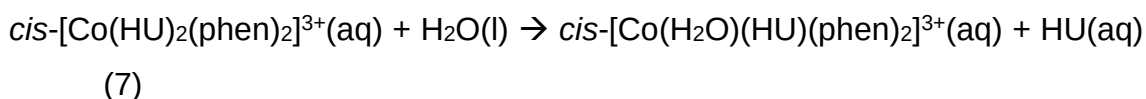
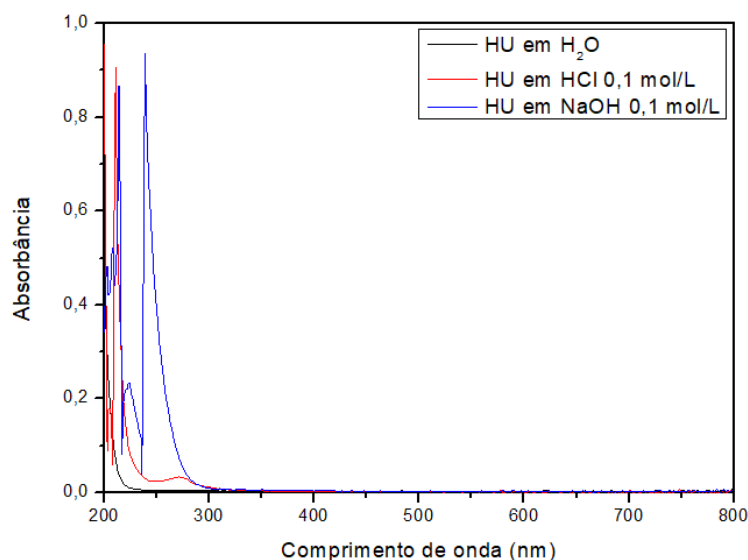


Figura 22 – Espectros de absorção no UV-Vis da hidroxiureia em diferentes meios



22. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

De acordo com o observado na Figura 23, onde também é mostrado o monitoramento de perfil espectral na região do visível para o FGB26, mas dessa vez em solução de tampão fosfato, nota-se que nesse caso não há deslocamento da banda como há no monitoramento realizado em água; o máximo de absorção da banda continua em 530 nm. Esse teste reforça que as interações químicas entre o composto e o solvente são determinantes para a ocorrência da reação ilustrada no monitoramento e que a solução tampão fosfato dá outro caráter a essas interações. Essa inferência é válida tanto para a possibilidade de reação de aquação, quanto ácido-base.

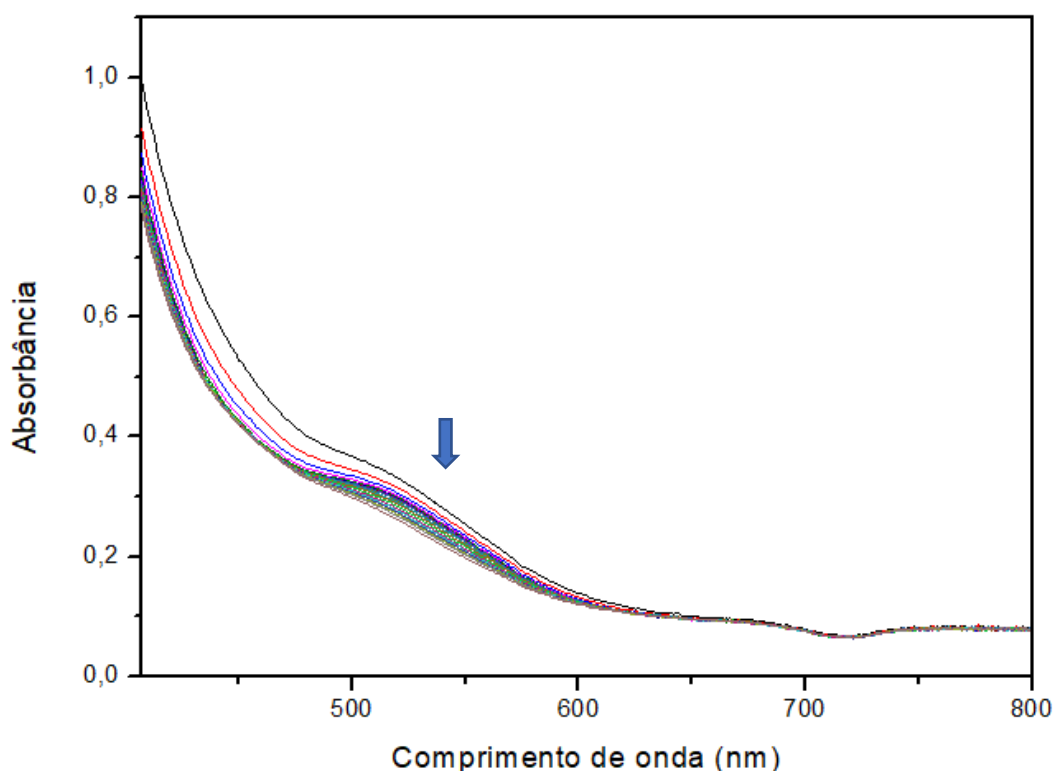
Tendo em vista reação de aquação, é possível que a solução tampão esteja estabilizando o composto em sua forma original ou promovendo a formação de um complexo com os íons fosfato, impedindo a aquação ou outras mudanças na esfera de coordenação. Importante frisar que soluções tampão costumam ter força iônica mais alta do que a água pura.

Sob o ponto de vista da reação ácido-base, visto que o objetivo da solução tampão é manter a mesma faixa de pH durante todo processo (BEYNON e EASTERBY, 2004), o efeito tampão pode estar estabilizando o pH e com isso prevenindo as reações observadas via alteração do espectro.

Para elucidar melhor de qual forma a solução tampão está influenciando o mecanismo de reação, é necessário medir o pH dessa solução em diferentes momentos e realizar uma avaliação com tampão de força iônica.

Para o caso de o efeito observado estar realmente relacionado a reações ácido-base, a informação da manutenção do perfil de absorção no pH do tampão testado (pH 7,4), é válida, tendo em vista a utilização em potencial do composto como fármaco e o pH do meio é uma das características que devem ser levadas em conta no planejamento da atividade e seletividade de um fármaco a um tipo específico de órgão, tecido ou célula (TORCHILIN, 2000).

Figura 23 – Monitoramento dos perfis espectrais na região do visível para o FGB26 em solução de tampão fosfato, ao longo de 60 minutos

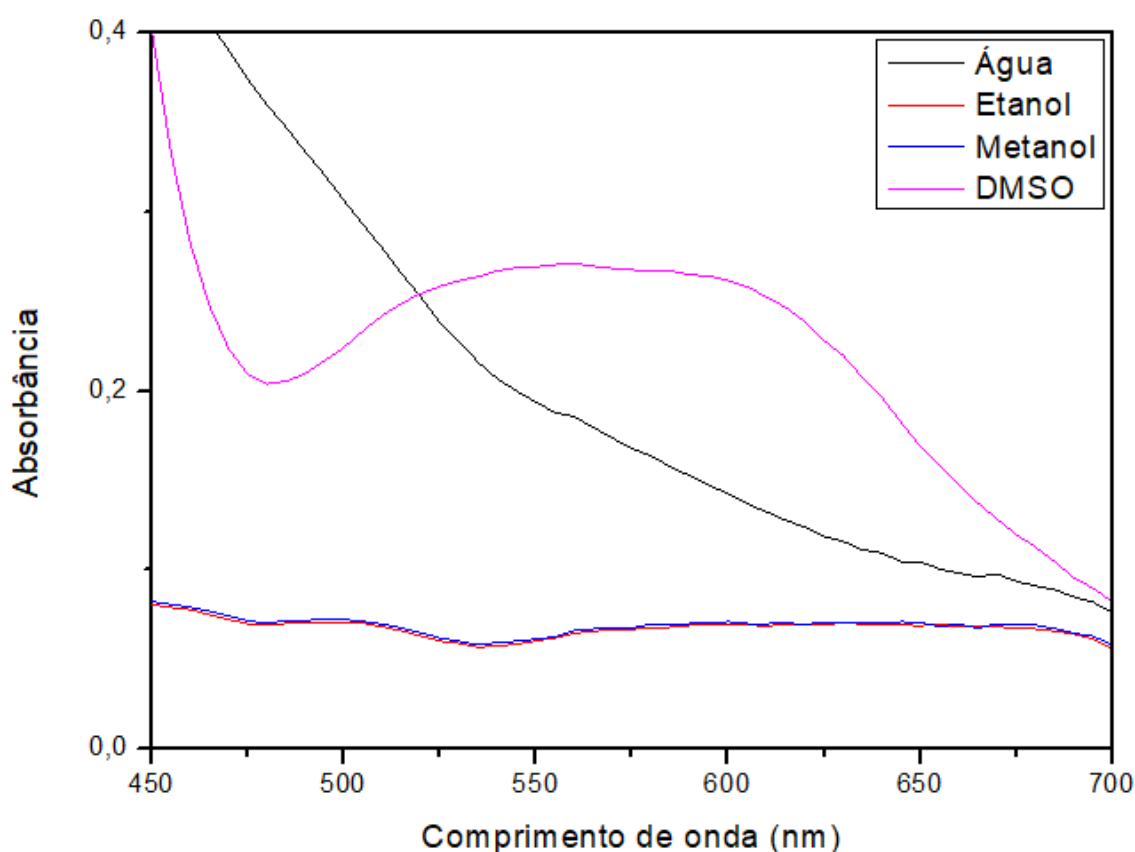


23. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Os indícios já apresentados apoiam a possibilidade de que a banda na região de 530 nm esteja associada à transferência de carga ligante-metal (TCLM) – com o ligante hidroxiiureia transferindo densidade eletrônica para o centro metálico –, inferência apoiada também pelos valores de absorvidade molar apresentados na Tabela 4 e o efeito do solvatocromismo observado na Figura 24, o que está relacionado a uma variação na frequência da transição

com a mudança na permissividade do solvente. Outros complexos de Co(III) apresentam banda na região do visível que podem ser atribuídas a TCLM (BALZANI et al, 1965; PORTER, 1983).

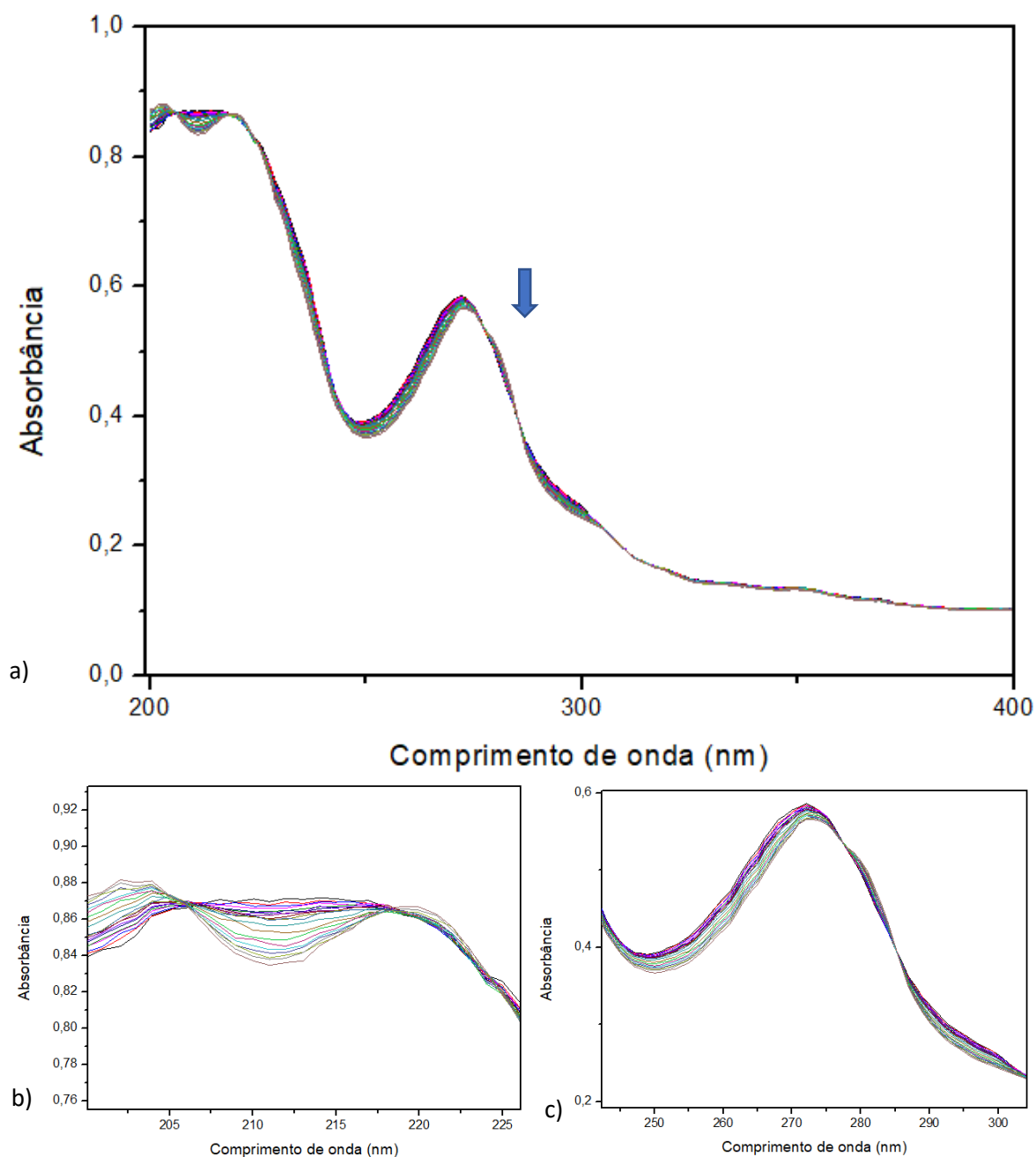
Figura 24 – Espectros de absorção no UV-Vis do complexo FGB26 em diferentes solventes



24. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

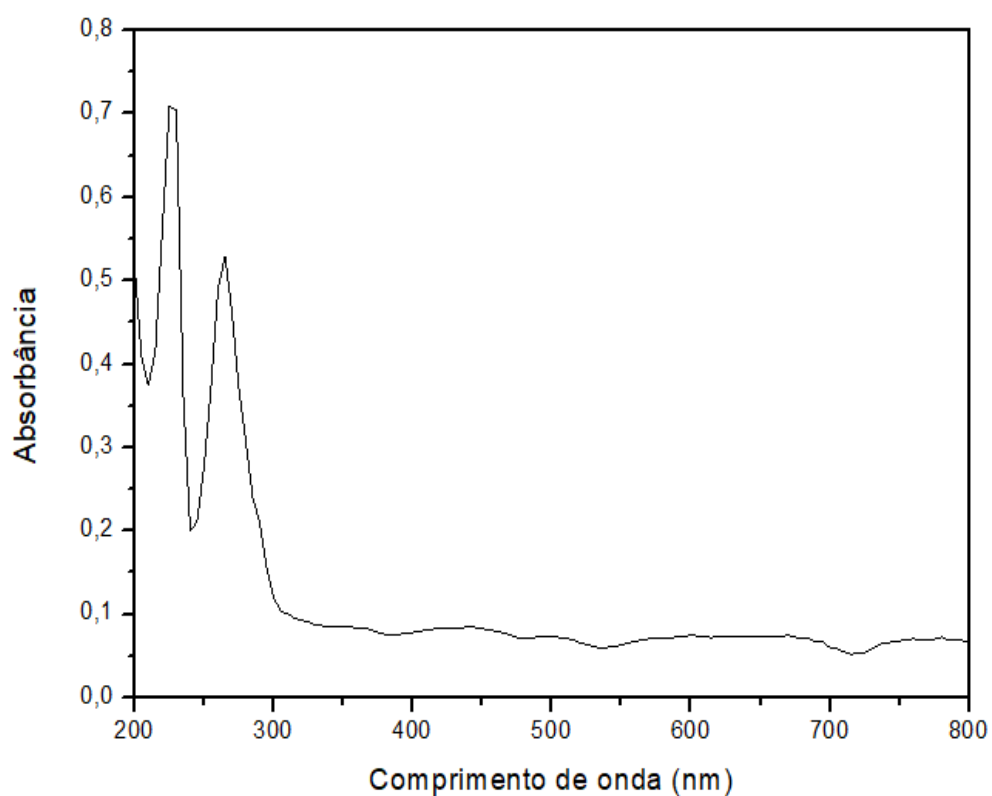
Já as absorções na região do ultravioleta estão associadas a transições intraligantes, sendo a banda na região de 270 nm atribuída às transições da 1,10-fenantrolina e da hidroxiureia e na região de 220 nm atribuída a transições da 1,10-fenantrolina. Essas atribuições são feitas com respaldo dos perfis espectrais dos ligantes 1,10-fenantrolina (Figura 26) e hidroxiureia (Figura 27), os quais apresentam bandas nessas mesmas regiões indicadas. A Tabela 4 resume essas atribuições.

Figura 25 – Monitoramento dos perfis espectrais na região do ultravioleta para o FGB26 em água, ao longo de 60 minutos: a) espectro completo na região do UV; b) recorte do espectro entre 200 e 225 nm; c) recorte do espectro entre 240 e 300 nm.



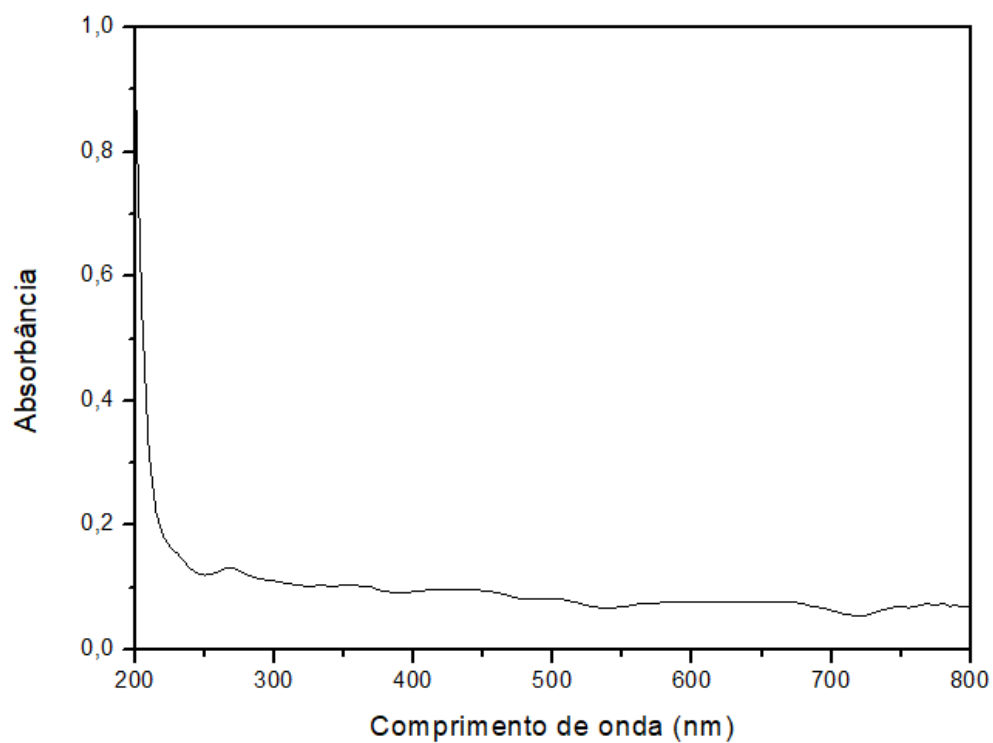
25. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Figura 26 – Espectro nas regiões UV-Vis para a 1,10-fenantrolina em água



26. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Figura 27 – Espectro nas regiões UV-Vis para a hidroxiiureia em água



27. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

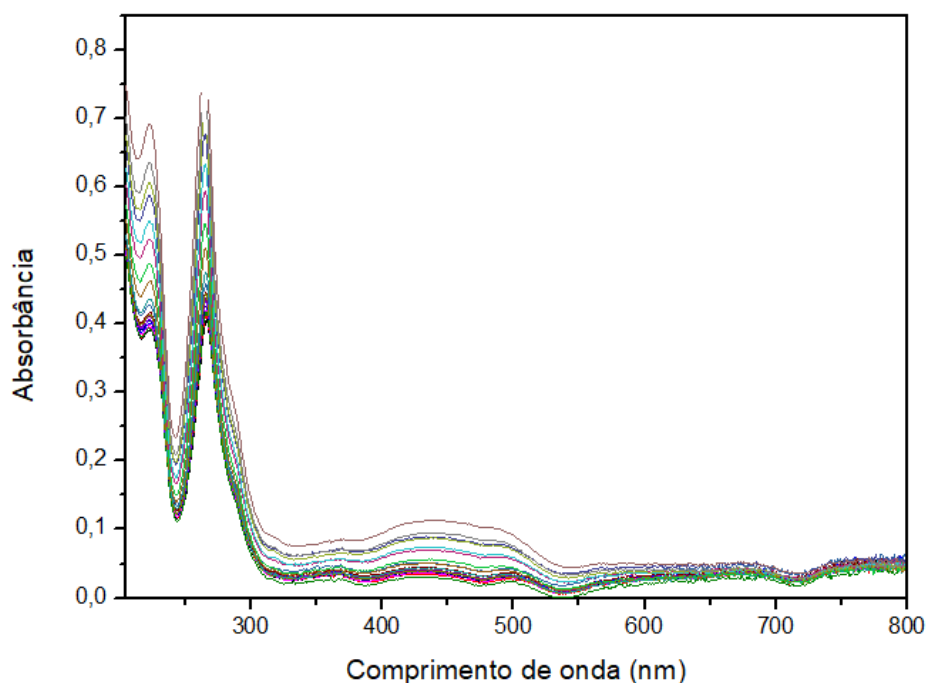
Tabela 4 – Dados espectroscópicos nas regiões do UV-Vis do complexo FGB26 e suas respectivas atribuições, em solução aquosa

Banda (nm)	log ϵ	Atribuição
220	5,67	IL (π phen $\rightarrow$ π^* phen)
270	5,48	IL (π phen $\rightarrow$ π^* phen) ou (π HU $\rightarrow$ π^* HU)
530	1,81	$d-d$, com contribuição TCLM

4. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Para o monitoramento do *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂]Cl₂ em água (Figura 28), não houve deslocamento de banda relevante, o que indica reação em menor grau em comparação ao complexo de cobalto. É possível que essa diferença esteja associada às diferenças entre a carga nuclear efetiva do cobalto(III) e do rutênio(II), onde o cobalto tem maior relação carga/raio e, portanto, maior efeito polarizante (ATKINS, JONES e LAVERMAN, 2012). Outro dado importante para ser registrado é a cor da solução, amarela.

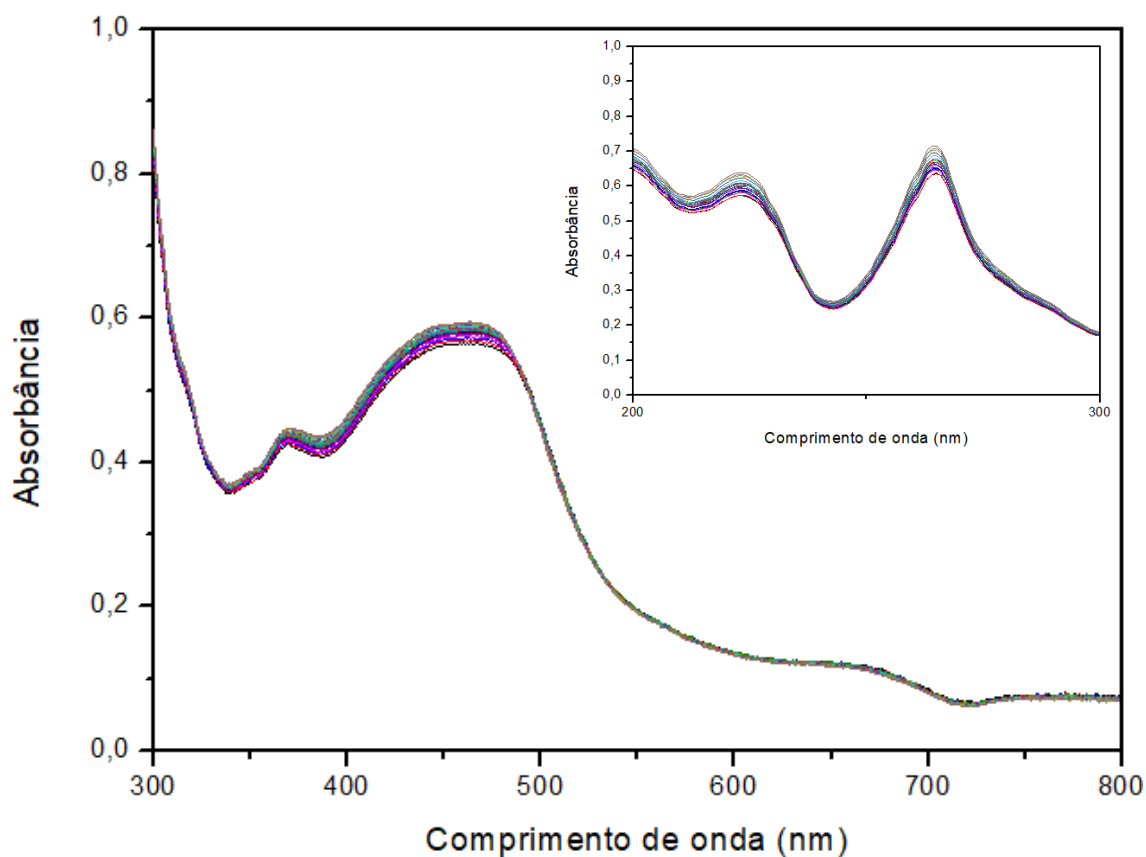
Figura 28 – Monitoramento dos perfis espectrais nas regiões do ultravioleta e visível para o *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂]Cl₂, ao longo de 60 minutos



28. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

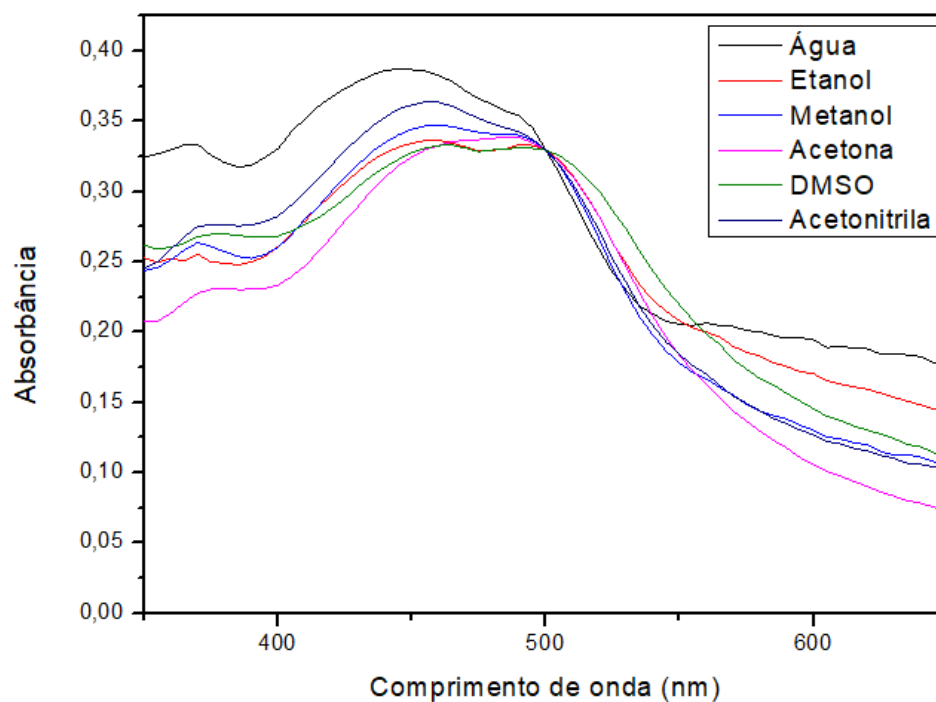
Assim como no caso do composto de cobalto, a banda de maior absorção na região do visível – região de 450 nm para o *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂]Cl₂ e região de 460 nm para o *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂](PF₆)₂ (Figura 29) – também podem estar relacionadas a transferência de carga, mas nesse caso do tipo metal-ligante, visto o caráter π -doador de densidade eletrônica do Ru(II) (MASUI, LEVER, e DODSWORTH, 1993). A hipótese de que trata-se de banda de transferência carga é também apoiada nesse caso na observação do solvatocromismo, no qual vê-se o deslocamento no máximo de absorção em diferentes solventes (Figuras 30 e 31).

Figura 29 – Monitoramento dos perfis espectrais na região do ultravioleta e visível para o *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂](PF₆)₂ em água, ao longo de 60 minutos



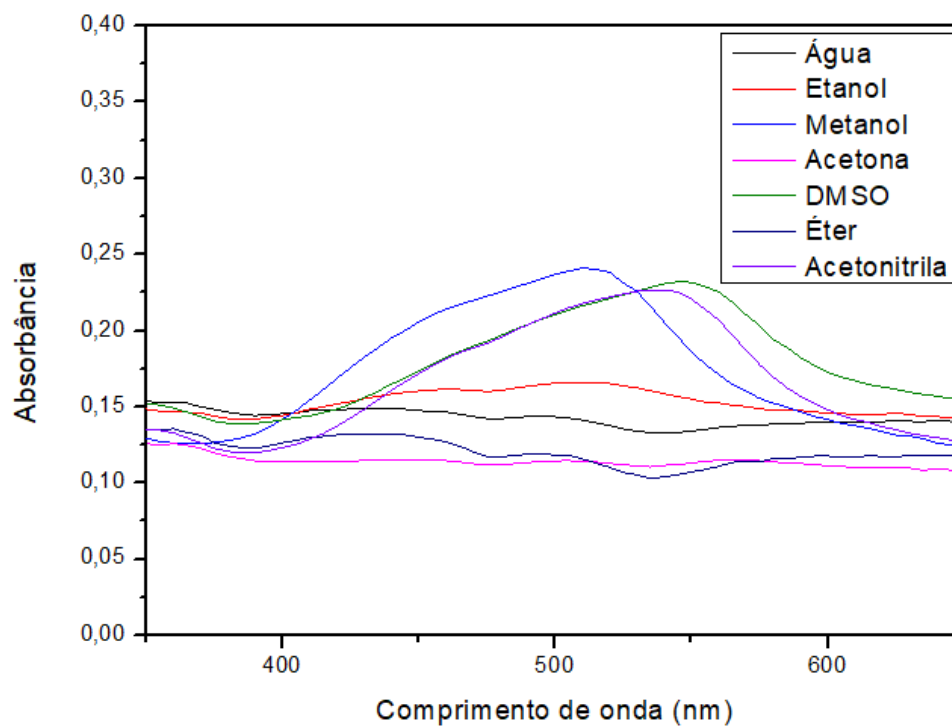
29. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Figura 30 – Espectros de absorção no UV-Vis do complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{HU})_2(\text{phen})_2](\text{PF}_6)_2$ em diferentes solventes



30. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

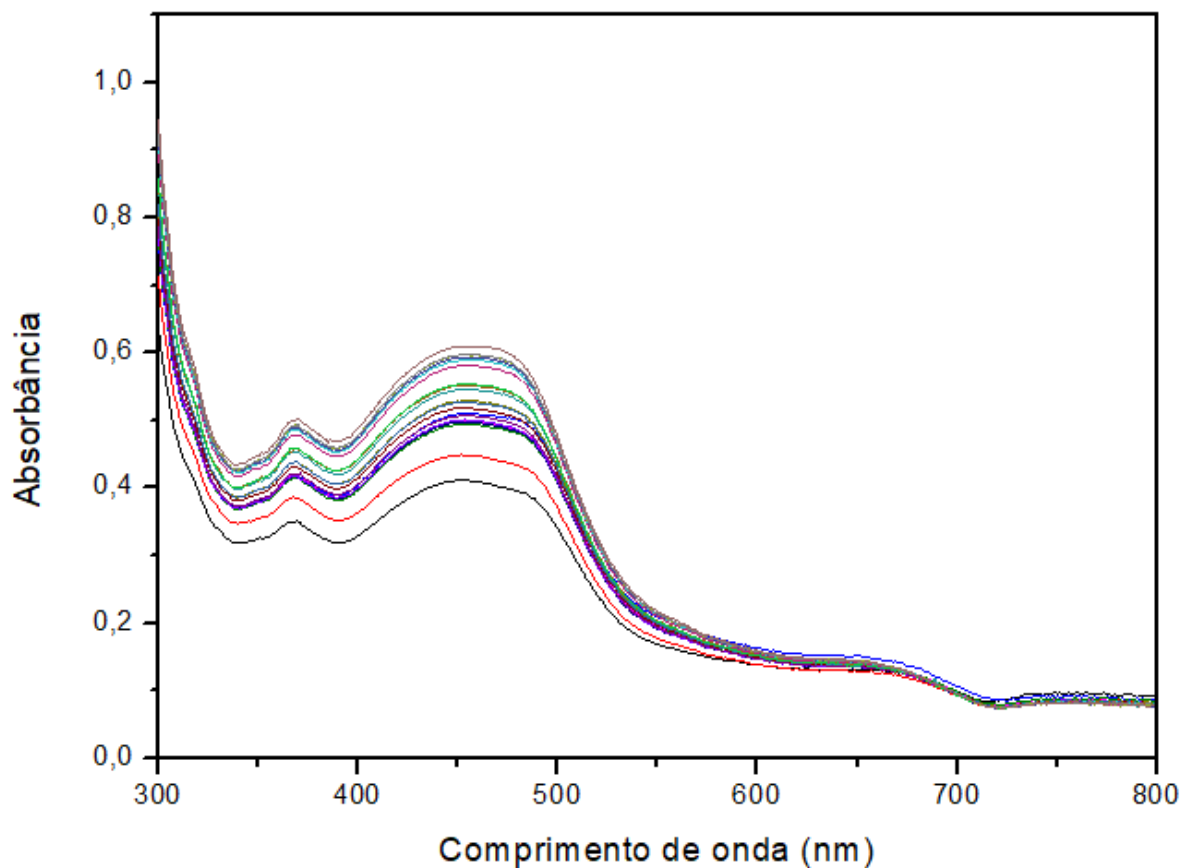
Figura 31 – Espectros de absorção no UV-Vis do complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{HU})_2(\text{phen})_2]\text{Cl}_2$ em diferentes solventes



31. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Assim como observado para o FGB26, no monitoramento em solução de tampão fosfato para o *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂](PF₆)₂ (Figura 32), também não observa-se deslocamento da banda ao longo do tempo.

Figura 32 – Monitoramento dos perfis espectrais na região do visível para o *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂](PF₆)₂ em solução de tampão fosfato, ao longo de 60 minutos

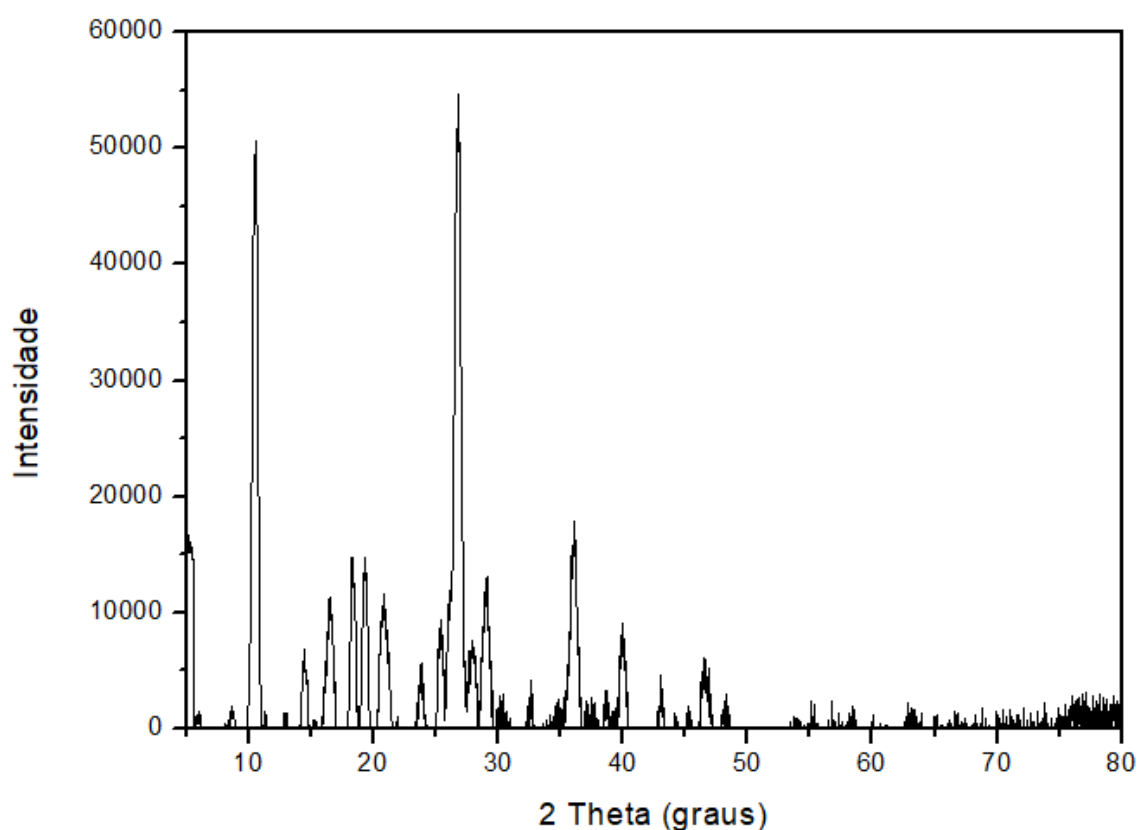


32. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

5.1.4 Difratometria de Raios-X em Pó

Dentre os compostos de Co(III) e Ru(II) contendo hidroxiureia, apenas o FGB26 apresentou perfil cristalográfico com picos destacados. O difratograma mostrado na Figura 33 apresenta os ângulos de difração com maior incidência no sólido analisado.

Figura 33 – Difratoograma obtido para o FGB26



33. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

A análise mais detalhada do difratograma foi feita utilizando os picos em 2θ 10,5° e 26,7°, onde através das equações de Scherrer (eq. 3) e Bragg (eq. 4), foram calculadas as distâncias interplanares (d) e o tamanho médio dos cristais, apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 – Características cristalográficas do sólido FGB26

Amostra	2 θ	Tamanho do cristalito	
	(graus)	d (Å)	(nm)
<i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₃	10,497	8,42	15,984
	26,737	3,331	12,675

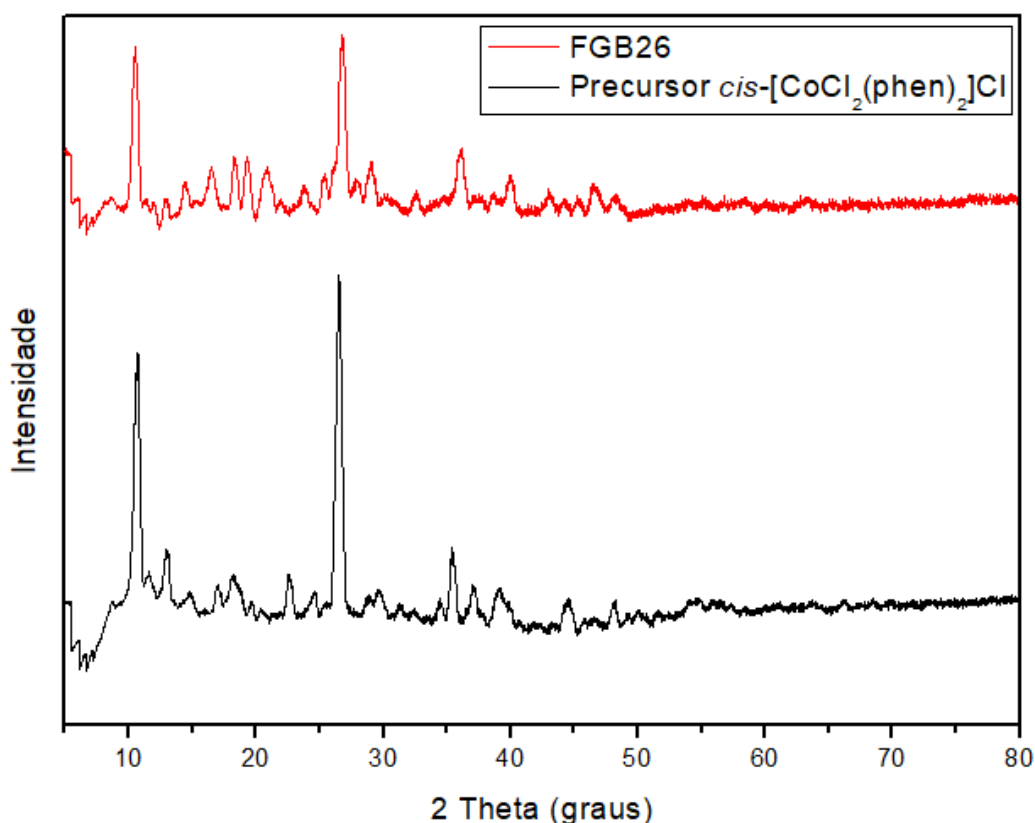
5. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Também foi possível a obtenção dos difratogramas para o precursores *cis*-[CoCl₂(phen)₂]Cl e *cis*-[RuCl₂(phen)₂]. A obtenção de dados cristalográficos para o precursor do composto de cobalto em estudo possibilita a comparação

entre ambos. É possível perceber a grande semelhança entre seus perfis cristalográficos (Figura 34), com acréscimos de alguns picos nas regiões 2θ $18,5^\circ$ e $19,5^\circ$ no perfil do complexo FGB26. Essa semelhança indica a manutenção de uma estrutura semelhante, com algumas pequenas modificações, possivelmente ocasionadas pela substituição de ligante. Também foram calculadas suas distâncias interplanares (d) e o tamanho médio dos cristais, apresentados na Tabela 6. Ambos padrões apresentam perfil policristalino, em função da quantidade de picos.

Comparando as características cristalográficas a partir dos picos selecionados, observa-se um pequeno aumento na média da distância interplanar do precursor para o FGB26. Essa é uma modificação esperada, visto a substituição dos ligantes Cl^- (de menor tamanho) pelas moléculas de HU (de maior tamanho), o que ocasionaria um aumento no tamanho composto.

Figura 34 – Comparação dos perfis cristalográficos do FGB26 (em vermelho) e seu precursor (em preto)



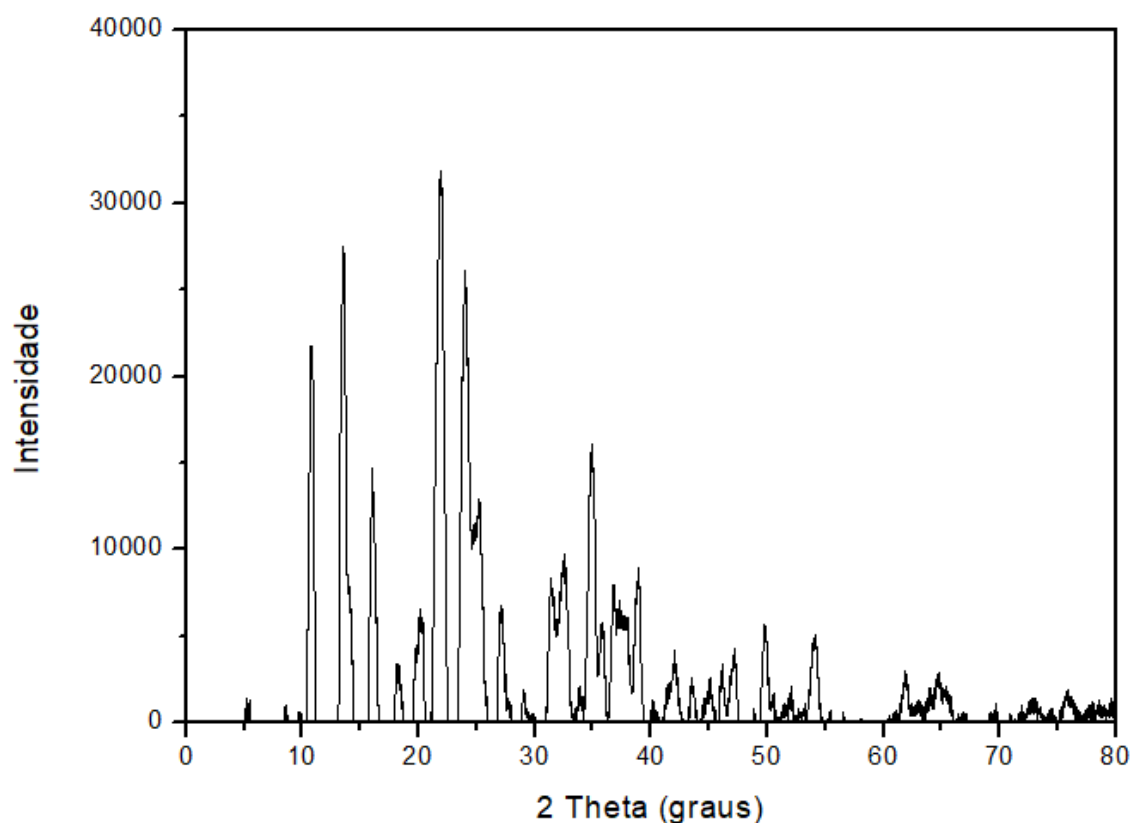
34. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Tabela 6 – Características cristalográficas do sólido *cis*-[CoCl₂(phen)₂]Cl

Amostra	2θ		Tamanho do cristalito
	(graus)	d (Å)	(nm)
<i>cis</i> -	10,634	8,312	13,624
[CoCl ₂ (phen) ₂]Cl	26,508	3,36	14,9

6. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Na sequência, seguem também o perfil (Figura 35) e características cristalográficas (Tabela 7) obtidas para o precursor *cis*-[RuCl₂(phen)₂]. Nesse caso, porém, não foi possível fazer o comparativo com seus derivados *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂]Cl₂ e *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂](PF₆)₂, pois os mesmos não apresentaram estrutura cristalina definida pela técnica de raios X em pó, diferente do seu precursor.

Figura 35 – Difratograma obtido para o precursor *cis*-[RuCl₂(phen)₂]

35. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Tabela 7 – Características cristalográficas do sólido *cis*-[RuCl₂(phen)₂]

Amostra	2θ	Tamanho do cristalito	
	(graus)	d (Å)	(nm)
<i>cis</i> -[RuCl ₂ (phen) ₂]	10,772	8,206	19,823
	13,531	6,538	16,341
	21,84	4,066	11,232
	24,293	3,661	5,778

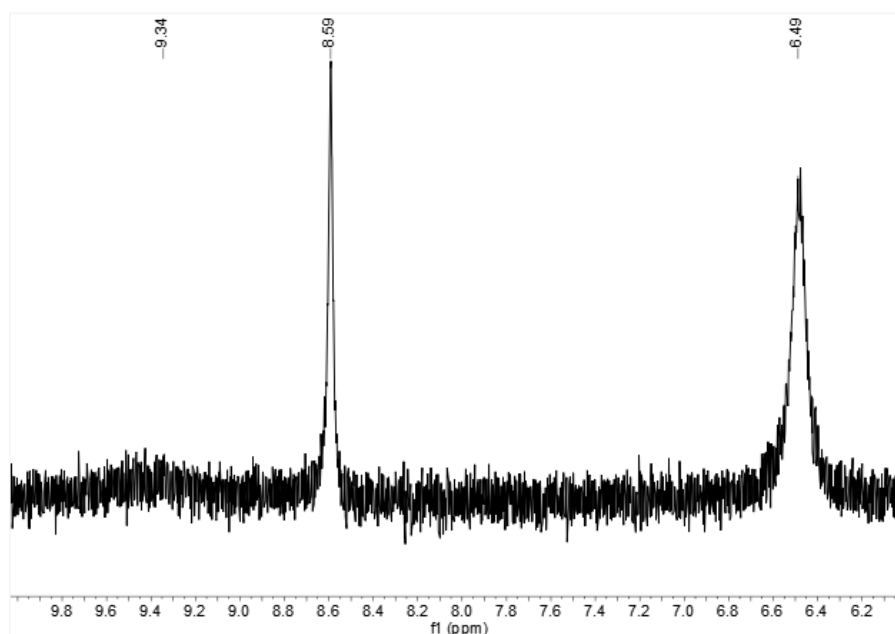
7. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Relacionando as informações obtidas a partir da cristalografia em pó com os objetivos deste trabalho, se evidenciou pertinente a utilização da técnica para análise desses compostos de coordenação com potencial utilização como fármacos; tendo em vista que fármacos, como substâncias que devem interagir através de mecanismos específicos no organismo, têm seus efeitos influenciados pela localização dos seus sítios ativos e possíveis variações polimórficas (SHI et al, 2022). Essa relação destaca a importância de conhecer e controlar a configuração espacial na qual o composto está formado e a técnica de difração de raios X em pó – ainda não muito utilizada nesse campo – tem um papel muito interessante nessa análise.

5.1.5 Ressonância Magnética Nuclear

As Figuras 36 e 37 apresentam os espectros de ¹H para a hidroxiiureia (Figura 38) e para o complexo FGB26.

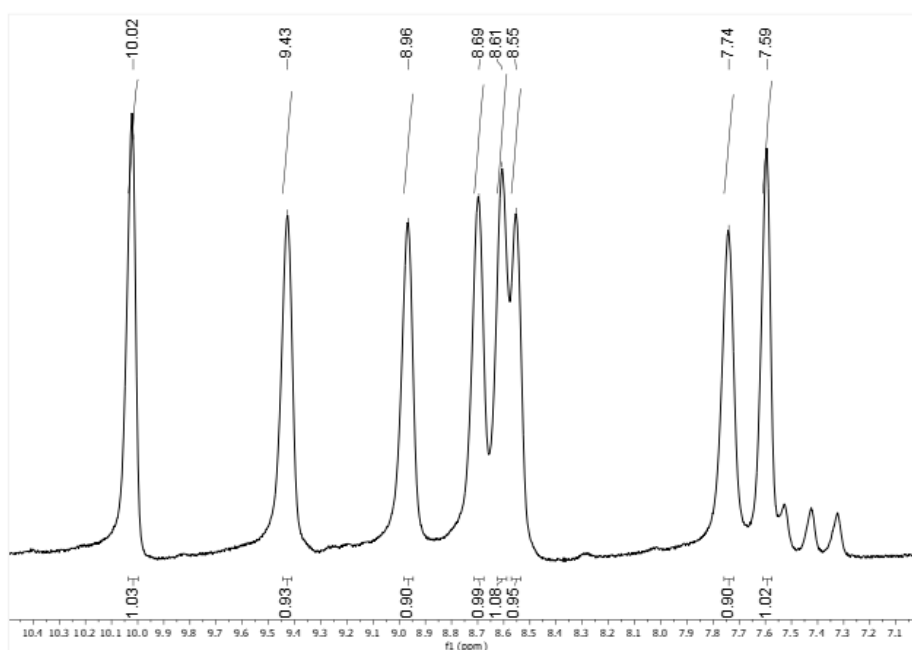
Figura 36 – Espectro de RMN de ^1H da hidroxiureia em óxido de deutério (D_2O)



36. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

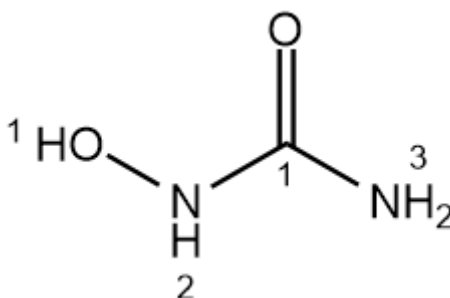
Ao avaliar os espectros de ^1H da hidroxiureia observa-se os sinais em 8,59 e 6,49 ppm; atribuídos respectivamente aos hidrogênios 2 e 3 da Figura 38, conforme consulta na literatura (MAIN et al, 1987).

Figura 37 – Espectro de RMN de ^1H do complexo *cis*- $[\text{Co}(\text{HU})_2(\text{phen})_2]\text{Cl}_3$ ($\text{DMSO}-d_6$)



37. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Figura 38 – Estrutura da hidroxiiureia



38. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Dado a simetria C_2 do composto analisado (Figura 39), cada sinal no espectro está relacionado a um par de prótons ou núcleos eletronicamente equivalentes, conforme sua isomeria *cis*. Outra observação importante para a análise do espectro é o pressuposto de que a 1,10-fenantrolina é um ligante de maior força em comparação à hidroxiiureia, essa que tem no seu átomo doador (O) um par de elétrons não-ligante, o que contribui para sua ligação ser mais fraca, devido a repulsão provocada por esse par.

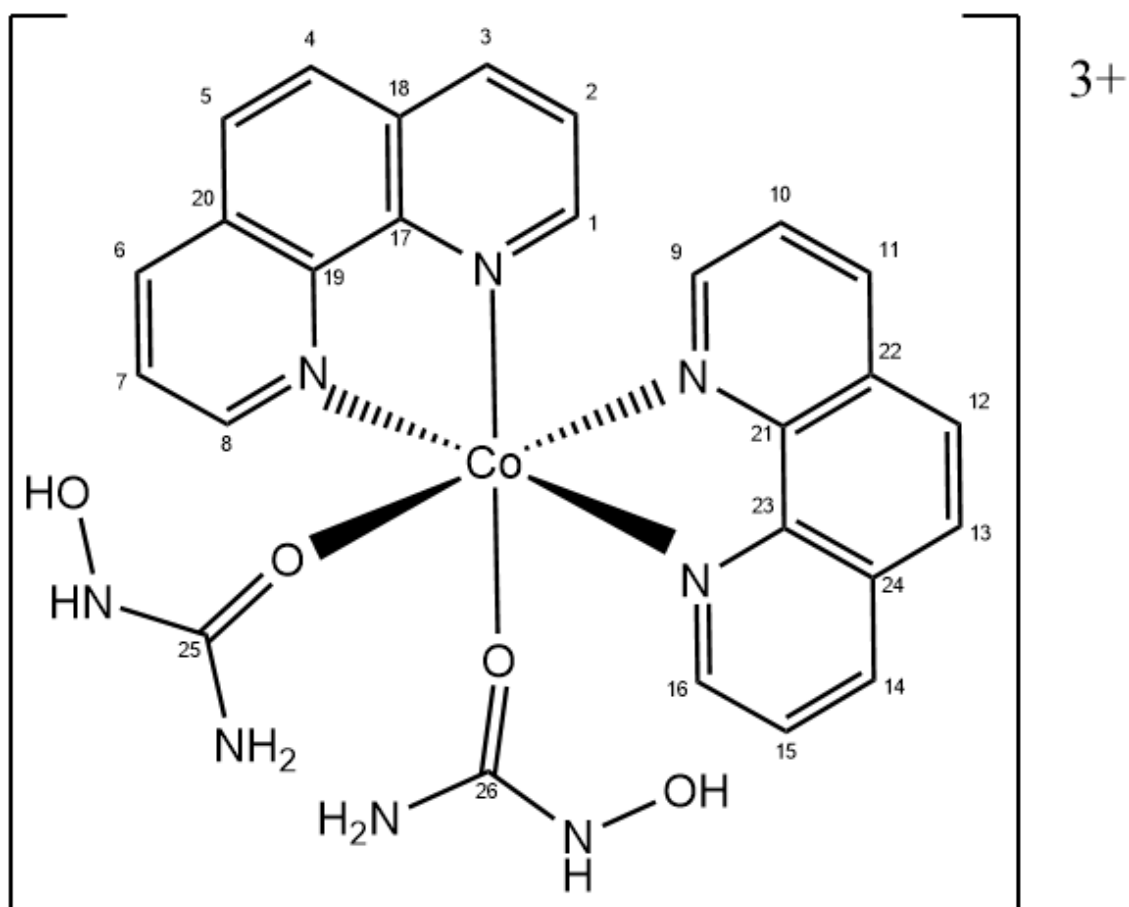
De acordo com o espectro de ^1H obtido para o composto FGB26 (Figura 37), o sinal em 10,02 ppm é o que apresenta maior valor dentre os sinais de hidrogênio analisados, portanto é de se esperar que seja atribuído a um próton mais desprotegido; as principais opções seriam H-1 ou H-8 – que estão em posição *orto* em relação ao grupos retiradores N –, contudo, continuando a análise, nota-se que H-8 está em posição *trans* à outra molécula ligante *o*-fenantrolina, o que a torna mais desprotegida que o H da posição 1, próximo à ligação em posição *trans* com relação à molécula de hidroxiiureia. Analisando o espectro COSY ^1H para o mesmo composto (Figura 40), nota-se acoplamento entre os sinais 10,02 e 8,61 ppm, relação que leva à possibilidade de que o sinal em 8,61 ppm seja relativo ao H-7. O H-7, por sua vez, está acoplado ao H-6 e assim as informações do espectro COSY ^1H , também podem ser utilizadas como base para atribuir o H-6 ao sinal 9,43 ppm.

Ainda associando os quesitos de deslocamento químico e desproteção do próton, pode-se considerar a atribuição do sinal em 8,96 ppm ao H-1, visto sua posição *orto* em relação ao grupo retirador N e, complementando com os dados do COSY ^1H , atribuir o sinal em 7,74 ppm ao H-2, que acopla com o H-1.

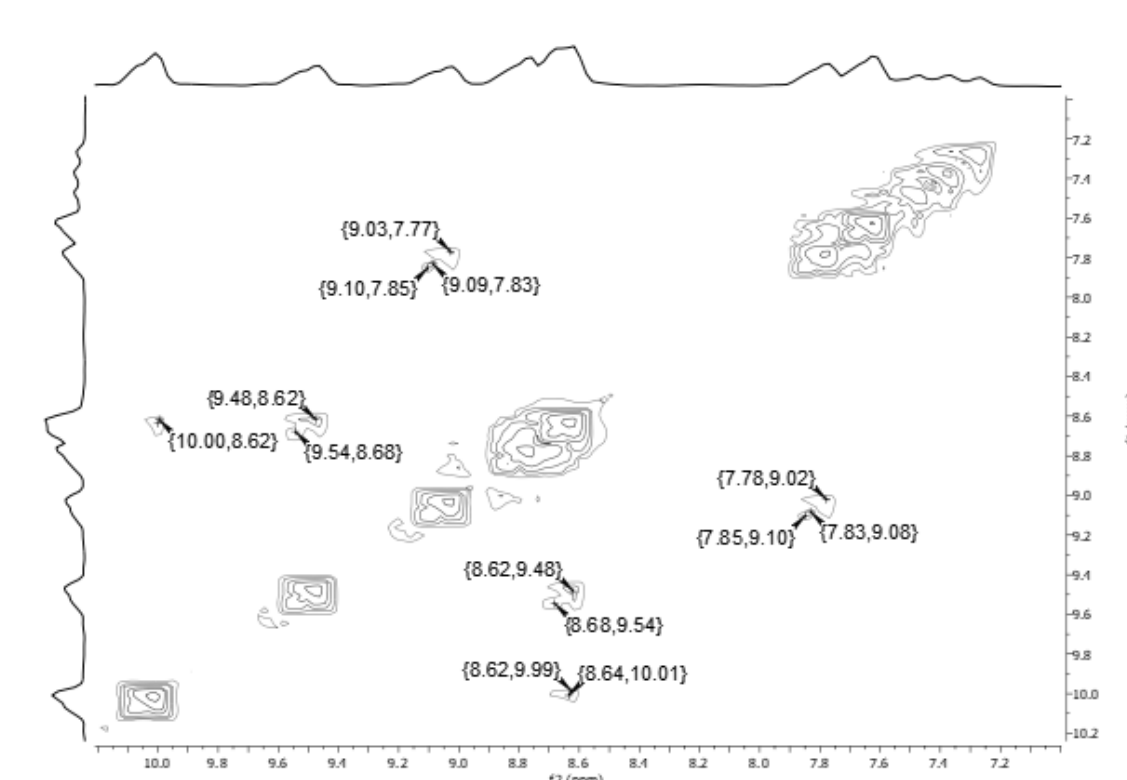
Tendo em vista a posição *para* do H-3 em relação ao N substituinte, é esperada uma maior desproteção para ele também; sendo assim faz sentido atribuir o sinal em 8,69 ppm ao próton nessa posição. O sinal em 8,55 ppm pode ser atribuído ao H-5 e o sinal em 7,59 ppm – referente ao próton mais protegido – pode ser atribuído ao H-4.

Os sinais menos intensos, abaixo de 7,59 ppm, podem estar associados a um pequeno percentual de impurezas na amostra.

Figura 39 – Estrutura numerada do cátion-complexo *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]³⁺



39. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Figura 40 – Espectro COSY do complexo *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃ (DMSO-d₆)

40. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Tabela 8 – Deslocamentos químicos (δ) dos prótons no complexo *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃

Hidrogênio	δ (ppm)	Hidrogênio	δ (ppm)
1	8,96	9	8,96
2	7,74	10	7,74
3	8,69	11	8,69
4	7,59	12	7,59
5	8,55	13	8,55
6	9,43	14	9,43
7	8,61	15	8,61
8	10,02	16	10,02

8. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Assim como na análise do espectro de ¹H do FGB26, as próximas observações tomadas de sinais referem-se aos pares de núcleos

eletronicamente equivalentes dos ligantes 1,10-fenantrolina e HU, devido à simetria do composto.

Comparativamente ao espectro de ^{13}C da hidroxiiureia (Figura 41), nota-se o sinal em 163,18 ppm no FGB26 (Figura 42), o que fornece mais um indício da presença da hidroxiiureia coordenada ao Co(III).

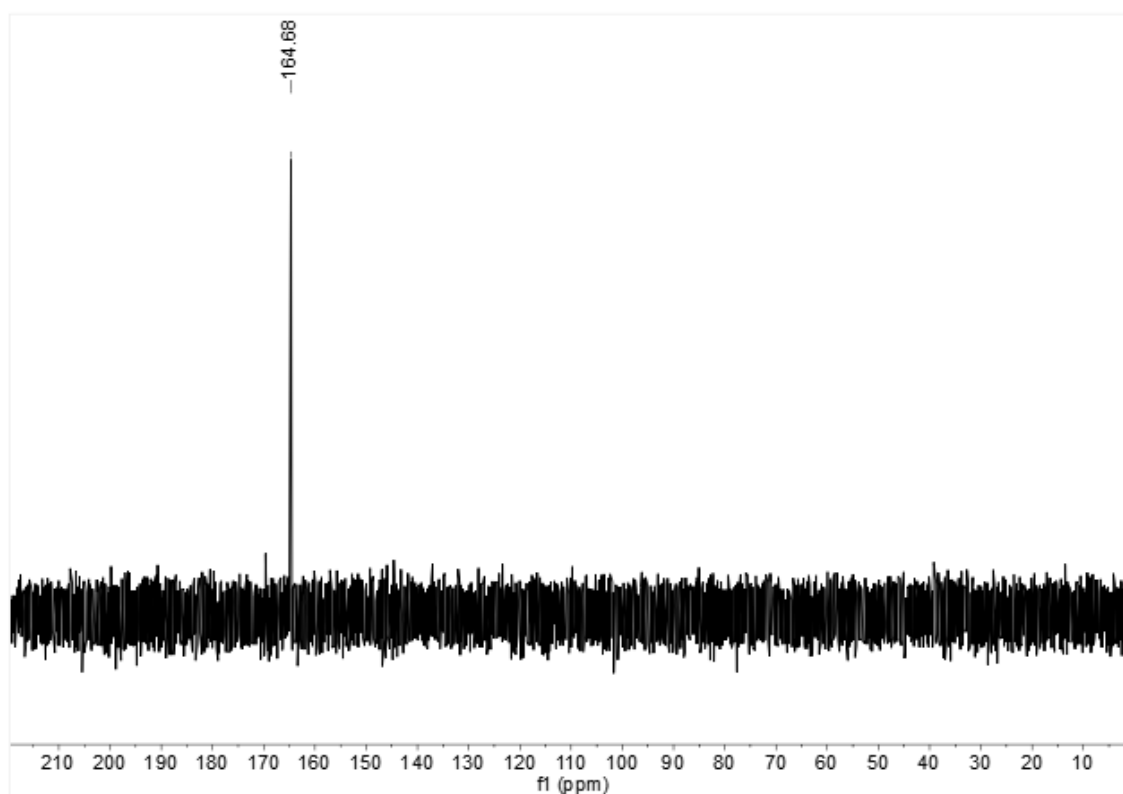
Comparando os espectros ^{13}C do FGB26 (Figura 42) e do ^{13}C DEPT-135 (Figura 43), é possível perceber a ausência de quatro sinais no espectro ^{13}C DEPT-135 (131,10; 131,63; 147,01 e 148,41 ppm) atribuídos aos átomos de carbono 17 ao 20 (Figura 39), visto que o DEPT-135 mostra apenas carbonos hidrogenados. Os demais sinais podem ser atribuídos aos carbonos 1 ao 16 e 21 ao 24, sendo necessário a utilização das técnicas bidimensionais HMQC e HSQC para definição mais precisa.

Contudo, de acordo com a análise das posições, espera-se que os dois sinais mais baixos para os carbonos não hidrogenados (131,10 e 131,63) estejam relacionados às posições *meta* com relação ao substituinte N.

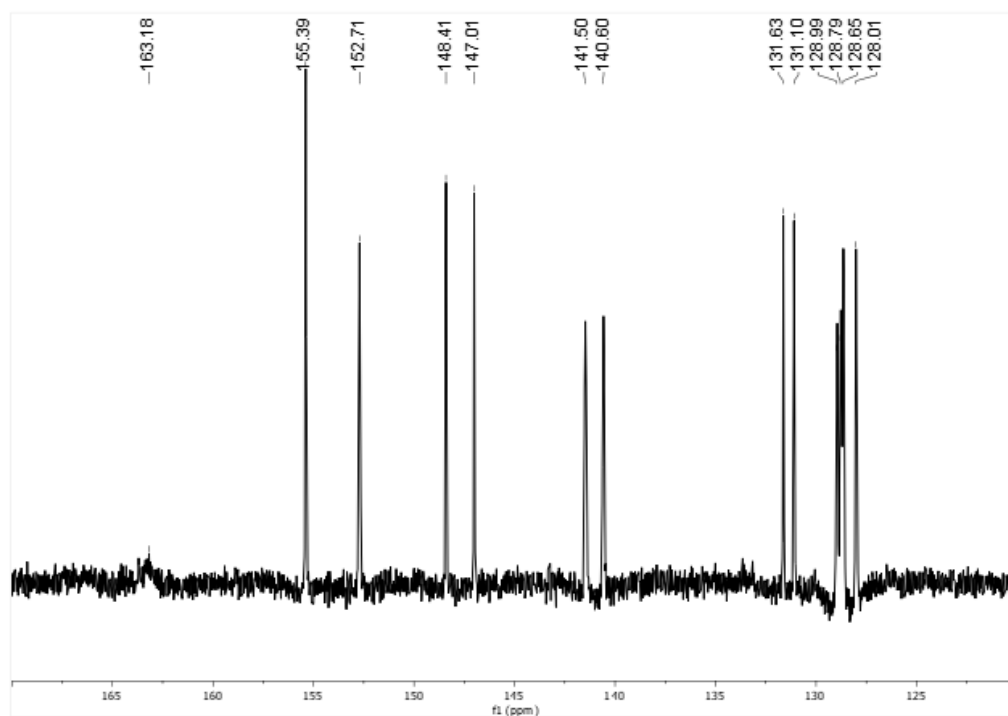
Os sinais em 128,01; 128,65; 128,79 e 128,99 ppm – associados a carbonos mais protegidos – podem ser relacionados aos carbonos hidrogenados do anel central e aos carbonos hidrogenados em posição *meta* dos anéis piridínicos.

Para o conjunto dos quatro sinais de maior número (excluindo o da hidroxiiureia) – associados a carbonos mais desprotegidos – é esperado que sejam atribuídos aos carbonos em posição *orto*, que estão propensas à maior influência do nitrogênio piridínico; sendo 155,39 e 152,71 ppm atribuídos aos dois hidrogenados e os sinais 148,41 e 147,01 ppm atribuídos aos carbonos não hidrogenados. Por fim, espera-se que os sinais em 140,60 e 141,50 ppm sejam atribuídos aos carbonos em posição *para*. As relações propostas poderão ser confirmadas após uso das técnicas bidimensionais de $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$.

Com relação aos compostos coordenados ao Ru(II), foi realizada análise apenas no *cis*-[Ru(HU)₂(phen)₂](PF₆)₂, contudo não foi possível obter espectros com boa qualidade e visualização para interpretação.

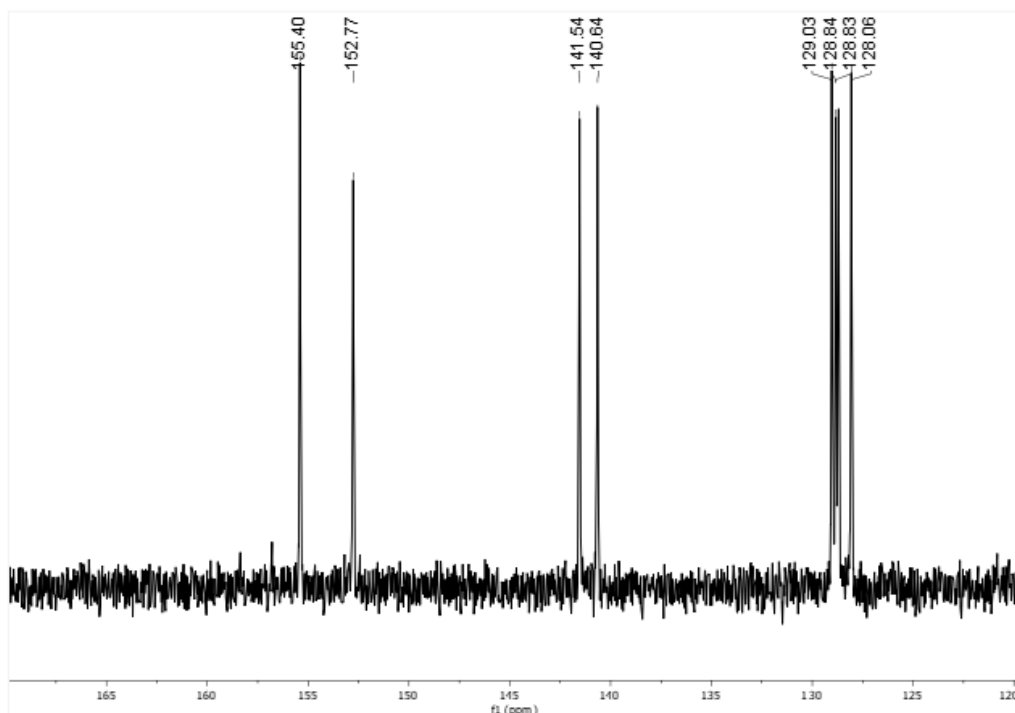
Figura 41 – Espectro de RMN de ^{13}C da hidroxiureia (D_2O)

41. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Figura 42 – Espectro de RMN de ^{13}C do $\text{cis-}[\text{Co}(\text{HU})_2(\text{phen})_2]\text{Cl}_3$ (DMSO-d_6)

42. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Figura 43 – Espectro de RMN de ^{13}C DEPT-135 do *cis*- $[\text{Co}(\text{HU})_2(\text{phen})_2]\text{Cl}_3$ (DMSO- d_6)

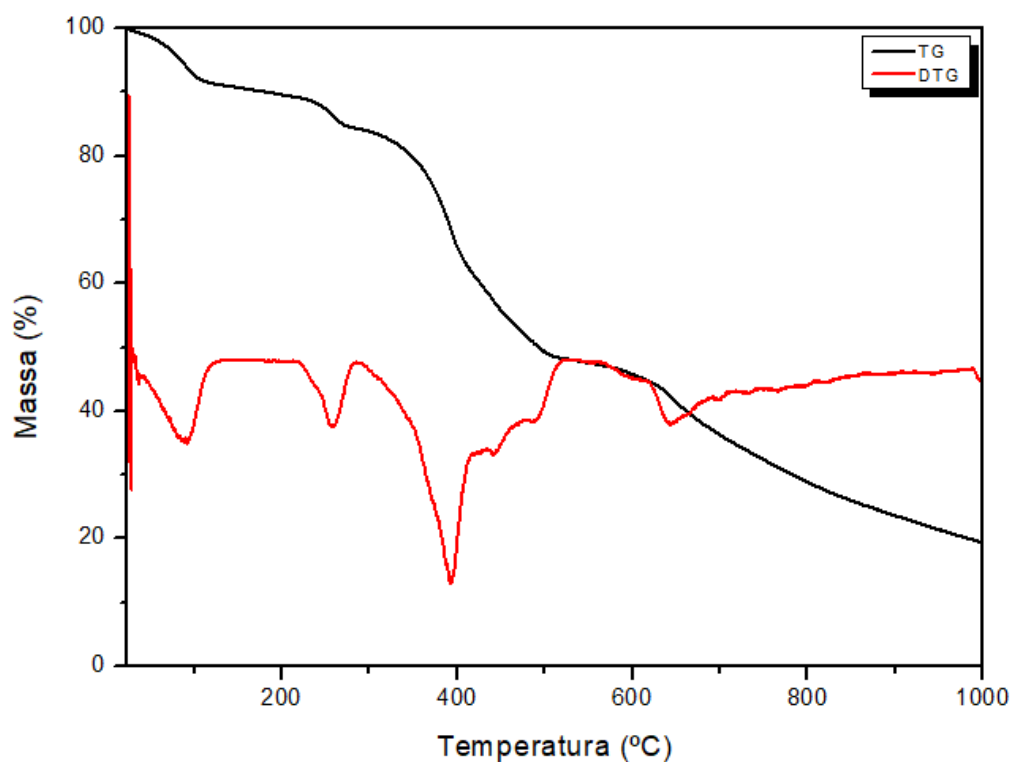


43. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

5.1.6 Termogravimetria

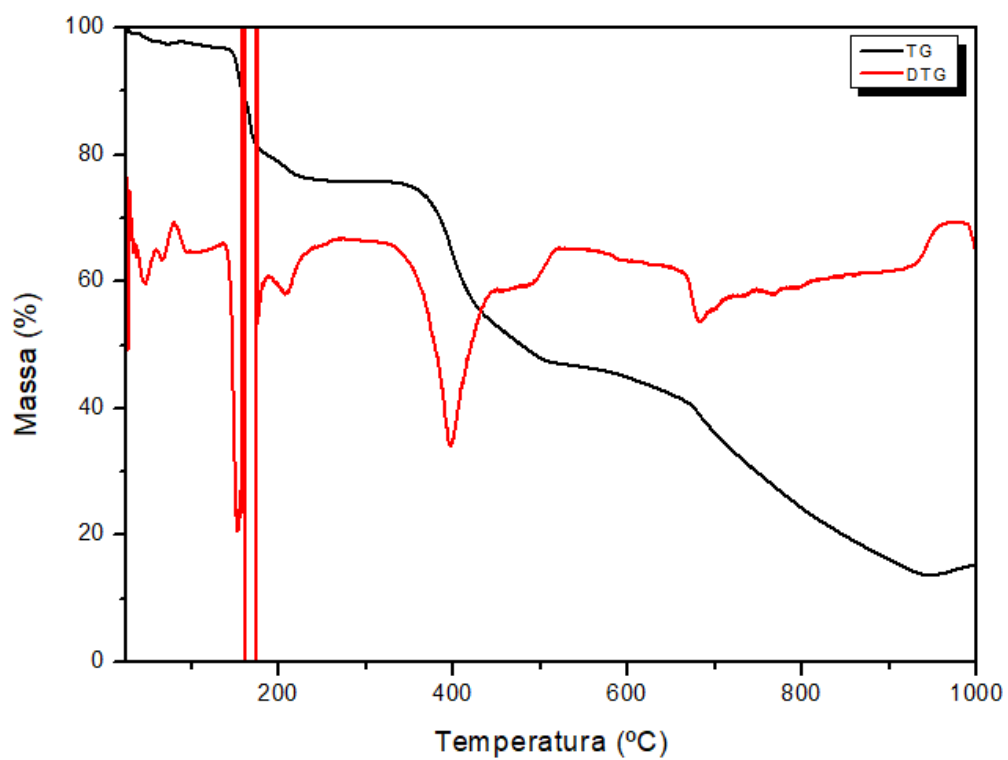
As Figuras 44 e 45 ilustram as curvas TG e DTG obtidas para o precursor *cis*- $[\text{CoCl}_2(\text{phen})_2]\text{Cl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ e o complexo *cis*- $[\text{Co}(\text{HU})_2(\text{phen})_2]\text{Cl}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, informação também explorada na Tabela 9. As derivadas das curvas TG foram utilizadas para calcular os intervalos de perda de massa.

Figura 44 – Curva TG obtida para o *cis*-[CoCl₂(phen)₂]Cl·3H₂O



44. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

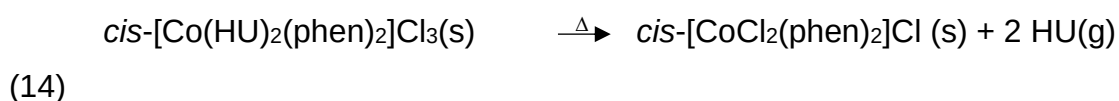
Figura 45 – Curva TG obtida para o *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃·2H₂O



45. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Em ambas as curvas, é possível observar o primeiro estágio de decomposição associado à perda de água, com percentuais próximos entre o calculado e o experimental, o que reforça a composição proposta via análise elementar, com três mols de água compondo cada mol do sólido precursor e dois de água compondo um mol do complexo FGB26. Após essa perda associada a água, há um segundo estágio de decomposição entre 140 °C e 270 °C, presente no complexo final, com perda de massa associada às duas moléculas de hidroxíureia. De acordo com dados da literatura encontrados no Pubchem (2023), a hidroxíureia se decompõe a 140 °C, o que está de acordo com o início desse segundo estágio de decomposição.

Para o precursor, pode ser observado um segundo evento de perda de massa entre 222 °C e 288 °C, o qual pode ser atribuído à saída de cloro (na forma de Cl₂). Importante observar que no caso do complexo FGB26, não há indícios de saída do cloreto a essa temperatura; por outro lado, os dados sugerem a saída de dois ligantes (HU), o que diminuiria o número de coordenação do centro metálico, possibilitando a inserção de dois cloretos (antes contraíons) como ligantes (eq. 14), similar à reação de substituição de ligante durante análise termogravimétrica de composto de cobalto, apresentada por Halmos e Wendlandt (1972), também realizado em atmosfera de gás nitrogênio.



Os dois estágios finais para ambos compostos estão associados à perda das duas moléculas de 1,10-fenantrolina, que se decompõe em faixas diferentes de temperatura, fato apoiado por dados da literatura (ALLAN, MCCLOY e PATON, 1993). Para o precursor, os indícios são de que há primeiro a perda de uma molécula de phen junto com a decomposição parcial da segunda e, no evento seguinte, perda do restante da outra molécula.

Para o complexo com HU, os percentuais indicam dois eventos com saída completa das moléculas de o-fenantrolina, junto com ¼ mol de gás cloro, sendo perdido 1 mol no total e restando os dois que estariam presentes no resíduo final.

As relações estequiométricas e percentuais de massa de cada estágio sugerem que para ambos os compostos restou majoritariamente CoCl₂ como

resíduo, sendo os cloretos aqueles que estavam coordenados ao Co, já no início do processo – no caso do precursor – ou que substituíram as HUs durante o processo – no caso do complexo FGB26. A presença de CoCl_2 ao final do processo para compostos similares pode ser apoiado pela literatura (HALMOS e WENDLANDT, 1972).

Outro ponto importante de ser considerado – e que possibilitaria a formação de um composto estável no final, é a provável redução do Co(III) a Co(II) , a qual seria ocasionada pelos ânions cloreto ao saírem oxidados a Cl_2 . As equações químicas sugeridas são apresentadas seguir, sendo as eq. 15 a eq. 18, representação dos estágios 1 ao 4 de decomposição do precursor e as eq. 18 e eq. 19, também representando os estágios 3 e 4 do complexo com HU:

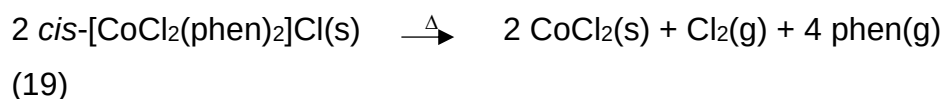
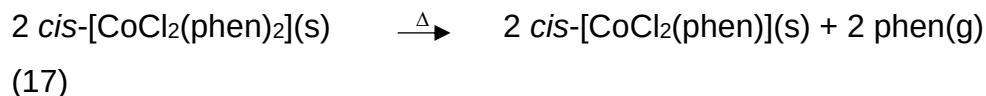
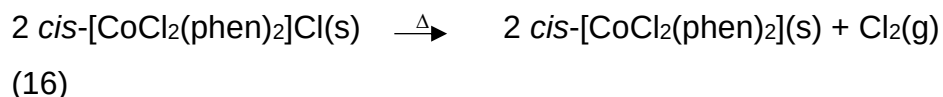
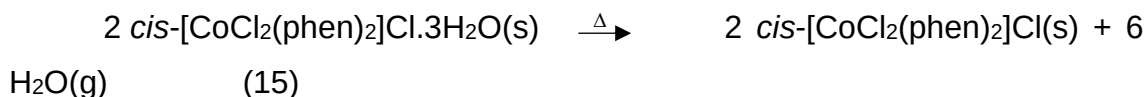


Tabela 9 – Dados termogravimétricos para o precursor *cis*-[CoCl₂(phen)₂]Cl.3H₂O e o complexo *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃.2H₂O

Complexo	Estg. Decomp.	Faixa temp.	Perda de massa calc.	Perda de massa exp.	Atribuição
<i>cis</i> -[CoCl ₂ (phen) ₂]Cl.3H ₂ O	1	29 – 124	9%	8%	H ₂ O
	2	222 – 288	6%	5%	½ Cl ₂
	3	288 – 520	31%	36%	Phen
	4	571 – 990	31%	27%	Phen
Resíduo			22%	19%	CoCl ₂
Complexo	Estg. Decomp.	Faixa temp.	Perda de massa calc.	Perda de massa exp.	Atribuição
<i>cis</i> -[Co(HU) ₂ (phen) ₂]Cl ₃ .2H ₂ O	1	25 – 140	5%	3%	H ₂ O
	2	140 – 270	21%	21%	HU
	3	330 – 516	28%	28%	Phen + ¼ Cl ₂
	4	650 – 930	28%	28%	Phen + ¼ Cl ₂
Resíduo			18%	15%	CoCl ₂

9. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

Pensando em um composto que deverá ser distribuído e terá sua utilização em outro momento oportuno para o consumidor – fármacos também se enquadram nesse quesito – é importante conhecer a sua estabilidade mediante variações no ambiente, como variações térmicas, para que seu efeito esperado seja garantido. As análises térmicas realizadas forneceram informações importantes para os referidos compostos, que podem ser utilizadas na definição de aspectos de transporte e armazenagem, por exemplo.

5.2 Citotoxicidade e ensaios biológicos

5.2.1 Atividade citotóxica e tripanocida

Nenhum dos três compostos testados (hidroxiureia, FGB21 e FGB26) apresentaram citotoxicidade para os cardiomiócitos nas concentrações utilizadas, os quais apresentaram valores de CC_{50} (concentração citotóxica) superiores a $50 \mu\text{mol.L}^{-1}$. Em relação à atividade tripanocida, apenas os complexos FGB21 e FGB26 foram capazes de inibir as formas tripomastigotas, com valores de CI_{50} de $12,92 \mu\text{mol.L}^{-1}$ e $24,8 \mu\text{mol.L}^{-1}$, respectivamente, indicando que a atividade tripanocida pode estar associada à formação do complexo centrado no Co(III) e/ou à 1,10-fenantrolina. Para efeito de comparação, o benzonidazol, uma droga de primeira linha para o tratamento da doença de Chagas (CAMARA et al, 2019), apresentou um valor de CI_{50} de $12,5 \mu\text{mol.L}^{-1}$ sob as mesmas condições. Como o FGB21 apresentou a maior atividade tripanocida dentre os dois compostos, o mesmo foi também testado em um modelo de infecção *in vitro* com cardiomiócitos infectados, o qual apresentou um valor de CI_{50} de $2,56 \mu\text{mol.L}^{-1}$ frente as formas amastigotas, sendo mais ativo que o benzonidazol ($CI_{50} = 2,72 \mu\text{mol.L}^{-1}$).

5.2.2 Atividade antimicrobiana

Dos três compostos testados (hidroxiureia, FGB21 e FGB26), apenas o FGB26 apresentou valores de MIC abaixo de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, inibindo as atividades da linhagem de bactérias *Staphylococcus aureus*, com a concentração de 50

$\mu\text{mol L}^{-1}$, e da linhagem *Bacillus subtilis*, com a concentração de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$, conforme apresentado na Tabela 10.

Tabela 10 – Atividade antimicrobiana de soluções do complexo FGB26, do seu precursor, ligante e dos controles positivos/antibióticos para concentração de $400 \mu\text{mol}$

Amostras	Sa		Bs		Pa	Ec	Ca	Cg
	MIC ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	MBC ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	MIC ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	MBC ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	MIC ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	MIC ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	MIC ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	MIC ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
FGB21	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
Hidroxiureia	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
FGB26	50	>100	100	>100	>100	>100	>100	>100
Tetraciclina ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	0,078	0,313	0,078	>10	-	-	-	-
Geramicina ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	-	-	-	-	1,563	3,125	-	-
Loprox ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	-	-	-	-	-	-	3,125	6,25

10. Fonte: elaborado pelo autor (2023)

6 CONCLUSÃO

A partir das técnicas utilizadas para caracterização dos compostos sintetizados, em especial as técnicas espectroscópicas de ressonância magnética nuclear (^1H e ^{13}C) e na região do infravermelho, bem como a análise elementar, foi possível determinar a composição dos compostos de cobalto(III) com satisfatório grau de confiança e dos compostos de rutênio(II) com um menor grau, visto que não foram empregadas todas as técnicas nesse segundo grupo.

Utilizando a espectrometria nas regiões UV-Vis, com auxílio de medições de pH, foram obtidos dados sobre o comportamento dos compostos em água e em solução tampão com pH na faixa do sangue humano, tendo em vista o objetivo de utilização dos mesmos como fármacos. Para o composto *cis*- $[\text{Co}(\text{HU})_2(\text{phen})_2]\text{Cl}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, foi observada reatividade em água, podendo estar associada a reação de aquação do complexo e/ou reação ácido-base de Lewis envolvendo a substituição da hidroxiiureia por ânions OH^- . Quando utilizado o meio com solução tampão, já não foi observada a mesma reatividade. Dado interessante, pensando no meio sanguíneo servindo canal de transporte para algum órgão ou conjunto de células específico. Para os compostos de Ru(II), foi observado um comportamento sem muita reatividade em água.

Também foi possível obter dados cristalográficos dos compostos *cis*- $[\text{Co}(\text{HU})_2(\text{phen})_2]\text{Cl}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, *cis*- $[\text{CoCl}_2(\text{phen})_2]\text{Cl} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ e *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{phen})_2]$; que podem ser utilizados no futuro para checagem da estrutura espacial dos compostos, pensando na verificação se os sítios ativos se mantêm após passagem do tempo ou variação das condições do ambiente. Em paralelo, os dados de análise térmica forneceram informações a exemplo de que a composição dos compostos de Co(III) é estável pelo menos até 120 °C – durante o tempo e condições testadas. Esses são dados de suma importância pensando na possibilidade de veiculação e armazenamento dos compostos.

Os ensaios biológicos demonstraram que tanto o precursor, quanto o complexo *cis*- $[\text{Co}(\text{HU})_2(\text{phen})_2]\text{Cl}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, têm atividade tripanocida – de acordo com as análises de Cl_{50} , com o precursor apresentando atividade próxima a uma droga referência para esse tratamento. Além da atividade sobre as formas tripomastigotas, o precursor apresentou um valor de Cl_{50} ainda menor que a droga referência frente a formas amastigotas em cardiomiócitos. Em paralelo a

esses efeitos, nem o *cis*-[CoCl₂(phen)₂]Cl.3H₂O (precursor), nem o *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃.2H₂O, apresentaram citotoxicidade para os cardiomiócitos saudáveis, de acordo com o teste de CC₅₀.

Além dos testes de citotoxicidade e tripanocidas, as avaliações de concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima, demonstraram atividade de inibição microbiana do composto *cis*-[Co(HU)₂(phen)₂]Cl₃.2H₂O frente às linhagens de bactérias *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*.

Como perspectivas, espera-se publicar um artigo com os dados químicos e biológicos já obtidos para os compostos de Co(III), incluindo os dados de atividade antifúngica e antibacteriana, além da análise de produção do metabólito hidroxilamina, em comparação com a hidroxiiureia livre, que estão sendo realizadas pelas parcerias; e também obter mais dados sobre seus mecanismos reacionais em água. Além disso, é almejada outra publicação contendo análise citotóxica frente a células falcêmicas e cancerosas.

Para os compostos de Ru(II), espera-se otimizar as sínteses a fim de obter rendimentos melhores, assim como prosseguir com as análises já realizados nos compostos de Co(III).

7 REFERÊNCIAS

1. ABDOLMALEKI, Sara 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, 2018.
2. ALAYASH, Abdu I. Oxidative pathways in the sickle cell and beyond. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, v. 70, p. 78-86, 2018.
3. ALKIŞ, Mehmet Eşref et al. Cobalt and ruthenium complexes with pyrimidine based schiff base: Synthesis, characterization, anticancer activities and electrochemotherapy efficiency. **Journal of Molecular Structure**, v. 1226, p. 129402, 2021.
4. ALLAN, J. R.; MCCLOY, B.; PATON, A. D. Thermal, structural and electrical studies of the chloro complexes of cobalt, nickel and copper with 4, 7-phenanthroline. **Thermochimica acta**, v. 214, n. 2, p. 211-217, 1993.
5. ALLARDYCE, Claire S.; DYSON, Paul J. Ruthenium in medicine: current clinical uses and future prospects. **Platinum Metals Review**, v. 45, n. 2, p. 62-69, 2001.
6. ALVES, FABRÍCIO EUGÊNIO; SILVA, PRISCILA PEREIRA; GUERRA, Wendell. Metais do grupo da platina: história, propriedades e aplicações. **Revista da Sociedade Portuguesa de Química**, v. 119, p. 27-33, 2010.
7. ANDREWS, Jennifer M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **Journal of antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, n. suppl_1, p. 5-16, 2001.
8. ATKINS, Peter; JONES, Loretta; LAVERMAN, Leroy. **Princípios de Química-: Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente**. Bookman Editora, 2012.
9. BALZANI, Vincenzo et al. Photochemistry of Coordination Compounds. XIV. Electron Transfer and dd Excitation in Cobalt (III)-Amino Acid Complexes. **Inorganic Chemistry**, v. 4, n. 9, p. 1247-1250, 1965.
10. BARCELOUX, Donald G. Cobalt. **Journal of Toxicology: Clinical Toxicology**, v. 37, n. 2, p. 201-216, 1999.
11. BARRENHO, Eliana; MIRALDO, Marisa; SMITH, Peter C. Does global drug innovation correspond to burden of disease? The neglected diseases in developed and developing countries. **Health economics**, v. 28, n. 1, p. 123-143, 2019.
12. BEYNON, Rob; EASTERBY, John. **Buffer solutions**. Taylor & Francis, 2004.
13. BRABEC, Viktor; KASPARKOVA, Jana. Ruthenium coordination compounds of biological and biomedical significance. DNA binding agents. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 376, p. 75-94, 2018.
14. Brasil, M.S., Termo de esclarecimento e responsabilidade. Portaria nº 55, de 29 de janeiro de 2010 - Doença Falciforme, 2010.

15. BUNN, H. Franklin. Pathogenesis and treatment of sickle cell disease. **New England Journal of Medicine**, v. 337, n. 11, p. 762-769, 1997.
16. CAMARA, Edmundo JN et al. Elevated IL-17 levels and echocardiographic signs of preserved myocardial function in benznidazole-treated individuals with chronic Chagas' disease. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 79, p. 123-130, 2019.
17. Center for Disease Control and Prevention. **Sickle Cell Disease (SCD)**, 2023. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/ncbddd/sicklecell/treatments.html>>. Acesso em: 17 de jul. de 2023.
18. CUNHA, Tamyris T. da et al. Síntese, caracterização e estudo das propriedades magnéticas de um polímero de coordenação contendo cobalto (II) e cobre (II). **Química Nova**, v. 35, p. 1776-1781, 2012.
19. DASGUPTA, Tara P.; HARRIS, Gordon McLeod. Kinetics and mechanism of aqutation of carbonato complexes of cobalt (III). II. The acid-catalyzed aqutation of carbonatotetraaminecobalt (III) ion. **Journal of the American Chemical Society**, v. 91, n. 12, p. 3207-3211, 1969.
20. DRESLER, W. F. C.; STEIN, R. Ueber den hydroxylharnstoff. **Justus Liebigs Annalen der Chemie**, v. 150, n. 2, p. 242-252, 1869.
21. Fundação Oswaldo Cruz. **Portal da Doença de Chagas**, 2023. Disponível em: <<https://chagas.fiocruz.br/doenca/tratamento/>>. Acesso em: 18 de ago. de 2023.
22. GAO, Li et al. The improved antitumor efficacy of continuous intratumoral chemotherapy with cisplatin-loaded implants for the treatment of sarcoma 180 tumor-bearing mice. **Drug delivery**, v. 26, n. 1, p. 208-215, 2019.
23. GRASSINI-STRAZZA, Giuliana; SINIBALDI, Massimo; MESSINA, Antonella. Preparation and characterization of cobalt (III) bipyridine and phenanthroline complexes. **Inorganica Chimica Acta**, v. 44, p. L295-L297, 1980.
24. HALMOS, Z.; WENDLANDT, W. W. The TG, DTG, DTA, and EC of some [Co (NH₃) 5H₂O] X₃ and [Co (NH₃) 5X] X₂ complexes. **Thermochimica Acta**, v. 5, n. 2, p. 165-171, 1972.
25. HAMILTON, E. I. The geobiochemistry of cobalt. **Science of the total environment**, v. 150, n. 1-3, p. 7-39, 1994.
26. HEBBEL, Robert P. et al. Perspectives series: cell adhesion in vascular biology. Adhesive interactions of sickle erythrocytes with endothelium. **The Journal of clinical investigation**, v. 99, n. 11, p. 2561-2564, 1997.
27. HOPKINS, Erin; SANVICTORES, Terrence; SHARMA, Sandeep. Physiology, acid base balance. In: **StatPearls [Internet]**. StatPearls Publishing, 2022.
28. HOSKINS, B. F.; ROBSON, R.; WILLIAMS, G. A. Complexes of binucleating ligands. VIII. The preparation, structure and properties of some mixed valence cobalt (II)—cobalt (III) complexes of a macrocyclic binucleating ligand. **Inorganica Chimica Acta**, v. 16, p. 121-133, 1976.

29. INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER. ABC do câncer: abordagens básicas para o controle do câncer. 2011.
30. JIROVETZ, Leopold et al. Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 17, p. 6303-6307, 2006.
31. KAPPLER-GRATIAS, Sandrine et al. A 3-and A 2 B-fluorocorroles: synthesis, X-ray characterization and antiviral activity evaluation against human cytomegalovirus infection. **RSC Medicinal Chemistry**, v. 11, n. 7, p. 783-801, 2020.
32. KASHIF, Muhammad K. et al. A new direction in dye-sensitized solar cells redox mediator development: in situ fine-tuning of the cobalt (II)/(III) redox potential through Lewis base interactions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 134, n. 40, p. 16646-16653, 2012.
33. KATO, Gregory J. et al. Sick cell disease. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, p. 1-22, 2018.
34. KING, David A. Thermal desorption from metal surfaces: A review. **Surface Science**, v. 47, n. 1, p. 384-402, 1975.
35. KOFOOD, Helmer. On the Isomerism of Hydroxyurea. **Acta Chem. Scorni**, v. 9, n. 3, 1955.
36. KÜRKÇÜOĞLU, Güneş Süheyla et al. Synthesis, crystal structure and spectroscopic investigations of heteronuclear Co (III)/Cu (II), Co (III)/Cd (II) and Fe (III)/Cd (II) 3D coordination polymers with 4-(2-aminoethyl) pyridine. **Journal of Molecular Structure**, v. 1274, p. 134540, 2023.
37. KUYPERS, Frans A. Hemoglobin s polymerization and red cell membrane changes. **Hematology/Oncology Clinics**, v. 28, n. 2, p. 155-179, 2014.
38. LEVENTIS, Nicholas et al. Synthesis and characterization of Ru (II) tris (1, 10-phenanthroline)-electron acceptor dyads incorporating the 4-benzoyl-N-methylpyridinium cation or N-benzyl-N '-methyl viologen. Improving the dynamic range, sensitivity, and response time of sol- gel-based optical oxygen sensors. **Chemistry of materials**, v. 16, n. 8, p. 1493-1506, 2004.
39. LONGHIN, Eleonora Marta et al. The alamar blue assay in the context of safety testing of nanomaterials. **Frontiers in Toxicology**, v. 4, p. 981701, 2022.
40. LOPES, Wilson Araújo; FASCIO, Miguel. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Química nova**, v. 27, p. 670-673, 2004.
41. MADAAN, Kapish; KAUSHIK, Darpan; VERMA, Tarawanti. Hydroxyurea: a key player in cancer chemotherapy. **Expert review of anticancer therapy**, v. 12, n. 1, p. 19-29, 2012.
42. MAIN, Karen B. et al. Quantitative analysis of hydroxyurea and urea by proton nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy. **Pharmaceutical research**, v. 4, p. 412-415, 1987.
43. MANIKSHETE, A. H. et al. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of new cobalt (II), nickel (II) and copper (II) complexes with 2-(2-hydroxy-1, 2-diphenylethylideneamino) benzoic acid. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 14, n. 5, p. 618-621, 2011.

44. MASUI, Hitoshi; LEVER, A. B. P.; DODSWORTH, Elaine S. Substituent effects and bonding characteristics in (o-benzoquinone diimine) bis (bipyridine) ruthenium (II) complexes. **Inorganic Chemistry**, v. 32, n. 3, p. 258-267, 1993.
45. MÉRY, Benoîte et al. In vitro cell death determination for drug discovery: A landscape review of real issues. **Journal of cell death**, v. 10, p. 1179670717691251, 2017.
46. National Center for Biotechnology Information. **PubChem Compound Summary for CID 3657, Hydroxyurea**, 2021. Disponível em: <<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hydroxyurea>>. Acesso em: 18 de jul. de 2021.
47. NIGOVIĆ, Biljana; KUJUNDŽIĆ, Nikola; SANKOVIĆ, Krešimir. Electron transfer in N-hydroxyurea complexes with iron (III). **European journal of medicinal chemistry**, v. 40, n. 1, p. 51-55, 2005.
48. NOCIARI, Marcelo M. et al. A novel one-step, highly sensitive fluorometric assay to evaluate cell-mediated cytotoxicity. **Journal of immunological methods**, v. 213, n. 2, p. 157-167, 1998.
49. NORDBERG, Gunnar F. et al. **Handbook on The Toxicology of Metals**. Academic Press, 2007.
50. NUNES, Patrique et al. Copper complexes with 1, 10-phenanthroline derivatives: underlying factors affecting their cytotoxicity. **Inorganic Chemistry**, v. 59, n. 13, p. 9116-9134, 2020.
51. PAN, T. Y.; CRUZI, M. A. SUMÁRIO: 1. Introdução. 2. Morfologia. 3. Variações inóspedfitas. 4 Gdo evolutivo do I. **Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral**, p. 25, 1997.
52. PAULING, Linus et al. Sick cell anemia, a molecular disease. **Science**, v. 110, n. 2865, p. 543-548, 1949.
53. PAVIA, Donald L. et al. Introdução à espectroscopia: Tradução da 4ª edição norte-americana. **São Paulo: Cengage Learning**, 2010.
54. PIEL, Frederic B. et al. Global burden of sickle cell anaemia in children under five, 2010–2050: modelling based on demographics, excess mortality, and interventions. **PLoS medicine**, v. 10, n. 7, p. e1001484, 2013.
55. PIEL, Frédéric B. et al. Global distribution of the sickle cell gene and geographical confirmation of the malaria hypothesis. **Nature communications**, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2010.
56. PIEL, Frédéric B.; STEINBERG, Martin H.; REES, David C. Sick cell disease. **New England Journal of Medicine**, v. 376, n. 16, p. 1561-1573, 2017.
57. PEARSON, Ralph G.; BOSTON, Charles R.; BASOLO, Fred. Mechanism of Substitution Reactions in Complex Ions. III. Kinetics of Aquation of Some Cobalt (III) Complex Ions¹, 2. **Journal of the American Chemical Society**, v. 75, n. 13, p. 3089-3092, 1953.
58. PORTER, Gerald B. Introduction to inorganic photochemistry: Principles and methods. 1983.

59. PRIDMORE, Ralph W. Complementary colors: A literature review. **Color Research & Application**, v. 46, n. 2, p. 482-488, 2021.
60. QUINN, Charles T. et al. Biochemical surrogate markers of hemolysis do not correlate with directly measured erythrocyte survival in sickle cell anemia. **American journal of hematology**, v. 91, n. 12, p. 1195-1201, 2016.
61. REES, David C.; WILLIAMS, Thomas N.; GLADWIN, Mark T. Sickle-cell disease. **The Lancet**, v. 376, n. 9757, p. 2018-2031, 2010.
62. REITER, Christopher D. et al. Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. **Nature medicine**, v. 8, n. 12, p. 1383-1389, 2002.
63. RENFREW, Anna K. et al. Harnessing the properties of cobalt coordination complexes for biological application. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 375, p. 221-233, 2018.
64. RISS, Terry et al. Cytotoxicity assays: in vitro methods to measure dead cells. **Assay guidance manual [internet]**, 2019.
65. RISS, Terry L. et al. Cell viability assays. **Assay Guidance Manual [Internet]**, 2016.
66. RODRIGUES, Gabriela Meira et al. Agravos causados pela Doença de Chagas no ser humano: Revisão sobre as características do Trypanosoma cruzi. **Revista Liberum Accessum**, v. 1, n. 2, p. 1-14, 2020.
67. ROGERS, Stephen C. et al. Sickle hemoglobin disturbs normal coupling among erythrocyte O₂ content, glycolysis, and antioxidant capacity. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 121, n. 9, p. 1651-1662, 2013.
68. ROSENTHAL, F.; WISLICKI, L.; KOLLEK, L. Über die beziehungen von schwersten blutgiften zu abbauprodukten des eiweisses: Ein beitrag zum entstehungsmechanismus der perniziösen anämie. **Klinische Wochenschrift**, v. 7, n. 21, p. 972-977, 1928.
69. SÁ, Denise S. et al. Non-nitric oxide based metallovasodilators: synthesis, reactivity and biological studies. **Dalton Transactions**, v. 44, n. 30, p. 13633-13640, 2015.
70. SALES, Danilo KS et al. A bis-indazolic ruthenium (II) complex: Reactivity and biological studies on cancer cells. **Inorganica Chimica Acta**, v. 516, p. 120125, 2021.
71. SAMMES, Peter G.; YAHIOGLU, Gokhan. 1, 10-Phenanthroline: a versatile ligand. **Chemical Society Reviews**, v. 23, n. 5, p. 327-334, 1994.
72. SANTOS, Nathally C. de S. et al. Determination of minimum bactericidal concentration, in single or combination drugs, against Mycobacterium tuberculosis. **Future Microbiology**, v. 15, n. 2, p. 107-114, 2020.
73. SANTOS, Stéfanno Souza et al. Qualitative Analysis of Hydroxyurea. **Drug Analytical Research**, v. 4, n. 1, p. 18-21, 2020.
74. SCHILT, Alfred A.; TAYLOR, R. C. Infra-red spectra of 1: 10-phenanthroline metal complexes in the rock salt region below 2000 cm⁻¹

1. **Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry**, v. 9, n. 3-4, p. 211-221, 1959.
75. SEDDON, Elaine A.; SEDDON, Kenneth R. **The chemistry of ruthenium**. Elsevier, 2013.
76. SHI, Qin et al. Recent advances in drug polymorphs: Aspects of pharmaceutical properties and selective crystallization. **International journal of pharmaceutics**, v. 611, p. 121320, 2022.
77. SHRIVER, Duward F; ATKINS, Peter. **Química Inorgânica**. Bookman Editora, 2008.
78. SILVA, Priscila Pereira; GUERRA, Wendell. Rutenio. **Química Nova na Escola**, v. 34, p. 99-100, 2012.
79. SIMIONI, Patricia Ucelli et al. Métodos de Prevenção e Tratamento para a Doença de Chagas. **Ciência & Inovação**, v. 4, n. 1, 2019.
80. SIMOVIĆ, Ana Rilak et al. Chemistry and reactivity of ruthenium (II) complexes: DNA/protein binding mode and anticancer activity are related to the complex structure. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 398, p. 113011, 2019.
81. SULLIVAN, B. P.; SALMON, D. J.; MEYER, T. J. Mixed phosphine 2, 2'-bipyridine complexes of ruthenium. **Inorganic chemistry**, v. 17, n. 12, p. 3334-3341, 1978.
82. TEIXEIRA, Estefane Isis et al. DIFRATOMETRIA DE RAIOS X EM PÓ NA CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS METÁLICOS. **ANAIS DO ENIC**, n. 6, 2014.
83. TIMSON, J. Hydroxyurea. **Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology**, v. 32, n. 2, p. 115-131, 1975.
84. TORCHILIN, Vladimir P. Drug targeting. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 11, p. S81-S91, 2000.
85. World Health Organization. **Chagas disease (American trypanosomiasis)**, 2023. Disponível em: < https://www.who.int/health-topics/chagas-disease#tab=tab_3>. Acesso em: 18 de ago. de 2023.
86. YILDIRIM, Ahmet; ÖZBILGIN, Ahmet; YERELI, Kor. Antiprotozoal activity of auranofin on Trypanosoma cruzi, Leishmania tropica and Toxoplasma gondii: in vitro and ex vivo study. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, p. trad040, 2023.