



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

NAYARA SYNDEL FRANCO SOARES SAMPAIO

ESTUDO DA FORMAÇÃO DE COACERVATOS COM NITROSILOS
COMPLEXOS DE RUTÊNIO

FORTALEZA – CE

2013

NAYARA SYNDEL FRANCO SOARES SAMPAIO

**ESTUDO DA FORMAÇÃO DE COACERVATOS COM NITROSILOS
COMPLEXOS DE RUTÊNIO**

Dissertação submetida à
coordenação do curso de Pós-
graduação em Química, como
requisito para a obtenção do título de
Mestre em Química. Área de
concentração: Química Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr.
Francisco Audísio Dias Filho

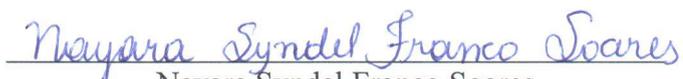
FORTALEZA – CE

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

-
- S181e Sampaio, Nayara Syndel Franco Soares.
Estudo da formação de coacervatos com nitrosilos complexos de rutênio / Nayara Syndel Franco Soares Sampaio. – 2013.
75 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Mestrado (Dissertação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciência, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Mestrado em Química, Fortaleza, 2013.
Área de Concentração: Química Inorgânica.
Orientação: Prof. Dr. Francisco Audísio Dias Filho.
1. Coacervato. 2. Polifosfato. 3. Nitrosilo complexo. I. Título.

Esta Dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química, área de concentração Química Inorgânica, outorgada pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.


Nayara Syndel Franco Soares

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 12/03/2013.

EXAMINADORES:


Prof. Dr. Francisco Audísio Dias Filho
Universidade Federal do Ceará – UFC


Prof. Dra. Selma Elaine Mazzetto
Universidade Federal do Ceará – UFC


Prof. Dr. Igor Frota de Vasconcelos
Universidade Federal do Ceará – UFC

Aos meus pais, meus irmãos e meu marido, pessoas queridas que em momentos diferentes de minha vida me mostraram o quanto a educação é valiosa.

AGRADECIMENTOS

A **Deus** por sempre iluminar os meus caminhos.

Aos meus pais **Alberto** e **Fernanda**, irmãos **Albert** e **Eva** e familiares que me apoiaram nessa jornada.

Ao meu amado marido **Edson Sampaio**, pelo carinho, compreensão e incentivo.

Ao Professor **Dr. Francisco Audísio Dias Filho** pela orientação, discussões que resultaram nesse trabalho e todos os ensinamentos desde a iniciação científica.

Aos professores do Grupo de Bioinorgânica, **Profa. Izaura, Profa. Idalina, Profa. Elisane, Prof. Jackson, Profa. Karine** e **Prof. Eduardo**, pelo conhecimento transmitido, em especial o Professor **Luiz Gonzaga** pela contribuição ao trabalho apresentado.

Ao **Ordelei** que muito contribuiu para a o trabalho apresentado, com discussões, ensinamentos e orientação na realização e compreensão dos experimentos.

Ao **Sergio** pelos mapas de potencial eletrostáticos dos complexos que muitos foram úteis.

Aos colegas do **Grupo de Bioinorgânica** (sem citar nomes pra não correr o risco de esquecer alguém) pelo convívio e conhecimentos compartilhados.

Aos companheiros do LaMI: **Carol Marques, Célio, Danielle** e **Alexandre**, em especial a Carol e a Dani que estiveram mais próximas durante a realização do trabalho.

Aos amigos: **Carol Moura** e **Roberto**, que foram grandes companheiros em vários momentos de estudos desde a graduação até a seleção do doutorado.

A **Gilmara**, amiga e companheira de laboratório e estudo.

Ao **CNPQ** pelo apoio financeiro

**“Tudo posso naquele que me fortalece.”
Filipenses 4:13**

RESUMO

O trabalho reporta o estudo da formação de um novo coacervato preparado a partir da mistura de soluções aquosas de polifosfato de sódio e nitrosilos complexos de rutênio. Foram utilizados os nitrosilos complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(L)(NO)]ⁿ⁺, com L=1-metilimidazol (MeimN), imidazol (ImN) ou sulfito (SO₃²⁻). A formação dos coacervatos se mostrou possível alterando a metodologia tradicional pela adição de etanol. Com relação à caracterização dos coacervatos a espectroscopia eletrônica na região do UV-Vis mostra as bandas características dos complexos indicando a presença deles nos coacervatos. A espectroscopia de absorção na região do infravermelho indica que após a coacervação, o óxido nítrico (NO) mantém-se coordenado ao complexo na forma NO⁺ sugerindo que os coacervatos não interferem no estado de oxidação do NO nos complexos. Os espectros de ressonância magnética nuclear de ¹H apontam a presença dos ligantes (L) que fazem parte da esfera de coordenação dos complexos, mais uma vez sugerindo a presença dos complexos nos coacervatos. Os resultados mostram que é possível controlar a quantidade de complexo no coacervato simplesmente aumentando a quantidade de complexo no início da mistura. Os resultados mostram que as soluções de polifosfato e os coacervatos exercem um efeito muito interessante no processo de conversão nitrosilo-nitro. Em soluções de polifosfato o processo de conversão ocorre lentamente em pH 7,0 enquanto nos coacervatos o complexo permanece estável por até 12 meses sem sofrer conversão. O processo de conversão foi monitorado por espectroscopia eletrônica a região do UV-Vis pelo deslocamento da banda de transferência de carga metal-ligante (MLCT) de 332nm para 450nm. A liberação do óxido nítrico foi estudada nos coacervatos em testes baseados na redução fotoquímica e na redução química. Em ambos a liberação foi possível mostrando que os complexos nos coacervatos mantem sua capacidade de liberadores de NO.

Palavras chaves: coacervato, polifosfato, nitrosilo complexo

ABSTRACT

This work reports the preparation of a new coacervate by mixture of aqueous solution of sodium polyphosphate and nitrosyl ruthenium complexes. The complexes used were: $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})(\text{NO})]^{n+}$, where L = 1-methylimidazole (MeimN), imidazole (ImN) and sulfite (SO_3^{2-}). The preparation of the coacervates is possible only when ethanol is used. In accord of characterization of the coacervates the electronic absorption spectroscopy (UV-Vis) shows the characteristics bands of complex indicating their presence in the coacervates. Even after the preparation of the coacervates the infrared spectra show the presence of the NO^+ group. Therefore, the preparation doesn't change the form (oxidation state) of the NO ligand attached in the complexes. The nuclear magnetic resonance (NMR) ^1H spectra have showed the signals of the hydrogen of the ligands into the coordination sphere of the complexes. Several compositions to coacervates are possible only changing the initial concentration of the complexes into mixture. The aqueous solution of sodium polyphosphate and the coacervates have showed interesting features related to conversion process nitrosyl-nitro. The conversion process nitrosyl-nitro occurs slowly into aqueous solution of the sodium polyphosphate at pH 7,0 but into the coacervates there's no evidence of conversion process nitrosyl-nitro during 12 months. The shifting of the metal-ligand charge-transfer (MLCT) band from 332nm to 450nm was used to evaluated the conversion process nitrosyl-nitro by electronic absorption spectroscopy (UV-Vis). The release of the nitric oxide in the coacervates was induced by photochemical and chemical reduction. In both situations the release occurred and the complexes showed the properties of the nitric oxide releasing.

Keywords: coacervate, polyphosphate, nitrosyl complex

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Estrutura química do polifosfato com grau de polimerização n.	14
Figura 2 - Coacervato de polifosfato de sódio e cloreto de cálcio.....	16
Figura 3- Estrutura do óxido nítrico.....	17
Figura 4 - Diagrama de orbital molecular para a molécula de óxido nítrico(NO).	18
Figura 5 - Formação do dímero N ₂ O ₂	19
Figura 6 – Cientistas ganhadores do prêmio Nobel de fisiologia e medicina, em 1998, Robert. Furchgott, Louis Ignarro, e Ferid. Murad.	20
Figura 7 - Conversão da L-arginine e oxigênio em NO pela enzima NOS.	20
Figura 8 - Nitroglicerina.....	23
Figura 9 - Nitroprussiato de sódio	23
Figura 10 - Fórmula estrutural dos complexos cis-[Ru(bpy) ₂ (L)(NO)] ⁿ⁺ , onde L = 1- metilimidazol, imidazol e sulfito.	25
Figura 11 - Esquema dos testes do estudo da conversão nitrosil-nitro em solução tampão.....	31
Figura 12 - a- Espectro de absorção eletrônica do complexo [Ru(bpy) ₂ (ImN)(NO)] ³⁺ em solução aquosa. 2,95 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ . b- Espectro de absorção eletrônica do coacervato com o complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (ImN)(NO)] ³⁺ em solução aquosa. 1,05 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹	34
Figura 13 - a- Espectro de absorção eletrônica do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (Meim)(NO)] ³⁺ em solução aquosa. 2,51 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ . b- Espectro de absorção eletrônica do coacervato com o complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (Meim)(NO)] ³⁺ em solução aquosa. 8,29 x 10 ⁻⁶ mol.L ⁻¹	35
Figura 14 - a- Espectro de absorção eletrônica do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)(NO)] ¹⁺ em solução aquosa. 3,09 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ . b- Espectro de absorção eletrônica do coacervato com o complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)(NO)] ¹⁺ em solução aquosa. 1,44 x 10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹	35
Figura 15 - Representação das formas de coordenação do óxido nítrico ao metal...36	
Figura 16 - Espectro vibracional na região do infravermelho dos complexos cis-[Ru(bipy) ₂ (L)(NO)](PF ₆) _n , onde L= Imidazol(preto), 1-Metilimidazo(vermelho) e SO ₃ (verde) em pastilha de KBr.	37
Figura 17 - Espectro vibracional na região do infravermelho do coacervato com o complexo cis-[Ru(bipy) ₂ (ImN)(NO)](PF ₆) ₃	38

Figura 18 - Espectro vibracional na região do infravermelho do coacervato com o complexo cis-[Ru(bipy) ₂ (Meim)(NO)](PF ₆) ₃	38
Figura 19 - Espectro vibracional na região do infravermelho do polifosfato de sódio (preto) e dos coacervatos com os complexos cis-[Ru(bipy) ₂ (L)(NO)](PF ₆) ₃ , onde L= Imidazol(vermelho), 1-Metilimidazo(azul escuro) e Sulfito(azul claro) em pastilha de KBr.	39
Figura 20 - Numeração dos átomos de hidrogênio dos ligantes dos complexos, sendo A=bipiridinas, B=imidazol e C=1-metilimidazol.....	40
Figura 21 - Espectro de Ressonância Magnética de ¹ H para o coacervato com íon complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (ImN)(NO)] ³⁺ em água deuterada.	41
Figura 22 - Espectro de Ressonância Magnética de ¹ H para o coacervato com íon complexo [Ru(bpy) ₂ (Meim)(NO)] ³⁺ em água deuterada.	42
Figura 23 - Foto dos coacervatos com o íon complexo cis-[Ru(bipy) ₂ (ImN)(NO)] ³⁺ , partido de 2,5,10e 15mg do complexo.	43
Figura 24 - Percentual de incorporação para o complexo cis-[Ru(bipy) ₂ (ImN)(NO)](PF ₆) ₃ no coacervato.....	44
Figura 25 - Percentual de incorporação para o complexo cis-[Ru(bipy) ₂ (Meim)(NO)](PF ₆) ₃ no coacervato.	45
Figura 26 - Percentual de incorporação para o complexo cis-[Ru(bipy) ₂ (SO ₃)(NO)](PF ₆) no coacervato.	46
Figura 27 - Média do percentual de incorporação para os complexo cis-[Ru(bipy) ₂ (L)(NO)](PF ₆) ₃ , sendo L= imidazol(preto), 1-metilimidazol(vermelho) e SO ₃ (verde), no coacervato.....	47
Figura 28 - Mapa de potencial eletrostático para o complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)(NO)] ⁺¹	48
Figura 29 - Mapa de potencial eletrostático para o complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (ImN)(NO)] ⁺³	48
Figura 30 - Mapa de potencial eletrostático para o complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (MeimN)(NO)] ⁺³	49
Figura 31 - Mapa de potencial eletrostático para o complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)(NO)] ⁺¹ (MATERIAL STUDIO MODELING, VERSÃO 4.0, ACELRX STUDIO).....	50
Figura 32 - Mapa de potencial eletrostático para o complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (ImN)(NO)] ⁺³	50

Figura 33 - Mapa de potencial eletrostático para o complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (MeimN)(NO)] ³⁺	51
Figura 34 - Reação geral para conversão de nitrosilo complexos a nitro-complexos em função do pH.....	52
Figura 35 – possível mecanismo para o ataque nucleofílico ao óxido nítrico.	52
Figura 36 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento de estabilidade do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (ImN)(NO)] ³⁺ no coacervato.	54
Figura 37 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento de estabilidade do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (Meim)(NO)] ³⁺ no coacervato.	54
Figura 38 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento de estabilidade do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (ImN)(NO)] ³⁺ em tampão fosfato pH 7,0 T 25°C.	55
Figura 39 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento de estabilidade do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (Meim)(NO)] ³⁺ em tampão fosfato pH 7,0 T 25°C.	56
Figura 40 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento de estabilidade do coacervato com o complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (ImN)(NO)] ³⁺ em tampão fosfato pH 7,0 T 25°C.....	56
Figura 41 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento de estabilidade do coacervato com o complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (Meim)(NO)] ³⁺ em tampão fosfato pH 7,0 T 25°C.	57
Figura 42 - Sugestão do percurso para liberação fotoquímica do óxido nítrico.	58
Figura 43 - Espectros eletrônicos do íon complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (ImN)(NO)] ³⁺ , no coacervato durante a irradiação em 350nm.....	59
Figura 44 - Espectros eletrônicos do íon complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (MeimN)(NO)] ³⁺ , no coacervato durante a irradiação em 350nm.....	59
Figura 45 - Espectros eletrônicos do íon complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)(NO)] ³⁺ , no coacervato durante a irradiação em 350nm.....	60
Figura 46 - Espectros eletrônicos do íon complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (ImN)(NO)] ³⁺ , no coacervato liofilizados durante a irradiação em 350nm.	61
Figura 47 - Espectros eletrônicos do íon complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (MeimN)(NO)] ³⁺ , no coacervato liofilizados durante a irradiação em 350nm.	61

Figura 48 - Estrutura química da L-cisteína	62
Figura 49 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento da reação do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (ImN)(NO)] ³⁺ com o aminoácido cisteína à 30°C.	63
Figura 50 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento da reação do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (MeimN)(NO)] ³⁺ com o aminoácido cisteína à 30°C.	63
Figura 51 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento da reação do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)(NO)] ¹⁺ com o aminoácido cisteína à 25°C.	64
Figura 52 - pKa da cisteína	65
Figura 53 - Dependência da temperatura para a interação do íon complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (ImN)(NO)] ³⁺ com a cisteína.	66
Figura 54 - Dependência da temperatura para a interação do íon complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (MeimN)(NO)] ³⁺ com a cisteína.	67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades das isomorfias NOS.....	21
Tabela 2 - Reagentes e solventes utilizados, com suas respectivas procedências.....	27
Tabela 3 - Concentrações das soluções utilizadas na preparação do coacervatos.....	29
Tabela 4 - Valores obtidos nos testes de percentual de incorporação para o complexo tendo L=Imidazol.....	45
Tabela 5 - Constante e pH de equilíbrio da interconversão nitrosil-nitro.....	53
Tabela 6 - Dependência da temperatura da interação dos complexos no coacervato com a cisteína.....	66

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
1.1 Polifosfato de Sódio	14
1.2 Coacervação	15
1.3 Óxido Nítrico	17
1.3.1 <i>Propriedades Físicas e Químicas</i>	17
1.3.2 <i>Funções Biológicas</i>	19
1.3.3 <i>Doadores de óxido nítrico</i>	22
1.4 Nitrosilos Complexos de rutênio	24
2 OBJETIVOS	26
3 PARTE EXPERIMENTAL	27
3.1 Reagentes e solventes	27
3.2 Sínteses	27
3.2.1 <i>Síntese dos nitrosilos complexos de rutênio</i>	27
3.2.2 <i>Síntese dos coacervatos</i>	28
3.3 Métodos e Técnicas experimentais	28
3.3.1 <i>Espectroscopia eletrônica na região do UV-Vis</i>	28
3.3.2. <i>Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho</i>	28
3.3.3 <i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H</i>	29
3.3.4 <i>Percentual de incorporação</i>	29
3.3.5 <i>Estudo da conversão dos nitrosilos complexos a nitro-complexos nos coacervatos</i>	30
3.3.6 <i>Estudo da redução e liberação do NO dos nitrosilos-complexos nos coacervatos via irradiação</i>	31
3.3.7 <i>Estudo da redução e liberação do NO dos nitrosilos-complexos nos coacervatos, via redução química</i>	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
4.1 Caracterização dos coacervatos	34
4.1.1 <i>Espectroscopia eletrônica na região do UV-Visível</i>	34
4.1.2 <i>Espectroscopia vibracional na região do infravermelho</i>	35
4.1.3 <i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H</i>	40
4.2 Estudo do percentual de incorporação dos complexos nos coacervatos ...	43

4.3 Estudo da utilização dos coacervatos no controle da conversão de nitrosilo complexos a nitro-complexos.....	52
4.4 Liberação do óxido nítrico	57
4.4.1 <i>Fotoquímica</i>	57
4.4.2 <i>Redução química</i>	62
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

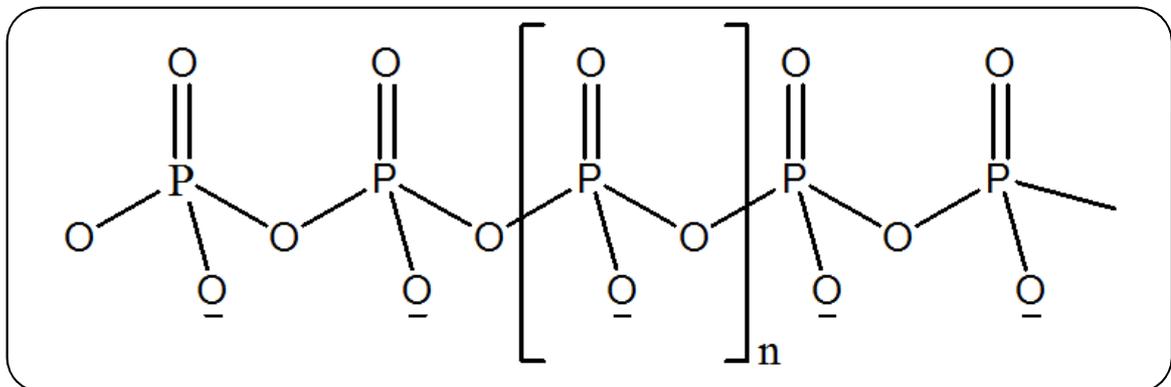
1 INTRODUÇÃO

1.1 Polifosfato de Sódio

O polifosfato de sódio é um polímero inorgânico pertencente ao grupo dos fosfatos condensados que possui fórmula geral $(\text{NaPO}_3)_n$, sendo n o grau de polimerização. Sal de Kurrol, sal de Madrell e sal de Graham são os três compostos que possuem a fórmula $(\text{NaPO}_3)_n$ e apresentam estruturas e solubilidades diferentes, sendo o sal de Graham o único polifosfato solúvel em água. (DIAS FILHO, 2003)

A figura 1 representa a estrutura do polifosfato mostrando sua linearidade e as unidades de repetição do polímero. O sal de Graham apresenta grau de polimerização igual a 23, dessa forma, ele possui cerca de 23 unidades PO_3 , pertencendo assim ao grupo dos fosfatos de tamanho intermediário. (DIAS FILHO, 2003)

Figura 1- Estrutura química do polifosfato com grau de polimerização n .



Os polifosfatos possuem diversas aplicações, são usados em carnes, pois melhoram as propriedades texturais especialmente pelo aumento da capacidade de retenção de água, retardam o ranço oxidativo, desenvolvem cor e proteção contra fonte de crescimento microbiano, além de controle do pH e força iônica (UNAL, 2006). São usados em formulações cosméticas como agentes quelantes e como agente tamponante (LANIGAN, 2001).

A liberação controlada de um fármaco (vacomicina - antibiótico usado no tratamento de infecções bacterianas) foi estudada fazendo-se o uso de matrizes preparadas a partir do polifosfato de cálcio (DION et al, 2005).

Com relação à toxicidade, estudos realizados em ratos e coelhos mostraram que os polifosfatos lineares são hidrolisados para ortofosfato e eliminados principalmente pela urina (GOSSELIN et al, 1952). Outro trabalho, o “Estudo Físico-Químico do Polifosfato de Sódio Visando sua Aplicação em Formulações para Nutrição Parenteral”, cita que, de acordo com os relatórios da FDA (Food and Drug Administration-orgão governamental dos Estados Unidos responsável pelo controle dos alimentos), OMS (Organização Mundial da Saúde) e UE (União Europeia), o consumo de polifosfato em alimentos e produtos farmacêuticos não apresenta riscos à saúde se obedecido os limites de concentração indicados (PEREIRA, 2007). Ainda com relação à toxicidade, o produto utilizado nos experimentos indica que a dose letal para o uso oral do polifosfato de sódio é 2000mg/kg (DL50 rato > 2000 mg/kg) (MERCK, 2012).

Além das aplicações citadas anteriormente destaca-se a formação de coacervatos a partir do polifosfato de sódio.

1.2 Coacervação

Coacervato é uma palavra derivada do latim cujo significado é *co* (união) e *acerv* (agregação). Em coloides *acerv* refere-se às moléculas coloidais que separam de fase em meio aquoso durante a formação de uma segunda camada aquosa. A coacervação é uma separação de duas fases líquidas que diferenciam entre si pela viscosidade e concentração em coloides. A fase mais rica em coloide e que apresenta maior viscosidade é chamada coacervato e a fase com menor viscosidade e conseqüentemente pobre em coloide é chamada de líquido de equilíbrio ou sobrenadante (OPARIN et al, 1977 *apud* DIAS FILHO, 2003).

O processo de coacervação pode ocorrer de duas formas recebendo denominações específicas: **coacervação simples**, também chamada de separação de fase segregativa, ocorre quando a separação de fases é proveniente da interação entre soluções de um polieletrólito e sais multivalentes, como por exemplo, a mistura de uma solução de polifosfato de sódio com uma solução de cloreto de cálcio, figura 2, sendo a fase mais viscosa o coacervato, estando no fundo do béquer. **coacervação complexa**, também chamada de separação de fase associativa, ocorre quando a separação de fases acontece pela interação entre duas soluções

de polieletrólitos diferentes. Um exemplo de coacervação complexa é a mistura de dois polímeros (PICULELL, LINDMAN, 1992).

Figura 2 - Coacervato de polifosfato de sódio e cloreto de cálcio.



Estudos de Dias Filho com coacervatos formados pela mistura de polifosfato de sódio e cloreto de cálcio indicam que os coacervatos são constituídos principalmente pelas espécies fosfatos de cadeias maiores e que na coacervação, mesmo ocorrendo à interação do polifosfato com o cálcio, é mantida a integridade das cadeias de polifosfato (DIAS FILHO, 2003).

Os coacervatos são sistemas coloidais muito utilizados em química de materiais, principalmente na obtenção de vidros. São sistemas extremamente interessantes, pois são precursores vítreos obtidos via rota úmida. Têm-se estudos da preparação de materiais transparentes preparados pela coacervação a partir da mistura de polifosfato de sódio e sais de cloreto de níquel e cobalto (SILVA FRANCO et al, 2010).

Um recente estudo constatou que o tratamento térmico de coacervatos de polifosfato e cálcio ocasionam mudanças nas propriedades físico-químicas e morfológicas do material, tornando o material mais estável, e de acordo com Kopp, mais interessante para aplicação em processos biotecnológicos e industriais (KOPP et al, 2012).

Diante das várias aplicações dos coacervatos e do polifosfato de sódio, surge o interesse de estudar coacervatos preparados a partir do polifosfato de sódio

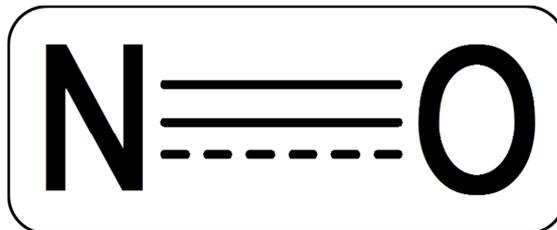
e complexos liberadores de óxido nítrico, que apesar da literatura reportar sobre a produção de coacervatos com compostos orgânicos incorporados (materiais híbridos) (OLIVEIRA et al 2005; OLIVEIRA et al, 2009), até então não se tem relatos deste tipo de material, coacervatos preparados a partir de polifosfato e complexos metálicos.

1.3 Óxido Nítrico

1.3.1 Propriedades Físicas e Químicas

O óxido nítrico, figura 3, é um radical livre, gasoso, inorgânico e incolor (DUSSE et al, 2003). Em água sua solubilidade é moderada, já em hexano é bastante solúvel, portanto mais solúvel em solventes apolares (CORREIA et al, 2005; SHAW, VOSPER, 1977). Assim, em sistemas biológicos o óxido nítrico tende a se encontrar em regiões lipofílicas, como membranas e domínios hidrofóbicos de proteínas. (KERWIN et al, 1995; CORREIA et al, 2005).

Figura 3- Estrutura do óxido nítrico

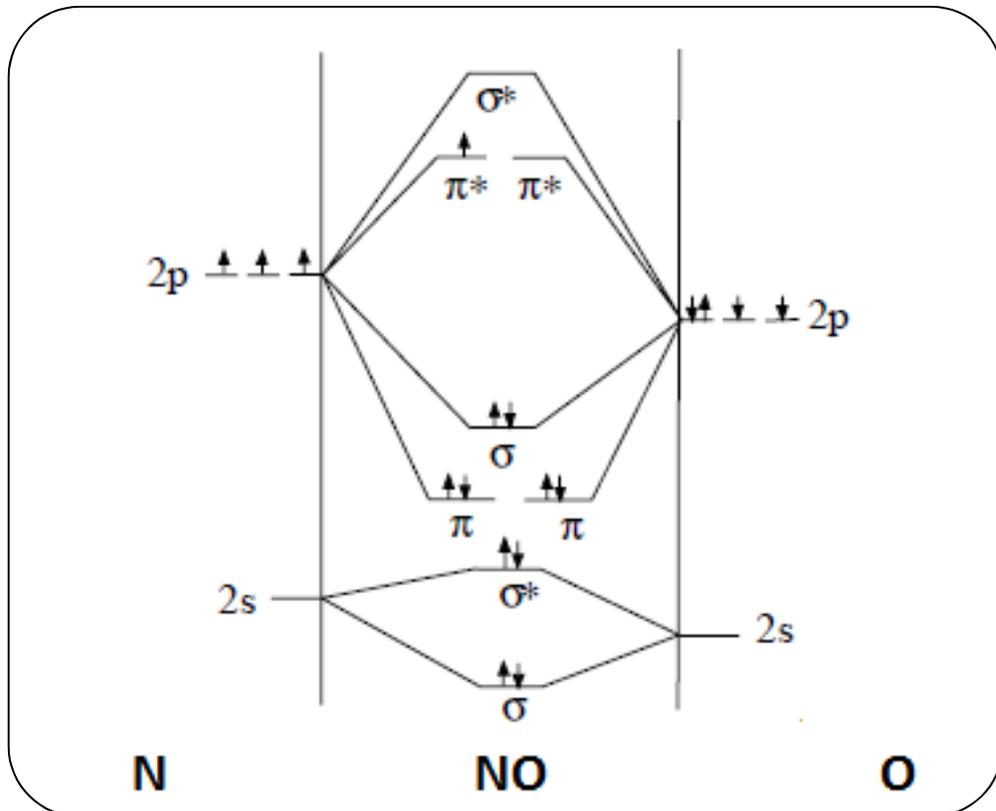


FONTE: BUTLER; NICHOLSON, 2003

O diagrama de orbitais moleculares para o NO é resultante da combinação dos orbitais atômicos do nitrogênio e do oxigênio, ilustrado na figura 4. Ele possui 11 elétrons de valência preenchendo assim os orbitais σ ligante e antiligante de menor energia e os orbitais ligantes σ e π seguintes, estando o último elétron no orbital π antiligante (π^*), conferindo características paramagnéticas à molécula, possui ordem de ligação igual a 2,5 algo que reflete no comprimento da ligação que é igual a 1,15 Å, um valor intermediário com relação à tripla ligação do NO^+ (1,06 Å) e a típica ligação dupla (1,2 Å) (THOMAS, 2007; BUTLER; NICHOLSON, 2003). Essa configuração eletrônica do óxido nítrico explica a elevada

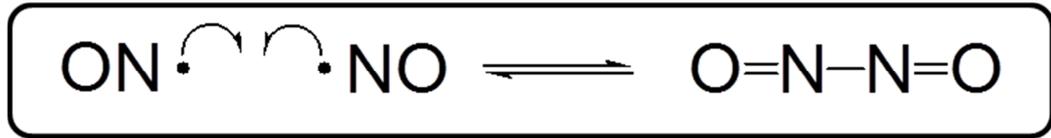
reatividade da molécula quanto à facilidade da formação do íon nitrosônio (NO^+), enquanto que a redução forma o ânion nitróxido (NO^-) (MCCLEVERTY, 2004).

Figura 4 - Diagrama de orbital molecular para a molécula de óxido nítrico(NO).



FONTE: THOMAS, 2007

Apesar de ser um radical muito reativo (meia-vida de 5 a 10s *in vitro*) (CORREIA et al 2005) ele não dimeriza em estado gasoso a temperatura e pressão ambiente, embora pareça formar N_2O_2 no estado líquido, Figura 5 (THOMAS, 2007). Ele não reage facilmente com compostos orgânicos, pois os compostos orgânicos no estado fundamental possuem dois elétrons com spins opostos no orbital, reagindo com o óxido nítrico obteriam uma molécula com um número ímpar de elétrons, possuindo assim um elétron desemparelhado, resultando, portanto em um energético radical orgânico. Essas reações costumam necessitar de alta energia de ativação e geralmente são lentas. (BECKMAN, 1996).

Figura 5 - Formação do dímero N_2O_2 .

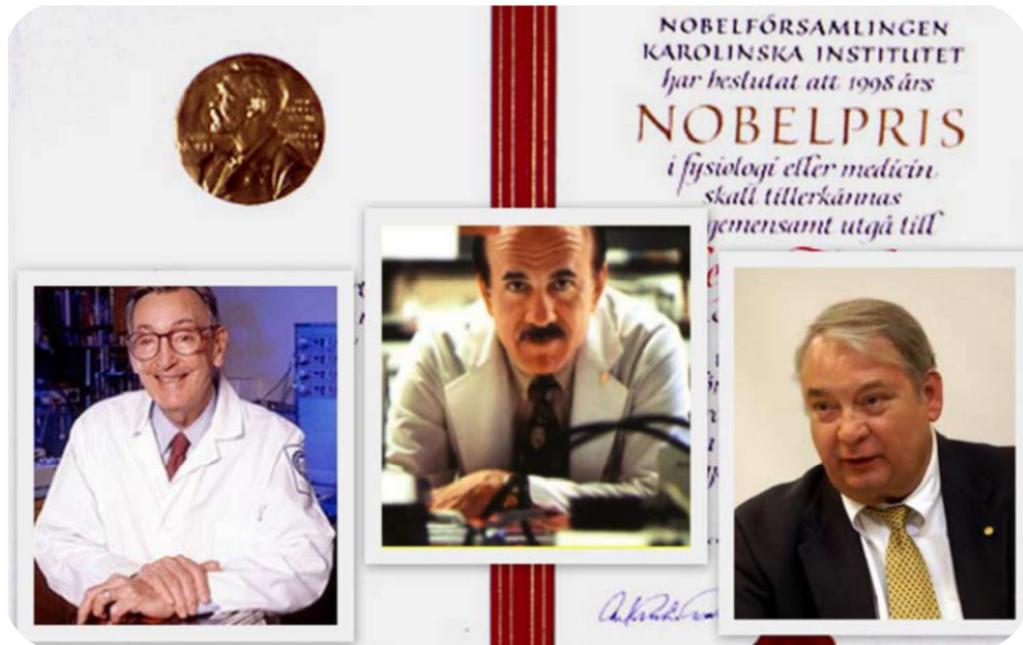
FONTE: THOMAS, 2007

Porém, ele reage facilmente com radicais orgânicos, o oxigênio molecular, o íon superóxido e metais de transição, formando espécies nitrogenadas reativas (N_2O_3 , NO_2 , NO^{2-} , NO^{3-}), peroxinitrito (OONO), e compostos metal-nitrosilo (WANG et al, 2005, BECKMAN, 1996). Reações essas, que são bastante comuns em sistemas biológicos principalmente com O_2 , O_2^- , radicais peróxidos e metais. (KERWIN et al, 1995)

1.3.2 Funções Biológicas

Até 1987 o óxido nítrico era considerado apenas um poluente, mas após a descoberta de seus papéis fisiológicos e patológicos durante a década de 1980, ele progrediu de "poluente desagradável no ar que respiramos a ser designado como "molécula do ano", pela revista Science em 1992" (BUTLER; NICHOLSON, 2003). Essas descobertas renderam aos cientistas R.F. Furchgott, L.J. Ignarro, e F. Murad, figura 6, o prêmio Nobel de fisiologia e medicina, em 1998, por sua contribuição para elucidar o papel do óxido nítrico nas funções dos organismos vivos (WANG et al, 2005).

Figura 6 – Cientistas ganhadores do prêmio Nobel de fisiologia e medicina, em 1998, Robert. Furchgott, Louis Ignarro, e Ferid. Murad.

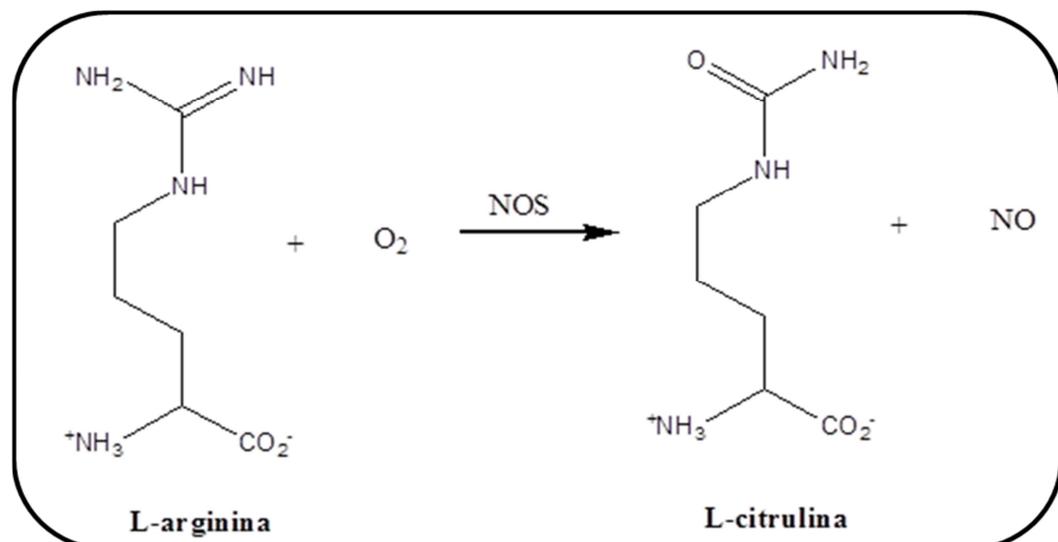


FONTE: CANDIDO, 2011

Síntese

De forma simplificada, no organismo ele é gerado através da oxidação da L-arginina convertida em L-citrulina, catalisada pela enzima óxido nítrico sintetases (NOS), figura 7. Existe uma variedade de isomorfos de NOS (DUSSE et al, 2003; BUTLER; NICHOLSON, 2003).

Figura 7 - Conversão da L-arginine e oxigênio em NO pela enzima NOS.



FONTE: BUTLER; NICHOLSON, 2003

Três tipos de isomorfos foram identificadas: neuronais, macrófagos e células endoteliais, e cada uma destas relacionada com um determinado processo fisiológico. Resumidos na tabela 1, elas estão agrupadas em duas categorias as constitutivas (dependem dos íons de cálcio e de calmodulina para a ativação e produção de uma quantidade relativamente pequena de NO) e a induzível (fortemente ligada aos íons de cálcio e calmodulina, produz uma quantidade relativamente grande de NO). As constitutivas se dividem em duas; NOS neuronal (nNOS ou NOS I) que está envolvida na neurotransmissão e potenciação a longo prazo e NOS endotelial (eNOS ou NOS III) onde o NO por ela produzido regula o relaxamento da musculatura lisa e a pressão sanguínea. Já a NOS induzível (iNOS ou NOS II) é produzida por macrófagos e outras células ativadas e o NO atua como um agente citotóxico na defesa imunológica contra microorganismos normais e células tumorais. (WANG et al, 2005; CORREIA et al, 2005; VANNI et al, 2007; DUSSE et al, 2003)

Tabela 1- Propriedades das isomorfos NOS.

NOS	Localização	Características	Principais funções biológicas
nNOS (NOS-I)	Cérebro, medula espinhal, periférico	Constitutiva, depende de Ca^{2+}	Neurotransmissor
iNOS (NOS-II)	Macrófagos, outros tecidos	Induzível, independe de Ca^{2+}	Defensor de hospedeiros, citotóxico
eNOS (NOS-III)	Endotélio	Constitutiva, depende de Ca^{2+}	Vasodilatador

FONTE: WANG et al, 2005

Papel fisiológico e patológico

A formação endógena de NO desempenha um papel fundamental em muitos sistemas (DUSSE et al, 2003), entre eles podemos citar atividades envolvidas com os sistemas:

Cardiovascular: relaxamento do vaso sanguíneo, manutenção do tonus vascular, regulação da pressão sanguínea, prevenção da agregação plaquetária, inibição da adesão de monócitos e neutrófilos ao endotélio vascular (complicador

para a patogênese da aterosclerose), entre outras (PUDDU et al, 2005; KUBES et al, 1991; YETIK-ANACAK, CATRAVAS, 2006; WOLIN, 2000).

Nervoso: Age como neurotransmissor, participa do aprendizado e da memória. (BUTLER; NICHOLSON, 2003).

Imunológico: em geral age como uma agente agressivo (tóxico). Ele reage facilmente, assim várias reações suscetíveis de NO em células vivas podem resultar em morte celular, ele também pode agir contra micróbios reagindo com enzimas microbianas que possuem um grupo tiol no local ativo, assim a produção de NO próximo a enzima pode resultar na desativação da enzima, impedindo que processos essenciais ocorram dentro do metabolismo do micróbio, resultando em sua morte. (BUTLER; NICHOLSON, 2003), assim ele está envolvido no combate de bactérias, tumores, fungos, entre outros (JANERO, 2000 *apud* ARAÚJO, 2007).

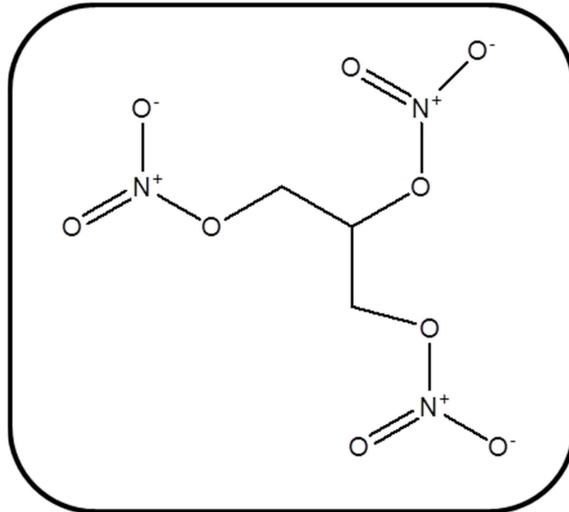
A produção insuficiente de NO causa sérios problemas médicos, tais como hipertensão, doenças no sistema nervoso central, doenças cardiovasculares, aterosclerose, inflamação, enxaqueca, entre outras. Dessa forma necessita-se então de uma fonte externa de NO, porém o manuseio de soluções de NO é inconveniente devido a sua instabilidade, assim surgem os compostos doadores de NO, no qual o interesse nesses compostos vem crescendo bastante. (PUDD, 2005; WANG et al, 2005)

1.3.3 Doadores de óxido nítrico

Alguns compostos vêm sendo utilizados como liberadores de NO, alguns nitratos e nitritos orgânicos (amilo de nitrito e nitroglicerina) e compostos inorgânicos como, por exemplo, o nitroprussiato de sódio (NPS). (PEREIRA et al, 2011)

A nitroglicerina, figura 8, é o mais bem conhecido doador de NO. Apesar de seu uso para fins medicinais remontar a mais de 150 anos, pouco tinha sido revelado sobre o seu mecanismo fisiológico de ação antes de 1980. (DUSSE et al, 2003; WANG et al, 2005).

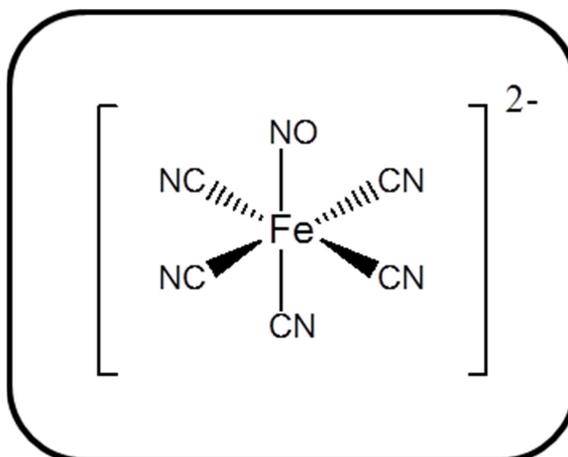
Figura 8 - Nitroglicerina



FONTE: PEREIRA et al, 2011.

Entre os compostos inorgânicos, destaca-se o nitroprussiato de sódio, figura 9. Dos complexos metálicos doadores de óxido nítrico, ele é o mais utilizado e estudado em sistemas biológicos (WILIAMS, 2004). Apesar de muitos estudos com os nitrosilos complexos metálicos, ele é o único que é utilizado como fármaco para liberação de NO. Foi sintetizado em meados dos anos 80 e é utilizado no tratamento de crises cardíacas para relaxar o músculo vascular, assim, diminuir a carga sobre o coração (PEREIRA et al, 2011; BUTLER; NICHOLSON, 2003; WANG et al 2005), ele possui forte ação vasodilatadora e geralmente é utilizado em emergências hipertensivas (WILIAMS, 2004).

Figura 9 - Nitroprussiato de sódio



FONTE: PEREIRA et al, 2011.

Portanto, compostos que podem liberar NO sob condições específicas podem ser utilizados terapeuticamente para suprir o NO. (WANG et al, 2005)

Porém, ambas as classes (compostos orgânicos e inorgânicos) apresentam efeitos colaterais indesejáveis. A esse respeito, novos compostos vêm sendo sintetizados com melhores propriedades farmacológicas e que possam agir como doadores de NO (PEREIRA et al, 2011).

1.4 Nitrosilos complexos de rutênio

Os nitrosilos complexos de rutênio vêm ganhando destaque entre esses novos doadores de óxido nítrico. A utilização do rutênio como centro metálico é justificada pelo o íon rutênio formar complexos estáveis, e por acreditar-se que a forma de proteção do organismo em relação a esse metal, ocorre de forma semelhante ao do ferro, que quando em excesso, o organismo aumenta a produção de proteínas capazes de capturar este metal (SAVA et al, 1995).

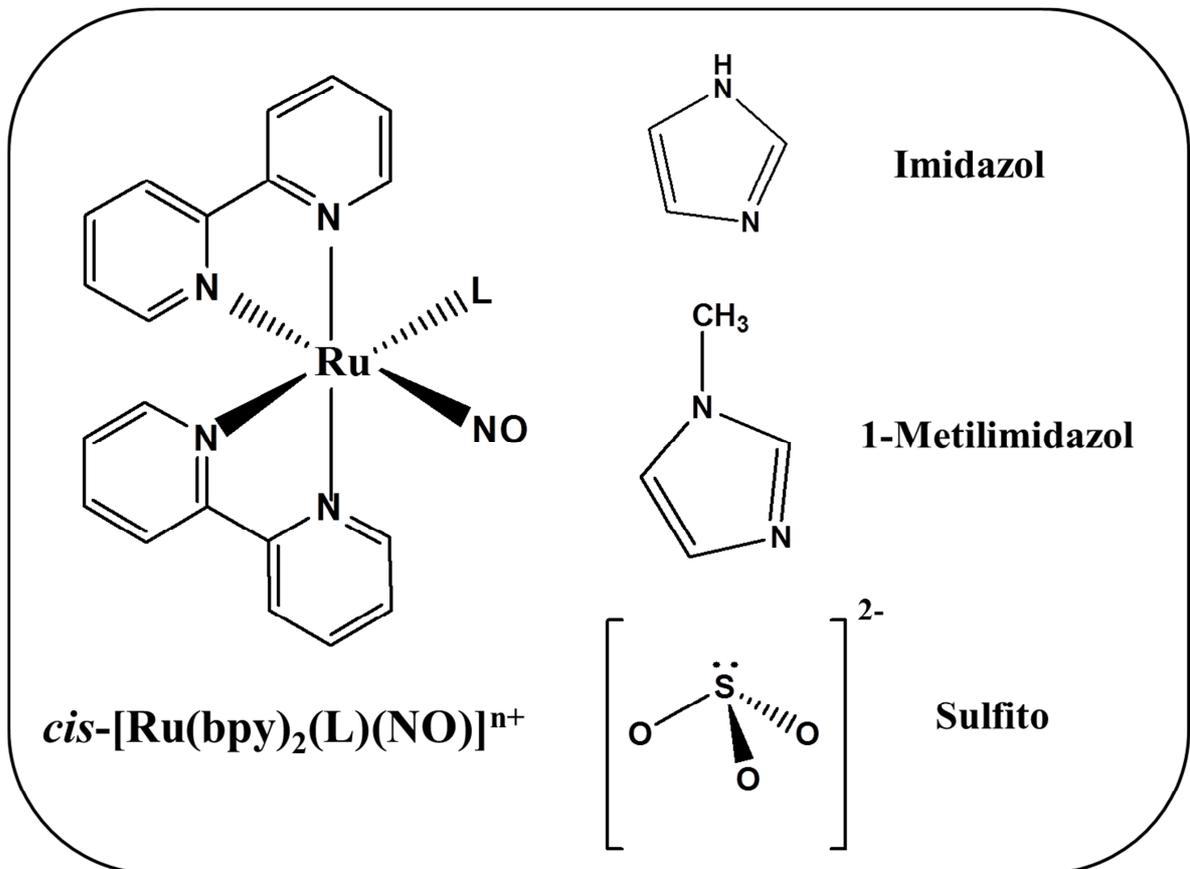
Alguns estudos sobre a toxicidade de complexos de rutênio já foram realizados, entre eles podeos citar um estudo utilizando o complexo $[Ru^{II}(EDTA)NO]^{-}$ onde os testes foram realizados com ratos que após a administração intravenosa do complexo metálico apresentaram metal no fígado, rins, urina e plasma sanguíneo. No entanto, depois de oito horas nada de metal foi detectado nos órgãos, na urina e no plasma sanguíneo, e nenhuma morte foi observada em todas as doses administradas (3 a $9,08 \times 10^{-5} \text{ mol.kg}^{-1}$). (ZANICHELLI et al, 2004)

Contudo, complexos que liberam óxido nítrico (NO) têm despertado o interesse da comunidade científica por estar envolvido em numerosos processos fisiológicos e patológicos. Diversas substâncias capazes de liberar NO têm sido estudadas incluindo os nitrosilo-complexos de rutênio. No entanto, a maioria dos nitrosilos complexos de rutênio em pH 7,0 sofre conversão de nitrosilo-complexo a nitro-complexo, o que não é desejável para uso desses complexos como doadores de óxido nítrico, pois os tornam inadequados para terapia clínica (LIMA, 2007)

Buscando uma forma de diminuir o efeito do pH sobre a conversão nitrosilo-nitro dos complexos e conhecendo as diversas aplicações dos coacervatos, estudou-se a formação de coacervatos, preparados a partir de polifosfato de sódio (Sal de Graham) e nitrosilos complexos de rutênio. Os nitrosilos complexos escolhidos, estão ilustrados na figura 10, $cis-[Ru(bpy)_2(L)(NO)](PF_6)_3$, onde L = 1-

metilimidazol(MeimN), imidazol(ImN) e sulfito(SO₃), esses complexos vem sendo estudados como potenciais doadores de óxido nítrico. Sendo que os compostos *cis*-[Ru(bpy)₂(ImN)(NO)](PF₆)₃ e *cis*-[Ru(bpy)₂(SO₃)(NO)](PF₆)₃ foram testados in vivo e in vitro, contra o Tripanossomo Cruze, eles apresentaram potente atividade contra o parasita da doença de Chagas (SILVA, 2010), motivando assim os estudos com esses complexos.

Figura 10 - Fórmula estrutural dos complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(L)(NO)]ⁿ⁺, onde L = 1-metilimidazol, imidazol e sulfito.



2 OBJETIVOS

Objetivo Geral

O trabalho investigou a formação de coacervatos e a possibilidade de utiliza-los no controle da conversão de nitrosilos complexos a nitro-complexos, visando a potencialidade desses sistemas como substâncias liberadoras de NO.

Objetivos Específicos

- Preparação dos coacervatos com os complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(L)(NO)](PF₆)₃, onde L = 1-metilimidazol, imidazol e sulfito;
- Estudo do percentual de incorporação dos complexos nos coacervatos;
- Estudo de caracterização das espécies citadas anteriormente, com base nas técnicas: espectroscopia eletrônica na região do UV-visível, espectroscopia vibracional na região do infravermelho e espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H;
- Estudo da estabilidade do nitrosilos-complexos, frente à conversão a nitro-complexos, nos coacervatos;
- Estudo da liberação de NO via processo fotoquímico e por redução química.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e solventes

A tabela 2 resume os reagentes e solventes utilizados nos procedimentos experimentais com suas respectivas procedências.

Tabela 2- Reagentes e solventes utilizados, com suas respectivas procedências.

Reagentes/solventes	Procedência
1-metil-imidazol	ALDRICH
2,2'-bipiridina	ALDRICH
ácido clorídrico	SYNTH
Ácido trifluoroacético	MERCK
Cloreto de Lítio	ALDRICH
Dimetilformamida (DMF)	SYNTH
Etanol	SYNTH
Éter dietílico	VETEC
KH ₂ PO ₄	VETEC
K ₂ HPO ₄	VETEC
Imidazol	ALDRICH
Metanol	MERK
NH ₄ PF ₆	ALDRICH
Polifosfato de sódio	MERCK
Sulfito de sódio	FLUKA
Tricloreto de rutênio hidratado	ALDRICH

FONTE: Elaborada pelo autor.

3.2 Sínteses

3.2.1 Síntese dos nitrosilos complexos de rutênio

Os complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(L)NO](PF₆)₃ sendo L=imidazol, 1-metilimidazol e sulfito, foram sintetizados de acordo com o método descrito na

literatura (SILVA et al, 2006), a partir do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂Cl₂], também sintetizado de acordo com o método descrito na literatura (SULLIVAN et al, 1978; DURHAN et al, 1980).

3.2.2 Síntese dos coacervatos

Os coacervatos foram preparados a partir da mistura de 6mL de uma solução aquosa de polifosfato de sódio (4mol.L⁻¹), com uma solução aquosa do íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(L)NO]ⁿ⁺, sendo L= Imidazol, 1-Metilimidazol e Sulfito. Foram preparadas soluções com várias concentrações do íon complexo, 2, 5, 10 e 15mg de complexo em 6mL de água destilada. O pH da água foi ajustado para 3 com uma solução de HCl (0,1 mol.L⁻¹) para os complexos com ligantes Imidazol e 1-Metilimidazol. A mistura foi mantida sob agitação magnética durante 10 minutos, e em seguida foi adicionado ao sistema 3mL de álcool etílico. O sistema foi mantido sob agitação por mais 10 minutos e após cessada a agitação, o sistema foi mantido em repouso de 15 minutos. Separou-se então o coacervato do sobrenadante e este foi descartado.

3.3 Métodos e Técnicas experimentais

3.3.1 Espectroscopia eletrônica na região do UV-Vis

Utilizou-se um espectrofotômetro Hewlett-Packard, modelo 8453 Diode Array, para registrar os espectros eletrônicos na região do UV-Vis para caracterizar os complexos e os coacervatos com complexos. Utilizou-se uma cubeta de quartzo de 3 mL com caminho óptico de 1,0 cm.

3.3.2. Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Os espectros vibracionais na região do infravermelho dos complexos e dos coacervatos liofilizados, foram obtidos em um Espectrofotômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR da ABB Bomem FTLA 2000-102, sendo as amostras dispersas em pastilhas de KBr.

3.3.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de, ^1H foram obtidos em um espectrômetro AVANCE DPX 300 Bruker, a 300 MHz.

3.3.4 Percentual de incorporação

Foram preparados coacervatos padronizando-se todas as condições de preparação: volume e concentração da solução de polifosfato de sódio (6 mL, 4mol.L^{-1}), tempo de agitação (10 min), tempo de repouso (15 min), volume de etanol (3 mL), volume das soluções dos complexos (6 mL), temperatura do sistema (temperatura ambiente), variou-se apenas a concentração da solução de complexo.

A concentração foi variada, partindo-se da mesma massa (2, 5, 10 e 15mg) para os complexos com os diferentes ligantes, diluídos em 6 mL de água, obtendo-se as concentrações mostradas na tabela abaixo:

Tabela 3 - Concentrações das soluções utilizadas na preparação do coacervatos

MASSA/LIGANTE	Imidazol (mol.L⁻¹)	1-Metilimidazol (mol.L⁻¹)	Sulfito (mol.L⁻¹)
2mg	$3,52 \times 10^{-4}$	$3,47 \times 10^{-4}$	$4,99 \times 10^{-4}$
5mg	$8,80 \times 10^{-4}$	$8,68 \times 10^{-4}$	$1,25 \times 10^{-3}$
10mg	$1,76 \times 10^{-3}$	$1,74 \times 10^{-3}$	$2,49 \times 10^{-3}$
15mg	$2,64 \times 10^{-3}$	$2,60 \times 10^{-3}$	$3,74 \times 10^{-3}$

FONTE: Elaborada pelo autor.

Os coacervatos foram separados dos sobrenadantes, e analisados em um espectrofotômetro de absorção no UV-Vis para a quantificação dos complexos nos coacervatos. Utilizou-se a equação de Lambert Beer, ilustrada abaixo, para determinar a concentração de complexo no coacervato.

$$\text{Abs} = \epsilon bc \quad (1)$$

Sendo b o caminho óptico da cubeta, possuindo valor igual a 1 cm, ϵ é o valor da absorvidade molar, disponível na literatura para os complexos utilizados,

Abs é a absorvância, sendo que os valores utilizados foram os referente ao comprimento de onda de 299nm para os complexos com L=Imidazol e 1-Metilimidazol e 296nm para L=Sulfito e c a concentração da solução analisada que no trabalho é o valor a ser encontrado. Os experimentos foram realizados em triplicata e utilizou-se o teste t de Student para calcular o intervalo de confiança a 95% (SKOOG et al, 2005).

Após ser encontrado o valor da concentração de complexo no coacervato calculou-se o número de mols de complexo no coacervato. Após ter o valor do número de mols de complexo no coacervato (n_{final}), foi calculado o percentual de incorporação utilizando a equação 2, sendo o número de mols inicial ($n_{inicial}$) calculado a partir da massa utilizada na preparação das soluções para a preparação do coacervato (2, 5, 10, 15mg).

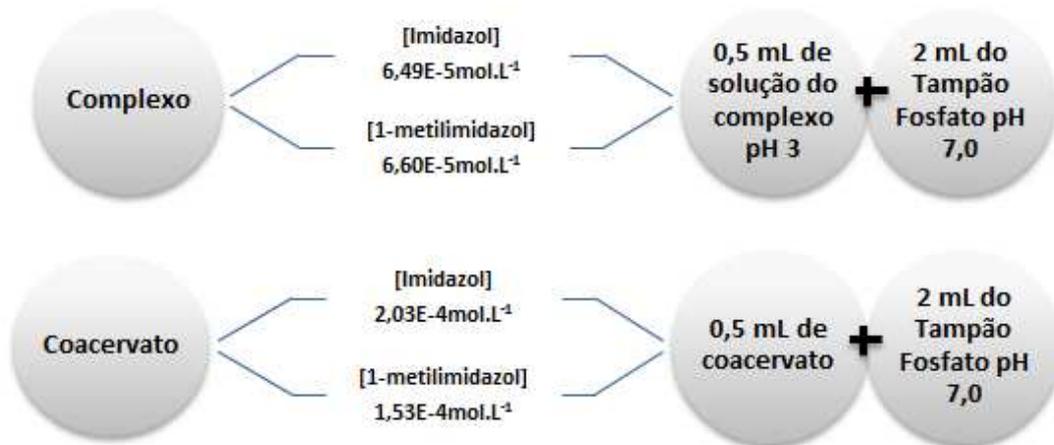
$$\text{Percentual de incorporação} = \frac{100 \times n_{final}}{n_{inicial}} \quad (2)$$

3.3.5 Estudo da conversão dos nitrosilos complexos a nitro-complexos nos coacervatos

Para estudar a estabilidade dos nitrosilos complexos nos coacervatos, com relação à conversão nitrosilo-nitro, foram preparados coacervatos que foram monitorados por espectroscopia de absorção no UV-Vis realizando-se medidas com intervalos de dias e meses tendo um tempo total de 12 meses para os coacervatos com os ligantes imidazol e 1-metilimidazol. A espectroscopia de absorção no UV-Vis permite identificar a conversão do nitrosilo complexo a nitro complexo através do deslocamento da banda em 332nm (quando NO) para 450nm (quando NO₂).

Também estudou-se a conversão dos complexos nos coacervatos frente a sua diluição em tampão fosfato pH 7. Para isso foram preparados sistemas conforme a figura 11, e monitorado o surgimento da banda em 450nm por espectroscopia de absorção no UV-Vis há uma temperatura de 25°C.

Figura 11 - Esquema dos testes do estudo da conversão nitrosil-nitro em solução tampão.



FONTE: Elaborada pelo autor.

3.3.6 Estudo da redução e liberação do NO dos nitrosilos-complexos nos coacervatos via irradiação

Para redução e liberação do óxido nítrico, os coacervatos com complexo foram irradiados utilizando-se um reator fotoquímico UNITEC-LAB UNP 001, com uma lâmpada de comprimento de onda específico de 350 nm. A variação das bandas nas amostras foram acompanhadas por um espectrofotômetro Varian, modelo CARY 500 UV-Vis-NIR, analisadas tanto em pastilha de KBr como o coacervato no seu estado original, monitorando-se o surgimento da banda em torno de 500nm referente ao aqua complexo formado após a redução e liberação do NO.

3.3.7 Estudo da redução e liberação do NO dos nitrosilos-complexos nos coacervatos, via redução química.

Para esse estudo foram preparados coacervatos a partir de 2mg de complexo, retirado o sobrenadante e logo em seguida adicionado a cisteína como agente redutor, com um excesso de 20 vezes, após uma agitação vigorosa por alguns segundos para homogeneizar a cisteína no coacervato a mistura foi colocada em uma cubeta de caminho óptico 0,5 e acompanhado as variações espectrais, o decaimento da banda em 380nm e o surgimento da banda em 486nm, em um espectrofotômetro Varian, modelo CARY 500 UV-Vis-NIR, no modo cinético, acoplado há um banho termostatizado.

Esse procedimento foi realizado para os coacervatos com os complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(L)NO](PF₆)₃, onde L=imidazol, 1-metilimidazol e sulfito, em quatro temperaturas diferentes (25, 30, 37 e 43°C)

Nesse experimento a reação ocorreu em cinética de pseudo-primeira ordem e as constantes de velocidade observadas foram calculadas pela equação 3 usando-se os valores da variação de absorvância em função do tempo.

$$A = A_0 \cdot \exp(-kt) \quad (3)$$

Onde:

A = absorvância medida em cada tempo t.

A₀ = absorvância no início da reação

k = constante de velocidade.

Os valores para constantes de velocidade (*k_{obs}*) observados foram estimados pela correlação linear de ln (A_t-A_{inf}) contra o tempo para toda a extensão da reação, utilizando um programa interativo de mínimos-quadrados do software Microcal Origin 6.0 (SILVA, 2008). Os coeficientes de correlação, r, foram sempre maiores que 0,99.

Os parâmetros de ativação foram calculados com base na expressão derivada da teoria do estado de transição (Equação 4)(WILKINS, 1991 *apud* SILVA, 2008).

$$k_{obs} = \frac{kT}{h} \exp\left(\frac{-\Delta H}{RT}\right) \exp\left(\frac{\Delta S^\ddagger}{R}\right) \quad (4)$$

Desenvolvendo a equação 4, pode-se obtê-la em forma mais operacional (Equação 5):

$$\ln \frac{k_{obs}}{T} = \ln \frac{k_b}{h} + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} - \frac{\Delta H^\ddagger}{RT} \quad (5)$$

Onde:

k = Constante de velocidade;

T = Temperatura (K);

k_b = Constante de Boltzmann ($3,3 \times 10^{-24}$ cal.K⁻¹);

h = Constante de Planck ($1,58 \times 10^{-34}$ cal.s⁻¹);

ΔS^\ddagger = Entropia de ativação;

R = Constante dos gases (8,314 J Mol⁻¹ K⁻¹);

ΔH^\ddagger = Entalpia de ativação.

Realizando os experimentos em várias temperaturas e calculando as constantes de velocidade (k_{obs}) pode-se determinar os valores correspondentes a $\ln k_{obs}/T$. No gráfico de $\ln k_{obs}/T$ versus $1/T$, obtém-se uma reta, onde o coeficiente angular é o valor de $-\Delta H^\ddagger/R$. Conhecendo o valor de $-\Delta H^\ddagger$, pode-se calcular o valor de ΔS^\ddagger substituindo ΔH^\ddagger na equação 5.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização dos coacervatos

4.1.1 Espectroscopia eletrônica na região do UV-Visível

As figuras 12a, 13a e 14a mostram os espectros eletrônicos dos complexos com os ligantes imidazol, 1-metilimidazol e sulfito, respectivamente. Os complexos apresentaram uma banda intensa em 299 nm, atribuída a uma transição interna do ligante bipyridina do tipo $\pi^* \leftarrow \pi(\text{bpy})$ que geralmente aparece nesta região para complexos da forma bis-(2,2-bipyridina)rutênio(II), e uma outra banda em torno de 332 nm, atribuída a uma transição de transferência de carga metal-ligante (TCML) do tipo $(\text{bpy}) \pi^* \leftarrow d\pi\text{Ru}^{\text{II}}$ (SILVA et al, 2006).

As figuras 12b, 13b e 14b mostram os espectros eletrônicos para os coacervatos em solução aquosa. O polifosfato de sódio não apresenta absorção na região estudada, dessa forma, nos espectros visualizam-se apenas as bandas características dos complexos. Ao observar as figuras 12, 13 e 14, **a** (complexo) e **b** (coacervato), percebe-se que não há diferença entre os espectros dos complexos em solução aquosa e os espectros dos coacervatos com o correspondente complexo, indicando não só a presença do complexo no coacervato como mostrando que não ocorre variação no perfil espectral do complexo.

Figura 12 - a- Espectro de absorção eletrônica do complexo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ImN})(\text{NO})]^{3+}$ em solução aquosa. $2,95 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. b- Espectro de absorção eletrônica do coacervato com o complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ImN})(\text{NO})]^{3+}$ em solução aquosa. $1,05 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$

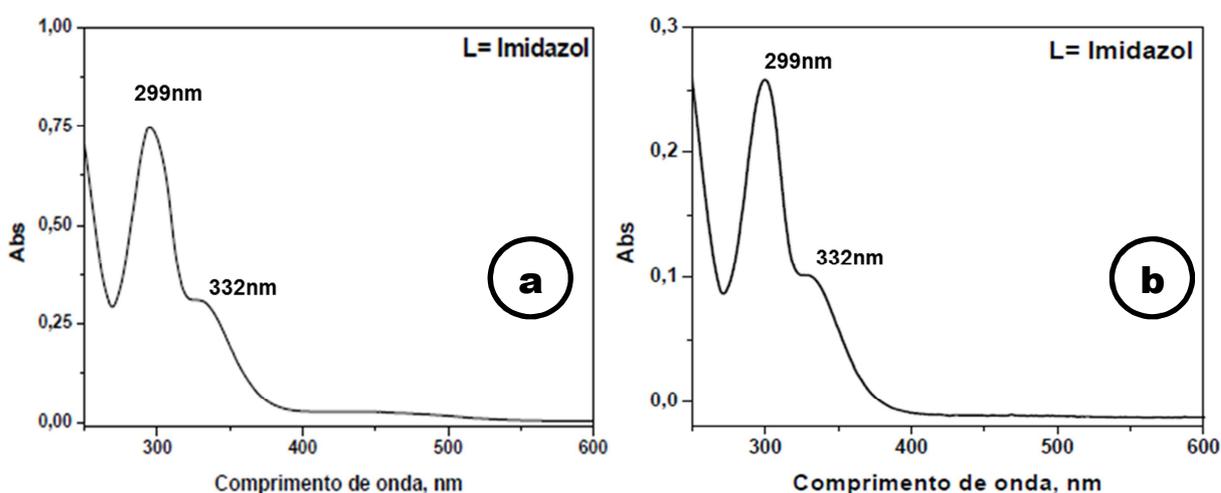


Figura 13 - a- Espectro de absorção eletrônica do complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{Meim})(\text{NO})]^{3+}$ em solução aquosa. $2,51 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. b- Espectro de absorção eletrônica do coacervato com o complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{Meim})(\text{NO})]^{3+}$ em solução aquosa. $8,29 \times 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$.

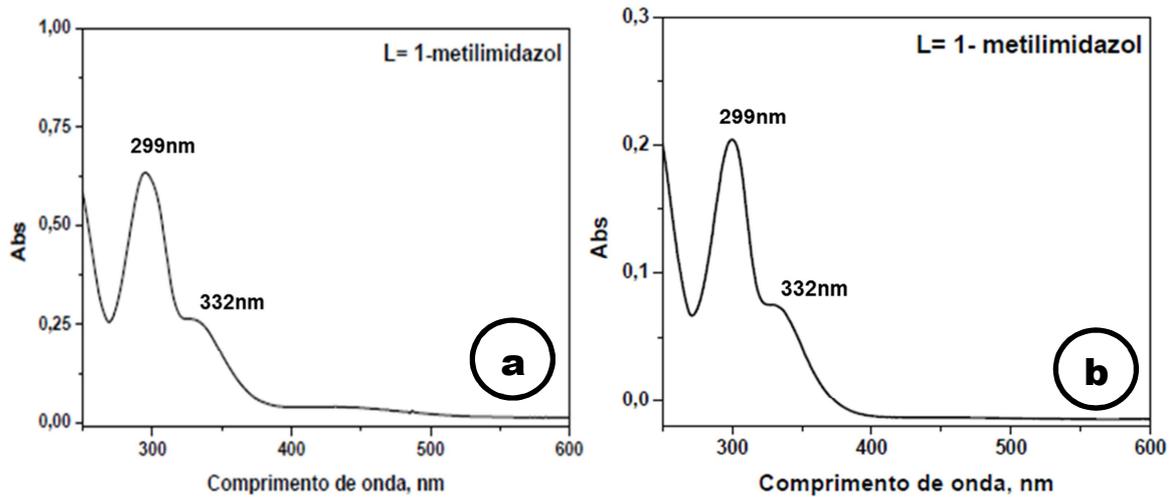
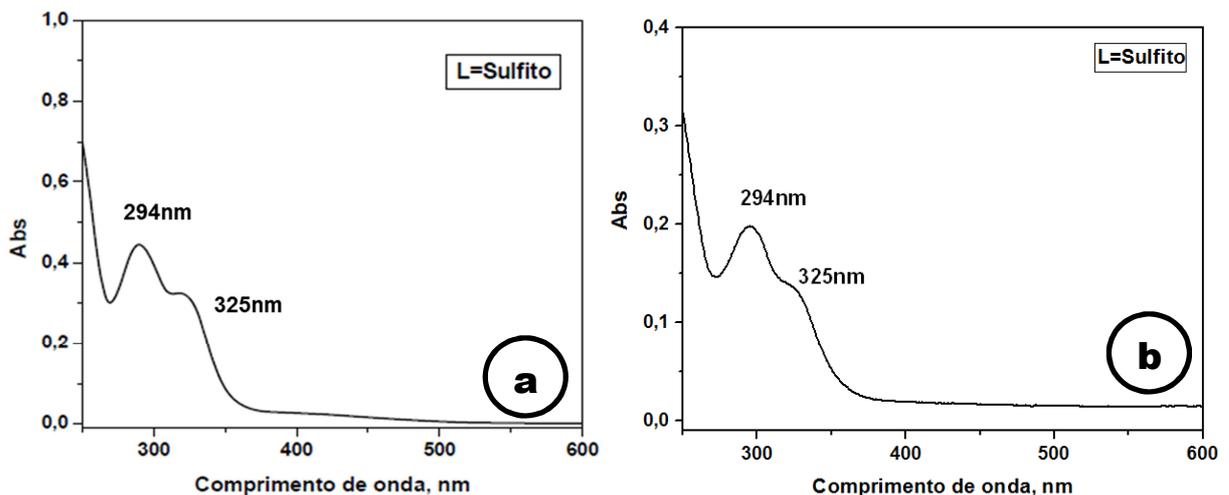


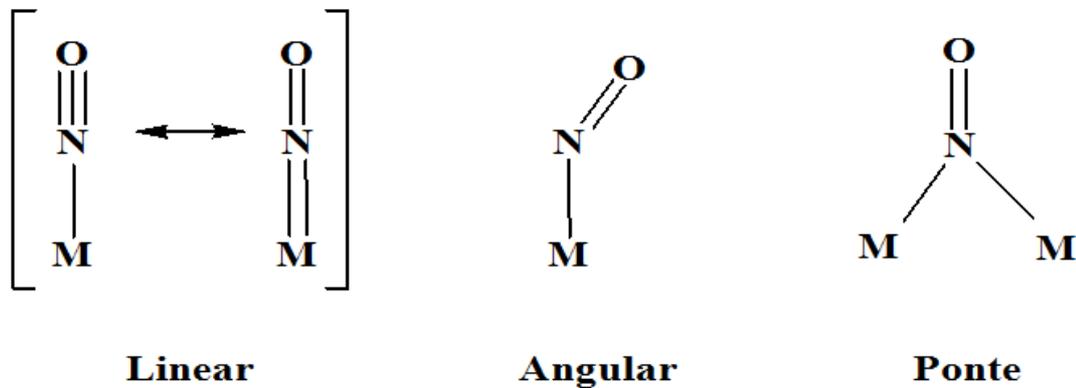
Figura 14 - a- Espectro de absorção eletrônica do complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)(\text{NO})]^{1+}$ em solução aquosa. $3,09 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. b- Espectro de absorção eletrônica do coacervato com o complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)(\text{NO})]^{1+}$ em solução aquosa. $1,44 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$.



4.1.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

O óxido nítrico pode estar coordenando ao centro metálico de forma linear, angular ou em ponte como mostra a figura 15 (LOPES, 1997).

Figura 15 - Representação das formas de coordenação do óxido nítrico ao metal.

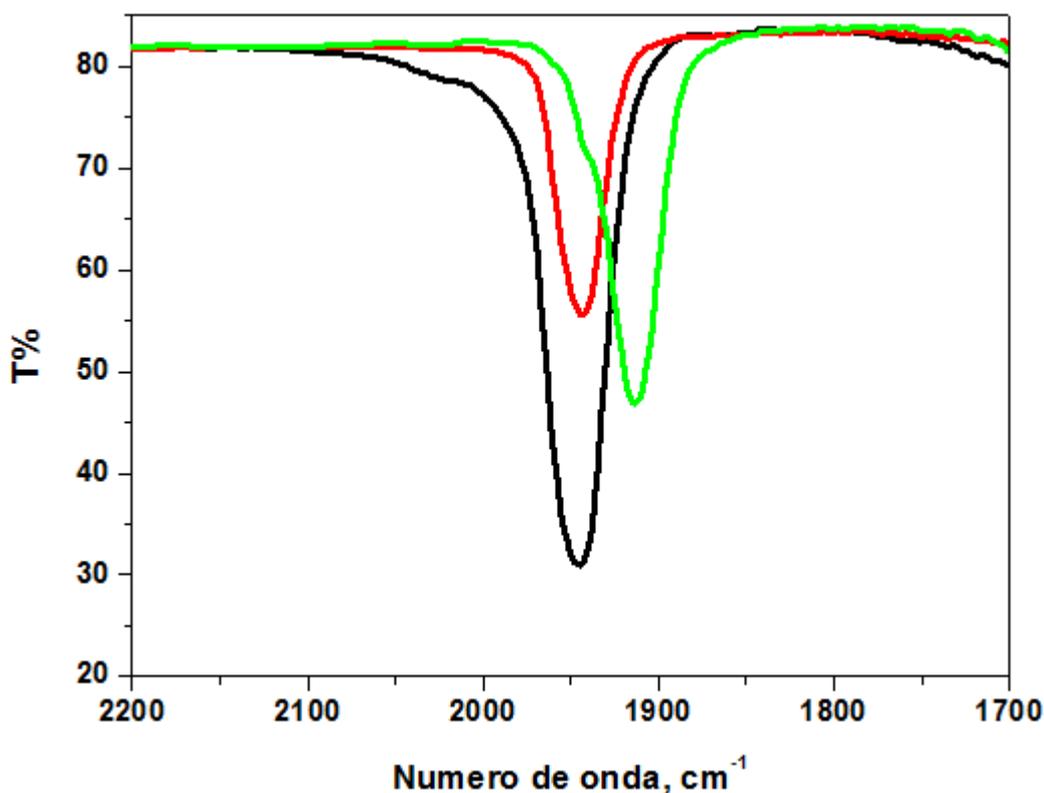


FONTE: LOPES, 1997

Quando coordenado na forma linear o estiramento NO apresenta elevados valores de frequências na região do infravermelho, possui comprimento de ligação (M-N) menor, estando o óxido nítrico coordenado ao metal na forma NO^+ possuindo ordem de ligação igual a 3. Na forma angular apresenta menores valores de frequência, comprimento de ligação (M-N) maior estando coordenado ao metal como NO^- , apresentando ordem de ligação igual 2. Dessa forma, apesar das variações que podem ocorrer devido ao tipo de metal, carga, natureza dos outros ligantes, a espectroscopia vibracional na região do infravermelho é de grande valia para caracterizar o estado de oxidação do óxido nítrico no complexo, que de acordo com a literatura quando coordenado de forma linear (NO^+) possui frequência do estiramento $\nu(\text{NO}) > 1650\text{cm}^{-1}$ e quando na forma angular $\nu(\text{NO}^-) < 1650\text{cm}^{-1}$. (NAKAMOTO, 1986; HOLANDA, 2006)

Os complexos utilizados para a preparação dos coacervatos (*cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})(\text{NO})](\text{PF}_6)_n$, onde L = 1-metilimidazol, imidazol e sulfito possuem o óxido nítrico coordenado na forma linear (NO^+) apresentando os seguintes valores de frequência referente a banda do $\nu(\text{NO})$ 1945cm^{-1} , 1943cm^{-1} e 1913cm^{-1} respectivamente, que podem ser visto na figura 16.

Figura 16 - Espectro vibracional na região do infravermelho dos complexos cis-[Ru(bipy)₂(L)(NO)](PF₆)_n, onde L= Imidazol(preto), 1-Metilimidazo(vermelho) e SO₃(verde) em pastilha de KBr.



Os coacervatos com complexo apresentaram bandas com frequência em 1938 cm^{-1} para L=Imidazol e 1937 cm^{-1} para L=1-Metilimidazol, como podem ser visto nas figuras 17 e 18, quando L=Sulfito não foi possível detectar a banda nessa região devido à baixa concentração do complexo em relação ao polifosfato.

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho mostra que, quando nos coacervatos, os complexos continuam coordenados na forma NO^+ , pois apresentam a banda referente ao estiramento N-O do ligante NO na mesma região em que ela está nos espectros que contém apenas os complexos em pastilha de KBr.

Assim, podemos concluir que o óxido nítrico mantém-se coordenado ao Ru(II) na forma de NO^+ nos complexos mesmo após a coacervação.

Figura 17 - Espectro vibracional na região do infravermelho do coacervato com o complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bipy})_2(\text{ImN})(\text{NO})](\text{PF}_6)_3$

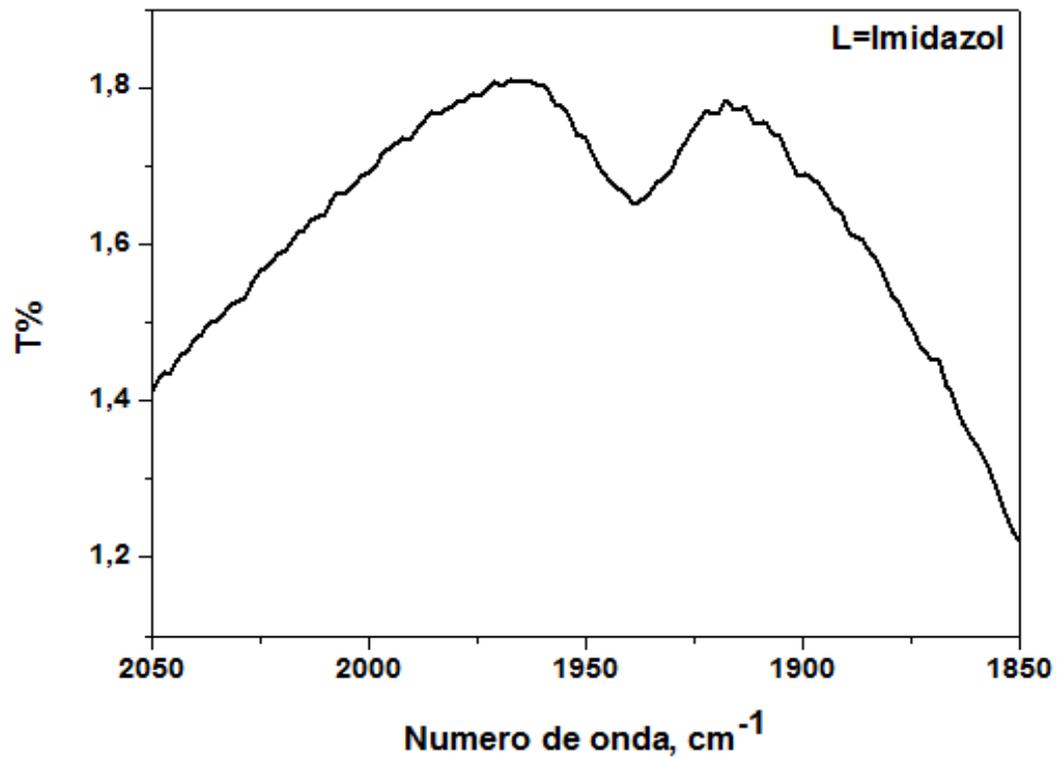
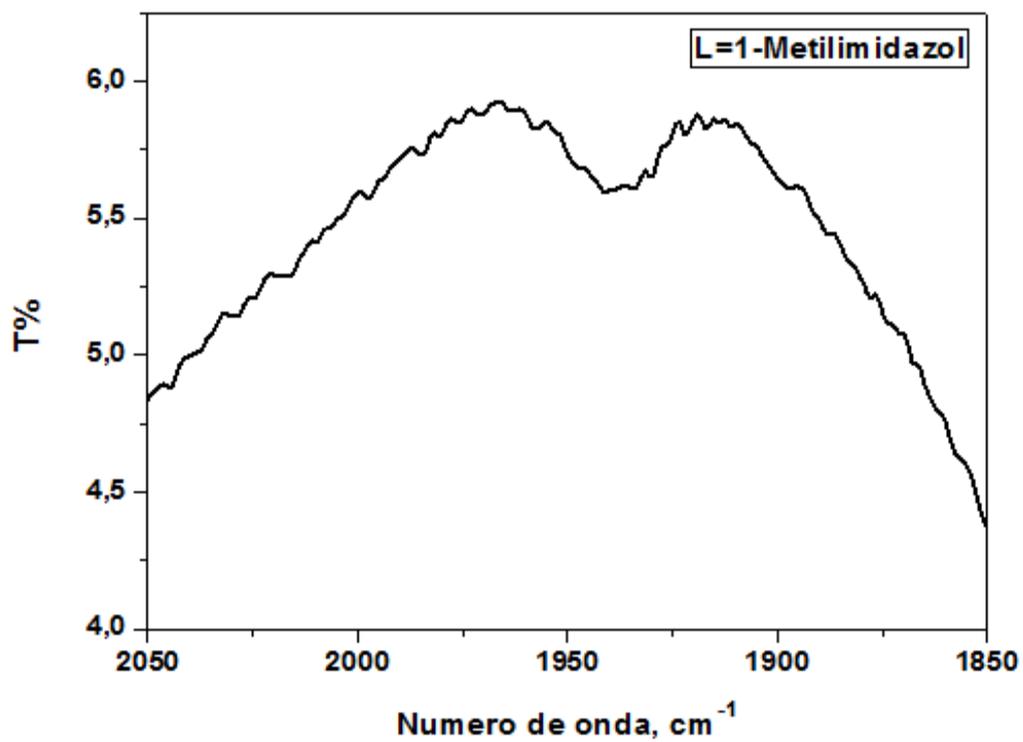


Figura 18 - Espectro vibracional na região do infravermelho do coacervato com o complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bipy})_2(\text{Meim})(\text{NO})](\text{PF}_6)_3$.



Os espectros dos coacervatos com os complexos ilustrados na figura 19 mostram que os modos vibracionais (Tabela 3) associados com o polifosfato não sofrem nenhum tipo de alteração em função do uso de um íon complexo para a formação do coacervato, dessa forma não se observou nenhuma alteração na matriz de fosfato indicando que ela manteve sua integridade isso pode ser percebido ao comparar com o espectro do polifosfato de sódio também na figura 19.

Figura 19 - Espectro vibracional na região do infravermelho do polifosfato de sódio (preto) e dos coacervatos com os complexos $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bipy})_2(\text{L})(\text{NO})](\text{PF}_6)_3$, onde L= Imidazol(vermelho), 1-Metilimidazo(azul escuro) e Sulfito(azul claro) em pastilha de KBr.

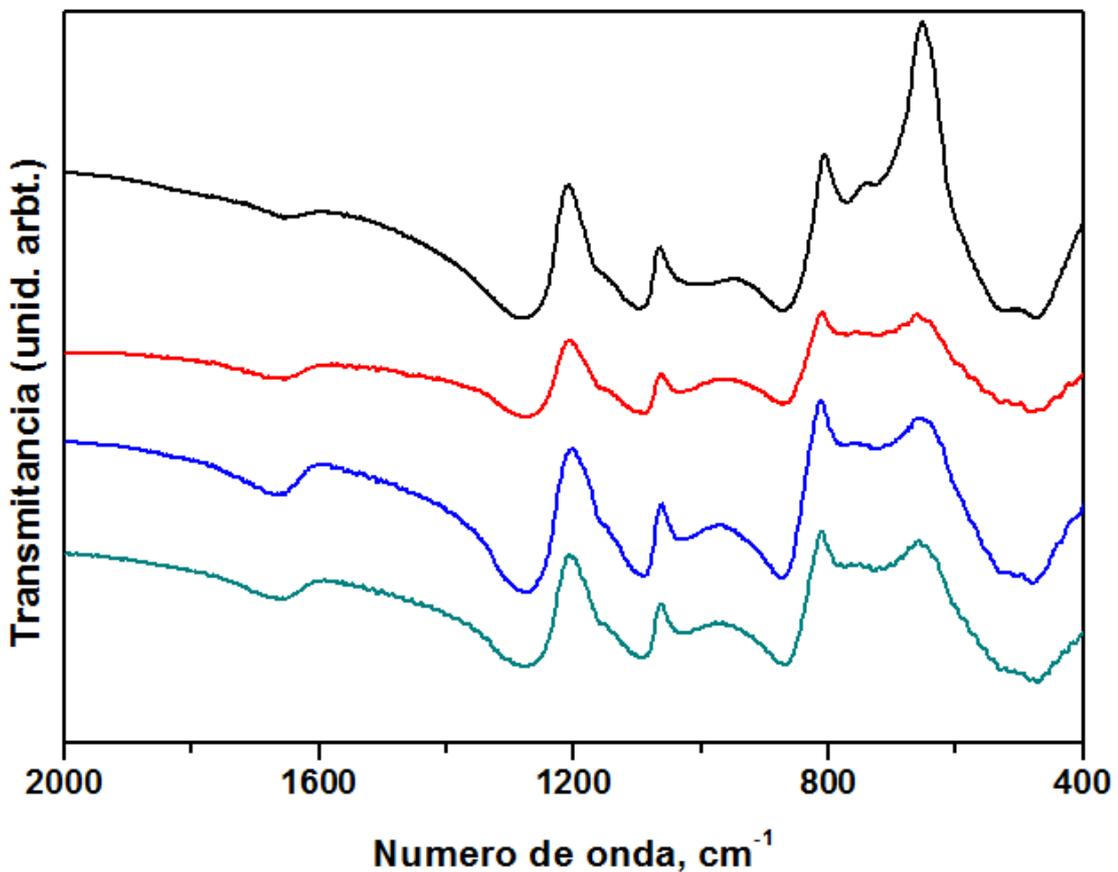


Tabela 3 - Modos vibracionais característicos para diferentes espécies fosfato

Grupo Estrutural	Número de onda, cm^{-1}	Referências
$\nu_{\text{as}}(\text{P-O-P})$ (linear)	900	DAYANAND et al (1996)
$\nu_{\text{as}}(\text{P-O-P})$ (linear)	700	HONKANEN et al. (1991)
$\nu_{\text{as}}(\text{PO}_2)^-$ espécies do meio da cadeia	1270	BARBOSA et al. (1996)
$\nu_{\text{s}}(\text{PO}_2)^-$ espécies do meio da cadeia	1160	VEASEY et al (2000)
(PO_3) terminal	1100	BARTHOLOMEW R.F. (1972)

4.1.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H

A Ressonância Magnética Nuclear de ^1H foi realizada com o intuito de visualizar os hidrogênios dos ligantes dos complexos e com isso confirmar a presença dos complexos nos coacervatos. Nos espectros foi possível visualizar os sinais dos hidrogênios dos ligantes bipyridina, imidazol e 1-metilimidazol numerados na figura 20.

As figuras 21 e 22 mostram os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H para os coacervatos com os íons complexos *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ImN})(\text{NO})]^{3+}$ e *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{Meim})(\text{NO})]^{3+}$, respectivamente. No coacervato com o *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)(\text{NO})]^+$ não foi detectado nenhum sinal devido, provavelmente, a baixa concentração do íon complexo no coacervato.

Figura 20 - Numeração dos átomos de hidrogênio dos ligantes dos complexos, sendo A=bipyridinas, B=imidazol e C=1-metilimidazol.

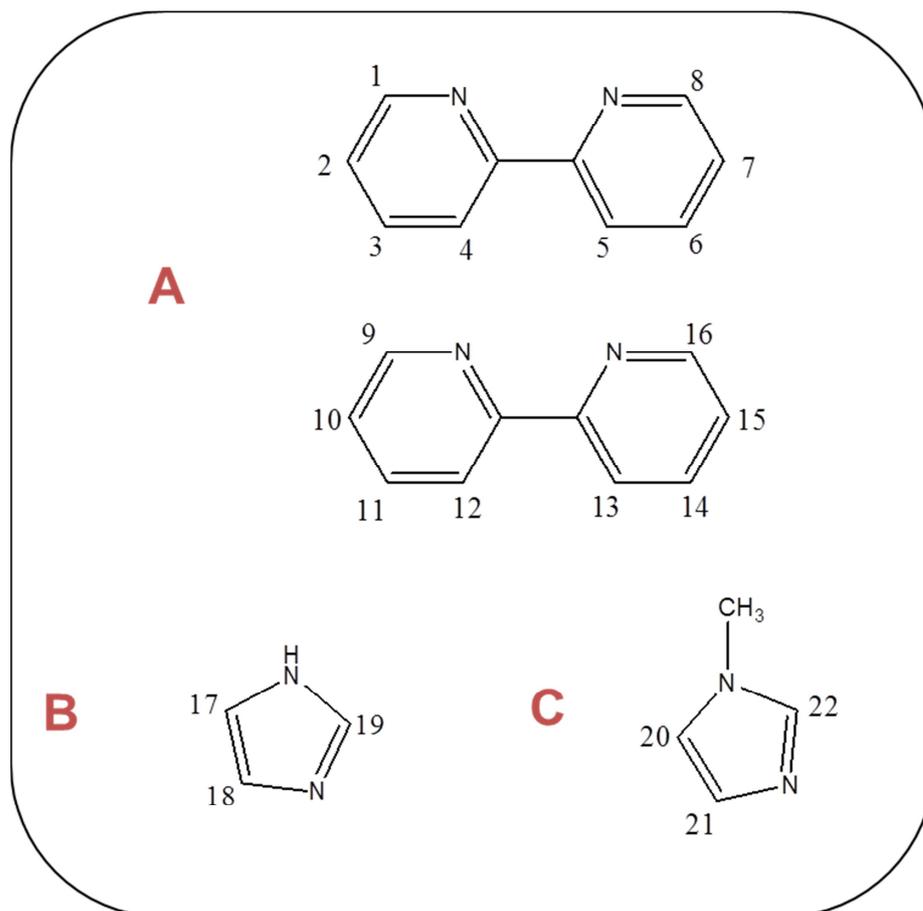


Figura 21 - Espectro de Ressonância Magnética de ^1H para o coacervato com íon complexo cis-[Ru(bpy)₂(ImN)(NO)]³⁺ em água deuterada.

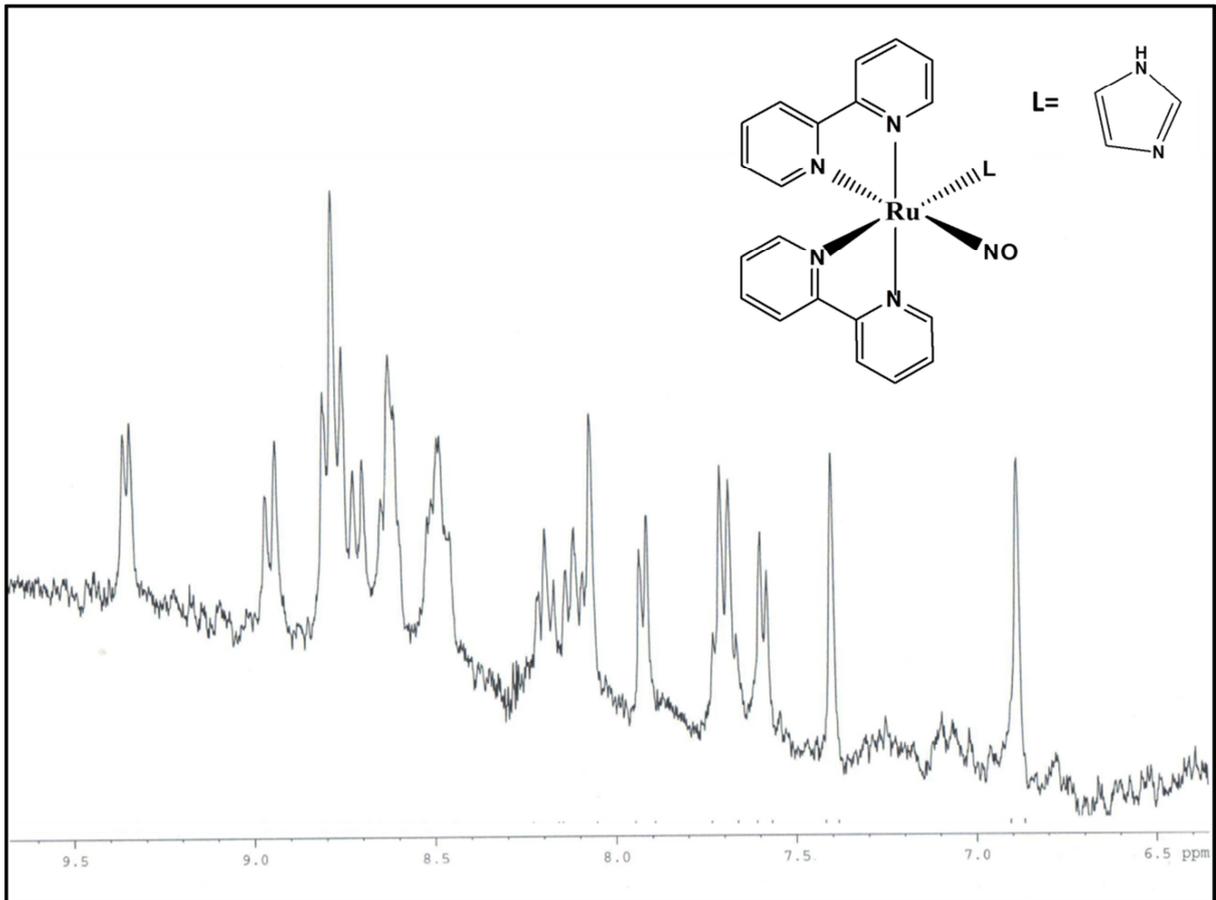
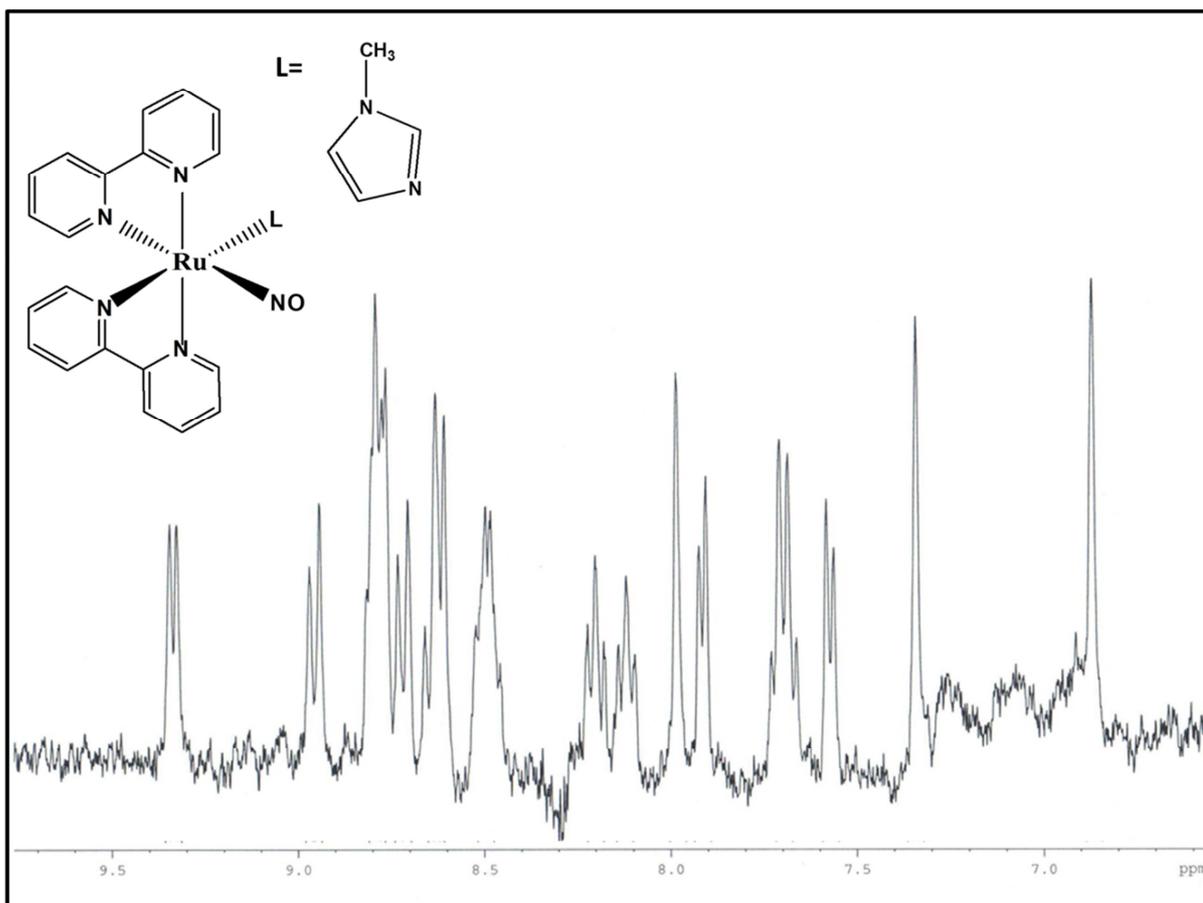


Figura 22 - Espectro de Ressonância Magnética de ^1H para o coacervato com íon complexo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{Meim})(\text{NO})]^{3+}$ em água deuterada.



Os espectros dos dois complexos nos coacervatos apresentaram comportamento similares, mostrando a presença de vários sinais na região dos aromáticos (6-9ppm), a maioria pertencente ao ligante bipyridina, que na conformação *cis* apresenta 16 sinais na região dos aromáticos, referentes aos prótons, isto é devido à distorção que ocorre nos anéis deste ligante após a coordenação. As atribuições dos hidrogênios foram feitas de acordo com a literatura (LLANGURI, 2001; BRISSARD, 2003; SILVA, 2004; VELDERS, 2000). Entre os vários sinais pode-se visualizar tanto na figura 21 como na figura 22, dois dubletos em torno de 9,3 e 8,9 ppm atribuídos aos hidrogênios 4 e 5 da bipyridina. Também é possível observar os sinais referentes aos hidrogênios dos anéis imidazólicos, os dois singletos em 6,8 e 7,4 ppm na figura 22 atribuídos aos hidrogênio 18 e 17, respectivamente e os dois singletos em 6,8 e 7,3ppm na figura 23 atribuídos aos hidrogênios 21 e 20, respectivamente. Uma vez que a coacervação é resultante da interação eletrostática entre os complexos e o polifosfato de sódio ela influencia nos valores dos sinais dos hidrogênios, influenciado na proteção do H, assim após a

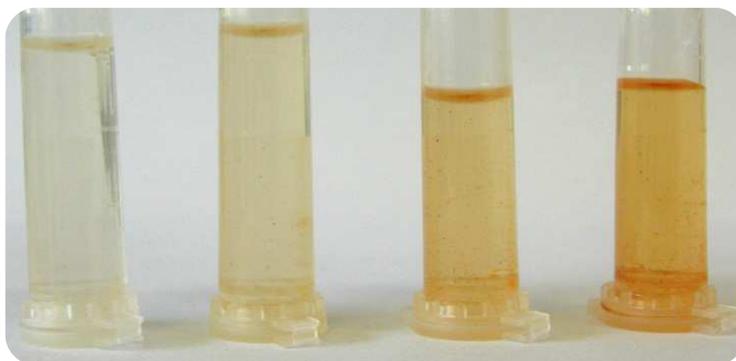
coacervação alguns sinais ficam sobrepostos ou deslocam-se em relação às posições encontradas nos espectros dos complexos antes da coacervação, dificultando a atribuição dos hidrogênios, dessa forma nem todos os hidrogênios foram atribuídos.

Porém os espectros de RMN ^1H confirmam a presença dos complexos nos coacervatos, indicando que não há alteração em sua estrutura após a coacervação.

4.2 Estudo do percentual de incorporação dos complexos nos coacervatos

De acordo com os resultados obtidos observou-se que quando se varia a quantidade de complexo na solução de partida, a quantidade de complexo no coacervato também varia, sendo que quanto maior a quantidade de complexo na solução de partida, maior a quantidade de complexo no coacervato. Esse efeito pode ser notado tanto visualmente, figura 23, como nos valores obtidos no teste quantitativo.

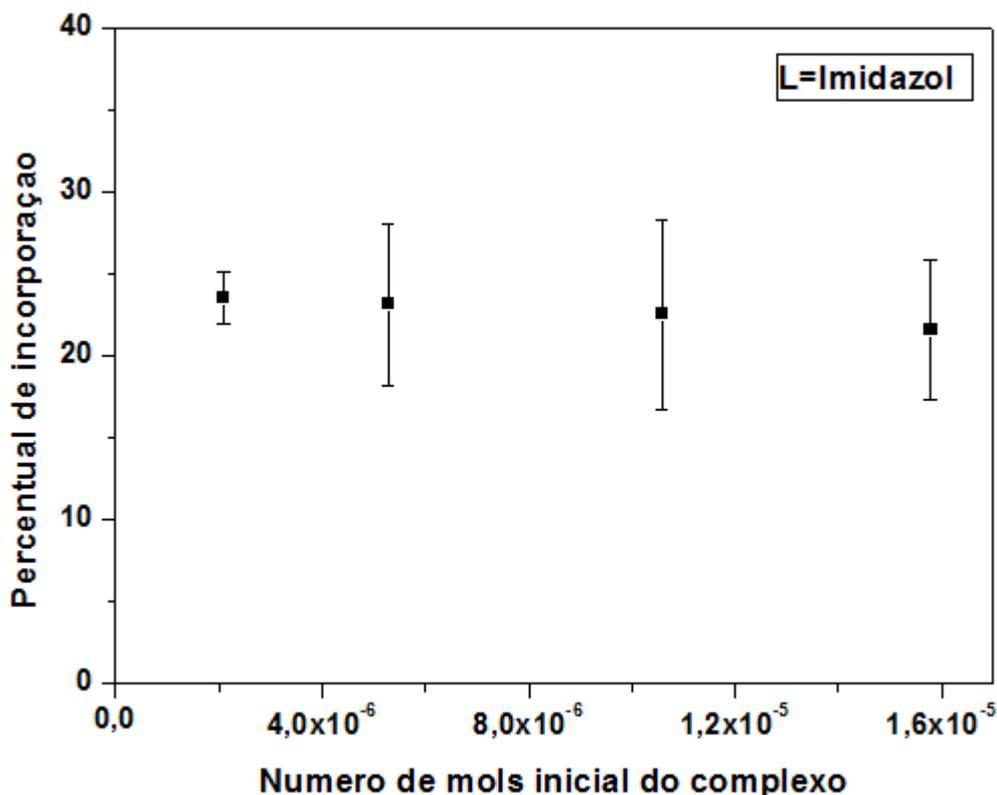
Figura 23 - Foto dos coacervatos com o íon complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bipy})_2(\text{ImN})(\text{NO})]^{3+}$, partido de 2,5,10e 15mg do complexo.



As figuras 24, 25 e 26 mostram o percentual de incorporação para os coacervatos com os complexos tendo $\text{L}=\text{imidazol}$, 1-metilimidazol e sulfito, respectivamente. O percentual de incorporação é o percentual referente ao número de mols de complexo que fica no coacervato, em relação ao número de mols de complexo utilizado na preparação da solução inicial. Observa-se que cada complexo segue um perfil no valor da porcentagem. Ou seja, observando a figura 24, onde se tem o percentual de incorporação para o complexo com o ligante imidazol, nota-se que quando aumenta-se o número de mols de complexo na solução de partida, não

ocorre alteração significativa no valor do percentual de incorporação, resultando no aumento da quantidade de complexo no coacervato, assim, quanto maior a quantidade de complexo na solução de partida maior a quantidade de complexo no coacervato

Figura 24 - Percentual de incorporação para o complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bipy})_2(\text{ImN})(\text{NO})](\text{PF}_6)_3$ no coacervato



A tabela 4, mostra os valores do percentual de incorporação para cada massa inicial utilizada nos testes com o complexo tendo L=imidazol, observar-se que os valores do percentual de incorporação são próximos. Assim, ele possuindo o mesmo valor de percentual de incorporação quando aumenta-se a quantidade inicial de complexo aumenta-se a quantidade de complexo no coacervato obtido, respeitando o percentual de incorporação.

É interessante ressaltar que nos sistemas preparados para os testes de percentual de incorporação o volume dos coacervatos foram iguais, em torno de 2mL, assim em um sistema que partiu-se de 2mg de complexo ficou em torno de 0,47 mg de complexo no coacervato e quando parte-se de 10 mg, fica em torno de 2,26 mg de complexo no coacervato, neste ultimo a quantidade de complexo no

coacervato é maior que a quantidade inicial no primeiro teste, isso mostra que mesmo o coacervato suportando uma maior quantidade de complexo, nem tudo que esta na solução é utilizado na formação do coacervato sugerindo que existe um equilíbrio que determina a quantidade de complexo que ficará no coacervato.

Tabela 4 - Valores obtidos nos testes de percentual de incorporação para o complexo tendo L=Imidazol.

massa inicial do complexo (mg)	número de mols inicial	número de mols final	massa de complexo no coacervato (mg)	percentual de incorporação(%)
2	$2,1 \times 10^{-6}$	$5,0 \times 10^{-7}$	0,47	23,55
5	$5,3 \times 10^{-6}$	$1,2 \times 10^{-6}$	1,16	23,15
10	$1,1 \times 10^{-5}$	$2,7 \times 10^{-6}$	2,26	22,56
15	$1,6 \times 10^{-5}$	$3,2 \times 10^{-6}$	3,25	21,66

FONTE: Elaborada pelo autor

O mesmo comportamento é observado nos testes com os complexos contendo L= Sulfito e L=1-Metilimidazol. Mas cada um com seu valor de percentual de incorporação. Como pode ser visto nas figuras 25 e 26.

Figura 25 - Percentual de incorporação para o complexo cis-[Ru(bipy)₂(Meim)(NO)](PF₆)₃ no coacervato.

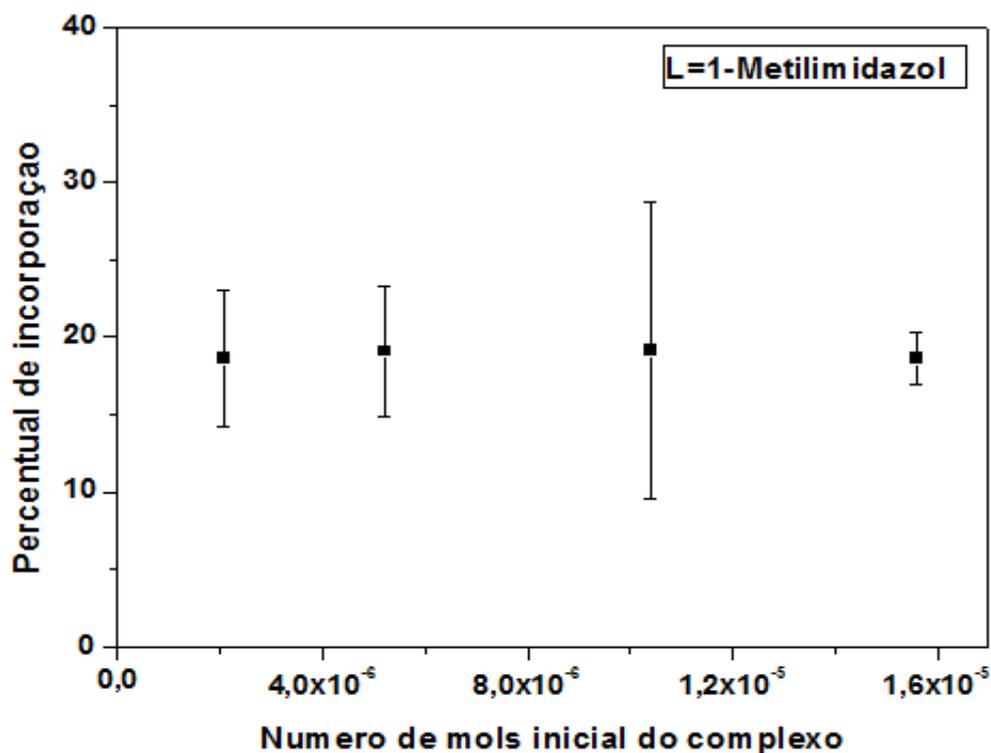
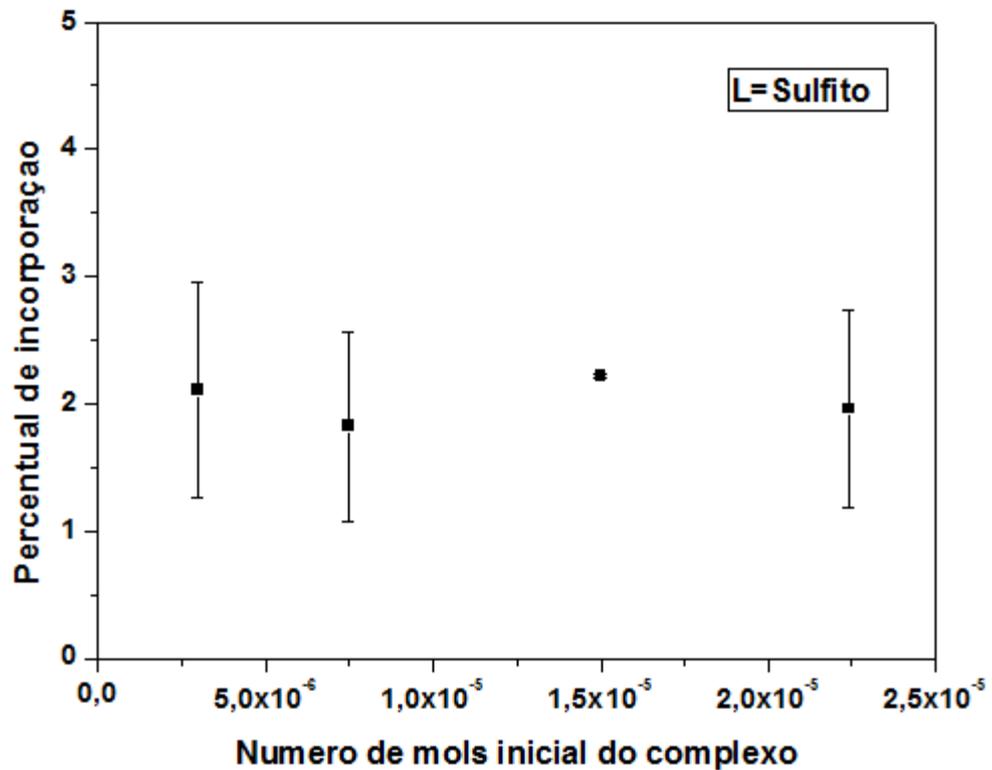
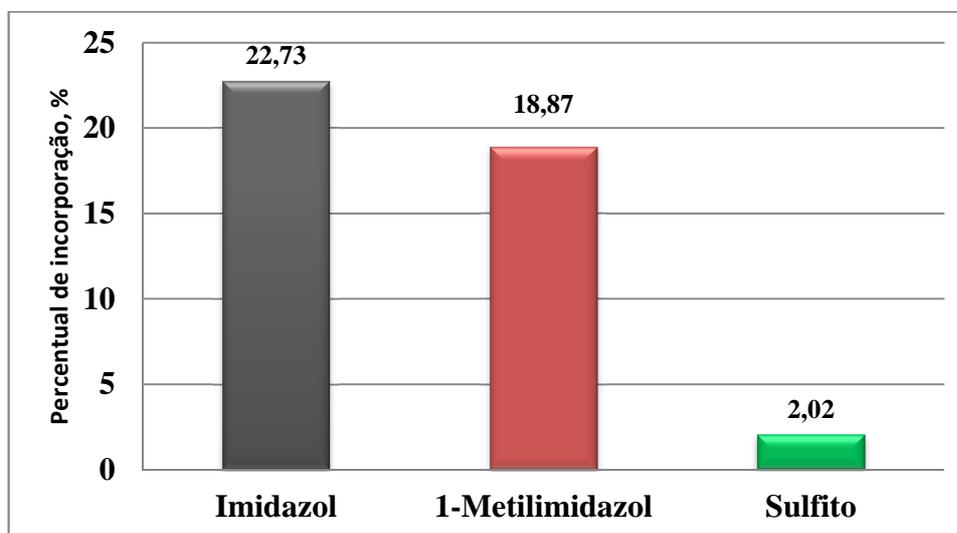


Figura 26 - Percentual de incorporação para o complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bipy})_2(\text{SO}_3)(\text{NO})](\text{PF}_6)$ no coacervato.



Um dos fatores que influenciam na formação do coacervato, entre outros, é carga do cátion (MELO, 2011). Nesse trabalho foram usados íons complexos do tipo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bipy})_2(\text{L})(\text{NO})]^{n+}$, sendo que para os ligantes Imidazol e 1-Metilimidazol o complexo possui carga +3 e para o Sulfito carga +1. Os percentuais de incorporação médios encontrados foram 2,02% para o Sulfito, 18,87% para o 1-Metilimidazol e 22,73% para o Imidazol, ilustrados na figura 27. Os dois complexos com carga +3 estão em maior quantidade no coacervato possuindo maior interação com o polifosfato, algo que pode ser reforçado pelos mapas de potencial eletrostático dos complexos.

Figura 27 - Média do percentual de incorporação para os complexo $cis-[Ru(bpy)_2(L)(NO)](PF_6)_3$, sendo L= imidazol(preto), 1-metilimidazol(vermelho) e SO_3 (verde), no coacervato.

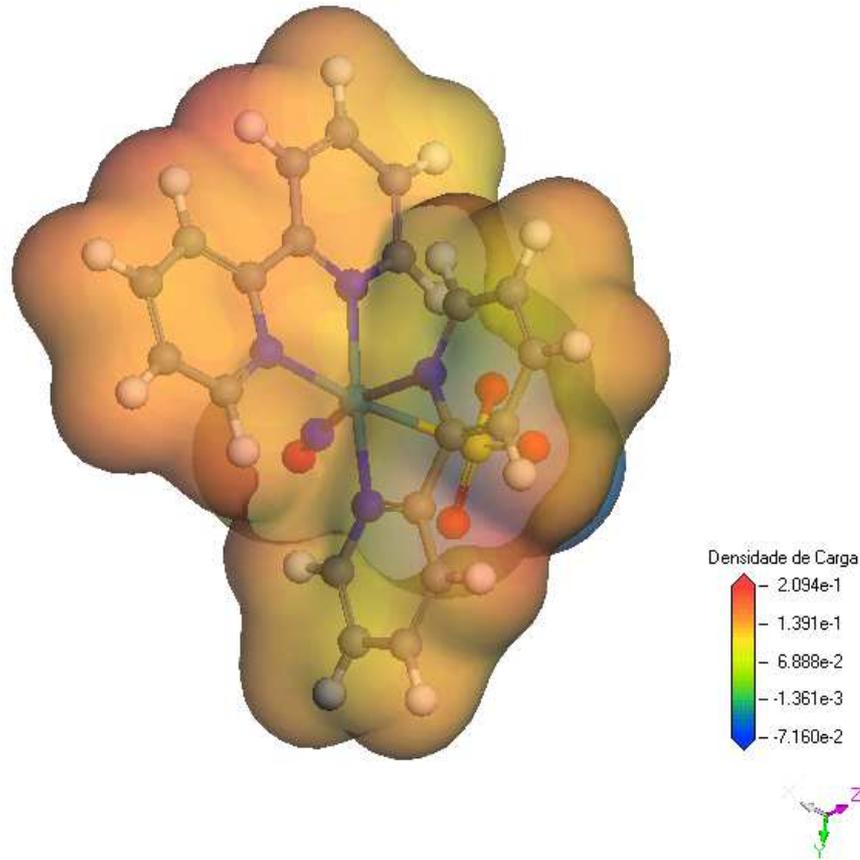


Os mapas de potencial eletrostático permitem caracterizar varias regiões em uma molécula como rica ou pobre em elétrons (ALBUQUERQUE, 2008), dependendo da escala, as cores próximas ao vermelho representam maiores valores positivos de potencial, enquanto que as cores próximas ao azul representam maiores valores negativos (laranja, amarelo e verde representam valores intermediários de potencial).

O polifosfato de sódio quando em solução possui em sua estrutura cargas negativas nos oxigênios e através delas ocorre interação com os íons complexos que possuem carga positiva. Desta forma quanto mais positiva for a superfície do íon complexo maior será a interação com o polifosfato.

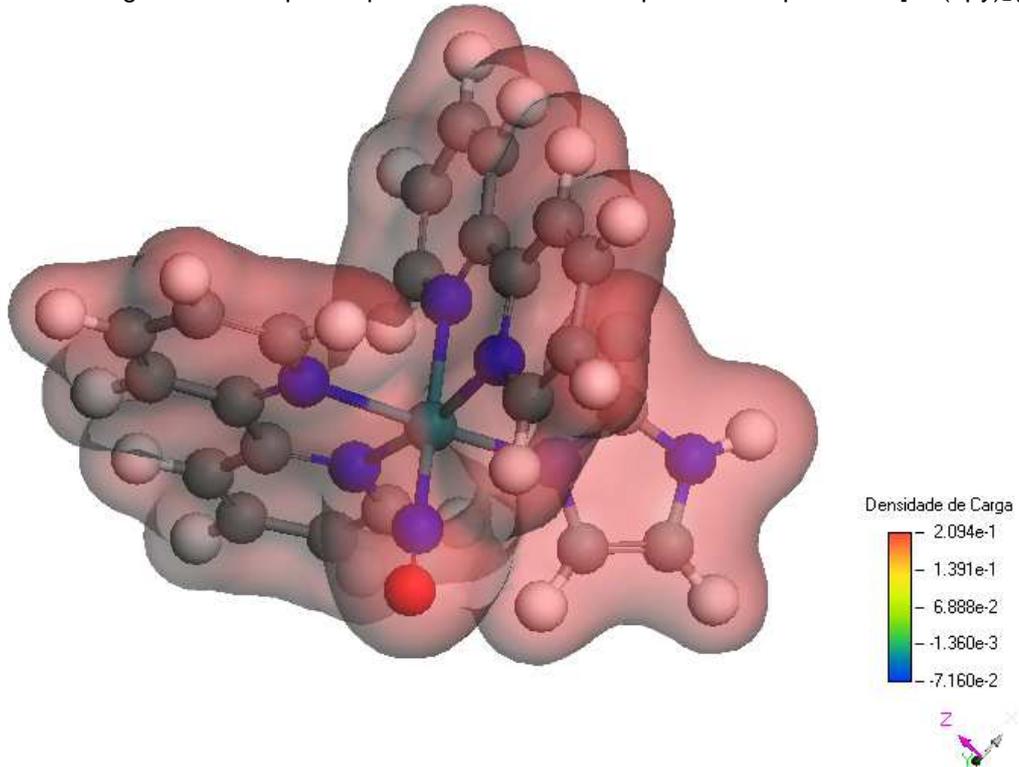
Se compararmos o mapa de potencial eletrostático dos complexos na mesma escala (ou seja, os complexos com L=Imidazol e 1-Metilimidazol na mesma faixa de potencial do complexo com o ligante sulfito), observaremos que a maior parte da superfície do íon complexo $cis-[Ru(bpy)_2(SO_3)(NO)]^{+1}$, figura 28, utilizado na preparação dos coacervatos, está nas cores vermelhas, laranja e amarelo, isto indica um potencial menos positivo comparados com o mapa de potencial eletrostático dos complexos $cis-[Ru(bpy)_2(ImN)(NO)]^{+3}$ e $cis-[Ru(bpy)_2(MeimN)(NO)]^{+3}$, figuras 29 e 30, que apresenta a cor vermelha em toda sua superfície, sugerindo que a interação do polifosfato com o complexo $cis-[Ru(bpy)_2(SO_3)(NO)]^{+1}$ deve ser menor, refletindo numa menor quantidade de complexo no coacervato preparado.

Figura 28 - Mapa de potencial eletrostático para o complexo cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)(\text{NO})]^+$.



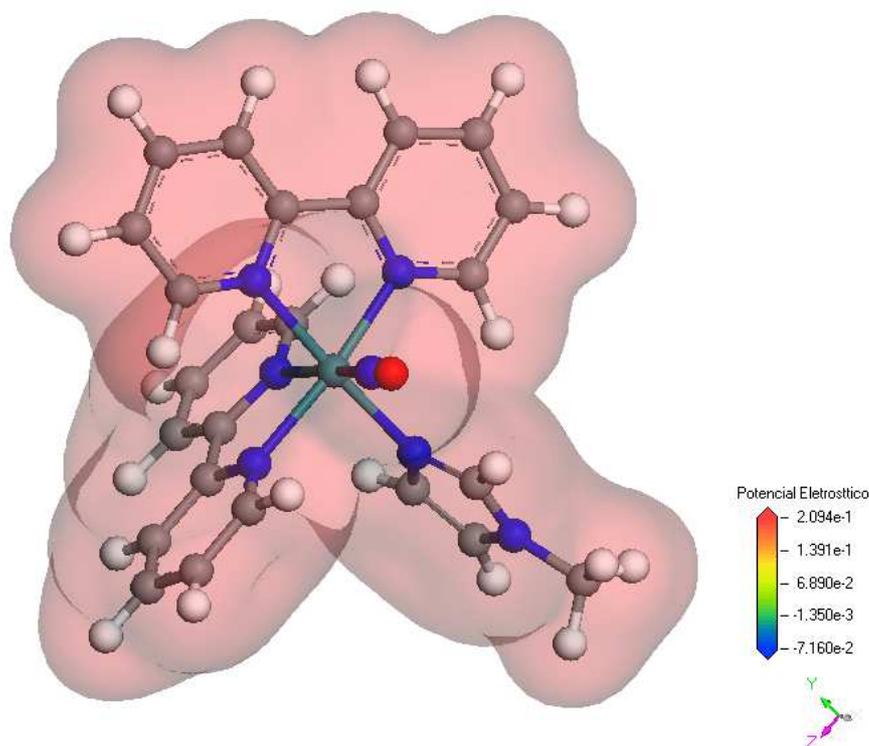
FONTE: MATERIAL STUDIO MODELING, VERSÃO 4.0, ACELRX STUDIO.

Figura 29 - Mapa de potencial eletrostático para o complexo cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ImN})(\text{NO})]^+$



FONTE: MATERIAL STUDIO MODELING, VERSÃO 4.0, ACELRX STUDIO.

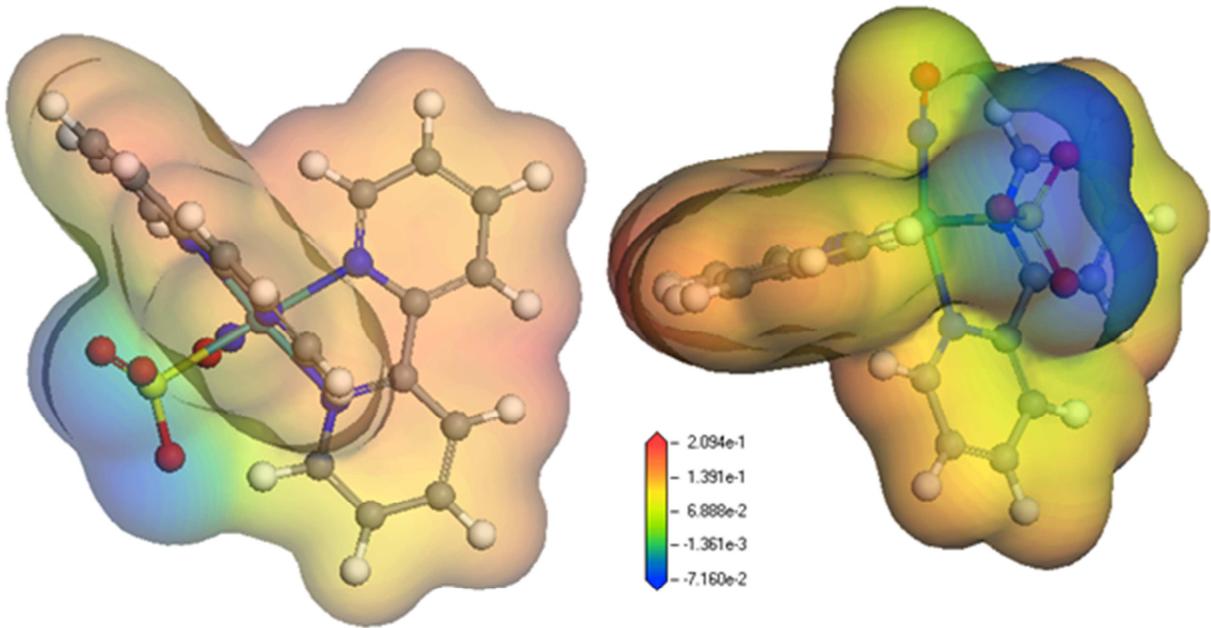
Figura 30 - Mapa de potencial eletrostático para o complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{MeimN})(\text{NO})]^{+3}$



FONTE: MATERIAL STUDIO MODELING, VERSÃO 4.0, ACELRX STUDIO.

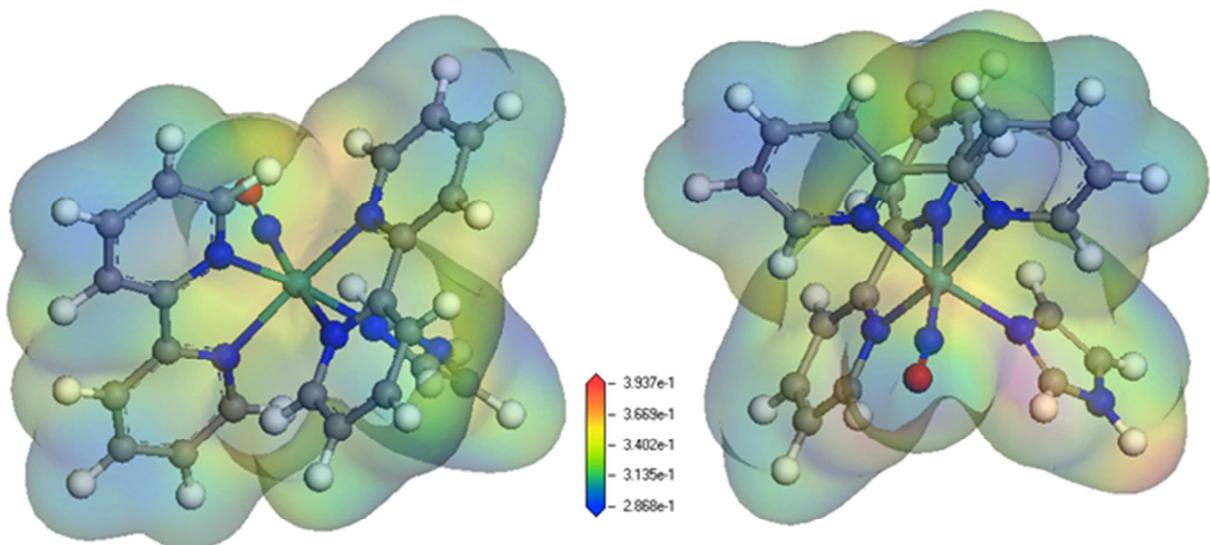
Outro fator que também pode dificultar a interação do polifosfato com o complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)(\text{NO})]^{+1}$, é a forma de como a carga positiva (+1) está distribuída nesse complexo. Na superfície desse complexo tem-se um ponto negativo, que pode ser visto na figura 31 (mapa de potencial eletrostático em ângulos diferentes). Esse ponto negativo que fica no sulfito pode provocar repulsão entre o complexo e o polifosfato dificultando a agregação do complexo no polifosfato resultando em uma menor quantidade de complexo no coacervato. Já os complexos $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ImN})(\text{NO})]^{+3}$ e $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{MeimN})(\text{NO})]^{+3}$ apresentam uma distribuição de carga mais homogênea em sua superfície, algo que pode ser observado nas figuras 32 e 33 que ilustra o mapa de potencial eletrostática em uma faixa de potencial mais apropriada (permite visualizar as variações de potencial na superfície), essa homogeneidade pode estar favorecendo a interação desses complexos com o polifosfato.

Figura 31 - Mapa de potencial eletrostático para o complexo cis-[Ru(bpy)₂(SO₃)(NO)]⁺¹(MATERIAL STUDIO MODELING, VERSÃO 4.0, ACELRX STUDIO).



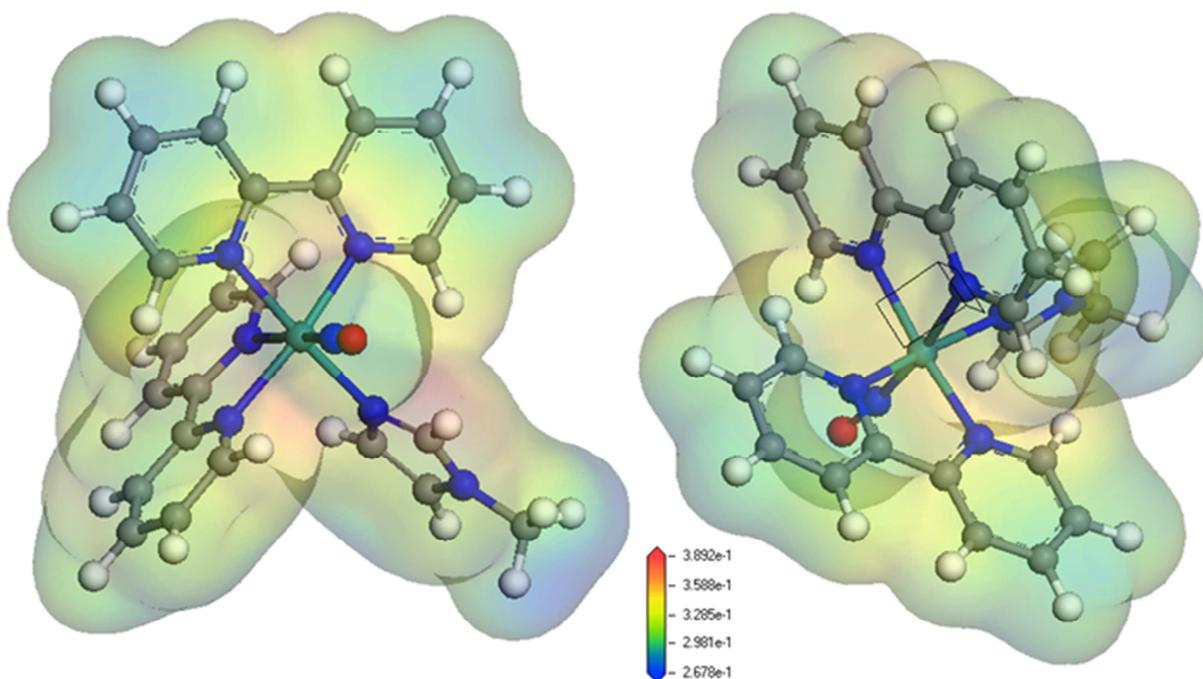
FONTE: MATERIAL STUDIO MODELING, VERSÃO 4.0, ACELRX STUDIO.

Figura 32 - Mapa de potencial eletrostático para o complexo cis-[Ru(bpy)₂(ImN)(NO)]⁺³



FONTE: MATERIAL STUDIO MODELING, VERSÃO 4.0, ACELRX STUDIO.

Figura 33 - Mapa de potencial eletrostático para o complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{MeimN})(\text{NO})]^{+3}$



FONTE: MATERIAL STUDIO MODELING, VERSÃO 4.0, ACELRX STUDIO.

Entre os complexos $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ImN})(\text{NO})]^{+3}$ e $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{MeimN})(\text{NO})]^{+3}$ observa-se uma pequena diferença entre os percentuais de incorporação, mesmo sendo bastante semelhantes e possuindo mesma carga (+3), dois fatores podem estar contribuindo para que ocorra essa diferença, um deles é o potencial eletrostático que ao observar as figuras 29 e 30 parecem bastante semelhantes, mas na escala (maior e menor valor de potencial presente no complexo) das figuras 32 e 33 pode-se observar que o complexo com o ligante imidazol possui valores mais positivos, assim maior interação resultando em maior quantidade de complexo no coacervato, um outro fator que pode estar contribuindo é o tamanho dos complexos, a diferença entre eles é o grupo metila no ligante imidazol no complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{MeimN})(\text{NO})]^{+3}$ proporcionando a esse complexo tamanho maior, dificultando a interação desse complexo.

Os resultados mostram, portanto, que a distribuição de carga no íon complexo exerce uma forte influência na formação do coacervato. Complexos com regiões mais positivas tendem a formar coacervatos com maior facilidade.

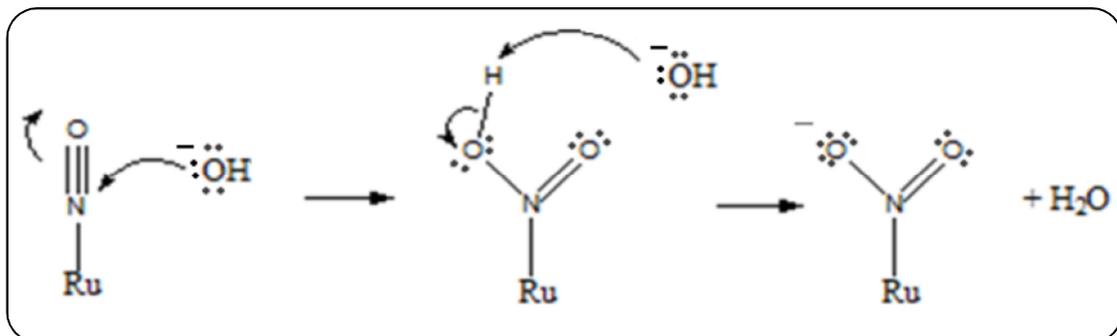
4.3 Estudo da utilização dos coacervatos no controle da conversão de nitrosilo complexos a nitro-complexos.

Alguns nitrosilos complexos sofrem conversão de nitrosilo-complexo a nitro-complexo em pH acima de 7,0, o que não é desejável para uso desses complexos como doadores de óxido nítrico em sistemas biológicos, uma vez que o pH fisiológico é 7,4. Os complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})(\text{NO})]^{+n}$ sofrem conversão com o aumento do pH de acordo com a reação ilustrada na figura 34. A conversão depende da natureza do ligante, pois cada composto possui um pH específico para que a reação ocorra, pois depende da vulnerabilidade do ligante NO^+ ao ataque do OH^- (SILVA et al, 2006; LIMA, 2007) e a figura 35 mostra o possível mecanismo para o ataque nucleofílico ao óxido nítrico.

Figura 34 - Reação geral para conversão de nitrosilo complexos a nitro-complexos em função do pH.



Figura 35 – possível mecanismo para o ataque nucleofílico ao óxido nítrico.



FONTE: CANDIDO, 2011.

Os valores de pH e constante de equilíbrio da interconversão nitrosil-nitro reportados na literatura (SILVA et al, 2006) para os complexos utilizados nesse estudo apresenta-se na tabela 5.

Tabela 5 - Constante e pH de equilíbrio da interconversão nitrosil-nitro

Complexo	Keq	pH
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ImN)(NO)] ⁺³	1,42.10 ¹⁶	5,54
<i>cis</i> - [Ru(bpy) ₂ (SO ₃)(NO)] ⁺¹	1,74.10 ⁷	10,35

FONTE: (SILVA et al, 2006)

Não foi encontrado valores para o complexo [Ru(bpy)₂(MeimN)(NO)]⁺³, mas admite-se que ele possui valores próximos ao complexo [Ru(bpy)₂(ImN)(NO)]⁺³ devido a semelhança entre os dois complexos. Como pode ser visto na tabela 5, o pH de equilíbrio para o complexo com o ligante imidazol é 5,54, nesse pH, o nitrosilo e o nitro-complexo encontram-se em mesma quantidade, quando aumenta-se o pH, favorece a formação do nitro-complexo, assim quando em pH fisiológico, maior parte do complexo encontra-se na forma nitro, já o complexo com o ligante sulfito encontra-se estável em pH fisiológico, dessa forma os estudos de estabilidade não foram realizados para o complexo tendo o sulfito como ligante.

A estabilidade dos complexos pode ser monitorada por espectroscopia de absorção no UV-Vis já que o nitro complexo apresenta uma banda em torno de 450 nm, que é resultante do deslocamento da banda de transferência de carga do metal para o ligante TCML ((bpy) $\pi^* \leftarrow d\pi Ru^{II}$) que se apresenta em 332nm quando o complexo está na forma nitrosil. A mudança nitrosil-nitro ocasiona uma desestabilização na esfera de coordenação do metal provocando o deslocamento dessa banda para maiores comprimentos de onda. (SILVA, 2004; CANDIDO, 2011).

Nos coacervatos esses complexos apresentaram-se estáveis frente a conversão nitrosilo-nitro como mostram as figuras 36 e 37 que representam o monitoramento do coacervato com o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(ImN)(NO)]⁺³ e *cis*-[Ru(bpy)₂(Meim)(NO)]⁺³ por um período de um ano, mostrando que não ocorre o surgimento da banda em torno de 450nm, evidenciando, portanto, que a interação do polifosfato de sódio com os nitrosilos complexos pode ser uma ferramenta importante para evitar a conversão nitrosilo a nitro-complexo.

Figura 36 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento de estabilidade do complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ImN})(\text{NO})]^{3+}$ no coacervato.

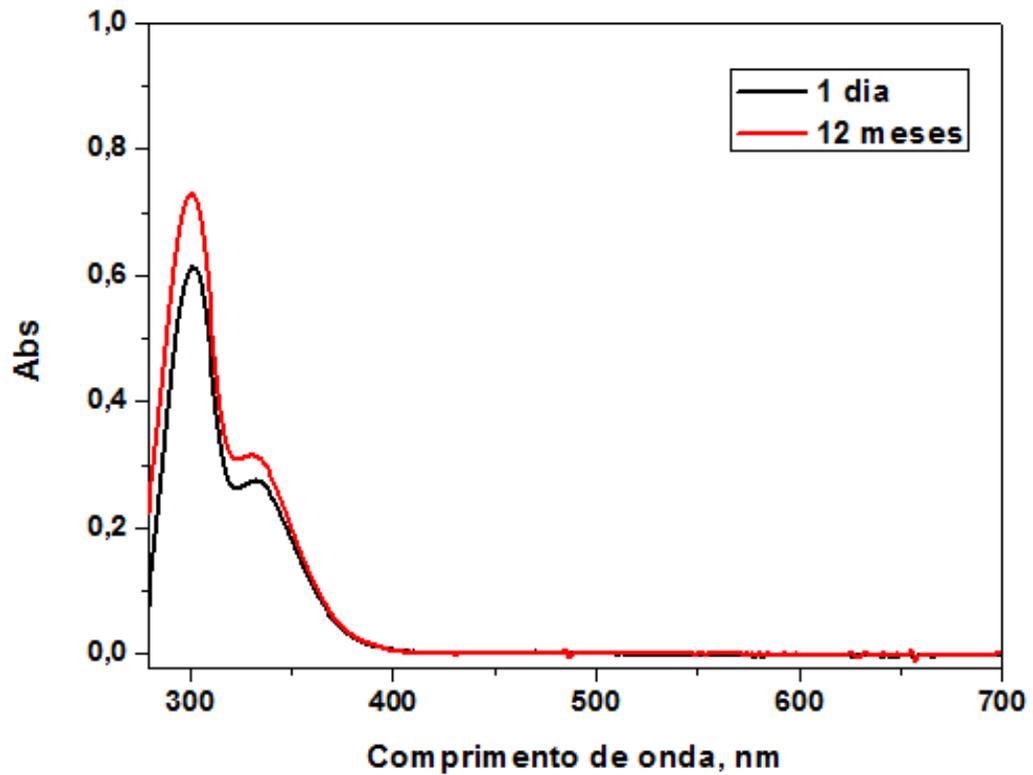
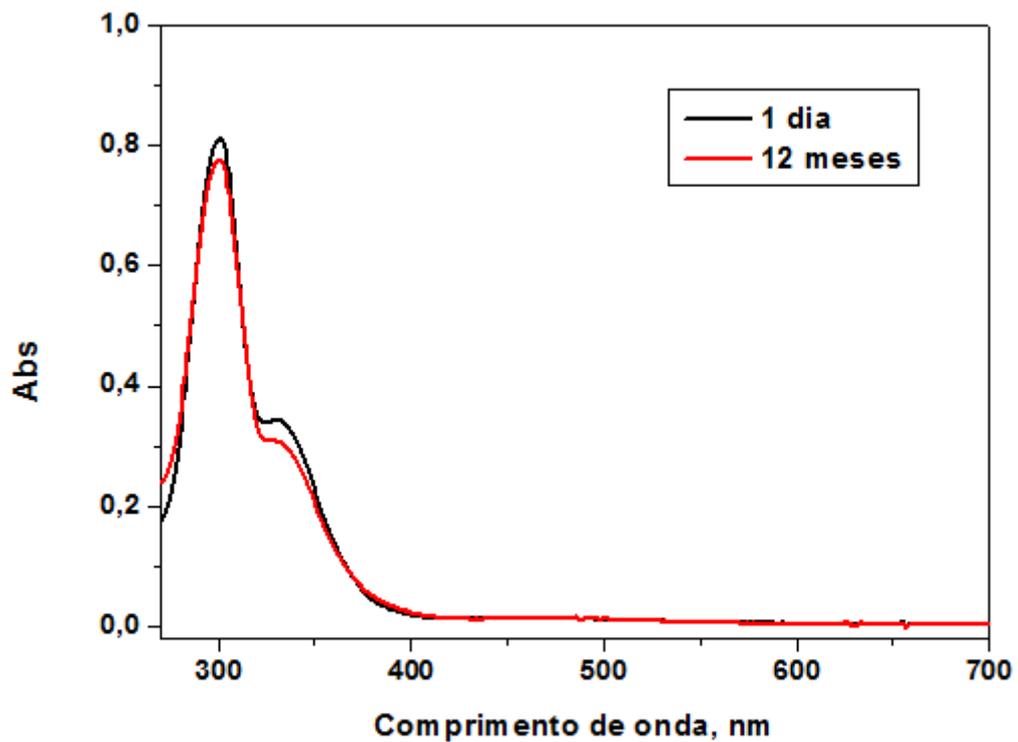


Figura 37 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento de estabilidade do complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{Meim})(\text{NO})]^{3+}$ no coacervato.



Foi-se estudada a estabilidade desses complexos como coacervatos quando dissolvidos em tampão fosfato pH 7, e dos complexos livres em solução nas mesmas condições para efeito de comparação. As figuras 38 e 39 mostram as variações dos espectros dos complexos no tampão mostrando que nesse pH a reação é bem mais rápida comparada com o que ocorre quando o coacervato é dissolvido no tampão, figuras 40 e 41. Nos complexos livres são necessários apenas cerca de 200 segundos para a reação ocorrer por completo atingindo o equilíbrio que é visualizado pela a estabilização da banda em 450nm na curva de absorvância por tempo, já nos coacervatos a reação foi monitorada por mais de duas horas e a intensidade da banda em 450nm na curva de absorvância por tempo, não estabilizou.

Figura 38 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento de estabilidade do complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ImN})(\text{NO})]^{3+}$ em tampão fosfato pH 7,0 T 25°C.

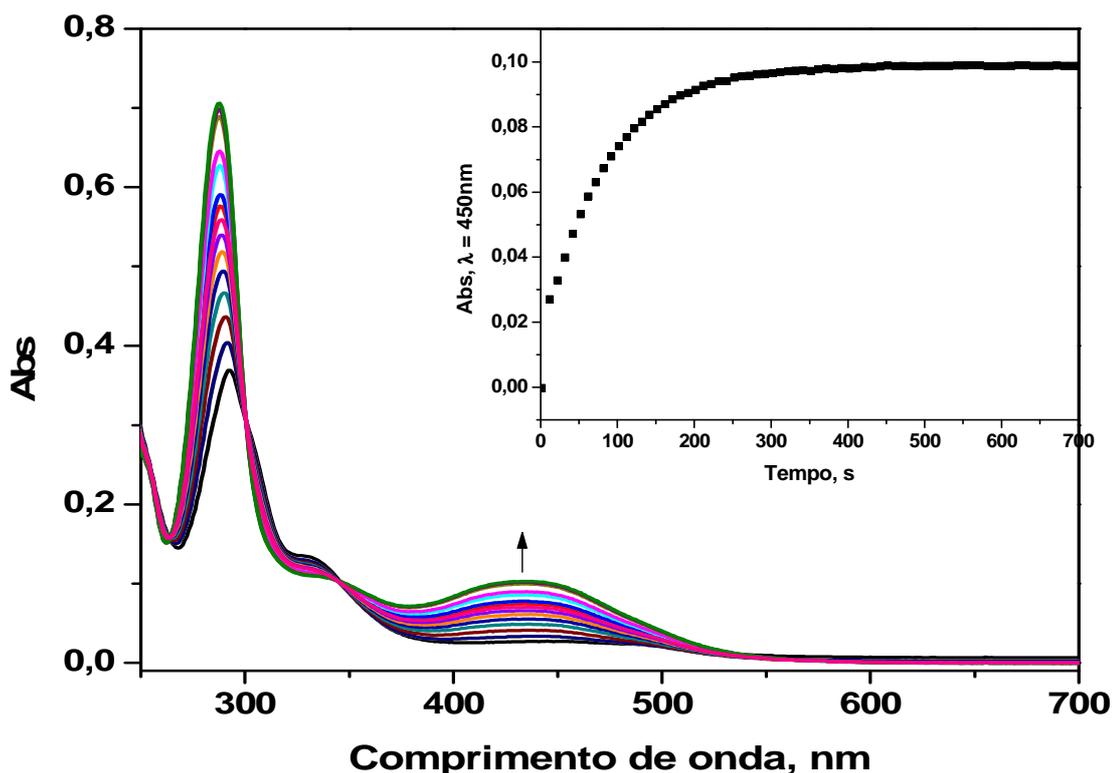


Figura 39 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento de estabilidade do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(Meim)(NO)]}^{3+}$ em tampão fosfato pH 7,0 T 25°C.

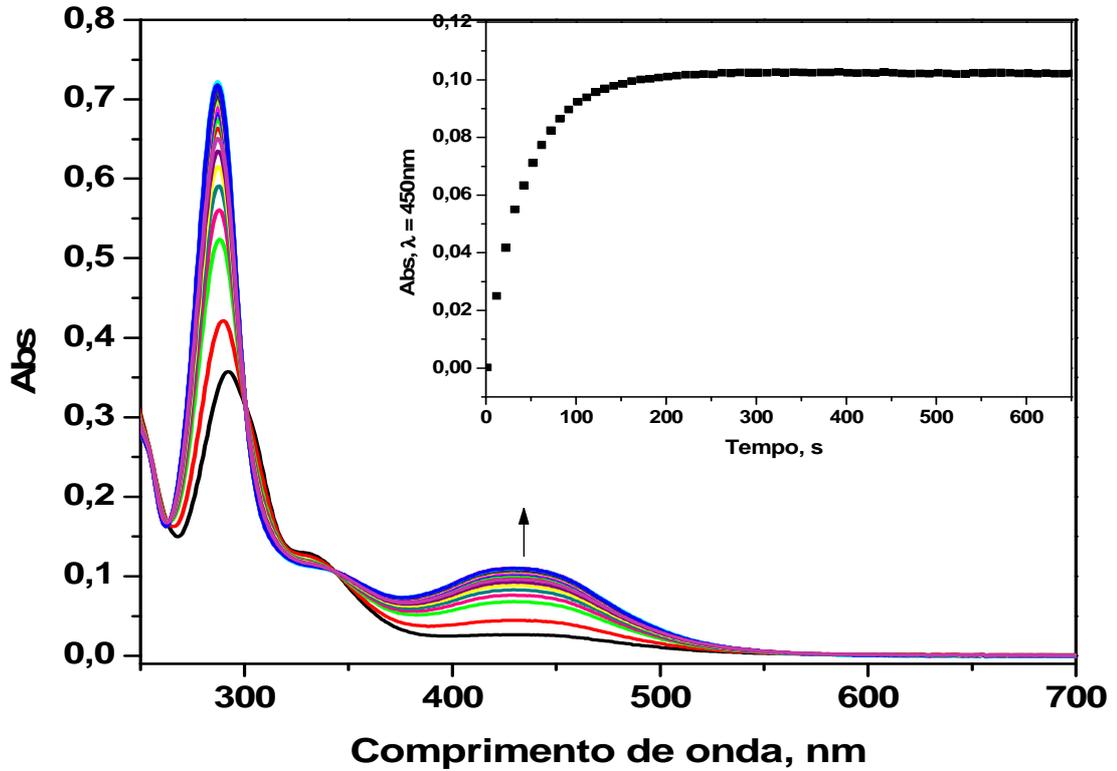


Figura 40 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento de estabilidade do coacervato com o complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(ImN)(NO)]}^{3+}$ em tampão fosfato pH 7,0 T 25°C.

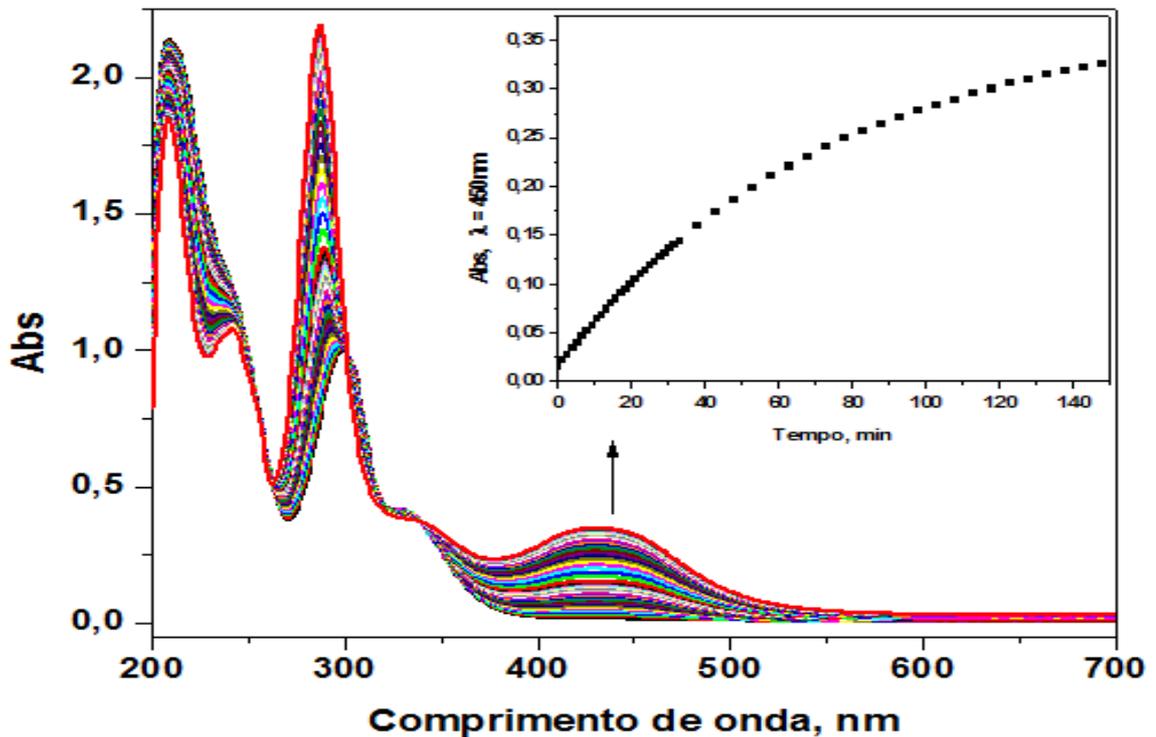
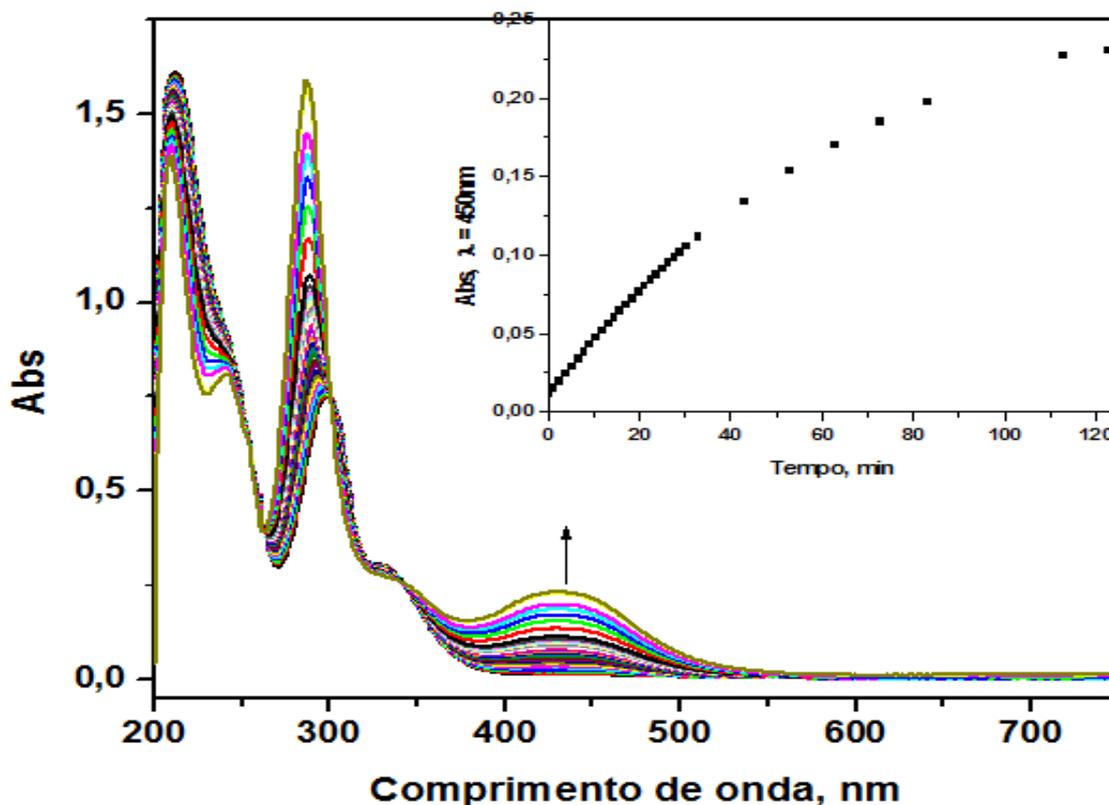


Figura 41 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento de estabilidade do coacervato com o complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{Meim})(\text{NO})]^{3+}$ em tampão fosfato pH 7,0 T 25°C.



Os resultados sugerem mais uma vez que a interação do polifosfato de sódio com o íon complexo influencia na conversão nitrosilo-nitro de forma positiva, diminuindo a velocidade dessa conversão. Algo que é bastante interessante visando as possíveis aplicações desses sistemas.

4.4 Liberação do óxido nítrico

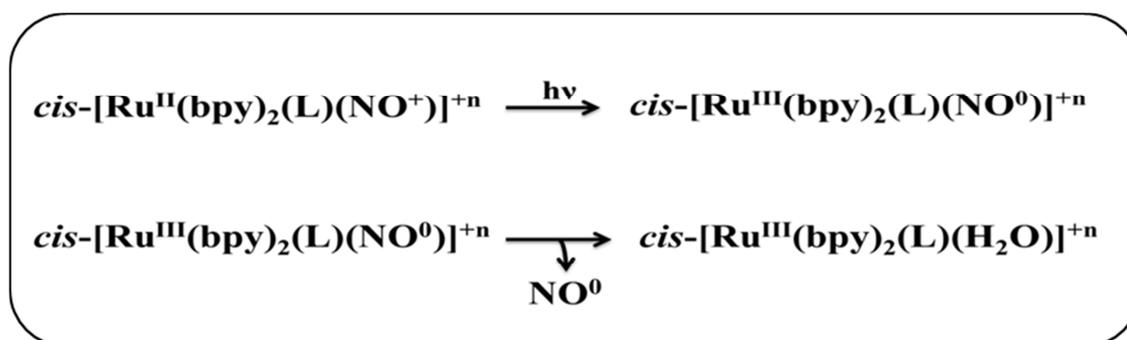
4.4.1 Fotoquímica

Estando a molécula de óxido nítrico coordenada ao centro metálico é necessário que haja algum tipo de redução para que ocorra a liberação da molécula. Uma das formas de promover essa redução e consequente liberação do óxido nítrico é por meio da irradiação de luz. (CICILLINI et al, 2009; LIMA et al, 2007; SANTANA et al, 2010). A literatura reporta que os complexos $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})(\text{NO})]^{+n}$ sendo L= imidazol, 1-metilimidazol e sulfito apresentam liberação do óxido nítrico em solução

aquosa com irradiação em 377nm (CANDIDO, 2010) e os complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(L)(NO)]⁺ⁿ sendo L= imidazol e sulfito, apresentam liberação com luz branca (SILVA, 2004).

O trabalho que trata do estudo de liberação do NO nos complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(L)(NO)]⁺ⁿ sugere o percurso de redução e liberação fotoquímica do óxido nítrico ilustrado na figura 42. (CANDIDO, 2010)

Figura 42 - Sugestão do percurso para liberação fotoquímica do óxido nítrico.



FONTE: CANDIDO, 2010

De acordo com o percurso proposto, primeiro ocorre a redução do óxido nítrico e a oxidação do centro metálico, depois o NO sai da esfera de coordenação e entra uma molécula de H₂O(solvente) em seu lugar. No entanto, às vezes a espécie Ru^{III}-H₂O não aparece no produto da reação fotoquímica e sim a espécie Ru^{II}-H₂O. Isso se dá devido há uma redução espontânea do centro metálico.

Conhecendo que esses complexos liberam o óxido nítrico por meio fotoquímico, em solução aquosa é importante estudar como será seu comportamento estando no coacervato. As figuras 43, 44 e 45, mostram os espectros eletrônicos dos acompanhamentos das irradiações dos coacervatos com os complexos. O perfil espectral é semelhante aos descritos na literatura para esses complexos em solução aquosa (CANDIDO, 2010; SILVA, 2002) que mostra o surgimento da banda em torno de 500nm característica do aqua complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(L)(H₂O)]⁺ⁿ, indicado que ocorreu a liberação do NO, mesmo o complexo estando no coacervato.

Figura 43 - Espectros eletrônicos do íon complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ImN})(\text{NO})]^{+3}$, no coacervato durante a irradiação em 350nm.

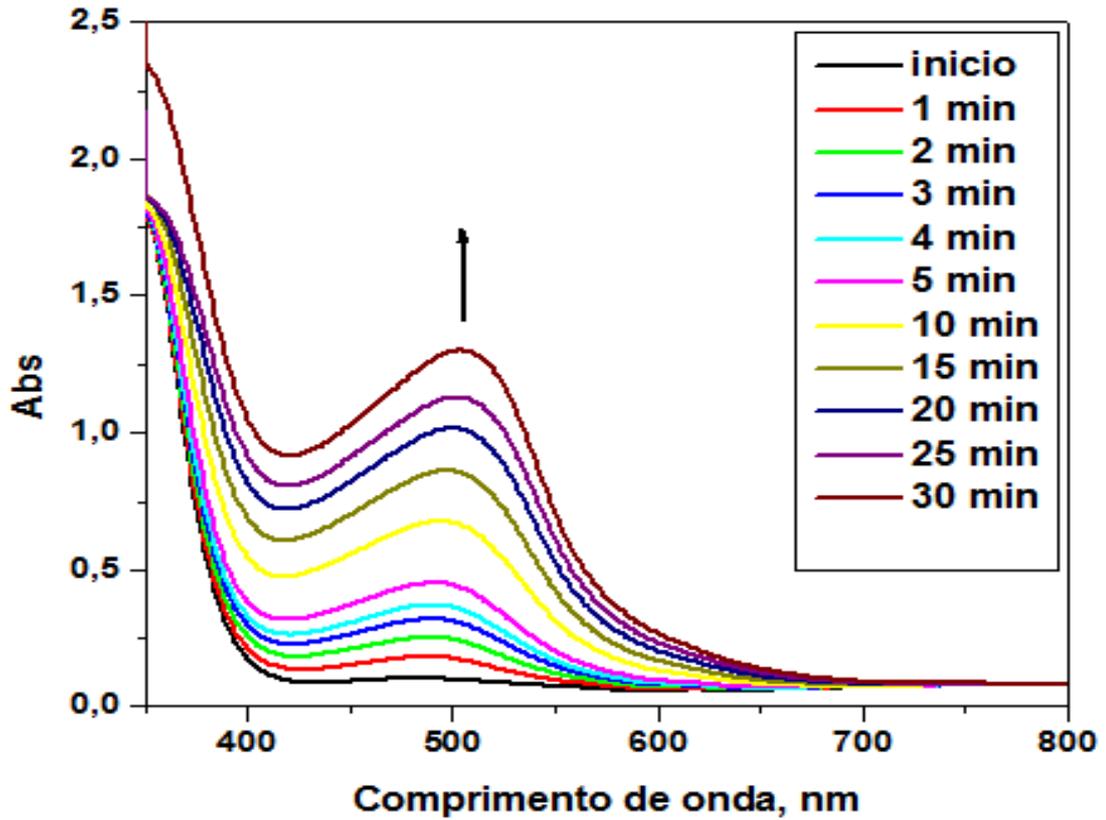


Figura 44 - Espectros eletrônicos do íon complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{MeimN})(\text{NO})]^{+3}$, no coacervato durante a irradiação em 350nm.

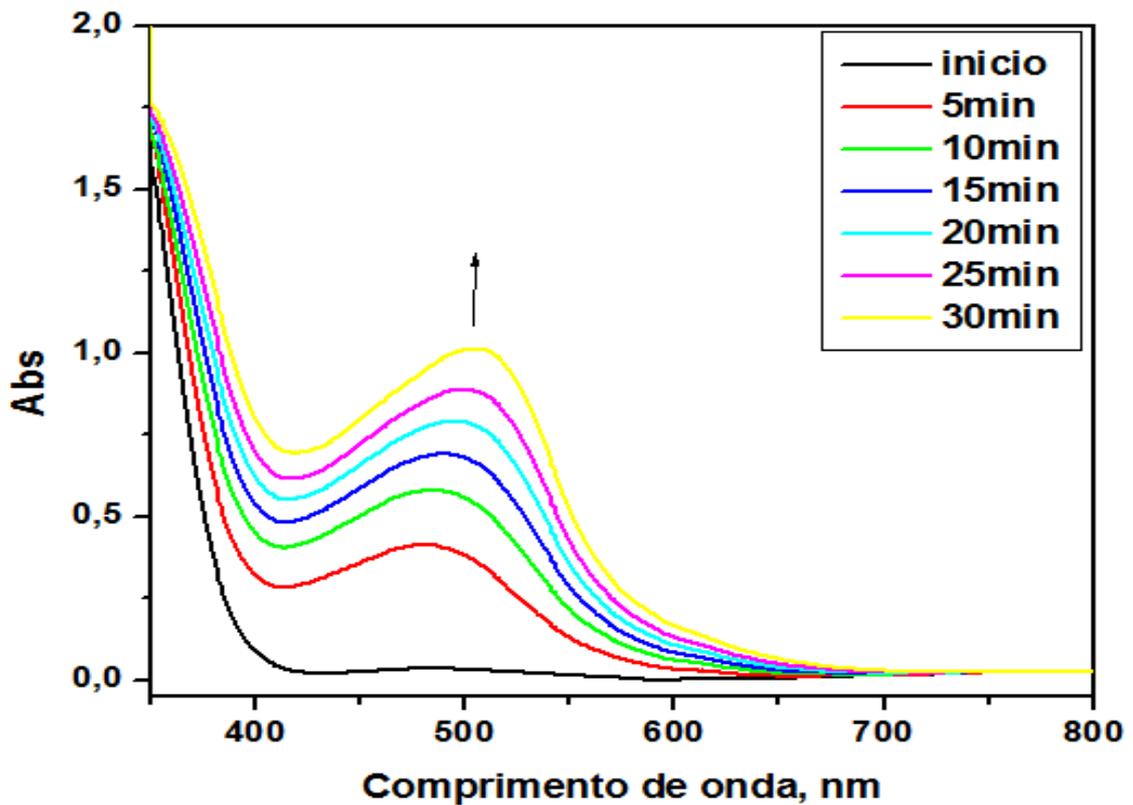
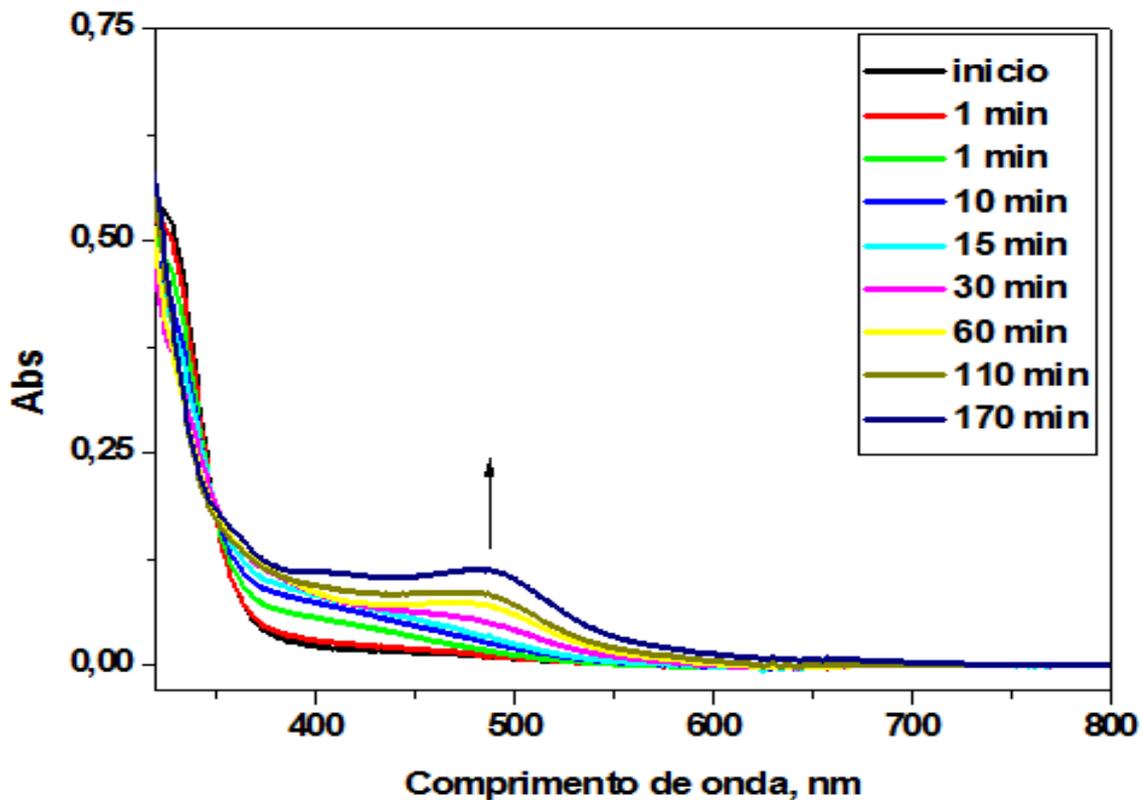


Figura 45 - Espectros eletrônicos do íon complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)(\text{NO})]^{+3}$, no coacervato durante a irradiação em 350nm.



Para os coacervatos com os complexos sendo L=imidazol e 1-metilimidazol, também foi estudado a liberação do NO através da irradiação dos coacervatos liofilizados dispersos em pastilhas de KBr, figuras 46 e 47, o coacervato com o complexo sendo L=sulfito não foi possível a realização do experimento devido a baixa concentração de complexo no coacervato. Observou-se que a liberação em pastilha é mais lenta do que em solução.

Figura 46 - Espectros eletrônicos do íon complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ImN})(\text{NO})]^{+3}$, no coacervato liofilizados durante a irradiação em 350nm.

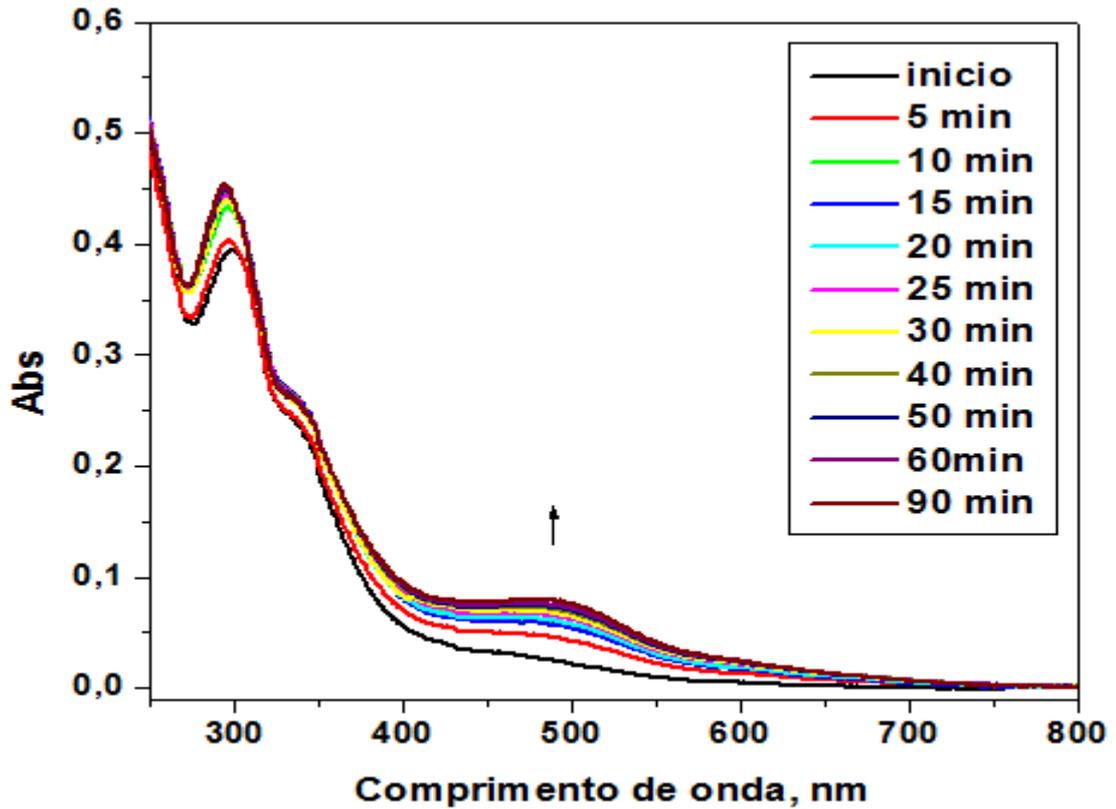
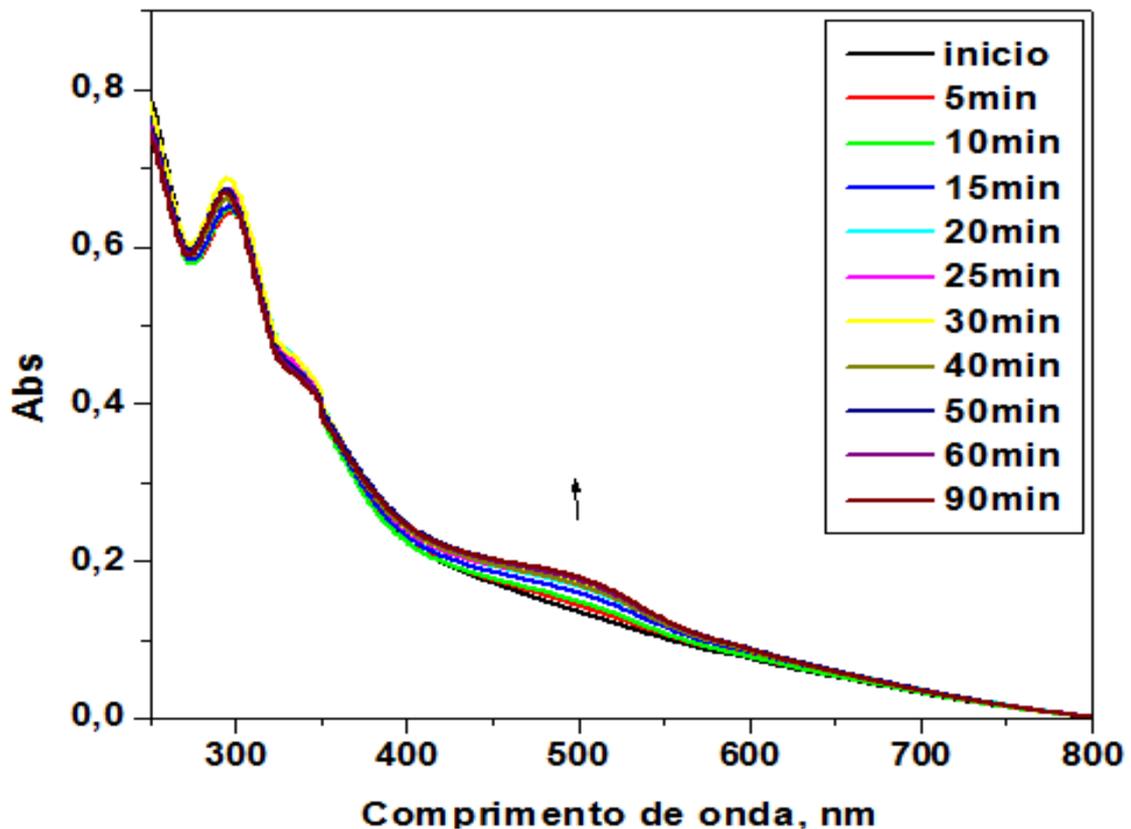


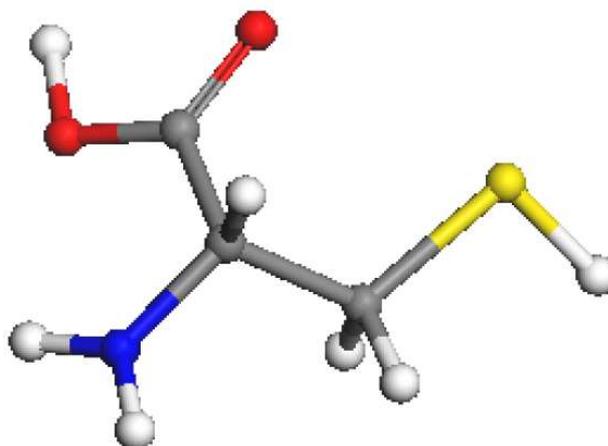
Figura 47 - Espectros eletrônicos do íon complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{MeimN})(\text{NO})]^{+3}$, no coacervato liofilizados durante a irradiação em 350nm.



4.4.2 Redução química

Uma outra forma de redução e liberação do óxido nítrico desses complexos é por redução química, que pode ser realizada por meio da reação dos complexos com o aminoácido cisteína, figura 48. Ela possui um grupo tiol em sua cadeia e é encontrada principalmente em proteínas e no tripeptídeo glutatona, quando exposta ao ar e sob determinadas condições fisiológicas, incluindo no interior de proteínas, a cisteína oxida-se formando cistina, composta por duas cisteínas unidas por uma ligação dissulfureto. (LEHNINGER et al, 1995)

Figura 48 - Estrutura química da L-cisteína



FONTE: SILVA, 2008

As figuras 49, 50 e 51, mostram os espectros eletrônicos dos acompanhamentos cinéticos das reações da cisteína e os coacervatos com os complexos cis -[Ru(bpy)₂(L)(NO)]ⁿ⁺ sendo L= imidazol, 1-metilimidazol e sulfito, respectivamente. Tanto na figura 49 como a 50, observa-se que as reações apresentaram o surgimento de um intermediário com absorção em 380nm, provavelmente o cis -[Ru(bpy)₂(L)N(O)(RS)₂]ⁿ⁻², e em seguida ocorre o decaimento dessa banda e o surgimento da banda referente ao aqua complexo cis -[Ru(bpy)₂(L)(H₂O)]²⁺, junto com ele ocorre a formação de NO⁰ e cistina(RSSR). Já o complexo com o ligante SO₃ no coacervato apresentou comportamento diferente destes, como pode ser visto na figura 51, há alterações nas bandas em 286nm e 320nm, mas na região de 350nm há 600nm, onde surgiria os intermediários, ocorre apenas o aparecimento de uma banda em torno de 430nm.

Figura 49 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento da reação do complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ImN})(\text{NO})]^{3+}$ com o aminoácido cisteína à 30°C .

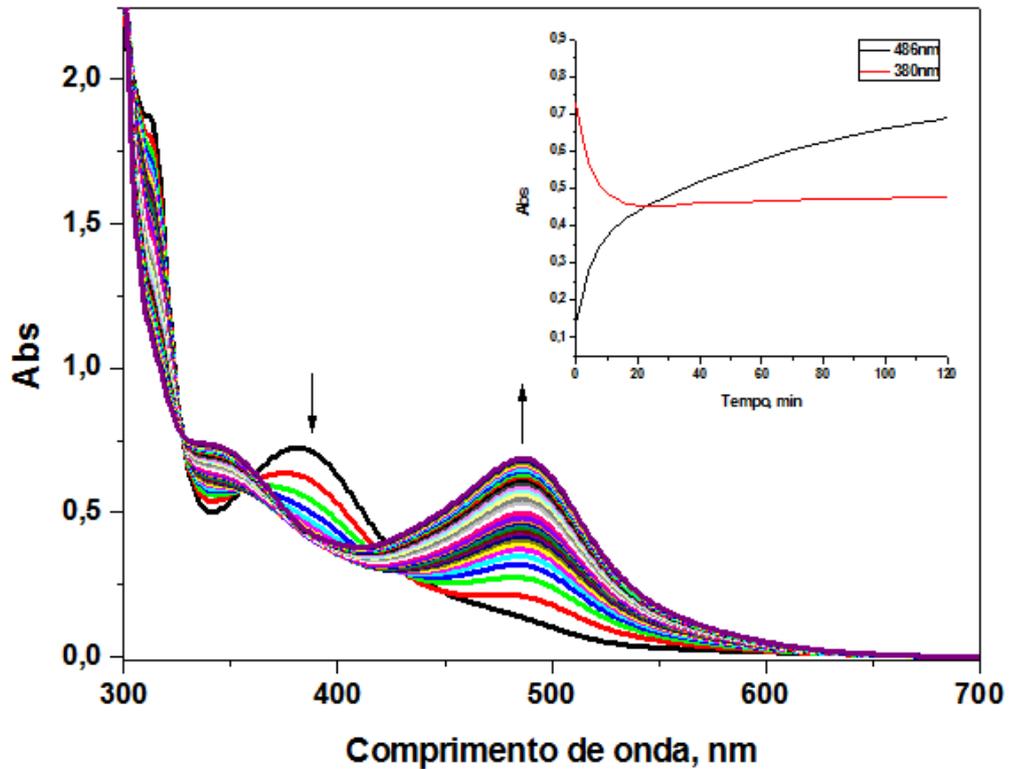


Figura 50 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento da reação do complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{MeimN})(\text{NO})]^{3+}$ com o aminoácido cisteína à 30°C .

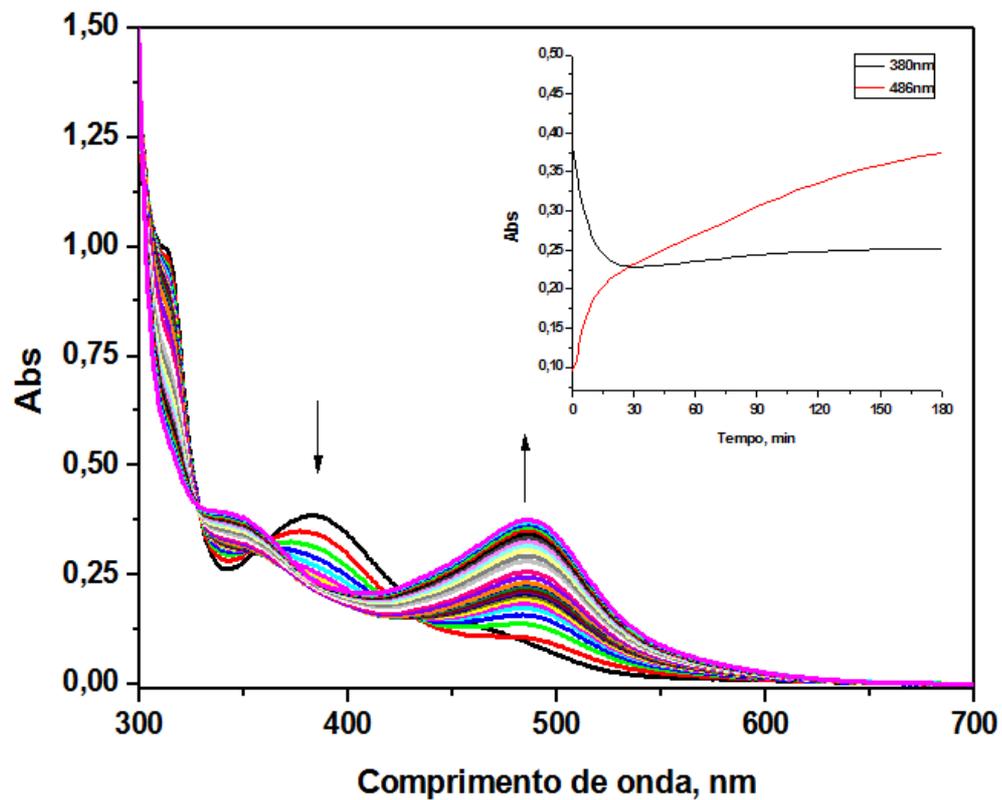
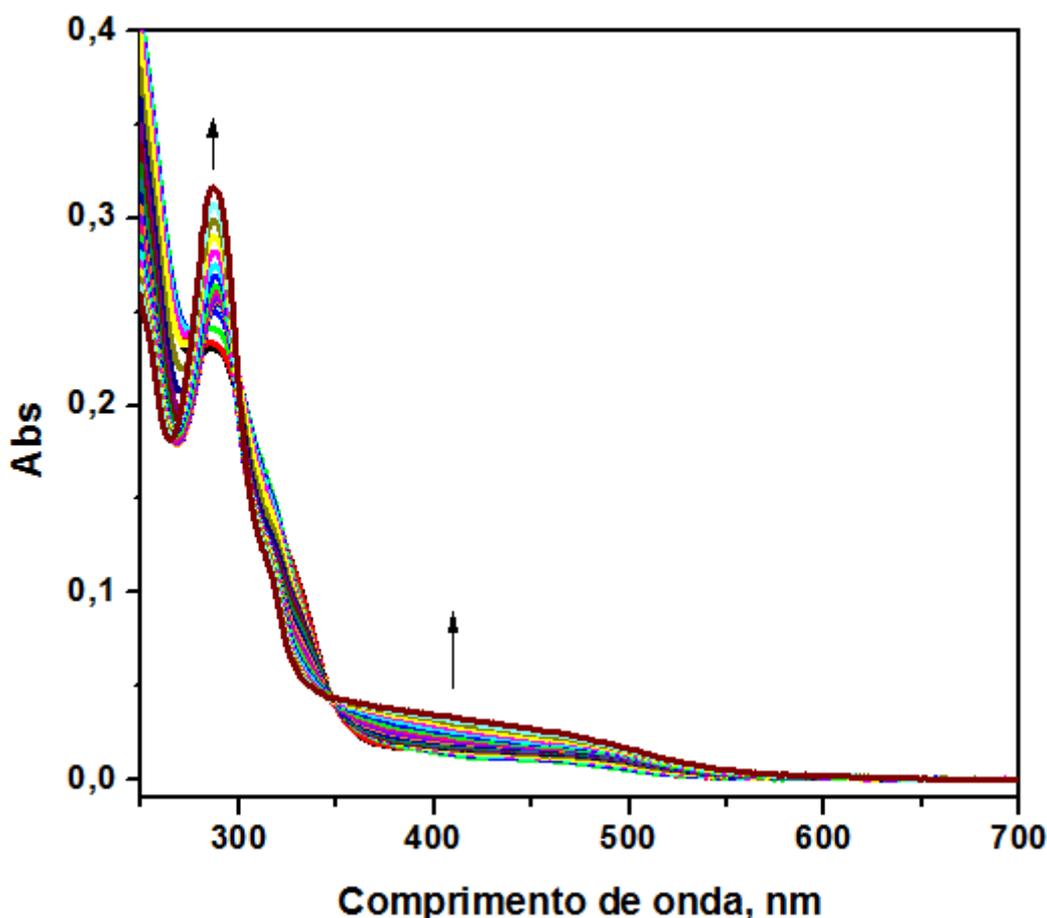


Figura 51 - Espectros de absorção eletrônica na região do UV-Visível do acompanhamento da reação do complexo $cis-[Ru(bpy)_2(SO_3)(NO)]^{1+}$ com o aminoácido cisteína à 25°C.

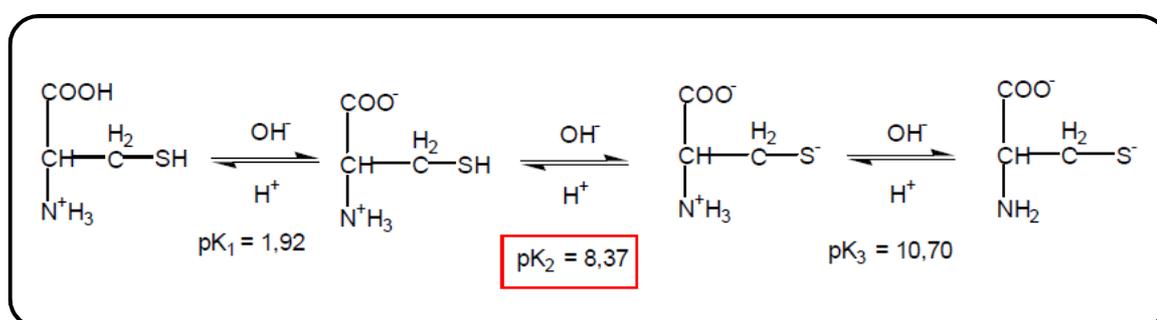


A literatura reporta que os complexos $cis-[Ru(bpy)_2(L)(NO)]^{n+}$ sendo L= imidazol e sulfito tiveram seu mecanismo de liberação de óxido nítrico estudado utilizando os aminoácidos cisteína, glutatona, metionina e histidina como redutores biológicos. (SILVA, 2008; SILVA et al, 2011). De acordo com o trabalho de Silva quando os íons complexos $cis-[Ru(bpy)_2(ImN)(NO)]^{3+}$ e $cis-[Ru(bpy)_2(SO_3)(NO)]^{1+}$ reagem com a cisteína primeiro ocorre a formação de um intermediário o $cis-[Ru(bpy)_2(L)N(O)RS]^{n-1}$ com absorção em 450nm (uma reação rápida), em seguida ocorre o decaimento da banda em 450nm e a formação de um segundo intermediário o $cis-[Ru(bpy)_2(L)N(O)(RS)_2]^{n-2}$ com absorção em 380nm, em seguida ocorre a decomposição do segundo intermediário e a formação do aqua complexo ($cis-[Ru(bpy)_2(L)(H_2O)]^{2+}$), NO^0 e cistina.

No presente estudo os resultados foram semelhantes aos da literatura com exceção para o coacervato com o complexo $cis-[Ru(bpy)_2(SO_3)(NO)]^{1+}$, isso

pode ser decorrente do valor de pH. Os testes reportados na literatura para esse complexo (SILVA, 2008) foram realizados em pH acima de 6,27 e observou-se que com o aumento do pH aumentou-se a constante da reação. Esse efeito foi explicado pela desprotonação do tiol presente na cisteína que apresenta pKa igual a 8,37 (figura 52), assim a cisteína em solução apresenta duas espécies RS^- e RSH e o aumento do pH favorece a forma RS^- que parece interagir mais facilmente com o NO do complexo, facilitando assim a reação de redução e liberação do óxido nítrico.

Figura 52 - pKa da cisteína



FONTE: (LEHNINGER et al, 1995)

Neste trabalho as reações foram realizadas utilizando-se os coacervatos em sua forma original e a cisteína sólida dissolvida no coacervato, que possui valor de pH próximo 4,5, possuindo assim uma quantidade significativa de H^+ no meio em que a reação ocorre, favorecendo a forma RSH e consequentemente dificultando a reação do complexo com o ligante sulfito e a cisteína. Isso ocorre apenas para esse complexo devido a natureza diferente desse ligante. O sulfito é um ligante sigma doador, quando coordenado ele aumenta a densidade eletrônica no metal favorecendo a retro doação do metal para o NO, deixando o óxido nítrico com um menor caráter de NO^+ (menor caráter eletrofílico), já os ligantes imidazol e 1-metilimidazol, são sigma doadores e pi receptores diminuindo assim a densidade eletrônica no metal, desfavorecendo a retro doação do metal para o óxido nítrico deixando-o com maior caráter de NO^+ (maior caráter eletrofílico), o que facilita o ataque do nucleófilo(RS^-), fazendo com que a reação do complexo com a cisteína ocorra mesmo em baixo pH.

As reações dos íons complexos nos coacervatos com a cisteína foram monitoradas em diferentes temperaturas, para avaliar a dependência das reações com a temperatura. Nos coacervatos com o íon complexo $cis-[Ru(bpy)_2(SO_3)(NO)]^{1+}$,

o aumento da temperatura intensificou a banda que surge em torno de 430nm, mas como não surge as bandas esperadas não foram calculadas as constantes observadas das reações. Os resultados do estudo da reação dos coacervatos com os íons complexos $cis\text{-[Ru(bpy)}_2\text{(L)(NO)]}^{n+}$, sendo L= imidazol e 1-metilimidazol com a cisteína em diferentes temperaturas, encontram-se na tabela 6, e os gráficos ilustrados nas figuras 53 e 54.

Tabela 6 - Dependência da temperatura da interação dos complexos no coacervato com a cisteína.

Temperatura (K)	$cis\text{-[Ru(bpy)}_2\text{(ImN)(NO)]}^{3+}$	$cis\text{-[Ru(bpy)}_2\text{(MeimN)(NO)]}^{3+}$
	$k_{obs}(s^{-1})$	$k_{obs}(s^{-1})$
298	$2,3 \times 10^{-3}$	$1,11 \times 10^{-3}$
303	$3,31 \times 10^{-3}$	$1,62 \times 10^{-3}$
310	$5,31 \times 10^{-3}$	$2,44 \times 10^{-3}$
316	$7,13 \times 10^{-3}$	$3,98 \times 10^{-3}$

Figura 53 - Dependência da temperatura para a interação do íon complexo $cis\text{-[Ru(bpy)}_2\text{(ImN)(NO)]}^{3+}$ com a cisteína.

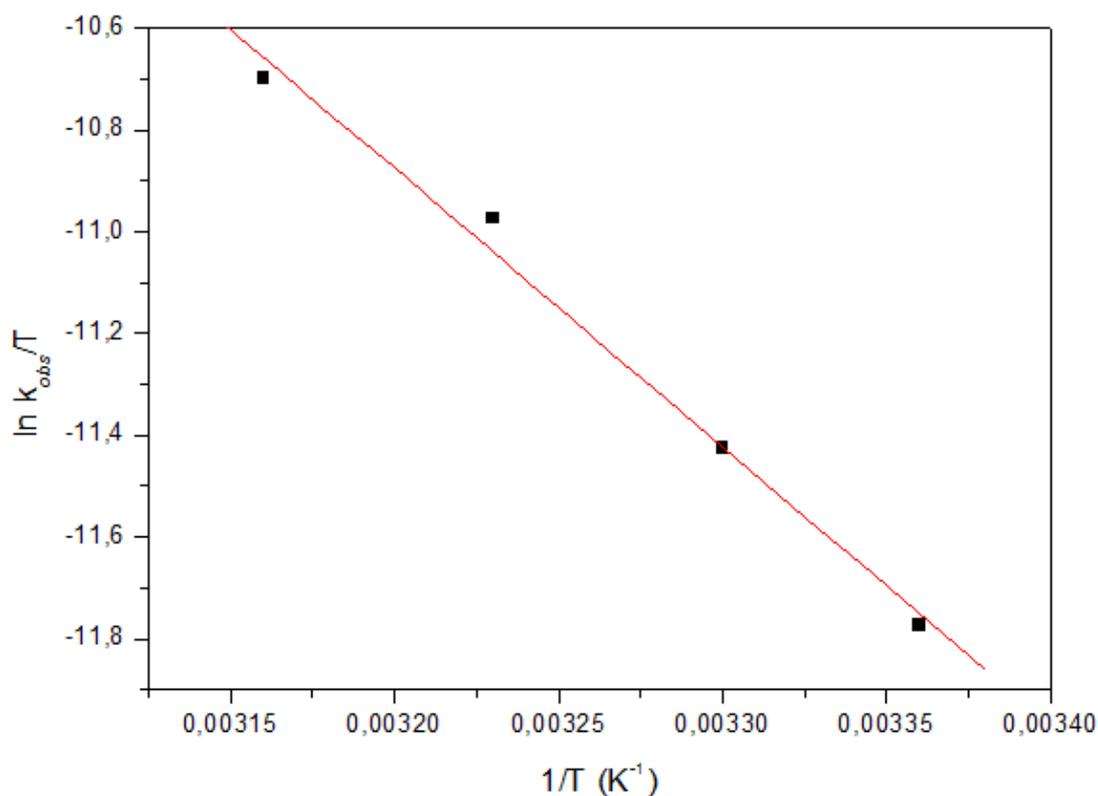
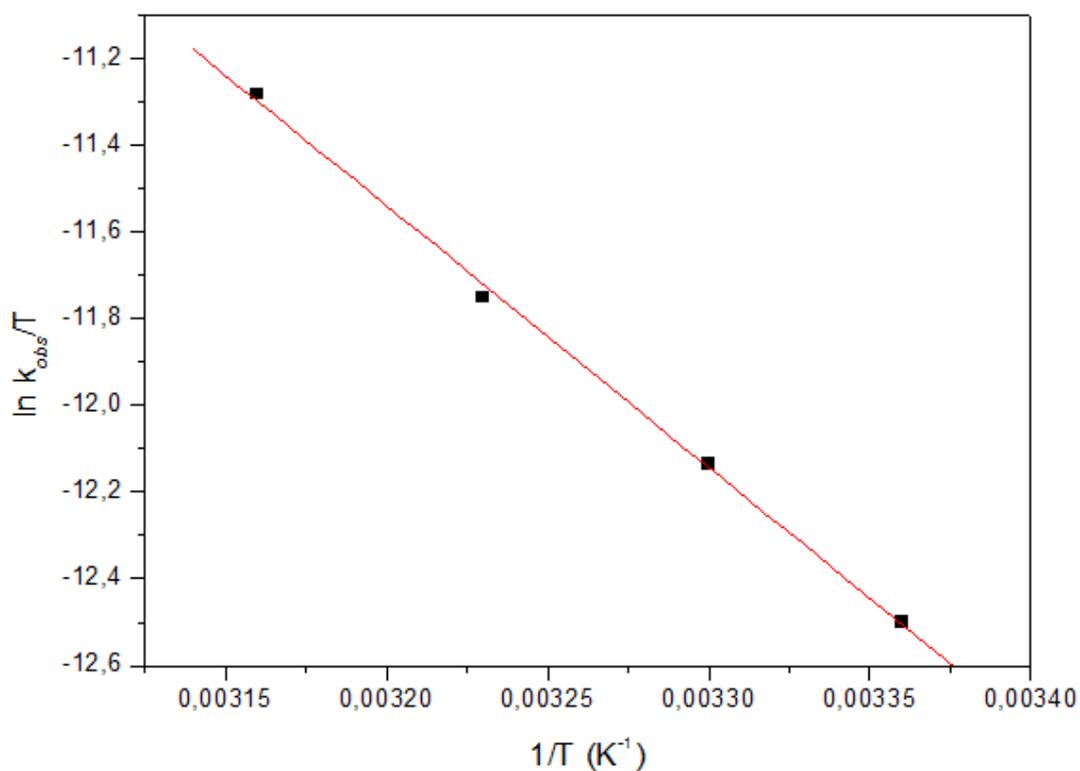


Figura 54 - Dependência da temperatura para a interação do íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(MeimN)(NO)]³⁺ com a cisteína.



Os parâmetros de ativação calculados foram: para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(ImN)(NO)]³⁺, $\Delta S^\ddagger = -448,32 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ e $\Delta H^\ddagger = 45,51 \text{ KJ.mol}^{-1}$; e para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(MeimN)(NO)]³⁺, $\Delta S^\ddagger = -469,74 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ e $\Delta H^\ddagger = 50,07 \text{ KJ.mol}^{-1}$.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pela primeira vez foi possível observar a formação de coacervatos pela interação de um íon complexo com carga 3+ e 1+ e o polifosfato de sódio. As caracterizações dos coacervatos (UV-Vis, infravermelho e RMN¹H) mostraram que os complexos estão presentes nos coacervatos e de acordo com a espectroscopia vibracional na região do infravermelho, após a coacervação o óxido nítrico continua coordenado na forma NO⁺ e a cadeia de polifosfato mantém sua integridade.

Os testes de percentual de incorporação mostraram que é possível controlar a quantidade de complexo no coacervato, o que é interessante visando as possíveis aplicações. Também foi possível relacionar a carga do complexo e a distribuição de carga na superfície do complexo com o percentual de incorporação através da observação dos mapas de potencial eletrostático dos complexos.

Já o estudo da estabilidade dos complexo nos coacervatos mostraram que os coacervatos mantém os complexos na sua forma nitrosil por um longo período e quando diluídos em soluções com pH próximo ao fisiológico eles retardam a conversão nitrosil-nitro.

Os estudos de liberação mostraram que mesmo após a coacervação os complexos são capazes de liberar o óxido nítrico, tanto por meio fotoquímico, irradiações dos coacervatos com a lâmpada de 350nm, como por meio da redução química, reação dos coacervatos com o aminoácido cisteína.

Dessa forma o caráter inédito na formação de coacervatos entre polifosfato de sódio e complexos de rutênio carregados abre a possibilidade de estudar diferentes sistemas complexos de metais de transição. E a alta estabilidade que os complexos apresentaram nos coacervatos em função do tempo aponta para a potencialidade desses sistemas como substâncias liberadoras de NO.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, C. A. **Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de sistemas nanoscópicos bioativos**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal De Itajuba. 2008.

ARAÚJO, S. X. B. **Estudo eletroquímico e de teoria do funcional da densidade (DFT) de nitrosiloscomplexos de rutênio**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Ceará. 2007.

BARBOSA, L.C.; ARANHA, N., ALVES, O.L. e SHRIVASTAVA, R. **Ag⁺-Na⁺ exchanged waveguides from molten salts in a chemically durable phosphate glasses**. *Elect. Lett.* Vol. 20. p.1919-1920. 1996.

BARTHOLOMEW, R. F. **Structure and properties of silver phosphate glasses - Infrared and visible spectra**. *J. Non-Cryst. Solids*. Vol. 3. p.221-235. 1972.

BECKMAN, J. S. **The Physiological and Pathological Chemistry of Nitric Oxide**. Academic Pres. 1996.

BRISSARD, M., CONVERT, O., GRUSELLE, M., GUYARD-DUHAYON, C., THOUVENOT, R. **Enantiospecific Synthesis of Δ and Λ [Ru(bpy)₂ppy]⁺ and [Ru(bpy)₂quo]⁺ (bpy=2,2'-Bipyridine, ppy=Phenylpyridine-H⁺, quo=8-Hydroxyquinolate): ¹H and ¹³C NMR Studies and X-ray Structure Determination of *rac*-[Ru(bpy)₂quo]PF₆**. *Inorganic Chemistry*. Vol. 42. No. 4, 2003.

BUTLER, A., NICHOLSON, R. **Life, death and nitric oxide**. The Royal Society of Chemistry. 2003

CANDIDO, M. C. L. **Estudo da reatividade dos íons complexos *Cis*-[Ru(bpy)₂L(NO)]ⁿ⁺ onde L= Sulfito, Imidazol, 1-Metilimidazol e Tiouréia**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará. 2011.

CICILLINI, S. A., PRAZIAS, A. C. L., TEDESCO, A. C., SERRA, O. A., SILVA, R. S. **Nitric oxide and singlet oxygen photo-generation by light irradiation in the phototherapeutic window of a nitrosyl ruthenium conjugated with a phthalocyanine rare earth complex**. *Polyhedron*. Vol. 28. p.2766–2770. 2009.

CORREIA, C. R. D, BARRETO, R. L., MUSCARÁ, M. N. **Óxido nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos**. *Química Nova*. Vol.28, p.1046-1054, 2005.

DAYANAND, C., BHIKSHAMAIHAH, G., JAYA, T.V., SALAGRAM, M., MURTHY, A.S.R.K. **Review structural investigation of phosphate glasses: a detailed infrared stud of the x(PbO)-(1-x)P₂O₅ vitreous system**. *J. Mat.Sci*. Vol. 31. p.1945-1967. 1996.

DIAS FILHO, F. A. **Preparação e Caracterização de colóides e vidros a base fosfatos dopados com íons lantanídeos via coacervação.** Tese de Doutorado. Araraquara SP, 2003.

DION, A., LANDMAN, M., HALL, G., FILIAGGI, M. **Vancomycin release behaviour from amorphous calcium polyphosphate matrices intended for osteomyelitis treatment.** *Biomaterials*. Vol 26. p7276–7285. 2005.

DURHAM, B., WILSON, S. R., HODGSON, D. J., MEYER, T. **Cis-Trans Photoisomerization in $\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{OH}_2)_2^{2+}$. Crystal Structure of trans- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{OH}_2)(\text{OH})](\text{ClO}_4)_2$.** *Journal of the American Chemical Society*. Vol 102.2. p600. 1980.

DUSSE, L. M. S., VIEIRA, L. M., CARVALHO, M. G. **Revisão sobre óxido nítrico.** *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. Vol 39. p343, 2003.

GOSSELIN, H. E. ROTHSTEIN, A. MILLER, G. J. BERKE, H. L. **The hydrolysis and excretion of polymeric Phosphate.** Division of Pharmacology, Department of Radiation Biology, University of Rochester School of Medicine and Dentistry, Rochester, N. Y. p180. 1952

HEHRE, W. J. **A Guide to Molecular Mechanics and Quantum Chemical Calculations.** Wavefunction, Inc. 2003.

HOLANDA, A. K. M. **Síntese, caracterização e estudo da liberação fotoquímica de óxido nítrico por nitrilos complexos de Ru e Fe e pelo composto [cyclan(NO)₄].** Tese de Doutorado. Universidade Federal do Ceará. 2006.

HONKANEN, S., NAJAFI, S.I., POLYHONEN, P., ORCEL, G., WANG, W.J., CHROSTOWSKI, J. **Silver-film ion-exchanged singlemode wave-guides in Er doped phosphate glasses.** *Elect. Lett.* Vol. 3, p.2167-2168. 1991.

HUMPHREYS G., LEE, G. L., PERCIVAL, S. L., MCBAIN, A. J. **Combinatorial activities of ionic silver and sodium hexametaphosphate against microorganisms associated with chronic wounds.** *J Antimicrob Chemother.* Vol 66. p2556–2561. 2011.

KERWIN, J. F. J., LANCASTER, J. R. J., FELDMAN, P.L. **Nitric Oxide: A New Paradigm for Second Messengers.** *Journal of Medicinal Chemistry*. Vol. 38, p.4343-4362, 1995.

KOOP, W., BARUD, H. S., PAZ, M. F., BUENO, L. A., GIORDANO, R. L. C., RIBEIRO, S. J. L. **Calcium polyphosphate coacervates: effects of thermal treatment.** *J Sol-Gel Sci Technol*. Vol. 63, p.219–223, 2012.

KUBES, P., SUZUKI, M., GRANGER D. N. **Nitric oxide: An endogenous modulator of leukocyte adhesion.** *Proc. Natl. Acad. Sci.*, Vol. 88, p.4651-4655, 1991.

LANIGAN, R.S. **Final report on the safety assessment of Sodium Metaphosphate, Sodium Trimetaphosphate, and Sodium Hexametaphosphate.** Int. J. Toxicol. Vol 20. p75-89. 2001.

LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L., COX, M. M. **Princípios de bioquímica.** São Paulo. 1995.

LIMA, R. G., SAUAIA, M. G., FERREZIN, C., PEPE, I. M., JOSÉ, N. M., BENDHACK, L. M., ROCHA, Z. N., SILVA, R. S. **Photochemical and pharmacological aspects of nitric oxide release from some nitrosyl ruthenium complexes entrapped in sol-gel and silicone matrices.** Polyhedron. Vol. 26. p.4620–4624. 2007.

LLANGURI, R., MORRIS, J. J., STANLEY, W. C., BELL-LONCELLA, E. T., TURNER, M., BOYKO, W. J., BESSEL, C. A. **Electrochemical and spectroscopic investigations of oxime complexes of bis(bipyridyl)ruthenium(II).** Inorganica Chimica Acta. Vol. 315. p53–65. 2001.

MCCLEVERTY, J. A. **Chemistry of Nitric Oxide Relevant to Biology.** Chem. Rev. 104, p403-418, 2004.

MELO, A. D. Q. **Estudo da utilização de coacervatos de polifosfato de sódio na obtenção de materiais com nanopartículas metálicas e magnéticas.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Ceará. 2011.

MERCK. **Polifosfato de sódio puríss. (sal de Graham).** Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha. Acessado em 25 de abril de 2012.

NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds.** A Wiley-Interscience Publication. 4^a Ed. 1986.

OLIVEIRA, L. F. C., SILVA, M. A. P., BRANDÃO, A. R., STEPHANI, R., OLIVEIRA, C. I. R., GONÇALVES, R. R., BARBOSA, A. J., BARUD, H. S., MESSADDEQ, Y., RIBEIRO, S. J. L. **Amorphous manganese polyphosphates: preparation, characterization and incorporation of azo dyes.** J Sol-Gel Sci Technol. Vol. 50 p.158–163, 2009.

OLIVEIRA, C. I. R., OLIVEIRA, L. F. C.; DIAS FILHO, F. A.; MESSADDEQ, Y. e RIBEIRO, S. J. L. **Spectroscopic investigation of a new hybrid glass formed by the interaction between croconate ion and calcium polyphosphate.** Spectrochim. Acta Part A, **2005**, 61, 2023

PEREIRA, A. C., PAULO, M., ARAÚJO, A. V., RODRIGUES G. J., BENDHACK, L. M. **Nitric oxide synthesis and biological functions of nitric oxide released from ruthenium compounds.** Braz J Med Biol Res. Vol 44. p947-957. 2011.

PEREIRA, J. C. B. **Estudo físico-químico do polifosfato de sódio visando sua aplicação em formulações para nutrição parenteral.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco. 2007.

PICULELL, L.; LINDMAN, B. **Association and segregation in aqueous polymer/polymer, polymer surfactant, and surfactant mixtures – similarities and differences.** Adv. Colloid Interface Sci., v. 41, p. 149-178, 1992.

PUDDU, G.M., CRAVERO, E., ARNONE, G., MUSCARI, A., PUDDU, P., **2005. Molecular aspects of atherogenesis: new insights and unsolved questions.** J. Biomed. Sci. 1–15.

SANTANA, D. C. A., PUPO, T. T., SAUAIA, M. G., SILVA, R. S., LOPEZ, R. F. V. **Nitric oxide photorelease from hydrogels and from skin containing a nitro-ruthenium complex.** International Journal of Pharmaceutics. Vol. 391. p.21–28. 2010.

SAVA, G., PACE, S., BERGAMO, A., COCCHIETTO, M., MESTRONI, G., ALESSIO, E. **Effects of ruthenium complexes on experimental tumors: irrelevance of cytotoxicity for metastasis inhibition.** Chemico-Biological Interactions. Vol 95. p109-126. 1995.

SEGAWA, S., FUJIYA, M., KONISHI, H., UENO, N., KOBAYASHI, N., SHIGYO, T., KOHGO, Y. **Probiotic-Derived Polyphosphate Enhances the Epithelial Barrier Function and Maintains Intestinal Homeostasis through Integrin–p38 MAPK Pathway.** PLoS ONE. Vol 6. 2011.

SHAW, A. W., VOSPER, A. J. **Solubility of Nitric Oxide in Aqueous and Nonaqueous Solvents.** J. Chem. Soc., Faraday Trans. Vol. 73, p.1239-1244, 1977.

SILVA, F. O. N. **Estudo cinético da reação dos complexos *cis*-[Ru(bipy)₂(ImN)(NO)](PF₆)₃ e *cis*-[Ru(bipy)₂(SO₃)(NO)](PF₆)₃ com redutores biológicos.** Tese de Doutorado. Univerdidade Federal do Ceará. 2008.

SILVA, F. O. N. **Síntese, caracterização e reatividade de novos nitrosilo complexos de rutênio, tendo como ligante auxiliar a 2,2'-bipiridina.** Dissertação de Mestrado. Univerdidade Federal do Ceará. 2004.

SILVA, F. O. N., ARAUJO, S.X. B., HOLANDA, A. K. M., MEYER, E., SALES, F. A. M., DIOGENES, I. C. N., CARVALHO, I. M. M., MOREIRA, I. S., LOPES, L. G. F. **Synthesis, Characterization, and NO Release Study of the *cis*- and *trans*-[Ru(Bpy)₂(SO₃)(NO)]⁺ Complexes.** Eur. J. Inorg. Chem. p.2020–2026. 2006.

SILVA, F. O. N., CANDIDO, M. C.L., HOLANDA, A. K. M., DIÓGENES, I. C. N., SOUSA, E. H.S., LOPES, L. G. F. **Mechanism and biological implications of the NO release of *cis*-[Ru(bpy)₂L(NO)]ⁿ⁺ complexes: A key role of physiological thiols.** Journal of Inorganic Biochemistry. Vol. 105. p624–629. 2011

SILVA, J. J. N., GUEDES, P. M. M., ZOTTIS, A., BALLIANO, T. L., SILVA, F. O. N., LOPES, L. G. F., ELLENA, J., OLIVA, G., ANDRICOPULO, A. D., FRANCO D. W., SILVA J. S. **Novel ruthenium complexes as potential drugs for Chagas's disease: enzyme inhibition and *in vitro/in vivo* trypanocidal activity.** British Journal of Pharmacology. Vol. 160, p.260–269, 2010.

SILVA, M. A. P., FRANCO, D. F., BRANDÃO, A. R., BARUD, H., DIAS FILHO, F. A., RIBEIRO, S. J. L., MESSADDEQ, Y., OLIVEIRA, L. F. C. **Spectroscopic studies on glassy Ni(II) and Co(II) polyphosphate coacervates**. *Materials Chemistry and Physics*. Vol.124. p.547–551. 2010.

SKOOG, WEST, HOLLER, CROUCH. **Fundamentos de Química Analítica**. Thompson. 8ª edição. 2005.

SULLIVAN, B. P., SALMON, D. J., MEYER, T. J. **Mixed Phosphine 2,2'-Bipyridine Complexes of Ruthenium**. *Inorganic Chemistry*. Vol. 17. p333. 1978.

THOMAS, G. **Medicinal Chemistry**. John Wiley & Sons Ltd, 2ºEd. 2007.

UNAL, S. B., ERDOGDU, F., EKIZ, H. I. **Effect of temperature on phosphate diffusion in meats**. *Journal of Food Engineering* vol 76, 119–127, 2006.

VANNI, D. S., HORSTMANN, B., BENJO, A. M., DAHER, J. P. L. KANAAN, S., SLEIMAN, M. **Óxido nítrico: inibição das plaquetas e participação na formação do trombo**. *J Bras Patol Med Biol Lab*. Vol. 43, p.181-189. 2007.

VEASEY, D. L.; FUNK, D.S.; PETERS, P. M.; SANFORD, N. A.; OBARSKI, G. E.; FONTAINE, N.; YOUNG, M.; PESKIN, A. P.; LIU, W. C.; WALTER, S. N. H.; HAYDEN, J. S. **Yb/Er-codoped and Yb-doped waveguide lasers in phosphate glass**. *Non-Cryst. Solids*, v. 263, n. 1-4, p. 369-381, 2000.

VELDERS, A. H., HOTZE, A. C. G., ALBADA, G. A. V., HAASNOOT, J. G., REEDIJK, J. **Tuning the Rotational Behavior of Lopsided Heterocyclic Nitrogen Ligands (L) in Octahedral *cis*-[Ru(bpy)2(L)2](PF6)2 Complexes. A Variable-Temperature 1H NMR Study**. *Inorg. Chem*. Vol. 39, p4073-4080. 2000.

WANG, P. G., CAI, T. B., TANIGUCHI, N. **Nitric Oxide Donors For Pharmaceutical and Biological Applications**. Weinheim.2005

WILIAMS, D.L.H. **Nitrosation Reactions and the Chemistry of Nitric Oxide**. Elsevier B.V., 2004.

WOLIN, M. S. **Interactions of Oxidants With Vascular Signaling Systems**. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Vol. 20, p.1430-1442, 2000.

YETIK-ANACAK, G., CATRAVAS, J. D. **Nitric oxide and the endothelium: History and impact on cardiovascular disease**. *Vascular Pharmacology*. Vol. 45, p.268–276, 2006.

ZANICHELLI, P. G., MIOTTO, A. M., ESTRELA, H. F.G., SOARES, F. R., GRASSI-KASSISSE, D. M., SPADARI-BRATFISCH, R. C., CASTELLANO, E. E., RONCAROLI, F., PARISE, A. R., OLABE, J. A., BRITO, A. R. M. S., FRANCO, D. W. **The [Ru(Hedta)NO]^{0,1-} system: structure, chemical reactivity and biological assays**. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Vol 98. p1921–1932, 2004.