



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA**

ANNE DAYSE SOARES DA SILVA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO CITOTÓXICA E ANTITUMORAL DE
COMPLEXOS ORGANOMETÁLICOS DERIVADOS DE NÚCLEOS NICOTÍNICOS**

**MACEIÓ – AL
2018**

ANNE DAYSE SOARES DA SILVA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, AVALIAÇÃO CITOTÓXICA E ANTITUMORAL DE
COMPLEXOS ORGANOMETÁLICOS DERIVADOS DE NÚCLEOS NICOTÍNICOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia, da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de doutor.

Orientador: Prof. Dr. Mario R. Meneghetti

MACEIÓ – AL
2018

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central

Bibliotecária Responsável: Janis Christine Angelina Cavalcante

S586s Silva, Anne Dayse Soares da.

Síntese, caracterização, avaliação citotóxica e antitumoral de complexos organometálicos derivados de núcleos nicotínicos /Anne Dayse Soares da Silva. – 2018.

100 f. : il. graf. tabs., color.

Orientador: Mário Roberto Meneghetti.

Tese (Doutorado em Química e Biotecnologia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Química e Biotecnologia. Programa de Pós Graduação em Química e Biotecnologia. Maceió, 2018.

Bibliografia: f. 92-100.

1. Metalofarmacos – Síntese. 2. Rutênio. 3. Estanho. 4. Antitumoral.
I. Título.

CDU: 546.8:615.28



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA E
BIOTECNOLOGIA




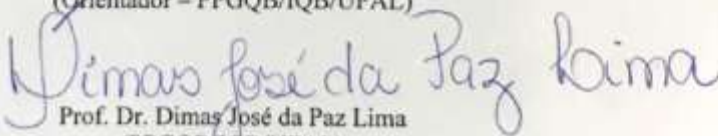
BR. 104 Km14, Campus A. C. Simões
Cidade Universitária, Tabuleiro dos Martins
57072-970, Maceió-AL, Brasil
Fone: (82) 3214-1144
Email: ppgqb.ufal@gmail.com

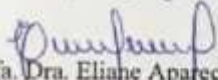
FOLHA DE APROVAÇÃO


Membros da Comissão Julgadora da Defesa de Tese da Doutoranda ANNE DAYSE SOARES DA SILVA intitulada: "Síntese, Caracterização, Avaliação Citotóxica e Antitumoral de Complexos Organometálicos Derivados de Núcleos Nicotínicos", apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas no dia 03 de abril de 2018, às 09h, na sala de aulas do PPGQB.

COMISSÃO JULGADORA


Prof. Dr. Mario Roberto Meneghetti
(Orientador - PPGQB/IQB/UFAL)


Prof. Dr. Dimas José da Paz Lima
(PPGQB/IQB/UFAL)


Profa. Dra. Eliane Aparecida Campesatto
(ICBS/UFAL)


Profa. Dra. Maria Aline Barros Fidelis de Moura
(Esenfar/UFAL)

Dedico este trabalho:

*A minha família, meu porto seguro, em especial
a minha mãe, Maria Edilene Almeida da Silva Soares pelo
amor, confiança e ensinamentos imprescindíveis em minha vida.*

AGRADECIMENTOS

A DEUS, que sempre me guiou dando-me discernimento sobre que decisões e caminhos tomar em minha vida.

Ao professor Dr. Mario Roberto Meneghetti, meu orientador pela oportunidade e confiança depositada em mim durante o desenvolvimento deste trabalho.

À Profa. Dra. Magna Suzana Alexandre Moreira por disponibilizar seu laboratório para realização dos ensaios de atividade antitumoral.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia (PPGQB)

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo apoio financeiro.

Aos professores do Programa por todos os ensinamentos passados.

Aos meus amigos de laboratório em especial Dani Barros, Tathiane Veríssimo, Douglas Rozendo, Sarah Morais (menininha Sarah), que de inúmeras formas me auxiliaram na execução desta tese.

A Itaiza e Rebeca pelo apoio na reta final do trabalho, que vocês possam crescer cada vez mais na vida acadêmica.

A Zeca (José Clementino) e Morgana pela realização dos ensaios biológicos e interpretação dos mesmos.

A meus amigos, Edriane Teixeira e Icaro Oliveira que mais do que colegas de laboratório, transformaram meus dias de trabalho em verdadeiras diversões, escutando, me aconselhando e fornecendo amizades que espero levar para a vida toda.

Ao meu anjo da guarda, minha amiga, minha segunda mãe, minha eterna orientadora Fabiana de Andrade Cavalcante, por toda a confiança depositada em mim. Fui, sou e sempre serei eternamente grata por tudo que você fez por mim. Saiba que é meu exemplo de profissional. Muito, muito, muitíssimo obrigada por tudo.

A meu pai que do seu jeito particular me apoiou e me ajudou na minha caminhada, fornecendo educação e ensinamentos que me fizeram ser quem sou hoje.

Ao meu marido Cayo Madson Borges, por me apoiar, aceitar meu cansaço e mau humor em alguns dias difíceis, confiando em mim e aceitando que se tratava de uma fase necessária para a realização de um grande sonho meu.

Aos meus irmãos Leonardo Soares e Genival Junior (Nuno), sobrinhos Giovanna Maria, Vinicius e Matheus que sempre confiaram em mim.

A minha família, em especial minha avó Cícera, e minha madrinha Elizete que sempre me reergueram nos momentos de tristeza e dúvida.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram na realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

Anne Dayse Soares da Silva

“...Não digas ‘não posso’ nem de brincadeira, porque o inconsciente não tem sentido de humor, o tomará a sério, e disso o lembrará sempre que tentares...”

Facundo Cabral

RESUMO

SILVA, A. D. S. **Síntese, caracterização, avaliação citotóxica e antitumoral de complexos organometálicos derivados de núcleos nicotínicos**. 2018 100p. Tese de doutorado – Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia. Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Alagoas.

Câncer é uma doença caracterizada por multiplicações exacerbadas e descontroladas de algumas células existentes dentro do organismo, em 2002 havia cerca de 11 milhões de pessoas com a doença e em 2020 serão mais de 15 milhões de pessoas com a patologia. Milhares de estudos foram desenvolvidos até os dias atuais, possibilitando a existência de diversos tratamentos, desde os paliativos promovidos por uma equipe multidisciplinar objetivando a melhoria da qualidade de vida, até os tratamentos curativos ou remissivos como a cirurgia, radioterapia e a quimioterapia. Apesar dos grandes avanços alcançados até então, a quimioterapia ainda apresenta um grande entrave, a baixa seletividade frente às células tumorais. A cisplatina, um representante, entre os diversos fármacos antitumorais, possui um grande efeito antitumoral, porém apresenta alguns pontos negativos, como aparecimento de resistência celular, pouca solubilidade em água e efeitos colaterais graves, como nefrotoxicidade, neurotoxicidade, ototoxicidade e toxicidade gastrointestinal. No tocante, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas buscando melhorias significativas nos compostos contendo platina, e concomitantemente, alguns estudos têm sido realizados a fim de buscar alternativas de fonte metálica para o desenvolvimento de agentes antitumorais. Dentre as inúmeras possibilidades metálicas existentes, dois metais despontam neste cenário o rutênio e o estanho. O ácido nicotínico e a nicotinamida participam de várias reações importantes para a manutenção da homeostase do organismo, porém, para isso é necessário que sejam metabolizados nas coenzimas nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD⁺) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP⁺). Em geral, há poucas dúvidas de que o ácido nicotínico é importante para a estabilidade genômica. Visando buscar fármacos que apresentassem seletividade frente a células tumorais, foram propostos e sintetizados 6 complexos metálicos, 4 complexos de rutênio utilizando como ligantes núcleos nicotínicos e isonicotínicos e seus respectivos ésteres e 2 complexos de estanho utilizando como ligantes o ácido nicotínico e isonicotínico, ambos com rendimentos satisfatórios. Após a síntese, os mesmos foram avaliados através de ensaios de PBMC e GBM02. O ensaio de PBMC é realizado com o objetivo de avaliar o efeito citotóxico das substâncias frente a células tumorais e normais, já o ensaio de GBM02 foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito dos compostos em linhagem celular de glioblastomas. Dos complexos avaliados, alguns complexos de rutênio apresentaram atividade frente a células tumorais, sendo os complexos RuAI e RuMN os compostos com melhores efeitos entre os derivados de rutênio. As complexações com estanho se mostraram mais eficazes na inibição das células tumorais, porém possivelmente esses compostos ainda apresentem toxicidade elevada frente a células normais fazendo-se necessários testes mais aprofundados para avaliar sua atividade frente a outras linhagens celulares, bem como realizar outras complexações a fim de aumentar a seletividade frente às células tumorais.

Palavras-chave: metalofármacos, rutênio, estanho, antitumoral e complexação.

ABSTRACT

SILVA, A. D. S. **Synthesis, characterization, cytotoxic and antitumor evaluation of organometallic complexes derived from nicotinic nuclei**. 2018 100p. Tese de doutorado – Programa de Pós-graduação em Química e Biotecnologia. Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Alagoas.

Cancer is a disease characterized by exacerbated and uncontrolled multiplications of some cells within the body. In 2002 there were about 11 million people with the disease and by 2020 there will be more than 15 million people with the pathology. Thousands of studies have been developed to the present day, making possible the existence of several treatments, from the palliatives promoted by a multidisciplinary team aiming at the improvement of the quality of life, to curative or remissive treatments such as surgery, radiotherapy and chemotherapy. Despite the great advances achieved so far, chemotherapy still presents a major barrier, a low selectivity to tumor cells. Cisplatin, a representative of the various antitumor drugs, has a great antitumor effect, but it has some negative points such as the appearance of cellular resistance, low solubility in water and serious side effects such as nephrotoxicity, neurotoxicity, ototoxicity and gastrointestinal toxicity. In this regard, many studies have been carried out seeking significant improvements in the platinum-containing compounds, and concomitantly, some studies have been carried out in order to search for metal source alternatives for the development of antitumor agents. Among the numerous metallic possibilities, two metals appear in this scenario: ruthenium and tin. Nicotinic acid and nicotinamide participate in several important reactions to the maintenance of the homeostasis of the organism. However, it is necessary to metabolize the nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP⁺) coenzymes. In general, there is little doubt that nicotinic acid is important for genomic stability. In order to search for drugs that showed selectivity towards tumor cells, 6 metal complexes were proposed and synthesized, 4 of them being ruthenium complexes that used nicotinic and isonicotinic nuclei and their respective esters as binders and 2 tin complexes using nicotinic and isonicotinic acids as binders, both with satisfactory yields. After synthesis, they were evaluated by PBMC and GBM02 assays. The PBMC assay is performed with the objective of evaluating the cytotoxic effect of the substances against normal and tumor cells, whereas the GBM02 assay was performed with the objective of evaluating the effect of the compounds in glioblastomas cell line. From the complexes evaluated, some ruthenium complexes showed activity against tumor cells, with the RuAI and RuMN complexes being the compounds with the best effects among the ruthenium derivatives. Complexes with tin have been shown to be more effective in inhibiting tumor cells, but possibly these compounds still show high toxicity to normal cells, requiring further testing to evaluate their activity against other cell lines, as well as performing other complexations in order to increase the selectivity towards the tumor cells.

Keywords: metallopharmaceuticals, ruthenium, tin, antitumor and complexation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Complexos antitumorais de platina	26
Figura 2-	Fases do ciclo celular	29
Figura 3-	Representação cronológica de inovações terapêuticas na quimioterapia	33
Figura 4-	Estrutura química do ácido nicotínico e da nicotinamida, respectivamente.	36
Figura 5-	Estruturas químicas das coenzimas NAD ⁺ e NADP ⁺ , respectivamente.	36
Figura 6-	Representação esquemática de possíveis interações complexo-DNA	38
Figura 7-	Características dos metais, ligantes e compostos de coordenação úteis no desenho de metalofármacos.	39
Figura 8-	Estruturas químicas dos agentes antitumorais em ensaios clínicos	42
Figura 9-	Reação de formação do $[(n^6\text{-areno})\text{CIRu}]_2\text{X}_2$	43
Figura 10-	Estrutura de carboxilatos de organoestanho	45
Figura 11-	Esquematização do ensaio de viabilidade celular pelo método de MTT	53
Figura 12-	Mecanismo geral de esterificação de Fischer	57
Figura 13-	Espectro de RMN de ¹ H (DMSO-D6, 400 MHz) do composto AN	60
Figura 14-	Espectro de RMN de ¹³ C (DMSO-D6, 100 MHz) do composto AN	60
Figura 15-	Espectro de HSQC (DMSO-D6, 400 e 100 MHz) do composto AN	61
Figura 16-	Espectro de HMBC (DMSO-D6, 400 e 100 MHz) do composto AN	61
Figura 17-	Espectro de RMN de ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do composto MN	62
Figura 18-	Espectro de RMN de ¹ H (DMSO-D6, 400 MHz) do composto AI	64
Figura 19-	Espectro de RMN de ¹ H (DMSO-D6, 400 MHz) do composto MI	65
Figura 20-	Espectro de RMN de ¹ H (DMSO-D6, 400 MHz) do composto Ru-p-Cl	67
Figura 21-	Espectro na região do infravermelho (KBr, cm ⁻¹) dos compostos Ru-p-Cl, AI e RuAI, respectivamente	68
Figura 22-	Espectro de RMN de ¹ H (DMSO-D6, 400 MHz) do composto RuAI	70
Figura 23-	Espectro na região do infravermelho (KBr, cm ⁻¹) dos compostos Ru-p-Cl, AN e RuAN, respectivamente	72
Figura 24-	Espectro de RMN de ¹ H (DMSO-D6, 400 MHz) do composto RuAN	73
Figura 25-	Espectro na região do infravermelho (KBr, cm ⁻¹) dos compostos Ru-p-Cl, MI e RuMI, respectivamente	75
Figura 26-	Espectro de RMN de ¹ H (DMSO-D6, 400 MHz) do composto RuMI	77

- Figura 27-** Espectro de RMN de ^1H (DMSO-D6, 400 MHz) do 78
composto RuMN
- Figura 28-** Espectro de RMN de ^1H (DMSO-D6, 400 MHz) do 80
composto BU
- Figura 29-** Espectro de RMN de ^1H (DMSO-D6, 400 MHz) do 81
composto BUI
- Figura 29-** Espectro de RMN de ^1H (DMSO-D6, 400 MHz) do 82
composto BUN

LISTA DE QUADROS

Quadro 1-	Compostos metálicos com atividade antitumoral	20
Quadro 2-	Características discriminantes entre neoplasias benignas e malignas	32
Quadro 3-	Classe e tipos de agentes quimioterápicos	34
Quadro 4-	Relação Ciclo celular X Classes de agentes antineoplásicos	34
Quadro 5-	Reagentes e solventes utilizados: pureza e origem	47
Quadro 6-	Equipamentos empregados nesse trabalho	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Deslocamentos de RMN ^1H e ^{13}C do AN	59
Tabela 2-	Deslocamentos de RMN ^1H do MN	62
Tabela 3-	Deslocamentos de RMN ^1H do AI e MI	64
Tabela 4-	Deslocamentos de RMN ^1H do Ru-p-Cl	66
Tabela 5-	Frequências (cm^{-1}) das principais bandas do Ru-p-Cl, AI e RuAI.	68
Tabela 6-	Deslocamentos de RMN ^1H do AI, RuAI e Ru-p-Cl	69
Tabela 7-	Frequências (cm^{-1}) das principais bandas do Ru-p-Cl, AN e RuAN.	72
Tabela 8-	Deslocamentos de RMN ^1H do AN, RuAN e Ru-p-Cl	74
Tabela 9-	Deslocamentos de RMN ^1H do MI, RuMI e Ru-p-Cl	76
Tabela 10-	Deslocamentos de RMN ^1H do MN, RuMN e Ru-p-Cl	79
Tabela 11-	Efeito dos compostos de partida e dos complexos derivados de organometálicos sobre a viabilidade de células mononucleares sanguíneas e células glioblastomais (GBM02) no ensaio de MTT, respectivamente (24h).	85
Tabela 12-	Efeito dos compostos de partida e dos complexos derivados de organometálicos sobre a viabilidade de células mononucleares sanguíneas e células glioblastomais (GBM02) no ensaio de MTT, respectivamente (48h).	86
Tabela 13-	Efeito dos compostos de partida e dos complexos derivados de organometálicos sobre a viabilidade de células mononucleares sanguíneas e células glioblastomais (GBM02) no ensaio de MTT, respectivamente (72h).	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AI	Ácido isonicotínico
AN	Ácido nicotínico
ANOVA	Análise de variância
BU	Óxido de dibutilestanho
BUI	Diisonicotinato de dibutilestanho
BUN	Dinicotinato de dibutilestanho
CDKs	Cinases dependentes de ciclina
Cl ₅₀	Concentração inibitória com 50% de efeito
DMEM/F12	Meio de cultivo celular
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FTIR	Espectrofotômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier
GBM02	Linhagem de glioblastomas
GCaR	Grupo de Catálise e Reatividade Química
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Coherence</i> (Coerência de ligação múltipla heteronuclear)
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence Spectroscopy</i> (Espectroscopia de coerência quântica individual heteronuclear)
Hz	Hertz
INCA	Instituto Nacional de Câncer
IQB	Instituto de Química e Biotecnologia
IR	Infrared
IV	Infravermelho
LAFI	Laboratório de Farmacologia e Imunidade
MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
MI	Metil isonicotinato
MN	Metil nicotinato
MTT	3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazólio

NAD ⁺	Nicotinamida adenina dinucleotideo
NADP ⁺	Nicotinamida adenina dinucleotideo fosfato
NAPRMN	Núcleo de Análise e Pesquisa em Ressonância Magnética Nuclear
OMS/WHO	Organização Mundial de Saúde
PARPs	Polimerases
PBMC	Ensaio de células mononucleares humanas
PPGQB	Programa de Pós-Graduação em Química e Biotecnologia
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RPMI-1640	Meio de cultivo(1% de antibiótico, 1% L-glutamina, 1% de aminoácido e 1% de piruvato
RuAI	$[(\eta^6\text{-p-cimene})\text{RuCl}_2(\text{ácido isonicotínico})]$
RuAN	$[(\eta^6\text{-p-cimene})\text{RuCl}_2(\text{ácido nicotínico})]$
RuMI	$[(\eta^6\text{-p-cimene})\text{RuCl}_2(\text{metil isonicotínico})]$
RuMN	$[(\eta^6\text{-p-cimene})\text{RuCl}_2(\text{metil nicotínico})]$
Ru-p-Cl	$[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cymene})\text{Cl}_2]_2$
TMZ	Temozolamida
UFAL	Universidade Federal de Alagoas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo Geral	23
2.2 Objetivos Específicos	23
3 REVISÃO DA LITERATURA	24
3.1 Aspectos gerais sobre as neoplasias	25
3.1.1 Histórico das neoplasias	25
3.1.2 Epidemiologia das neoplasias	27
3.1.3 Etapas do ciclo celular	28
3.1.4 Característica das neoplasias	30
3.1.5 Quimioterapia	32
3.1.5.1 Derivados nicotínicos	35
3.1.5.2 Metalofármacos	37
3.1.5.2.1 Rutênio	40
3.1.5.2.2 Estanho	43
4 MATERIAIS E MÉTODOS	46
4.1 Reagentes, solventes e vidrarias	47
4.2 Equipamentos	48
4.3 Manipulações no preparo das amostras para análises	48
4.3.1 Espectroscopia Infravermelho	48
4.3.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear	48
4.3.3 Análise do Ponto de Fusão	48
4.4 Síntese dos complexos	49
4.4.1 Esterificação dos derivados nicotínicos	49
4.4.2 Síntese dos complexos $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{RuCl}_2(\text{ácido isonicotínico})]$ e $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{RuCl}_2(\text{ácido nicotínico})]$	49
4.4.3 Síntese dos complexos $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{RuCl}_2(\text{metil isonicotinato})]$ e $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{RuCl}_2(\text{metil nicotinato})]$	50
4.4.4 Síntese dos complexos dinicotinato de dibutilestanho e diisonicotinato de dibutilestanho.	51
4.5 Avaliação da atividade biológica	52
4.5.1 Isolamento e cultivo de células mononucleares.....	52

4.5.2 Cultivo de células glionais-GBM02	52
4.5.3 Ensaio de viabilidade celular	52
4.5.3.1 Ensaio com células mononucleares sanguíneas-PBMC.....	53
4.5.3.2 Ensaio com células glionais-GBM02	53
4.5.4 Análise dos dados de atividade biológica	54
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
5.1 Esterificação dos núcleos nicotínicos	56
5.1.1 Caracterização dos compostos esterificados	57
5.2 Complexação dos núcleos nicotínicos com rutênio	65
5.2.1 Caracterização dos núcleos nicotínicos com rutênio	66
5.3 Complexação dos núcleos nicotínicos com estanho	79
5.3.1 Caracterização dos núcleos nicotínicos com estanho	80
5.4 Avaliação da atividade biológica	83
5.4.1 Avaliação da viabilidade celular X citotoxicidade tumoral no período de 24h.....	84
5.4.2 Avaliação da viabilidade celular X citotoxicidade tumoral no período de 48h.....	85
5.4.3 Avaliação da viabilidade celular X citotoxicidade tumoral no período de 72h.....	87
6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	90
REFERÊNCIAS	92

Introdução



1 INTRODUÇÃO

Durante a vida, as células eucarióticas animais são submetidas a processos de renovação através de ciclos celulares. Estes ciclos, por vezes, são definidos como uma série ordenada de eventos ocorrendo em quatro fases distintas (S, G₁, G₂ e M) obtendo como resultado a divisão de uma célula em duas células filhas. Das fases componentes do ciclo, a fase inicial G₁ é responsável pela síntese proteica, à fase S é responsável pela síntese do DNA, que depois de sintetizado será replicado na fase G₂, com subsequente separação em duas células filhas na fase M. Após a replicação as células podem ser direcionadas a novos ciclos celulares ou permanecer em um período de latência (G₀) (HUSTEDT; DUROCHER, 2017). A manutenção da estabilidade do genoma é essencial para o desenvolvimento normal das células e tecidos, vários mecanismos são responsáveis pela manutenção desta estabilidade, um deles são os *Checkpoints*, que atuam interrompendo a progressão do ciclo celular até que haja garantias de conformidade nas fases do ciclo (SALAZAR-ROA; MALUMBRES, 2016).

Apesar dos mecanismos de regulação do ciclo, a ocorrência de falhas pode levar ao desenvolvimento das mais diversas anomalias e doenças, dentre estas o câncer possui grande destaque por ser até os dias atuais um problema de saúde pública em todo o mundo. O câncer de uma forma geral ocorre devido a uma multiplicação exacerbada e descontrolada de algumas células existentes dentro do organismo, essas células sofrem uma diferenciação e adquirem a capacidade de se multiplicar e invadir estruturas sadias a sua volta (SANTOS, SOUZA, 2017).

Existem mais de 100 diferentes tipos de câncer, apresentando como fator comum o crescimento desordenado (maligno) de células que invadem os tecidos e órgãos podendo espalhar-se (metástase) para outras regiões do corpo. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores (acúmulo de células cancerosas) ou neoplasias malignas. Por outro lado, um tumor benigno significa simplesmente uma massa localizada de células que se multiplicam vagarosamente e se assemelham ao seu tecido original, raramente constituindo um risco de vida (INCA, 2015).

Em 2002 havia cerca de 11 milhões de pessoas com a doença e em 2020 serão mais de 15 milhões de pessoas com a patologia. E como a expectativa de vida tem melhorado gradativamente as estatísticas tendem a aumentar (INCA, 2015).

Diante deste contexto os países desenvolvidos buscam através de várias vertentes desenvolver pesquisas que reduzam a incidência de novos casos e descubram tratamentos que aumentem as possibilidades de cura.

Milhares de estudos foram desenvolvidos até os dias atuais, possibilitando a existência de diversos tratamentos, desde os paliativos promovidos por uma equipe multidisciplinar objetivando a melhoria da qualidade de vida, até os tratamentos curativos ou remissivos como a cirurgia, radioterapia e a quimioterapia. As modalidades de tratamentos podem ser realizadas de forma individualizada ou de forma conjunta, sendo este último o mais utilizado uma vez que a atuação conjunta de mais de uma técnica tende a aumentar as chances de cura. Dentre os tratamentos curativos ou remissivos a quimioterapia é a técnica mais utilizada, consistindo na administração combinada de agentes químicos que atuam sobre as células potencialmente tumorais, permitindo atingir populações celulares em diferentes fases do ciclo celular (BRASIL, 2015).

Apesar dos grandes avanços alcançados até então, a quimioterapia ainda apresenta um grande entrave, a baixa seletividade frente às células tumorais. Os quimioterápicos tem a função de destruir as células cancerosas impedindo seu crescimento e multiplicação, porém acabam afetando tecidos saudáveis, permitindo o desencadeamento de efeitos colaterais em função da toxicidade frente às células normais. Alguns efeitos colaterais ocasionados pela quimioterapia são alterações emocionais, sociais, e na autoestima, além de náuseas, vômitos, fadiga, alopecia, mucosite, alterações na pele e complicações como infecções e neuropatia (FERREIRA; FRANCO, 2017).

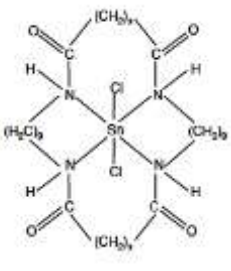
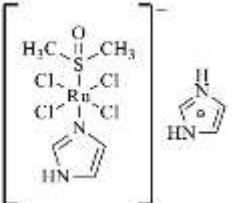
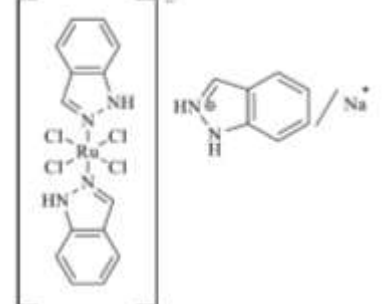
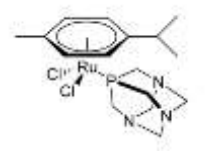
Muitos compostos são utilizados na quimioterapia oncológica, a maioria deles tem como mecanismo de ação a interação com o DNA, como os análogos das bases nitrogenadas, agentes intercalantes e os agentes alquilantes. Os agentes alquilantes são os mais antigos e um dos grupos de fármacos mais utilizados. A citotoxicidade destes compostos ocorre quando há formação de ligações covalentes com o DNA, interferindo na replicação e/ou transcrição, processos essenciais para a divisão celular. Dentre os agentes alquilantes, os quimioterápicos a base de platina são amplamente utilizados no tratamento de vários tipos de câncer. O mecanismo de ação antitumoral dos complexos de platina envolve o bloqueio do ciclo celular na fase G2, podendo desencadear a morte da célula. A ligação destes compostos ao DNA é considerada o passo crítico para a sua atividade antitumoral, mas também é

indicativo de um risco para o hospedeiro devido ao seu potencial genotóxico (GONZÁLEZ; ALLGAYER; DIHL; LEHMANN, 2017).

Embora a cisplatina tenha grande efeito antitumoral, apresenta alguns pontos negativos, como aparecimento de resistência celular, pouca solubilidade em água e efeitos colaterais graves, como nefrotoxicidade, neurotoxicidade, ototoxicidade e toxicidade gastrointestinal. Com o propósito de diminuir ou até mesmo sanar estes efeitos, mais de 3.000 complexos já foram sintetizados e testados, mas somente três são utilizados atualmente, como a carboplatina, a oxaliplatina e a nedaplatina. Embora se tenha avançado no aprimoramento das propriedades farmacológicas destes complexos, as pesquisas nessas áreas continuam, a fim de obter análogos menos citotóxicos, mais solúveis e com maior atividade contra diversos tipos de câncer (CÂMARA; SILVA; CARVALHO; SILVA; FIGUEROA-VILLAR, 2016).

No tocante, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas buscando melhorias significativas nos compostos contendo platina, e concomitantemente, alguns estudos têm sido realizados a fim de buscar alternativas de fonte metálica para o desenvolvimento de agentes antitumorais. Dentre as inúmeras possibilidades metálicas existentes, dois metais despontam neste cenário o rutênio e o estanho (Quadro 1). O rutênio se apresenta como uma alternativa promissora por possuir vários estados de oxidação possíveis (Ru^{+2} , Ru^{+3} e Ru^{+4}) variando de acordo com as condições fisiológicas, somado a isto seu perfil cinético de substituição de ligante é semelhante aos dos complexos Pt^{+2} em meio aquoso, apresentando uma lenta troca de ligante (YADAV, 2013).

Quadro 1. Compostos metálicos com atividade antitumoral

 <p>X= 3 ou 4</p>			
CHAUGHARY; SING;SINGH, 2006	BRATSOS, 2011	CHANG et al., 2016	CHATTERJEE et al., 2008

As aplicações dos compostos organoestânicos são mais recentes que as dos compostos inorgânicos de estanho. Godoi e colaboradores (2013) apresentam um

histórico sobre a síntese e aplicações dos organometálicos de estanho, ou organoestânicos, mostrando que o primeiro estudo feito sobre essa classe de substâncias foi realizado por Edward Frankland (1825-1899) que, em 1853, preparou o diiodeto de dietilestanho (IV) e, em 1859, o tetraetilestanho(IV). A primeira citação de aplicação prática desses compostos foi feita em uma patente apresentada em 1925, onde eram chamados de “agentes anti-traças”, apesar de nunca terem sido usados como tal. Muitos compostos de estanho, sobretudo os orgânicos, apresentam ação biológica, apresentando potencial antitumoral e agem contra diversos tipos de microrganismos (GODOI et al, 2013).

As pesquisas e o desenvolvimento de compostos de organoestanho(IV) têm aumentado nos últimos anos e ocupado um papel importante na busca de novas terapias contra o câncer (TABASSUM; PETTINARI, 2006). Esses compostos exibem significativa atividade antiproliferante *in vitro* que, em alguns casos, é mais alta que a atividade correspondente a cisplatina e outros fármacos usados no tratamento clínico do câncer. Para mais, esses complexos têm se mostrados ativos *in vivo* com resultados encorajadores (TABASSUM; PETTINARI, 2006; PRUCHNIK et al., 2002).

No desenvolvimento de possíveis agentes antitumorais organometálicos, além da atenção depositada nos centros metálicos, devem-se encontrar ligantes que potencializem de alguma forma a ação desses possíveis fármacos, seja auxiliando em aspectos de solubilidade, estabilidade ou mesmo agindo de forma conjunta com o centro metálico (MARTINS, 2017).

Na tentativa de atrelar essa potencialização juntamente com uma maior aceitação por parte da célula, devido a uma semelhança com moléculas já existentes no organismo, o presente trabalho objetivou sintetizar complexos metálicos de estanho e rutênio utilizando como ligantes núcleos nicotínicos, uma vez que esse ácido já é utilizado pelo organismo na forma de vitamina B3. Após essa síntese e caracterização será realizada a avaliação antitumoral e citotóxica como o objetivo de avaliar se esses novos fármacos serão mais eficazes, porém com efeitos colaterais menores que os fármacos já encontrados no mercado.

Objetivos

A decorative graphic consisting of two horizontal bars. The top bar is a thick, solid black line. The bottom bar is a thinner, solid gray line, positioned directly below the black bar and extending slightly further to the left and right.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Sintetizar e avaliar as propriedades citotóxicas e antitumorais de potenciais agentes antitumorais à base de complexos metálicos, contendo como ligantes agentes com potencial ação antineoplásica.

2.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar e caracterizar complexos dos metais (Ru e Sn) contendo ligantes com potencial ação antitumoral;
- Realizar *screening* farmacológico de produtos sintéticos sobre a viabilidade celular;
- Avaliar a atividade antitumoral *in vitro* dos compostos de partida e complexos sintetizados;
- Avaliar a seletividade entre as células sanguíneas normais e as células glionais;

Revisão da Literatura

A decorative graphic consisting of two horizontal bars. The top bar is solid black and the bottom bar is a lighter gray, both positioned below the title.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Aspectos gerais sobre as neoplasias e os antineoplásicos

3.1.1 Histórico das neoplasias

Segundo a WHO (*World Health Organization*) o câncer é um termo genérico utilizado para caracterizar o crescimento de células anormais, além de seus limites habituais. Esse crescimento pode ser acompanhado por uma invasão para partes adjacentes do corpo e/ou espalhar-se para outros órgãos, dando a esta doença um caráter de gravidade por sua rapidez de desenvolvimento e capacidade de propagação (WHO, 2017).

Além da designação câncer, outros termos são utilizados para denominar esta doença, como tumores (benignos e malignos) e neoplasias. Seu acometimento é irrestrito, podendo ocorrer em qualquer tecido do corpo, o que dificulta sua caracterização, exigindo atuações individualizadas, uma vez que apresenta inúmeros subtipos anatômicos e moleculares exigindo estratégias específicas em cada tipo de tratamento (INCA, 2015).

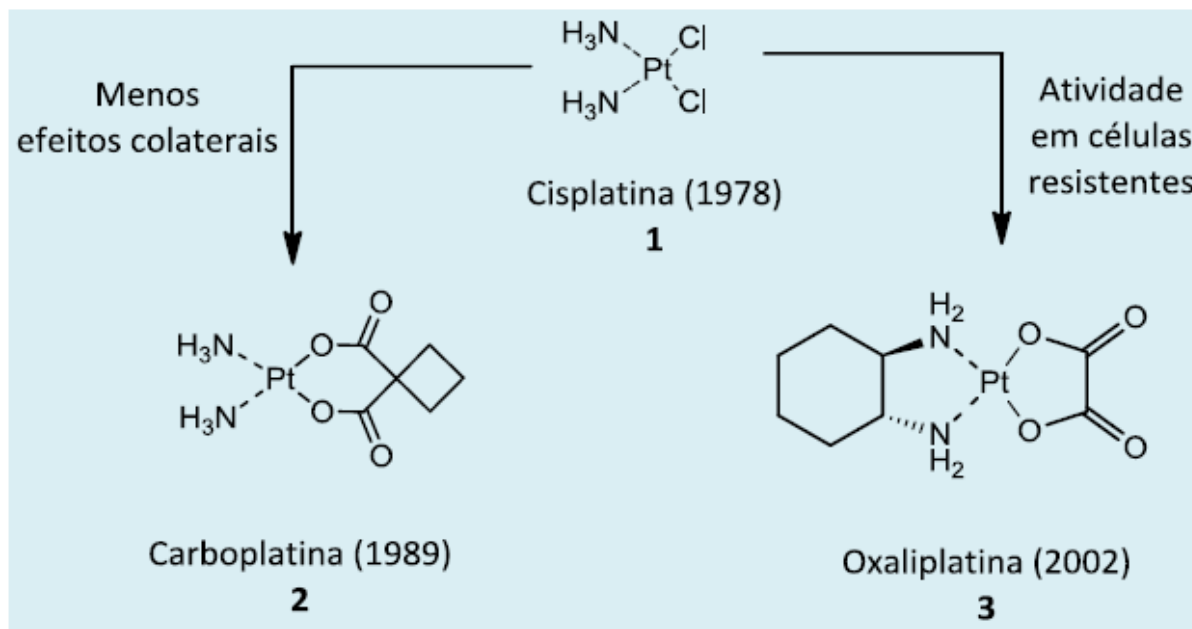
As causas de câncer são variadas, podendo ser externas (fenotípica) ou internas (genotípicas) ao organismo, estando ambas inter-relacionadas. As causas externas relacionam-se ao meio ambiente e aos hábitos ou costumes próprios de um ambiente social e cultural. As causas internas são, na maioria das vezes, geneticamente pré-determinadas, estão ligadas à capacidade do organismo de se defender das agressões externas. Esses fatores causais podem interagir de várias formas, aumentando a probabilidade de transformações malignas nas células normais (INCA, 1996).

A ideia da cura do câncer surgiu em meados de 1962, após a descoberta de compostos químicos que provocaram a cura da leucemia em camundongos tratados com o quimioterápico ciclofosfamida. Desde então muitos quimioterápicos foram aprovados para comercialização do tratamento do câncer, mas a busca do fármaco ideal permanece, ou seja, uma droga que garanta maiores índices de cura, bem como maior e melhor qualidade de vida aos pacientes (BARRA; NETTO, 2015).

O Interesse por compostos de coordenação na quimioterapia do câncer começou no fim da década de 60, após ser descoberta a atividade antitumoral da *cisdiaminodicloroplatina (II)* (cisplatina (1) Figura 1). Os primeiros estudos mostraram que este fármaco promove a cura do câncer de testículo, mas, atualmente também é

usado para combater vários outros tipos de tumores, em especial os sólidos, como de ovário, cabeça e pescoço, próstata e bexiga. Outros complexos à base de platina foram desenvolvidos e comercializados, como a carboplatina (2) e oxaliplatina (3) (Figura 1) (CÂMARA; SILVA; CARVALHO; SILVA; FIGUEROA-VILLAR, 2016).

Figura 1- Complexos antitumorais de platina.



Fonte: Barra; Netto (2015).

Embora apresentem algumas vantagens em relação à cisplatina, os problemas associados a efeitos-colaterais e resistência ainda persistem. Apesar disto, os derivados de platina continuam sendo utilizados no tratamento de 50 a 70% dos pacientes com câncer (THEINER et al., 2015). Por isso, é necessário desenvolver novos agentes antitumorais que consigam superar a toxicidade associada aos compostos de platina de modo a melhorar a eficácia clínica (MA et al., 2016). O sucesso do tratamento clínico desencadeou o interesse por compostos de platina e por outros complexos contendo íons metálicos para o uso de agentes anticancerígenos. Neste contexto, os complexos de rutênio e estanho têm conquistado um lugar de relevância pelos seus excelentes resultados como potenciais agentes anticancerígenos (BRTKO; DUORAK, 2015; CARVALHO, 2017).

3.1.2 Epidemiologia das neoplasias

As amplas pesquisas desenvolvidas em busca de possibilidades de cura ou novas possibilidades de tratamento com melhor eficácia se justificam devido à alta incidência desta enfermidade. O câncer é um problema de saúde pública e ocupa o segundo lugar em mortalidade no mundo, sendo que em alguns países desenvolvidos é apontado como o primeiro lugar. No Brasil, a incidência de câncer cresce como em todo o mundo, num ritmo que acompanha o envelhecimento populacional decorrente do aumento na expectativa de vida. A distribuição dos diferentes tipos de câncer sugere uma transmissão epidemiológica em andamento (MALTA et al., 2016).

Os dados de mortalidade e morbidade por câncer no Brasil têm sido registrados pelo DATASUS e acompanhados e avaliados pelo Instituto Nacional do Câncer (INCA) (MEDICI; BELTRÃO, 2015), sendo este o principal órgão fornecedor de informações relacionadas aos casos de câncer no país.

De todos os casos, 80 a 90% dos cânceres estão associados a fatores ambientais. Alguns deles são bem conhecidos, como o cigarro que pode causar câncer de pulmão, a exposição excessiva ao sol relacionada ao câncer de pele, e alguns vírus que podem causar leucemia. Outros estão em estudo, como alguns componentes dos alimentos que ingerimos, e muitos estão ainda completamente desconhecidos (INCA, 2015).

As análises relacionadas ao câncer têm estado concentradas na sua epidemiologia, mas pouco tem avançado na análise de seus aspectos demográficos, sendo necessário mais estudo que correlacionem a ocorrência de casos (notificados e principalmente os subnotificados) com o desenvolvimento e o avanço demográfico presente em cada estado e região do país (MEDICI; BELTRÃO, 2015).

Outro fator associado ao aumento na incidência de casos da doença é o envelhecimento da população, estima-se que esse envelhecimento irá ocorrer de forma exponencial. Essa associação ao envelhecimento ocorre devido a mudanças nas células que aumentam a sua susceptibilidade às transformações malignas. Isso somado ao fato das células de pessoas idosas terem sido expostas por mais tempo aos diferentes fatores de risco para câncer, explica em parte o porquê de o câncer ser mais frequente nesses indivíduos, uma vez que esses fatores atuam alterando a estrutura genética (DNA) das células (INCA, 1996).

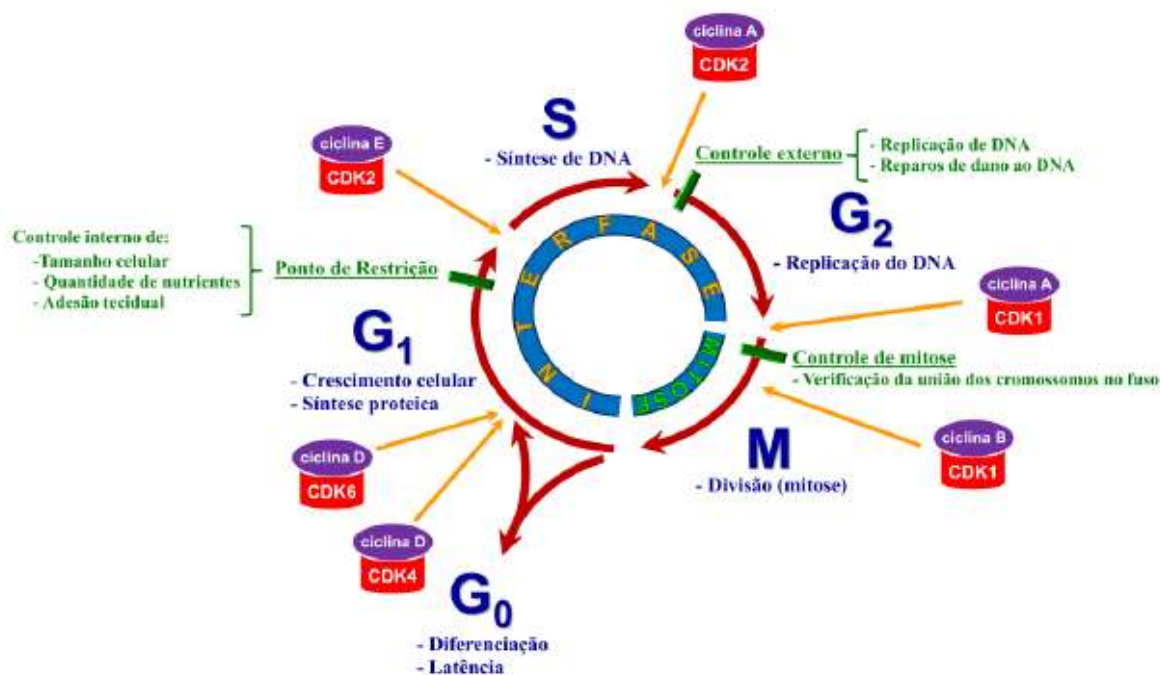
Os fatores relacionados ao aparecimento do câncer podem variar a depender de qual entre os mais de 100 tipos de câncer esteja presente, porém independente do subtipo, todos apresentam como fator comum anomalias no ciclo celular, onde a célula deixa de checar os erros e falhas que provocariam o bloqueio do ciclo ou mesmo a morte celular, encaminhando essas células com “erros genéticos” a produção exacerbada de cópias portadoras dos mesmos erros (NUNES, 2017).

3.1.3 Etapas do ciclo celular

As células animais, eucarióticas, são constituídas basicamente por três partes: i) a membrana plasmática parte mais externa responsável pela delimitação da célula do meio externo; ii) o citoplasma, corpo da célula que possui inúmeras organelas dispersas; e iii) o núcleo celular, que acomoda os cromossomos, constituídos de genes. Os genes são espécies de arquivos “memórias químicas” responsáveis por guardar, fornecer e comandar instruções de atuação e funcionamento das células. Durante a vida, essas células são submetidas a inúmeras renovações através de ciclos celulares.

O ciclo celular das células eucarióticas é basicamente dividido em quatro fases G_1 , S, G_2 e M. Denomina-se fase G_0 celular, aquela fase em que toda e qualquer célula, que já tenha realizado seu processo de diferenciação, e se encontra quiescente, ou seja, sem responder a estímulos de crescimento ou proliferação. A exemplo dos neurônios, algumas células podem permanecer em G_0 por muitos anos e, dessa forma, raramente sofrerem divisão. As fases G_0 , G_1 , S, G_2 , representadas na Figura 2, estão inseridas no período celular denominado intérfase, que corresponde ao intervalo entre duas fases mitóticas. A mitose por sua vez é subdividida em prófase, prometáfase, metáfase, anáfase e telófase, estando cada subdivisão relacionada a um evento celular específico (GUEMBAROVSKI; CÓLUS, 2008).

Figura 2- Fases do ciclo celular



Fonte: VERMEULEN et al., 2003; WARD, 2002.

As duas fases consideradas críticas ao desenvolvimento celular são as fases relativas à síntese do DNA (fase S), e a mitose (fase M), etapa em que o DNA replicado é dividido igualmente entre duas células filhas. A fase S é precedida pela etapa G₁ (a letra G é derivada do termo em inglês *gap*, que significa intervalo), nessa etapa há o preparo celular para a síntese de ácidos nucleicos. Em G₁ ocorre, dentre uma série de eventos bioquímicos, a checagem interna de processos e estruturas necessárias à próxima etapa, a fase S. As características das células nessa fase são o aumento do tamanho celular e síntese de proteínas quinases dependentes de ciclinas essenciais à síntese de DNA (VERMEULEN et al., 2003).

Na etapa G₁, a célula mostra-se sensível às condições ambientes e assim, caso estas não sejam favoráveis, o ciclo é automaticamente interrompido. Após o ponto de restrição, ilustrado na figura 2, a fase S (de síntese de DNA) irá ocorrer independentemente das condições ambientais. Após a fase S, têm-se a fase G₂, onde haverá a replicação do DNA sintetizado na etapa anterior. No início desta fase há outro ponto de controle, destinado a verificar o conteúdo do material genético a ser replicado, para que posteriormente seja dividido igualmente na fase mitótica (WARD, 2002).

Os *checkpoints* representam o controle do ciclo celular, um mecanismo de “prevenção”, cuja função é a de evitar o acúmulo de erros genéticos durante as divisões celulares, protegendo a integridade genômica das células. Os *checkpoints* realizam pelo menos quatro tarefas: i) induzem rapidamente um retardo no ciclo celular; ii) ajudam a ativar o reparo do DNA; iii) mantêm o ciclo celular bloqueado até que o reparo seja completado; iv) e reiniciam a progressão do ciclo. Dessa forma, as instabilidades genômicas podem resultar de defeitos nesses mecanismos de controle e assim levar à transformação de células normais em células tumorais (BARTEK; ELUKAS, 2007; MOTOYAMA; NAKA, 2004).

3.1.4 Características das neoplasias

As células tumorais apresentam como sinonímia as nomenclaturas: câncer, neoplasia e tumores (benignos e malignos), porém apesar de seu uso como sinônimos, cada nomenclatura apresenta particularidades que por vezes tornam incorretas suas utilizações de forma indiscriminada. Na prática, as neoplasias são chamadas de tumores, porém o termo “tumor” é mais abrangente, pois significa qualquer lesão expansiva ou intumescimento localizado, podendo ser causado por outras lesões (inflamações, hematomas, etc.) (BOGLIOLO, 2013).

Já o termo câncer é de tradução latina e deriva da palavra grega carcinoma (de *karkinos* = crustáceo, caranguejo). Foi usado pela primeira vez por Galeno (aproximadamente 138 a 201 d.C.) para indicar um tumor maligno da mama no qual as veias superficiais do órgão eram turgidas e ramificadas, lembrando as patas de um caranguejo. O termo generalizou-se e hoje é usado para indicar qualquer neoplasia maligna. Porém a uniformização e o conhecimento das corretas nomenclaturas das neoplasias possibilitam que os dados de frequência, evolução, tratamento e prevenção obtidos em regiões geográficas diferentes possam ser comparados e forneçam dados epidemiológicos mais fidedignos (BOGLIOLO, 2013).

Em seu uso comum, as expressões benigno e maligno referem-se mais ao comportamento biológico geral de um tumor do que às suas características morfológicas. Na maioria das circunstâncias, os tumores malignos promovem a morte do hospedeiro, enquanto os benignos o poupam. Entretanto, os denominados tumores benignos em locais críticos podem ser fatais (RUBIN et al., 2013).

As neoplasias benignas apresentam células bem diferenciadas (Quadro 2), com crescimento por expansão, permanecendo no local de origem, sem infiltrar ou

invadir tecidos vizinhos ou provocar metástase para outros locais, é geralmente circunscritas por uma cápsula de tecido fibroso que delimita as margens do tumor. Devido à cápsula, os tumores benignos formam massas isoladas, palpáveis e móveis, passíveis de enucleação cirúrgica. Entretanto, alguns tumores benignos são localmente invasivos e recidivantes (FRANCO et al., 2010).

Já as células malignas apresentam células com grau variável de diferenciação. As células indiferenciadas são também chamadas de anaplásicas, células que apresentam variação de tamanho e forma. Neste tipo de neoplasia o crescimento é rápido, podendo ocorrer desenvolvimento de metástase regional e à distância. Devido a essa característica invasiva, é necessária a ressecção cirúrgica de considerável margem de tecido aparentemente normal, conhecida como cirurgia radical. É preciso ressaltar que alguns tipos de câncer evoluem de uma lesão inicial conhecida como carcinoma *in situ*. Neste estágio as células tumorais estão restritas ao epitélio e não rompem a membrana basal com consequente invasão do conjuntivo. As ressecções cirúrgicas nesta fase são menores com um maior índice de cura (FRANCO et al., 2010).

Após a descoberta e caracterização da neoplasia em benigna ou maligna, o passo seguinte é identificar e escolher o melhor tratamento para promover a cura, impedir o desenvolvimento ou mesmo nos casos mais graves, fornecer ao paciente melhores condições de conviver com a neoplasia. Atualmente, a radioterapia a terapia hormonal e a quimioterapia são as práticas reconhecidas como tratamentos eficazes, podendo ser utilizada de forma individualizada, conjunta ou mesmo atrelada a algumas formas de tratamento paliativo, com o intuito de aumentar as porcentagens de sucesso do tratamento. Das técnicas acima citadas a quimioterapia ainda representa a técnica mais utilizada, uma vez que apresenta maiores possibilidades de individualização do tratamento, além de apresentar muitos avanços, promovidos pelos inúmeros estudos conduzidos em todo o mundo diariamente (BECHARA, 2017).

Quadro 2- Características discriminantes entre neoplasias benignas e malignas

Característica	Neoplasia benigna	Neoplasia maligna
Tipo de crescimento	Expansivo	Infiltrativo
Pseudocápsula	Frequente	Rara
Mitoses	Raras e geralmente típicas	Frequentes e geralmente atípicas
Cromatina	Delicada	Grosseira
Metástase	Não ocorre	Frequente
Invasão celular	Ausente	Frequente
Taxa de crescimento	Geralmente baixa	Geralmente alta
Forma celular	Homogênea	Variado (pleomorfismo)
Volume celular	Homogêneo	Variado
Núcleo/citoplasma	Próxima do normal	Geralmente aumentada
Ploidia	Geralmente diploide ou periploide	Geralmente aneuploide/poliploide
Diferenciação	Bem diferenciado	Variável
Necrose e hemorragia	Raras	Frequentes

Fonte: Adaptado de Franco et al., 2010.

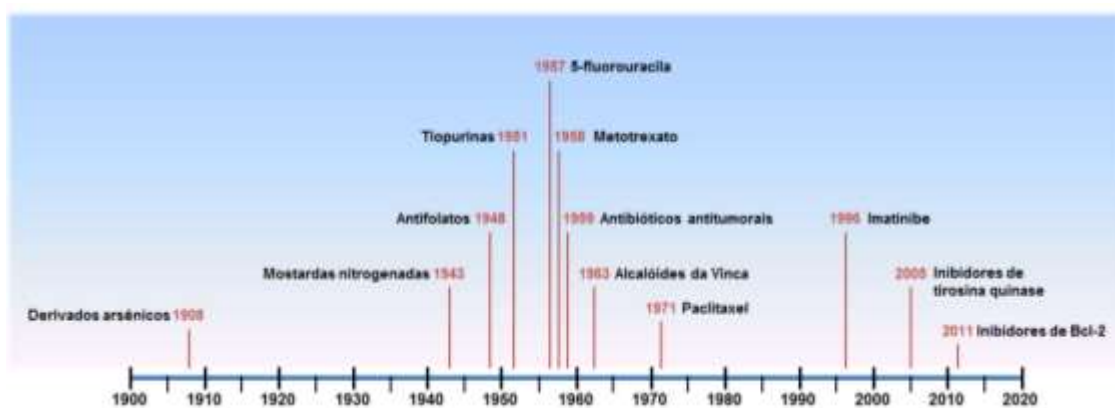
3.1.5 Quimioterapia

A quimioterapia começou a ser estudada como estratégia para o tratamento do câncer no início dos anos 1900, através de triagens conduzidas pelo químico alemão Paul Ehrlich, que objetivavam reduzir o número de substâncias que poderiam suprimir tumores transplantados em roedores, para que fossem conhecidos, mesmo com as limitações da época, agentes com menor potencial tóxico e maior capacidade de supressão de tumores. Os estudos de Ehrlich basicamente giravam em torno de anilinas, derivados arsênicos e estruturas primórdias aos, hoje conhecidos, agentes alquilantes (PAPAC, 2001).

No início do século 20 o desafio dos pesquisadores era propor modelos confiáveis e representativos, que fossem capazes de mensurar a eficácia de compostos ensaiados frente a diferentes linhagens tumorais. Evoluções significativas começaram a surgir em 1937, quando foi criado, nos Estados Unidos, o Instituto Nacional do Câncer (National Cancer Institute – NCI), e na década posterior, 1940, onde os trabalhos resultaram na inserção das mostardas nitrogenadas para o tratamento de linfomas, e de hormônios, primeiramente o estrógeno, para o tratamento de determinadas neoplasias associadas às gônadas. Entretanto, somente através de quatro programas de pesquisa, lançados durante o período da segunda guerra mundial, é que foram obtidas as evoluções mais contundentes na descoberta de fármacos com maior efetividade no tratamento oncológico, o que culminou, em 1955, na criação do Centro Nacional de Serviços em Quimioterapia do Câncer, o primeiro núcleo mundial especializado no tratamento de

pacientes acometidos por neoplasias malignas. Mais tarde, com o advento das pesquisas aplicadas, e de evoluções no ramo da biologia molecular e da biotecnologia, surgiram a fluorouracila no final dos anos 1950, os alcaloides da Vinca (nos anos 1960) e, posteriormente, na década de 1990, surgiram os anticorpos monoclonais, como o trazituzumabe. A Figura 3 mostra a linha cronológica de inserção dos principais fármacos para o tratamento do câncer, até hoje utilizados (ALI et al., 2012; DEVITA; CHU, 2008).

Figura 3- Representação cronológica de inovações terapêuticas na quimioterapia



Fonte: Ali et al., 2012; De-Vita; Chu, 2008.

A crescente variedade e número de compostos antitumorais, desenvolvidos até a data, tornaram necessários o seu agrupamento em classes, no entanto, as classificações não são um consenso entre os pesquisadores, apresentando algumas variações, porém essas compilações são geralmente definidas tendo-se em conta os respectivos mecanismos de ação ou características químicas dos mesmos (ESPINOSA; RAPOSO, 2010). O quadro 3 fornece um resumo das principais classes e agentes quimioterápicos no agrupamento proposto por Brunton; Chabner; Knollmann (2012).

Quadro 3- Classe e tipos de agentes quimioterápicos

CLASSE	TIPO DE AGENTES	
Alquilantes	- Mostardas nitrogenadas - Alquil Sulfonatos - Nitrosureias	- Triazenos - Complexos de coordenação de platina
Antimetabólitos	- Análogos do ácido fólico - Análogos da piridina	- Análogos da purina-
Produtos Naturais	- Alcaloides da vinca - Taxanos - Epiodofilotoxinas - Camptotecinas	- Antibióticos - Equinocandinas - Enzimas
Hormônios e Antagonistas	- Supressores córtico-suprarrenais - Progestinas - Estrogênios - Antiestrogênios	- Inibidores de aromatase - Androgênios - Antiandrogênios - Análogo do GnRH
Agentes Diversos	- Ureia substituída - Agentes de diferenciação - Inibidores da proteína tirosinocinase	- Inibidor do proteassoma - Imunomoduladores - Anticorpos monoclonais

Fonte: BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012

Outra classificação vigente, sendo esta mais aceita, divide os fármacos antitumorais em três categorias, levando em consideração a maior atividade em determinadas fases do ciclo celular: 1) ciclo celular específico/fase específica; 2) ciclo celular específico/fase não específica; 3) ciclo não específico, que diz respeito a fármacos que não agem necessariamente em fases de crescimento, mas em células em repouso (Fase G₀), Quadro 4 (ALMEIDA et al., 2005).

Quadro 4- Relação Ciclo celular X Classes de agentes antineoplásicos

AGENTES CICLO CELULAR ESPECÍFICOS	AGENTES CICLO CELULAR NÃO ESPECÍFICO	AGENTE CICLO NÃO ESPECÍFICO
AGENTES ANTIMETABÓLICO - Análogo do ácido fólico; - Antagonista das pirimidinas; - Análogos das purinas e inibidores correlatos	PRODUTOS NATURAIS - Antibióticos naturais - Alcaloides pirrolizidínicos	TAXOIDES
AGENTES HORMONAIS - Adrenocorticosteróides; - Progestinas; - Estrogênios - Androgênios; - Antiestrogênios; - Antiandrogênio; - Análogo do hormônio liberador de gonadotropina; - Inibidor de aromatase; - Inibidor do hormônio peptídico	AGENTES ALQUILANTES DIVERSOS - Mostardas nitrogenadas - Nitrossurréias - Triazenos; - Alquil sulfonatos	
PRODUTOS NATURAIS - Alcaloides vegetais (vinca, podofilotoxina) - Enzimas	COMPLEXOS DE COORDENAÇÃO - Cisplatina; - Carboplatina	

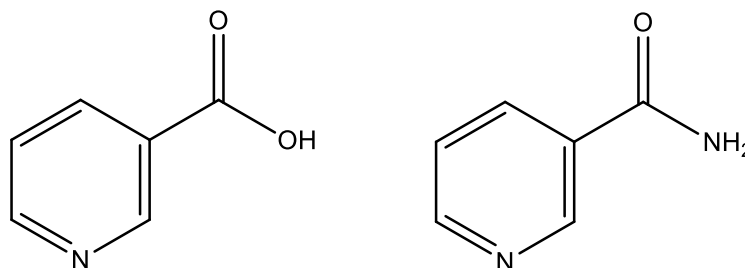
Fonte: Adaptado de ALMEIDA, 2005.

Apesar dos avanços já realizados e dos inúmeros fármacos já disponíveis no mercado, ainda são realizadas várias pesquisas envolvendo possíveis drogas antitumorais, pois em muitos casos, ainda não foram obtidas curas completas ou mesmo tratamentos sem efeitos colaterais. Essas buscas costumam se alicerçar em quatro eixos distintos: ao acaso, fontes naturais, sintéticas e virtuais. Destas quatro possibilidades, o desenvolvimento a partir de fontes sintéticas conta com maior destaque, pois possibilita promover, através de propostas reacionais planejadas melhoras moleculares ou mesmo novos compostos que apresentem menos efeitos colaterais e/ou mais especificidades frente às células tumorais (INCA, 2015).

As pesquisas apresentaram muitos avanços, porém nas buscas por novos agentes antineoplásicos a principal barreira encontrada são os efeitos colaterais. Algumas substâncias que apresentam efeito antineoplásicos nos testes laboratoriais *in vitro* esbarram na apresentação de efeitos colaterais quando administrados aos pacientes nos testes clínicos. Uma estratégia adotada pelos pesquisadores tem buscado encontrar mudanças conformacionais em substâncias já conhecidas pelo organismo. O objetivo desta estratégia é tentar minimizar as reações adversas que o organismo pode apresentar, tentando induzir o corpo a não “interpretar” aquele fármaco como o corpo estranho. Embasado nesta perspectiva o presente estudo escolheu como fonte de ligantes núcleos nicotínicos.

3.1.5.1 Derivados nicotínicos

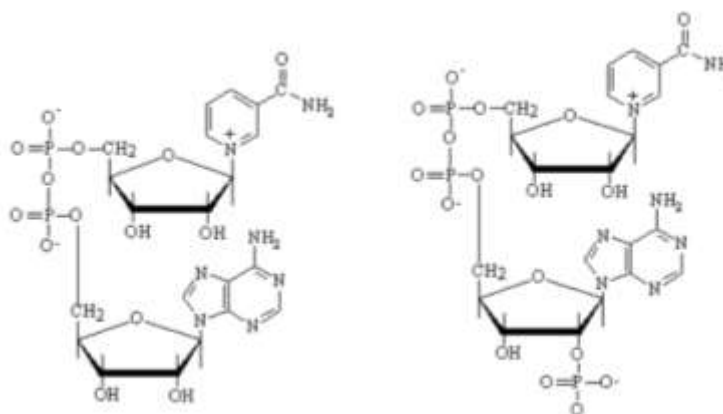
Em fevereiro de 1937, Koehn e Elvehjem, realizaram estudos com cães que apresentavam sinais de manchas pretas na língua. Após tratar esses animais durante um período de 10 meses com dietas alimentares suplementadas com ácido nicotínico Elvehjem e colaboradores relacionaram a carência dessa substância com o aparecimento da pelagra (Figura 4) uma doença causada pela deficiência de niacina (vitamina B3) no organismo.

Figura 4- Estrutura química do ácido nicotínico e da nicotinamida, respectivamente.

Fonte: Autor, 2018.

O ácido nicotínico (niacina ou ácido piridino-3-carboxílico) possui caráter básico e forma sais de amônio quaternário em soluções ácidas. Apresenta-se sob a forma cristalina de agulhas brancas, é inodoro, higroscópico e apresenta um sabor tartárico. Quanto a sua solubilidade é solúvel em água, etanol, glicerol, propilenoglicol, ácidos diluídos e soluções alcalinas, porém é insolúvel em acetona e éter etílico (BALL, 2006).

O ácido nicotínico e a nicotinamida participam de várias reações importantes para a manutenção da homeostase do organismo, porém, para isso é necessário que sejam metabolizados nas coenzimas nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD^+) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP^+) (Figura 5), que constituem as formas fisiologicamente ativas dessas vitaminas. As coenzimas NAD^+ e NADP^+ apresentam funções bioquímicas, uma vez que participam de reações de oxirredução recebendo elétrons ou íons hidreto de substratos que sofrem oxidação em reações envolvidas no processo de respiração celular (KIRKLAND, 2009).

Figura 5- Estruturas químicas das coenzimas NAD^+ e NADP^+ , respectivamente.

Fonte: Ferreira, 2011.

A adenina dinucleotídio (NAD^+) é uma coenzima que atua em centenas de reações intracelulares redox, mas também como substrato de enzimas, tais como poli (ADP-ribose) polimerases (PARPs), CD38, entre outras (BOGAN, BRENNER, 2008). A degradação de NAD^+ por PARP 1/2 permite a produção de PAR e o reparo do DNA com dano pouco expressivo, caso contrário, a atividade PARP 1/2 leva a morte celular por apoptose (KIRKLAND, 2012). Além disso, outras enzimas que utilizam NAD^+ , tais como sirtuins (por exemplo, SIRT6), também desempenham papéis no reparo de DNA e têm efeitos supressores de tumor (BRUZZONE et al., 2013). Consistente com estas ideias, estudos mostram em modelos animais que a deficiência de ácido nicotínico causa o atraso no reparo da excisão de DNA, acumulação de ruptura de cadeia simples e dupla, alteração no ciclo celular, apoptose e a uma maior predisposição para desenvolvimento do câncer. Assim, em geral, há poucas dúvidas de que o ácido nicotínico é importante para a estabilidade genômica (KIRKLAND, 2012).

Porém, apesar dessa pouca dúvida em relação à sua participação no ciclo celular, sua participação no câncer necessita de mais estudos, uma vez que há uma escassez de conhecimento sobre o impacto do ácido nicotínico sobre o risco de câncer em populações humanas.

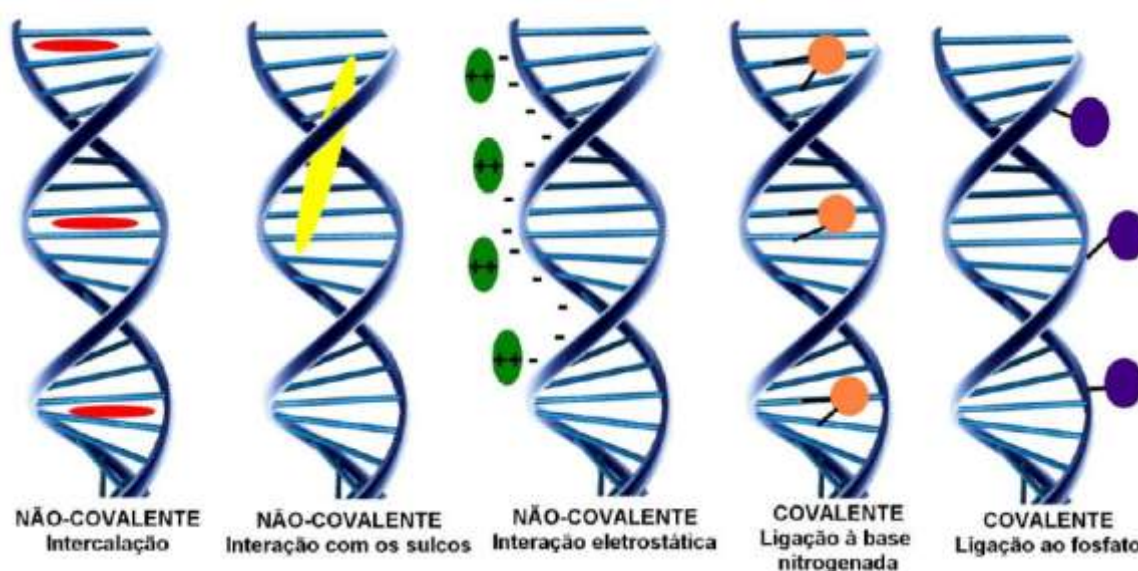
Sabe-se que no câncer, os pacientes tendem a ser deficientes em ácido nicotínico no momento em que são expostos a grandes doses de droga genotóxicas durante a quimioterapia (INCULET et al., 1987; DREIZEN et al., 1990). Entre 5 a 10% dos pacientes sobreviventes a quimioterapia desenvolvem cânceres secundários, especialmente leucemias (FELIX, 2008). Embora modelos animais sugerem que a deficiência de ácido nicotínico aumenta esse risco (BOYONOSKI, 2002), não há dados humanos disponíveis para comprovar essa mesma tendência. Embora os países desenvolvidos geralmente complementem com ácido nicotínico (niacina) produtos com base em cereais, ainda pode haver uma proporção significativa dessas populações com deficiência subclínica dessa substância (JACOBSON, 1993; ESSAMA-TJANI et al., 2000; JACOBSON et al., 1995)

3.1.5.2 Metalofármacos

A estratégia de se utilizar complexos metálicos para desenvolvimento de fármacos tira proveito, geralmente, da capacidade dos mesmos de se ligarem a biomoléculas carregadas negativamente ou de possuírem pares de elétrons isolados

em suas estruturas, permitindo que proteínas e ácidos nucleicos sejam excelentes alvos para esses xenobióticos (TUREL; KLJUN, 2011). A rica estrutura do DNA faz com que essa interação possa ocorrer de forma covalente, através da ligação direta do complexo ao DNA por suas bases nitrogenadas ou pelo grupo fosfato ou de forma não covalente através de interações eletrostáticas, interações hidrofóbicas no sulco menor do DNA, ou através da intercalação (KEENE; SMITH; COLLINS, 2009, BOER; CANALS; COLL, 2009), como ilustrado na Figura 6.

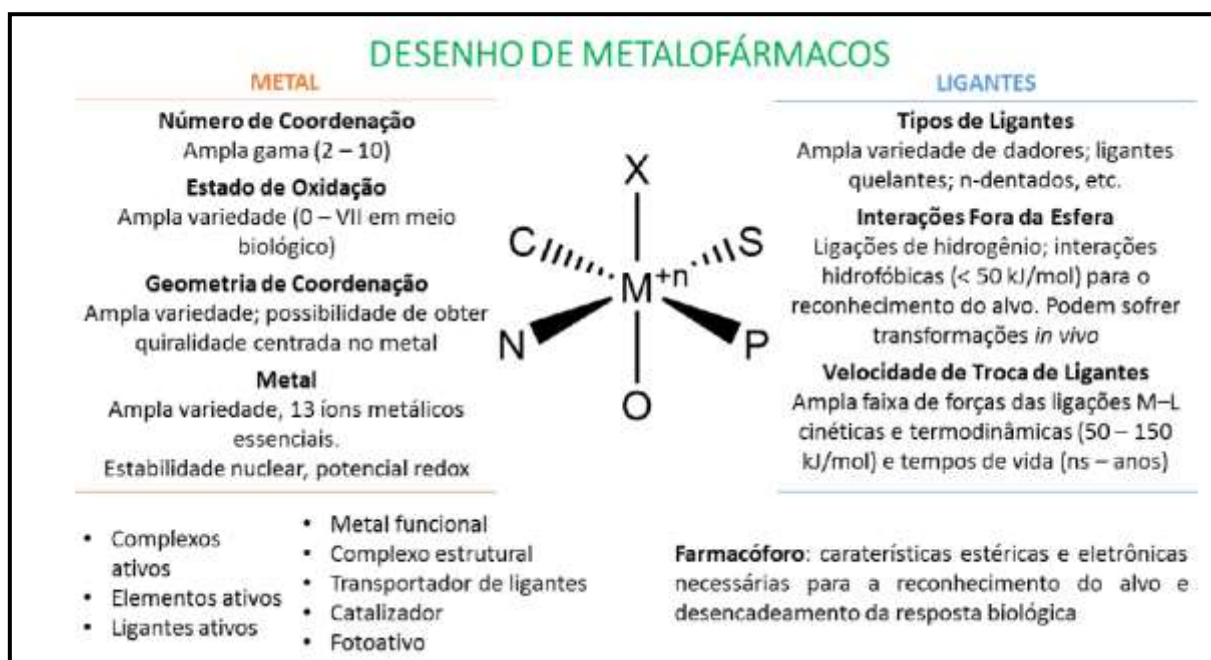
Figura 6- Representação esquemática de possíveis interações complexo-DNA



Fonte: BARRA; NETO, 2015.

Os complexos metálicos contam com um átomo metálico, ao qual se encontram ligados átomos ou moléculas denominadas de ligantes (Figura 7). Quando o ligante é uma molécula, o átomo que está diretamente ligado ao metal é chamado de átomo doador, quando a ligação metal-ligante é estabelecida pela partilha de um par de elétrons doado pelo ligante. Quando o ligante é composto por apenas um átomo com capacidade de estabelecer ligações com o metal, esse ligante é denominado monodentado, contrariamente quando vários ligantes interagem com o metal central, esse ligante é denominado polidentado. Quanto aos centros metálicos, complexos mononucleares apresentam um único átomo metálico central enquanto os polinucleares são compostos por vários (LUÍS, 2011).

Figura 7- Características dos metais, ligantes e compostos de coordenação úteis no desenho de metalofármacos.



Fonte: Adaptado de Barry; Sadler, 2014)

A multiplicidade de características inerentes aos centros metálicos, como por exemplo, o seu estado de oxidação (atividade redox) e aos próprios ligantes, como polaridade e a reatividade, permitem projetar e sintetizar uma variedade de compostos com variações de carga, de geometria e de propriedades cinéticas e termodinâmicas (MEGGERS, 2009). Assim, é possível sintetizar complexos com as características mais adequadas a um determinado objetivo. No caso da quimioterapia, é necessário que estes tenham capacidade de penetrar nas células, sejam suficientemente inertes, para que não haja dissociação dos ligantes, nos casos em que o efeito anti-tumoral se deva a ação do complexo intacto, mas também reativos relativamente aos respectivos alvos celulares. Os complexos devem ainda ter capacidade de atingir estes alvos, caso estes não se encontrem diretamente acessíveis no citoplasma (LUÍS, 2011).

A cisplatina, primeiro fármaco contendo metal utilizado na quimioterapia, apresentou e ainda apresenta um importante papel no tratamento e cura de alguns tipos de câncer, porém apesar deste sucesso essa e outras moléculas contendo platina em sua composição não estão livres dos inconvenientes apresentados por outros quimioterápicos, tais como a resistência celular e uma série de efeitos

colaterais, dentre eles a nefrotoxicidade, náuseas e vômitos (KELLAND, 2007). Nesse contexto a busca dos estudiosos passou a se concentrar em encontrar outros metais que pudessem apresentar a mesma ou uma melhor atividade frente a células tumorais, porém com menores efeitos colaterais.

3.1.5.2.1 Rutênio

O desenvolvimento da química do rutênio se deu durante a década de 60, especialmente com as pesquisas desenvolvidas por Taube et al (ENDICOTT; TAUBE, 1962; ENDICOTT, TAUBE, 1965). As novas rotas sintéticas de complexos de Ru-(II) e Ru-(III) facilitaram a obtenção de novos compostos e tornou mais fácil o estudo de suas propriedades químicas e eletrônicas. No entanto, a fotoquímica de complexos de rutênio era escassa quando, ainda no final da década de 70, Ford et al publicaram uma série de trabalhos envolvendo estudos fundamentais da fotoquímica de complexos de rutênio (II) (FORD; STUERMER; MCDONALD, 1969). Isto desencadeou uma série de estudos e nas últimas décadas tem surgido um grande número de trabalhos em fotoquímica inorgânica tanto em termos de seus aspectos fundamentais quanto suas aplicações.

De fato, o interesse sobre o rutênio para o desenvolvimento de metalofármacos resulta das suas propriedades químicas e biológicas. Algumas destas propriedades estão relacionadas com a potencialidade de compostos de rutênio como agentes anticancerígenos, mas, tais características podem ser de interesse para o desenvolvimento de drogas em diferentes áreas da farmacologia. Dentre estas propriedades destacam-se:

- 1) Vários estados de oxidação acessíveis: para o rutênio os estados de oxidação II, III e IV são acessíveis em condições fisiológicas. Nesses estados, o centro de rutênio é predominantemente hexacoordenado com geometria octaédrica. O ambiente de coordenação em torno do rutênio desempenha um papel importante na estabilização dos seus diferentes estados de oxidação e, portanto, determina as propriedades redox do centro metálico. Entre as alterações do metabolismo associadas ao câncer está a menor concentração de oxigênio (hipóxia) em tecidos tumorais, especialmente tumores sólidos que crescem rapidamente e não possuem vascularização suficiente, além disso, as células cancerosas apresentam níveis elevados de glutatona e um valor de pH mais baixo do que os tecidos normais, criando um ambiente fortemente redutor. Para aumentar a toxicidade do rutênio em

relação às células normais, o potencial redox do rutênio pode ser modificado para melhorar a seletividade das drogas. Por exemplo, estes agentes podem ser administrados como complexos de rutênio (III), relativamente inertes (pró-fármacos), que são, em seguida, ativados por redução nos tecidos malignos. Em teoria, se os complexos de Ru (II), mais ativos, deixarem o ambiente de baixo teor de oxigênio, este pode ser convertido por uma variedade de oxidantes biológicos novamente para o composto mais inerte de Ru (III) (ALLARDYCE; DYSON, 2001);

2) Geometria octaédrica dos complexos: Ru (II) e Ru (III) formam compostos octaédricos hexacoordenados, o que permite a interconversão *in vivo* entre dois estados de oxidação, sem necessidade de energia extra para rearranjos estruturais. Esta geometria octaédrica oferece possibilidades mais amplas e relevantes de coordenação de alvos moleculares do que o centro de Pt (II) tetracoordenado. Estes sítios de coordenação axiais “adicionais” poderiam ser usados para ajustar as propriedades farmacologicamente relevantes dos compostos (GAMBINO; OTERO, 2012);

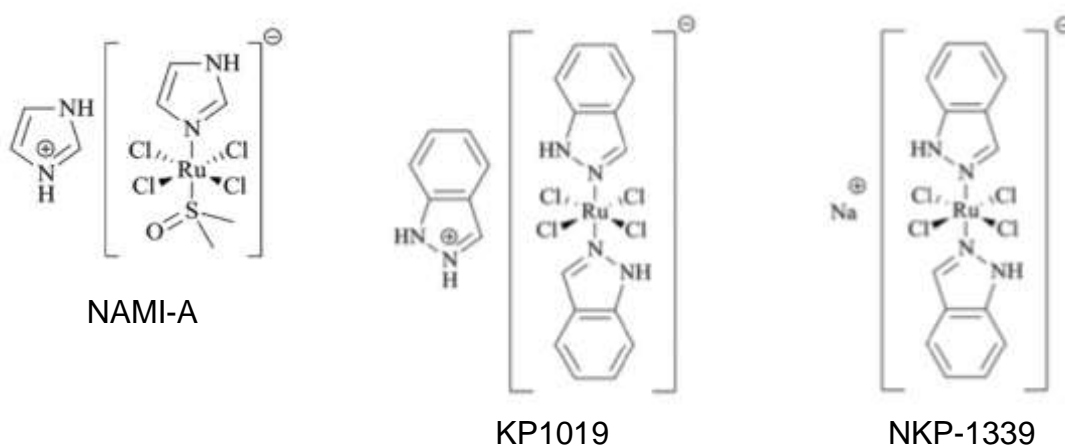
3) Maior capacidade de coordenação: Possibilidade de ocupar um elevado número de posições espaciais devido à sua geometria de coordenação octaédrica, fornecendo uma maior capacidade de coordenação de ligantes e consequente modulação de sua atividade (CARVALHO, 2017);

4) Capacidade de imitar o ferro em ligações com determinadas moléculas biológicas: compostos de rutênio mostram baixa toxicidade em seres humanos, possivelmente devido à sua semelhança metabólica com ferro. A mimetização do ferro pelo rutênio por meio da ligação com biomoléculas como proteínas do soro (albumina e transferrina) contribui para diminuir a toxicidade e facilitar o transporte de seus compostos. Considerando que as células tumorais apresentam um requerimento nutricional elevado, favorecido pela angiogênese, isto promove um aumento do fluxo sanguíneo resultando numa maior captação de nutrientes e, conseqüentemente, em um aumento do número de receptores para transferrina. Sendo assim, em tecidos saudáveis, a concentração da droga será mais baixa e menos ofensiva (KEPPLER et al., 1990; ALESSIO et al, 2001; KOSTOVA, 2006).

Dos numerosos complexos de rutênio estudados muitos demonstraram um potencial efeito antitumoral e atualmente três complexos de Ru(III) entraram em ensaio clínicos: *trans*-[RuCl₄(DMSO)(Im)] [ImH] (NAMI-A, Im = imidazol), *trans*-[Ru(In)₂Cl₄] [InH] (KP1019, In = imidazol), e NKP-1339 (sal de sódio de KP1019)

(Figura 8) (ZHANG; SADLER, 2017; MOTSWAINYANA; AJIBADE, 2015). Apesar destes três compostos inorgânicos apresentarem estruturas químicas semelhantes exibem um comportamento biológico completamente diferente. O NAMI-A é um composto anti-metástático que pode reduzir o peso das metástases e prevenir a propagação de tumores secundários (GRANSBURY et al., 2016; CLAVEL et al., 2015), enquanto que o KP1019 é um composto citotóxico eficaz contra tumores primários (BERGAMO et al., 2009). O NAMI-A e o KP1019 completaram com sucesso a fase I dos ensaios clínicos, no entanto, o NAMI-A foi recentemente retirado do ensaio clínico, após a fase II, devido a pouca eficácia demonstrada (ZHANG; SADLER, 2017; LEIJEN et al., 2015). O NKP-1339 tem mostrado resultados promissores em tumores sólidos, como carcinoma colo retal e em tumores neuroendócrinos (FLOCKE et al., 2016).

Figura 8- Estruturas químicas dos agentes antitumorais em ensaios clínicos.

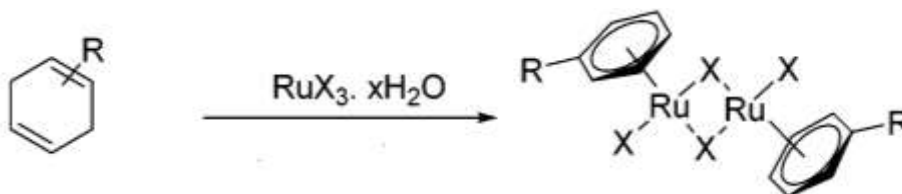


Fonte: Adaptado de Kuhn et al., 2015

Uma família de complexos de rutênio que vem despertando amplo interesse é a derivada de complexos n^6 -areno. Esses complexos possuem diversas aplicações, tais como: catalisadores para importantes transformações químicas (SANZ; AZUA; PERIS, 2010), arranjos supramoleculares (MISHRA et al., 2014), atividade antiviral (ALLARDYCE et al., 2003) e antitumoral (SUSS-FINK, 2010; CHEN et al., 2002). A unidade $[(n^6\text{-areno})\text{RuCl}]$ confere interessantes propriedades. A rica funcionalidade da unidade n^6 -arenorutênio (Figura 9) reside na característica da ligação areno-Ru (σ -doadora e π -aceitadora) que confere relativa labilidade a ligação oposta e facilita a substituição por ligantes de interesse sendo crucial para a síntese e atividade catalítica (THERRIEN, 2009). Além disso, a presença do ligante aromático estabiliza e protege o centro metálico, prevenindo sua oxidação a Ru(III). Com a substituição

dos sítios de coordenação opostos ao ligante areno, podem-se ajustar as propriedades desses complexos (TSCHAN, 2006; DI-CREDICO et al., 2009).

Figura 9- Reação de formação do $[\{(\eta^6\text{-areno})\text{ClRu}\}_2\text{X}_2]$



Fonte: Adaptado de Hamaker; Haldach, 2006.

Vários complexos organometálicos Ru(II)(areno) demonstraram ser ativos *in vitro* e *in vivo* em linhagens celulares de carcinoma humano do ovário (A2780), com valores de Cl_{50} comparáveis aos da cisplatina. Os ligantes quelantes bidentados estáveis (etilenodiamina), o ligante de areno mais hidrofóbico (tetrahydroantraceno) e o ligante cloreto foram associados a complexos com maiores atividades (KOSTOVA, 2006).

A família RAPTA compreende um ligante PTA monodentado e o ligante η^6 -areno. Estes complexos são geralmente estáveis ao ar e têm uma boa estabilidade termodinâmica (HAN et al., 2011). O RAPTA-C, $[(\eta^6\text{-}p\text{-cimeno})\text{Ru}(\text{PTA})\text{Cl}_2]$, tem tido um papel central na avaliação biológica, sendo o composto de referência no desenvolvimento de outros complexos da família RAPTA (HAN; DYSON, 2006). Este complexo demonstrou uma baixa citotoxicidade *in vivo*, mas relevantes propriedades antimetastáticas e antiangiogênicas *in vivo* (LEVINA et al., 2009; Clavel et al., 2015). Recentemente, foi demonstrado que o complexo RAPTA-C reduz o crescimento de tumores primários em modelos pré-clínicos nos carcinomas de ovário e colo retal, através de um mecanismo antiangiogênico (WEISS et al., 2014).

3.1.5.2.2 Estanho

Estudos mostram que o estanho foi um dos primeiros metais a ser utilizado pelo homem, inicialmente aplicado na forma de liga como o cobre (bronze) para manufatura de armas e ferramentas, caracterizando um marco da evolução tecnológica das civilizações a denominada Idade do Bronze (SILVA, 2012). O primeiro estudo sistêmico sobre compostos organoestânicos foi iniciado por Edward Frankland. Em 1853, o di-iodeto de dietilestanho e, em 1859, o tetraetilestanho

foram sintetizados pela primeira vez. Atualmente são comercializados mais de 800 compostos organoestânicos (HOCK, 2001).

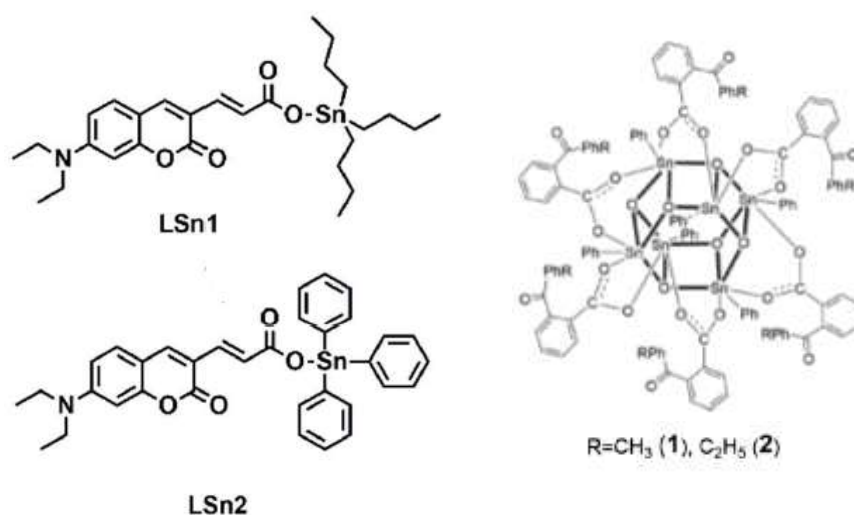
Os organoestanhos (IV) apresentam a fórmula geral R_nSnX_{4-n} e, são caracterizados pela presença de uma ou mais ligações estanho-carbono onde R é um grupo alquil ou aril, X é uma espécie aniônica, como cloreto, óxido, hidróxido ou outro grupo funcional, onde n varia de 1 a 4 (BLUNDEN et al., 1990). As propriedades físico-químicas e toxicidade dos organoestanhos variam acentuadamente de acordo com o número e a natureza dos grupos R e do tipo de ligante X. Os organoestanhos tri-substituídos exercem maior toxicidade quando comparados com os mono, di e tetra-substituídos. A solubilidade dos organoestanhos na água tende a diminuir com o aumento do número e do tamanho dos substituintes orgânicos, quanto a toxicidade também varia muito pelo número e a natureza dos grupos orgânicos (SEKIZAWA et al., 2003).

Os compostos organometálicos e os complexos metálicos foram ganhando importância crescente em oncologia (ALAMA et al., 2009), e entre os compostos organoestânicos, particularmente os derivados triorganoestanho, demonstraram propriedades citotóxicas contra um número de linhagens de células tumorais (BARBIERI et al., 2001; BARBIERI et al., 2002). Sugere-se que compostos organoestânicos desenvolvam suas atividades antitumorais através de diferentes mecanismos a nível molecular. Exceto os compostos triorganoestânicos, conhecidos por sua capacidade de ligar a RXRs e outros receptores nucleares, as interações de compostos organometálicos com molécula de DNA são de grande interesse para tratamentos terapêuticos, uma vez que estas moléculas reconhecem sequências de DNA, alteram a estrutura local do DNA, inibem o acesso a moléculas de proteínas ativadoras ou supressoras e, finalmente, afetam a expressão gênica. Eles também podem ativar processos envolvidos em vias apoptóticas, e genes supressores de tumor p53, receptores TRAIL, caspases e as proteínas da família Bcl-2 (TABASSUM; PETTINARY, 2006).

Complexos de organoestanho (IV), preparados com ácidos orgânicos a partir de cloretos, óxidos e hidróxidos, são de grande interesse devido a suas potenciais aplicações em medicina, biologia e catálise. A solubilidade dos organoestânicos em água representa uma questão importante predominantemente para o teste *in vivo* de novas preparações antitumorais (GIELEN et al., 2000). Da mesma forma, que compostos de platina estão sob investigação para desenvolvimento de novos

farmacos ou propostas de mudanças conformacionais nas estruturas já existentes, compostos organoestânicos podem produzir novas possibilidades, que apresentem diferentes espectros de atividades ou não apresentem resistência cruzada quando em associações com preparações de platina (GIELEN et al., 2000; TABASSUM; PETTINARY, 2006). Entre estes, os carboxilatos de organoestanho (Figura 10) receberam a maior atenção devido a seu potencial indutor de apoptose e alta capacidade terapêutica (HAN, 2017). Alguns carboxilatos já apresentaram atividade antitumoral comprovada como LSn1, LSn2, $[\text{PhSnO}(\text{L}^1)]_6 \cdot 4(\text{toluene})$ (**1**) e $[\text{PhSnO}(\text{L}^2)]_6$ (**2**) (HAN, 2017; WHANG et al., 2017).

Figura 10- Estrutura de carboxilatos de organoestanho



Fonte: HAN, 2017; WHANG, et al., 2017

Dessa forma o crescente avanço das pesquisas e descobertas envolvendo os metalofarmacos de rutênio e estanho atrelado as perspectivas de aumento nos casos de câncer justificaram o desenvolvimento deste trabalho, que se destaca por fornecer complexações com ligantes nicotínicos que apesar dos escassos estudos na literatura, apresentam resultados promissores.

Materiais e Métodos

A decorative graphic consisting of two horizontal bars. The top bar is solid black and the bottom bar is a lighter gray, both positioned below the main title.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A realização da parte experimental foi dividida em três partes: 1) síntese dos compostos de coordenação; 2) caracterização dos compostos sintetizados; 3) avaliação da atividade citotóxica e antitumoral dos compostos de partida e complexos sintetizados. Todas as reações foram realizadas nos laboratórios do Grupo de Catálise e Reatividade Química (GCAR) do Instituto de Química e Biotecnologia (IQB) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C das substâncias foram realizados no Laboratório de Ressonância Nuclear Magnética do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (UFAL). As avaliações das atividades citotóxica e antitumoral foram realizadas no laboratório de Farmacologia e Imunidade (Lafi) coordenado pela professora Magna Suzana Alexandre Moreira da Universidade Federal de Alagoas-UFAL.

4.1 Reagentes, Solventes e Vidrarias

As vidrarias foram pré-aquecidas em estufa a 80°C e resfriadas antes do uso. O grau de pureza e origem de todos os reagentes, solventes estão listados no Quadro 5.

Quadro 5- Reagentes e solventes utilizados: pureza e origem

Reagentes e Solventes	Fórmula	Pureza(%)	Origem
Ácido Nicotínico	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$	99%	Aldrich
Ácido Isonicotínico	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$	99%	Alfa Aesar
Metanol	CH_3OH	P.A.	Dinâmica
Ácido Sulfúrico	H_2SO_4	98,08%	Neon
Carbonato de Sódio	Na_2CO_3	99%	Reagen
Éter Etílico	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$	P.A.	Dinâmica
Óxido de di-butilestanho	$\text{C}_8\text{H}_{18}\text{OSn}$	98%	Aldrich
Bis[Dicloro(<i>p</i> -cimene)rutênio (II)]	$\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{Cl}_4\text{Ru}_2$	98%	Alfa Aesar
<i>N-N'</i> -diciclo-hexilcarbodiimida	$\text{C}_{13}\text{H}_{22}\text{N}_2$	99%	Aldrich
<i>N</i> -hidroxissuccinimida	$\text{C}_4\text{H}_5\text{NO}_3$	99%	AK Scientific
5-Fluorouracil	$\text{C}_4\text{H}_3\text{FN}_2\text{O}_2$	98%	AK Scientific
Diclorometano	CH_2Cl_2	99,5%	Exôdo científica
Hidróxido de potássio	KOH	98%	Dinâmica
Tolueno	C_7H_8	99,5%	Tedia

Fonte: Autor, 2018

4.2 Equipamentos

As análises para a caracterização dos compostos preparados foram realizadas no Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas. No Quadro 6, são apresentadas as técnicas utilizadas, os respectivos aparelhos e sua origem.

Quadro 6- Equipamentos empregados nesse trabalho

Técnica Analítica	Aparelho	Local
Espectroscopia no Infravermelho	Espectrofotômetro FT-IR Varian 640-IR com ATR	GCaR/IQB/UFAL
Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN).	Espectrômetro Bruker Avance 400, operando na frequência de 400,130 MHz para RMN de ^1H e 100,613 MHz para RMN de ^{13}C .	IQB/LRMN/UFAL
Ponto de Fusão	MQAPF – 302 – aparelho digital	IQB/LPRN/UFAL

4.3 Manipulações no Preparo das Amostras para Análises.

4.3.1 Espectroscopia Infravermelho

Para as análises por espectroscopia na região do infravermelho empregou-se um acessório de refletância difusa atenuada (ATR) e os espectros foram obtidos abrangendo-se as regiões de 4500 a 500 cm^{-1} .

4.3.2 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Nas análises por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ^1H) e de carbono-13 (RMN ^{13}C , desacoplado), as amostras foram preparadas em tubo para RMN e solubilizada utilizando como solventes clorofórmio (CDCl_3) ou dimetilsulfóxido ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$) à depender da solubilidade do composto avaliado.

4.3.3 Análise do Ponto de Fusão

Os pontos de fusão das substâncias sintetizadas foram obtidos junto ao Laboratório de Pesquisa em Química dos Produtos Naturais do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas (UFAL). As amostras sólidas foram previamente incorporadas em uma lamínula e observadas à temperatura na qual a substância passa do estado sólido ao estado líquido.

4.4 Síntese dos complexos

4.4.1 Esterificação dos derivados nicotínicos

Foram utilizados dois derivados nicotínicos o ácido nicotínico e o ácido isonicotínico, porém para promover a esterificação dos compostos foi seguido o mesmo procedimento reacional. Em um balão de fundo redondo de 50 mL foram adicionados 3,1 g de ácido isonicotínico ou ácido nicotínico, 16 mL de metanol e 2 mL de ácido sulfúrico. Esta mistura foi aquecida durante 12 horas sob refluxo e agitação. Após esse aquecimento a solução resultante foi resfriada e adicionado lentamente uma solução de carbonato de sódio a 20% até a obtenção de um pH entre 7 e 8. O produto resultante foi submetido a três extrações subsequentes com éter etílico (3x com 100 mL). Por fim os voláteis foram removidos sob vácuo e os produtos finais foram isolados. Rendimento de 73% para o isonicotinato de metil (MI) na forma de um óleo amarelado e 62% para o nicotinato de metila (MN) como um pó amorfo transparente.

MN: IR (ν máx cm^{-1}): 3035 (CH– anel piridínico); 2955 (CH—CH₃); 1733 (C=O); 1562 (N—CH no plano); 1438 (C=C); 1286 (anel piridínico); 1203 (C—O); 1120 (CH); 1066 (CH); 966 (CH piridínico); 847 (C—C fora do plano); 758 (C—C no plano). RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) δ = 9,23 (1H, d, J = 2,1 Hz); 8,78 (1H, dd, J = 4,9/1,7 Hz); 8,3 (1H, dt, J = 7,9/2,0 Hz); 7,4 (1H, dd, J = 4,9/0,7 Hz); 3,9 (3H, s).

MI: Ponto de fusão: 40-43 °C. IR (ν máx cm^{-1}): 3030 (CH de anel piridínico); 2945 (CH—CH₃); 1735 (C=O); 1561 (N—CH no plano); 1438 (C=C); 1203 (C—O); 1123 (CH); 1065 (CH); 956 (CH piridínico); 845 (C—C fora do plano); 754 (C—C no plano). RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) δ = 8,78 (2H, d, J = 4,4 Hz); 7,81 (2H, dd, J = 7,8 Hz); 3,81 (3H, s).

4.4.2 Síntese dos complexos $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{RuCl}_2(\text{ácido isonicotínico})]$ e $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{RuCl}_2(\text{ácido nicotínico})]$

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foi adicionado 10 mL de diclorometano anidro; 0,245 g (0,400 mmol) de $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{Cl}_2]_2$ e 0,11 g (0,80 mmol) de ácido nicotínico ou ácido isonicotínico. Sob agitação constante a solução foi aquecida até refluxo por 6 horas em atmosfera de argônio. Transcorrido o período, o balão foi deixado em repouso durante a noite e no dia seguinte realizou-

se uma filtração sob pressão reduzida para remoção de uma pequena quantidade de substância insolúvel formada na reação. A solução resultante foi concentrada em evaporador rotativo. Logo após o “produto” restante foi resfriado, promovendo a sedimentação da substância. O sólido obtido foi ainda lavado com hexano (3x com 80 mL) e seco sob vácuo. Rendimento de 93% para o $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{RuCl}_2(\text{ácido isonicotínico})]$ (RuAI) na forma de um pó marrom avermelhado e 90% para o $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{RuCl}_2(\text{ácido nicotínico})]$ (RuAN) como um pó marron alaranjado

RuAI: IR (ν máx cm^{-1}): 3495 (O-H); 2947 (C-H anel piridinico); 2860 (CH-CH₂); 1600 (C=N de anel piridinico); 1544 (C-N); 776 (C-N sp^2). RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz) δ = 8,77 (2H, dd, J = 4,4 Hz); 7,81 (2H, dd, J = 4,5 Hz); 5,82 (2H, dd, J = 6,4 Hz); 5,76 (2H, dd, J = 6,4 Hz); 2,82 (1H, m); 2,08 (3H, s); 1,18 (6H, d, J = 6,9 Hz).

RuAN: Ponto de fusão: 190-200 °C. IR (ν máx cm^{-1}): 3460 (O-H); 2889 (C-H anel piridinico); 1648 (C=N de anel piridinico); 1539 (C-N); 700 (C-N sp^2). RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz) δ = 9,07 (1H, d, J = 2,1 Hz); 8,78 (1H, d, J = 4,8 Hz); 8,26 (1H, dd, J = 7,9 Hz); 7,54 (1H, d, J = 7,9 Hz); 5,82 (2H, dd, J = 6,4 Hz); 5,77 (2H, dd, J = 6,4 Hz); 2,83 (1H, m); 2,09 (3H, s); 1,18 (6H, dd, J = 6,9 Hz).

4.4.3 Síntese dos complexos $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{RuCl}_2(\text{metil isonicotinato})]$ e $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{RuCl}_2(\text{metil nicotinato})]$

Para síntese desses complexos utilizou-se um procedimento reacional semelhante ao descrito no subitem 4.4.2. Foi preparada uma mistura de 0,245 g (0,400 mmol) de $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{Cl}_2]_2$ e 0,11 g (0,8 mmol) de metil nicotinato ou metil isonicotinato em 10 mL de diclorometano. Após o tempo reacional de 6 horas foram feitos os mesmos tratamentos realizados para obtenção dos complexos de $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{RuCl}_2(\text{metil isonicotinato})]$ (RuMI) e $[(\eta^6\text{-p-cimeno})\text{RuCl}_2(\text{metil nicotínato})]$ (RuMN).

RuMI: Pó amarelo claro. Rendimento: 80%. IR (ν máx cm^{-1}): 1727 (C=O); 1278 (C-C anel piridinico); 1124 (C-H). RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz) δ = 8,81 (2H, dd, J = 4,4 Hz); 7,84 (2H, dd, J = 4,4 Hz); 3,90 (3H, s); 5,82 (2H, dd, J = 6,4 Hz); 5,78 (2H, dd, J = 6,4 Hz); 2,83 (1H, m); 2,08 (3H, s); 1,19 (6H, dd, J = 6,9 Hz).

RuMN: Pó amarelo escuro. Rendimento: 40%. RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz) δ = 9,09 (1H, d, J = 2,1 Hz); 8,82 (1H, dd, J = 4,4 Hz); 8,30 (1H, dd, J = 7,8 Hz); 7,58 (1H, d, J = 7,8 Hz); 3,87 (3H, s); 5,82 (2H, dd, J = 6,4 Hz); 5,77 (2H, dd, J = 6,4 Hz); 2,83 (1H, m); 2,09 (3H, s); 1,19 (6H, dd, J = 6,9 Hz).

4.4.4 Síntese dos complexos dinicotinato de dibutilestanho e diisonicotinato de dibutilestanho.

Para a síntese dos complexos de estanho foram montados sistemas com Dean-Stark, balão de duas bocas, agitação e argônio. Inicialmente foram adicionados 30 mL de tolueno, óxido de dibutilestanho e por fim o ácido nicotínico ou ácido isonicotínico (à depender do complexo a sintetizar) na proporção de 2,00 mmol de ácido (0,246 g), para cada 1,00 mmol do óxido (0,249 g). O sistema foi deixado sob atmosfera inerte, sob agitação e refluxo. Após alguns minutos, foi possível visualizar a formação de água no Dean-Stark, permanecendo a reação sob refluxo até completar 4 horas de tempo reacional. Por fim, depois de concluído o tempo de 4 horas, a reação foi colocada em repouso até atingir a temperatura ambiente. Após o repouso foi retirado o sobrenadante com o auxílio de uma pipeta e o sólido restante submetido a vácuo para retirada do excesso de solvente.

Dinicotinato de dibutilestanho (BuN) Pó branco amorfo. Rendimento: 68%.
RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz) δ = 9,07 (2H, d); 8,75 (2H, dd); 8,26 (2H, dt); 7,52 (2H, m); 1,56 (8H, s); 1,28 (4H, m); 0,8 (6H, t)

Diisonicotinato de dibutilestanho (BuI) Pó branco amorfo. Rendimento: 68%.
RMN ¹H (DMSO-d₆, 400MHz) δ = 8,73 (4H, d); 7,8 (4H, d); 1,57 (6H, s); 1,29 (4H, m); 0,8 (6H, t)

4.5 Avaliação da atividade biológica

4.5.1 Isolamento e cultivo de células mononucleares

A realização do ensaio de células mononucleares humanas (PBMC) foi realizado no Lafi, com células sanguíneas de doadores. Uma amostra de sangue periférico foi diluída em igual volume de PBS. Essa solução foi cuidadosamente adicionada a um tubo Falcon contendo Ficoll-Paque TMPLUS 07907 e, posteriormente centrifugada a 2837 rpm durante 30 min a 26 °C. Após a centrifugação, a solução foi separada, em virtude da densidade do histopaque, em três camadas visíveis. Uma superior (soro), uma intermediária (célula e Ficoll-Paque TMPLUS 07907) e uma inferior (hemácias). Em seguida a região intermediária foi

cuidadosamente removida e submetida a duas centrifugações de 10 minutos cada, para promover lavagens. Inicialmente para a primeira centrifugação a parte intermediária foi adicionada a um tubo Falcon contendo 10 mL de PBS e centrifugado a 2136 rpm, sendo desprezado o sobrenadante e ressuspendido o pellet em 10mL de PBS. Para a segunda lavagem foi realizado uma centrifugação a 1638 rpm e descartado o sobrenadante.

Após essa segunda centrifugação as células foram imediatamente plaqueadas utilizando como meio de cultura RPMI-1640 (1% de antibiótico, 1% de L-Glutamina, 1% de Aminoácido e 1% de piruvato) suplementado com 10% (v/v) de soro fetal bovino.

4.5.2 Cultivo de Glioblastomas- GBM02

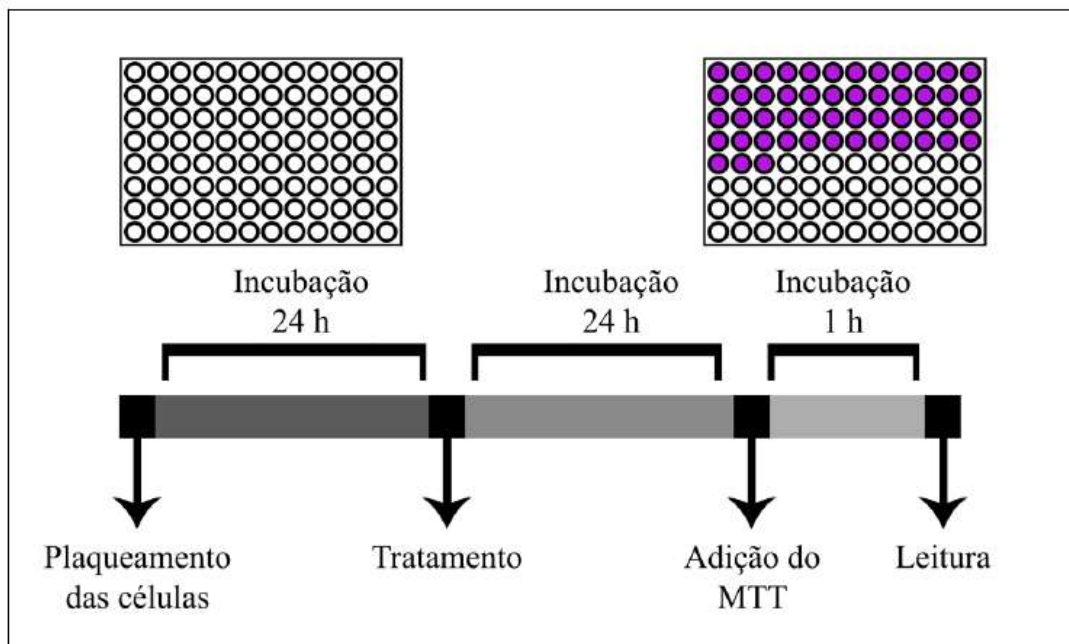
Para realização dos ensaios em células tumorais foi utilizada a linhagem de glioblastoma GBM02, gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Vivaldo Moura Neto, do Instituto Estadual do Cérebro Paulo Niemeyer, Rio de Janeiro.

As células foram cultivadas em meio DMEM/F12, suplementadas com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO₂.

4.5.3 Ensaio de viabilidade celular

O efeito dos compostos sobre a viabilidade das células mononucleares sanguíneas ou das células GBM02 foi determinado utilizando a técnica colorimétrica baseada na conversão do sal 3-(4,5-dimetil-2-tiazol)-2,5-difenil-2-H-brometo de tetrazólio (MTT) para formazan, pela atividade da enzima succinil desidrogenase presente na mitocôndria de célula viáveis (MOSSMANN, 1983), permitindo, dessa maneira, realizar a quantificação da porcentagem de células viáveis (Figura 11).

Figura 11: Esquemática do ensaio de viabilidade celular pelo método de MTT



Fonte: SILVA-NETO, 2017.

4.5.3.1 Ensaio com células mononucleares sanguíneas-PBMC

As células de sangue periférico humano foram semeadas (4×10^5 células/poço) em placas de 96 poços com 50 μL de meio e depois tratadas com 50 μL dos compostos teste (1, 10, 30 e 100 μM) previamente diluídos em meio RPMI-1640 com dimetilsulfóxido (DMSO). As células foram incubadas em estufa à 37 °C, em atmosfera umedecida contendo 5% de CO_2 por 24 horas. Após o período de incubação, foram adicionados 20 μL de MTT (Sigma) na concentração de 5 mg/mL em cada poço na placa de 96 poços e incubados durante 4 horas em estufa, nas mesmas condições citadas anteriormente. A cada poço da placa foram adicionados 200 μL de DMSO para solubilizar o cristal de formazan, sendo a placa após essa adição incubada por 20 minutos em estufa nas mesmas condições citadas acima. Para medição da absorbância utilizou-se um leitor a 550 nm.

4.5.3.2 Ensaio com células glionais-GBM02

A atividade antitumoral dos compostos sintetizados no trabalho foi avaliada de acordo com o método de Mossmann (1983). As células da linhagem GBM02 foram plaqueadas em placas de 96 poços, na concentração de 6×10^3 células/100 μL . Após encontrarem-se aderidas as células foram incubadas com os compostos ou com o 5-fluorouracil (5-Fu), fármaco utilizado no tratamento de neoplasias, durante os tempos

de 24, 48 e 72 horas, nas concentrações de 0,01; 0,1; 1; 10; 30 e 100 μ M. Após esses tempos o sobrenadante foi retirado e se adicionou à cada poço 50 μ L de uma solução de MTT (5 mg/mL) em meio DMEM/F12. Passadas 2 horas de incubação os sobrenadantes foram retirados para em seguida serem adicionados 50 μ L de DMSO em cada poço. Após 30 minutos foi realizada a leitura da placa através de um leitor de microplacas na absorvância de 530 nm.

4.5.4 Análise dos dados de atividade biológica

Todos os resultados obtidos foram expressos como a percentagem da média \pm e.p.m., e as diferenças entre as médias foram analisadas estatisticamente empregando-se a análise de variância (ANOVA) *one-way*, seguido do pós-teste de Dunett, onde os valores de $p < 0,05$ foram considerados significantes. Os valores de CI_{50} (NEUBIG et al., 2003) foram calculados por regressão não linear para as substâncias que tiveram um efeito maior que 50%. Todos os dados foram analisados com auxílio do programa GraphPad Prism versão 5.04 (GraphPad Software Inc., San Diego CA, EUA).

Resultados e Discussão

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como citado nos capítulos anteriores, existem vários antitumorais disponíveis para o tratamento das neoplasias, porém alguns tipos de neoplasias ainda não apresentam fármacos eficazes para promover a cura do paciente ou mesmo o retardo do desenvolvimento dessas enfermidades. A possibilidade de novas substâncias bioativas fornece opções para aperfeiçoamento da qualidade da atenção dispensada à saúde do paciente oncológico. Essa temática é uma constante no que tange o tratamento do câncer, visto que o atual arsenal terapêutico oncológico, ainda revela fortes vieses em relação à toxicidade, baixa seletividade, comprometendo assim, a eficácia do tratamento (ROSNER et al., 2011).

Diante destas premissas, o contexto do presente trabalho baseia-se na utilização de moléculas já relacionadas ao cenário antitumoral para formação de complexos metálicos, mais precisamente, compostos organometálicos com o intuito de avaliar se esta estratégia seria viável no contexto biológico, ou seja, avaliar se estes compostos seriam capazes de melhorar a atividade dos fármacos (que antes eram utilizados isoladamente), ou se essas modificações moleculares fossem capazes de tornar as substâncias mais específicas frente aos alvos biológicos o que permitiria em alguns casos reduzir os efeitos colaterais. A pesquisa teve como foco inicial os compostos derivados de núcleos nicotínicos, ácidos nicotínico e isonicotínico, uma vez que estes núcleos já possuem estudos relacionando sua ação antitumoral, levando a formação de complexos de rutênio contendo os respectivos ácidos e ésteres nicotínicos, (4 complexos), e de estanho contendo os respectivos ácidos (2 complexos).

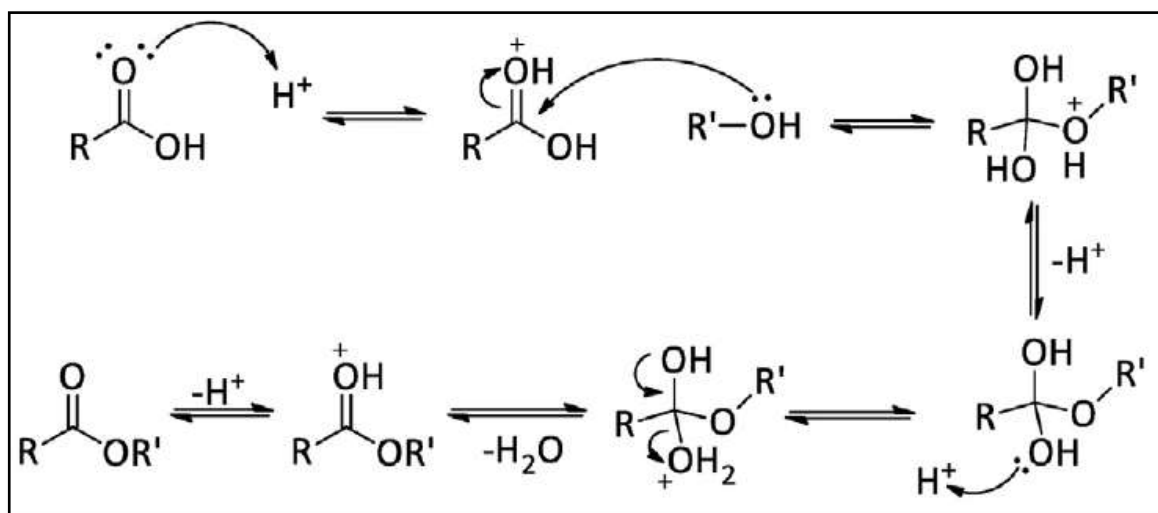
Após estas sínteses o próximo passo foi avaliar a atividade destes complexos frente a uma linhagem de células mononucleares humanas, uma linhagem de células glionais, e, após determinação do índice de seletividade selecionar os compostos mais eficazes.

5.1 Esterificação dos núcleos nicotínicos

Os ésteres nicotínicos foram sintetizados no Grupo de Catálise e Reatividade Química do IQB/UFAL baseando-se em reações de esterificação de Fischer. A esterificação de Fischer é uma reação de substituição nucleofílica no grupamento acila catalisada por ácido mineral, envolvendo um ácido carboxílico e um álcool. O ácido mineral protona o átomo de oxigênio do grupo carbonila, tornado o ácido

carboxílico muito mais reativo ao ataque nucleofílico do álcool e dando origem a um intermediário tetraédrico. A partir daí, a transferência de um próton de um oxigênio para outro origina um segundo intermediário tetraédrico e converte o grupo OH em um bom grupo de saída. Finalmente a perda de um próton regenera o catalisador ácido, originando o éster conforme a figura 12 (SOLOMONS; FRYHLE, 2009).

Figura 12- Mecanismo geral de esterificação de Fischer



Fonte: Adaptado de Cavalcante, 2015.

Por outro lado, a esterificação é uma reação reversível, sendo necessário cautela durante todo o processo reacional, de purificação ou ainda de armazenagem. A etapa de purificação do éster é um ponto crítico, pois a reação inversa, a hidrólise do éster, pode ser catalisada tanto por ácido quanto por base, necessitando de um controle rigoroso na neutralização do meio reacional e na destilação. Assim, para deslocar o equilíbrio em favor dos produtos podem-se utilizar dois métodos: remoção de um dos produtos, preferencialmente a água através da utilização de benzeno como cossolvente, ou utilizar um excesso de um dos reagentes, como o álcool (CAREY, 2011).

Utilizando essa proposta reacional foram sintetizados os compostos metil nicotinato (MN) e metil isonicotinato (MI).

5.1.1 Caracterização dos compostos esterificados

As sínteses dos compostos MI e MN ocorreram com um rendimento de 73,5% e 62%, respectivamente. As caracterizações destes foram realizadas via

Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN- ^1H), já comprovando a formação dos compostos, quando comparados aos espectros dos ácidos de partida.

Comparando-se o espectro do ácido nicotínico em dimetilsulfóxido deuterado DMSO- d_6 (Figura 13). São observados 4 sinais (referentes aos hidrogênios aromáticos) e um sinal referente a hidrogênio de hidroxila. O sinal da hidroxila foi atribuído ao deslocamento em 13,44 ppm. Em alguns espectros é possível ocorrer a ausência deste sinal, pois hidrogênios muito ácidos podem realizar trocas com hidrogênios deuterados do solvente, sendo este sinal suprimido do espectro. Dos outros 4 sinais observados, o sinal $\delta = 9,07$ ppm foi atribuído ao hidrogênio H_a devido a sua proximidade à dois elementos eletronegativos (laterais), o nitrogênio da amina e em menor proporção do oxigênio da carbonila ou da hidroxila à depender da disposição espacial do grupamento ácido. Esses elementos eletronegativos atuam reduzindo a densidade eletrônica ao redor do hidrogênio H_a , fazendo com que esse núcleo apresente-se mais desprotegido sofrendo maior ação do campo magnético aplicado.

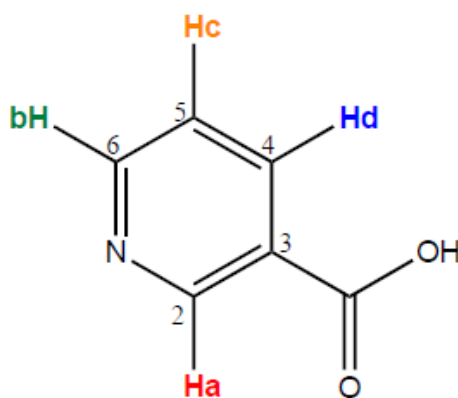
O sinal observado em $\delta = 8,79$ ppm é referente ao hidrogênio H_b , segundo hidrogênio mais desprotegido pois sofre ação de desproteção apenas do nitrogênio. O sinal referente ao ^dH , foi atribuído ao deslocamento químico em $\delta = 8,27$ ppm pois assim como o hidrogênio ^aH ele sofre ação do oxigênio da carbonila ou da hidroxila do ácido, localizado a três ligações de distância. O sinal em campo mais protegido foi observado em $\delta = 7,55$ ppm e atribuído ao hidrogênio ^cH , pois o mesmo situa-se a maior distância dos elementos eletronegativos sofrendo menos ação de desproteção dos mesmos.

O espectro de carbono (RMN- ^{13}C) apresentou sinais em 166,7 ppm referente ao carbono mais desprotegido atribuído a carbonila uma vez que o mesmo sofre influência direta de dois oxigênios (elemento eletronegativo). Em 153,7 ppm foi observado o sinal referente ao carbono C_6 que sofre influência direta do nitrogênio da amina. O sinal em 150,6 ppm foi correlacionado ao carbono C_2 pela influência que esse átomo sofre da ligação direta ao nitrogênio e do oxigênio (da hidroxila ou da carbonila) a três ligações de distância. Os deslocamentos em 137,4; 127,0 e 124,30 foram atribuídos aos carbonos C_4 , C_3 e C_5 respectivamente (Figura 14).

Todas essas atribuições foram corroboradas na análise dos espectros bidimensionais de HSQC e HMBC. O espectro de HSQC apresentou as correlações

δ_H 7,55/ δ_C 124,3; δ_H 8,27/ δ_C 137,4; δ_H 9,07/ δ_C 150,6; δ_H 8,79/ δ_C 153,7 ppm entre os carbonos e os respectivos hidrogênios diretamente ligados (Figura 15). Na análise do espectro de HMBC foi possível observar os sinais dos hidrogênios e suas correlações com os carbonos a uma, duas e até três ligações de distância (Figura 16). O sinal em δ_H 7,55 ppm apresentou correlação com os carbonos C₃; C₄; C₆; C=O (δ_C 127; δ_C 137,4; δ_C 153,7; δ_C 166,7 ppm). O sinal em δ_H 8,27 ppm apresentou correlações com os carbonos C₅; C₆; C=O (δ_C 124,3; δ_C 153,7; δ_C 166,7 ppm). O δ_H 8,78 ppm apresentou correlação com C₅; C₄; C₂ O (δ_C 124,3; δ_C 137,4; δ_C 150,6 ppm). O deslocamento em δ_H 9,07 ppm apresentou correlação com C₃; C₄; C₆; C=O (δ_C 127; δ_C 137,4; δ_C 153,7; δ_C 166,7 ppm).

Tabela 1- Deslocamentos de RMN ¹H e ¹³C do AN



H	δ_H	J	J (Hz)	C	δ_C
H _a	9,07 (d)	1	2,1/1,0	C ₂	150,6
H _b	8,79 (dd)	1	4,8/1,7	C ₆	153,7
H _d	8,27 (dt)	1	7,9/2,0	C ₄	137,4
-	-	-	-	C ₃	127,0
H _c	7,55 (dd)	1	4,9/0,7	C ₅	124,3
-OH	13,44 (s)	-	-	C=O	166,7

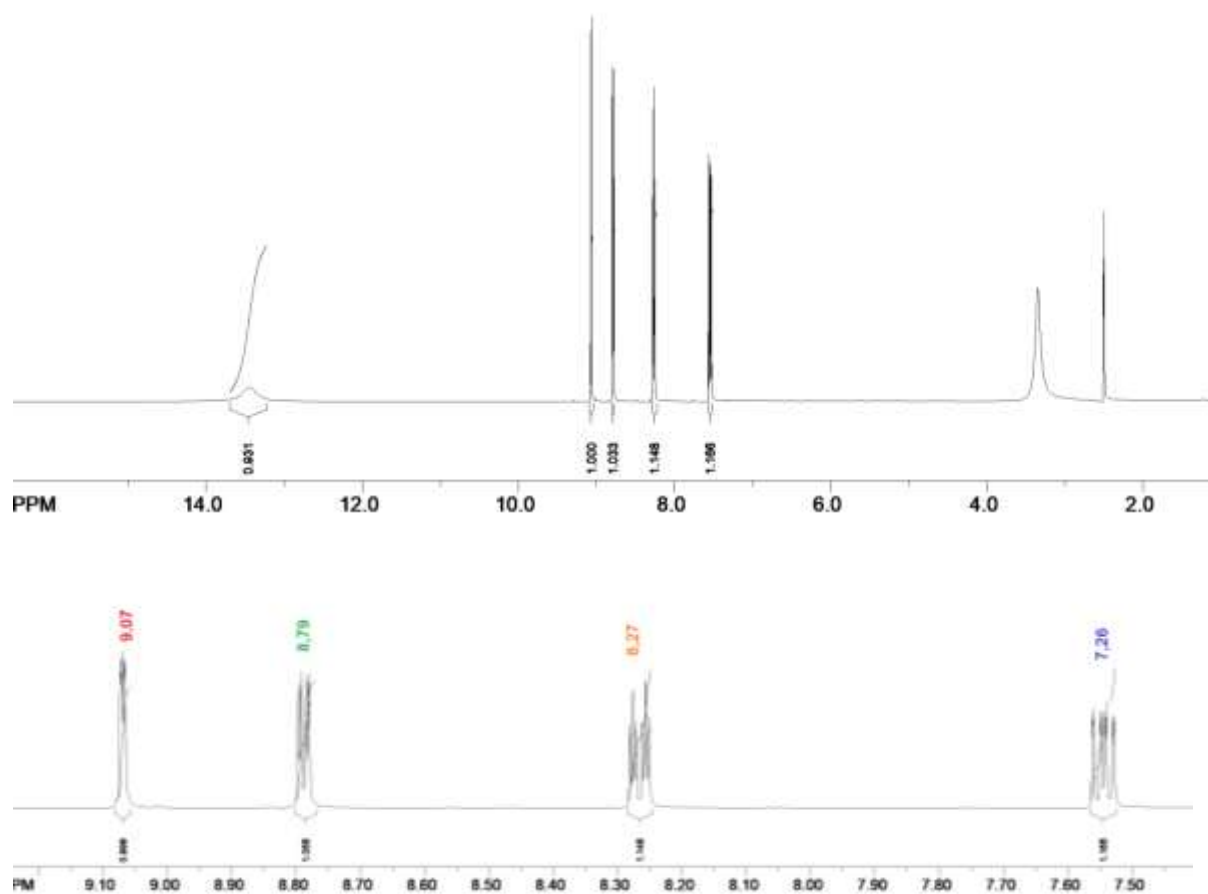
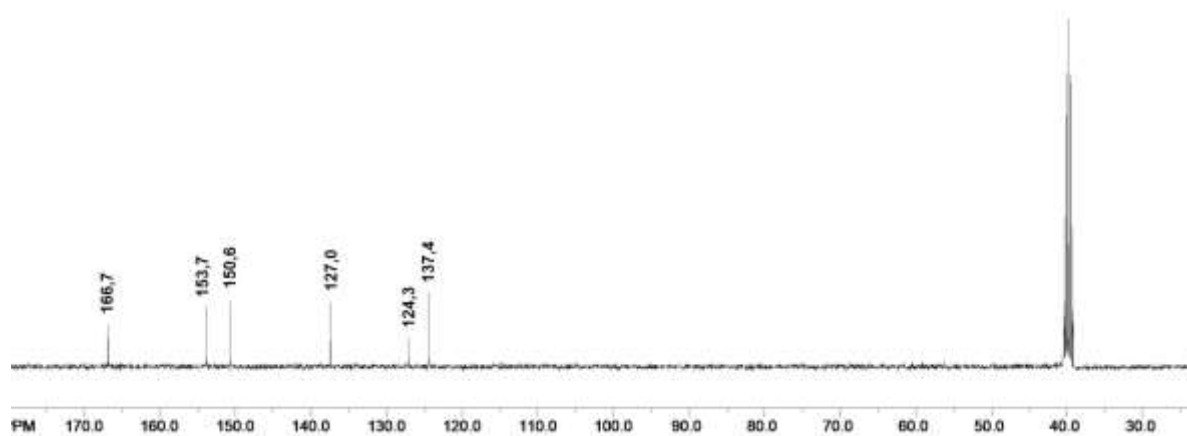
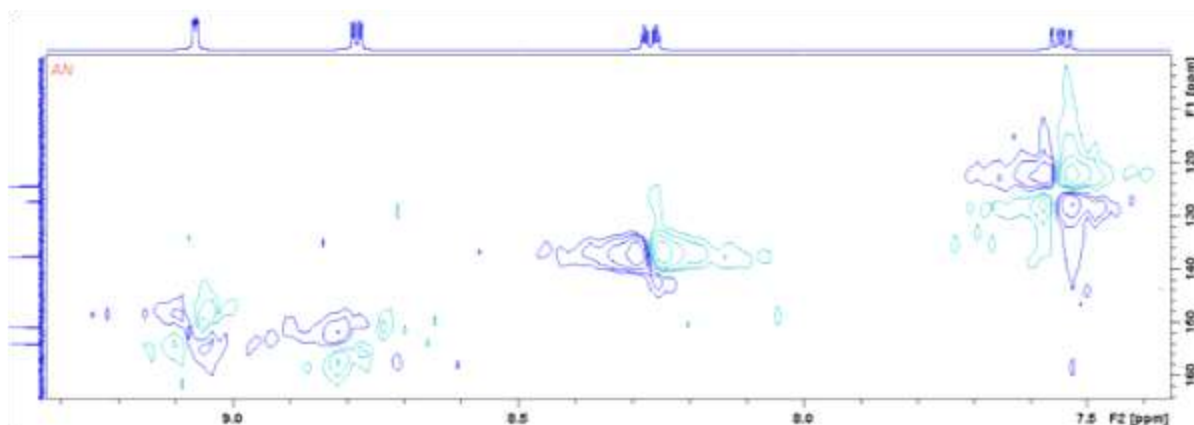
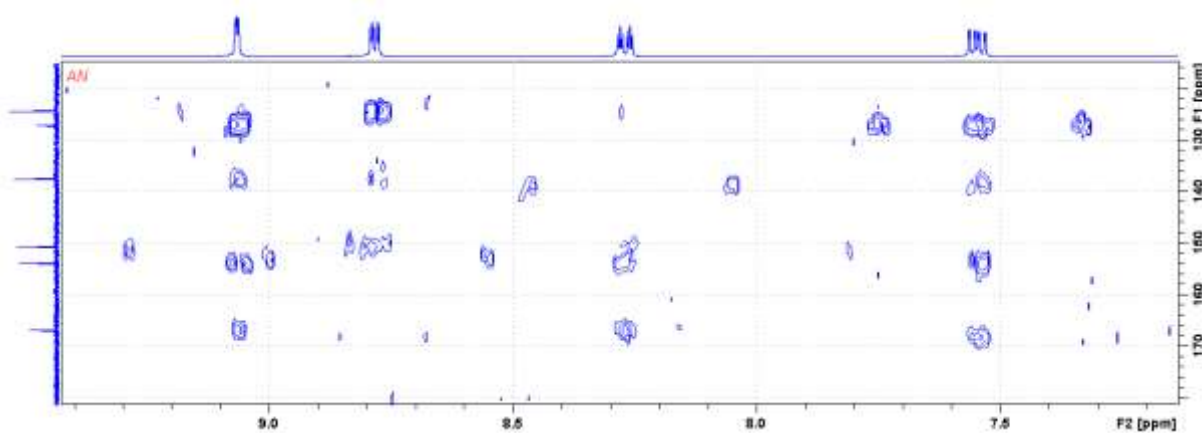
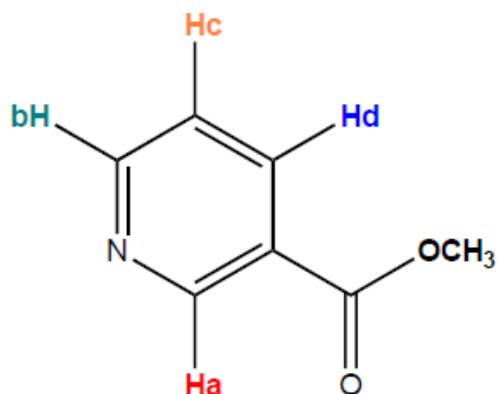
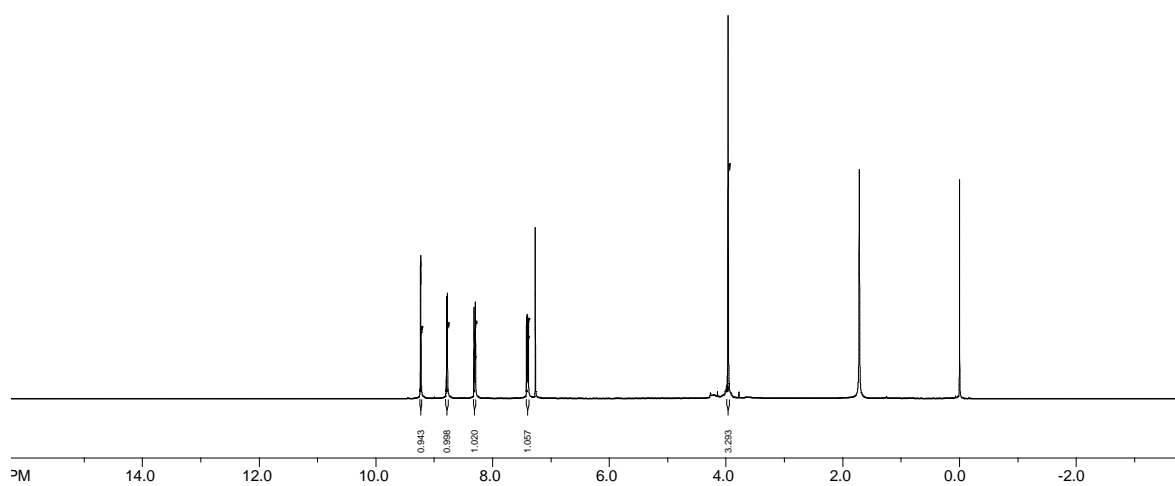
Figura 13- Espectro de RMN de ^1H (DMSO-D₆, 400 MHz) do composto AN**Figura 14-** Espectro de RMN de ^{13}C (DMSO-D₆, 100 MHz) do composto AN

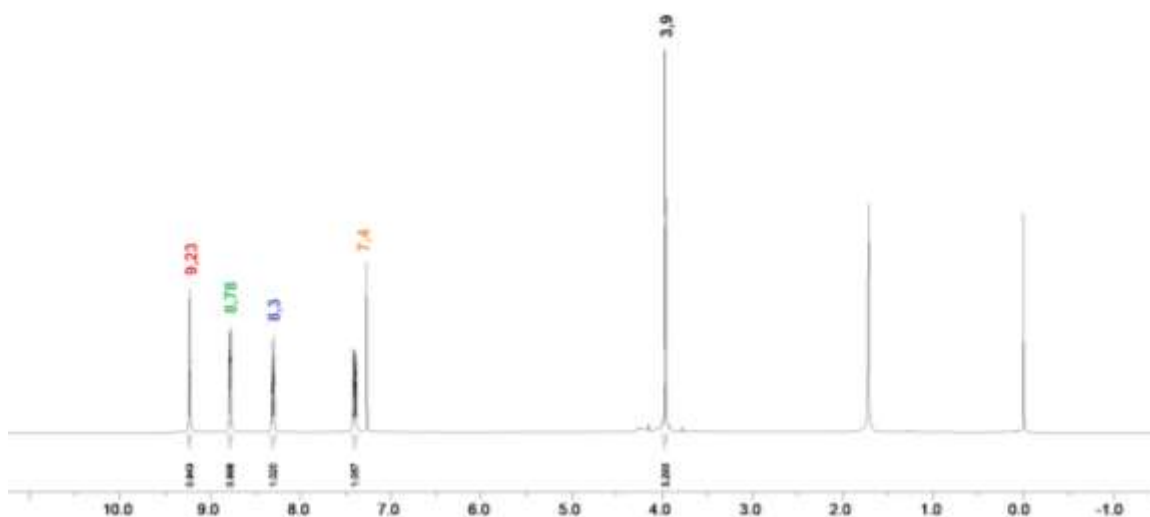
Figura 15- Espectro de HSQC (DMSO-D6, 400 e 100 MHz) do composto AN**Figura 16:** Espectro de HMBC (DMSO-D6, 400 e 100 MHz) do composto AN

A análise do espectro do MN se diferenciou do espectro do AN pela presença do sinal em 3,9 (Figura 17) na forma de um singleto com integral para 3H referente aos hidrogênios metilênicos da metoxila resultante da esterificação.

Tabela 2- Deslocamentos de RMN ^1H do MN

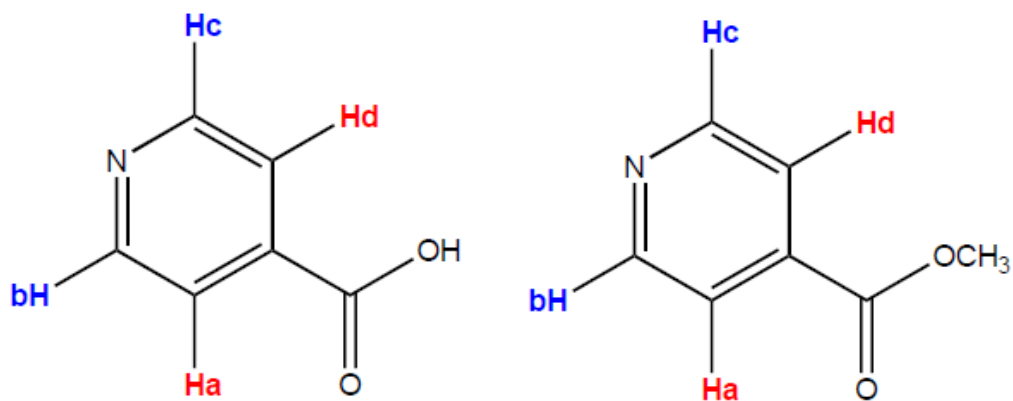
H	δ_{H}	J	J (Hz)
H^a	9,23 (d)	1	2,1/1,0
H^b	8,78 (dd)	1	4,9/1,7
H^d	8,3 (dt)	1	7,9/2,0
H^c	7,4 (dd)	1	4,9/0,7
-OCH₃	3,9 (s)	3	-

Figura 17- Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do composto MN



Para caracterização do isonicotinato de metila utilizamos como parâmetro o ácido isonicotínico que apesar de possuir a mesma fórmula molecular ($C_6H_5NO_2$) do ácido nicotínico se diferencia na fórmula estrutural. Essa diferenciação é perceptível no espectro de RMN de 1H obtido em $DMSO-D_6$, que para este ácido apresenta apenas dois sinais referente aos quatro hidrogênios aromáticos, este fato ocorre, pois os hidrogênios desta molécula são equivalentes e comportam-se como grupos (Tabela 3). Ou seja, os hidrogênios H^b e H^c apresentam-se como um “único grupo” pois as vizinhanças que exercem efeito sobre o núcleo dos dois hidrogênios são semelhantes, os sinais referentes a esses hidrogênios são observados em campo mais baixo ($\delta=8,78$ ppm) pois sofrem mais diretamente o efeito de desblindagem provocado pela eletronegatividade do nitrogênio. O segundo “grupo” seriam os hidrogênios aH e dH com sinais em campo mais alto ($\delta=7,81$ ppm) devido a maior distância (3 ligações e 4 ligações) dos átomos eletronegativos presentes na molécula Figura 18.

Para caracterização do MI a comparação com o espectro do AI ratificou a ocorrência da esterificação pela presença do sinal em $\delta=3,85$ ppm ausente no espectro do AI (Tabela 3) na forma de um singleto referente a 3H atribuído aos hidrogênios metilênicos da metoxila Figura 19.

Tabela 3- Deslocamentos de RMN ^1H do AI e MI

H	δ_{H}	\int	J (Hz)	H	δ_{H}	\int	J (Hz)
$\text{H}^{\text{b}}/\text{H}^{\text{c}}$	8,78 (dd)	2	4,4	$\text{H}^{\text{b}}/\text{H}^{\text{c}}$	8,78 (dd)	2	4,4
$\text{H}^{\text{a}}/\text{H}^{\text{d}}$	7,81 (dd)	2	4,4	$\text{H}^{\text{a}}/\text{H}^{\text{d}}$	7,81 (dd)	2	4,4
-OH	13,69	1	-	OCH_3	3,85 (s)	3	-

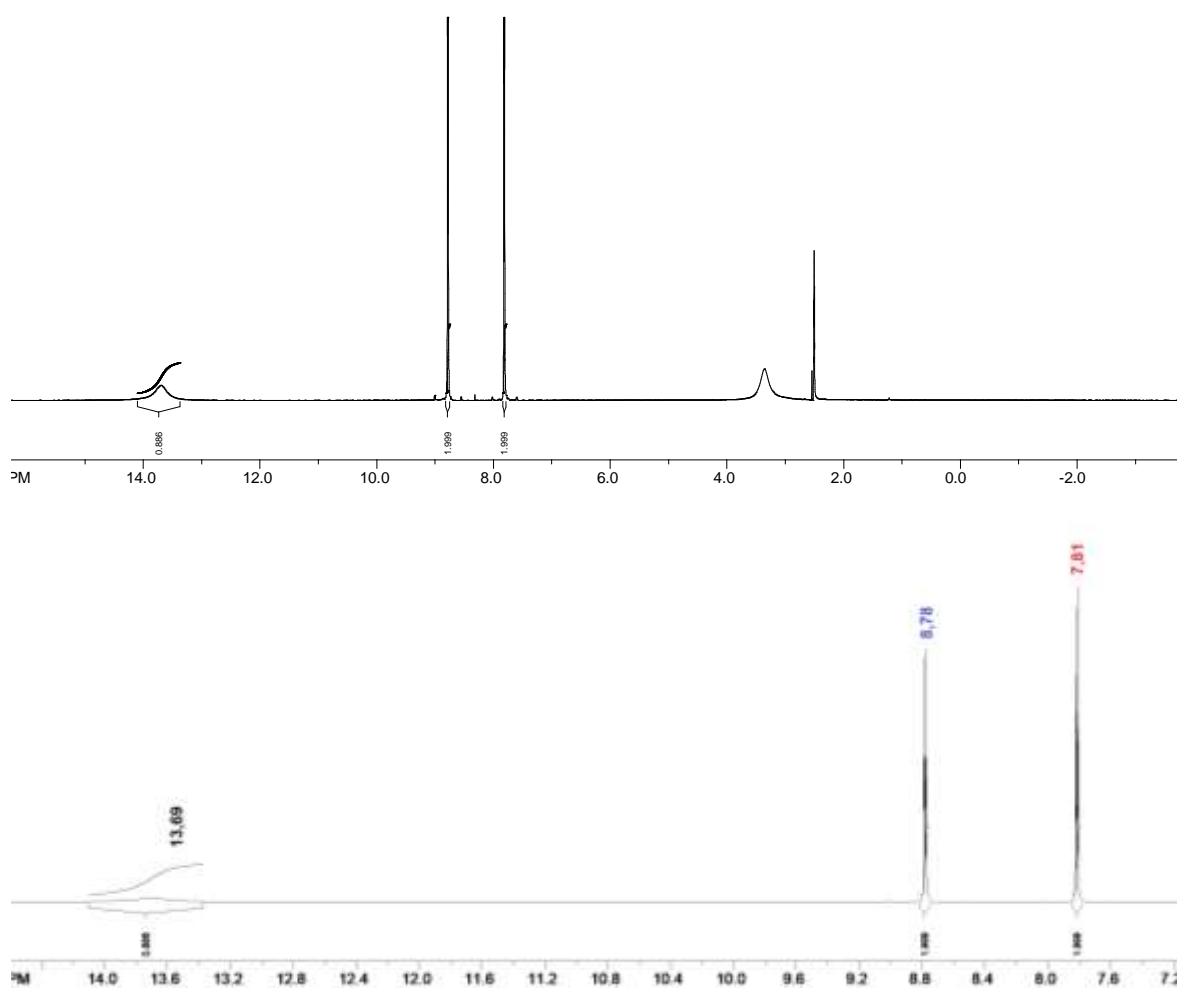
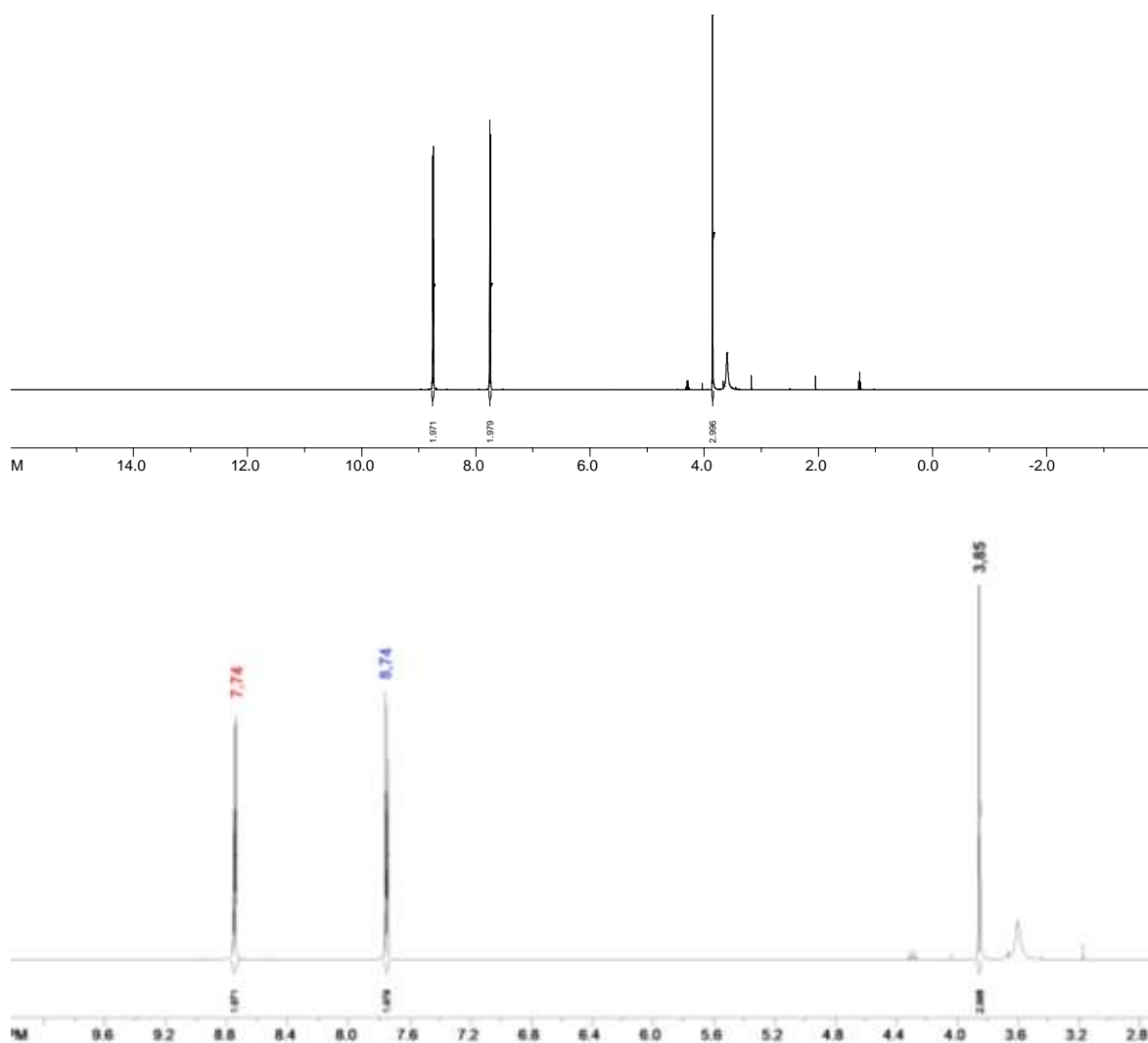
Figura 18- Espectro de RMN de ^1H (DMSO-D6, 400 MHz) do composto AI

Figura 19- Espectro de RMN de ^1H (DMSO- D_6 , 400 MHz) do composto MI

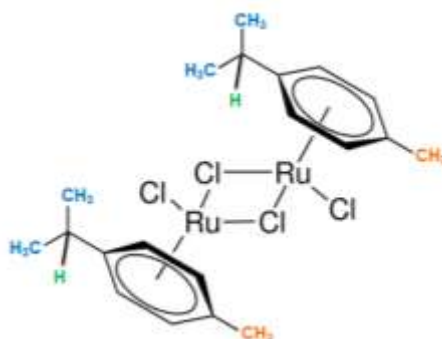
5.2 Complexação dos núcleos nicotínicos com rutênio

Para síntese dos complexos de rutênio foram selecionados como ligantes os compostos: ácido nicotínico, ácido isonicotínico, metil nicotinato e metil isonicotinato. Como fonte de metal, utilizou-se o rutênio na forma do composto $[\text{Ru}(\eta^6\text{-p-cymene})\text{Cl}_2]_2$. Para caracterização dos complexos sintetizados utilizamos o mesmo procedimento relatado para caracterização da esterificação citada no item anterior, realizamos uma avaliação comparativa entre os espectros de RMN de ^1H dos compostos de partida e os espectros de RMN ^1H dos produtos proveniente das sínteses. Foram obtidos quatro complexos nomeados como RuAI, RuAN, RuMI e RuMN.

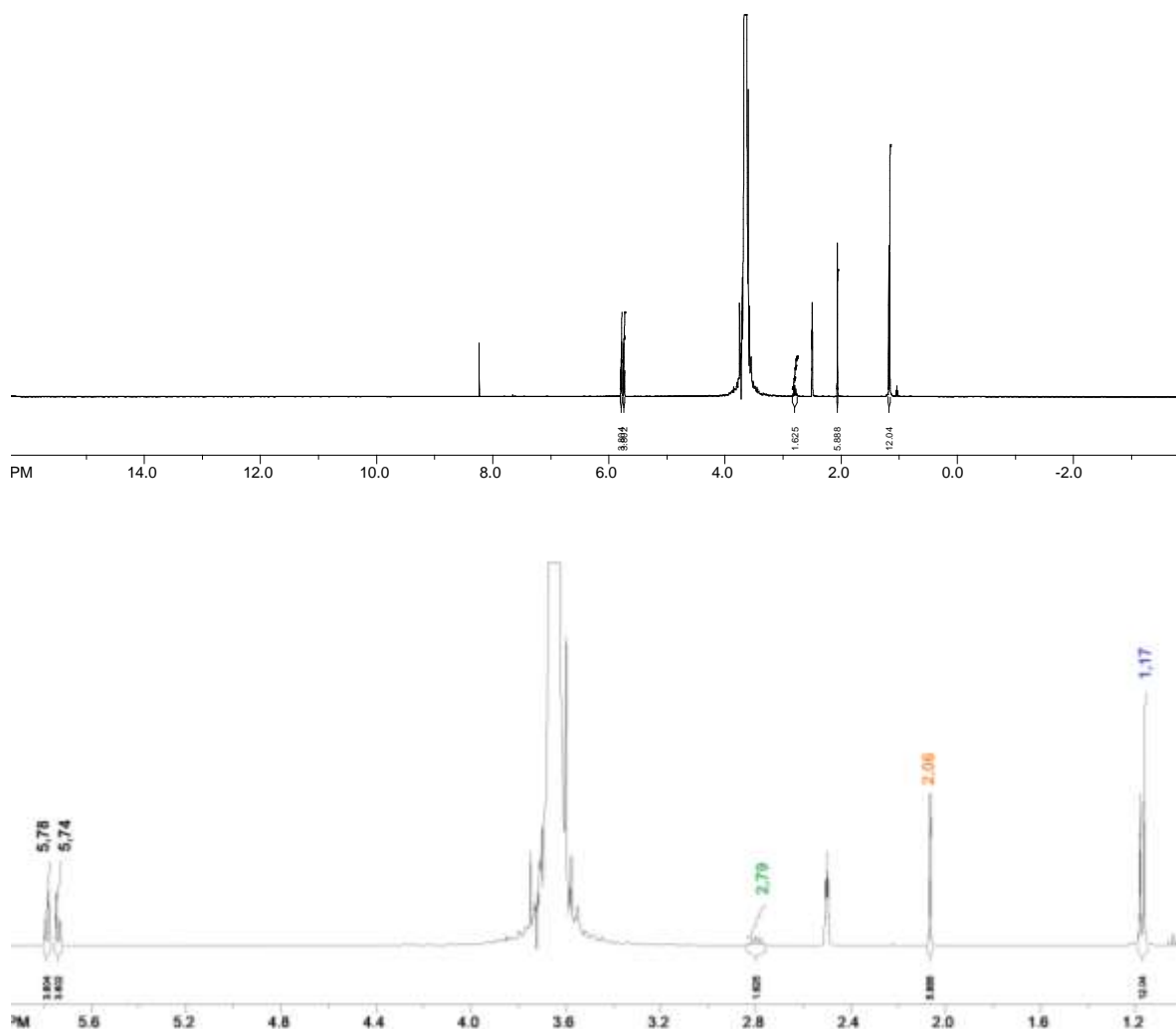
5.2.1 Caracterização dos núcleos nicotínicos com rutênio

A análise de RMN de ^1H da fonte metálica de rutênio (Ru-p-Cl) foi realizada utilizando como solvente deuterado dimetilsulfóxido. Para as unidades areno rutênio observa-se sinais na região entre 5 e 6 ppm para os hidrogênios aromáticos, sinais estes mais baixos que a região normalmente esperada para hidrogênios aromáticos (tipicamente entre 7 ppm e 9 ppm), situação esta característica de anéis que se apresentam coordenados a metais. Foram observados dois duplos dubleto (dd) com sinais em $\delta = 5,78$ ppm e $\delta = 5,74$ ppm com integrais para 2 hidrogênios cada (Figura 20). Além destes dois sinais foram observados ainda 3 sinais na região de blindagem 2 referentes a hidrogênios metílicos ($-\text{CH}_3$) em $\delta = 1,17$ ppm com integral para 12H; em $\delta = 2,06$ ppm com integral para 6H e 1 referente a hidrogênio metínico ($-\text{CH}$) em $\delta = 2,79$ ppm para 2H (Tabela 4).

Tabela 4- Deslocamentos de RMN ^1H do Ru-p-Cl



H	δ_{H}	J	J (Hz)
H (p-cimeno)	5,78 (dd)	4	6,4
H (p-cimeno)	5,74 (dd)	4	6,4
H	2,79 (m)	2	-
$-\text{CH}_3$	2,06 (s)	6	-
$-\text{CH}_3$	1,17 (d)	12	6,9

Figura 20: Espectro de RMN de ^1H (DMSO-D₆, 400 MHz) do composto Ru-p-Cl

Para identificação dos complexos de coordenação utilizamos comparação com os espectros de RMN de ^1H e de infravermelho (IV) das substâncias de partida. O espectro de IV do composto RuAl (Figura 21) exibe bandas de estiramento C-C na região de 1600 a 1400 cm^{-1} , estiramento C-H de anel para-substituído (p-subst.) na região de 850 cm^{-1} , estiramento de carbonila de ácido em torno de 1700 cm^{-1} , e estiramento de ligação C-C de carbono sp^2 em torno de 800-850 cm^{-1} . Com a coordenação do ligante ao precursor, algumas bandas sofreram alteração de perfil como exposto na Tabela 6, sugerindo assim que provavelmente a coordenação deva ter ocorrido.

Figura 21- Espectro na região do infravermelho (KBr, cm^{-1}) dos compostos Ru-p-Cl, Al e RuAl, respectivamente

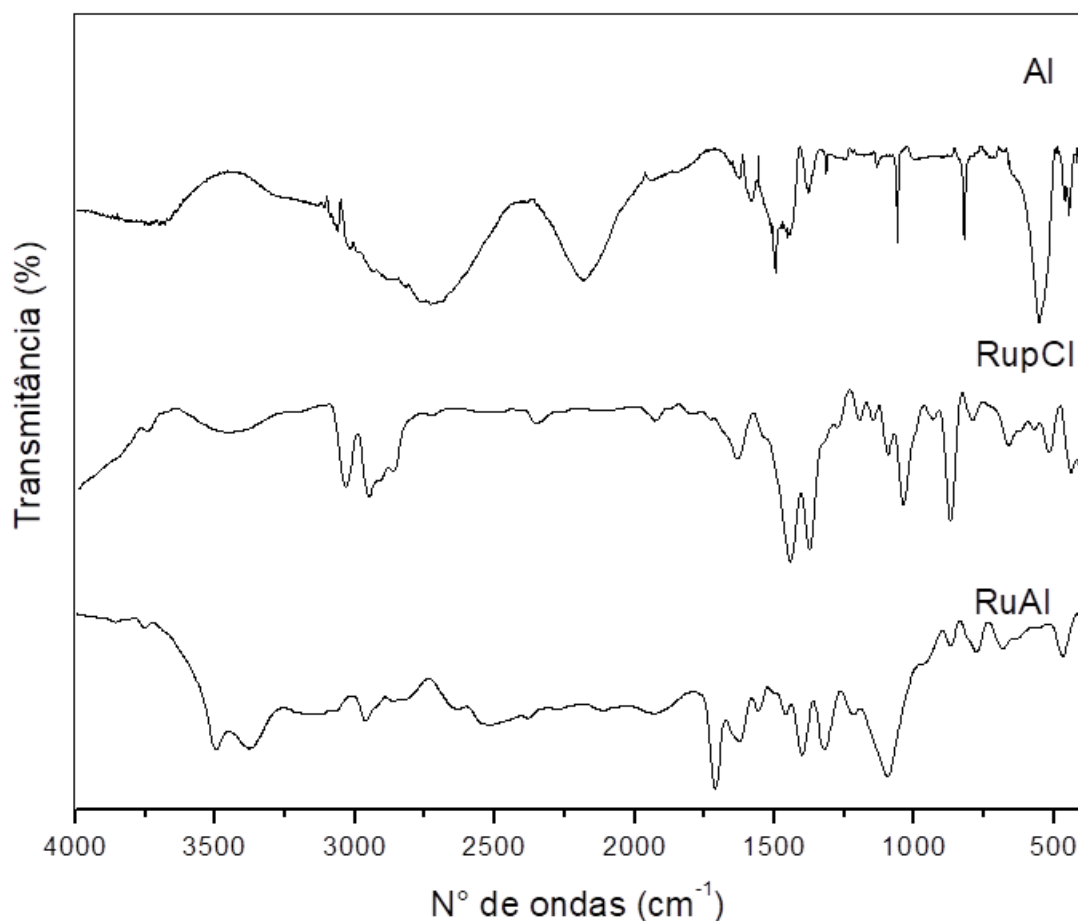


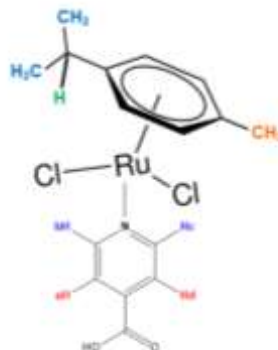
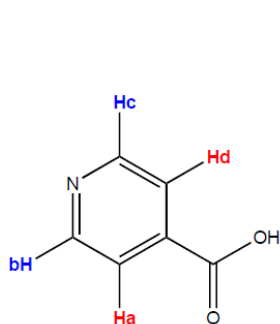
Tabela 5- Frequências (cm^{-1}) das principais bandas do Ru-p-Cl, Al e RuAl.

Atribuição	Ru-p-Cl	Al	RuAl
C-H sp^2	802	866	857
=O de ácido	-	1718	1701
-OH de ácido	-	3478	3495
ν C-H anel p-subst.	866	-	-
ν C-C	1646/1443	1600/1463	1544/1408

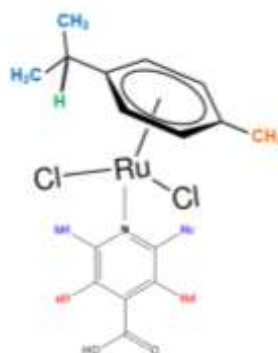
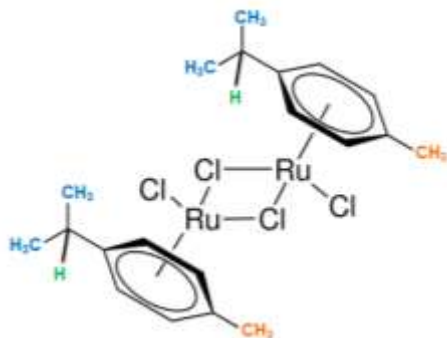
Aliado as observações do IV à análise do espectro de RMN de ^1H (Figura 22) mostrou indícios da complexação uma vez que os conjuntos de sinais referentes ao *p*-cimeno sofreram uma leve alteração para frequências mais altas, devido a uma

diminuição da acidez de Lewis do centro metálico causado pela forte coordenação do ligante N do anel piridinico do ácido Tabela 6.

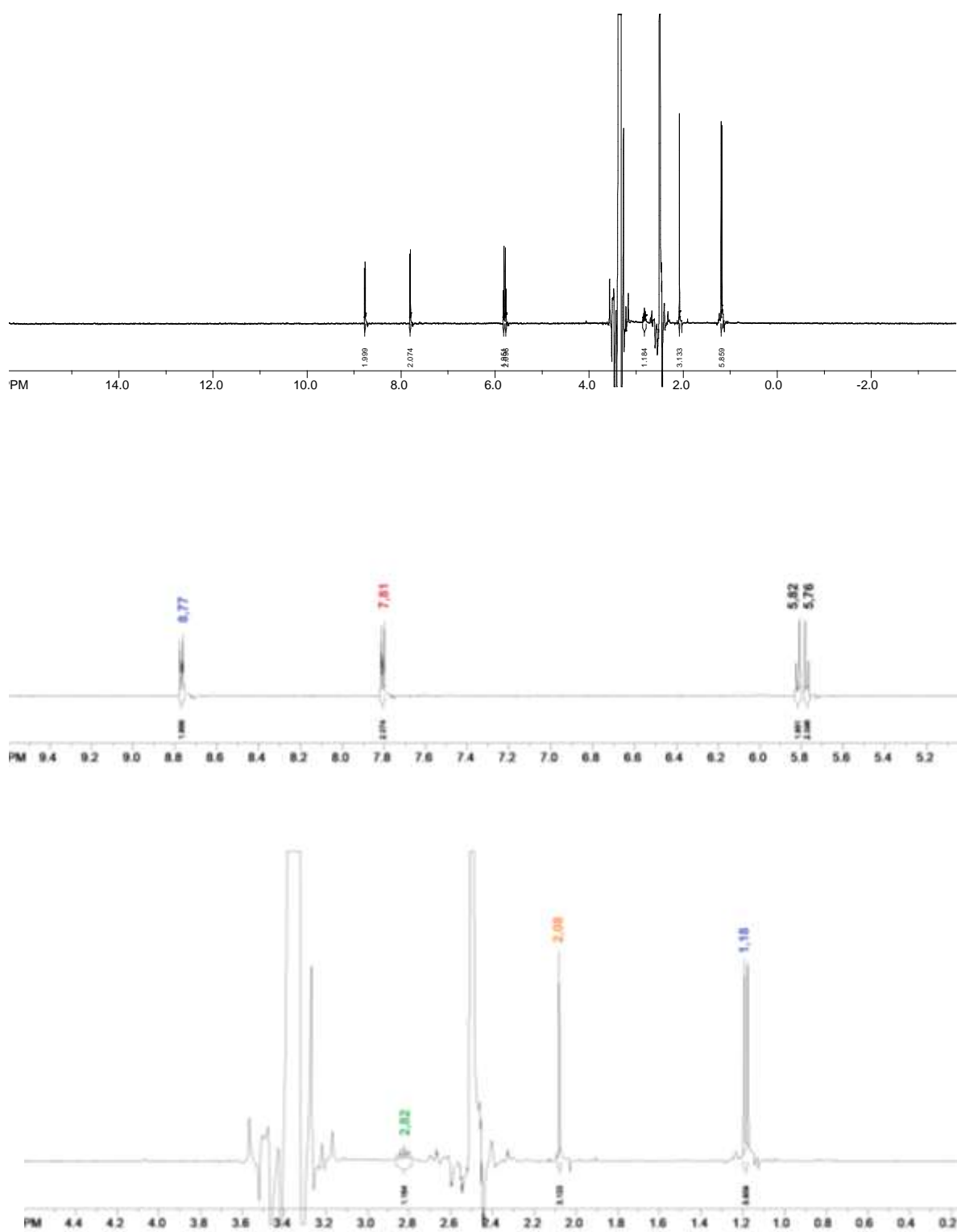
Tabela 6- Deslocamentos de RMN ^1H do Al, RuAl e Ru-p-Cl



H	δ_{H}	\int	J (Hz)	H	δ_{H}	\int	J (Hz)
$\text{H}^{\text{b}}/\text{H}^{\text{c}}$	8,78 (dd)	2	4,4	$\text{H}^{\text{b}}/\text{H}^{\text{c}}$	8,77(dd)	2	4,4
$\text{H}^{\text{a}}/\text{H}^{\text{d}}$	7,81 (dd)	2	7,8	$\text{H}^{\text{a}}/\text{H}^{\text{d}}$	7,81(dd)	2	4,5



H	δ_{H}	\int	J (Hz)	H	δ_{H}	\int	J (Hz)
H (p-cimeno)	5,78 (dd)	4	6,4	H (p-cimeno)	5,82 (dd)	2	6,4
H (p-cimeno)	5,74 (dd)	4	6,4	H (p-cimeno)	5,76 (dd)	2	6,4
H	2,79 (m)	2	-	H	2,82 (m)	1	-
-CH₃	2,06 (s)	6	-	-CH₃	2,08 (s)	3	-
-CH₃	1,17 (d)	12	6,9	-CH₃	1,18 (d)	6	6,9

Figura 22- Espectro de RMN de ^1H (DMSO-D₆, 400 MHz) do composto RuAl

Para caracterização do complexo RuAN foram seguidos os mesmos passos utilizados para o complexo RuAl, tendo como critério de comparação o ácido isonicotínico e o Ru-p-Cl. A análise da transmitância no infravermelho (Figura 23)

apresentou alterações nos comprimentos de onda dos complexos sintetizados quando comparados aos reagentes de partida como evidenciado na tabela 7. O espectro de ressonância magnética de ^1H (Figura 24) apresentou alterações no deslocamento das frequências para sinais em campo mais baixo (assim como o observado para o complexo RuAl), além de integrais condizentes com um monômero do metal (Tabela 8). A análise do ponto de fusão deste complexo apresentou uma faixa de temperatura entre 190-200 °C, faixa esta distinta da observada para o dímero de rutênio (Ru-p-Cl) que funde entre 250-260 °C. A compilação destas observações nos fez concluir que houve a complexação do metal ao núcleo piridínico.

Figura 23- Espectro na região do infravermelho (KBr, cm^{-1}) dos compostos Ru-p-Cl, AN e RuAN, respectivamente

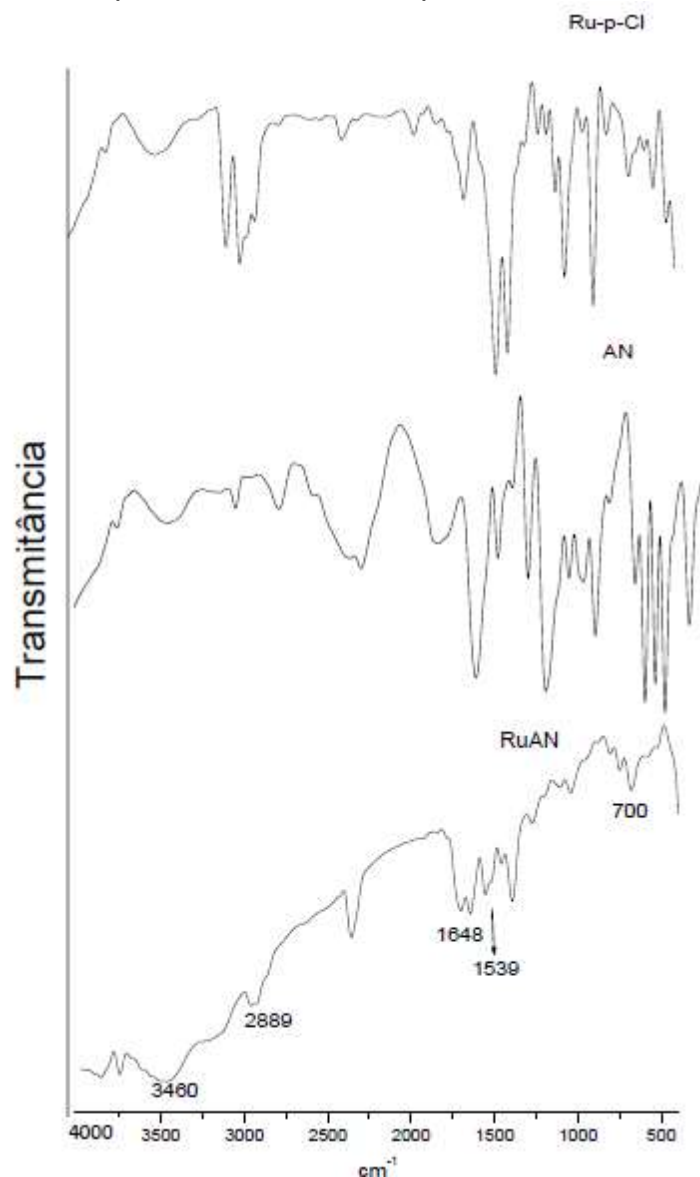


Tabela 7- Frequências (cm^{-1}) das principais bandas do Ru-p-Cl, AN e RuAN.

Atribuição	Ru-p-Cl	AN	RuAN
C-H sp^2	802	831	811
=O de ácido	-	1747	-
-OH de ácido	-	3460	3489
ν C-H anel p-subst.	866	-	-
ν C-C	1646/1443	1637/1489	1628/1408

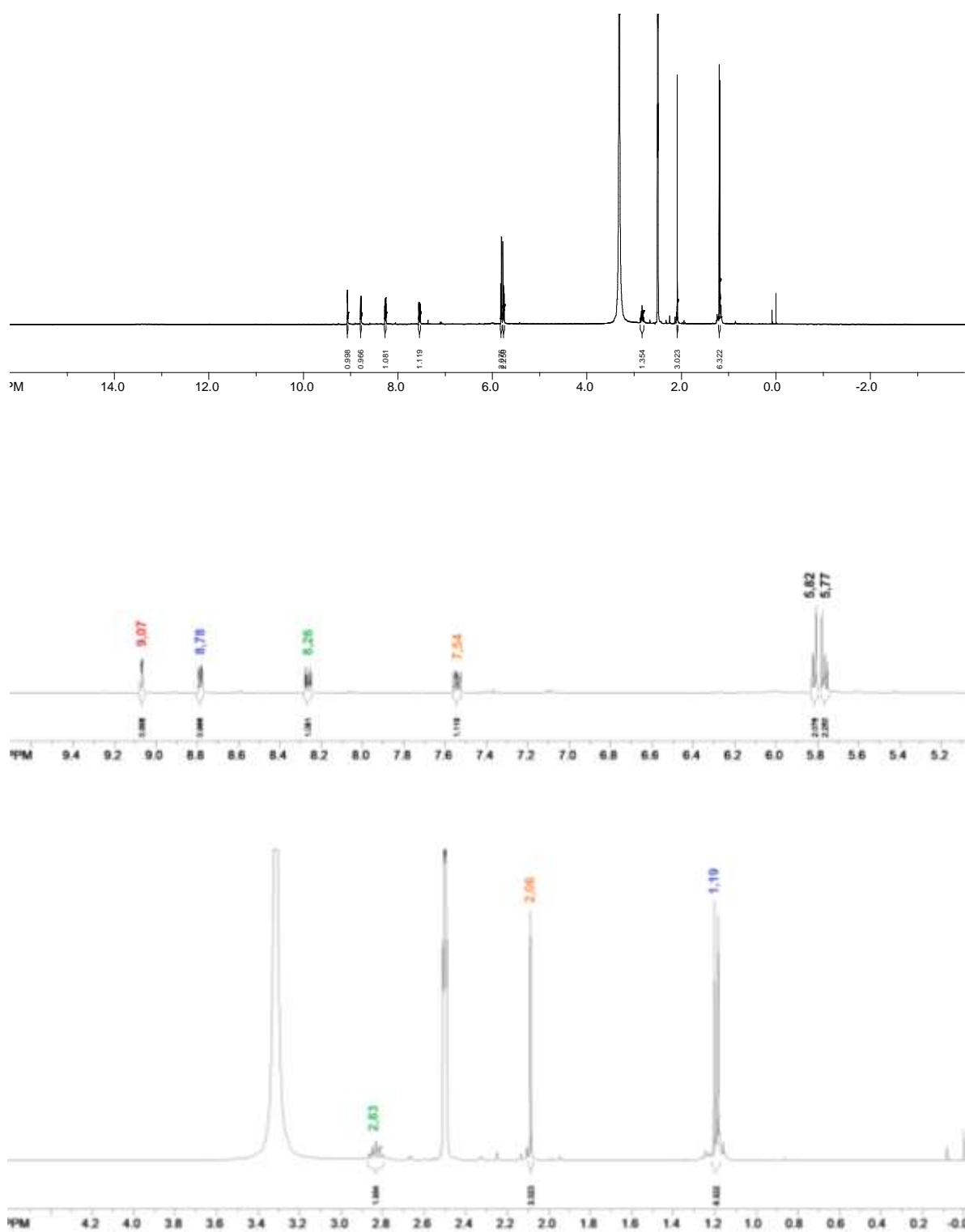
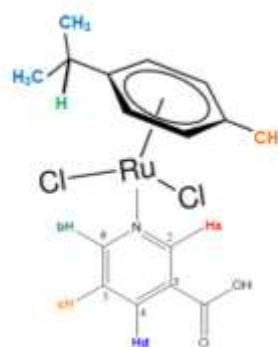
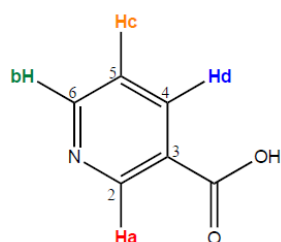
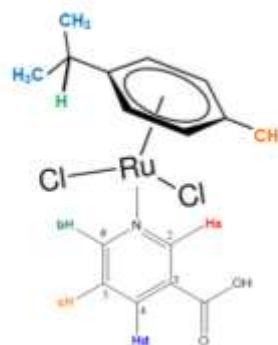
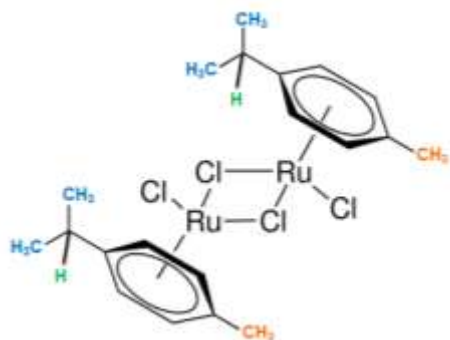
Figura 24- Espectro de RMN de ^1H (DMSO- D_6 , 400 MHz) do composto RuAN

Tabela 8- Deslocamentos de RMN ^1H do AN, RuAN e Ru-p-Cl

H	δ_{H}	\int	J (Hz)	H	δ_{H}	\int	J (Hz)
H ^a	9,07 (d)	1	2,1/1,0	H ^a	9,07 (d)	1	2,1/1,0
H ^b	8,79 (dd)	1	4,9/1,7	H ^b	8,78 (dd)	1	4,9/1,7
H ^c	8,27 (dt)	1	7,9/2,0	H ^c	8,26 (dt)	1	7,9/2,0
H ^d	7,55 (dd)	1	4,9/0,7	H ^d	7,54 (dd)	1	4,9/0,7

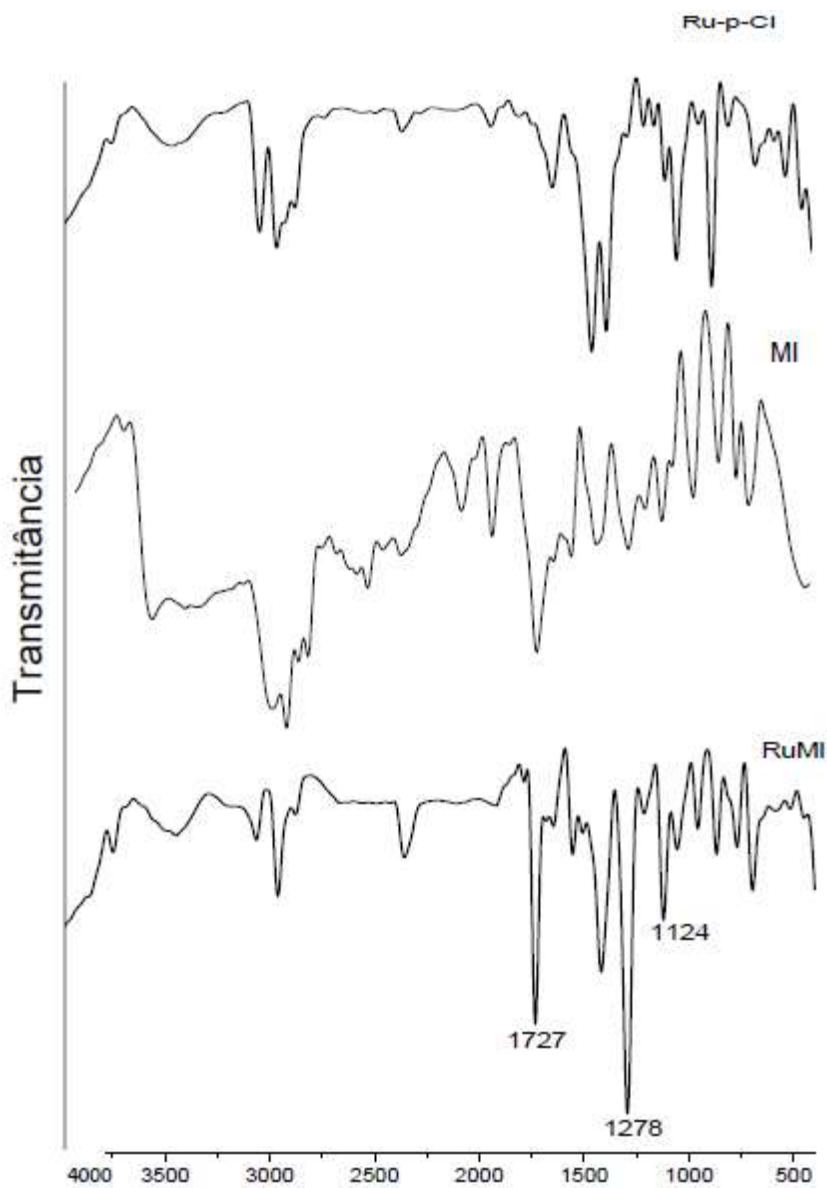


H	δ_{H}	\int	J (Hz)	H	δ_{H}	\int	J (Hz)
H (p-cimeno)	5,78 (dd)	4	6,4	H (p-cimeno)	5,82 (dd)	2	6,4
H (p-cimeno)	5,74 (dd)	4	6,4	H (p-cimeno)	5,77 (dd)	2	6,4
H	2,79 (m)	2	-	H	2,83 (m)	1	-
-CH ₃	2,06 (s)	6	-	-CH ₃	2,09 (s)	3	-
-CH ₃	1,17 (d)	12	6,9	-CH ₃	1,19 (d)	6	6,9

Para caracterização dos complexos de rutênio coordenados aos ésteres nicotínicos a comparação com os reagentes de partida foi condizente com as alterações observadas para os outros complexos. No espectro de infravermelho do RuMI observa-se a presença de vibrações referentes a éster em $\sim 1727\text{ cm}^{-1}$

condizente com C=O de éster, vibrações assimétricas C-C em $\sim 1278\text{ cm}^{-1}$ e $\sim 1124\text{ cm}^{-1}$ referente a C-O Figura 25.

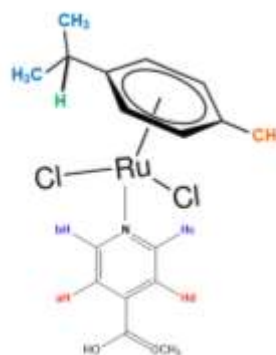
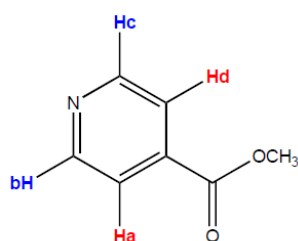
Figura 25- Espectro na região do infravermelho (KBr, cm^{-1}) dos compostos Ru-p-Cl, MI e RuMI, respectivamente



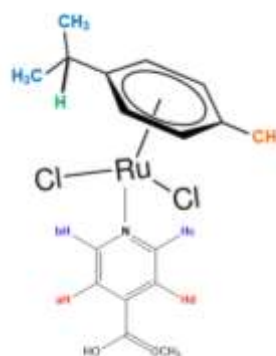
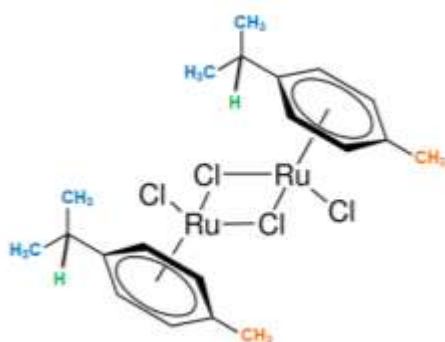
No espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (Figura 26) foram observados integrais condizentes com um monômero do Ru-p-Cl e deslocamentos para campo de maior desproteção, quando comparados ao éster de partida (Tabela 9), este fato pode ser explicado, se analisarmos a atuação do rutênio na complexação. Centros metálicos ao sofrer coordenação atuam atraindo a

densidade eletrônica para suas redondezas, com isso os átomos próximos a esse centro tendem a sofrer uma leve desproteção ocasionada pela perda desta densidade eletrônica de blindagem.

Tabela 9- Deslocamentos de RMN ^1H do MI, RuMI e Ru-p-Cl

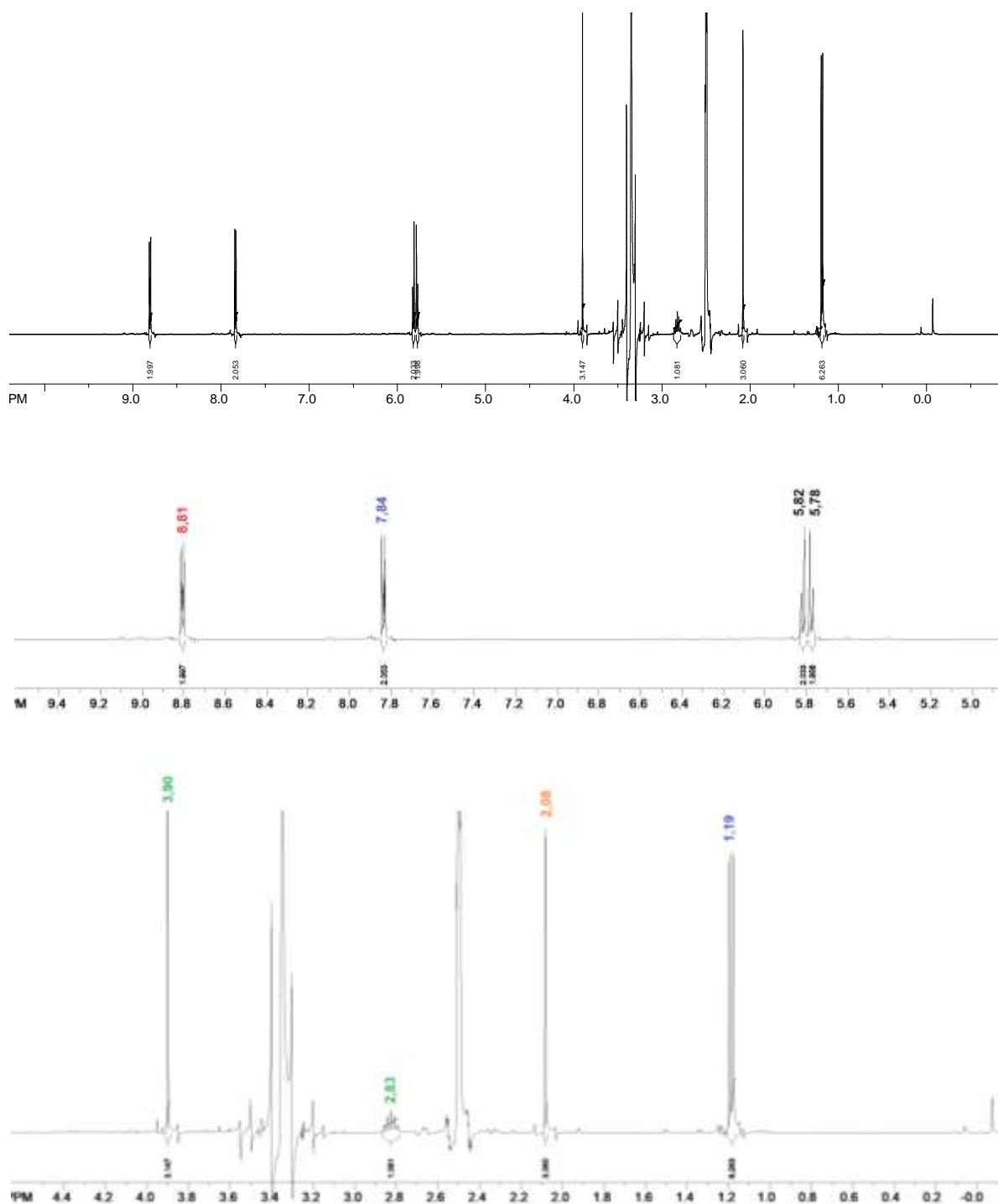


H	δ_{H}	\int	J (Hz)	H	δ_{H}	\int	J (Hz)
$\text{H}^{\text{b}}/\text{H}^{\text{c}}$	8,78 (dd)	2	4,4	$\text{H}^{\text{b}}/\text{H}^{\text{c}}$	8,81 (dd)	2	4,4
$\text{H}^{\text{a}}/\text{H}^{\text{d}}$	7,81 (dd)	2	4,4	$\text{H}^{\text{a}}/\text{H}^{\text{d}}$	7,84 (dd)	2	4,4
OCH_3	3,85 (s)	3	-	OCH_3	3,90 (s)	3	-



H	δ_{H}	\int	J (Hz)	H	δ_{H}	\int	J (Hz)
H (p-cimeno)	5,78 (dd)	4	6,4	H(p-cimeno)	5,82 (dd)	2	6,4
H (p-cimeno)	5,74 (dd)	4	6,4	H(p-cimeno)	5,78 (dd)	2	6,4
H	2,79 (m)	2	-	H	2,83 (m)	1	-
-CH₃	2,06 (s)	6	-	-CH₃	2,08 (s)	3	-
-CH₃	1,17 (d)	12	6,9	-CH₃	1,19 (d)	6	6,9

Figura 26- Espectro de RMN de ^1H (DMSO- D_6 , 400 MHz) do composto RuMI



Para o RuMN, os sinais dos 4 hidrogênios piridínicos no RMN ^1H (Figura 27) por não estarem situados em mesmo ambiente químico possuem absorções em deslocamentos químicos distintos do observado para o MI. O éster de partida e o dímero de rutênio, como esperado diante das discussões realizadas até o presente momento apresentaram deslocamento químico em ambiente mais protegido que o

complexo, uma vez que o complexo fornece um ambiente magnético distinto pela presença de um átomo metálico de rutênio (Tabela 10).

Figura 27- Espectro de RMN de ^1H (DMSO-D₆, 400 MHz) do composto RuMN

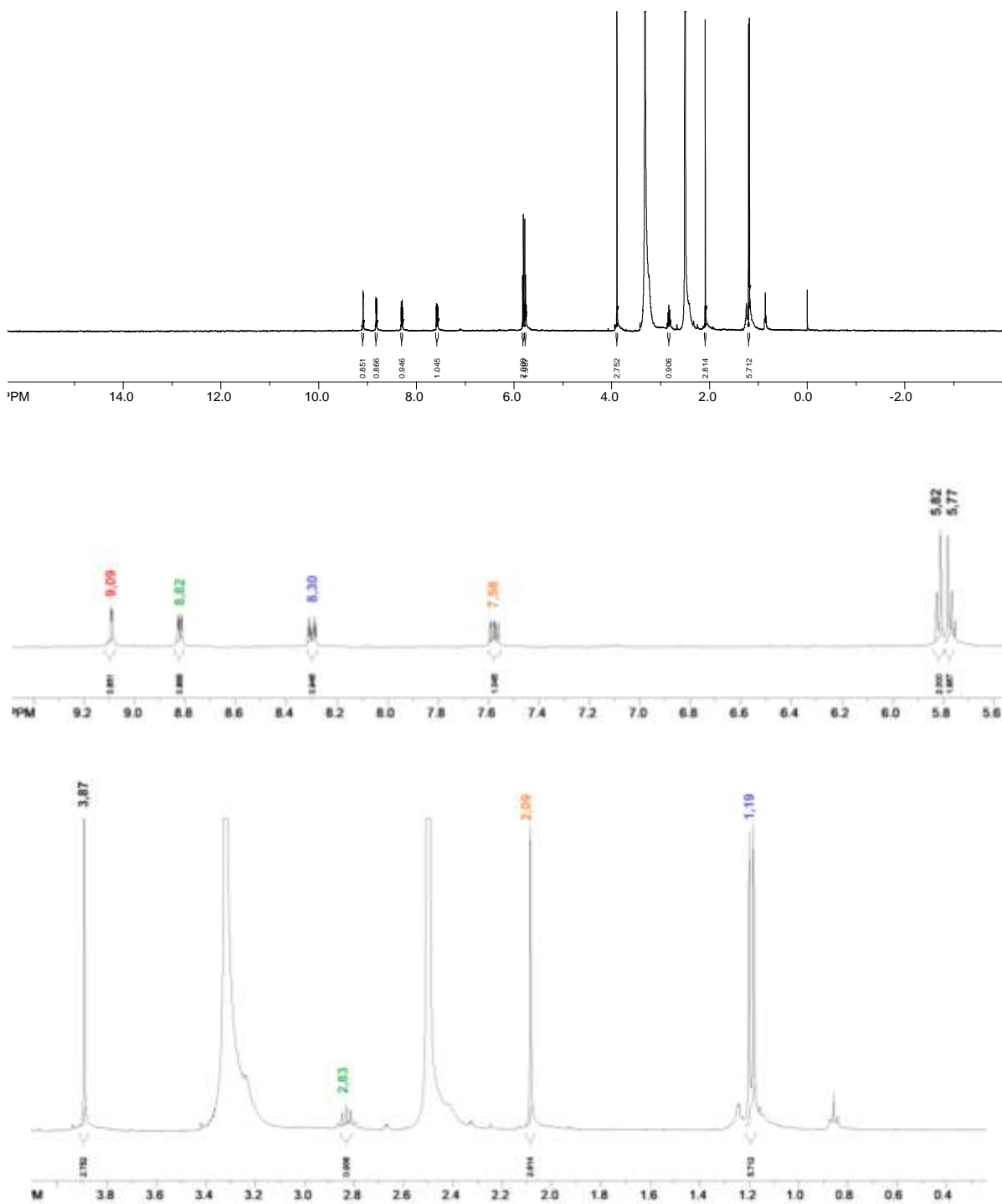
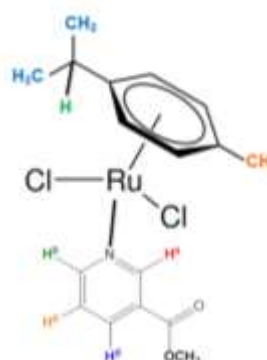
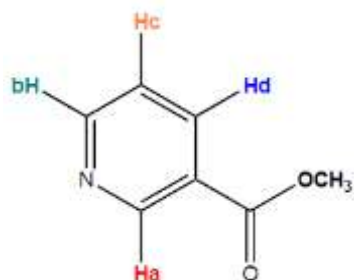
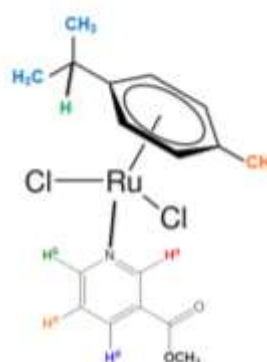
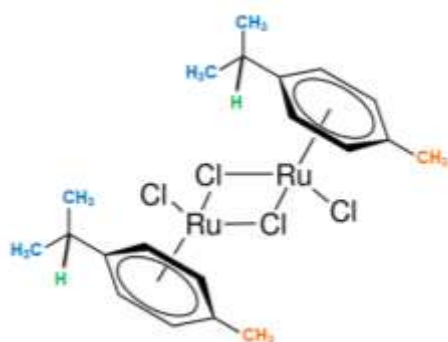


Tabela 10- Deslocamentos de RMN ^1H do MN, RuMN e Ru-p-Cl

H	δ_{H}	\int	J (Hz)	H	δ_{H}	\int	J (Hz)
H ^a	9,23 (d)	1	2,1/1,0	H ^a	9,09 (d)	1	2,1/1,0
H ^b	8,78 (dd)	1	4,9/1,7	H ^b	8,82 (dd)	1	4,9/1,7
H ^d	8,3 (dt)	1	7,9/2,0	H ^d	7,58 (dt)	1	7,9/2,0
H ^c	7,4 (dd)	1	4,9/0,7	H ^c	8,30 (dd)	1	4,9/0,7
-OCH ₃	3,9 (s)	3	-	-OCH ₃	3,87 (s)	3	-



H	δ_{H}	\int	J (Hz)	H	δ_{H}	\int	J (Hz)
H (p-cimeno)	5,78 (dd)	4	6,4	H (p-cimeno)	5,82 (dd)	2	6,4
H (p-cimeno)	5,74 (dd)	4	6,4	H (p-cimeno)	5,77 (dd)	2	6,4
H	2,79 (m)	2	-	H	2,83 (m)	1	-
-CH ₃	2,06 (s)	6	-	-CH ₃	2,09 (s)	3	-
-CH ₃	1,17 (d)	12	6,9	-CH ₃	1,19 (d)	6	6,9

5.3 Complexação dos núcleos nicotínicos com estanho

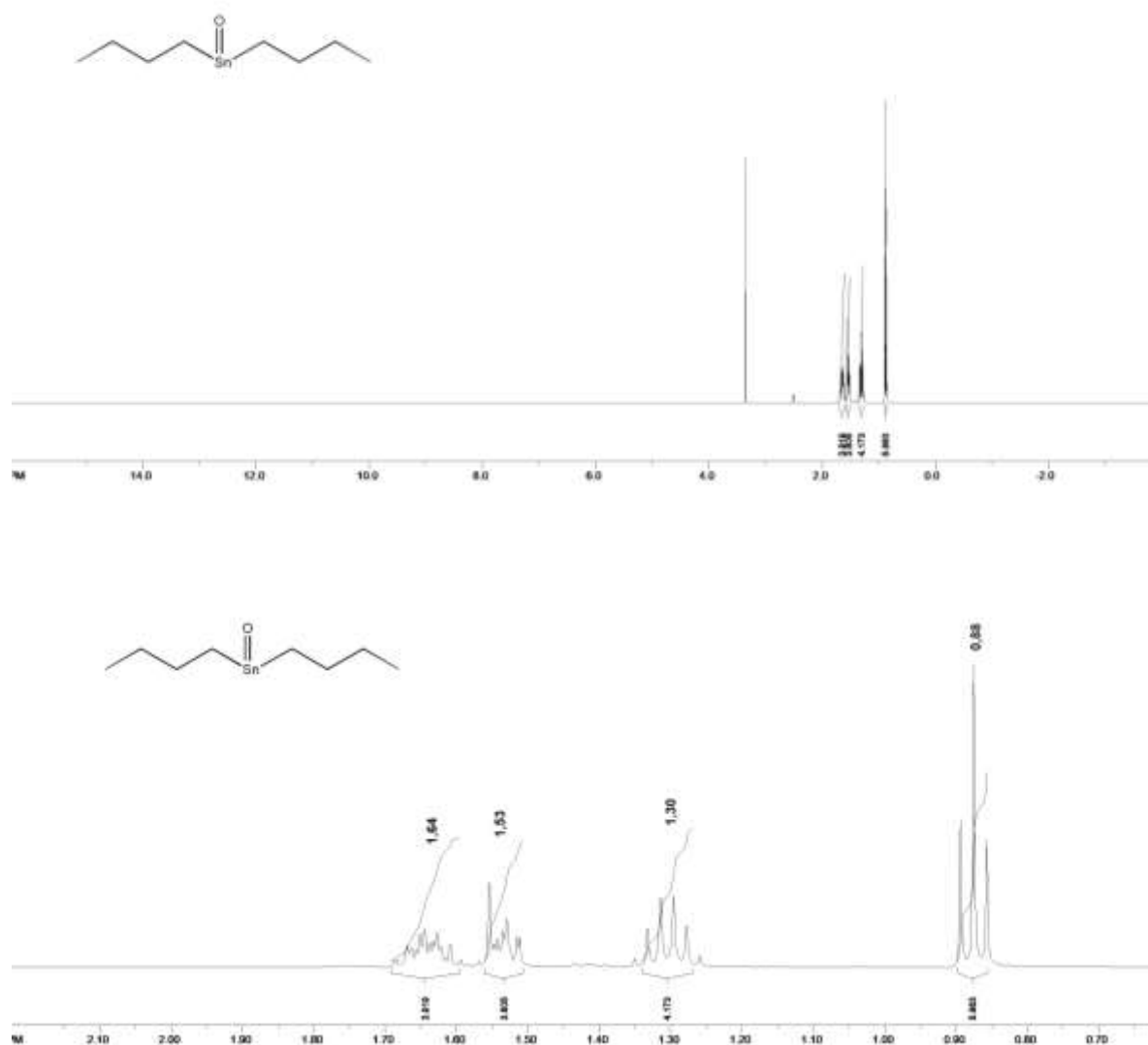
Como fonte de estanho foi utilizado o óxido de dibutilestanho adquirido da sigma aldrich e a caracterização dos complexos realizada por comparação dos

espectros de RMN de ^1H . Esta complexação foi vislumbrada levando em consideração a grande afinidade que o estanho possui por átomos doadores de Lewis como o nitrogênio, átomo este presente no núcleo piridínico dos derivados nicotínicos.

5.3.1 Caracterização dos núcleos nicotínicos com estanho

Para caracterização do complexo de estanho inicialmente foi analisado o espectro das substâncias de partida, para visualização de possíveis alterações de seus perfis de comportamento. O RMN de hidrogênio do óxido de dibutilestanho (BU) em DMSO-D_6 apresentou sinais referentes aos hidrogênios metílicos (6H) em 0,88 ppm, para os hidrogênios metilênicos as absorções ocorreram em 1,64; 1,53 e 1,30 ppm com integrais para quatro hidrogênios cada (Figura 28).

Figura 28- Espectro de RMN de ^1H (DMSO-D_6 , 400 MHz) do composto BU

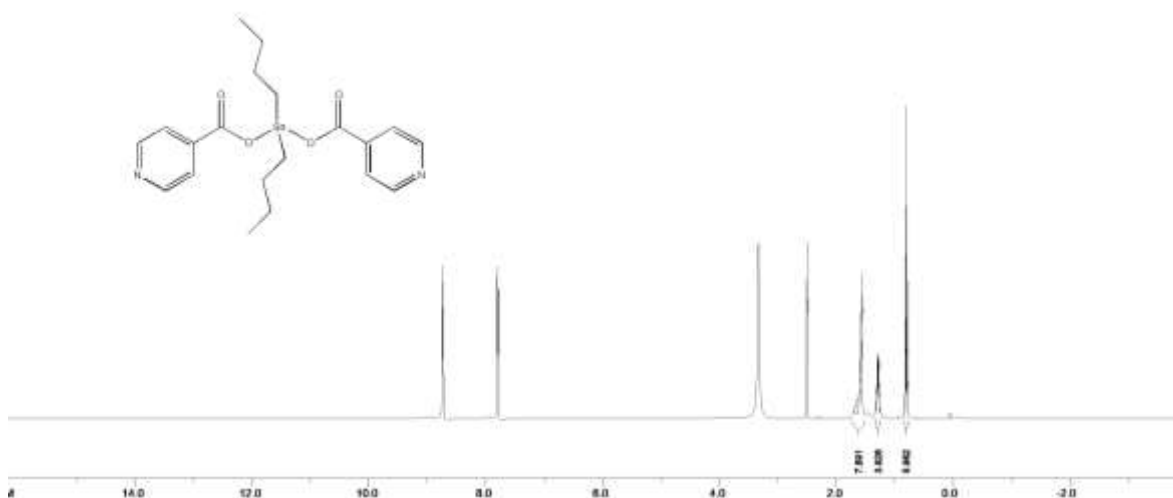


Para caracterizar os complexos inicialmente se faz necessário entender que a complexação do composto deverá promover uma alteração nos deslocamentos químicos para valores mais baixos (mais blindado), este fato ocorre, pois um aumento no número de coordenação do estanho tende a deslocar para as vizinhanças do centro metálico uma maior densidade eletrônica promovendo nos átomos vizinhos uma proteção frente ao campo magnético aplicado.

Para o BUI (Diisonicotinato de dibutilestanho) o espectro de RMN de ^1H obtido em mesmo solvente, apresentou uma redução dos valores com sinais referentes aos hidrogênios metílicos (6H) aparecendo em 0,80 ppm, para os hidrogênios metilênicos as absorções ocorreram em 1,56 e 1,28 ppm com integrais para oito e quatro hidrogênios cada (Figura 29). Ao olharmos a influencia da complexação nos hidrogênios do anel piridinico a influência se torna reduzida uma vez que a distância espacial dos hidrogênios piridinos para o centro metálico é maior.

Comportamento análogo foi observado para o complexo BUN (Dinicotinato de dibutilestanho) com deslocamento no anel piridinico em $\delta = 9,07; 8,74; 8,26$ e $7,52$ ppm com integrais para 2H cada. Para os hidrogênios da cadeia butil alifática os deslocamentos ocorreram em $\delta = 1,56; 1,28$ e $0,80$ ppm, para 8H, 4H e 6H, respectivamente Figura 30.

Figura 29- Espectro de RMN de ^1H (DMSO-D₆, 400 MHz) do composto BUI



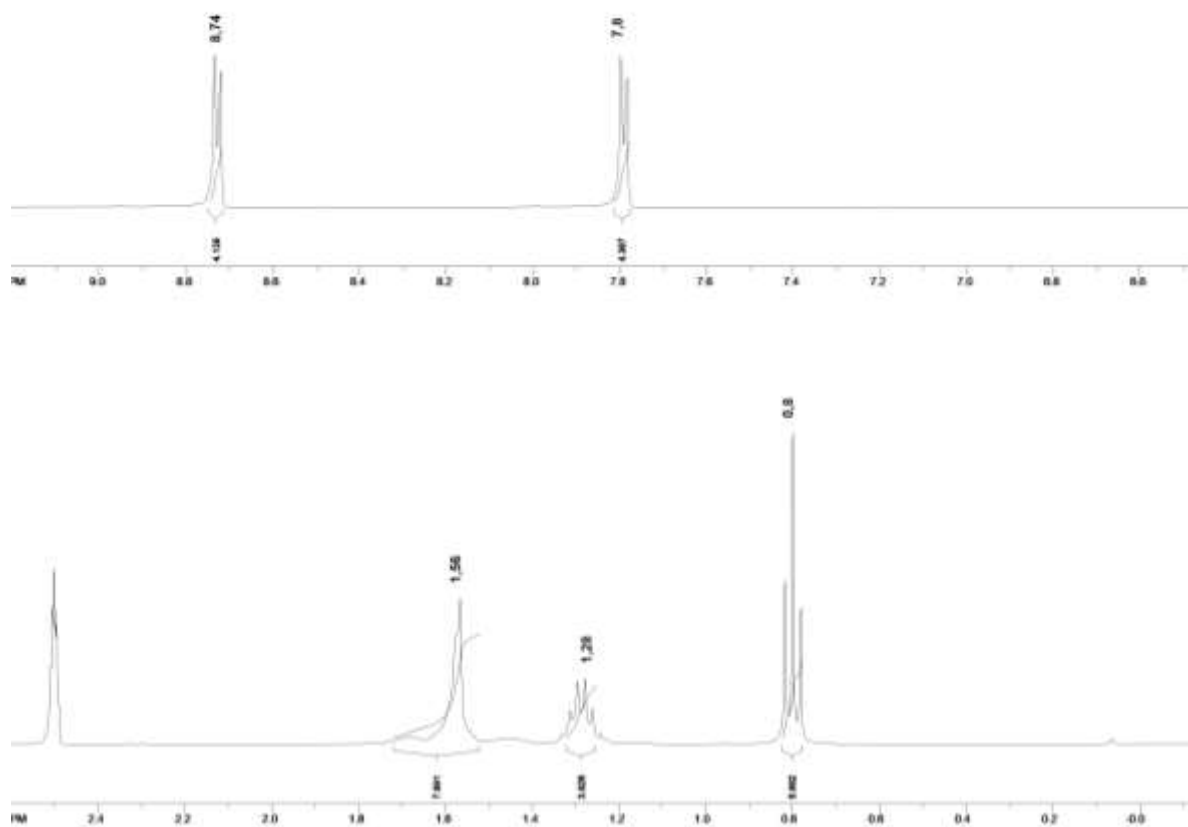
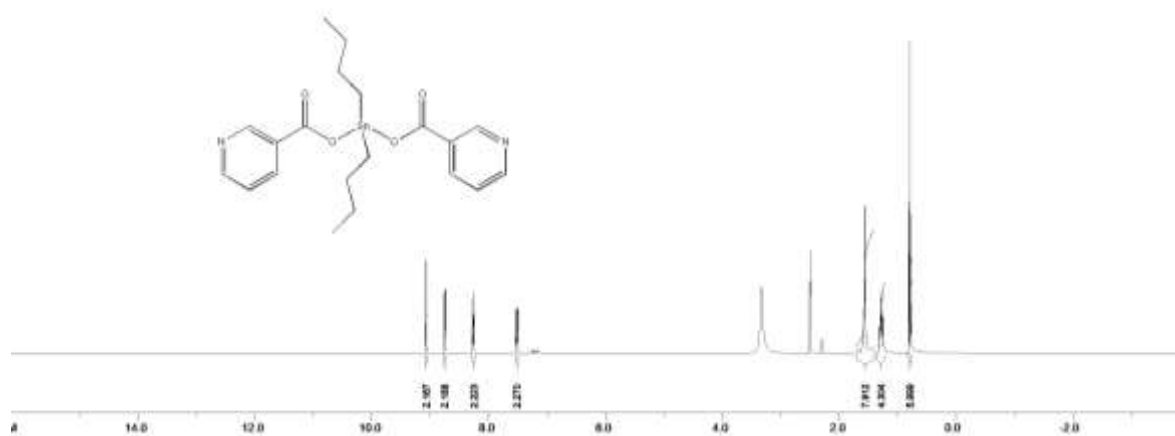
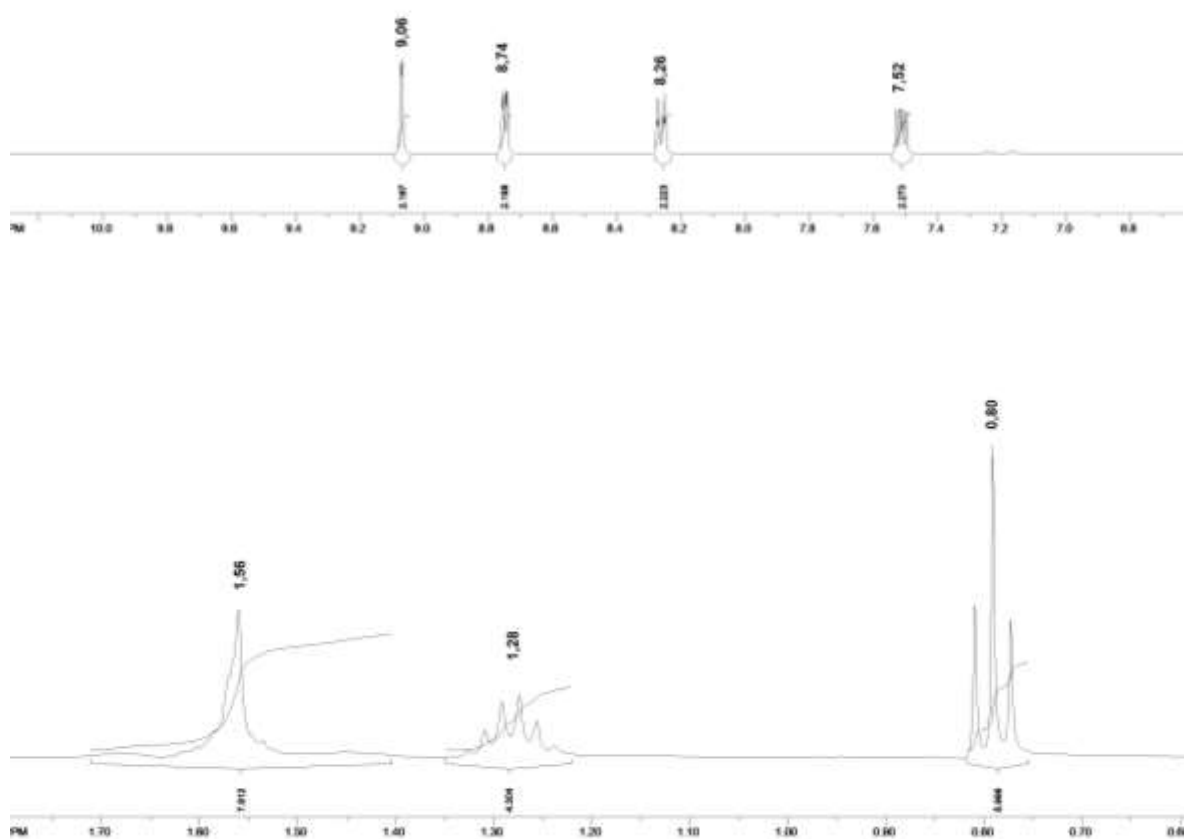


Figura 30- Espectro de RMN de ^1H (DMSO-D₆, 400 MHz) do composto BUN





5.4 Avaliação da atividade biológica

Com o intuito de facilitar uma avaliação comparativa das atividades das substâncias frente às células mononucleares sanguíneas (PBMC) e as células glioblastomas (GBM02) utilizamos como forma de apresentação dos resultados a exposição conjunta em cada tabela dos resultados das duas linhagens celulares em um mesmo período (24, 48 ou 72 h).

A toxicidade dos complexos sintetizados frente a células mononucleares humanas foi avaliada seguindo o método colorimétrico de MTT. A avaliação da viabilidade frente a células saudáveis é um ensaio preliminar realizado com o objetivo de evitar a ocorrência de resultados falso-positivos em testes subsequentes. A importância da sua realização reside na necessidade de se determinar se as substâncias testadas serão tóxicas frente a células afetadas, porém não trarão risco excessivo a células normais inviabilizando utilizações futuras dessas substâncias no desenvolvimento de um futuro fármaco. Para determinação da citotoxicidade em

células tumorais, após o tratamento das células foi realizado uma avaliação da viabilidade celular através de ensaios colorimétricos, utilizando MTT nos períodos de 24, 48 e 72 horas.

5.4.1 Avaliação da viabilidade celular X citotoxicidade tumoral no período de 24h

Na avaliação do efeito dos compostos no período de 24 horas (Tabela 11) frente às células mononucleares humanas, foi possível observar que as substâncias BU, BUI e BUN apresentaram citotoxicidade em monócitos e linfócitos com CI_{50} de 19,8 μ M; 0,35 μ M e 0,69 μ M respectivamente. Na avaliação frente às células GBM02 no período de 24 h não foi possível determinar a CI_{50} das substâncias avaliadas até a concentração máxima testada de 100 μ M. Porém se avaliarmos os efeitos máximos ($Emáx$) das substâncias testadas observamos que as substâncias Ru-p-Cl, RuAl, RuMN, BU e BUI apresentaram efeitos máximos (26,6 \pm 5,0; 25,3 \pm 2,1; 25,2 \pm 4,5; 49,6 \pm 2,5; 44,7 \pm 2,4 μ M) maiores que o 5-fluorouracil ($Emáx$ = 24,8 \pm 3,0 μ M), fármaco utilizado como controle positivo no presente ensaio.

Tabela 11- Efeito dos compostos de partida e dos complexos derivados de organometálicos sobre a viabilidade de células mononucleares sanguíneas e células glioblastomais (GBM02) no ensaio de MTT, respectivamente (24h).

Tratamento	Células Mononucleares		GBM02	
	CI ₅₀ ($\mu\text{M} \pm \text{E.P.M.}$) ^a	Emáx ($\% \pm \text{E.P.M.}$) ^{aa}	CI ₅₀ ($\mu\text{M} \pm \text{E.P.M.}$) ^a	Emáx ($\% \pm \text{E.P.M.}$) ^{aa}
5-Fu	>100	NT	>100	24,8 ± 3,0***
Al	>100	NT	>100	11,5 ± 3,1***
AN	>100	NT	>100	NT
MN	>100	NT	>100	12,0 ± 2,1***
MI	>100	NT	>100	NT
Ru-p-Cl	>100	NT	>100	26,6 ± 5,0***
RuAl	>100	NT	>100	25,3 ± 2,1***
RuAN	>100	NT	>100	19,8 ± 6,8
RuMI	>100	NT	>100	NT
RuMN	>100	22,0 ± 0,9*	>100	25,2 ± 4,5***
BU	19,8 ± 1,8	80,0 ± 0,8***	>100	49,6 ± 2,5***
BUI	0,35 ± 0,14	88,4 ± 16,0***	>100	44,7 ± 2,4***
BUN	0,69 ± 0,04	72,7 ± 3,4***	>100	NT

Os resultados referem-se a: ^aConcentração inibitória de 50% calculada através de curvas concentração-resposta. ^{aa}Média ± erro padrão da média do efeito máximo em triplicatas de um experimento representativo. Analisados por ANOVA one-way seguidos do pós-teste Dunnett. *p<0,05 em relação ao grupo DMSO (0,1%). NT: Substância não apresenta atividade.

5.4.2 Avaliação da viabilidade celular X citotoxicidade tumoral no período de 48h

Os compostos não apresentaram citotoxicidade no período de 48h sobre as células mononucleares sanguíneas até a concentração máxima testada de 100 μM . Para os compostos BUI e BUN observaram-se variações quando comparadas aos efeitos observados no tempo de 24 horas. O BUN apresentou um leve aumento de toxicidade passando de um efeito máximo de 72,7 ± 3,4 para 77,0 ± 10,5 μM , e o BUI um decréscimo de 88,4 ± 16 para 74,6 ± 2,9 μM .

No período de 48 horas, pode-se observar ainda o efeito máximo das substâncias AN, MN e MI com valores de $34,4 \pm 2,2$; $37,5 \pm 5,2$ e $53,3 \pm 2,5$ μM , respectivamente, efeito este não observado no tempo de 24 horas.

O efeito nas células tumorais de alguns compostos foi semelhante ao período de 24 h. O 5-Fu apresentou um leve aumento da CI_{50} passando a um valor de $36,3 \pm 1,7$ μM . Dois compostos apresentaram efeitos de atividade antitumoral superiores ao controle positivo, o BU e o BUI, com Emax de $58,2 \pm 2,1$ e $53,3 \pm 2,5$, e CI_{50} de $0,5 \pm 0,02$ e $0,4 \pm 0,06$ μM , respectivamente.

Tabela 12- Efeito dos compostos de partida e dos complexos derivados de organometálicos sobre a viabilidade de células mononucleares sanguíneas e células glioblastomais (GBM02) no ensaio de MTT, respectivamente (48h).

Tratamento	Células Mononucleares		GBM02	
	CI_{50} ($\mu\text{M} \pm \text{E.P.M.}$) ^a	Emax ($\% \pm \text{E.P.M.}$) ^{aa}	CI_{50} ($\mu\text{M} \pm \text{E.P.M.}$) ^a	Emax ($\% \pm \text{E.P.M.}$) ^{aa}
5-Fu	>100	NT	>100	$36,3 \pm 1,7^{***}$
Al	>100	NT	>100	$8,3 \pm 2,2^{**}$
AN	>100	$34,4 \pm 2,2^*$	>100	NT
MN	>100	$37,5 \pm 5,2^{**}$	>100	$12,9 \pm 1,0^{***}$
MI	$87,0 \pm 4,0$	$53,3 \pm 8,9^{***}$	>100	NT
Ru-p-Cl	>100	NT	>100	$29,9 \pm 1,5^{***}$
RuAl	>100	NT	>100	$28,5 \pm 4,3^{***}$
RuAN	>100	NT	>100	NT
RuMI	>100	NT	>100	NT
RuMN	>100	NT	>100	$31,1 \pm 3,1^{***}$
BU	>100	NT	$25,3 \pm 0,6$	$58,2 \pm 2,1^{***}$
BUI	$0,5 \pm 0,02$	$74,6 \pm 2,9^{***}$	$25,7 \pm 0,4$	$53,3 \pm 2,5^{***}$
BUN	$0,4 \pm 0,06$	$77,0 \pm 10,5^{***}$	>100	$19,6 \pm 1,9^{***}$

Os resultados referem-se a: ^aConcentração inibitória de 50% calculada através de curvas concentração-resposta. ^{aa}Média \pm erro padrão da média do efeito máximo em triplicatas de um experimento representativo. Analisados por ANOVA one-way seguidos do pós-teste Dunnett. * $p < 0,5$ ** $p < 0,1$ *** $p < 0,01$ em relação ao grupo DMSO (0,1%). NT: Substância não apresenta atividade.

5.4.3 Avaliação da viabilidade celular X citotoxicidade tumoral no período de 72h

No maior tempo de exposição das células mononucleares aos compostos testados, com exceção do RuAl, todos os demais compostos apresentaram citotoxicidade até a concentração de 100 μ M (Tabela 13). Destes o MN, MI, Ru-p-Cl, BU, BUI e BUN apresentaram CI_{50} . O maior efeito tóxico observado frente a estas células em 72 horas pode ser correlacionado com o tempo de exposição, uma vez que os efeitos tóxicos da maioria dos fármacos tende a aumentar com o maior tempo de exposição das células a substância.

Tabela 13- Efeito dos compostos de partida e dos complexos derivados de organometálicos sobre a viabilidade de células mononucleares sanguíneas e células glioblastomais (GBM02) no ensaio de MTT, respectivamente (72h).

Tratamento	Células Mononucleares		GBM02	
	CI_{50} (μ M \pm E.P.M.) ^a	Emáx (% \pm E.P.M.) ^{aa}	CI_{50} (μ M \pm E.P.M.) ^a	Emáx (% \pm E.P.M.) ^{aa}
5-Fu	>100	41,9 \pm 8,4**	17,3 \pm 0,9	56,7 \pm 1,2***
Al	>100	44,3 \pm 3,9***	>100	15,3 \pm 5,9**
AN	>100	31,9 \pm 2,2***	>100	NT
MN	14,5 \pm 1,8	77,2 \pm 9,7***	>100	19,4 \pm 3,3***
MI	92,5 \pm 4,1	51,9 \pm 1,6***	>100	NT
Ru-p-Cl	11,9 \pm 3,5	64,0 \pm 1,5***	>100	20,2 \pm 7,9**
RuAl	>100	NT	>100	20,8 \pm 10,0***
RuAN	>100	37,2 \pm 5,4***	>100	NT
RuMI	>100	45,8 \pm 9,7***	>100	NT
RuMN	>100	37,6 \pm 4,7***	>100	26,4 \pm 5,0***
BU	1,0 \pm 0,3	82,0 \pm 0,7***	63,5 \pm 4,4	58,4 \pm 1,5***
BUI	0,5 \pm 0,1	88,5 \pm 9,5***	0,66 \pm 0,1	71,3 \pm 0,7***
BUN	0,2 \pm 0,1	81,7 \pm 10,1***	>100	44,1 \pm 0,7***

Os resultados referem-se a: ^aConcentração inibitória de 50% calculada através de curvas concentração-resposta. ^{aa}Média \pm erro padrão da média do efeito máximo em triplicatas de um experimento representativo. Analisados por ANOVA one-way seguidos do pós-teste Dunnett. **p<0,1 ***p<0,01 em relação ao grupo DMSO (0,1%). NT: Substância não apresenta atividade.

Nas células tumorais o período de 72 h corroborou o efeito máximo observado para os compostos BU e BUI ($58,4 \pm 1,5$; $71,3 \pm 0,7 \mu\text{M}$), sendo este efeito mais uma vez superior ao efeito máximo do controle positivo (5-Fu = $56,7 \pm 1,2 \mu\text{M}$).

O objetivo do presente trabalho consistiu em realizar modificações estruturais em compostos visando à obtenção de efeitos seletivos frente a linhagens de células tumorais. Inicialmente a primeira modificação estrutural proposta consistiu na metilação de núcleos nicotínicos. A metilação do ácido isonicotínico (AI) não apresentou melhoras de seletividade, o isonicotinato de metila frente as células tumorais não apresentou efeito máximo nos três tempos observados, porém no tratamento das células mononucleares com AI foi observado efeitos máximos nos tempos de 24, 48 e 72 horas, atrelado a esta observação o MI apresentou-se tóxico frente a células mononucleares no tempo de 48 horas ($E_{\text{máx}} = 53,3 \pm 8,9 \mu\text{M}$), fato este não observado para a ácido, que em 48 horas não apresentou citotoxicidade té a concentração máxima testada.

Porém a metilação do AN à MN mostrou uma melhora significativa no efeito antitumoral do núcleo nicotínico. O AN nos três tempos observados não apresentou efeito máximo nas concentrações avaliadas, frente às células tumorais, porém nos tratamentos com o MN foi possível observar os $E_{\text{máx}}$ de $12,0 \pm 2,1$; $12,9 \pm 1,0$ e $19,4 \pm 3,3 \mu\text{M}$ nos três tempos avaliados respectivamente. Quanto aos efeitos tóxicos nas células mononucleares o MN apresentou um aumento significativo apenas no tempo de 72 horas. Os resultados obtidos mostram que a metilação do ácido nicotínico apresentou uma melhoria do efeito frente às células tumorais, o que nos possibilita vislumbrar que mudanças moleculares tomando o núcleo do isonicotinato de metila como ponto de partida podem fornecer melhorias ainda mais significativas, com a possibilidade destas, promoverem ainda, melhorias na toxicidade frente às células mononucleares.

Ao núcleo isonicotínico ainda foram promovidas as mudanças ocasionadas pela complexação do dímero de rutênio (Ru-p-Cl) ao AI e ao MI. Essa complexação provocou mudanças semelhantes nos efeitos observados para o RuAI e RuMI nas células mononucleares, com redução da citotoxicidade do efeito máximo principalmente no tempo de 72 horas quando comparado aos compostos de partida AI e MI. O AI apresentou $E_{\text{máx}}$ de $44,3 \pm 3,9 \mu\text{M}$ e o RuAI promoveu uma redução deste efeito, uma vez que até a concentração máxima avaliada não foi observado

citotoxicidade. Porém nas observações frente as células tumorais foi possível observar situações distintas no RuAI e o RuMI. O RuAI apresentou melhores resultados que seu composto de partida (AI) promovendo aumentos nos valores de $Emáx = 11,5 \pm 3,1$; $8,3 \pm 2,2$; $15,3 \pm 1,2 \mu M$ para $Emáx = 25,3 \pm 2,1$; $28,5 \pm 4,3$; $20,8 \pm 10,0 \mu M$. Porém a complexação do MI ao Ru-p-Cl, não promoveu melhorias no efeito antitumoral do complexo RuMI quando comparado ao composto de partida, não sendo observado citotoxicidade as concentrações avaliadas nos três tempos.

A complexação do núcleo nicotínico (AN e MN) ao dímero de rutênio (Ru-p-Cl) assim como o observado para a complexação com os núcleos isonicotínicos apresentou resultados distintos, revelando melhorias significantes na complexação com o MN, porém pouquíssimas melhorias na complexação com o AN. Ao compararmos os resultados nos ensaios de PBMC do AN com os resultados do RuAN, as melhorias evidenciadas ocorreram nos tempos de 48 horas onde $Emáx$ foi reduzido de $34,4 \pm 2,2 \mu M$ para NT, já no tempo de 72 horas houve um leve acréscimo no efeito máximo de $31,9 \pm 2,2 \mu M$ para $37,2 \pm 5,4 \mu M$. No ensaio de GBM02 o RUAN apresentou efeito citotóxico em 24 h com $Emáx$ de $19,8 \pm 6,8 \mu M$, e NA não apresentou citotoxicidade no mesmo período de tempo.

Para o óxido de estanho (BU) foram propostas as complexações com núcleos nicotínico (BUN) e núcleo isonicotínico (Bul), destas complexações a com o ácido nicotínico se mostrou mais eficiente, uma vez que promoveu mudanças significativas ao diminuir a citotoxicidade nos ensaios de PBMC quando comparadas ao óxido de partida (BU). Além desta redução da toxicidade, esta alteração melhorou o efeito antitumoral do BUN nos tempos de 48 e 72 h ($Emáx = 19,6 \pm 1,9$; $44,1 \pm 0,7$), quando comparados ao ácido nicotínico que nos três tempos avaliados não apresentou efeito máximo.

Conclusões e Perspectivas

The title is underlined with a thick black bar, and a thinner grey bar is positioned below it.

6 CONCLUSÕES E PESPECTIVAS

Seis complexos organometálicos, derivados de núcleos nicotínicos foram sintetizados, obtidos com rendimentos satisfatórios e caracterizados por técnicas espectroscópicas.

Todos os complexos sintetizados, bem como seus compostos de partida foram avaliados quanto a possível atividade farmacológica frente a células tumorais, alguns complexos de rutênio apresentaram atividade frente a células tumorais, sendo os complexos RuAl e RuMN os composto com melhores efeitos entre os derivados de rutênio, uma vez que forneceram atividades significantes frente as células tumorais, porém faz-se necessário a realização de mais experimentos, a fim de avaliar a atuação destes composto quando em combinação com fármacos coadjuvantes, utilizados na quimioterapia de forma concomitante com os antitumorais à fim de reduzir os efeitos tóxicos.

As complexações com estanho se mostraram mais eficazes na inibição das células tumorais, porém possivelmente esses compostos ainda apresentem toxicidade elevada frente a células normais o que nos induz a buscar alterações moleculares nesses ligantes a fim de promover uma maior seletividade com consequente redução da toxicidade.

Como perspectivas futuras a esse trabalho podemos citar:

- ✓ Realização de sínteses com aminas derivadas de núcleos nicotínicos;
- ✓ Sínteses com os ésteres nicotínicos utilizando como fonte metálica o estanho;
- ✓ Busca de rotas sintéticas que promovam a complexação do 5-fluorouracil aos compostos de partida utilizados;
- ✓ Avaliação da atividade destes complexos frente a outras linhagens antitumorais;
- ✓ Realização de experimentos com células tumorais tratadas com os compostos sintetizados em conjunto com fármacos adjuvantes.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Biologia Molecular da célula**. 4^o ed., Porto Alegre: Editora Artmed, 2002.
- ALESSIO, E.; IENGO, E.; SERLI, B.; MESTRONI, G.; SAVA, G. Ruthenium anticancer drugs. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 86, n. 1, p, 21-30, 2001.
- ALI, R.; MIRZA, Z.; ASHRAF, G. M. D.; KAMAL, M. A.; ANSARI, S. A.; DAMANHOURI, G. A.; ABUZENADAH, A. M.; CHAUDHARY, A. G.; SHEIKH, I. A. New anticancer agents: recent developments in tumor therapy. **Anticancer Research**, v. 32, p. 2999-3006. 2012.
- ALLARDYCE, C.S.; DYSON, P. J.; ELLIS, D. J.; SALTER, P. A.; SCOPELLITI, R.; Synthesis and characterisation of some water soluble ruthenium (II)-arene complexes and an investigation of their antibiotic and antiviral properties. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 668, p. 35-42, 2003.
- ALLARDYCE, C. S.; DYSON, P. J. Ruthenium in medicine: Current Clinical Uses and Future Prospects. **Platinum Metals Review**, v. 45, n. 2, p. 62-69, 2001.
- ALLARDYCE, C. S.; DYSON, P. J. Ruthenium in medicine: current clinical uses and future prospects. **Platinum Metals Review**. v. 45, p. 62, 2001.
- ALMEIDA, E. A.; BAINY, A. C. D.; DAFRE, A. L.; GOMES, O. F.; MEDEIROS, M. H.; DI MASCIO, P. Oxidative stress in digestive gland and gill of the brown mussel perna exposed to air and re-submersed. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 318, p. 21-30, 2005.
- AMARANTE-MENDES, G. P. Apoptose: programa molecular de morte celular. **Einstein**, p. 15-18, 2003.
- BALL, G. F. M. Vitamins in food: analysis, bioavailability, and stability. Taylor & Francis: New York, 2006.
- BARRA, C. V.; NETTO, A. V. G. Interação entre complexos antitumorais e o DNA e suas ferramentas de análise: um enfoque nos metalintercaladores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, p.1998-2016, 2015.
- BARRY, N. P. E.; SADLER, P. J. "100 years of metal coordination chemistry: from Alfred Werner to anticancer metallodrugs". **Pure and Applied Chemistry**, v. 86, n. 12, p. 1897-1910, 2014.
- BARTEK, J.; ELUKAS, J. DNA damage checkpoints: from initiation to recovery or adaptation. **Current Opinion in Cell Biology**, v. 19, p.238-245, 2007.
- BECHARA, A. H. S. Correlação dos escores de tokuhashi e tomita com o prognóstico de pacientes com metástase de mama para a coluna vertebral. 2017. 34f. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Campinas. São Paulo, 2017.
- BLUNDEN, S.J; EVANS, C.J. The Handbook of environmental Chemistry. 3 ed. Springer – Verlag: Berlim, 1990.

SILVA, A. D. S. (2018)

BOER, D. R.; CANALS, A.; COLL, M. DNA-binding drugs caught in action: the latest 3D Picture of drug-DNA complexes. **Dalton Transactions**, v.3, p. 399-414, 2009.

BOGAN, K. L.; BRENNER, C. Nicotinic acid, nicotinamide, and nicotinamide riboside: a molecular evaluation of NAD⁺ precursor vitamins in human nutrition. **Annual Reviews Further**, v. 28, p. 115-130, 2008.

BOGLIOLO, Luigi. Patologia Geral. 5. ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2013.

BOYONOSKI, A. C.; SPRONCK, J. C.; GALLACHER, L. M.; JACOBS, R. M.; SHAH, G. M.; POIRIER, G. G.; KIRKLAND, J. B.; Niacin deficiency decreases bone marrow poly(ADP-ribose) and the latency of ethylnitrosourea-induced carcinogenesis in rats. **The Journal of Nutrition**, v. 32, p. 108-114, 2002.

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

BRATSOS, I.; et al. New half sandwich-type Ru(II) coordination compounds characterized by the fac-Ru (dmsO-S) (3) fragment: influence of the face-capping group on the chemical behavior and in vitro anticancer activity. **Dalton Transactions**, v. 40, n. 37, p. 9533-9543, 2011.

BRTKO, J.; DVORAK, Z. Triorganotin compounds-ligands for "rexinoid" inducible transcription factors: biological effects. **Toxicology Letters**, v. 234, p. 50-58, 2015.

BRUZZONE, S.; DANIELE, PARENTI, M.; GROZIO, A.; BALLESTRERO, A.; BAUER, I.; DELRIO, A.; NENCIONI, A. Rejuvenating sirtuins: The rise of a new Family of cancer drug targets. **Current Pharmaceutical Design**, v. 19, p. 614-623, 2013.

CÂMARA, C. C.; SILVA, R. T.; CARVALHO, S. A.; SILVA, E. F.; FIGUEROA-VILLAR, J. D. Complexos de platina e rutênio candidatos ao tratamento da doença de chagas. **Almanaque Multidisciplinar de Pesquisa**, v. 1, n. 2, p. 51-68, 2016.

CAREY, F. A. **Química Orgânica**, volume 1. 7^o ed., Porto Alegre: AMGH, 2011.

CASINI, A.; GABBIANI, C.; SORRENTINO, F.; RIGOBELLO, M. P.; BINDOLI, A.; GELDBACH, T. J.; MARRONE, A.; RE, N.; HARTINGER, C. G.; DYSON, P. J.; MESSORI, L. Emerging Protein Targets for Anticancer Metallodrugs: Inhibition of thioredoxin reductase and cathepsin B by antitumor ruthenium (II)-Arene compounds. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 51, n. 21, p. 6773-6781, 2008.

CARVALHO, A. C. G. M. Estudo do mecanismo de ação de novos compostos de rutênio com atividade antitumoral. 2017. 96f. Dissertação (Mestrado) Universidade Nova de Lisboa. 2017

CAVALCANTE, P. M. M.; SILVA, R. L.; FREITAS, J. J. R.; FREITAS, J. C. R.; FILHO, J. R. F. Proposta de preparação e caracterização de ésteres: um experimento de análise orgânica na graduação. **Educación Química**, v. 26, p. 319-329, 2015.

CHABNER, B. A.; CALABRESI, P. Quimioterapia das doenças neoplásicas. In. As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman. 12 ed. McGraw Hill: Rio de Janeiro, 2012.

CHANG, S. W.; LEWIS, A. R.; PROSSER, K. E.; THOMPSON, J. R.; GLADKIKH, M.; BALLY, M. B.; WARREN, J. J.; WALSBY, C. J. CF₃ Derivatives of the Anticancer Ru(III) Complexes KP1019, NKP-1339, and Their Imidazole and Pyridine Analogues Show Enhanced Lipophilicity, Albumin Interactions, and Cytotoxicity. **Inorganic Chemistry**, v. 55, n. 10, p. 4850-4863, 2016.

CHATTERJEE, S.; KUNDU, S.; BHATTACHARYYA, A.; HARTINGER, C. G.; DYSON, P.J. The ruthenium(II)-arene compound RAPTA-C induces apoptosis in EAC cells through mitochondrial and p53-JNK pathways. **Journal Biological Inorganic Chemical**, v. 13, n. 7, p. 1149-1155, 2008.

CHAUDARY, A.; SINGH, A. K.; SINGH, R. V. Investigations of the possible pharmacological effects of organotin(II) complexes. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v. 100, p. 1632-1645, 2006.

CHEN, H.; PARKINSON, J. A.; MORRIS, R. E.; SADLER, P. J. Highly Selective binding of organometallic ruthenium ethylenediamine complexes to nucleic acids: novel recognition mechanisms. **Journal of the American Chemical Society**, v. 125, n. 1, p. 173-186, 2002.

CLARKE, M. J. Ruthenium metallopharmaceuticals. **Coordination Chemistry Reviews**. v. 232, p. 69-93, 2003.

CLARKE, M. J.; ZHU, F.; FRASCAR, D. R. Non-platinum chemotherapeutics metallopharmaceuticals. **Chemistry Review**. v. 99, p. 2511-2534, 1999.

DEVITA-JR, V.T.; CHU, E. A history of cancer chemotherapy. *Cancer Research*, v. 68, p. 8643-8653. 2008.

DICREDICO, B.; FABRIZI, B. F.; GONSALVI, L.; GUERRI, A. LENCO, A.; LASCHI, F.; PERUZZINI, M.; REGINATO, G. ROSSIN, A. ZANELLO, P. Cyclopentadienyl ruthenium (II) complexes with bridging alkynylphosphine ligands: synthesis and electrochemical studies. **Chemistry a European Journal**, v. 15, n. 44, p. 11985-11998, 2009.

DREIZEN, S.; MCCREDIE, K. B.; KEATING, M. J.; ANDERSSON, B. S. Nutritional deficiencies in patients receiving cancer chemotherapy. **Journal Postgraduate Medicine**, v. 87, p. 163-170, 1990.

ENDICOTT, J. F.; TAUBE, H. Oxidation-reduction reactions of complex amines of ruthenium II-III. **Journal of the American Chemical Society**, v. 84, n. 24, p. 4984-4985, 1962.

ENDICOTT, J. F.; TAUBE, H. Studies on oxidation-reduction reactions of ruthenium amines. **Inorganic Chemistry**, v. 4, n. 4, p. 437-445, 1965.

ESPINOSA, E.; RAPOSO, C. G. Classification of Anticancer Drugs Based on Therapeutic Target. In. *Macromolecular Anticancer Therapeutics*. 1 ed. Springer: New York, 2010.

ESSAMA-TIJANI, J. C.; GUILLAND, J. C.; FUCHS, F.; LOMBARD, M.; RICHARD, D. Changes in thiamin, riboflavina, niacin, beta-carotene, vitamins, C, A, D, and E status of french elderly subjects during the first year of institutionalization. *International Journal for vitamin and nutrition research*, v. 70, p. 54-64, 2000.

FELIX, C. A.; Secondary leucemias induced by topoisomerase –targeted drugs. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression*, v. 1400, p. 233-255, 1998.

FERREIRA, C. G.; ROCHA, J. C., *Oncologia Molecular*. São Paulo: Atheneu, 2004.

FERREIRA, R. G. R.; FRANCO, L. F. R. Efeitos colaterais decorrentes do tratamento quimioterápico no câncer de mama: revisão bibliográfica. *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*, v. 15, n. 2, p. 633-638, 2017.

FERREIRA, R. G. Avaliação dos efeitos induzidos pelo ácido nicotínico e pela nicotinamida sobre a migração de neutrófilos induzida por diferentes estímulos inflamatórios em camundongos. 2011. 95f. Dissertação (Mestrado). Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2011.

FORD, P. C.; STUERMER, D. H.; MCDONALD, D. P. Photochemical reaction pathways os pentaammineruthenium complexes. *Journal of the American Chemical Society*, v. 91, n. 22, p. 6209-6211, 1969.

FRANCO, et al., **Patologia: processos gerais**. 5. ed. Atheneu: São Paulo, 2010.

GAIDDON, C.; JEANNEQUIN, P.; BISCHOFF, P.; PFEFFER, M.; SIRLIN, C.; LOEFFLER, J. P. Ruthenium (II)-derived organometallic compounds induce cytostatic and cytotoxic effects on mammalian cancer cell lines through p53-dependent and p53-independent mechanisms. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. v. 315, n. 3, 2005.

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

GIELEN, R. W. M.; DALIL, H.; MAHIEU, B.; BIESEMANS, D. V. M. Syntheses, characterization and antitumor activities of di-n-butyl- and dimethyltin D-(+)-camphorates. *Metal based drugs*, v. 5, n. 5, p. 275-277, 1998.

GODOI, A.F.L.; FAVORETO, R.; SANTIAGO-SILVA, M. Contaminação Ambiental por Compostos Organoestânicos. *Química Nova*. v. 26, n. 5, 708, 2013.

GONZÁLEZ, L. P. F.; ALLGAYER, N.; DIHL, R. R.; LEHMANN, M. Avaliação tóxico-genética de farmacos à base de platina através do cruzamento padrão do teste smart em *Drosophila*. In: 3º colóquio ulbra de extensão, pesquisa e ensino. 2017.

SILVA, A. D. S. (2018)

GUEMBAROVSKI, R. L.; CÓLUS, I. M. S. Câncer: uma doença genética. **Revista genética na escola**, v. 3, p. 4-7, 2008.

GUO, Z.; SADLER, P. J. Metals n medicine. **Angewandte Chemie International Edition**. v. 38, p. 1512-1531, 1999.

HAMAKER, C. G. HALBACH, D. P. Synthesis structure, and characterization of some ruthenium arene complexes of N-(arylmethylene)-2-(methylthio)anilines and 2-(methylthio)aniline. **Inorganic Chimica Acta**, v. 359, n. 3, p. 846-852, 2006.

HEFFETER, P.; JUNGWIRTH, U.; JAKUPEC, M.; HARTINGER, C.; GALANSKI, M. Resistance against novel anticancer metal compounds: differences and similarities. **Drugs Resistance Updat**. v. 11, p. 1-16, 2008.

HEMAISWARYA, S.; DOBLE, M. Potential Synergism of Natural Products in the Treatment of Cancer. **Phytotherapy Research**, v. 20, p. 239-249, 2006.

HOCK, M. Organotin compounds in the environment-An overview. *Applied Geochemistry*, v. 16, p. 719-743, 2001.

HUSTEDT, N.; DUROCHER, D. The control of DNA repair by the cell cycle. **Nature Cell Biology**. v. 19, n. 1, 2017.

INCULET, R. I.; NORTON, J. A.; NICHOLDS, G. E.; MAHER, M. M. WHITE, D. E.; BRENNAN, M. F. Water-soluble vitamins in cancer patients on parenteral nutrition: a prospective study. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 11, p. 243-249, 1987.

Instituto Nacional de Câncer-INCA. Câncer: o que é o câncer?. 1996. Disponível em: < http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=322# > Acesso em: 15 nov. 2017.

Instituto Nacional de Câncer-INCA. Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2015. Disponível em: <http://www.unilestemg.br/pdf>. Acesso em 10/03/2018.

JACOBSON, E. L. Niacin deficiency and cancer in women. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 12, p. 412-416, 1993.

JACOBSON, E. L.; DAME, A. I.; PYREK, J. S.; JACOBSON, M. K.; Evaluating the role of niacina in human carcinogenesis. **Biochimie**, v. 77, p. 394-398, 1995.

KEENE, F. R.; SMITH, J. A.; COLLINS, J. G. Metal complexes as structure selective binding agentes for nucleic acids. **Cordination Chemistry Reviews**, v. 253, p. 2021-2035, 2009.

KELLAND, L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. **Nature Reviews Cancer**, v. 7, p. 573-584, 2007.

KEPPLER, B. K.; BERGER, M. R.; HEIM, M. E. New tumor-inhibiting metal-complexes. **Cancer Treatment Reviews**, v. 17, p. 261-277, 1990.

KIRKLAND, J. B. Niacin requirements for genomic stability. **Mutation Research Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 733, p.14-20, 2012.

KIRKLAND, J. B. Niacin status, NAD distribution and ADP-ribose metabolism. **Current Pharmaceutical Design**, v. 15, n. 1, p. 3-11, 2009.

KOEHN, C. J.; ELVEHJEM, C. A. Further studies on the concentration of antipellagra factor. **Journal of Biological Chemistry**, v. 118, p. 693-699, 1937.

KOSTOVA, I. Ruthenium complexes as anticancer agents. **Current Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 9, p. 1085-1107, 2006.

LUÍS, D. V. A. Caracterização do efeito anti-tumoral de complexos organometálicos contendo 1,10-fenantrolina-5,6-diona. 2011. 101f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2011.

MA, Z.; Zhang, B.; SILVA, M. F. C. G.; SILVA, J.; MENDO, A. S.; BAPTISTA, V. P.; FERNANDES, A. R.; POMBEIRO, A. J. L. Synthesis, characterization, thermal properties and antiproliferative potential of copper(II) 4'-phenyl-terpyridine compounds. **Dalton Transaction**, v. 45, p. 5339-5355, 2016.

MALTA, D. C. et al., Tendência das taxas de mortalidade de câncer de pulmão corrigidas no Brasil e regiões. **Revista de Saúde Pública**, v. 50, n. 33, p. 1-9, 2016.

MARTINS, T. M. Síntese e caracterização de ligantes orgânicos e complexos metálicos com potencial farmacológico. 2017, 50f. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Goiás. 2017.

MATSUO, A. L.; TANAKA, A. S.; JULIANO, M. A.; RODRIGUES, E. G.; TRAVASSOS, L. R.. A novel melanoma-targeting peptide screened by phage display exhibits antitumor activity. **Journal of Molecular Medicine**, v. 88, n. 12, p. 1255-1264, 2010.

MEDICI, A. Demografia e epidemiologia do câncer no Brasil. **Monitor de Saúde**, v.9, n. 66, p. 1-14, 2015.

MEGGERS, E. Targeting proteins with metal complexes. **Chemical Communications**, v. 9, p. 1001-1010, 2009.

MISHRA, A.; RAVIKUMAR, S.; SONG, Y. H.; PRABHU, N. S.; KIM, H.; HONG, S. H.; CHEON, S.; NOH, J.; CHI, K. W. A new arene-Ru based supramolecular coordination complex for efficient binding and selective sensing of green fluorescent protein. **Dalton Transactions**, v. 43, n. 16, p. 6023-6040, 2014.

MORRIS, R. E.; AIRD, R. E.; DEL, S. M. P.; CHEN, H.; CUMMINGS, J.; HUGHES, N. D.; PARSONS, S.; PARKIN, A.; BOYD, G.; JODRELL, D. I.; SADLER, P. J. Inhibition of cancer cell growth by ruthenium (II) arene complexes. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 22, p. 3616-3621, 2001.

MOTOYAMA, N.; NAKA, K. DNA damage tumor suppressor genes and genomic instability. **Current Opinion in Genetics & Development**, v.14, p.11-16. 2004.

SILVA, A. D. S. (2018)

NETTO, A. V. G.; BARRA, C. V. Interações entre complexos antitumorais e o DNA e suas ferramentas de análise: um enfoque nos metalointercaladores. **Revista Virtual de Química**. São Paulo, v. 7, n. 6, p. 1998-2016, 2015.

NUNES, T. O que a divisão celular tem a ver com o câncer? Disponível em: <http://pontobiologia.com.br/divisao-celular-cancer/>. Acesso em: 11 de março de 2018.

OKADA, H.; MAK, T.W. Pathways of apoptotic and nonapoptotic death in tumour cells. **Nature Review Cancer**, 4, pp. 592-603, 2004.

PAN, M. H.; HO, C.T. Chemopreventive effects of natural dietary compounds on cancer development. **Chemical Society Reviews**, v. 37, p. 2558–2574, 2008.

PAPAC, R. J. Origins of câncer therapy. **Yale Jornal of Biology and Medicine**, v. 74, p. 391-398, 2001.

PRUCHNICK, F. P.; BANBULA, M.; CIUNIK, Z.; CHOJNACKI, H.; LATOCHA, M.; SKOP, B.; WILCZOK, T.; OPOLSKI, A.; WIETRZYK, J.; NASULEWICZ, A. Structure, Properties and Cytostatic Activity of Triorganotin (Aminoaryl)carboxylates. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 12, p. 3214-3221, 2002.

RUBIN, Emanuel. Patologia: bases clinicopatológicas da medicina. 4. ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2013.

SALAZAR-ROA; M.; MALUMBRES, M. Fueling the cell division cycle. **Trends in Cell Biology**, v. 27, n. 1, p. 69-81, 2017.

SANTOS, J. P.; SOUZA, A. P. Considerações sobre o câncer de próstata: revisão de literatura. **Id on Line Revista Multidisciplinar e de Psicologia**, v. 10, n. 33, p. 100-116, 2017.

SANZ, S.; AZUA, A.; PERIS, E. '(n⁶-arene)Ru(bis-NHC)' complexes for the reduction of CO₂ to formate with hydrogen and by transfer hydrogenation with iPrOH. **Dalton Transactions**, v. 39, n. 27, 6339-6343, 2010.

SAVA, G.; ZORZET, S.; GIRALDI, T.; MESTRONI, G.; ZASSINOVICH, G.; Antineoplastic activity and toxicity of an organometallic complex of ruthenium(II) in comparison with *cis*-PDD in mice bearing solid malignant neoplasms. **European Journal Cancer Clinical Oncology**. v. 20, p. 841–847, 2000.

SCHLUGA, P.; HARTINGER, C. G.; EGGER, A.; REISNER, E.; GALANSKI, M. Redox behavior of tumor-inhibiting ruthenium(III) complexes and effects of physiological reductants on their binding to GMP. **Dalton Transaction**. v. 14, p. 1796–1802, 2006.

SILVA, E. P. Seleção de catalisadores a base de estanho (IV) para produção de ésteres etílicos via transesterificação. 2012. 48 f. Dissertação (Mestrado). Instituto de Química e Biotecnologia. Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2012.

SILVA-NETO. Investigação do Potencial Antinociceptivo de Extratos Etanólicos das Folhas e Flores de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth & Hook. F. ex S. Moore.

SILVA, A. D. S. (2018)

2017. 59f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação). Universidade Federal de Alagoas. 2017.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**, volume 2. 9º ed., Rio de Janeiro: LTC, 2009.

SUSS-FINK, G. Arene ruthenium complexes as anticancer agents. **Dalton Transactions**, v. 39, n. 7, p. 1673-1688, 2010.

TABASSUM, S.; PETTINARI, C. Chemical and biotechnological developments in organotin cancer chemotherapy. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 691, n. 8, p. 1761-1766, 2006.

THEINER, S., et al. Comparative in vitro and in vivo pharmacological investigation of platinum(IV) complexes as novel anticancer drug candidates for oral application. **Journal of Biological Inorganic Chemistry**, v. 20, p. 89-99, 2015.

THERRIEN, B. Functionalised η^6 -arene ruthenium complexes. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 253, p. 493-519, 2009.

TIAN, L.; SUN, Y.; LI, H.; ZHENG, X.; CHENG, Y.; LIU, X.; QIAN, B. Synthesis, characterization and biological activity of triorganotin. **Journal Inorganic Biochemistry**. v. 99, n. 8, p. 1646-1652, 2005.

TSCHAN, M. J. L.; THERRIEN, B.; LUDVIK, J.; STEPNIKA, P.; SUSS-FINK, G.; Dinuclear hexamethylbenzene ruthenium cations containing $n^1:n^2-2$ -(ferrocenyl)ethen-1-yl ligands: synthesis, structure, electrochemistry. **Journal of Chemistry**, v. 691, n. 20, p. 4304-4311.

TUREL, L.; KLJUN, J. Interactions of metal ions with DNA, its constituents and derivatives, which may be relevant for anticancer research. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 2661-2687, 2011.

VERMEULEN, K; VAN-BCKSTAELE, D. R.; BERNEMAN, Z. N. The cell cycle: a review of regulation and targets in cancer. **Cell proliferation**, v. 36, p. 131-149. 2003

WARD, L. S. Entendendo o processo molecular da tumorigênese. **Arquivos brasileiros de endocrinologia & metabologia**, v. 46, p. 351-360, 2002.

WONG, E.; GIANDOMENICO, C. M. Current status of platinum-based antitumor drugs. **Chemical Review**. v. 99, p. 2451-2466, 1999.

World Health Organization. Cancer. 2017. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>>. Acesso em: 04 dez. 2017.

YADAV, A. *et al.* Regression of Lung Cancer by Hypoxian-Sensitizing Ruthenium Polypyridil Complexes. **Molecular Cancer Therapeutics**. v.12, n. 5: 643-653, 2013.