



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

**DENISE SANTOS DE SÁ**

***“COMPLEXOS DE Ru(II): SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E REATIVIDADE  
DE POTENCIAIS VASODILATADORES”***

Fortaleza

2015

**DENISE SANTOS DE SÁ**

***“COMPLEXOS DE Ru(II): SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E REATIVIDADE  
DE POTENCIAIS VASODILATADORES”***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de doutor em Química. Área de concentração: Química Inorgânica

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva Sousa

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes

Fortaleza

2015

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

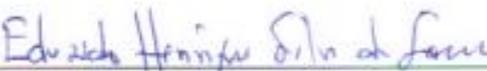
- 
- S111c Sá, Denise Santos de.  
Complexos de Ru(II): síntese, caracterização e reatividade de potenciais vasodilatadores /  
Denise Santos de Sá. – 2015.  
205 f. : il. color., ; 30 cm.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Departamento de  
Química Orgânica e Inorgânica, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2015.  
Área de Concentração: Química Inorgânica.  
Orientação: Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva Sousa.  
Coorientação: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes.
1. Guanilato Ciclase. 2. Indazóis. 3. Vasodilatação. I. Título.

Esta Tese foi apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Química, área de concentração Química Inorgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e em cuja Biblioteca Central encontra-se à disposição dos interessados.



Denise Santos de Sá

Tese aprovada em: 28/08/2015.



Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa  
(Orientador-UFC)



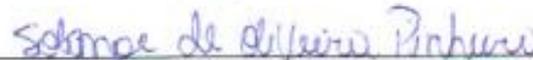
Dr. Adriana Nunes Cordeira  
(UFC)



Dra. Idalina Maria Moreira de Carvalho  
(UFC)



Dra. Izaura Cirino Nogueira Diógenes  
(UFC)



Dra. Solange de Oliveira Pinheiro  
(UECE)

## MENSAGEM

*“Depois de algum tempo você aprende a diferença, a sutil diferença, entre dar a mão e acorrentar uma alma. E você aprende que amar não significa apoiar-se, e que companhia nem sempre significa segurança. Aprende que o que importa não é o que você tem na vida, mas quem você é na vida.*

*Aprende que, ou você controla seus atos ou eles o controlarão, e que ser flexível não significa ser fraco ou não ter personalidade, pois não importa quão delicada e frágil seja uma situação, sempre existem dois lados... as vezes três .....*

*Aprende que paciência requer muita prática. Descobre que algumas vezes a pessoa que você espera que o chute quando caído é uma das poucas que o ajuda a levantar-se.*

*Aprende que nem sempre é suficiente ser perdoado por alguém, algumas vezes você tem que aprender a perdoar-se a si mesmo.*

*Aprende que com a mesma severidade com que julga será em algum momento condenado.*

*E você aprende que realmente pode suportar ... que realmente é forte ... e que pode ir muito mais longe depois de pensar que já não podia mais.... E que a vida tem valor e você tem valor diante da vida!*

*Nossas dúvidas são traidoras e nos fazem perder o bem que poderíamos conquistar se não fosse o medo de tentar".*

*William Shakespeare*

## **Agradecimentos**

### ***À Deus,***

*Por ter me dado condições e colocado na minha vida pessoas que contribuíram para meu amadurecimento e realizações pessoais e profissionais.*

### ***Aos meus pais, Antônio e Neusa,***

*Que sempre lutaram muito para que eu pudesse ter uma boa educação, mesmo com tantos problemas financeiros e familiares.*

*Sempre me fizeram acreditar que eu tinha potencialidade para conquistar aquilo que desejava, para tanto que eu tinha que lutar.*

*Sempre me apoiaram e me deram força para ultrapassar as dificuldades e sabedoria para que não desistisse dos meus sonhos.*

### ***Meu namorado, Cassiano,***

*Por ser companheiro ao longo dessa trajetória do doutorado, por ter me dado suporte, força, carinho, amor, incentivo, ou seja, se fez presente em situações difíceis. Por entender minhas limitações, mas lutar para que pudesse saná-las. Por ter sido paciente nos meus momentos de angústia, tristeza, dificuldades.*

### ***Ao meu orientador, Eduardo e meu coorientador Luiz***

*Pelo trabalho de orientação, mesmo em condições atípicas e difíceis. Por ter me dado suporte nas dificuldades que enfrentei ao longo do doutorado, bem como por ter confiado em mim e ter acreditado no meu potencial. Além disto, por ter dado muita força, por ser compreensivo, e pelo carinho.*

### ***À Adelaide Viveiros,***

*Por ter ensinado a ter raciocínio científico, o que contribuiu de modo significativo para meu crescimento profissional e pessoal.*

*Sempre me apoiou, quando estava certa, e deu puxões de orelha, quando estava errada. Mostrou os melhores caminhos para que eu pudesse seguir.*

*Sempre deu carinho, atenção, força, incentivo ao longo de toda a minha caminhada acadêmica.*

**Zênis,**

*Que com palavras e posturas mostrou os melhores caminhos que devo seguir. É uma das pessoas mais queridas para mim, tem uma forte contribuição no meu crescimento pessoal e profissional. Deu suporte em muitos momentos difíceis da minha vida.*

**Os meus irmãos, Marcelo e Alirio, a minha cunhada, Mag, minha tia, Leolice, meus primos, Ramiro e Ane Rose,**

*Por acreditarem em minha potencialidade, por torcerem por meu sucesso, pela força e incentivo.*

**Aos meus sogros, Dionísio e Raimunda**

*Pelo carinho, compreensão, força e por acreditarem, além de torcerem para o meu sucesso.*

**Os meus amigos Marcelo, Alan, Olívia, Denílson,**

*Por terem me proporcionado muitos momentos de felicidade, de risadas. Por terem dado suporte nos momentos de dificuldades e ter compartilhado momentos de alegria comigo. Acreditaram e torceram por meu sucesso, até mais do que eu esperava.*

**Ao grupo de bioinorgânica e colegas de trabalho do departamento de química do IFBA,**

*Pelo companheirismo, ajuda nos experimentos, por acreditar em mim, pelo suporte dado.*

**Aos colaboradores**

*Professor doutor Nilberto Robson Falcão do Nascimento (UECE), e sua aluna Paula Priscila Correia Costa (UECE); professor Manoel Odorico de Moraes*

*(UFC); aos doutores Emil Martin e Iraida Sharina (University of Texas Health Center) pelos trabalhos em colaboração.*

***Aos meus alunos***

*Que sempre torceram e me deram muita força para a conclusão do trabalho.*

*Agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para o meu crescimento pessoal e profissional que, com palavras e com posturas, me fizeram refletir sobre o que eu sou e o que desejo ser. Agradeço também a todas as outras pessoas que, apesar de não terem sido citadas aqui, contribuíram para o meu sucesso.*

***Sinto-me feliz e realizada por saber que todos vocês fazem parte da minha história de vida e fazem parte indispensável do meu sucesso!***

## RESUMO

As doenças cardiovasculares são uma das principais causas de morte em todo o mundo e um dos fatores que contribui para isto está associado à produção e à ação da guanosina 3'-5'-monofosfato cíclica (cGMP) em meio biológico. Estudos recentes indicam que compostos orgânicos, tais como os derivados do indazol (YC-1 e a classe dos BAY), são capazes de atuar na vasodilatação. Uma vez que a atuação desses compostos orgânicos é dependente dos anéis indólicos e azaindólicos, e sabendo que os mesmos contêm pares de elétrons não ligantes, foi sintetizado uma serie de complexos do tipo *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, em que L é quinolina, 1H-indazol, 1H-indazol-6-carboxialdeído, benzimidazol, 4-azaindol, 5-azaindol ou 7-azaindol, enquanto X-X é 2,2-bipiridina ou 1,10-fenantrolina. A síntese e a caracterização dos complexos foram realizadas empregando-se análise elementar, espectroscopia de ressonância magnética nuclear, de absorção molecular na região do ultravioleta-visível, vibracional na região do infravermelho bem como voltametria cíclica e a condutividade elétrica que sustentam a formulação e a pureza dos compostos. Os dados de irradiação de luz indicam que os complexos são fotossensíveis quando irradiados em 300 nm e 420 nm. Adicionalmente, tais complexos são capazes de reagir com o íon superóxido (IC<sub>50</sub> na faixa de 45 a 86 μmol L<sup>-1</sup>), comportamento este que permite que os complexos atuem como antioxidantes. Os complexos interagem também com albumina sérica bovina, o que pode facilitar a biodisponibilidade do fármaco. Já os ensaios de vasodilatação indicam que os complexos (IC<sub>50</sub> entre 55 e 700 nmol L<sup>-1</sup>) são mais eficientes no relaxamento da musculatura em anéis de aorta de ratos, quando comparado aos ligantes não coordenados (IC<sub>50</sub> entre 560 e 8500 nmol L<sup>-1</sup>) e ao BAY-412272 (IC<sub>50</sub> 440). Além disto, ensaios realizados com *cis*-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> mostram que o mesmo contribui para aumentar a produção do cGMP (cerca de 600 fmol mg<sup>-1</sup> por proteína), indicativo que tal complexo pode estar estimulando a ativação da guanilato ciclase solúvel (sGC) ou bloqueando a proteína fosfodiesterase (PDE). Portanto, os dados obtidos indicam que este trabalho se mostra inovador na produção de fármacos, proveniente de complexos, que atuam na vasodilatação.

**Palavas-chave:** guanilato ciclase solúvel, metalodrogas, azaindóis, indazóis, vasodilatação

## ABSTRACT

Cardiovascular disease is a leading cause of death in the world and one of the factors contributing to this is associated with production and action of cyclic guanosine 3'-5'-monophosphate (cGMP) in a biological environment. Recent studies indicate that organic compounds such as YC-1 and BAY class, are able to act on the vasodilatation. Once the performance of these organic compounds is dependent on the indole and azaindole rings and knowing they contain nonbonding pair of electrons, a series of complex type  $cis-[RuCl(L)(X-X)_2]^+$  wherein L is quinoline, 1H-indazole, 1H-indazole-6-carboxyaldehyde, 1H-benzimidazole, 4-azaindole, 5-azaindole, or 7-azaindole, whereas X-X is 2,2-bipyridine or 1,10-phenanthroline, was prepared. The synthesis and characterization of these complexes was performed using elemental analysis, nuclear magnetic resonance spectroscopy, molecular absorption spectroscopy in the ultraviolet-visible, vibrational spectroscopy in the infrared region and conductivity and cyclic voltammetry supporting the formulation and purity of these compounds. Light irradiation data at 300 nm and 420 nm indicated these complexes are photosensitive. Furthermore, such complexes are capable of reacting with superoxide ion ( $IC_{50}$  in the range of 45 to 86  $mmol L^{-1}$ ), this behavior that allows the complex to act as antioxidants. There is evidence that the complexes interact with bovine serum albumin, which might improve bioavailability of the drug. Vasodilation assays indicated that these complexes ( $IC_{50}$  between 55 and 700  $nmol L^{-1}$ ) are efficient in rat aortic rings when compared to free ligands ( $IC_{50}$  between 560 and 8500  $nmol L^{-1}$ ) and BAY-412 272 ( $IC_{50}$  440  $nmol L^{-1}$ ). Moreover, assay carried out with the complex  $cis-[RuCl(5-ain)(bpy)_2]^+$  shows that it contributes to increase production of cGMP (about 600  $fmol$  per  $mg$   $protein^{-1}$ ), indicative that this complex may be stimulating the activation of soluble guanylate cyclase (sGC) or inhibiting phosphodiesterase (PDE). Therefore, the overall data showed novel strategy is suitable to prepare pharmaceutical compounds for cardiovascular disease.

**Keywords:** soluble guanylate cyclase, metallodrug, azaindole, indazole, vasodilation

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática da guanilato ciclase solúvel .....	33
Figura 2. Representação do domínio de ligação heme da guanilato ciclase solúvel .....	34
Figura 3. Mecanismo de ativação da guanilato clicase solúvel, a partir da interação do Fe(II) do grupo heme com a molécula de óxido nítrico.....	35
Figura 4. Mecanismo de ativação da guanilato ciclase solúvel, a partir do NO (Denninger and Marletta 1999).....	36
Figura 5. Representação esquemática da produção do $O_2^-$ e $ONOO^-$ em células endoteliais e interação dos mesmos com a sGC (condição patológica) (Tabima, Frizzell et al. 2012).....	38
Figura 6. Representação esquemática da produção da cGMP à partir da GTP, catalisada pelo sGC (guanilato ciclase solúvel) ou pGC (guanilato ciclase associada a membrana) .....	39
Figura 7. Estrutura química do YC-1, um estimulador da sGC.....	41
Figura 8. Estrutura química do BAY 41-2272.....	41
Figura 9. Estrutura química do composto BAY 63-2521.....	42
Figura 10. Estrutura química do BAY 41-8543.....	42
Figura 11. Estrutura química do composto A-350619 .....	43
Figura 12. Estrutura química do composto sildenafil.....	44
Figura 13. Estrutura química do composto BAY 58-2667.....	44
Figura 14. Estrutura química do composto HMR-1766.....	45
Figura 15. Representação simplificada da formação da ligação metal-L: (a) L doa par de elétrons para M formando ligação $\sigma$ e (b) M, se for ácido de Lewis mole, retrodoa densidade eletrônica para L, nos orbitais de simetria pi .....	48
Figura 16. (A) Estrutura da estaurosporina e (B) Modelagem de complexos metálicos com estrutura básica da estaurosporina. ....	48
Figura 17. Estrutura prováveis dos complexos de formulação <i>cis</i> -[RuCl(L)(X-X)]PF <sub>6</sub> .....	50
Figura 18. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 12 $\mu\text{mol L}^{-1}$ , em acetonitrila. ....	63

Figura 19. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo <i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 23 μmol L <sup>-1</sup> , em acetonitrila. ....	63
Figura 20. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo <i>cis</i> -[RuCl(4-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 14 μmol L <sup>-1</sup> , em acetonitrila. ....	64
Figura 21. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 16 μmol L <sup>-1</sup> , em acetonitrila. ....	64
Figura 22. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo <i>cis</i> -[RuCl(COH-indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 11 μmol L <sup>-1</sup> , em acetonitrila.....	65
Figura 23. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo <i>cis</i> -[RuCl(bzim)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 84 μmol L <sup>-1</sup> , em acetonitrila. ....	65
Figura 24. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo <i>cis</i> -[RuCl(qui)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 13 μmol L <sup>-1</sup> , em acetonitrila. ....	66
Figura 25. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(phen) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 14 μmol L <sup>-1</sup> , em acetonitrila. ....	66
Figura 26. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(phen) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 13 μmol L <sup>-1</sup> , em acetonitrila. ....	67
Figura 27. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo <i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (bpy) <sub>2</sub> ], 10 μmol L <sup>-1</sup> , em acetonitrila. ....	67
Figura 28. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo <i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (phen) <sub>2</sub> ], 12 μmol L <sup>-1</sup> , em acetonitrila. ....	68
Figura 29. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em pastilha de KBr, para faixa de varredura de 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> . ....	73
Figura 30. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo <i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em KBr. Para faixa de varredura entre 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> . ....	73
Figura 31. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo <i>cis</i> -[RuCl(4-ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em pastilha de KBr, para faixa de varredura de 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> . ....	74
Figura 32. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo <i>cis</i> -[RuCl(bzim)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em pastilha de KBr, para faixa de varredura de 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> . ....	74

Figura 33. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em pastilha de KBr, para faixa de varredura de 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> . .....	75
Figura 34. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo <i>cis</i> -[RuCl(COH-indz)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em KBr. Para faixa de varredura entre 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> . .....	75
Figura 35. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo <i>cis</i> -[RuCl(qui)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em pastilha de KBr, para faixa de varredura de 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> . .....	76
Figura 36. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo <i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (bpy) <sub>2</sub> ] em pastilha de KBr, para faixa de varredura de 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> . .....	76
Figura 37. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(phen) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em pastilha de KBr. Para faixa de varredura entre 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> . .....	77
Figura 38. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(phen) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em KBr. Para faixa de varredura entre 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> . .....	77
Figura 39. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo <i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (phen) <sub>2</sub> ] em pastilha de KBr. Para faixa de varredura entre 4000 a 400 cm <sup>-1</sup> . .....	78
Figura 40. Espectro de <sup>1</sup> H de <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em DMSO-d <sub>6</sub> . .....	82
Figura 41. Espectro COSY do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em DMSO-d <sub>6</sub> a 300 Hz. .....	84
Figura 42. Estrutura química teórica em 3D do íon complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> . .....	87
Figura 43. Espectro de <sup>1</sup> H de complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em DMSO-d <sub>6</sub> a diferentes temperaturas: 25°C (preto); 40°C (vermelho); 55°C (azul) – diferentes faixas de deslocamento químico: A (12,5 – 8,0 ppm), B (8,0 – 7,3 ppm), C (7,2 – 6,3 ppm). .....	88
Figura 44. Espectro de <sup>13</sup> C do íon complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , em DMSO-d <sub>6</sub> . .....	90

Figura 45. Estrutura do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 2,2-bipiridina e 7-azaindol, com os respectivos deslocamentos químicos dos carbonos: ain (CDCl <sub>3</sub> ); bpy (CDCl <sub>3</sub> ) e <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> (DMSO-d <sub>6</sub> ). .....	91
Figura 46. Espectro de ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup> H do <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em CDCl <sub>3</sub> .....	92
Figura 47. Estrutura do íon complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> e do ligante 7-azaindol com os deslocamentos químicos dos hidrogênios em clorofórmio deuterado. ....	92
Figura 48. Espectro de <sup>1</sup> H de <i>cis</i> -[RuCl(ain)(phen) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em DMSO-d <sub>6</sub> . ....	93
Figura 49. Estrutura do <i>cis</i> -[RuCl(ain)(phen) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> com os deslocamentos químicos dos hidrogênios em dimetilsulfóxido deuterado e da 1,10-fenantrolina em clorofórmio deuterado.....	94
Figura 50. Estrutura química em 3D do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(phen) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> .....	95
Figura 51. Espectro de <sup>1</sup> H do complexo <i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em DMSO-d <sub>6</sub> . .....	97
Figura 52. Espectro COSY do complexo <i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em DMSO-d <sub>6</sub> . .....	97
Figura 53. Espectro de <sup>1</sup> H do complexo <i>cis</i> -[RuCl(4-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em DMSO-d <sub>6</sub> . .....	98
Figura 54. Espectro COSY do complexo <i>cis</i> -[RuCl(4-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em DMSO-d <sub>6</sub> . .....	98
Figura 55. Estrutura em 3D do complexo <i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> . ....	99
Figura 56. Estrutura em 3D do complexo <i>cis</i> -[RuCl(4-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> . ....	100
Figura 57. Espectro COSY do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(phen) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em metanol deuterado. ....	102
Figura 58. Espectro de <sup>1</sup> H do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(phen) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em DMSO-d <sub>6</sub> . .....	103
Figura 59. Estrutura em 3D do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(phen) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> .....	103
Figura 60. Espectro de <sup>1</sup> H do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em DMSO-d <sub>6</sub> . .....	105
Figura 61. Espectro de <sup>1</sup> H do complexo <i>cis</i> -[RuCl(COH-indz)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em DMSO-d <sub>6</sub> . ....	106

Figura 62. Espectro COSY do complexo <i>cis</i> -[RuCl(COH-indz)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em DMSO-d <sub>6</sub> .	106
Figura 63. Estrutura em 3D do complexo <i>cis</i> -[RuCl(COH-indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> .	107
Figura 64. Espectro de <sup>1</sup> H do complexo <i>cis</i> -[RuCl(bzim)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em DMSO-d <sub>6</sub> .	108
Figura 65. Espectro COSY de <i>cis</i> -[RuCl(bzim)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em DMSO-d <sub>6</sub> .	109
Figura 66. Estrutura em 3D do complexo <i>cis</i> -[RuCl(bzim)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> .	110
Figura 67. Espectro de <sup>1</sup> H do complexo <i>cis</i> -[RuCl(qui)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em DMSO-d <sub>6</sub> .	111
Figura 68. Espectro COSY de <i>cis</i> -[RuCl(qui)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em DMSO-d <sub>6</sub> .	112
Figura 69. Estrutura em 3D do complexo <i>cis</i> -[RuCl(qui)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> .	112
Figura 70. Voltamogramas cíclicos do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 9,4 10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> , em MeCN, contendo perclorato de tetrabutilamônio (PTBA), 0,1 mol L <sup>-1</sup> . Velocidade de varredura de 100 mV s <sup>-1</sup> . Faixa de varredura: +1,0 a -2,1 V (A) e 0,0 a +1,0 V (B). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo.	114
Figura 71. Voltamograma cíclico do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 9,4 10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> , em MeCN contendo perclorato de tetrabutilamônio (PTBA), 0,1 mol.L <sup>-1</sup> . Velocidade de varredura de 100 mV.s <sup>-1</sup> . Faixa de varredura: +1,0 a -2,1 V (A) e 0,0 a +1,0 V (B). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo.	115
Figura 72. Voltamograma cíclico do complexo <i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 9,4 10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> , em MeCN contendo perclorato de tetrabutilamônio (PTBA), 0,1 mol.L <sup>-1</sup> . Velocidade de varredura de 100 mV.s <sup>-1</sup> . Faixa de varredura: +1,0 a -2,1 V (A) e 0,0 a +1,0 V (B). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo.	116
Figura 73. Voltamograma cíclico do complexo <i>cis</i> -[RuCl(COH-indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 9,4 10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> , em MeCN contendo perclorato de tetrabutilamônio (PTBA), 0,1 mol.L <sup>-1</sup> . Velocidade de varredura de 100 mV.s <sup>-1</sup> . Faixa de varredura: +1,0 a -2,1 V (A) e 0,0 a +1,0 V (B). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo.	117
Figura 74. Voltamograma cíclico do complexo <i>cis</i> -[RuCl(bzim)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 9,4 10 <sup>-4</sup> mol L <sup>-1</sup> , em MeCN contendo perclorato de tetrabutilamônio (0,1 mol L <sup>-1</sup> ). Velocidade de varredura de 100 mV.s <sup>-1</sup> . Faixa de varredura: +1,0 a -2,1 V (A) e 0,0 a +1,0 V (B). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo.	118

Figura 75. Voltamograma cíclico do complexo $cis\text{-}[\text{RuCl}(4\text{-ain})(\text{bpy})_2]^+$ , $9,4 \cdot 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> , em MeCN contendo perclorato de tetrabutilamônio (0,1 mol L <sup>-1</sup> ). Velocidade de varredura de 100 mV.s <sup>-1</sup> . Faixa de varredura: +1,0 a -2,1 V (A) e 0,0 a +1,0 V (B). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo. ....	119
Figura 76. Voltamograma cíclico do complexo $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{phen})_2]^+$ , $9,4 \cdot 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> , em MeCN contendo perclorato de tetrabutilamônio (0,1 mol L <sup>-1</sup> ). Velocidade de varredura de 100 mV.s <sup>-1</sup> . Faixa de varredura: +1,0 a -2,1 V (A) e 0,0 a +1,0 V (B). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo. ....	120
Figura 77. Voltamograma cíclico do complexo $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{qui})(\text{bpy})_2]^+$ , $9,4 \cdot 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> , em MeCN contendo perclorato de tetrabutilamônio (0,1 mol L <sup>-1</sup> ). Velocidade de varredura de 100 mV s <sup>-1</sup> . Faixa de varredura: +1,0 a -2,1 V (A) e 0,0 a +1,0 V (B). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo.....	121
Figura 78. Voltamograma cíclico do complexo $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{phen})_2]^+$ , $9,4 \cdot 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup> , em MeCN contendo perclorato de tetrabutilamônio (0,1 mol L <sup>-1</sup> ). Velocidade de varredura de 100 mV s <sup>-1</sup> . Faixa de varredura: +1,0 a -2,1 V (A); 0,0 a +1,0 V (B) e 0,0 a -2,1 V (C).Eletrodo de trabalho de carbono vítreo....	122
Figura 79. Voltamograma cíclico de bpy em MeCN/PTBA (0,1 mol L <sup>-1</sup> ). Velocidade de varredura de 100 mV s <sup>-1</sup> e eletrodo de trabalho de carbono vítreo. ....	125
Figura 80. Voltamograma cíclico de phen em MeCN/PTBA (0,1 mol L <sup>-1</sup> ). Velocidade de varredura de 100 mV s <sup>-1</sup> e eletrodo de trabalho de carbono vítreo. ....	125
Figura 81. Voltamograma cíclico do complexo $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{bpy})_2]^+$ em MeCN/PTBA (0,1 mol L <sup>-1</sup> ), velocidade de varredura de 100 mV s <sup>-1</sup> . Varredura: +1,0 a -2,1 e de -2,1 até 1,0 V vs Ag/AgCl. ....	127
Figura 82. Curva de energia da banda de transferência de carga (TCML) em função do potencial de oxidação do metal, em $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{L})(\text{A})(\text{bpy})_2]^{n+}$ . $R^2 = 0,9096$ e a equação da reta é: $E_{op} = 1,65 \cdot 10^4 E_{\text{Ru(II)/Ru(III)}} + 4736$ . ....	129
Figura 83. Voltamogramas de pulso diferencial dos complexos $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$ e $cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$ em solução aquosa HCl/KCl (0,1 mol L <sup>-1</sup> ). Curva anódica, $v = 25$ mV s <sup>-1</sup> . ....	130

Figura 84. Voltamograma de pulso diferencial do <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> (curva preta) e do <i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (bpy) <sub>2</sub> ] (curva vermelha) em solução tampão fosfato pH = 7,4. Velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> . .....	134
Figura 85. Voltamogramas de pulso diferencial da mistura [Ru(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> (bpy) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup> , obtido a partir da reação do [RuCO <sub>3</sub> (bpy) <sub>2</sub> ] com CH <sub>3</sub> COOH e posterior neutralização do meio com NaCO <sub>3</sub> , e 7-azaindol, em solução tampão fosfato pH 7,4. Velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> . Curvas sucessivas do diaquocomplexo na presença do 7-azaindol. ....	135
Figura 86. Curva de condutividade do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , previamente dissolvido em DMF, em água em função do tempo. Equação: Condutividade = -13,67044 <sup>(-tempo/47,0234)</sup> + 22,687 e o coeficiente de correlação é 0,99206. ....	136
Figura 87. (A) Voltamograma de pulso diferencial do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em DMF (10%) e solução tampão fosfato pH = 7,4. Velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa. (B) Curva de corrente associada à oxidação do centro metálico no complexo <i>cis</i> -[Ru(H <sub>2</sub> O)(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup> (+0,71 V) em função do tempo. ....	138
Figura 88. Voltamograma de pulso diferencial do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> metanol (10%) e solução tampão fosfato pH = 7,4. Velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa. ....	139
Figura 89. (A) Voltamogramas de pulso diferencial do complexo <i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> dimetilformamida (10%) e solução tampão fosfato pH = 7,4. Velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa. (B) Curva de corrente (+0,63V) em função do tempo. ....	140
Figura 90. Voltamogramas de pulso diferencial do complexo <i>cis</i> -[RuCl(4-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> dimetilformamida (10%) e solução tampão fosfato pH = 7,4. Velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa. (B) Curva de corrente (+0,64V) em função do tempo. ....	141
Figura 91. Voltamograma de pulso diferencial do complexo <i>cis</i> -[RuCl(qui)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> dimetilformamida (10%) e solução tampão fosfato pH = 7,4. Velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa. (B) Curva de corrente (+0,46V) em função do tempo. ....	142

Figura 92. Voltamograma de pulso diferencial do complexo <i>cis</i> -[RuCl(bzim)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> dimetilformamida (10%) e solução tampão fosfato pH = 7,4. Velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa. ....	143
Figura 93. Voltamograma de pulso diferencial do complexo <i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (bpy) <sub>2</sub> ] em dimetilformamida (10%) e solução tampão fosfato pH = 7,4. Velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa. (B) Curva de corrente (+0,71V) em função do tempo. ....	144
Figura 94. Voltamograma de pulso diferencial do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em dimetilformamida (10%) e solução de KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> . v = 10 mV s <sup>-1</sup> , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa.....	145
Figura 95. Voltamograma de pulso diferencial do complexo <i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em dimetilformamida (10%) e solução de KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> . v = 10 mV s <sup>-1</sup> , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa.....	145
Figura 96. Voltamograma de pulso diferencial do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em dimetilformamida (10%) e solução de KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> . v = 10 mV s <sup>-1</sup> , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa. ....	146
Figura 97. Voltamograma de pulso diferencial do <i>cis</i> -[RuCl(4-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em dimetilformamida (10%) e solução de KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> . v = 10 mV s <sup>-1</sup> . ....	146
Figura 98. Voltamograma de pulso diferencial do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , previamente dissolvido em DMF, em solução contendo 4 mmol L <sup>-1</sup> NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 100 mmol L <sup>-1</sup> NaCl, 25 mmol L <sup>-1</sup> NaHCO <sub>3</sub> , pH 7,4, 0,5 mmol L <sup>-1</sup> de albumina e 0,5 mmol L <sup>-1</sup> glutaciona. Curvas sucessivas do complexo em solução aquosa. Velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> . ....	147
Figura 99. Voltamograma de pulso diferencial do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em solução glutaciona (0,5 mmol L <sup>-1</sup> ), 4 mmol L <sup>-1</sup> NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 25 mmol L <sup>-1</sup> NaHCO <sub>3</sub> , pH = 7,4 e apenas em solução tampão fosfato (curva em vermelho). (B) Curva de corrente (+0,67V) em função do tempo. Velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> . ....	148
Figura 100. (A) Voltamogramas de pulso diferencial de <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> (2 mg) em pasta de carbono ativo, imerso em solução tampão fosfato pH = 7,4 e BSA (65 μmol L <sup>-1</sup> ). Curvas obtidas em diferentes tempos em que a pasta é	

mantida em solução (20 min tempo total). Velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> . (B) Voltamograma de pulso diferencial da solução do BSA sem complexo.150	
Figura 101. Voltamogramas de pulso diferencial do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> (2,8 μmol L <sup>-1</sup> ) em solução tampão fosfato pH = 7,4 e BSA (65 μmol L <sup>-1</sup> ). Curvas obtidas em diferentes tempos. Eletrodo de pasta de carbono. Velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> . (A) Solução do complexo com BSA; (B) Solução do complexo sem BSA. ....	152
Figura 102. Voltamogramas de pulso diferencial de <i>cis</i> -[RuCl(bzim)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> (2 mg) em pasta de carbono ativo, imerso em solução tampão fosfato pH = 7,4 e BSA (65 μmol L <sup>-1</sup> ). Curvas obtidas em diferentes tempos. Velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> .....	152
Figura 103. Voltamogramas de pulso diferencial de <i>cis</i> -[RuCl(4-ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> (2 mg) em pasta de carbono ativo, imerso em solução tampão fosfato pH = 7,4 e BSA (65 μmol L <sup>-1</sup> ). Curvas obtidas em diferentes tempos. Velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> .....	153
Figura 104. Voltamogramas de pulso diferencial de <i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> (2 mg) em pasta de carbono ativo, imerso em solução tampão fosfato pH = 7,4 e BSA (65 μmol L <sup>-1</sup> ). Curvas obtidas em diferentes tempos. Velocidade de varredura de 10 mV s <sup>-1</sup> .....	153
Figura 105. Espectro de emissão do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> (vermelho, 24,5 μmol L <sup>-1</sup> ) e do ligante 1H-indazol (preto, 8,2 nmol L <sup>-1</sup> ) em metanol. Excitação em 292 nm. ....	154
Figura 106. (A) Espectros de emissão do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 24,5 μmol L <sup>-1</sup> , em metanol, em diferentes tempos de irradiação de luz ultravioleta. Excitação em 292 nm. (B) Curva cinética da de emissão do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 24,5 μmol L <sup>-1</sup> , em metanol, em diferentes tempos de irradiação de luz ultravioleta.....	155
Figura 107. Espectros de emissão do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 24,5 μmol L <sup>-1</sup> , em metanol, em diferentes tempos de irradiação de luz branca. Excitação em 292 nm. ....	156

Figura 108. Espectros de emissão do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , 24,5 μmol L <sup>-1</sup> , em metanol e sob atmosfera de argônio, em diferentes tempos de irradiação de luz ultravioleta. Excitação em 292 nm. ....	157
Figura 109. Espectros de emissão do 1H-indazol, 8,2 nmol L <sup>-1</sup> , em metanol, em diferentes tempos de irradiação do fluorímetro. Espectros obtidos a cada 2 min de irradiação de luz. Excitação em 292 nm. ....	157
Figura 110. Espectros na região do ultravioleta-visível do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em MeCN. Durante sucessivas irradiações de luz em 300 nm. ....	158
Figura 111. Espectros na região do ultravioleta-visível do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em MeOH. Durante sucessivas irradiações de luz em 300 nm. ....	159
Figura 112. Espectros na região do ultravioleta-visível do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> . Durante sucessivas irradiações de luz em 300 nm. ....	159
Figura 113. Espectros na região do ultravioleta-visível do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em MeCN. Durante sucessivas irradiações de luz em 420 nm. ....	160
Figura 114. Espectros na região do ultravioleta-visível do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em MeCN. Durante sucessivas irradiações de luz em 420 nm. ....	161
Figura 115. Espectros na região do ultravioleta-visível do complexo <i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em MeCN. Durante sucessivas irradiações de luz em 300 nm. ..	162
Figura 116. Espectros na região do ultravioleta-visível do complexo <i>cis</i> -[RuCl(qui)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em MeCN. Durante sucessivas irradiações de luz em 300 nm. ....	162
Figura 117. Espectros na região do ultravioleta-visível de <i>cis</i> -[RuCl(bzim)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em MeCN. Durante sucessivas irradiações de luz em 300 nm. ....	165
Figura 118. Espectros na região do ultravioleta-visível de <i>cis</i> -[RuCl(indz)(phen) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em MeCN. Durante sucessivas irradiações de luz em 300 nm. ....	166

Figura 119. Espectros na região do ultravioleta-visível de <i>cis</i> -[RuCl(ain)(phen) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em MeCN. Durante sucessivas irradiações de luz em 300 nm. ....	166
Figura 120. (A) Espectros eletrônicos na região do ultravioleta-visível da mistura: hipoxantina (7,5.μmol L <sup>-1</sup> ), xantina oxidase (1,8.μmol L <sup>-1</sup> ) e solução tampão fosfato pH 7,4. O tempo de acompanhamento das alterações espectroscópicas foi de 600 s. (B) Curva de absorvância (em 280 nm) em função do tempo (s) da reação da hipoxantina com oxigênio, em meio aquoso, na presença da xantina oxidase.....	167
Figura 121. Curva de absorvância (em 540 nm) em função do tempo da reação de formação do NBT reduzido a partir do NBT (0,5 mmol L <sup>-1</sup> ) e íon superóxido, obtido na reação da hipoxantina (7,5 μmol L <sup>-1</sup> ) com oxigênio e catalisada pela xantina oxidase (1,8 μmol L <sup>-1</sup> ). ....	169
Figura 122. Medidas de consumo do íon superóxido através das curvas do máximo de absorção do NBT reduzido (540 nm) em função do tempo. Obtido a partir da mistura de NBT, hipoxantina e xantina oxidase em solução tampão fosfato, na presença do complexo <i>cis</i> -[RuCl(qui)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> . ....	170
Figura 123. Medidas de consumo do íon superóxido através das curvas do máximo de absorção do NBT reduzido (540 nm) em função do tempo. Obtido a partir da mistura de NBT oxidado, hipoxantina e xantina oxidase em solução tampão fosfato, na presença de <i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> . ....	170
Figura 124. Medidas de consumo do íon superóxido através das curvas do máximo de absorção do NBT reduzido (540 nm) em função do tempo. Obtido a partir da mistura de NBT oxidado, hipoxantina e xantina oxidase em solução tampão fosfato, na presença do complexo <i>cis</i> -[RuCl(bzim)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> . ....	171
Figura 125. Medidas de consumo do íon superóxido através das curvas do máximo de absorção do NBT reduzido (540 nm) em função do tempo. Obtido a partir da mistura de NBT oxidado, hipoxantina e xantina oxidase em solução tampão fosfato, na presença do complexo <i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> . ....	171
Figura 126. Medidas de consumo do íon superóxido através das curvas do máximo de absorção do NBT reduzido (540 nm) em função do tempo. Obtido a partir da mistura de NBT oxidado, hipoxantina e xantina oxidase em solução tampão fosfato, na presença do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> . ....	172

Figura 127. Medidas de consumo do íon superóxido através das curvas do máximo de absorção do NBT reduzido (540 nm) em função do tempo. Obtido a partir da mistura de NBT oxidado, hipoxantina e xantina oxidase em solução tampão fosfato, na presença do complexo <i>cis</i> -[RuCl(4-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> . .....	172
Figura 128. Alterações espectroscópicas da hipoxantina, em solução tampão fosfato, na presença xantina oxidase e do complexo <i>cis</i> -[RuCl(4-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> . .....	173
Figura 129. Curva porcentagem de formação do NBT reduzido em função da concentração do complexo <i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> . .....	174
Figura 130. Curva porcentagem de formação do NBT reduzido em função da concentração do complexo <i>cis</i> -[RuCl(bzim)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> . .....	174
Figura 131. Curva porcentagem de formação do NBT reduzido em função da concentração do complexo <i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> . .....	175
Figura 132. Curva porcentagem de formação do NBT reduzido em função da concentração do complexo <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> . .....	175
Figura 133. Ensaio de vasodilatação, medida de IC <sub>50</sub> dos ligantes livres e dos complexos do tipo <i>cis</i> -[RuCl(L)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> e o padrão BAY 412272 em anéis de aorta de ratos. ....	177
Figura 134. Ensaio de ativação da sGC usando complexos <i>cis</i> -[RuCl(L)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , em que L é indz, bzim, 4-ain, 5-ain, ain, 100 μmol L <sup>-1</sup> , sem qualquer estimulação com doadores de NO, a 37 °C. ....	179
Figura 135. Medidas de produção de cGMP total (kit de ELISA de cGMP) em tecido vascular tratadas com DMSO (controle) e <i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> (n = 6, ANOVA seguido por teste de Bonferroni).(Costa 2012) .....	179
Figura 136. Concentração mínima necessária para relaxar 50% dos corpos cavernosos isolados de humanos (IC <sub>50</sub> ) pre-contraídos com fenilefrina (10 μmol L <sup>-1</sup> ). (CAMPOS 2012 ) .....	180
Figura 137. Inibição de células HCT-116 empregando-se os complexos <i>cis</i> -[RuCl(L)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> PF <sub>6</sub> , na dosagem de 25 μg mL <sup>-1</sup> . .....	181
Figura 138. Inibição de células Ovacar-8 empregando-se os complexos <i>cis</i> -[RuCl(L)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> PF <sub>6</sub> , na dosagem de 25 μg mL <sup>-1</sup> . .....	181

Figura 140. Inibição de células SF-295 empregando-se os complexos <i>cis</i> -[RuCl(L)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> , na dosagem de 25 µg mL <sup>-1</sup> .....	182
Figura 140. Dados de IC <sub>50</sub> (umol L <sup>-1</sup> ) de <i>cis</i> -[RuCl(L)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> para inibir células tumorais.....	182

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Compostos Inorgânicos em uso clínico ou em fase avançada de estudo (Cohen 2007; Fricker 2007; Hambley 2007).....	46
Tabela 2. Dados de porcentagens em massa de carbono, hidrogênio e nitrogênio, presentes nos sólidos obtidos (% experimental), % teórica e % erro. ....	60
Tabela 3. Dados de condutividade de <i>cis</i> -[RuCl(L)(X-X) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> , 1 mmol L <sup>-1</sup> , em MeCN. ....	62
Tabela 4. Dados de comprimento de onda (λ - nm) de alguns complexos de formulação <i>cis</i> -[RuCl(L)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> em diferentes solventes e as respectivos momentos dipolar.....	69
Tabela 5. Dados espectroscópicos na região do ultravioleta-visível dos complexos de formulação <i>cis</i> -[RuCl(L)(X-X) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> , em acetonitrila. ....	70
Tabela 6. Dados espectroscópicos na região do infravermelho dos complexos de formulação <i>cis</i> -[RuCl(L)(X-X) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> , em pastilha de KBr (Colthup, Daly et al. 1990). ....	78
Tabela 7. Atribuição dos sinais de <sup>1</sup> H dos complexos <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , <i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (bpy) <sub>2</sub> ], 7-azaindol em DMSO. ....	85
Tabela 8. Deslocamento químico dos hidrogênios no 4-azaindol e 5-azaindol, em dimetilsulfóxido deuterado.....	96
Tabela 9. Deslocamento químico dos hidrogênios do 1H-indazol, em dimetilsulfóxido deuterado.....	104
Tabela 10. Deslocamento químico dos hidrogênios no 6-carboxialdeído-1H-indazol, em DMSO-d <sub>6</sub> .....	107
Tabela 11. Deslocamento químico dos hidrogênios na quinolina, em CDCl <sub>3</sub> . ....	113
Tabela 12. Potenciais de oxidação e redução dos complexos de formulação <i>cis</i> -[RuCl(L)(X-X) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> e <i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (X-X) <sub>2</sub> ], obtidos em MeCN/PTBA, vs Ag/AgCl. O potencial de meia onda do ferroceno é +0,50 V vs Ag/AgCl, em MeCN. ....	124
Tabela 13. Potenciais de oxidação do metal em complexos do tipo <i>cis</i> -[Ru(L)(A)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>n+</sup> vs Ag/AgCl (E <sub>(Ru<sup>III</sup>→Ru<sup>II</sup>)</sub> ) e energia da banda de transferência de carga do Ru(II) para a bipyridina (Eop(TCLM)). ....	128

Tabela 14. Dados espectrais de fotólise medidos antes e após irradiação de luz (300 nm) na solução de MeCN do complexo <i>cis</i> -[RuCl(L)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> .....	163
Tabela 15. Dados de concentração mínima de complexo <i>cis</i> -[RuCl(L)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> necessária para que o consumo de O <sub>2</sub> <sup>-</sup> pelo NBT seja 50% (IC <sub>50</sub> ).e E <sub>1/2</sub> do Ru(II/III). .....	176

## Lista de Esquemas

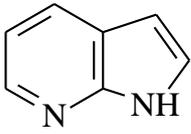
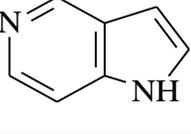
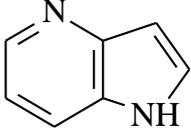
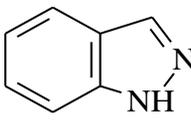
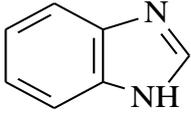
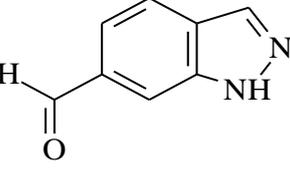
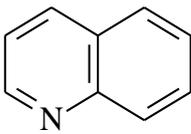
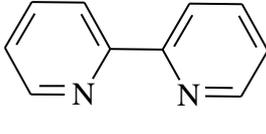
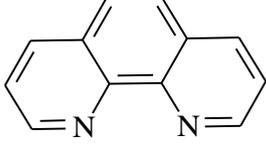
Esquema 1. Representação de algumas estruturas ressonantes do 7-azaindol. .....	84
Esquema 2. Representação dos processos de substituição que ocorrem no diclorobisbipiridinarutênio(II) em meio aquoso ácido, pH 1. Fonte: Autoria própria. .....	131
Esquema 3. Mecanismo da reação de oxirredução do <i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , na superfície do eletrodo de trabalho, em solução de HCl/KCl 0,1 mol L <sup>-1</sup> . ....	133
Esquema 4. Mecanismo da reação de oxirredução do complexo <i>cis</i> - [RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> , na superfície do eletrodo de trabalho, em solução tampão fosfato pH 7,4. ....	137
Esquema 5. Mecanismo de reação fotoquímica dos complexos <i>cis</i> - [RuCl(L)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em MeCN. ....	164
Esquema 6. Mecanismo de reação fotoquímica dos complexos <i>cis</i> - [RuCl(bzim)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> em MeCN.....	165

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	33
2. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS .....	49
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	52
3.1. Síntese do complexo <i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (X-X) <sub>2</sub> ] .....	52
3.2. Síntese dos complexos de formulação <i>cis</i> -[RuCl(L)(X-X) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> , L = 7-azaindol (ain), 5-azaindol (5-ain), 4-azaindol (4-ain), 1H-indazol (indz), 6-carboxialdeído-1H-indazol (COH-indz), benzimidazol (bzim) ou quinolina (qui) e X-X = 2,2-bipiridina (bpy) ou 1,10-fenantrolina (phen) .....	53
3.3. Medidas espectroscópicas na região do infravermelho.....	53
3.4. Medidas espectroscópicas nas regiões do ultravioleta e visível.....	53
3.5. Medidas de condutividade dos complexos .....	54
3.6. Medidas espectroscópicas de ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C .....	54
3.7. Fluorimetria .....	54
3.8. Voltametria cíclica e de pulso diferencial .....	54
3.9. Reatividade dos complexos na presença de albumina de soro bovino (BSA).....	55
3.10. Medidas fotoquímicas .....	55
3.11. Reatividade dos complexos na presença do íon superóxido .....	55
3.12. Ensaio de vasodilatação .....	56
3.13. Medidas de citotoxicidade de complexos do tipo <i>cis</i> -[RuCl(L)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> .....	57
3.14. Ensaio de reatividade dos complexos do tipo <i>cis</i> -[RuCl(L)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> com sGC .....	57
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	59

4.1. Síntese dos complexos de formulação $cis-[RuCl(L)(X-X)_2]PF_6$ .....	59
4.2. Caracterização dos complexos de formulação $cis-[RuCl(L)(X-X)_2]PF_6$ .....	60
4.3. Estudo da reatividade dos complexos de formulação $cis-[RuCl(L)(X-X)_2]^+$ .....	113
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	183
6. REFERÊNCIAS .....	185
7. Anexos.....	196

## SÍMBOLOS

Símbolo	Nome (código)
	7-azaindol (ain)
	5-azaindol (5-ain)
	4-azaindol (4-ain)
	1H-indazol (indz)
	Benzimidazol (bzim)
	6-carboxialdeído-1H-indazol (COH-indz)
	Quinolina (qui)
	2,2'-bipiridina (bpy)
	1,10-phenantrolina (phen)

## ABREVIATURAS

bpy	2,2'-bipiridina
phen	1,10-fenantrolina
sGC	Guanilato ciclase solúvel
cGMP	Guanosina monofosfato cíclica
GTP	Guanosina trifosfato
ERO	Espécies reativas de oxigênio
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
PKG	Proteína quinase G
PDE	Proteína fosfodiesterase
UV-Vis	Ultravioleta-visível
DMF	Dimetilformamida
MeOH	Metanol
MeCN	Acetonitrila
BSA	Albumina sérica bovina
NBT	azul nitrotetrazolina
TCML	Transferência de carga do metal para o ligante
IL	Transferência de carga interna do ligante
IV	Infravermelho
DMSO	dimetilsulfóxido
DMSO-d <sub>6</sub>	Dimetilsulfóxido deuterado
TMSO	Trimetilsulfóxido
RMN	Ressonância magnética nuclear
PTBA	Perclorato de tetrabutilamônio
VC	Voltamograma cíclico
VPD	Voltamograma de pulso diferencial
XO	Xantina oxidase
DTT	Ditiotreitol
X-X	2,2'-bipiridina ou 1,10-fenantrolina

tris

2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-  
diol

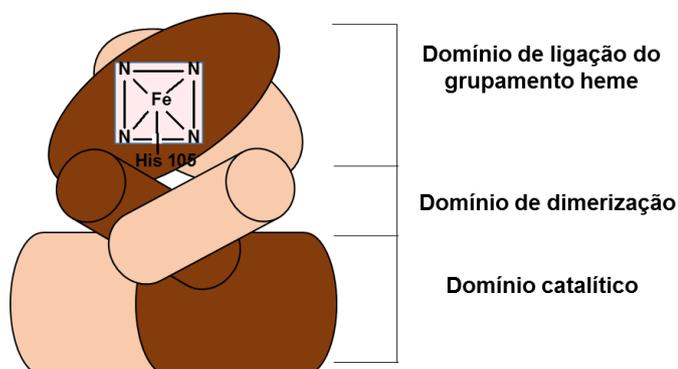
## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. Papel biológico da guanilato ciclase solúvel e mecanismo de ativação em processo de vasodilatação

Doenças cardiovasculares são um grave problema de saúde pública. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (2005), essas patologias são a principal causa de mortes em todo o mundo (Bonneux, Barendregt et al. 1994; Stewart, MacIntyre et al. 2001). As origens destas doenças são diversas, sendo um dos responsáveis a ativação ou a inibição da enzima guanilato ciclase solúvel (sGC) (Hardman and Sutherland 1969; Ishikawa, Ishikawa et al. 1969; Evgenov, Pacher et al. 2006).

A guanilato ciclase solúvel é um heterodímero constituído de duas subunidades, classificadas como  $\alpha$  e  $\beta$  (Furuyama, Inagaki et al. 1993; Poulos 2006), as quais são formadas por três domínios: domínio de ligação do grupamento heme, domínio de dimerização e o domínio catalítico (Hobbs 1997), como ilustrado na Figura 1.

Figura 1. Representação esquemática da guanilato ciclase solúvel



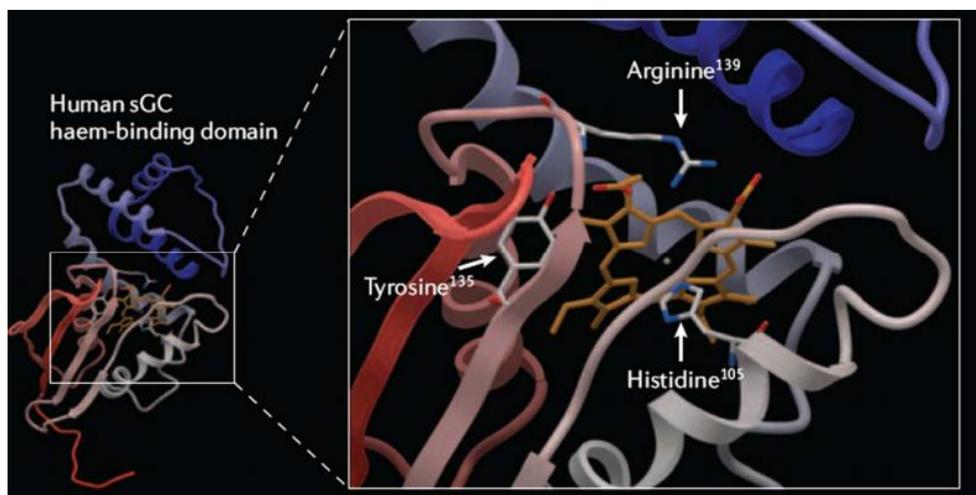
Fonte: Autoria própria

#### Domínio de ligação do grupamento heme

O domínio de ligação do grupamento heme contém o átomo Fe(II) ligado a quatro nitrogênios do anel porfirínico e um nitrogênio da histidina-105 formando, deste modo, uma espécie pentacoordenada (Figura 2) (Ignarro, Wood et al. 1982; Ohlstein, Wood et al. 1982; Wolin, Wood et al. 1982). A presença do

Fe(II) no anel porfirínico é responsável pela sensibilidade da enzima ao óxido nítrico (NO) (Ignarro, Degnan et al. 1982).

Figura 2. Representação do domínio de ligação heme da guanilato ciclase solúvel



Fonte: (Evgenov, Pacher et al. 2006).

### Domínio de dimerização

Esta é a região da enzima em que há a união das duas subunidades ( $\alpha$  e  $\beta$ ), essencial para que ocorra a ativação da guanilato ciclase solúvel (Wilson and Chinkers 1995; Hobbs 1997).

### Domínio catalítico

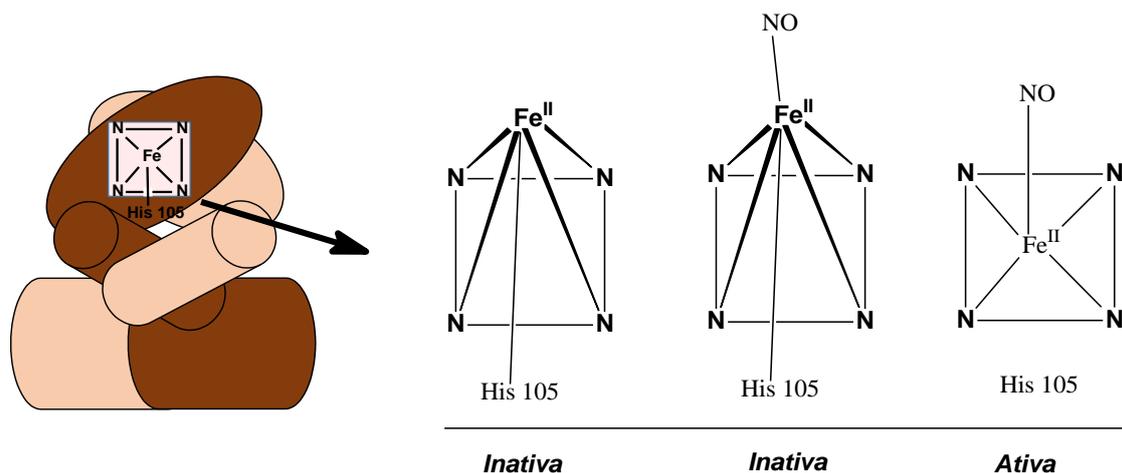
Este domínio fica na região C-terminal da enzima, o qual é capaz de interagir com a guanosina trifosfato (GTP) e catalisar a sua conversão em guanosina monofosfato cíclica (cGMP). A atividade catalítica da sGC é dependente da presença de íons divalentes, geralmente  $Mn^{2+}$  ou  $Mg^{2+}$ , os quais se associam ao domínio catalítico interagindo com GTP. As duas subunidades da sGC possuem esse domínio, entretanto, é a atuação das duas que permite que a enzima seja ativada pelo NO (Chinkers, Garbers et al. 1989; Thorpe and Garbers 1989; Hobbs 1997).

### Mecanismo de ativação da sGC

Para ocorrer a ativação da enzima, a molécula de óxido nítrico interage com o átomo Fe(II), de modo que provoca uma forte distorção da nuvem

eletrônica da ligação Fe(II)-histidina-(105) e, como consequência, quebra da referida ligação (Ignarro, Wood et al. 1982; Ohlstein, Wood et al. 1982; Wolin, Wood et al. 1982), também chamado de efeito translabilizante do NO (Figura 3).

Figura 3. Mecanismo de ativação da guanilato ciclase solúvel, a partir da interação do Fe(II) do grupo heme com a molécula de óxido nítrico.



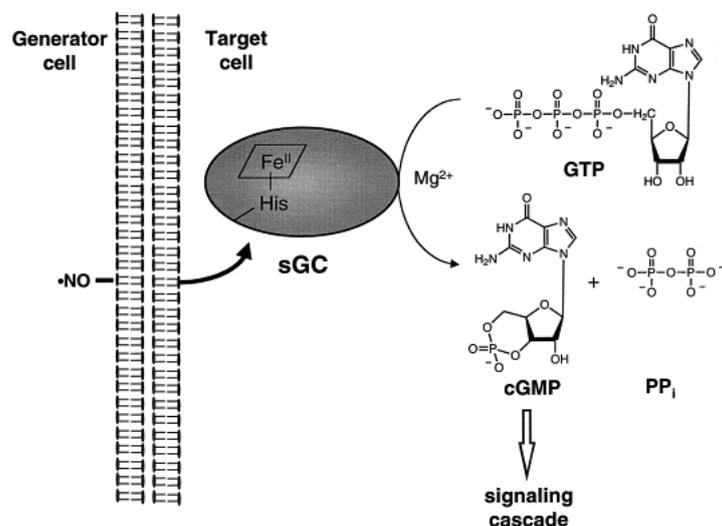
Fonte: Muralidharan, Sandhya; Boon, Elizabeth M. Journal of the American Chemical Society, 2012 (Muralidharan and Boon 2012).

Com a quebra da ligação Fe(II)-histidina(105), há alteração na conformação da enzima, de modo que ocorre um intenso aumento na ação catalítica da sGC, dependente de  $Mg^{2+}$ , na conversão da guanosina trifosfato (GTP). Deste modo, há a quebra da ligação fosfoéster P-O no fósforo beta e ciclização envolvendo fosfato alfa originando a guanosina monofosfato cíclica (cGMP) e pirofosfato (PPi) (Rall and Sutherland 1958; Ignarro, Wood et al. 1982; Denninger and Marletta 1999; Forsythe, Gilchrist et al. 2001), como ilustrado na Figura 4.

À medida que aumenta a concentração de guanosina monofosfato cíclico na musculatura lisa ocorre a vasodilatação, ou seja, diminuição da pressão arterial. Isto significa que a vasodilatação é dependente da produção de cGMP na célula e a produção desta é dependente da ativação da sGC. Entretanto, distúrbios na produção endógena do NO leva ao mau funcionamento da sGC e, portanto, na produção do cGMP, ocorrendo, deste modo, uma série de problemas fisiológicos, como por exemplo, as doenças cardiovasculares

(Feldman e col.)(1993; Granik and Grigoriev 2011). Além disto, como Fe(III) é um  $\pi$ -doador de densidade eletrônica extremamente mais fraco do que Fe(II) e sendo que a molécula de NO pode atuar como um  $\pi$ -receptor, então NO não tem tanta afinidade por Fe(III) mas sim por Fe(II). Sendo assim, caso o número de oxidação do ferro aumente de +2 para +3, NO não é capaz de ativar a guanilato ciclase solúvel (Hobbs 1997; Forsythe, Gilchrist et al. 2001).

Figura 4. Mecanismo de ativação da guanilato ciclase solúvel, a partir do NO (Denninger and Marletta 1999).



Fonte: (Denninger and Marletta 1999).

O monóxido de carbono, substância também produzida endogenamente a partir da heme oxigenase, é capaz de ativar a sGC ao se ligar com o Fe(II) desta enzima, o que se justifica pela sua forte capacidade aceptora- $\pi$  de densidade eletrônica (Figura 3). Entretanto, CO não ativa sGC de forma tão eficiente quanto NO – a ativação da enzima pelo NO é da ordem de 100 vezes maior do que a provocada pelo CO (Marks, Brien et al. 1991; Hobbs 1997; Forsythe, Gilchrist et al. 2001). Atribui-se tal fenômeno a incapacidade do CO em provocar o rompimento da ligação com histidina 105 por efeito *trans* labilizante.

Apesar do importante papel biológico do NO, em altas concentrações NO pode provocar danos a constituição do DNA e de proteínas, a exemplo da catalase. O óxido nítrico também pode reagir com espécies reativas de oxigênio gerando, por exemplo, peroxinitrito, o qual pode alterar a composição de várias

proteínas do organismo e, portanto, levar a danos à saúde (Feldaman e col.)(1993; Forsythe, Gilchrist et al. 2001; Granik and Grigoriev 2011). Sendo assim, existe a necessidade de controlar a concentração de NO em meio biológico.

## **1.2. Espécies reativas de oxigênio na hipertensão**

As espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio (ERO e ERN) desempenham papéis importantes para a célula, tais como: no controle da pressão sanguínea, na sinalização celular, na apoptose, na fagocitose de agentes patogênicos, na fertilização de ovos e no amadurecimento de frutos (Lai, Wu et al. 1998; Hoshikawa, Ono et al. 2001; Tabima, Frizzell et al. 2012).

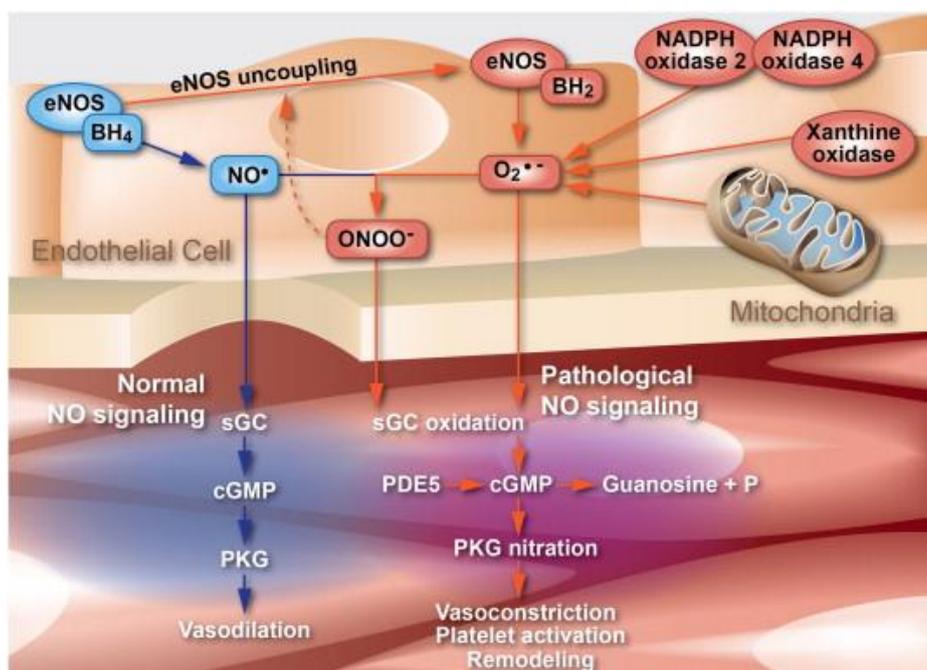
As espécies reativas de oxigênio, a exemplo do íon superóxido, são obtidas a partir da cadeia transportadora de elétrons na mitocôndria, por meio de enzimas como xantina oxidase e NADPH oxidase, pela redução de  $O_2$ . Com relação as espécies reativas de nitrogênio, a exemplo do peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), elas podem ser obtidas a partir da reação de espécies reativas de oxigênio (como  $O_2^-$ ) com óxido nítrico (Sawyer and Valentine 1981; Halliwell and Gutteridge 1984).

A Figura 5 ilustra, em células endoteliais, a síntese e a conversão de ERO e ERN.

Em condição de estresse oxidativo, a concentração de ERN e de ERO pode ser alta o suficiente para que as mesmas oxidem o Fe(II) do grupo heme da sGC, tornado-a incapaz de se ligar ao NO e ao CO e, deste modo, perde sua atividade biológica (Halliwell and Gutteridge 1984; Tabima, Frizzell et al. 2012). Além disto, ERO e ERN podem diminuir significativamente a concentração de NO necessária para que ocorra a vasodilatação. Sendo assim, estas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio podem desenvolver uma série de processos patológicos, dentre eles, a indução do câncer e a propagação de AIDS em pacientes soropositivos (HIV<sup>+</sup>), bem como na fisiopatologia de muitas doenças crônicas, dentre elas, doenças autoimunes, cardiopatias e doenças pulmonares (Loo 2003; Tabima, Frizzell et al. 2012). Por este motivo, faz-se necessário obter

fármacos capazes de controlar a concentração de ERO e de ERN, evitando condições de estresse oxidativo.

Figura 5. Representação esquemática da produção do  $O_2^{\cdot-}$  e  $ONOO^{\cdot-}$  em células endoteliais e interação dos mesmos com a sGC (condição patológica) (Tabima, Frizzell et al. 2012).



Fonte: (Tabima, Frizzell et al. 2012)

### 1.3. Importância da guanosina monofosfato cíclica na vasodilatação

A guanosina 3'-5'-monofosfato cíclica (cGMP) é um mensageiro secundário intracelular mediador de uma cascata de processos fisiológicos. Dentre estes processos, pode-se citar: o relaxamento da musculatura lisa, regulação da pressão arterial, agregação e desagregação plaquetária, neurotransmissão e, certamente, em processos de potenciação em longo prazo envolvidos na memória (BUECHLER, IVANOVA et al. 1995; Jaffrey and Snyder 1995; Denninger and Marletta 1999).

No sistema cardiovascular, cGMP é um sinalizador vital para o endotélio, a musculatura vascular lisa e as funções do miócito cardíaco. Isto porque, cGMP, produzida a partir do GTP, interage com a proteína quinase G (PKG) e, deste modo, a concentração de  $Ca^{2+}$  intracelular se mantém baixa o suficiente para

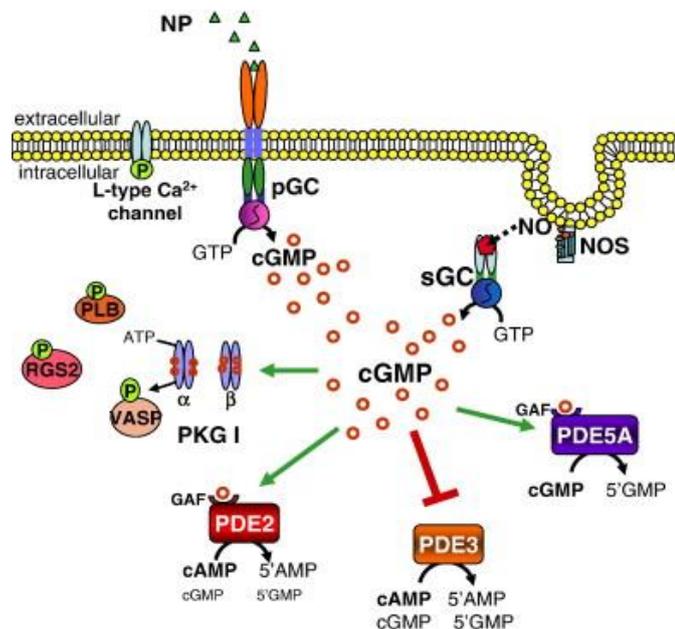
ocorrer a diminuição da pressão arterial impedindo, assim, o aumento da parede ventricular, massa e volume cardíaco – provenientes de sobrecarga hemodinâmica (Denninger and Marletta 1999; Tsai and Kass 2009).

A Figura 6 ilustra um esquema de síntese e conversão do sinalizador cGMP.

Para evitar que a musculatura lisa fique sempre na forma relaxada, após vasodilatação, algumas proteínas fosfodiesterases (PDE2, PDE3 e PDE5A) catalisam a hidrólise da guanosina monofosfato cíclica, contribuindo, deste modo para que os músculos saiam da forma relaxada e, portanto, evite a inativação prolongada dos órgãos do corpo (Kulikov e Makhova)(1998).

Entretanto, em situação de hipertensão arterial, a atuação da PDE5A, na hidrólise do cGMP, é indesejada, uma vez que diminui a concentração de cGMP necessária para ativar as proteínas quinase e mediar a vasodilatação (Rybalkin, Rybalkina et al. 2003; Zhang and Kass 2011). Faz-se necessário fármacos capazes de ativar a sGC, para elevar a produção de cGMP, e/ou inibição da PDE, ou ainda ativadores da PKG, uma vez que todos os elementos são importantes e atuam, por exemplo, no relaxamento da musculatura lisa.

Figura 6. Representação esquemática da produção da cGMP à partir da GTP, catalisada pelo sGC (guanilato ciclase solúvel) ou pGC (guanilato ciclase associada a membrana)



Fonte: (Tsai and Kass 2009)

Diante do fato de que uma das etapas envolvidas na vasodilatação requer a ativação da sGC via ligação com NO (Figura 3), a obtenção de compostos liberadores de NO em meio biológico trata-se de uma rota de estimular tal processo. Um dos nitrosilo complexos de aplicação terapêutica é o nitroprussiato de sódio ( $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]$ ), o qual é usado em situação de emergência clínica há mais de um século (Zampaglione, Pascale et al. 1996). Entretanto, a redução da pressão arterial ocorre de forma brusca e intensa, exigindo cuidados específicos; além disto, a molécula de óxido nítrico não é seletiva e pode interagir com diversas outras biomoléculas e não apenas com Fe(II) da sGC (Gifford and Jr 1991; Miranda, Espey et al. 2000). Sendo assim, torna-se importante obter compostos capazes de ativar a enzima sGC mesmo em condições de baixas concentrações ou na ausência de NO.

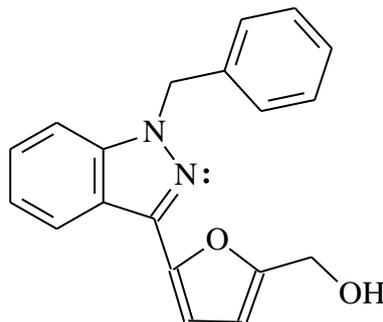
Há pouco mais de duas décadas, vêm se desenvolvendo moléculas capazes de ativar a enzima sGC. Baseados no comportamento destas moléculas classificou-se em dois tipos: os estimuladores e os ativadores da guanilato ciclase solúvel. No caso dos estimuladores, a molécula é dependente da presença do grupo heme na sGC, bem como ela atua também potencializando a ativação da enzima na presença do NO ou do CO. Por outro lado, os ativadores da guanilato ciclase solúvel atuam na ativação da enzima independentemente da presença do grupo heme e/ou do NO (Evgenov, Pacher et al. 2006).

#### **1.4. Estimuladores da guanilato ciclase solúvel**

O 3-(5'-hidroximetil-2'-fúril)-1-benzilindazol, representado como YC-1, (Figura 7) foi o primeiro composto orgânico sintético a ser usado na ativação da sGC, independente de NO. Sabe-se que este composto orgânico estimula a ativação da sGC, mas o mecanismo de atuação do YC-1 ainda não está totalmente esclarecido (Ko, Wu et al. 1994; Chun, Yeo et al. 2004; Pal and Kitagawa 2010; Priviero and Webb 2010).

A ativação da enzima pode ser potencializada quando YC-1 atua em conjunto com CO ou com NO provocando efeito sinérgico. Entretanto, YC-1 não avançou ainda como fármaco particularmente devido a limitações farmacocinéticas (Wu, Ko et al. 1995; Mülsch, Bauersachs et al. 1997).

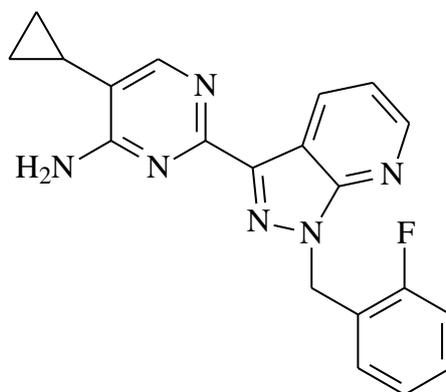
Figura 7. Estrutura química do YC-1, um estimulador da sGC



Fonte: Autoria própria

Todavia, baseado na estrutura da YC-1, uma série de outros compostos orgânicos (Ko, Wu et al. 1994), representados como BAY, foram sintetizados no intuito de obter fármacos mais eficientes na ativação da sGC. Dentre estes compostos, destaca-se BAY 41-2272 (Figura 8), o qual é duas vezes mais potente que a YC-1 (Stasch, Becker et al. 2001).

Figura 8. Estrutura química do BAY 41-2272



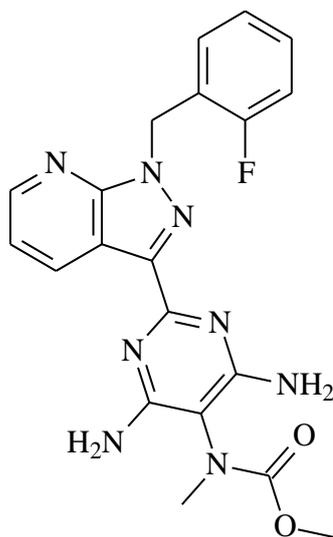
Fonte: Autoria própria

O composto BAY 41-2272 atua também na inibição da PDE5, bloqueando os canais de Ca<sup>2+</sup>, com consequente diminuição da pressão sanguínea, relaxamento potente e de alta duração em artérias basilares e pulmonares e diminuição da pressão sanguínea em sistemas cardiovasculares. Ele pode atuar em sinergia com NO na ativação da sGC e, portanto, no relaxamento de artérias. Entretanto, a atuação do BAY 41-2272 na inibição do PDE5 só é expressiva em altas concentrações, o que não deve ser relevante biologicamente (Tesmer,

Sunahara et al. 1997; Evgenov, Pacher et al. 2006). Recentemente, foi descoberto também que BAY 63-2521 (Figura 9) pode ser usado no tratamento da hipertensão pulmonar, mas os estudos ainda não foram aprofundados (Mittendorf, Weigand et al. 2009).

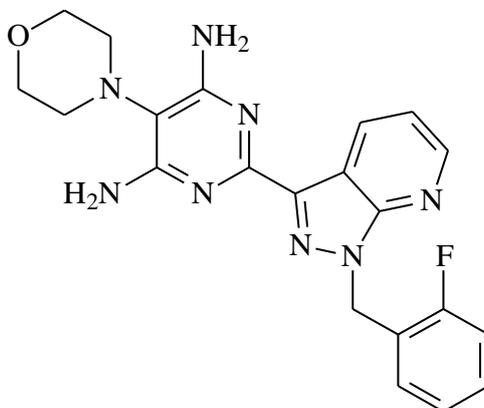
O composto BAY 41-8543 (Figura 10) também é duas vezes mais potente que a YC-1 na ativação da sGC purificada. Ele atua no relaxamento de artérias sistêmicas, anti-agregação plaquetária e propriedades antiploriferativas em músculos lisos. Por outro lado, não atua na inibição da PDE em concentrações farmacologicamente permitidas. Ainda há poucos estudos sobre o efeito biológico do BAY 41-8543 (Tesmer, Sunahara et al. 1997).

Figura 9. Estrutura química do composto BAY 63-2521



Fonte: Autoria própria

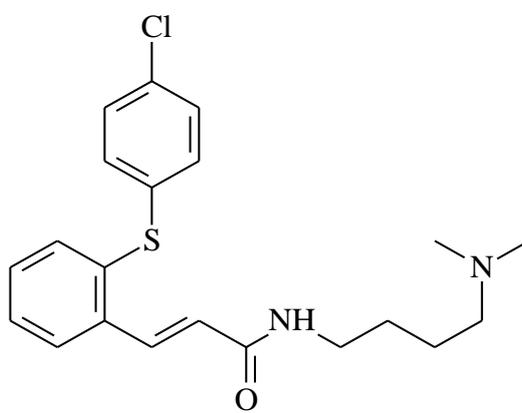
Figura 10. Estrutura química do BAY 41-8543



Fonte: Autoria própria

O composto A-350619 (Figura 11) não apresenta semelhança estrutural com o YC-1; entretanto, também é capaz de ativar a guanilato ciclase solúvel em sinergia com NO e a oxidação desta enzima pelo ODQ diminui sua eficiência. Tais estudos evidenciam que a atuação do A-350619 na ativação da sGC é dependente do grupo heme, tal como YC-1 (Miller, Nakane et al. 2003; Nakane 2003; Zhang and Kass 2011).

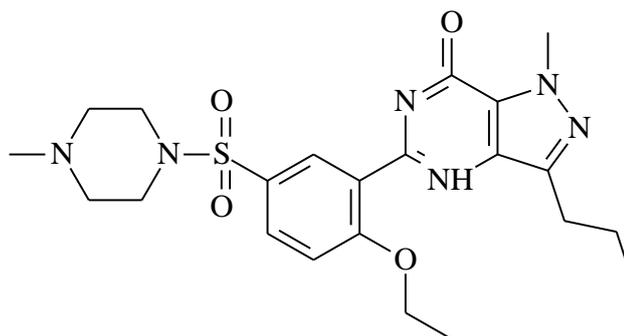
Figura 11. Estrutura química do composto A-350619



Fonte: Autoria própria

O sildenafil (Figura 12) trata-se do princípio ativo do Viagra®, que atua inibindo a PDE5 e, portanto, mantém a concentração de cGMP necessária para a vasodilatação. Entretanto, este medicamento é dependente da presença do NO, cuja deficiência incapacita ou minimiza o efeito farmacológico do Viagra® (Namachivayam, Theilen et al. 2006; Zhang and Kass 2011).

Figura 12. Estrutura química do composto sildenafil

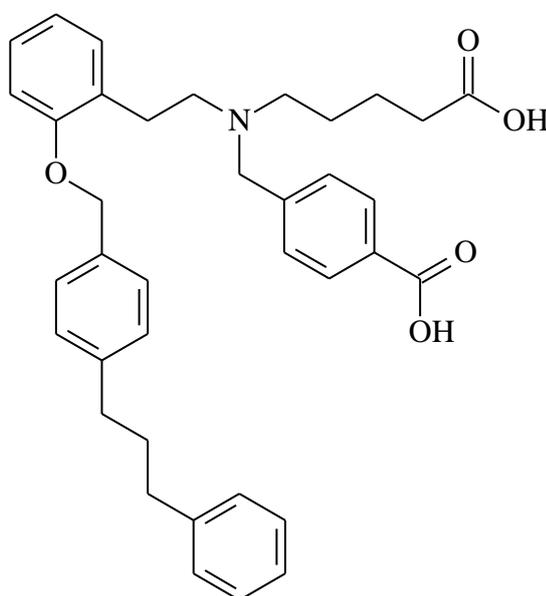


Fonte: Autoria própria

### 1.5. Ativadores da guanilato ciclase solúvel

BAY 58-2667 (Figura 13) é um composto orgânico que apresenta efeitos farmacológicos semelhantes ao BAY 41-2272. Entretanto, estudos indicam que o BAY 58-2667 se liga aos aminoácidos 371 da subunidade  $\alpha_1$  e 231 – 310 da subunidade  $\beta_1$  sem alterar o grupo heme prostético. Isto sugere que a atuação deste composto orgânico é independente do NO.

Figura 13. Estrutura química do composto BAY 58-2667



Fonte: Autoria própria

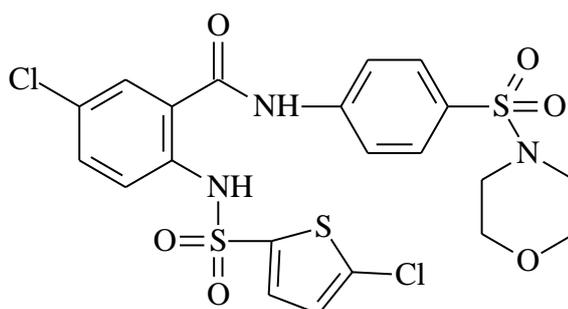
Este comportamento torna o composto interessante no tratamento de patologias que envolvem geração de radicais livres que causam a oxidação da sGC. BAY 58-2667 provoca um relaxamento vascular 160 vezes mais intenso

que o BAY 41-2272, apresentando-se como uma droga potencial no tratamento de doenças cardiovasculares (2005).

Um outro composto descoberto como ativador da sGC foi o HMR-1766 (Figura 14), que deve atuar preferencialmente em doenças cardiovasculares associadas ao aumento do stress oxidativo e hipertensão pulmonar. Por outro lado, estudos indicam que este composto orgânico não impede a degradação da sGC por oxidação induzida; entretanto, ainda há poucos estudos farmacológicos da HMR-1766 (Schmidt, Rothkegel et al. 2005).

Diante das limitações associadas ao uso de compostos orgânicos para estimular a vasodilatação e dos poucos estudos associados aos mesmos, faz-se necessário obter fármacos mais eficientes para esse fim.

Figura 14. Estrutura química do composto HMR-1766



Fonte: Autoria própria

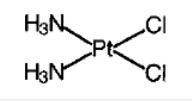
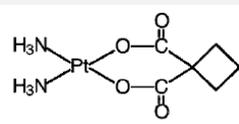
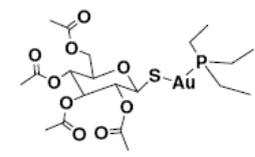
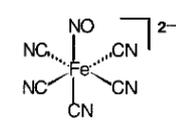
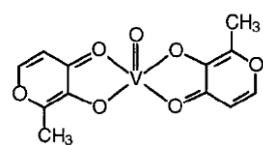
### 1.6. Uso de compostos de coordenação em processos de vasodilatação

Tendo em vista que cGMP é o mensageiro secundário intracelular chave, mediador de uma série de processos fisiológicos, é fundamental que a guanilato ciclase solúvel, as fosfodiesterases, as proteínas quinase, bem como a óxido nítrico sintetase (enzima envolvida na produção do NO) funcionem adequadamente. Entretanto, em situações de distúrbios no organismo, a exemplo da hipertensão arterial, o uso de fármacos capazes de estimular a ativação da sGC, ativação da PKG e/ou inibição da PDE5 poderão ser essenciais para o processo vasodilatatório (BUECHLER, IVANOVA et al. 1995; Jaffrey and Snyder 1995; Denninger and Marletta 1999).

Uma vez que o NO não é seletivo na produção do cGMP, o aumento da concentração do NO em meio biológico pode desenvolver outras patologias (Forsythe, Gilchrist et al. 2001). Sendo assim, é necessário desenvolver compostos que atuem no processo de vasodilatação mesmo na ausência do NO.

A década de 60 constituiu um marco na química inorgânica medicinal, devido à descoberta da atividade antitumoral da cisplatina (*cis*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>]), um dos mais eficientes agentes anticâncer já desenvolvidos na história. Conseqüentemente, os compostos inorgânicos se tornaram alvos de destaque para desenvolvimento da farmacologia (Rosenberg, Van Camp et al. 1967; Rosenberg and VanCamp 1970). A Tabela 1 mostra alguns exemplos de compostos inorgânicos usados em tratamento de doenças.

Tabela 1. Compostos Inorgânicos em uso clínico ou em fase avançada de estudo (Cohen 2007; Fricker 2007; Hambley 2007).

MEDICAMENTO	DOENÇA	ESTRUTURA DO PRINCÍPIO ATIVO
<b>Cisplatina</b>	Câncer	
<b>Carboplatin</b>	Câncer	
<b>Trisenox</b>	Câncer	<b>ÓXIDO DE ARSÊNIO(III)</b>
<b>Auranofin</b>	Artrite	
		
<b>Nitroprussiato de sódio</b>	Hipotensivo (Vasodilatador)	
<b>Bis-(maltolato)oxovanádio(IV) (bmov)</b>	Diabetes (insulina mimética)	

Fonte: Autoria própria

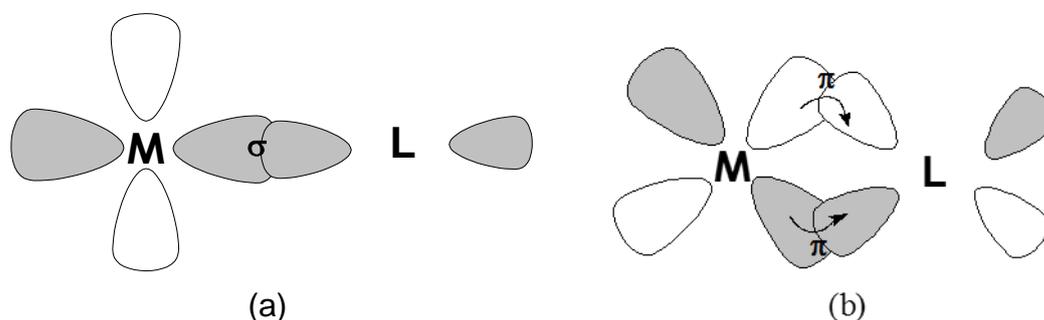
Estudos recentes destacam o uso de complexos de rutênio com potencial terapêutico, dentre estes tem-se os complexos *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(DMSO)<sub>4</sub>], *trans*-[RuCl<sub>4</sub>(Im)<sub>2</sub>]<sup>-</sup> (Im = imidazol), *trans*-[RuCl<sub>4</sub>(Ind)<sub>2</sub>]<sup>-</sup> (ind = indazol) e [Ru(tpy)dppz(H<sub>2</sub>O)]<sup>2+</sup> (tpy = terpiridina e dppz = dipirido[3,2-a: 2', 3'-c]fenazina), os quais apresentam atividade antitumoral (Clarke 2003; Reisner, Arion et al. 2005; Cebrián-Losantos, Reisner et al. 2008). Esses dados mostram a potencial ação farmacológica de complexos de rutênio.

O uso de complexos em tratamento de doenças se baseia no fato de que os metais de transição apresentam variabilidade no estado de oxidação; sendo assim, pode alterar a nuvem eletrônica dos ligantes de modo a torná-los mais propensos a participar dos processos.

YC-1 e seus derivados apresentam átomos de nitrogênio com pares de elétrons não ligantes. Sendo assim, são capazes de atuarem como bases de Lewis frente a metais de transição (Figuras 7 – 10, 12 ). Além disto, como apresentam orbitais moleculares de simetria  $\pi$  podem se combinar com orbitais HOMO de simetria  $\pi$  do Ru(II) (Figura 15), ou seja, há retrodoação do Ru(II) para as referidas bases de Lewis, fator este que contribui para obter compostos metálicos estáveis.

Estudos indicam que a atuação farmacológica do YC-1 e seus derivados orgânicos está associada principalmente aos anéis indólicos ou azaindólicos, cujas alterações em algumas posições dos anéis vêm gerando novos agentes estimuladores da sGC (Clarke 2003). Sendo assim, o desenvolvimento de compostos de coordenação contendo ligantes que apresentem estrutura semelhante a YC-1 poderia contribuir para entender o mecanismo de atuação destes compostos em meio biológico e potencializar o uso no relaxamento da musculatura lisa.

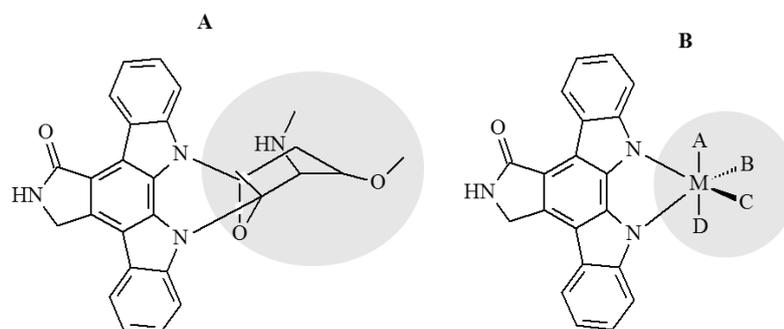
Figura 15. Representação simplificada da formação da ligação metal-L: (a) L doa par de elétrons para M formando ligação  $\sigma$  e (b) M, se for ácido de Lewis mole, retrodoa densidade eletrônica para L, nos orbitais de simetria pi



Fonte: Autoria própria

Meggers mostra uma serie de complexos de rutênio que atuam como modificadores estruturais, os quais apresentam aplicação terapêutica. Meggers destaca, por exemplo, que complexos de Ru(II) contendo uma mesma estrutura básica da estaurosporina (Figura 16) são potentes e seletivos na inibição da proteína quinase (Meggers 2009).

Figura 16. (A) Estrutura da estaurosporina e (B) Modelagem de complexos metálicos com estrutura básica da estaurosporina.



Fonte: (Meggers 2009)

Meggers também mostra que complexos polipiridínicos de rutênio apresentam atividade antitumoral e bactericida (Meggers 2009). Estes dados também sustentam a proposta de que complexos metálicos de rutênio(II) são fortes candidatos para aplicação terapêutica.

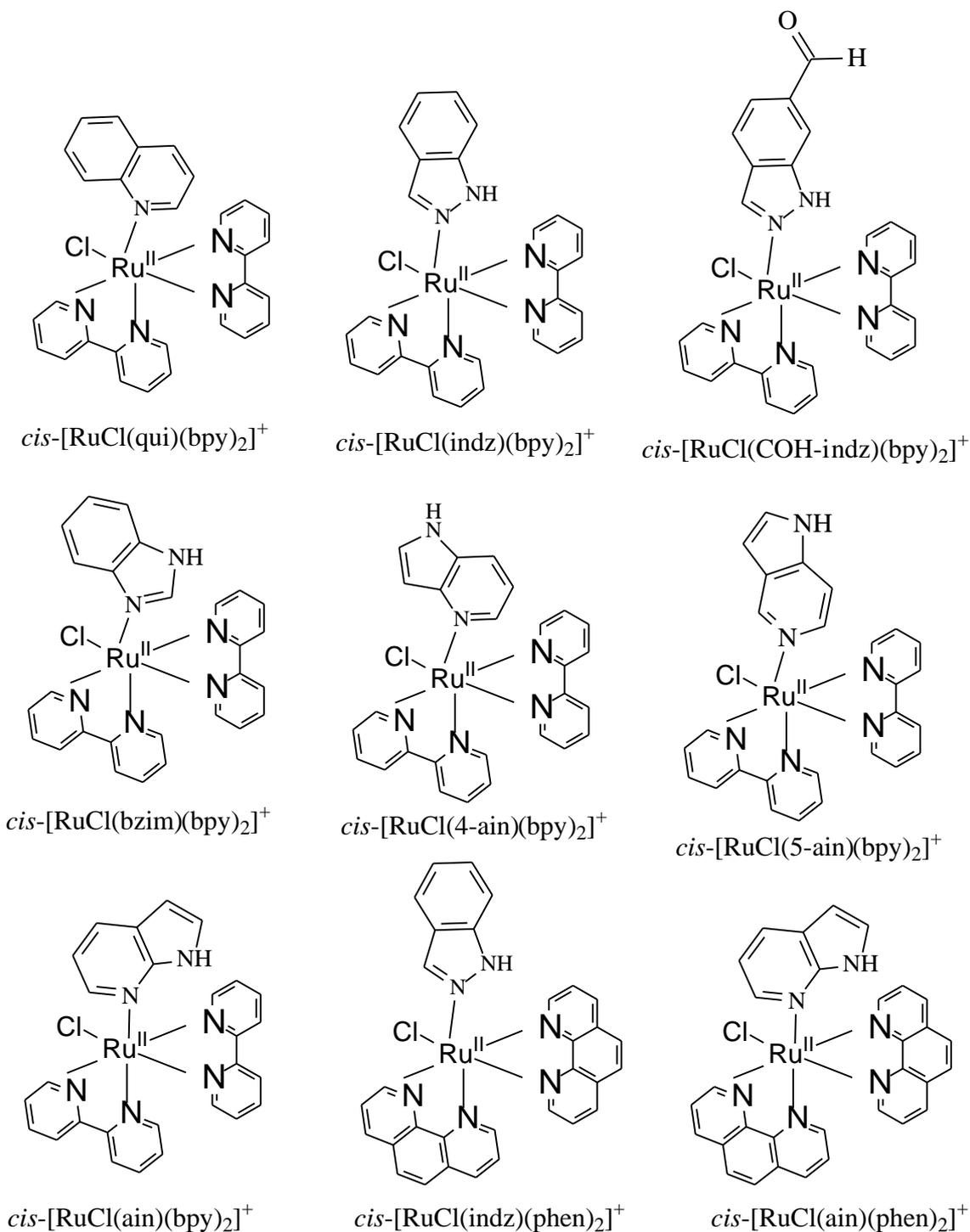
## 2. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

Uma vez que derivados de indazóis e azaindóis têm sido usados como potenciais vasodilatadores (a exemplo da YC-1, BAY 41-2272, BAY 63-2521 e BAY 41-8543) e estes podem atuar como bases de Lewis frente a rutênio(II), buscou-se obter compostos de Ru(II) contendo tais ligantes na composição. Além disto, como 2,2'-bipiridina e 1,10-fenantrolina apresentam baixa reatividade em complexos metálicos podem produzir complexos robustos e estáveis, bem como conferir moderada hidrofobicidade (Togniolo, Santana da Silva et al. 2001). Desta forma, objetivou-se sintetizar uma série de complexos do tipo *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, em que L é um ligante azaindólico ou indazólico e X-X é a 2,2'-bipiridina ou 1,10-fenantrolina, como ilustrado na Figura 17.

Além da síntese, buscou-se neste trabalho, caracterizar os complexos de formulação *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> usando:

- a. Técnicas eletroquímicas, como a voltametria cíclica e a de pulso diferencial;
- b. Técnicas espectroscópicas nas regiões do ultravioleta e visível;
- c. Técnica espectroscópica na região do infravermelho;
- d. Técnica espectroscópica de ressonância magnética nuclear de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C;
- e. Análise elementar;
- f. Condutividade elétrica

Tendo em vista que na sGC o estado de oxidação do ferro porfirínico deve ser mantido como +2 para que a mesma possa interagir com o NO e, portanto, ser ativada, buscou-se avaliar a reatividade eletroquímica dos complexos sintetizados. Além disto, como em situação de estresse oxidativo a concentração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio pode ser alta o suficiente para desenvolver patologias, tal como observado em estado hipertensivo, pretendeu-se avaliar a possibilidade dos complexos de formulação *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> atuarem como antioxidantes na presença do íon superóxido.

Figura 17. Estrutura prováveis dos complexos de formulação  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{X-X})_2]\text{PF}_6$ 

Fonte: Autoria própria

Adicionalmente, uma vez que complexos de formulação  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{X-X})_2]\text{PF}_6$  são sensíveis à luz ultravioleta-visível (UV-Vis), buscou-se avaliar a

fotoreatividade dos complexos sintetizados, bem com avaliar a capacidade de tais espécies interagirem com a albumina sérica bovina (BSA), proteína capaz de carrear vitaminas e nutrientes para dentro e fora da célula.

Sabendo-se que compostos orgânicos, derivados de azaindóis e indazóis, atuam em processos de vasodilatação, buscou-se avaliar a capacidade vasodilatadora dos complexos *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, em anéis de aorta de ratos, em colaboração com o grupo de pesquisa do professor doutor Nilberto Robson Falcão do Nascimento, do Laboratório de Farmacologia Cardiovascular da UECE.

Os dados de atividade anti-hipertensiva, realizados pelos colaboradores, já foram divulgados na dissertação de Paula Priscila Correia Costa (da UECE), o que valida a proposta de atividade biológica dos complexos em estudo.

Também se pretendeu avaliar a citotoxicidade dos complexos *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> em algumas linhagens de células tumorais, em colaboração com o grupo de pesquisa do professor Manoel Odorico de Moraes, do Laboratório de Oncologia Experimental da UFC.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Em todos os ensaios foram usados água do sistema Direct-Q-3/UV (Milli-Q), menor que 18 MΩ cm, e substâncias com pureza superior a 95%: 7-azaindol, 5-azaindol e 4-azaindol foram da Santa Cruz Biotechnology; 1H-benzimidazol, 1H-indazol e quinolina foram da Aldrich; albumina sérica bovina (99%) proveniente da Sigma; xantina oxidase da Serva; hipoxantina, cloreto de rutênio n-hidratado ( $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  - 95%), 2,2'-bipiridina, 1,10-fenantrolina, hexafluorofosfato de amônio ( $\text{NH}_4\text{PF}_6$ ), perclorato de tetrabutilamônio (PTBA) e glutationa foram provenientes do Sigma-Aldrich.

Os solventes: acetonitrila (MeCN), metanol (MeOH), dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida (DMF), etanol foram obtidos da Sigma-Aldrich.

As linhagens de células utilizadas, HCT-116 (cólon humano), Ovcar-8 (ovário humano) HL-60 (leucemia) e SF-295 (glioblastoma humano), foram cedidas pelo National Cancer Institut (NCI), tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640 (meios Roswell Park Memorial Institute), suplementados com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibióticos, mantidas em estufa a 37°C e atmosfera contendo 5% de  $\text{CO}_2$ .

#### 3.1. Síntese do complexo *cis*-[ $\text{RuCl}_2(\text{X-X})_2$ ]

Os complexos de formulação *cis*-[ $\text{RuCl}_2(\text{X-X})_2$ ] foram obtidos segundo os procedimentos descritos na literatura (Dwyer, Goodwin et al. 1963; Sullivan, Salmon et al. 1978).

Misturou-se 4,3 g de  $\text{RuCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  com 4,2 g de LiCl e 5,2 g de X-X (1,10-fenantrolina ou 2,2'-bipiridina) em 30 mL de dimetilformamida. O sistema foi deixado sob agitação magnética e refluxo durante 8h. Após este tempo, adicionou-se 200 mL de acetona e resfriou o sistema por 5h. A mistura foi filtrada e o sólido lavado com porções de água (5 – 10 °C) até que o líquido filtrado estivesse incolor.

### 3.2. Síntese dos complexos de formulação $cis$ -[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, L = 7-azaindol (ain), 5-azaindol (5-ain), 4-azaindol (4-ain), 1H-indazol (indz), 6-carboxialdeído-1H-indazol (COH-indz), benzimidazol (bzim) ou quinolina (qui) e X-X = 2,2-bipiridina (bpy) ou 1,10-fenantrolina (phen)

Foram dissolvidos 150 mg de  $cis$ -[RuCl<sub>2</sub>(X-X)<sub>2</sub>] (aproximadamente 0,31 mmol) em 20 mL de solução etanol/água (3:1 v/v). O sistema foi mantido sob agitação magnética, atmosfera de argônio e aquecimento a 70 °C durante 15 min. Após este tempo, foram adicionados 0,33 mmol de 7-azaindol, 5-azaindol, 4-azaindol, benzimidazol, 1H-indazol ou quinolina, previamente dissolvidos em 5 mL de solução etanol/água (3:1 v/v), o qual foi mantido por 1,5 h (Sullivan, Salmon et al. 1978). Logo após este tempo foram adicionados 340 mg de NH<sub>4</sub>PF<sub>6</sub> (2 mmol) e o sistema foi deixado por mais 1h nas condições anteriormente citadas. Em seguida, foi deixado sob resfriamento por 2h em geladeira e filtrado a vácuo. O sólido escuro foi lavado com água gelada, com porções de éter etílico, e armazenado no dessecador, sob proteção da luz. Rendimentos médios: 91,1% ( $cis$ -[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>); 85,6% ( $cis$ -[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>); 90% ( $cis$ -[RuCl(4-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>); 80,7% ( $cis$ -[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>), 47% ( $cis$ -[RuCl(COH-indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>) 95% ( $cis$ -[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>); 66,9% ( $cis$ -[RuCl(qui)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>); 91% ( $cis$ -[RuCl(indz)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>) e 63% ( $cis$ -[RuCl(ain)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>). Todos os complexos foram armazenados em recipientes escuros e guardados no dessecador.

### 3.3. Medidas espectroscópicas na região do infravermelho

Os espectros dos complexos foram registrados usando o equipamento BOMEM MB-102, na faixa de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>. As amostras foram preparadas dispersas em pastilha de KBr e a intensidade do sinal dos espectros foi registrada em função de um branco (KBr).

### 3.4. Medidas espectroscópicas nas regiões do ultravioleta e visível

Para os estudos espectroscópicos utilizou-se o espectrofotômetro da Hewlett-Packard 8453. As amostras foram preparadas pela pesagem direta da massa do composto e posterior dissolução em acetonitrila. As soluções foram

transferidas para uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1 cm para efetuar as medidas espectroscópicas.

### **3.5. Medidas de condutividade dos complexos**

As medidas de condutividade foram realizadas em condutivímetro Q795M2 da QUIMIS e a solução dos complexos em análise ( $1 \text{ mmol L}^{-1}$ ) foram em acetonitrila.

### **3.6. Medidas espectroscópicas de ressonância magnética nuclear de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$**

Os espectros foram obtidos em solução de dimetilsulfóxido e metanol, ambos deuterados, usando os espectrofotômetros de ressonância magnética nuclear Bruker de 300 e de 500 MHz.

### **3.7. Fluorimetria**

Os espectros de emissão dos ligantes e dos complexos foram registrados em metanol. As medidas foram realizadas no espectrofluorímetro QM-40 (Photon Technology International). Os complexos foram excitados em 280 nm e as emissões coletadas na faixa de 295 a 450 nm. A integração foi de 0,2 s e as fendas de excitação e emissão foram, respectivamente, 0,5 mm e 1,00 mm.

### **3.8. Voltametria cíclica e de pulso diferencial**

As medidas voltamétricas foram realizadas utilizando-se o potenciostato/galvanostato Bioanalytical Systems, Epsilon. Empregou-se uma célula com três eletrodos: carbono vítreo (BAS Inc.) como eletrodo de trabalho,  $\text{Ag/AgCl/Cl}^-$ , saturado com KCl, (BAS Inc.) e fio de platina (BAS Inc.) como eletrodos de referência e auxiliar, respectivamente.

Em todas as medidas, o eletrodo de trabalho foi polido em uma lixa e usando uma suspensão de etanol com alumina.

Todos os estudos eletroquímicos foram realizados em atmosfera de argônio, além disto, no caso dos experimentos realizados em meio aquoso foram utilizadas as seguintes soluções aquosas: de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , tampão fosfato pH

7,4, HCl/KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> e o complexo previamente dissolvido em (DMF ou MeOH – 10%). Por outro lado, no caso dos experimentos em meio orgânicos, foi utilizada acetonitrila como solvente e perclorato de tetrabutilamônio 0,1 mol L<sup>-1</sup> como contra-íon. Todas as medidas foram realizadas em função de um branco (solução sem o complexo) e em triplicata.

### 3.9. Reatividade dos complexos na presença de albumina de soro bovino (BSA)

A interação do BSA com os complexos do tipo *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> foi determinada com base no registro dos voltamogramas de pulso.

O eletrodo de carbono vítreo, eletrodo de trabalho, foi modificado com pasta de carbono, previamente preparado a partir da mistura do carbono ativo e nujol. Adicionou-se a esta pasta os complexos em estudo (2 mg) e imergiu o eletrodo na solução aquosa tampão fosfato 0,1 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,4) contendo BSA 0,65 μmol L<sup>-1</sup>. Também foram registrados voltamogramas cíclico do sistema em que o eletrodo de trabalho continha apenas pasta de carbono e a solução tampão fosfato continha BSA e os complexos em análise. Todas as medidas foram realizadas em atmosfera de argônio (Wei, Han et al. 2011).

### 3.10. Medidas fotoquímicas

As fotólises contínuas foram efetuadas em soluções de acetonitrila, metanol e diclorometano com complexos do tipo *cis*-[RuCl(L)(X-Y)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, usando cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico. Os experimentos foram realizados em um reator fotoquímico UNT 001 (UNITEC-LAB) e as lâmpadas usadas apresentaram comprimentos de onda máximo em 300 nm e 420 nm.

### 3.11. Reatividade dos complexos na presença do íon superóxido

Para avaliar a capacidade dos complexos do tipo *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> reagirem com o íon superóxido, foi utilizado um sistema contendo hipoxantina e a enzima xantina oxidase, para gerar superóxido, e azul nitrotetrazolina (NBT) para a detecção do superóxido. Este ensaio foi realizado em solução tampão

fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,4,  $10 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de xantina oxidase,  $150 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de hipoxantina,  $600 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  NBT e 10 a  $200 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de complexos, previamente dissolvido em DMF (10%). Esta reação foi mantida a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  e a cinética da reação foi monitorada durante 10 min por espectrofotômetro em 560 nm (Younes and Weser 1976).

Os dados foram ajustados a uma curva cinética de primeira ordem e o máximo de produção de superóxido foi utilizado para avaliar a eficiência dos complexos em consumir o íon superóxido. Para mostrar que o complexo não influencia na atividade da enzima, registou-se espectros, na região do ultravioleta, da mistura sem NBT.

O máximo de absorção do controle em 10 min, mistura contendo hipoxantina, xantina oxidase e NBT, em solução tampão fosfato, foi atribuído 100% de produção e os máximos de absorção (em 10 min), na presença dos complexos, foram divididos pelo máximo de absorção do controle e multiplicado por 100.

Todas as medidas foram realizadas em cubetas descartáveis de plásticos com caminho óptico de 1 cm.

### **3.12. Ensaios de vasodilatação**

Os ensaios de vasodilatação foram realizados por Paula Priscila Correia Costa (da UFC) sob orientação do professor doutor Nilberto Robson Falcão do Nascimento, no Laboratório de Farmacologia Cardiovascular da UFC.

Ratos do tipo “swiss” foram mortos por overdose com o composto barbitúrico (tiopental sódico  $200 \text{ mg Kg}^{-1}$ ). A aorta torácica foi cuidadosamente removida e cortada em segmentos de anéis de aproximadamente 5 mm de comprimento. Estes anéis de aorta foram colocados em um banho de órgãos de 5 mL contendo solução de Krebs-Henseleit com a seguinte composição:  $120 \text{ mmol L}^{-1}$  de NaCl,  $4,7 \text{ mmol L}^{-1}$  KCl,  $1,8 \text{ mmol L}^{-1}$   $\text{CaCl}_2$ ,  $1,43 \text{ mmol L}^{-1}$   $\text{MgCl}_2$ ,  $25 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{NaHCO}_3$ ,  $1,17 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e glucose, mantidos a  $37^\circ\text{C}$ . Após o equilíbrio, os anéis foram pré-contraídos com fenilefrina (PE,  $0,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ), e uma vez que uma resposta estável para PE (pressão endotelial) foi alcançada, sucessivas curvas concentração-resposta foram construídas

utilizando os complexos, cuja as concentrações variaram de 0,1 nmol L<sup>-1</sup> a 100 µmol L<sup>-1</sup>. Com o objetivo de validar o experimento, ao final de cada experimento, foi checado se o tecido ainda respondia à contração adicionando fenilefrina.

### **3.13. Medidas de citotoxicidade de complexos do tipo *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>**

As medidas de citotoxicidade foram realizados em colaboração com o grupo de pesquisa do professor Manoel Odorico de Moraes, do Laboratório de Oncologia Experimental da UFC.

A citotoxicidade da amostra foi avaliada pelo método do MTT (Mosman, 1983). As células foram plaqueadas em placas de 96 cavidades nas seguintes densidades: 0,7 x 10<sup>5</sup> (HCT-116), 0,1 x 10<sup>6</sup> (Ovcar-8), 0,1 x 10<sup>6</sup> (SF-295) e 0,3 x 10<sup>6</sup>. As amostras foram incubadas juntamente com as células durante 72 horas em uma única concentração (25 µg/mL para substâncias puras). As absorbâncias foram obtidas com o auxílio de um espectrofotômetro de placa a 595 nm.

Os experimentos foram analisados segundo suas médias e respectivos intervalos de confiança a partir da regressão não linear no programa GraphPad Prism. Cada amostra foi testada em duplicata em dois experimentos independentes.

Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Amostras sem atividade (SA), com pouca atividade (PA, inibição de crescimento celular variando de 1 a 50%), com atividade moderada (MO, inibição de crescimento celular variando de 50 a 75%) e com muita atividade (MA, inibição de crescimento variando de 75 a 100%).

### **3.14. Ensaios de reatividade dos complexos do tipo *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> com sGC**

Os ensaios de reatividade dos complexos com a sGC foram realizados pelos doutores Emil Martin e Iraidia Sharina, na *University of Texas Health Center*, em Houston.

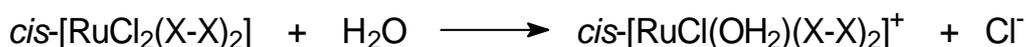
Os ensaios com a guanilato ciclase solúvel foram realizados baseando-se na conversão do  $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{GTP}$  em  $[\text{}^{32}\text{P}]\text{cGMP}$ , em 0,1 mL de solução contendo TEA (tris, 2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol,-acetato-EDTA)  $25\text{ mmol L}^{-1}$ , pH 7,5, albumina sérica bovina ( $1\text{ mg mL}^{-1}$ ), ditioneitol, DTT, ( $1\text{ mmol L}^{-1}$ ), cGMP ( $1\text{ mmol L}^{-1}$ ),  $\text{MgCl}_2$  ( $4\text{ mmol L}^{-1}$ ), creatina fosfoquinase ( $0,05\text{ mg mL}^{-1}$ ) e fosfato de creatina ( $5\text{ mmol L}^{-1}$ ). O tampão contendo sGC ( $0,1\text{ }\mu\text{g}$ ) e os complexos em análise foram incubado durante 10 min a temperatura ambiente. A reação foi iniciada pela adição do  $[\alpha\text{-}^{32}\text{P}]\text{GTP}$  ( $1\text{ mmol L}^{-1}$ )/ $[\text{}^{32}\text{P}]\text{cGMP}$  ( $\sim 150000\text{ cpm}$ ) e incubados durante 10 min a  $37^\circ\text{C}$ . A reação foi interrompida com a adição do acetato de zinco ( $400\text{ }\mu\text{L}$  de  $100\text{ mmol L}^{-1}$ ) seguida de carbonato de sódio ( $500\text{ }\mu\text{L}$  de  $120\text{ mmol L}^{-1}$ ). O GTP que não reagiu foi precipitado por centrifugação e o sobrenadante contendo cGMP extraído com 2 mL de  $\text{Al}_2\text{O}_3$ . cGMP foi eluído com tampão Tris pH 7,5 ( $10\text{ mL}$  a  $50\text{ mmol L}^{-1}$ ) (Illingworth 1985; Martin, Lee et al. 2001; Chromiński, Banach et al. 2013).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Síntese dos complexos de formulação *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>

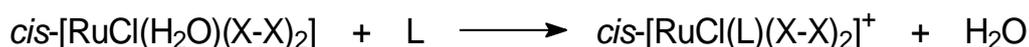
Ao adicionar o complexo *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(X-X)<sub>2</sub>] na solução etanol/água verifica-se que a solução, inicialmente lilás, vai se tornando vermelho escuro. Diante desta evidência experimental e com base na literatura (GODWIN and MEYER 1971), propõe-se que houve alteração na esfera de coordenação do metal.

Uma vez que a síntese ocorre em meio aquoso, a formação do aquacomplexo é mais favorecida, do ponto de vista cinético, do que o complexo contendo etanol na composição. Quanto ao aspecto termodinâmico, frente à Ru(II), etanol e cloreto são bases de Lewis mais fracas que a água (Lee 1999). Por conta disto, é de se esperar que a água substitua um dos cloretos da esfera de coordenação do Ru(II) formando o complexo *cis*-[RuCl(OH<sub>2</sub>)(X-X)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, como ilustrado em Eq. 1 (Sullivan, Salmon et al. 1978).



Eq. 1

Após adicionar o ligante L, sólido branco, na solução etanol/água do complexo *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(X-Y)<sub>2</sub>], verifica-se posteriormente alteração na cor da solução para um outro tom de vermelho. Diante deste dado experimental, pode-se propor que o ligante L substitui a molécula H<sub>2</sub>O da esfera do Ru(II), como indicado na Eq. 2 (Sullivan, Salmon et al. 1978). Um dos fatores termodinâmicos que contribui para que a substituição seja possível é o fato de L atuar como σ-doador e π-acceptor frente ao Ru(II), enquanto H<sub>2</sub>O atua como σ-doador de par de elétrons (Lee 1999); assim, a nuvem eletrônica compartilhada e, portanto, a força da ligação é maior no caso de Ru(II)-L e, como consequência, ocorre formação do *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.



Eq. 2

A proporção em quantidade de matéria entre precursor e ligante foi de 0,31 mmol (precursor) para 0,33 mmol (Ligante L), de forma a favorecer que somente um dos cloretos fosse substituído pelo ligante piridínico. Vale salientar

que o rendimento da síntese é maior que 60%, indicativo de que o procedimento é adequado para a obtenção dos compostos desejados. A solubilidade dos complexos em meio orgânico, tais como acetonitrila, dimetilformamida, metanol, etanol, diclorometano, é alta, por outro lado, a solubilidade em água é baixa.

## 4.2. Caracterização dos complexos de formulação *cis*- [RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>

### 4.2.1. Análise elementar

A Tabela 2 ilustra os dados de porcentagens em massa teórica e experimental de carbono, hidrogênio e nitrogênio presentes nos sólidos obtidos.

Tabela 2. Dados de porcentagens em massa de carbono, hidrogênio e nitrogênio, presentes nos sólidos obtidos (% experimental), % teórica e % erro.

Complexo	% Teórica	% Experimental	% Erro
<i>cis</i> -[RuCl(4-ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	C - 45,55	43,27	5,00
	H - 3,11	3,11	0,15
	N - 11,80	11,47	2,82
<i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> . H <sub>2</sub> O	C - 44,42	46,15	3,89
	H - 3,31	3,34	0,79
	N - 11,51	11,65	1,20
<i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	C - 45,55	45,73	0,40
	H - 3,11	3,00	3,68
	N - 11,80	11,77	0,28
<i>cis</i> -[RuCl(bzim)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	C - 45,55	44,98	1,25
	H - 3,11	3,23	3,70
	N - 11,80	11,65	1,30
<i>cis</i> - [RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> .H <sub>2</sub> O	C - 47,42	46,28	2,40
	H - 3,31	3,49	5,44
	N - 11,51	11,99	4,17
<i>cis</i> -[RuCl(COH- indz)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> .H <sub>2</sub> O	C - 44,37	44,90	1,20
	H - 3,39	3,21	0,58

	N - 11,09	10,99	0,87
<i>cis-</i>	C - 42,77	42,61	0,38
[RuCl(qui)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub> .CH <sub>3</sub> Cl	H - 2,87	2,92	1,68
	N - 8,31	8,56	2,97
<i>cis</i> -[RuCl(ain)(phen) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	C - 47,02	48,99	4,00
	N - 10,67	11,06	3,53
	H - 2,93	2,92	0,34
<i>cis</i> -[RuCl(indz)(phen) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	C - 48,56	48,99	0,88
	N - 11,17	11,06	1,00
	H - 3,00	2,92	2,74

Fonte: Autoria própria

Observa-se na Tabela 2 que o erro percentual associado às massas de nitrogênio, hidrogênio e carbono, em cada um dos sólidos obtidos, é inferior a 5%, dentro da faixa considerada tolerável. Por este motivo, é possível afirmar que estes dados sustentam a proposta de formulação dos complexos, bem como a pureza dos mesmos.

#### 4.2.2. Condutividade molar dos complexos de formulação *cis*- [RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>

A condutividade elétrica de uma solução corresponde a capacidade das espécies no meio conduzirem a corrente elétrica e isto é dependente da concentração do soluto e do número de cargas presentes. Caso seja mantida a concentração das espécies no meio e usando a condutividade molar, é possível determinar o número de cargas existentes em um complexo, as quais são deduzidas por comparação com dados tabelados (Geary 1971).

A condutividade elétrica de uma solução é dependente do solvente utilizado e a escolha do solvente envolve aspectos, tais como: constante dielétrica, viscosidade e condutividade específica. Os solventes mais adequados são aqueles que apresentam alta constante dielétrica e baixa viscosidade, a exemplo da acetonitrila, nitrometano e metanol. Assim, em um dado solvente, a

condutividade elétrica varia linearmente com a raiz quadrada da concentração (Geary 1971).

Com o objetivo de ratificar a proporção entre cátion e ânion nos compostos sintetizados, determinou-se a condutividade molar da solução dos complexos, 1 mmol L<sup>-1</sup>, em acetonitrila. Os dados obtidos estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Dados de condutividade de *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, 1 mmol L<sup>-1</sup>, em MeCN.

<b>Complexo</b>	<b>Condutividade (S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>)</b>
<i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	160
<i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	137
<i>cis</i> -[RuCl(4-ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	158
<i>cis</i> -[RuCl(bzim)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	138
<i>cis</i> -[RuCl(COH-indz)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	145
<i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	159
<i>cis</i> -[RuCl(qui)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	144
<i>cis</i> -[RuCl(ain)(phen) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	131
<i>cis</i> -[RuCl(indz)(phen) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	124

Fonte: Autoria própria

Observa-se na Tabela 3 que a condutividade molar dos complexos, em acetonitrila, está na faixa de 120 a 160 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>, sendo condizentes com a proporção de 1:1 entre cátions e ânions (Geary 1971). Isto sustenta a proposta de que apenas um dos cloretos, da esfera do Ru<sup>II</sup> em *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(X-X)<sub>2</sub>], é substituído por L. Vale salientar que a faixa de condutividade molar (120 a 160 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>), dada em função da proporção entre as cargas dos íons (1:1), é uma simplificação de uma serie de medições realizadas, em acetonitrila.

#### 4.2.3. Espectroscopia eletrônica nas regiões do ultravioleta e do visível (UV-Vis)

Sabendo-se que os compostos sintetizados são coloridos, registrou-se espectros na região do ultravioleta-visível. Os espectros obtidos estão apresentados nas Figuras 18 a 28.

Figura 18. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 12 μmol L<sup>-1</sup>, em acetonitrila.

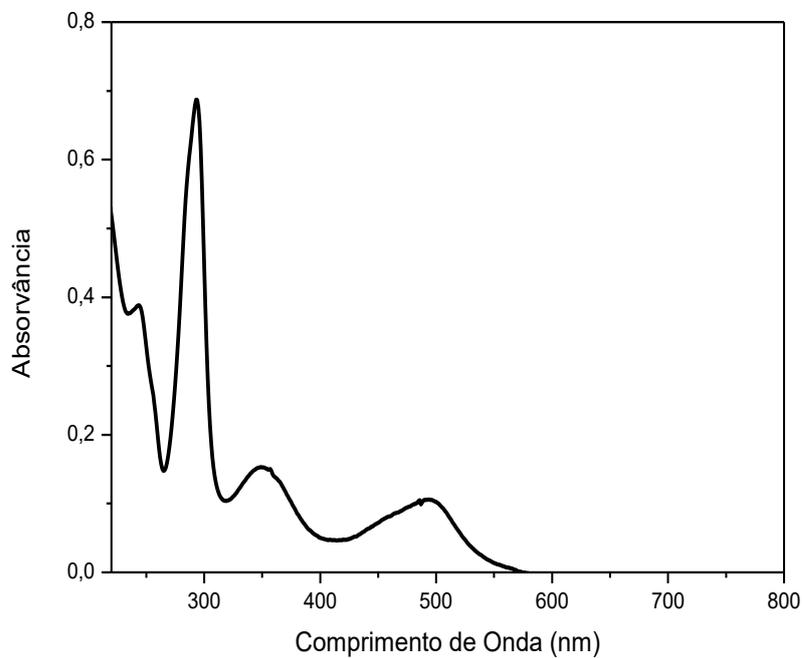


Figura 19. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo *cis*-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 23 μmol L<sup>-1</sup>, em acetonitrila.

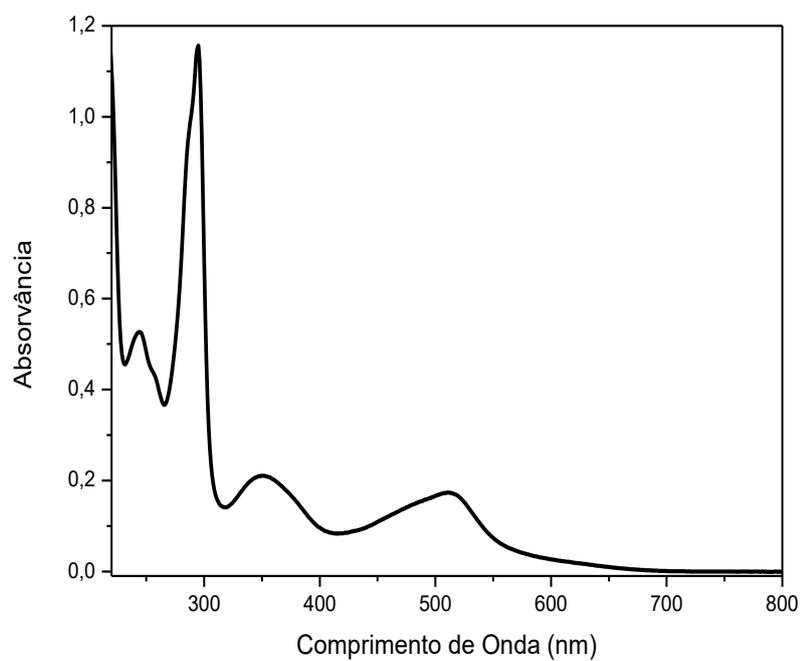


Figura 20. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(4\text{-ain})(\text{bpy})_2]^+$ ,  $14\ \mu\text{mol L}^{-1}$ , em acetonitrila.

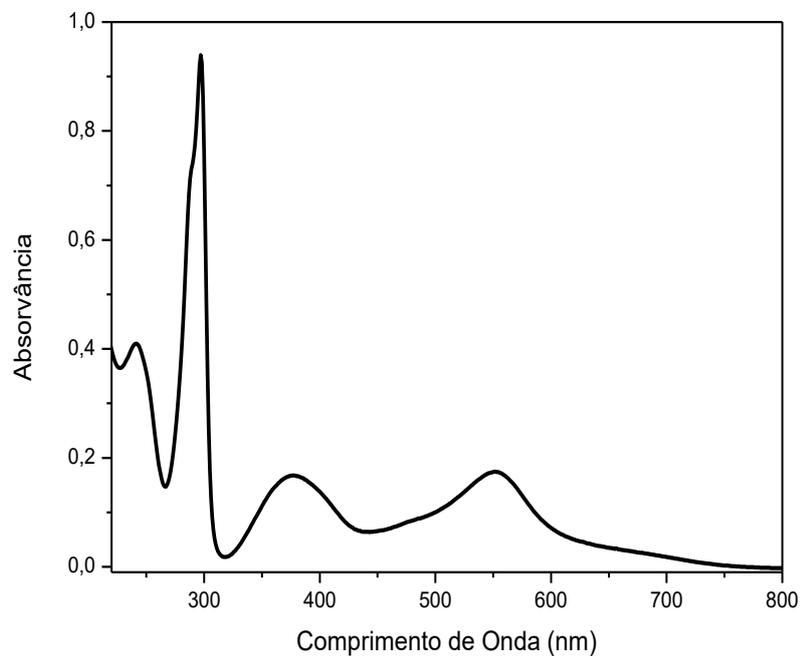


Figura 21. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{bpy})_2]^+$ ,  $16\ \mu\text{mol L}^{-1}$ , em acetonitrila.

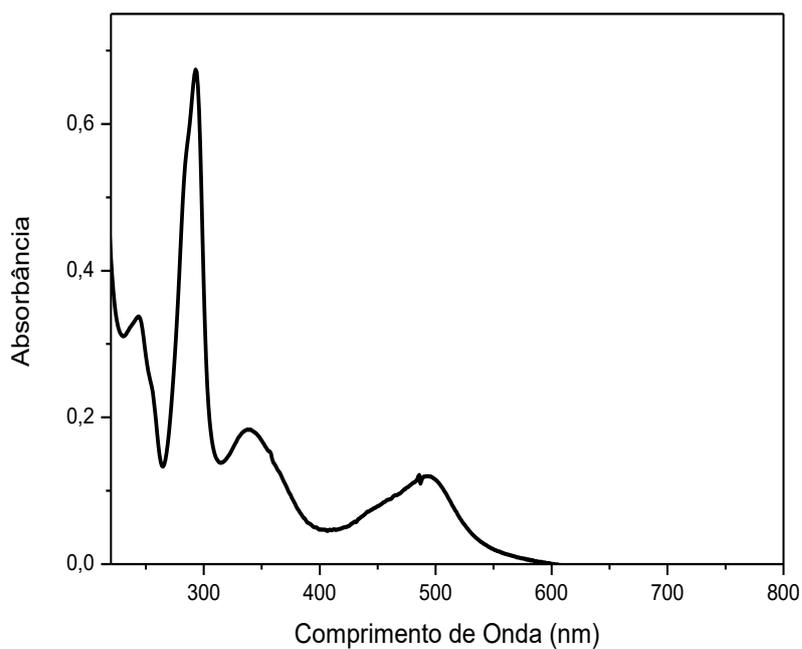


Figura 22. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{COH-indz})(\text{bpy})_2]^+$ ,  $11 \mu\text{mol L}^{-1}$ , em acetonitrila.

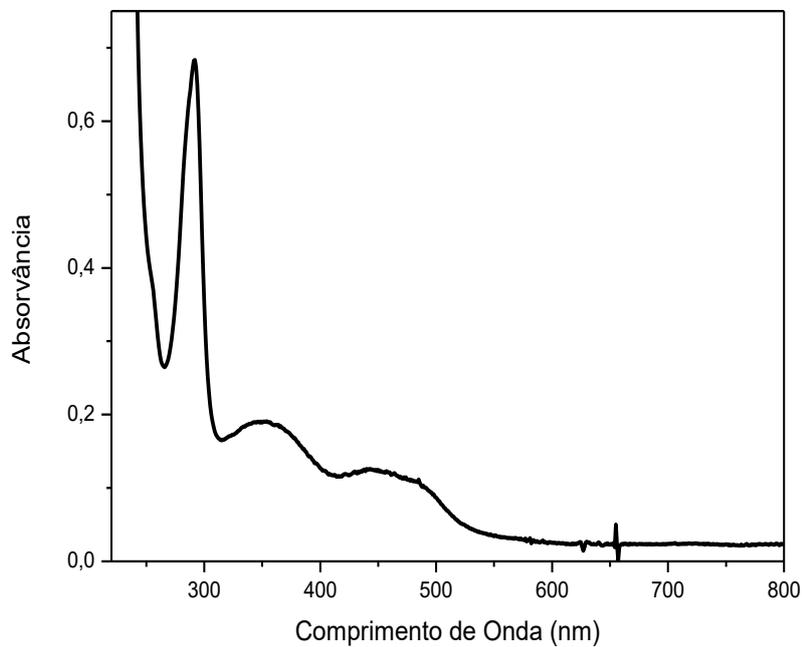


Figura 23. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{bzim})(\text{bpy})_2]^+$ ,  $84 \mu\text{mol L}^{-1}$ , em acetonitrila.

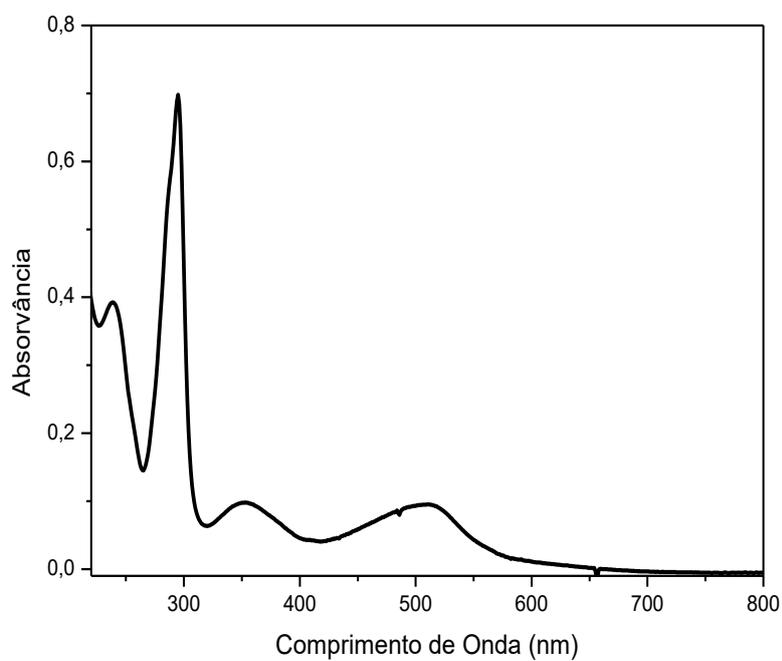


Figura 24. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo *cis*-[RuCl(qui)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 13 μmol L<sup>-1</sup>, em acetonitrila.

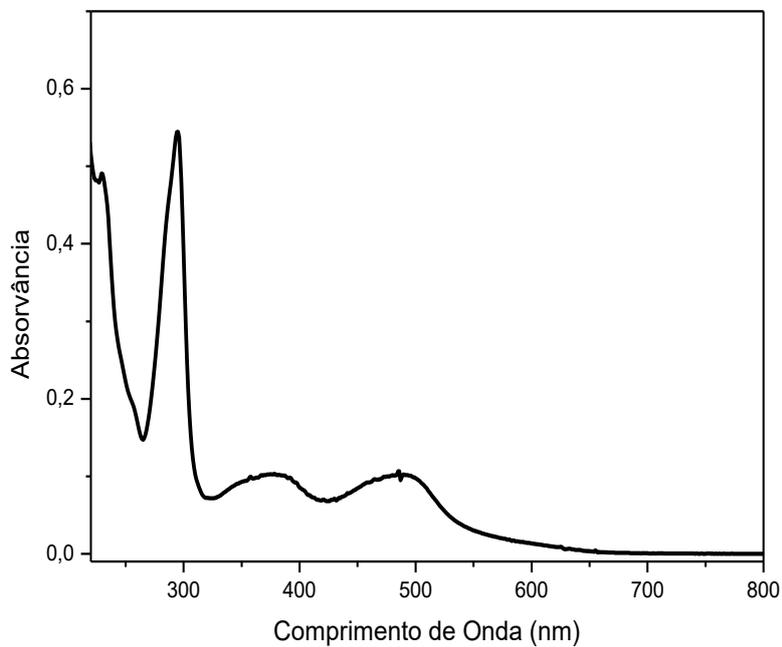


Figura 25. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo *cis*-[RuCl(ain)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 14 μmol L<sup>-1</sup>, em acetonitrila.

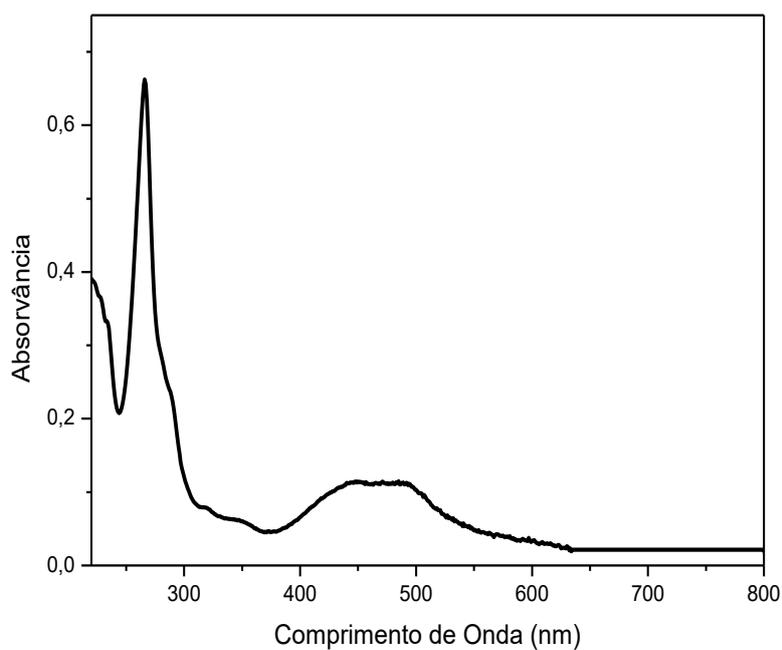


Figura 26. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{phen})_2]^+$ ,  $13 \mu\text{mol L}^{-1}$ , em acetonitrila.

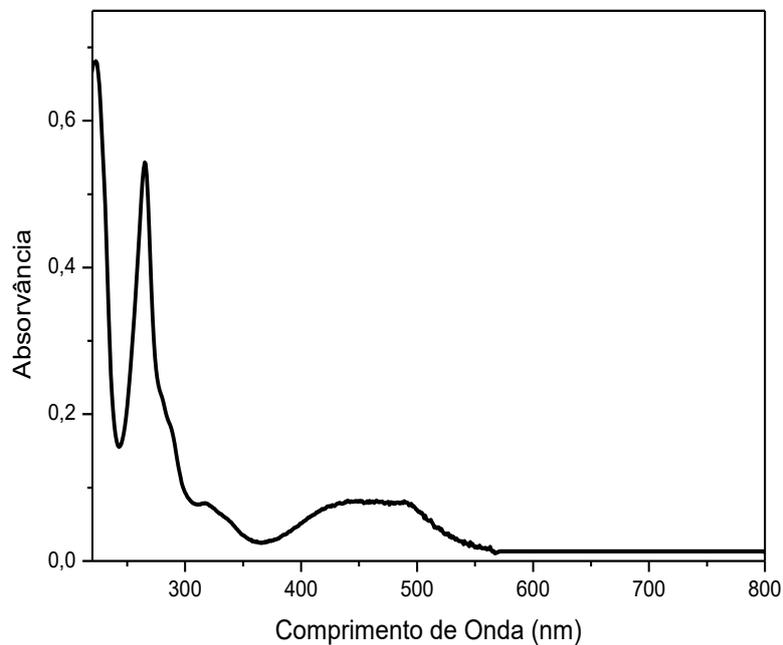


Figura 27. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$ ,  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ , em acetonitrila.

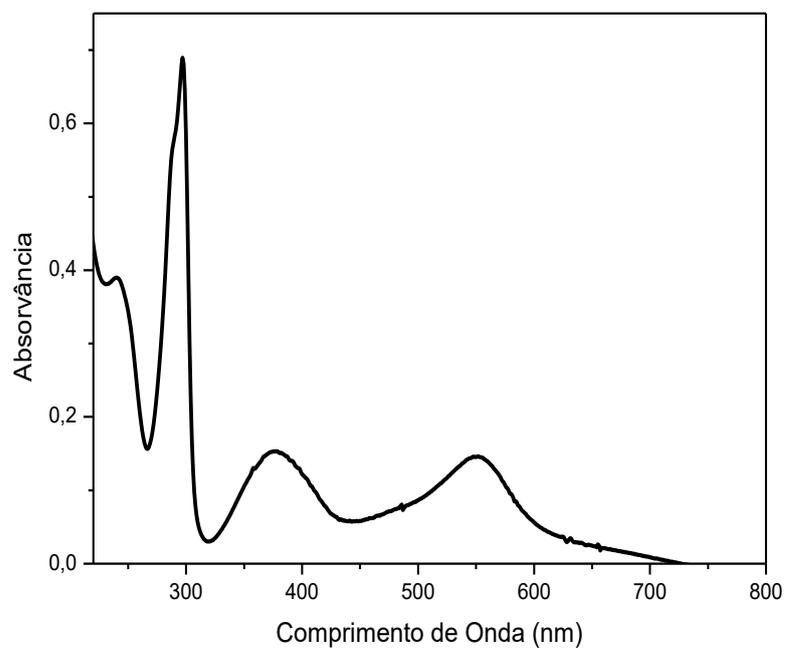
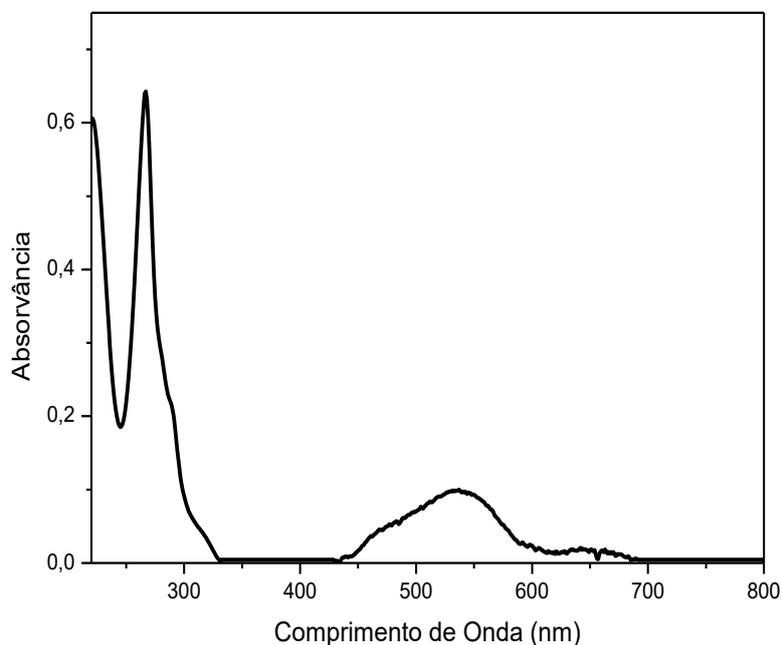


Figura 28. Espectro eletrônico na região do UV-vis do complexo *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(phen)<sub>2</sub>], 12 μmol L<sup>-1</sup>, em acetonitrila.



É possível notar nas Figuras 18 a 26 que há destaque de bandas na região do ultravioleta (entre 200 e 300 nm) e do visível (entre 310 e 550 nm), assim como observado no espectro dos precursores, Figuras 27 e 28. Entretanto, nos espectros dos complexos *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, as bandas entre 400 e 600 nm apresentam-se em maiores energias do que as observadas nos espectros dos precursores *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(X-X)<sub>2</sub>]. Estes dados evidenciam que há alteração na composição dos precursores, *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>] e *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(phen)<sub>2</sub>], ao adicionar L na solução etanol/água destes complexos.

De acordo com a literatura (GODWIN and MEYER 1971), (Dodsworth and Lever 1986), (Juris, Balzani et al. 1988) há uma serie de complexos de isomeria *cis* de rutênio(II) com ligantes piridínicos, indicando que todos apresentam bandas na região do visível, característico de transferência de carga do Ru(II) para os ligantes insaturados, sendo que as bandas apresentadas entre 400 e 600 nm têm maior contribuição da transição eletrônica do tipo  $d_{Ru(II)} \rightarrow \pi^*_{bpy}$  (GODWIN and MEYER 1971; Dodsworth and Lever 1986; Juris, Balzani et al.

1988). Com base nisto, pode-se sugerir que as bandas apresentadas entre 330 e 550 nm (Figuras 18 a 28) são associadas majoritariamente à transição  $d_{Ru(II)} \rightarrow \pi^*_{X-X,L}$ .

Sabendo-se que os ligantes azaindóis, indazóis e derivados (L) podem atuar como  $\pi$ -receptor de densidade eletrônica, frente ao átomo de Ru(II), enquanto o íon  $Cl^-$  não atua do mesmo modo, então, o ligante L torna Ru(II) menos susceptível para doar densidade eletrônica para X-X. Deste modo, a energia dos orbitais  $\pi^*$  (com maior contribuição de X-X) do complexo formado tende a estar em energia mais alta, quando comparado ao caso do complexo *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(X-X)<sub>2</sub>]. Por conta disto, há maior energia para que ocorra a transição e, portanto, aparecimento da banda em região de menor comprimento de onda, no caso dos complexos contendo L na composição. Estes dados sustentam a proposta de obtenção dos complexos do tipo *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

As atribuições também são coerentes com o deslocamento das referidas bandas com a variação do solvente, como ilustrado na Tabela 4.

Tabela 4. Dados de comprimento de onda ( $\lambda$  - nm) de alguns complexos de formulação *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> em diferentes solventes e as respectivos momentos dipolar.

L	CHCl <sub>3</sub> 1,05 D	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH 1,7 D	H <sub>2</sub> O 1,85 D	CH <sub>3</sub> (CO)CH <sub>3</sub> 3,82 D	CH <sub>3</sub> CN 3,92 D	(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> SO 3,96 D
<b>Indz</b>	339	338	339	340	337	347
	498	494	470	496	493	501
<b>Ain</b>	352	349	345	351	351	357
	499	494	480	497	492	498
<b>Qui</b>	373	365	356	378	377	379
	482	478	456	491	492	487

Fonte: Autoria própria

Nota-se, na Tabela 4, que as bandas destacadas na região do visível são deslocadas com a variação da natureza química do solvente.

Uma vez que as moléculas do solvente interagem com os ligantes que compõem o complexo *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> e que nesta interação há variação na energia da banda de transferência de carga do metal para o ligante, verifica-se

que os dados apresentados na Tabela 4 sustentam a proposta de que as bandas apresentadas na região do visível são associadas a transições envolvendo predominantemente orbitais do metal e orbitais dos ligantes insaturados (L e bpy). Sendo assim, as bandas apresentadas entre 450 e 500 nm (Tabela 5) podem ser atribuídas a TCML, do tipo  $d\pi \rightarrow \pi^*(L, \text{bpy})$ , com maior contribuição de bpy e as bandas apresentadas entre 330 e 400 nm podem ser atribuídas a TCML, do tipo  $d\pi \rightarrow \pi^*(L, \text{bpy})$ , com contribuição da transferência de campo ligante, do tipo d-d (GODWIN and MEYER 1971; Juris, Balzani et al. 1988; Kroener, Heeg et al. 1988; Cruz, Kirgan et al. 2010). Com respeito às bandas apresentadas entre 200 e 300 nm, Figuras 18 a 28, elas podem ser associadas às transições eletrônicas internas dos ligantes insaturados (bpy, phen e L), do tipo  $\pi \rightarrow \pi^*$  (GODWIN and MEYER 1971; Kroener, Heeg et al. 1988; Cruz, Kirgan et al. 2010).

A Tabela 5 apresenta os comprimentos de onda em que os complexos *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> absorvem com as respectivas atribuições e absortividades molares.

Tabela 5. Dados espectroscópicos na região do ultravioleta-visível dos complexos de formulação *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, em acetonitrila.

Complexo	$\lambda$ (nm); log $\epsilon$	Atribuição
<i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (bpy) <sub>2</sub> ]	240	IL
	294	IL
	377	TCML e d-d
	550	TCML
<i>cis</i> -[RuCl(4-ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	242; 4,56	IL
	293; 4,82	IL
	355; 4,23	TCML e d-d
	497; 3,99	TCML
<i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	243; 4,38	IL
	294; 4,70	IL
	352; 4,00	TCML e d-d
	513; 3,90	TCML

<i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	243; 4,44	IL
	293; 4,76	IL
	351; 4,04	TCML e d-d
	492; 3,94	TCML
<i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	242; 4,34	IL
	293; 4,63	IL
	340; 3,98	TCML
	492; 3,92	TCML
<i>cis</i> -[RuCl(bzim)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	238; 3,69	IL
	295; 3,92	IL
	355; 3,15	TCML
	502; 3,11	TCML
<i>cis</i> -[RuCl(qui)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	228; 4,54	IL
	295; 4,62	IL
	377; 3,79	TCML
	490; 3,82	TCML
<i>cis</i> -[RuCl(COH-indz)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	237; 4,65	IL
	291; 4,81	IL
	363; 4,11	TCML
	470; 3,89	TCML
<i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (phen) <sub>2</sub> ]	221	IL
	266	IL
	542	TCML
<i>cis</i> -[RuCl(ain)(phen) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	217	IL
	266	IL
	467	TCML
<i>cis</i> -[RuCl(indz)(phen) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	222	IL
	265	IL
	462	TCML

Fonte: Autoria própria

Analisando a Tabela 5, nota-se que a banda TCML, com maior contribuição de bipyridina, do complexo *cis*-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, é de maior comprimento de onda, ou seja, menor energia em relação aos outros complexos do tipo *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>. Isto evidencia que o ligante 5-azaindol tem menor tendência em receber densidade eletrônica do átomo de Ru(II) e, portanto, o ligante bpy, no referido complexo, tende a receber mais facilmente a densidade eletrônica do metal. Por outro lado, 6-carboxaldeído-1H-indazol, dentre os ligantes em estudo, é o que tem maior capacidade de receber densidade eletrônica do metal, evidenciado pelo destaque de uma banda em 470 nm no espectro UV-Vis do complexo *cis*-[RuCl(COH-indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

O caráter π-receptor de densidade eletrônica mais acentuado do 6-carboxaldeído-1H-indazol, em relação aos outros azaindóis e indazóis em análise, é explicado pelo fato do grupo funcional aldeído ter a capacidade de diminuir a energia dos orbitais de simetria π do anel, por efeito de ressonância, e, por consequência, maior capacidade do referido ligante receber densidade eletrônica do metal.

Ainda na Tabela 5, verifica-se que as bandas de transferência de carga do tipo dRu(II) → π\*(phen,L) em *cis*-[RuCl(L)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> são mais energéticas do que as correspondentes do *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>. Isto indica que a nuvem eletrônica ao redor do metal é menor no complexo contendo fenantrolina (phen) na composição. Estes dados podem dar suporte para entender a reatividade dos complexos do tipo *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> na atividade vasodilatadora.

#### 4.2.4. Espectroscopia vibracional na região do infravermelho

No intuito de corroborar a proposta de composição dos complexos em análise, registrou-se os espectros na região do infravermelho de *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, cujos dados espectroscópicos estão apresentados nas Figuras 29 a 39.

Diante dos dados apresentados nas Figuras 29 a 39 e na Tabela 6, pode-se dizer que o perfil espectroscópico, na região do infravermelho, dos complexos é diferente dos respectivos precursores *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(X-X)<sub>2</sub>].

Observa-se na Tabela 6 que nos espectros dos complexos *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> há sinais entre 3200 e 3000 cm<sup>-1</sup>, característico de νN-H do anel de cinco membros de 4-ain, 5-ain, ain, bzim, 6-COH-indz e indz.

Figura 29. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> em pastilha de KBr, para faixa de varredura de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.

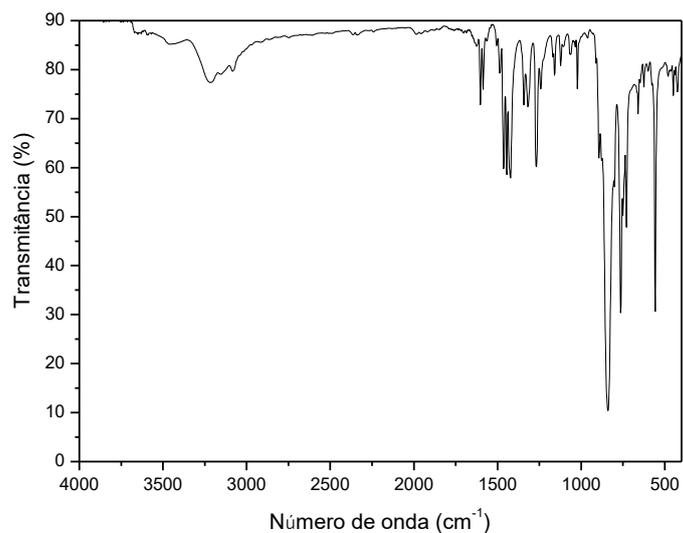


Figura 30. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo *cis*-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> em KBr. Para faixa de varredura entre 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.

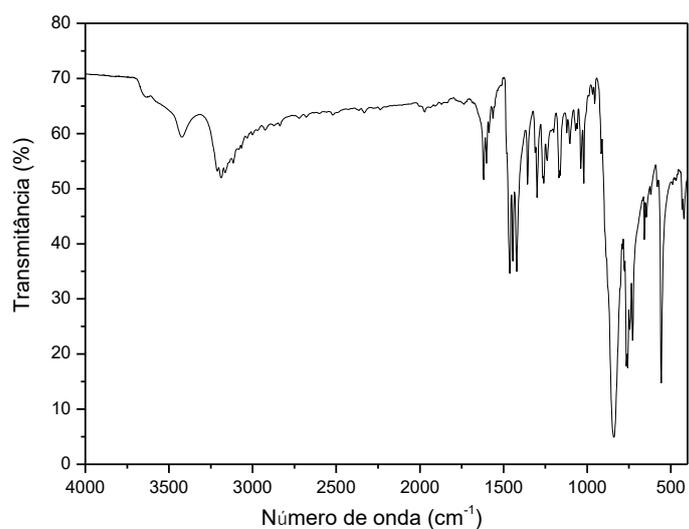


Figura 31. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo *cis*-[RuCl(4-ain)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> em pastilha de KBr, para faixa de varredura de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.

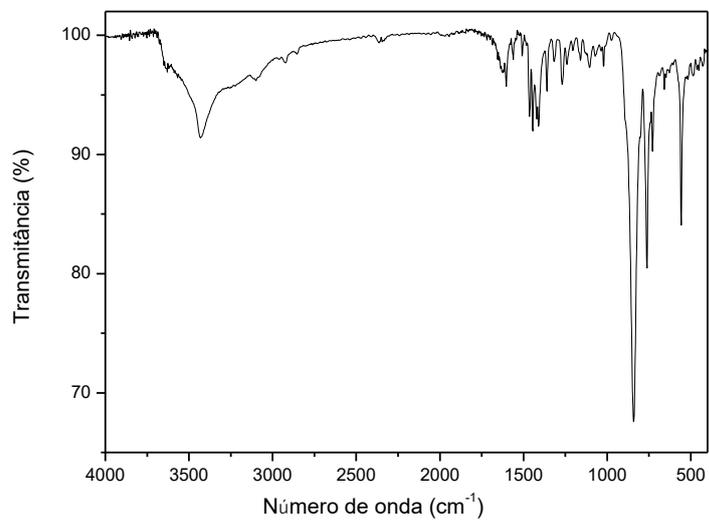


Figura 32. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo *cis*-[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> em pastilha de KBr, para faixa de varredura de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.

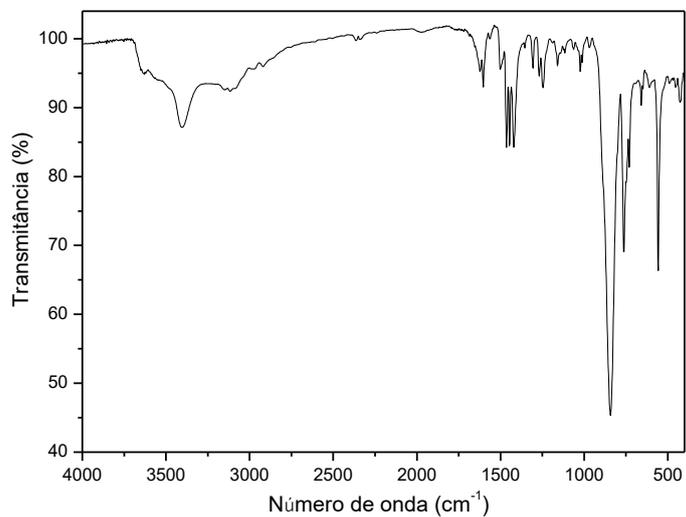


Figura 33. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> em pastilha de KBr, para faixa de varredura de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.

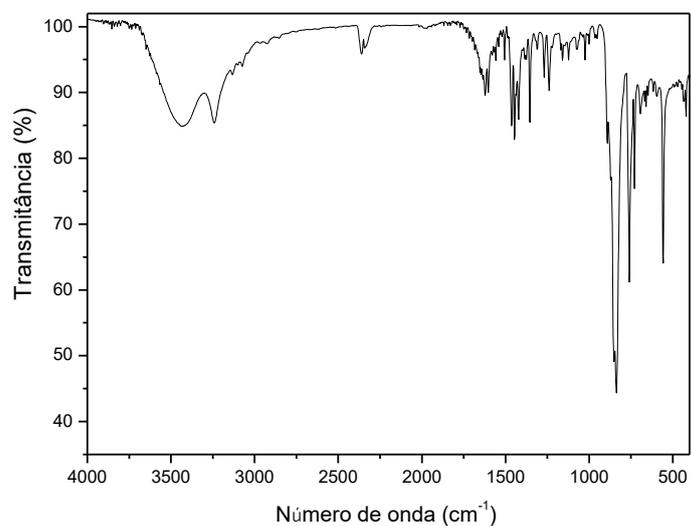


Figura 34. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo *cis*-[RuCl(COH-indz)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> em KBr. Para faixa de varredura entre 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.

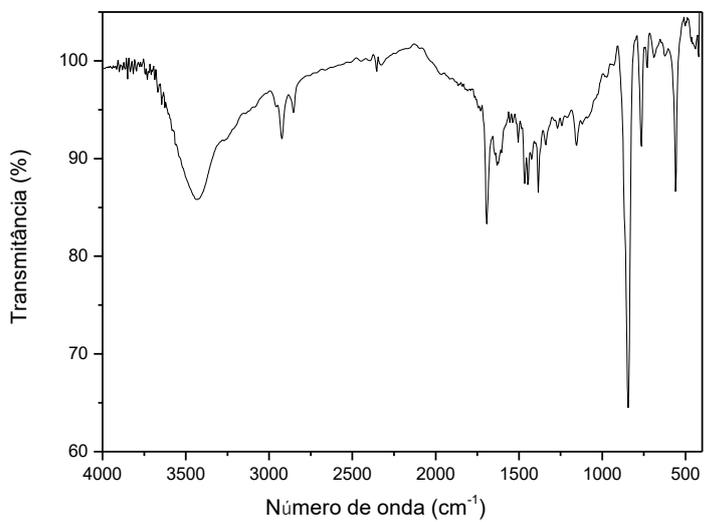


Figura 35. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo *cis*-[RuCl(qui)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> em pastilha de KBr, para faixa de varredura de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.

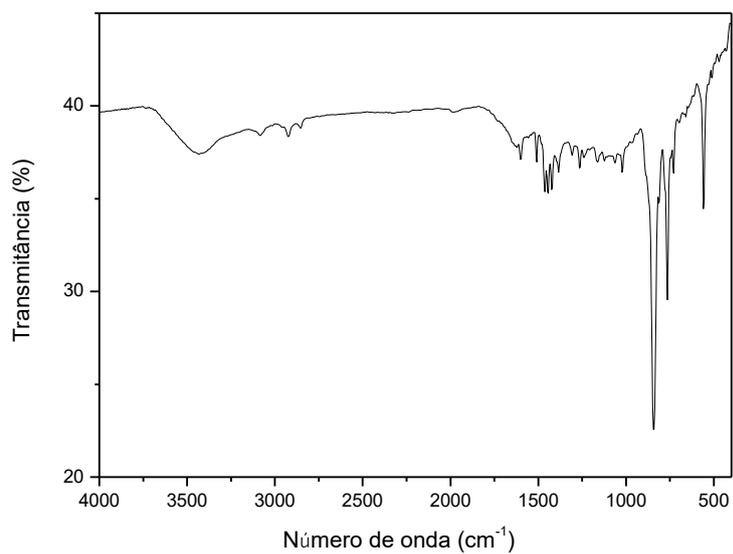


Figura 36. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>] em pastilha de KBr, para faixa de varredura de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.

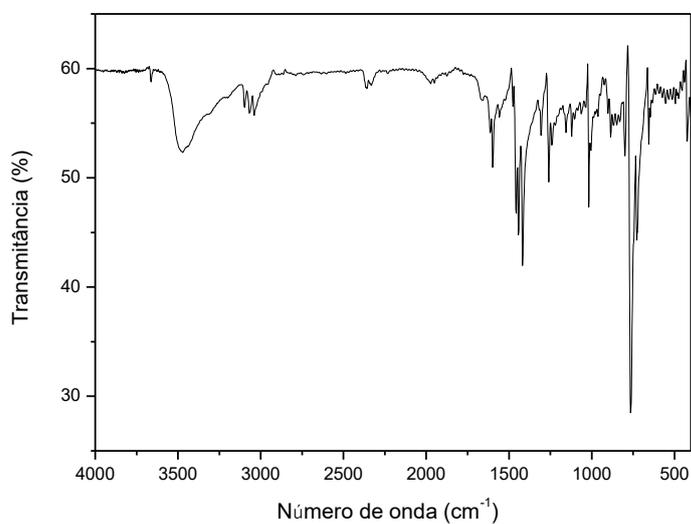


Figura 37. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo *cis*-[RuCl(ain)(phen)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> em pastilha de KBr. Para faixa de varredura entre 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.

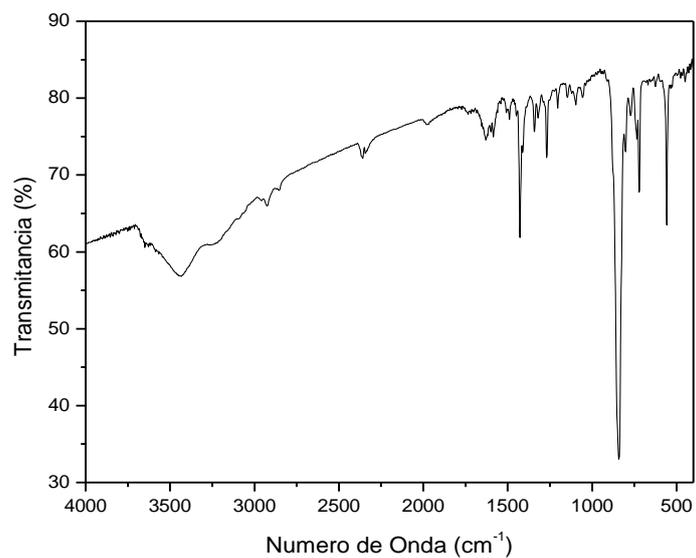


Figura 38. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo *cis*-[RuCl(indz)(phen)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> em KBr. Para faixa de varredura entre 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.

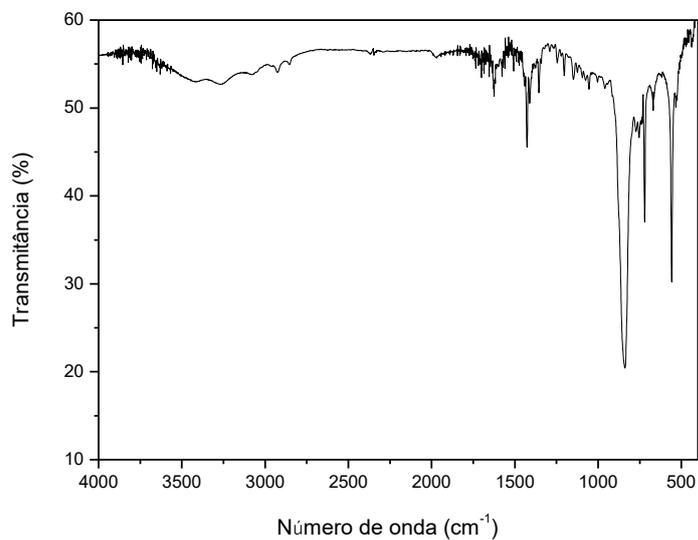
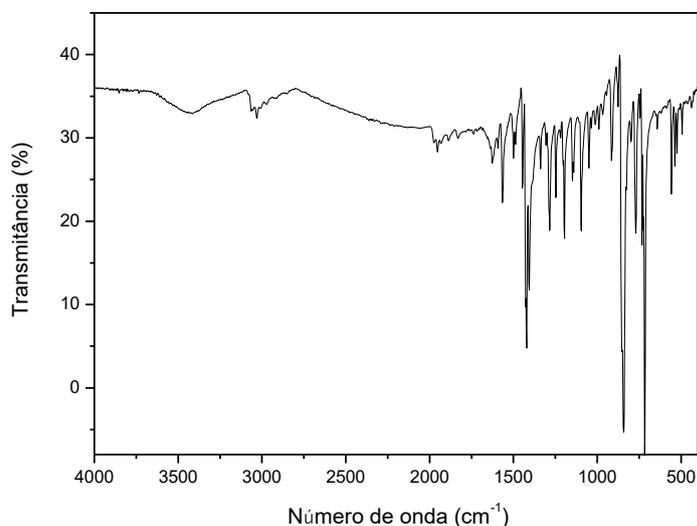


Figura 39. Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(phen)<sub>2</sub>] em pastilha de KBr. Para faixa de varredura entre 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.



Além disto, observa-se na Tabela 6 e Figuras 29 a 39 que há sinais entre 1630-1550 cm<sup>-1</sup>, característicos de  $\nu$ C=N dos ligantes piridínicos. Observam-se, também, sinais em 841 e 549 cm<sup>-1</sup>, os quais não são destacados no espectro do precursor, indicativo de que os sólidos obtidos contêm PF<sub>6</sub><sup>-</sup> na composição. Tais dados são coerentes com o fato de que o precursor é um composto molecular e os sólidos obtidos são iônicos.

Tabela 6. Dados espectroscópicos na região do infravermelho dos complexos de formulação *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, em pastilha de KBr (Colthup, Daly et al. 1990).

Complexo	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Atribuições
<i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (bpy) <sub>2</sub> ]	3096 a 3038	$\nu$ C-H (aromático)
	1610, 1600	$\nu$ C=N
	1456 a 800	$\nu$ C=C e $\nu$ C-H
	760 a 662	$\delta$ C-H
	425	$\nu$ Ru-N
<i>cis</i> -[RuCl(ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	3339	$\nu$ N-H
	2916 e 2846	$\nu$ C-H (aromático)
	1674, 1600, 1545	

	1423 a 995	$\nu\text{C}=\text{N}$
	840 e 555	$\nu\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}-\text{H}$
	763, 729	$\nu\text{P}-\text{F}$ ( $\text{PF}_6^-$ )
	429	$\delta\text{C}-\text{H}$
		$\nu\text{Ru}-\text{N}$
<i>cis</i> -[RuCl(5-ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	3649 a 3100	$\nu\text{N}-\text{H}$
	2966 e 2848	$\nu\text{C}-\text{H}$ (aromático)
	1629, 1599, 1573	$\nu\text{C}=\text{N}$
	1500 a 1020	$\nu\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}-\text{H}$
	842 e 562	$\nu\text{P}-\text{F}$ ( $\text{PF}_6^-$ )
	770, 727, 662 e 621	$\delta\text{C}-\text{H}$
	421	$\nu\text{Ru}-\text{N}$
<i>cis</i> -[RuCl(4-ain)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	3432	$\nu\text{N}-\text{H}$
	3092	$\nu\text{C}-\text{H}$ (aromático)
	1623, 1603, 1563	$\nu\text{C}=\text{N}$
	1503 a 973	$\nu\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}-\text{H}$
	843 e 553	$\nu\text{P}-\text{F}$ ( $\text{PF}_6^-$ )
	763, 723, 653	$\delta\text{C}-\text{H}$
	423	$\nu\text{Ru}-\text{N}$
<i>cis</i> -[RuCl(bzim)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	3660 a 3087	$\nu\text{N}-\text{H}$
	1620, 1600, 1567	$\nu\text{C}=\text{N}$
	1500 a 1000	$\nu\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}-\text{H}$
	846 e 555	$\nu\text{P}-\text{F}$ ( $\text{PF}_6^-$ )
	770, 730, 649 e 599	$\delta\text{C}-\text{H}$
	428	$\nu\text{Ru}-\text{N}$
<i>cis</i> -[RuCl(6-COH-indz)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	3386	$\nu\text{N}-\text{H}$
	2916, 2846	$\nu\text{C}-\text{H}$ (aromático)
	1689; 1604	$\nu\text{C}=\text{N}$ ; $\nu\text{C}=\text{O}$
	1442 – 1111	$\nu\text{C}=\text{C}$ e $\text{C}-\text{H}$
	840; 563	$\nu\text{P}-\text{F}$ ( $\text{PF}_6^-$ )

	759 – 663	$\delta$ C-H
	428	$\nu$ Ru-N
<i>cis</i> -[RuCl(indz)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	3245	$\nu$ N-H
	3100 a 2900	$\nu$ C-H (aromático)
	1624, 1604, 1567	$\nu$ C=N
		$\nu$ C=C e C-H
	1500 a 1000	$\nu$ P-F (PF <sub>6</sub> <sup>-</sup> )
	836 e 552	$\delta$ C-H
	770, 730, 649 e 599	$\nu$ Ru-N
	450	
<i>cis</i> -[RuCl(qui)(bpy) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	3050 e 2823	$\nu$ C-H (aromático)
	1608, 1593	$\nu$ C=N
	1473 a 1014	$\nu$ C=C e C-H
	837 e 555	$\nu$ P-F (PF <sub>6</sub> <sup>-</sup> )
	767, 725	$\delta$ C-H
<i>cis</i> -[RuCl <sub>2</sub> (phen) <sub>2</sub> ]	3091 – 2977	$\nu$ C-H (aromático)
	1621 – 1501	$\nu$ C=N
	1436 – 1048	$\nu$ C=C e C-H
	910 – 717	$\delta$ C-H
	553; 535	$\nu$ Ru-N
<i>cis</i> -[RuCl(indz)(phen) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	3623 – 2863	$\nu$ N-H; $\nu$ C-H(aromático)
	1707; 1624; 1568	$\nu$ C=N
	1459 – 958	$\nu$ C=C e C-H
	832 e 556	$\nu$ P-F (PF <sub>6</sub> <sup>-</sup> )
	762; 717 e 660	$\delta$ C-H
	436	$\nu$ Ru-N
<i>cis</i> -[RuCl(ain)(phen) <sub>2</sub> ]PF <sub>6</sub>	3650 – 2900	$\nu$ N-H; $\nu$ C-H(aromático)
	1707; 1624; 1568	$\nu$ C=N
	1459 – 800	$\nu$ C=C e C-H

832 e 556	$\nu$ P-F (PF <sub>6</sub> <sup>-</sup> )
762; 717 e 660	$\delta$ C-H
435	$\nu$ Ru-N

Fonte: Autoria própria

Vale salientar que como os ligantes piridínicos (L e X-X) contêm anéis aromáticos com átomo de nitrogênio como heteroátomo, é difícil definir a qual ligação Ru-N está associado o sinal apresentado entre 400 e 500 cm<sup>-1</sup>. Por outro lado, sabe-se que o estiramento da ligação Ru-N nos complexos com phen apresenta frequência maior que no caso dos complexos com bpy, sendo um indício de que a ligação Ru-N é mais forte no caso dos complexos com phen, fato este que também é sustentado no maior caráter receptor de densidade eletrônica da phen.

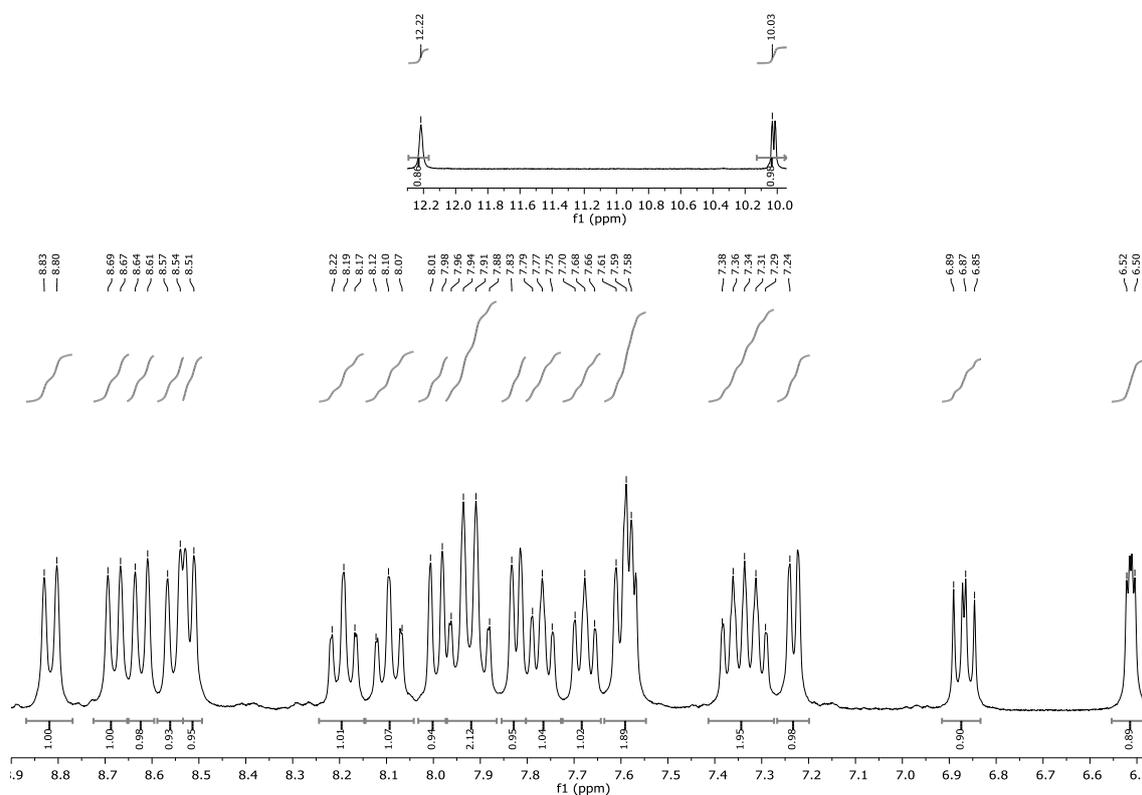
#### 4.2.5. Ressonância magnética nuclear (RMN) do complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> em DMSO-d<sub>6</sub>

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear é uma técnica que se baseia na interação de núcleos que possuem momento de dipolo diferente de zero ( $\mu \neq 0$ ) com a radiação na região da radiofrequência. Como núcleos em ambientes eletrônicos diferentes apresentam diferentes capacidades de interagirem com o campo magnético aplicado, é possível determinar o número e o tipo de átomos magneticamente distintos do isótopo estudado. Sendo assim, quando bases de Lewis se ligam ao metal, existe uma tendência da nuvem eletrônica ser alterada e, como consequência, a capacidade de um dado núcleo interagir com o campo magnético aplicado. Com base neste raciocínio, analisou-se os espectros de ressonância magnética nuclear dos complexos estudados neste trabalho.

No espectro de RMN do *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> em DMSO-d<sub>6</sub>, Figura 40, observa-se que a integração dos sinais de <sup>1</sup>H é correspondente a vinte e dois átomos de hidrogênio. Isto é coerente com o número de átomos de hidrogênios contidos no cátion complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>. Além disto, o número de sinais de hidrogênio que não são quimicamente equivalentes é maior do que se

esperaria em um composto na forma isomérica *trans*, o que também ratifica a proposta de que a geometria do complexo é *cis*. Esta proposta é sustentada no trabalho de Nazeeruddin e col. (Nazeeruddin, Zakeeruddin et al. 2000), o qual mostra que complexos do tipo *trans*-[Ru(dcbpyH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>], em que L = Cl<sup>-</sup>, NSC<sup>-</sup> ou H<sub>2</sub>O, apresentam apenas três átomos de hidrogênios quimicamente não equivalentes; já os complexos em isomeria *cis* apresentam seis átomos de hidrogênios quimicamente não equivalentes. Além disto, Hesek (Hesek, Inoue et al. 1999) e Zobi (Zobi, Hohl et al. 2004) destacam em seus trabalhos complexos do tipo *cis*-[RuCl(B)(A)<sub>2</sub>] (em que A = bpy ou dmbpy (4,4-dimetil-2,2-bipiridina) e B = DMSO, TMSO (1-óxido-tetrahidrotiofeno) ou 9-metilguanina), os quais apresentam mais de 11 sinais de <sup>1</sup>H, indicativo de que os átomos de hidrogênios das duas bipiridinas não são equivalentes. Coe (Coe, Meyer et al. 1993), também mostra que os átomos de hidrogênio da bipiridina nos complexos do tipo *trans*-[Ru(bpy)<sub>2</sub>(L)<sub>2</sub>], são quimicamente equivalentes.

Figura 40. Espectro de <sup>1</sup>H de *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> em DMSO-d<sub>6</sub>.

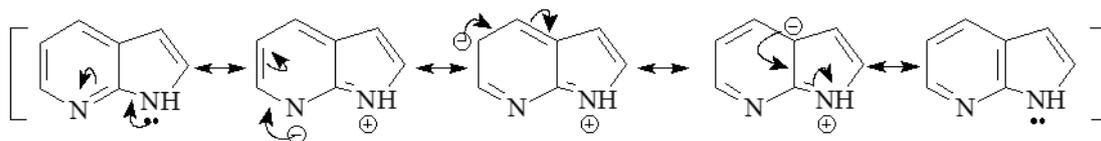


Sendo assim, como nos espectros do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  há mais de 12 sinais de  $^1\text{H}$  (Figura 40), é possível afirmar que a isomeria do complexo sintetizado é mantido na forma *cis* e que na síntese do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{X-X})_2]^+$ , apenas um dos ligantes cloreto do  $cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{X-X})_2]$  foi substituído por L.

Há destaque, na Figura 40, de um singleto em 12,21 ppm, o qual também é apresentado no ligante 7-azaindol livre (Tabela 7). Baseando-se nisto e no fato de que, por ter relação carga nuclear/raio atômico maior que átomo de carbono, o átomo de nitrogênio tem a capacidade de diminuir mais a densidade eletrônica do átomo de hidrogênio e, por conta disto, H(1) é o que apresenta o maior deslocamento químico. Vale salientar que o campo anisotrópico gerado no anel aromático também contribui para esse deslocamento.

Ainda analisando a Figura 40, é possível verificar que há sinais entre 10,02 e 6,51 ppm, característicos de hidrogênios de ligantes aromáticos coordenados (van Vliet, Haasnoot et al. 1994; Nazeeruddin, Zakeeruddin et al. 2000; Reisner, Arion et al. 2005). De acordo com a literatura (Reisner, Arion et al. 2005) e com base em algumas estruturas ressonantes do 7-azaindol, (Esquema 1) nota-se que as posições *orto* e *para* ao nitrogênio piridínico são as que apresentam menor concentração de elétrons, já que o referido nitrogênio apresenta relação carga nuclear/raio atômico alta o suficiente para diminuir mais expressivamente a densidade eletrônica nas posições citadas. Diante disto, pode-se sugerir que as posições *orto* e *para* apresentam hidrogênio com deslocamentos químicos maiores que na posição *meta*. Este mesmo raciocínio também é empregado nos deslocamentos químicos dos hidrogênios da 2,2'-bipiridina. Analogamente a isto, é esperado que H(2) apresente deslocamento químico maior que H(3), já que H(2) está ligado ao carbono adjacente ao grupo NH (retirador de elétrons por efeito indutivo).

Esquema 1. Representação de algumas estruturas ressonantes do 7-azaindol.



Fonte: Autoria própria

É importante destacar que os hidrogênios do anel pirrólico apresentam deslocamento químico mais baixo em relação aos do anel piridínico. Isto porque a amplitude da distribuição das linhas de indução do campo anisotrópico variam de acordo com o tamanho do anel e a intensidade delas de acordo com a quantidade de elétrons envolvidos (Hosmane and Liebman 1991). A partir destas análises, bem como o espectro COSY do *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> em DMSO-d<sub>6</sub>, Figura 41, e nos padrões de desdobramento dos sinais, foi possível atribuir os sinais de hidrogênio do *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, Tabela 7.

Figura 41. Espectro COSY do complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> em DMSO-d<sub>6</sub> a 300 Hz.

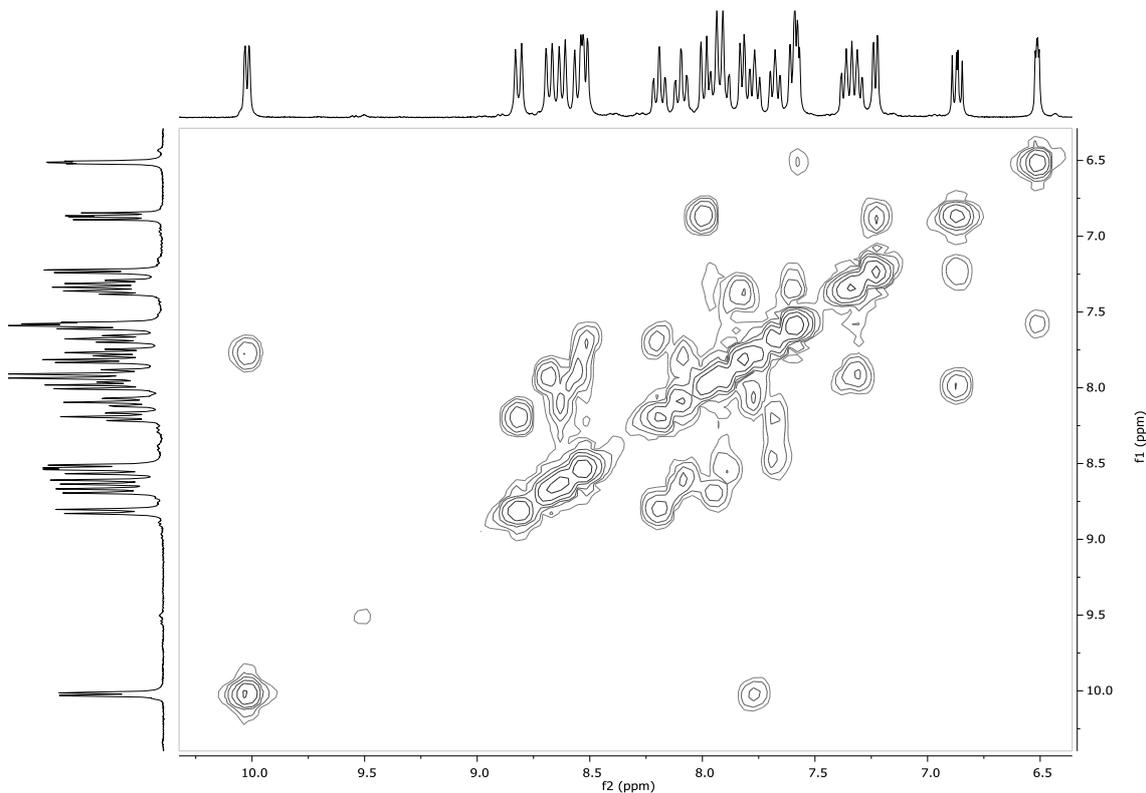
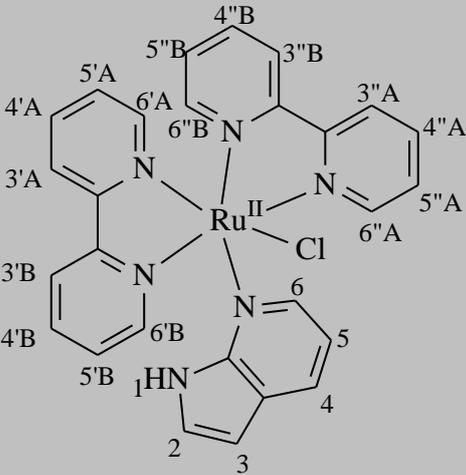
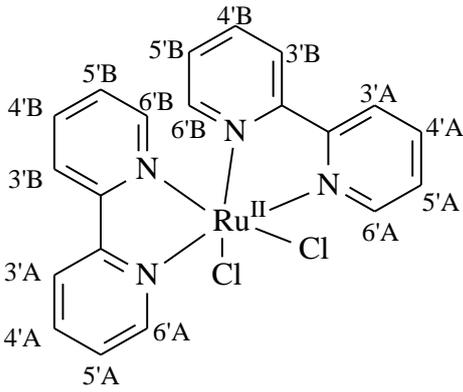
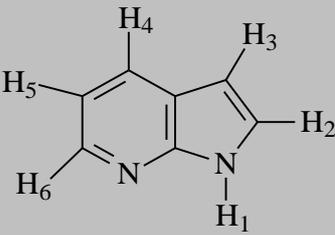
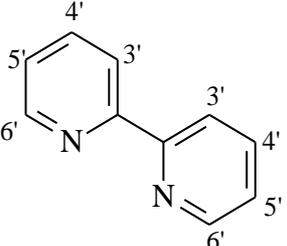


Tabela 7. Atribuição dos sinais de  $^1\text{H}$  dos complexos  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$ ,  $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$ , 7-azaindol em DMSO.

Complexos	Sinais $^1\text{H}$ (ppm)	Atribuições
	<b><u>7-azaindol</u></b>	H
	12,21	1
	7,58	2
	6,51	3
	7,23	4
	6,87	5
7,99	6	
<b><u>2,2-bipiridina</u></b>	10,02	6'A
	7,77	5'A
	8,09	4'A
	8,62	3'A
	8,82	3'B
	8,19	4'B
	7,68	5'B
	8,52	6'B
	7,60	6''A
	7,34	5''A
	7,89	4''A
	8,56	3''A
	8,68	3''B
	7,95	4''B
7,36	5''B	
7,82	6''B	

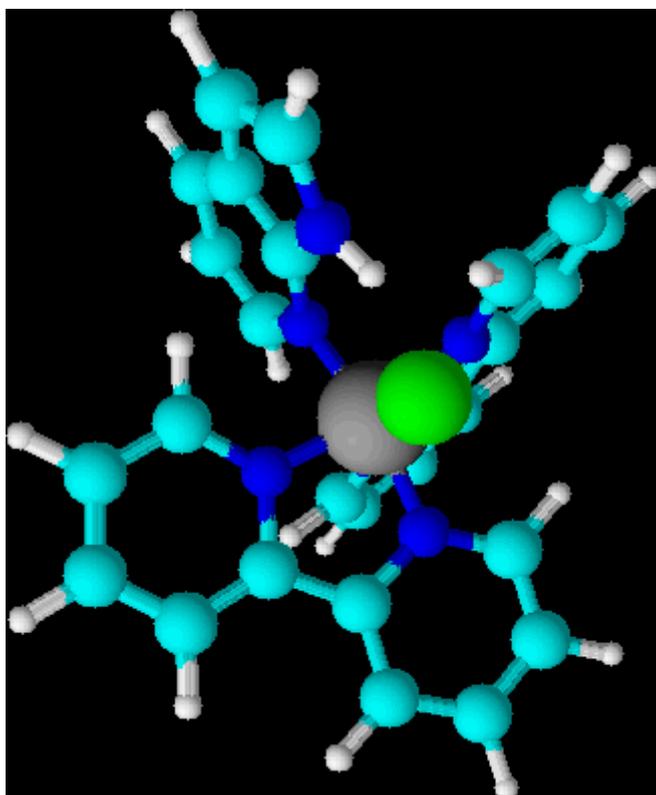
	9,97	6'B
	7,77	5'B
	8,06	4'B
	8,64	3'B
	8,48	3'A
	7,67	4'A
	7,11	5'A
7,50	6'A	
	12,21	1
	8,353	6
	7,966	4
	7,402	2
	7,08	5
	6,50	3
	8,496	3'
	7,658	4'
	7,124	5'
	8,587	6'

Fonte: Autoria própria

Analisando a Tabela 7, verifica-se que o hidrogênio H(6') da 2,2-bipiridina apresenta deslocamento químico maior que H(3'). Um dos fatores que contribui para isto é o fato de H(6') está ligado ao grupo C-N. Como o átomo de nitrogênio é capaz de diminuir a densidade eletrônica do carbono, este, por sua vez, tende a diminuir a nuvem eletrônica do H(6'). Entretanto, de acordo com as atribuições dos hidrogênios no complexo, apresentadas na Tabela 7, é possível notar que alguns hidrogênios de anéis piridínicos (H(6') e H(6'')) apresentam deslocamentos químicos menores que H(3') e H(3''), respectivamente. Sabendo-se que Ru(II) é um ácido de Lewis frente à 2,2-bipiridina, ao se coordenar a esta base, o metal é capaz de diminuir a nuvem eletrônica do átomo doador (nitrogênio) e, como consequência, há diminuição da nuvem eletrônica dos

átomos de H em *orto*. Com base neste raciocínio, é esperado que H(6') e H(6'') apresentem deslocamentos químicos maiores que H(3') e H(3''), respectivamente. Por outro lado, no íon complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, H(6') e H(6'') ficam próximos da nuvem eletrônica dos anéis piridínicos (da bipyridina) e do íon cloreto (Figura 42). Isto contribui para que haja um aumento na nuvem eletrônica desses hidrogênios e, por consequência, este fator é mais significativo para a diferença do deslocamento químico entre H(6') e H(6'') com H(3') e H(3''), respectivamente. Esta proposta também é sustentada nos sinais de <sup>1</sup>H do complexo precursor *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>].

Figura 42. Estrutura química teórica em 3D do íon complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.



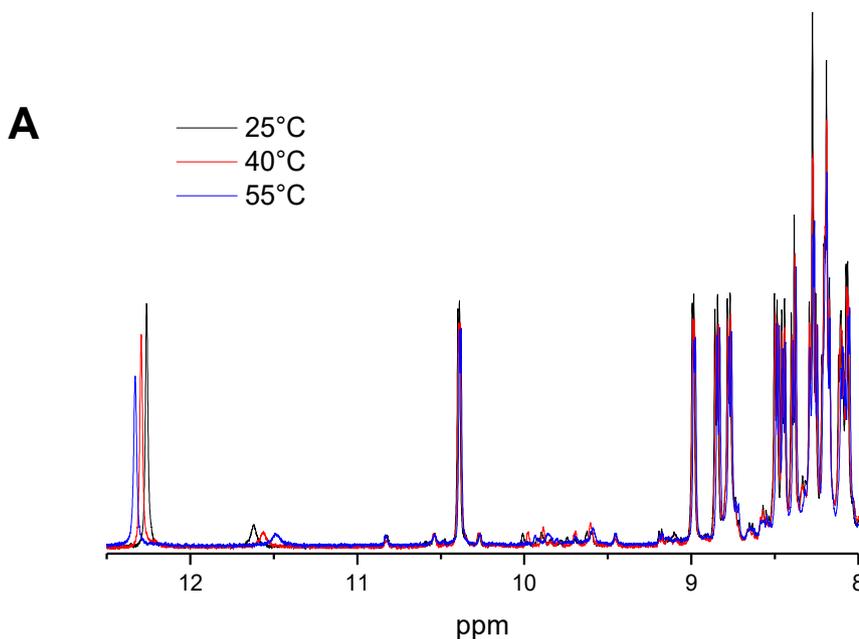
Fonte: Autoria própria

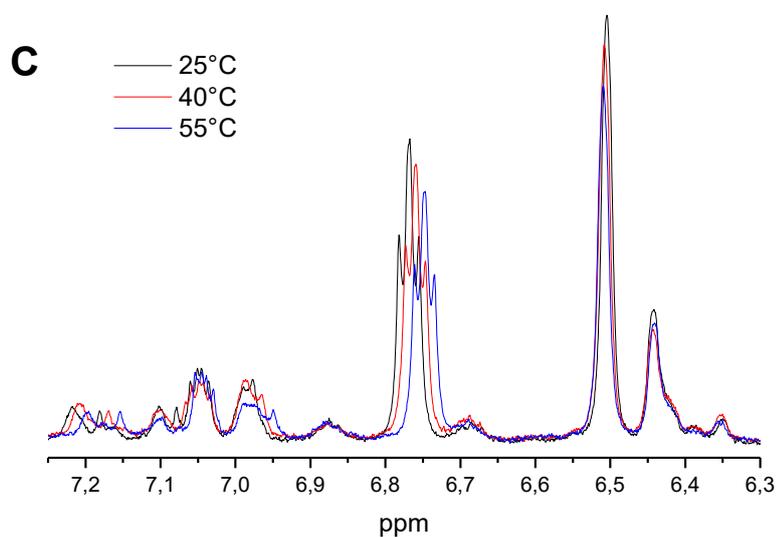
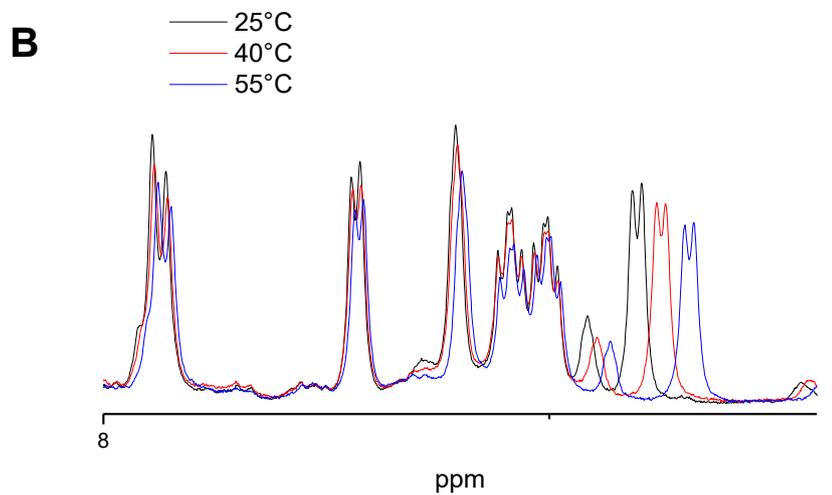
É importante destacar o fato do Ru(II), frente a ligantes insaturados, como bpy e ain, atuar como um  $\pi$ -doador de densidade eletrônica, contribuindo também para aumentar a densidade eletrônica no anel aromático e, por consequência, dos átomos de hidrogênio adjacentes ao nitrogênio piridínico.

Outro aspecto relevante é que os hidrogênios H(6') e H(6''), bem como H(3') e H(3'') de menores nuvens eletrônicas são os da 2,2'-bipiridina que está *cis* ao ligante cloro. Isto porque, nesta posição alguns hidrogênios do bpy estão mais próximos de alguns hidrogênios de ain (Figura 42), condição em que há menor nuvem eletrônica nos hidrogênios e, portanto, maiores deslocamentos químicos. Tais hidrogênios também devem ter influência do campo anisotrópico gerado pelos anéis aromáticos.

Ao registrar os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  do íon complexo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  em diferentes temperaturas (Figura 43), verifica-se que há deslocamento dos sinais associados ao ligante 7-azaindol.

Figura 43. Espectro de  $^1\text{H}$  de complexo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  em  $\text{DMSO-d}_6$  a diferentes temperaturas: 25°C (preto); 40°C (vermelho); 55°C (azul) – diferentes faixas de deslocamento químico: A (12,5 – 8,0 ppm), B (8,0 – 7,3 ppm), C (7,2 – 6,3 ppm).



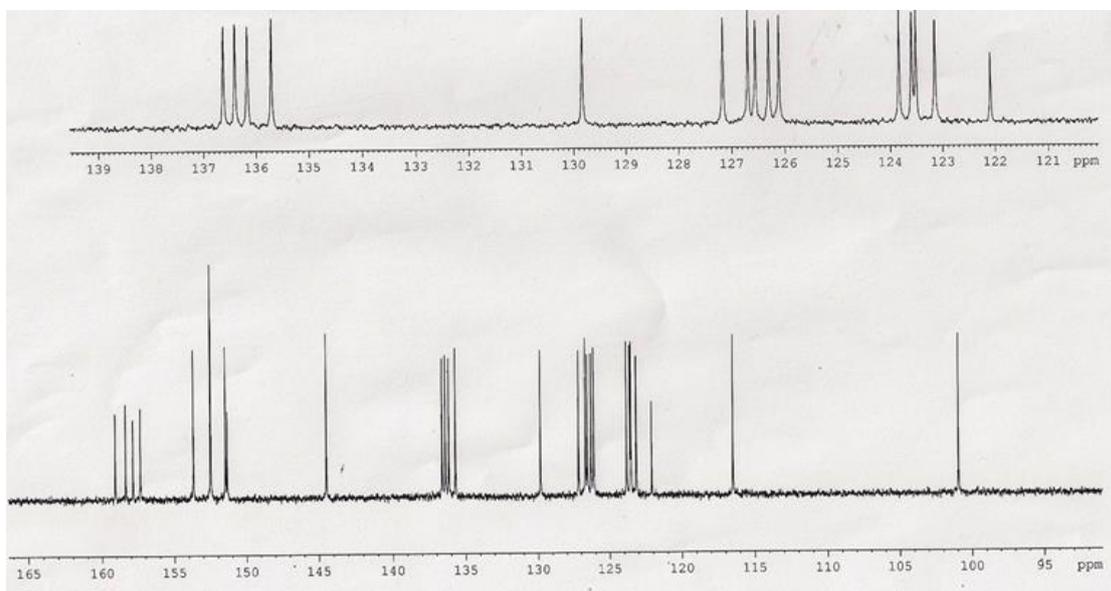


Além disto, verifica-se um pequeno deslocamento dos sinais de alguns hidrogênios da biperidina, os hidrogênios H(6'), H(6''), H(3') e H(3''). Isto evidencia que a alteração na temperatura do sistema contribui para o ligante 7-azaindol girar em torno da ligação Ru-N(ain). Sendo assim, o ambiente químico dos

hidrogênios do referido ligante é alterado e, como consequência, os deslocamentos químicos (Stewart, Benitez et al. 2009). Com a alteração na conformação do complexos, por exemplo, H(6'A) pode apresentar deslocamento químico menor que H(6'B). Isto indica que na solução haverá complexos com diferentes conformações o que gera uma diferença na intensidade e nos deslocamentos químicos dos sinais de  $^1\text{H}$ .

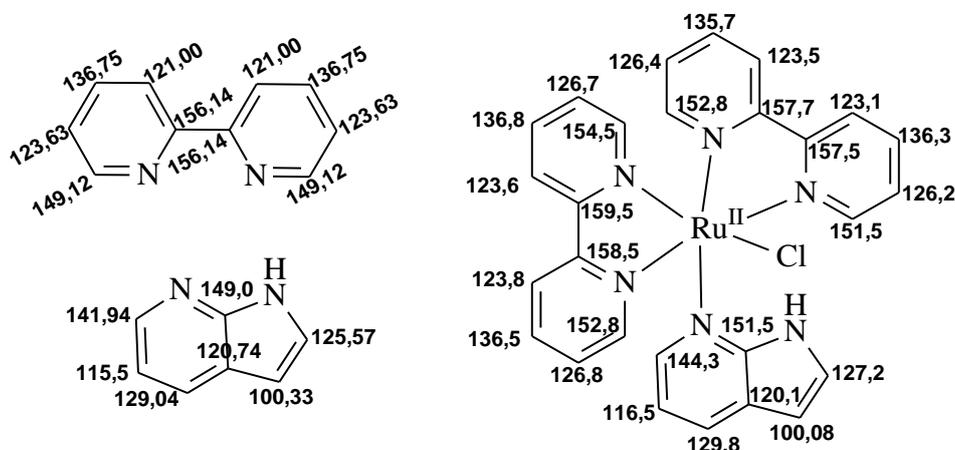
Analisando-se o espectro de  $^{13}\text{C}$  do íon complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  em  $\text{DMSO-d}_6$ , Figura 44, verifica-se que há 25 sinais de C.

Figura 44. Espectro de  $^{13}\text{C}$  do íon complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$ , em  $\text{DMSO-d}_6$ .



Entretanto, os dois sinais entre 151 e 153 ppm são consistentes com quatro carbonos. Portanto, o número de sinais de carbonos é coerente com o número de átomos do referido elemento na espécie em análise, Figura 44. A partir do deslocamento químico dos carbonos dos ligantes bpy e ain não coordenados, foi atribuído os sinais de carbono do complexo em análise, os dados estão apresentados na Figura 45.

Figura 45. Estrutura do complexo  $cis-[RuCl(ain)(bpy)_2]^+$ , 2,2-bipiridina e 7-azaindol, com os respectivos deslocamentos químicos dos carbonos: ain ( $CDCl_3$ ); bpy ( $CDCl_3$ ) e  $cis-[RuCl(ain)(bpy)_2]^+$  ( $DMSO-d_6$ ).



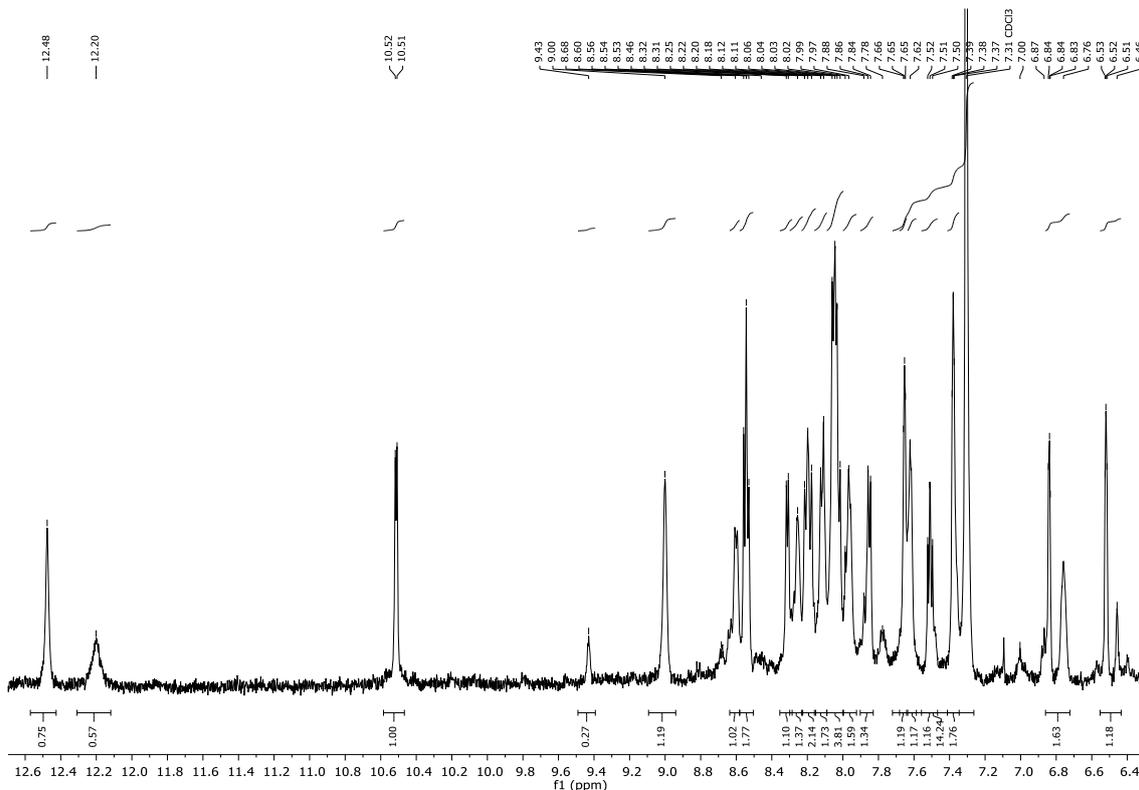
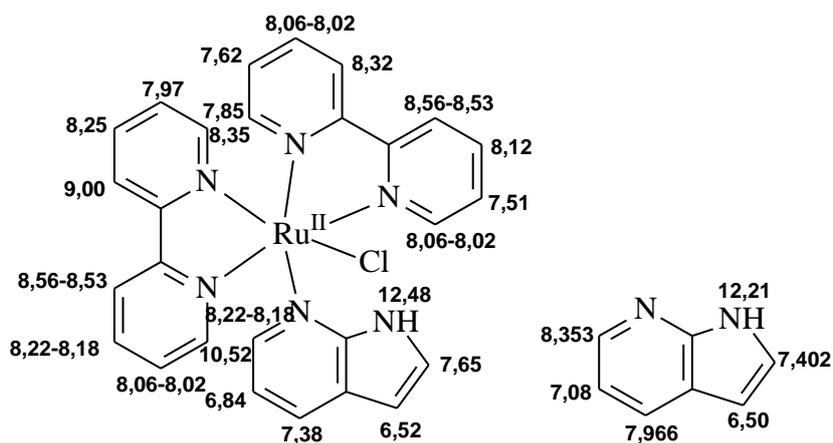
Fonte: Autoria própria

#### 4.2.6. Ressonância magnética nuclear do íon complexo $cis-[RuCl(ain)(bpy)_2]^+$ em $CDCl_3$

Com o objetivo de avaliar a influência do solvente nos sinais de hidrogênio no íon complexo  $cis-[RuCl(ain)(bpy)_2]^+$ , registrou-se o espectro  $^1H$  de em clorofórmio deuterado, Figura 46.

Em analogia a atribuição de sinais de  $^1H$  do complexo  $cis-[RuCl(ain)(bpy)_2]^+$  em  $DMSO-d_6$ , atribuiu-se os sinais de  $^1H$  do referido complexo em  $CDCl_3$ , cujos dados estão apresentados na Figura 47.

É possível observar na Figura 47 que o deslocamento químico do hidrogênio, N-H, bem como dos outros hidrogênios do anel pirrólico são maiores no caso em que 7-azaindol está coordenado. Por outro lado, verifica-se que todos os hidrogênios do anel piridínico, no 7-azaindol coordenado, são menos desprotegidos em comparação ao ligante livre. Isto é coerente com o caráter  $\pi$ -doador de densidade eletrônica do metal, visto que Ru(II) contribui para aumentar a nuvem no anel piridínico (do azaindol) e como consequência torna os átomos de hidrogênio do referido anel mais protegidos. Mas a influência da densidade eletrônica do metal na proteção dos hidrogênios é mais significativa no anel piridínico do que no anel pirrólico do 7-azaindol e neste último anel (pirrólico) a influência do caráter  $\sigma$ -doador do metal deve ser mais pronunciado.

Figura 46. Espectro de ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  do  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  em  $\text{CDCl}_3$ .Figura 47. Estrutura do íon complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  e do ligante 7-azaindol com os deslocamentos químicos dos hidrogênios em clorofórmio deuterado.

Fonte: Autoria própria

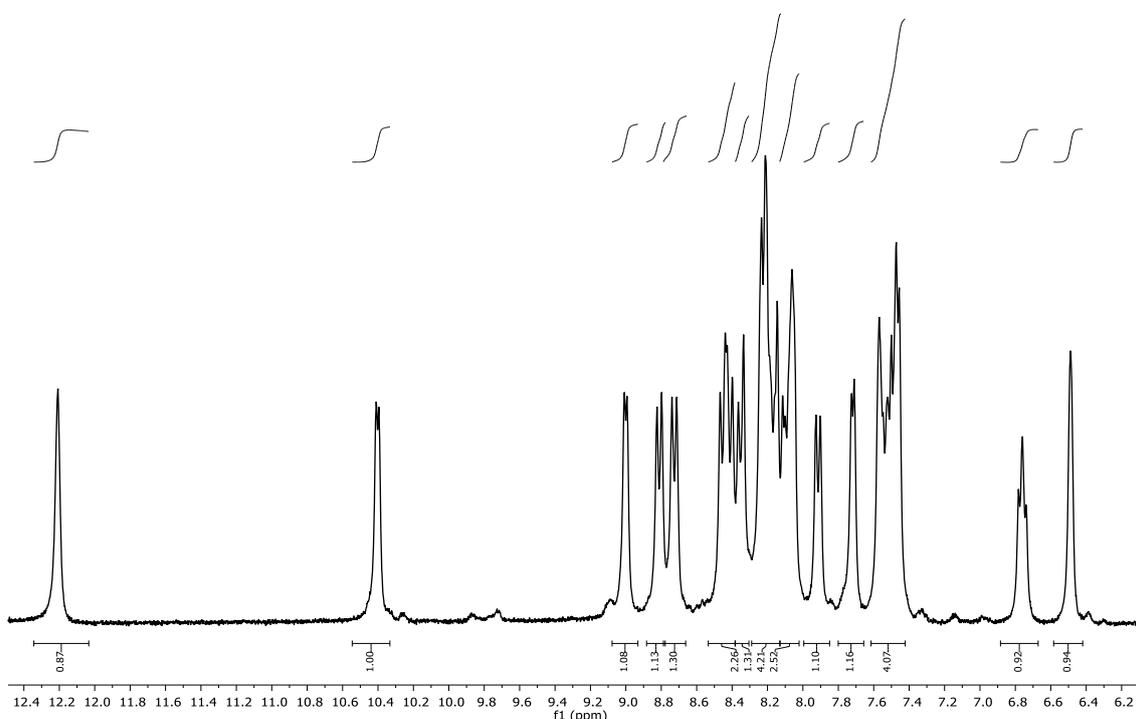
Comparando-se o espectro de RMN do  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  em  $\text{DMSO-d}_6$  (Figura 40) em relação àquele apresentado na Figura 45, nota-se que há sinais de integração menor que 0,5, quando o complexo encontra-se em

clorofórmio deuterado. Este fato indica que há possibilidade de alteração na conformação (giro do ligante 7-azaindol) ou na isomeria no complexo em análise, de modo que há alteração no deslocamento químico de alguns hidrogênios, tais como H(2) e H(3). Esta proposta também é sustentada no fato de que há alteração no deslocamento químico de alguns hidrogênios quando há variação da temperatura da solução do complexo em DMSO, Figura 44.

#### 4.2.7. Ressonância magnética nuclear $^1\text{H}$ do complexo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{phen})_2]^+$ em $\text{DMSO-d}_6$

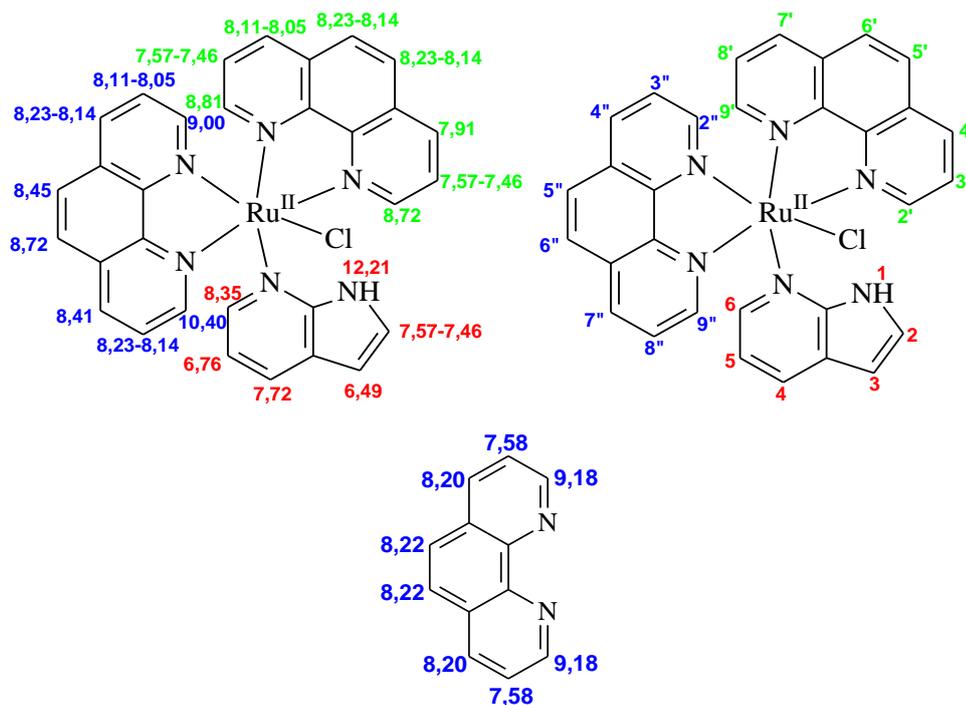
Analisando a integração dos sinais de  $^1\text{H}$  do *cis*- $[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{phen})_2]^+$  verifica-se que a mesma é consistente com 22 átomos de hidrogênio (Figura 48). Em analogia ao que já foi discutido para o complexo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$ , o perfil do espectro apresentado na Figura 48 indica que a isomeria do complexo é *cis*.

Figura 48. Espectro de  $^1\text{H}$  de *cis*- $[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{phen})_2]\text{PF}_6$  em  $\text{DMSO-d}_6$ .



Baseando-se na atribuição dos sinais de H do 7-azaindol (Tabela 7), e fenantrolina (Figura 49) livres e do  $cis$ -[RuCl(ain)(bpy) $_2$ ] $^+$ , atribuiu-se os sinais de  $^1$ H do  $cis$ -[RuCl(ain)(phen) $_2$ ] $^+$ , cujos dados estão apresentados na Figura 49.

Figura 49. Estrutura do  $cis$ -[RuCl(ain)(phen) $_2$ ] $^+$  com os deslocamentos químicos dos hidrogênios em dimetilsulfóxido deuterado e da 1,10-fenantrolina em clorofórmio deuterado.



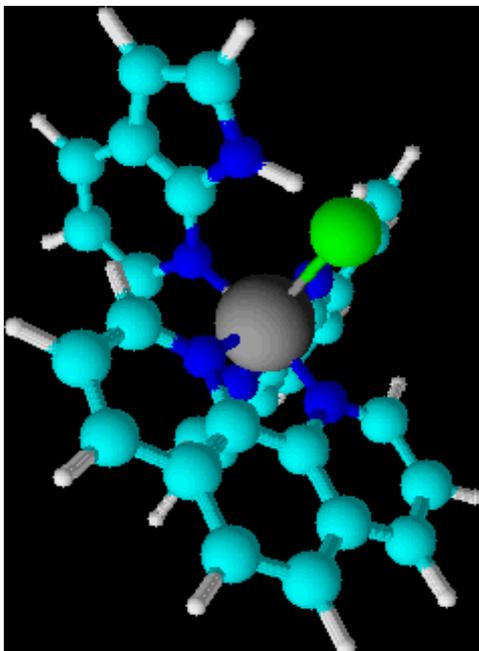
Fonte: Autoria própria

É possível observar na Figura 49 que o hidrogênio H(6) em  $cis$ -[RuCl(ain)(phen) $_2$ ] $^+$  apresenta deslocamento químico maior do que o respectivo do  $cis$ -[RuCl(ain)(bpy) $_2$ ] $^+$ . Isto mostra que o caráter  $\pi$ -doador de densidade eletrônica do átomo de Ru(II), para o 7-azaindol, no complexo com fenantrolina não é tão acentuado como no complexo contendo bipyridina. Este resultado é indicativo de que a fenantrolina aceita mais facilmente a nuvem- $\pi$  do metal quando comparado à bipyridina, de modo que a nuvem que o metal retrodoa para o 7-azaindol é menor no complexo contendo fenantrolina na composição.

Vale salientar que os hidrogênios H(2'') e H(9'') são os da fenantrolina que se encontram *cis* ao ligante cloro. Isto porque, nesta posição, nem a nuvem do cloreto e nem dos anéis aromáticos (da outra fenantrolina e do 7-azaindol) têm influência significativa na nuvem eletrônica dos referidos hidrogênios (Figura 50).

Este raciocínio também foi adotado para avaliar a posição das bipyridinas em relação ao cloreto no complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$ .

Figura 50. Estrutura química em 3D do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{phen})_2]^+$ .



Fonte: Autoria própria

Na Figura 50, é possível observar que H(1) está na mesma orientação do ligante cloreto, contribuindo para aumentar a nuvem eletrônica de H(1) e como consequência diminuir o deslocamento químico, em relação ao ligante não coordenado.

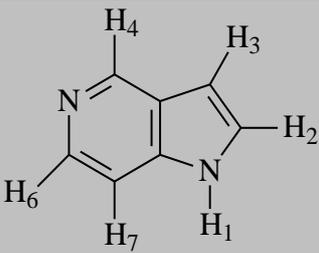
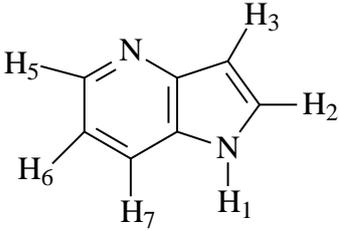
Um aspecto importante de ser destacado é que, tal como observado no caso da bipyridina e do 7-azaindol, os hidrogênios em *orto* e *para* aos nitrogênios da fenantrolina, apresentam nuvem eletrônica menor que na posição *meta*. Fato este que justifica a posição *meta* apresentar menor deslocamento químico.

#### 4.2.8. Ressonância magnética nuclear $^1\text{H}$ do complexo $cis\text{-}[\text{RuCl}(5\text{-ain})(\text{bpy})_2]^+$ e $cis\text{-}[\text{RuCl}(4\text{-ain})(\text{bpy})_2]^+$ em $\text{DMSO-d}_6$

Em analogia aos dados espectroscópicos de  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$ , em  $\text{DMSO-d}_6$ , e com base nos espectros RMN  $^1\text{H}$  e COSY de  $cis\text{-}[\text{RuCl}(5\text{-ain})(\text{bpy})_2]^+$  e de  $cis\text{-}[\text{RuCl}(4\text{-ain})(\text{bpy})_2]^+$  (Figuras 51 a 54) e nos ligantes não

coordenados (Tabela 8), atribuiu-se os sinais de  $^1\text{H}$  dos referidos complexos, cujos dados estão apresentados nas Figuras 51 e 54.

Tabela 8. Deslocamento químico dos hidrogênios no 4-azaindol e 5-azaindol, em dimetilsulfóxido deuterado.

Espécie	Deslocamento químico	Atribuição
	12,112	H <sub>1</sub>
	9,381	H <sub>4</sub>
	8,711	H <sub>6</sub>
	7,952	H <sub>7</sub> e H <sub>2</sub>
	7,081	H <sub>3</sub>
	11,296	H <sub>1</sub>
	8,280	H <sub>5</sub>
	7,805	H <sub>7</sub>
	7,609	H <sub>2</sub>
	7,104	H <sub>6</sub>
	6,562	H <sub>3</sub>

Fonte: Autoria própria

É possível observar na Figura 51 que os hidrogênios H(4) e H(6), do 5-azaindol coordenado, apresentam deslocamento químico mais baixo em relação ao ligante livre (Tabela 8). Este comportamento não é esperado quando se baseia apenas na capacidade do metal distorcer a nuvem eletrônica do referido ligante. Por outro lado, estes dois átomos de hidrogênios podem estar numa posição em que H(4) atrai a nuvem eletrônica do ligante cloro e H(6) a nuvem eletrônica de um dos anéis da bipyridina (Figura 55); assim, os deslocamentos químicos de tais hidrogênios no ligante coordenado não variam ou são menores que os do ligante livre.

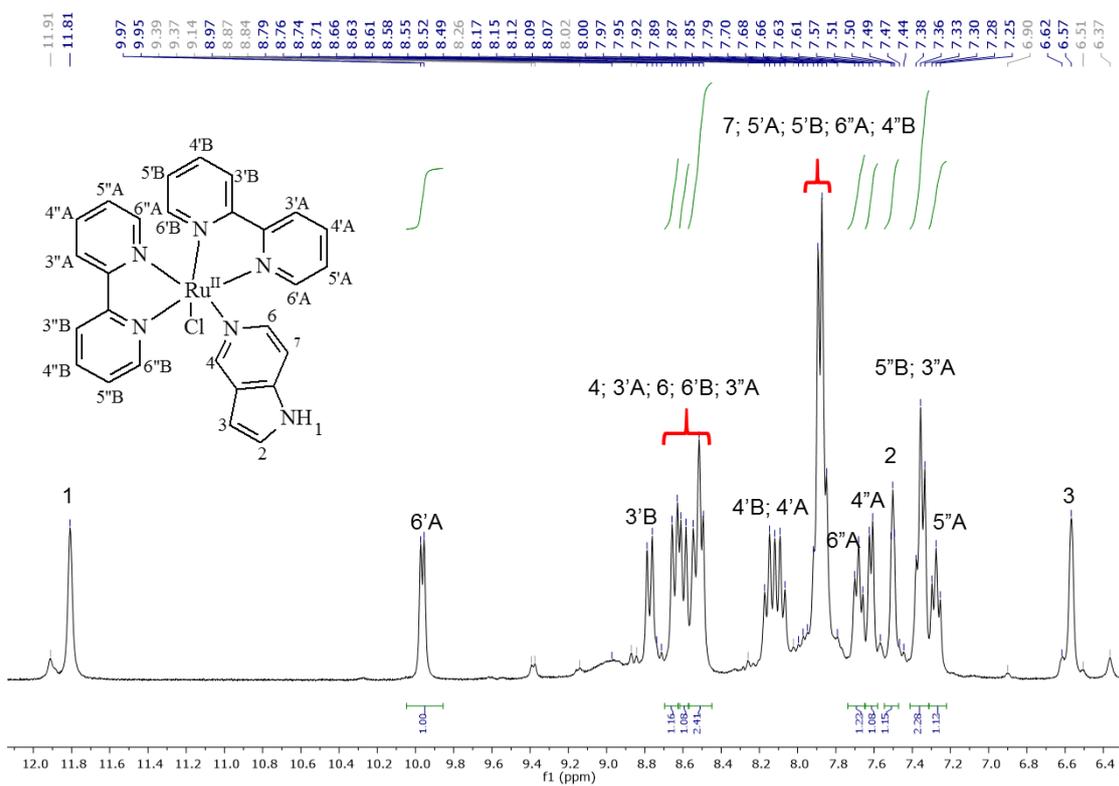
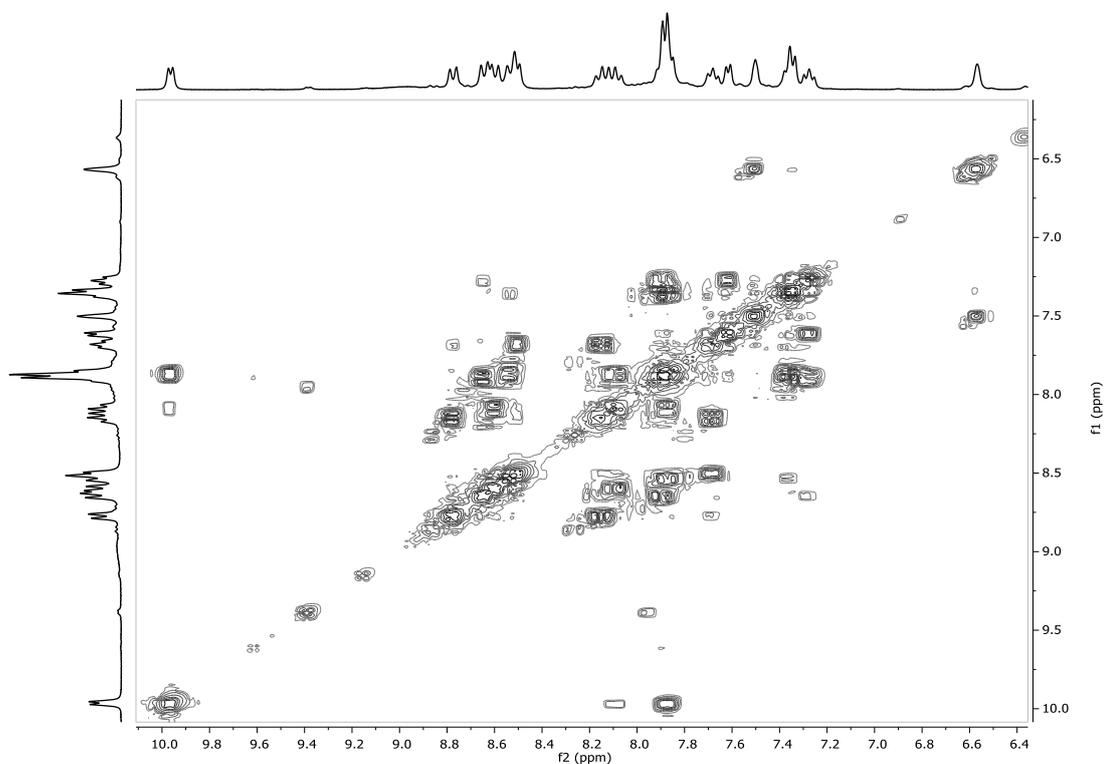
Figura 51. Espectro de  $^1\text{H}$  do complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{5-ain})(\text{bpy})_2]^+$  em  $\text{DMSO-d}_6$ .Figura 52. Espectro COSY do complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{5-ain})(\text{bpy})_2]^+$  em  $\text{DMSO-d}_6$ .

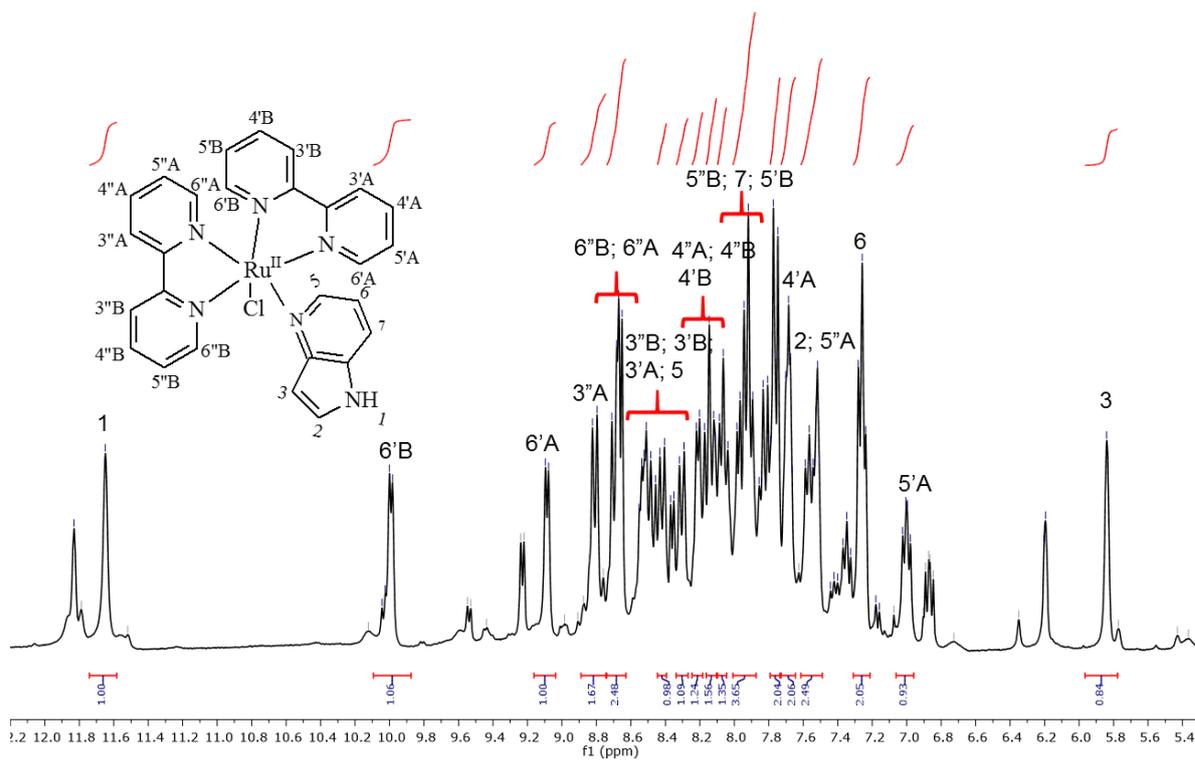
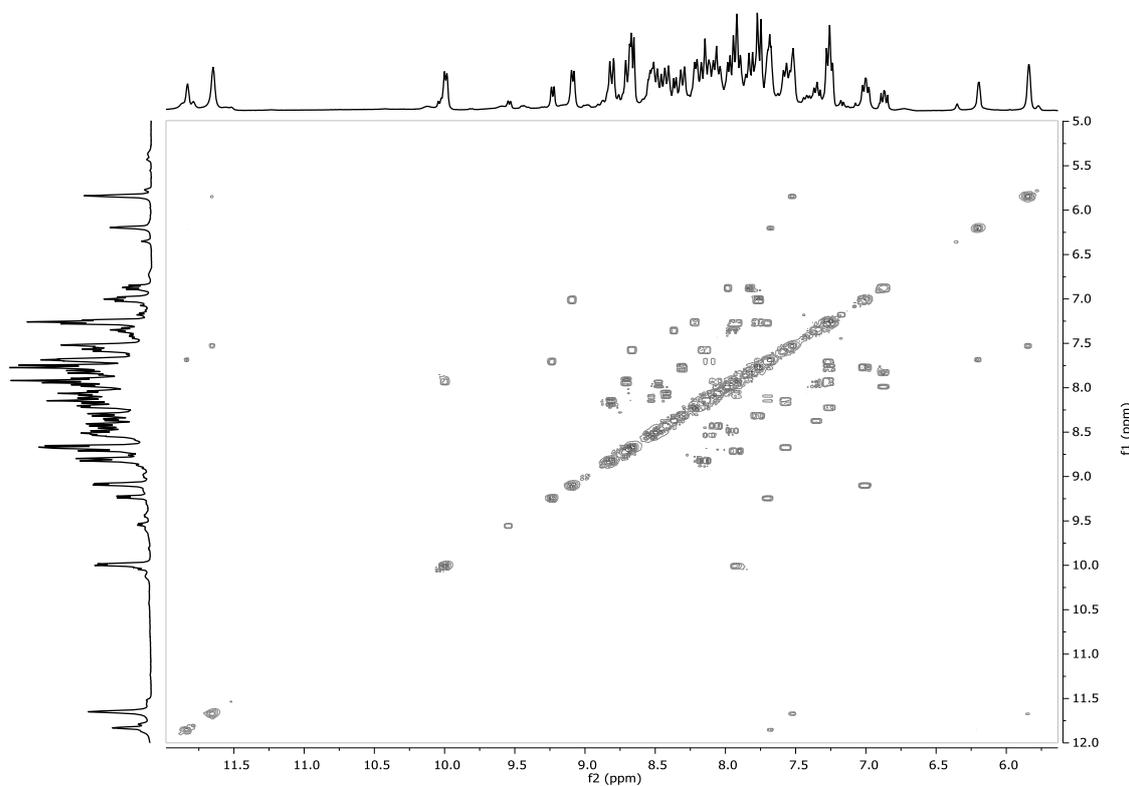
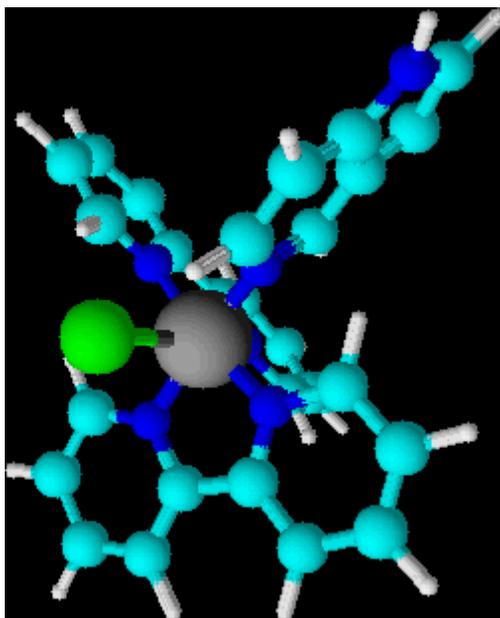
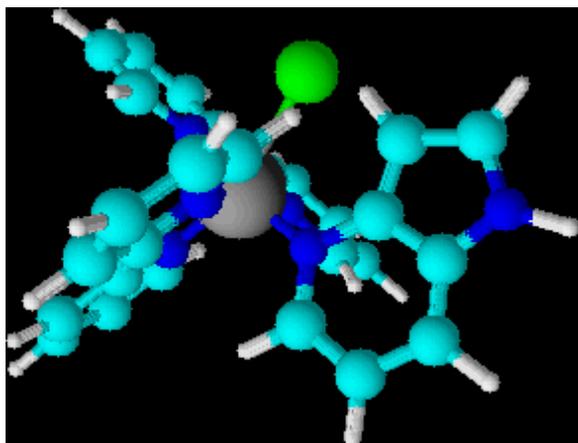
Figura 53. Espectro de  $^1\text{H}$  do complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{4-ain})(\text{bpy})_2]^+$  em  $\text{DMSO-d}_6$ .Figura 54. Espectro COSY do complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{4-ain})(\text{bpy})_2]^+$  em  $\text{DMSO-d}_6$ .

Figura 55. Estrutura em 3D do complexo *cis*-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

Fonte: Autoria própria

Analogamente, no caso do complexo contendo 4-azaindol na composição, Figura 55, H(5) apresenta deslocamento químico praticamente igual ao do 4-azaindol não coordenado. A Figura 56 mostra que H(5) pode atrair a nuvem do ligante cloro ou de um dos anéis da bipyridina, o que justifica tal deslocamento químico. Entretanto, como H(3) do 4-azaindol coordenado apresenta deslocamento químico bem mais baixo que aquele apresentado no ligante livre (Figura 54 e Tabela 8) e sabendo-se que a nuvem do cloro é mais facilmente distorcida, então é esperado que tal hidrogênio esteja atraindo a nuvem eletrônica do Cl e H(5) atraindo a nuvem de um dos anéis da bpy, como está representado na Figura 56.

Assim como proposto no caso do complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, os hidrogênios mais deslocados da bipyridina, em *cis*-[RuCl(4-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> e *cis*-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, são aqueles em que bipyridina está *cis* ao ligante cloro. Além disto, o número de sinais apresentados nas Figuras 51 a 54 é coerente com o complexo de simetria *cis*.

Figura 56. Estrutura em 3D do complexo *cis*-[RuCl(4-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

Fonte: Autoria própria

Comparando-se o deslocamento químico do H(6'A) nos diferentes complexos contendo azaindóis verifica-se que: no complexo com 7-azaindol (10,02 ppm) o deslocamento químico é maior que no complexo com 4-azaindol (10,00 ppm) que também é maior que no complexo com 5-azaindol (9,97 ppm). A partir desses dados pode-se sugerir que o caráter receptor de densidade eletrônica do 7-azaindol é possivelmente maior que o do 4-azaindol, que também é maior que do 5-azaindol. Isto influencia na capacidade do metal doar densidade eletrônica para a bipyridina em análise e como consequência na densidade eletrônica do hidrogênio. É importante sinalizar que para fazer esta análise foi assumido que os ligantes dos complexos estão na mesma disposição espacial. Já o deslocamento químico de H(1) em *cis*-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> é maior que no ligante livre, enquanto que no *cis*-[RuCl(4-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> é menor que no ligante não coordenado. Esta diferença de comportamento pode estar associada ao caráter  $\sigma$ -receptor e  $\pi$ -doador do Ru(II), bem como com a interação entre essas espécies e o solvente, semelhante ao que foi discutido para os complexos *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> e *cis*-[RuCl(ain)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

Nas Figuras 51 e 53 também são destacados sinais de hidrogênio cuja integração varia entre 0,3 e 0,6. Isto mostra que há mais de uma espécie química no meio ou a mesma espécie em diferentes conformações. Uma vez que os dados de análise elementar, bem como de condutividade, evidenciam o expressivo grau de pureza dos complexos *cis*-[RuCl(4-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> e *cis*-[RuCl(5-

ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, pode-se sugerir que esses dados são consistentes com diferentes isômeros dos complexos em análise, bem como mudança conformacional dos mesmos. Já que L é capaz de girar em torno da ligação Ru-N(L). Esta proposta também é sustentada no fato de que os sinais de H (Figuras 51 e 53) com integração menores que 0,6 são coerentes com a presença de L e bpy na composição da espécie em análise. Dados estes que não são consistentes com os ligantes livres.

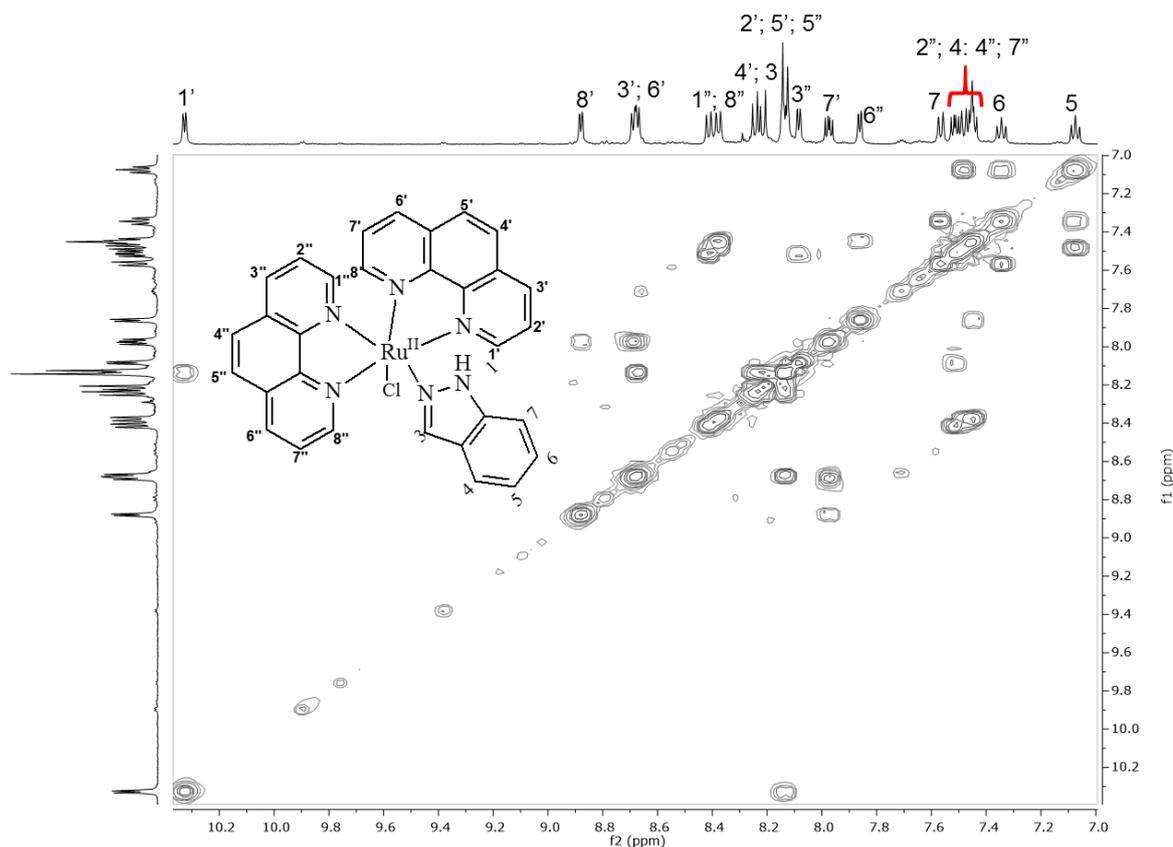
Havendo um giro em torno da ligação Ru-N(4-ain), por exemplo, de modo que H(5) fique mais próximo do cloreto e H(3) mais próximo de um dos anéis da bipyridina, espera-se que ocorra mudança deslocamento químico desses hidrogênios, já que os elétrons não ligantes do cloro são mais facilmente distorcidos do que dos anéis da bipyridina. Sendo assim, é esperado que H(3) apresente deslocamento químico mais baixo quando estiver mais próximo do átomo de cloro, entretanto, o deslocamento químico de H(5), independente das posições citadas, ainda deve ser menor que no ligante livre. Estes dados estão coerentes com o destaque de um sinal em 5,83 ppm (H(5), possivelmente mais próximo do cloro) e 6,19 ppm (H(5) mais próximo de um dos anéis da bipyridina), Figura 53.

#### 4.2.9. Espectros de ressonância magnética nuclear <sup>1</sup>H dos complexos *cis*-[RuCl(indz)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, *cis*-[RuCl(COH-indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> e *cis*-[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>

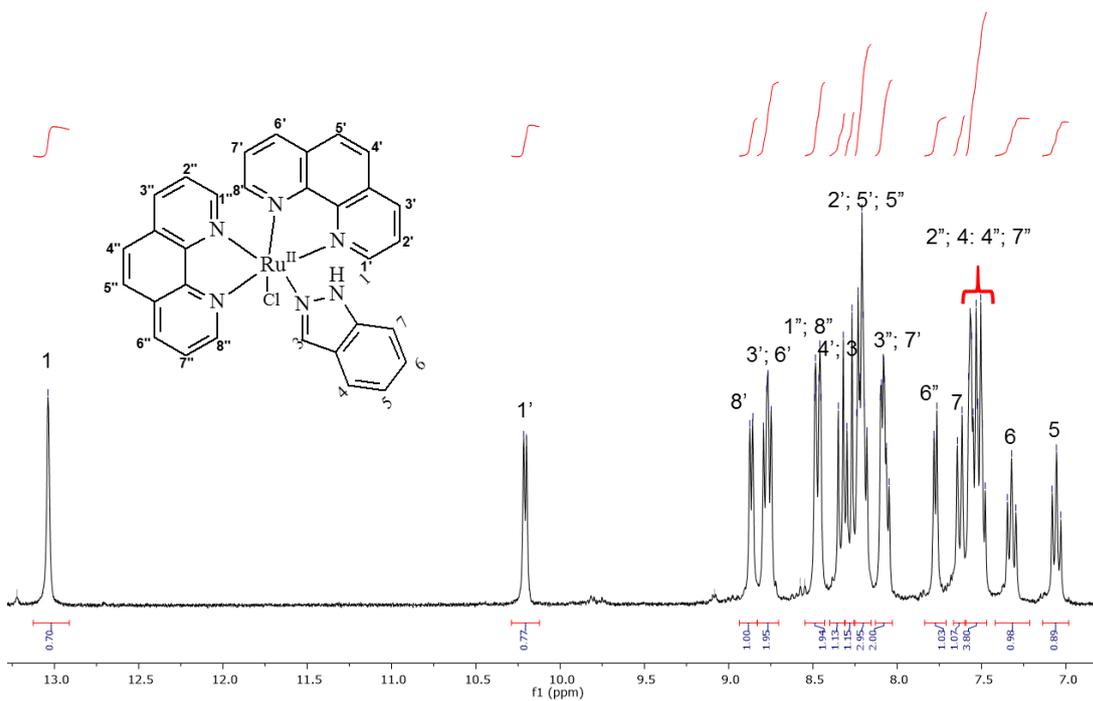
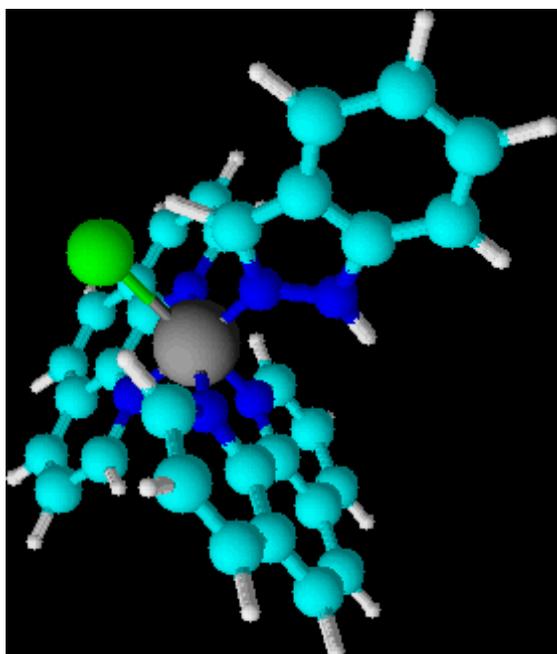
A Figura 57 ilustra o espectro COSY do *cis*-[RuCl(indz)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> em metanol deuterado com as respectivas atribuições, as quais também foram baseadas nas atribuições feitas para o complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, Tabela 7. É possível observar na Figura 58 que a integração dos sinais é coerente com 21 hidrogênios e que não há sinal entre 11,00 e 13,00 ppm, característico de H(1). Isto é indicativo de que H(1) forma ligação de hidrogênio com o solvente (Reisner, Arion et al. 2005) e que a integração dos sinais é consistente com os hidrogênios apresentados na espécie *cis*-[RuCl(indz)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>. Baseando-se nos sinais <sup>1</sup>H do complexo *cis*-[RuCl(indz)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> em metanol deuterado, atribuiu-

se os sinais de  $^1\text{H}$  do referido complexo em dimetilsulfóxido deuterado, cujos dados estão apresentados na Figura 58.

Figura 57. Espectro COSY do complexo *cis*-[RuCl(indz)(phen) $_2$ ] $^+$  em metanol deuterado.



No espectro do *cis*-[RuCl(indz)(phen) $_2$ ] $^+$  em DMSO- $d_6$ , além de observar os mesmos sinais destacados na Figura 58, observa-se também um sinal 13,04 ppm, característico do H(1). Nota-se que mesmo sabendo que H(1) está ligado ao N em *orto* ao átomo doador do 1H-indazol (Tabela 9), o deslocamento químico de H(1) é menor quando o ligante está coordenado ao metal. Analisando a disposição espacial do 1H-indazol no complexo citado, verifica-se que H(1) pode atrair a nuvem eletrônica do átomo de cloro ou de um dos anéis da bipyridina (Figura 59), semelhante ao que foi proposto para os complexos contendo azaindóis. Isto contribui para aumentar a nuvem de H(1) e, como consequência, diminuir o deslocamento químico do mesmo.

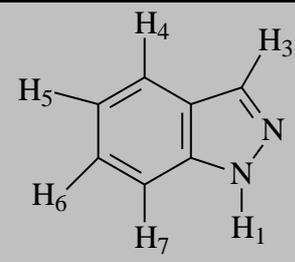
Figura 58. Espectro de  $^1\text{H}$  do complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{phen})_2]^+$  em  $\text{DMSO-d}_6$ .Figura 59. Estrutura em 3D do complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{phen})_2]^+$ .

Fonte: Autoria própria

Analogamente, é de se esperar que o átomo de cloro ou anel de bpy contribua para diminuir o deslocamento químico de H(3). Entretanto, o sinal de tal hidrogênio apresenta-se mais deslocado do que no ligante livre (Figura 58), evidenciando que o fator que determina a diferença de deslocamento é a atuação do metal como ácido de Lewis.

Na Tabela 9 também é possível notar que o deslocamento químico dos H do anel benzênico é maior quando o ligante não está coordenado, este fato pode ser explicado pelo caráter  $\pi$ -doador do metal frente ao ligante indazol, que deve contribuir de modo significativo para aumentar a nuvem do anel de 6 membros.

Tabela 9. Deslocamento químico dos hidrogênios do 1H-indazol, em dimetilsulfóxido deuterado.

<b>Espécie</b>	<b>Deslocamento químico (ppm)</b>	<b>Atribuição</b>
	13,10	H <sub>1</sub>
	8,104	H <sub>3</sub>
	7,783	H <sub>4</sub>
	7,578	H <sub>7</sub>
	7,362	H <sub>6</sub>
	7,128	H <sub>5</sub>

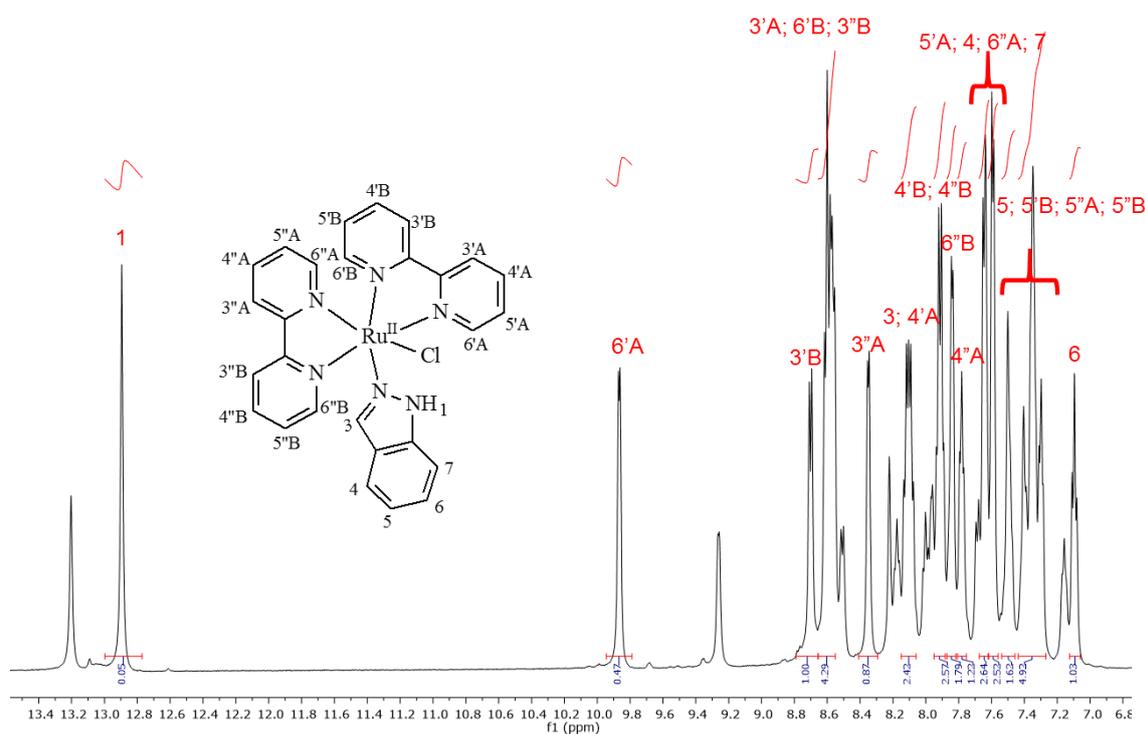
Fonte: Autoria própria

A partir dos dados espectroscópicos de  $^1\text{H}$  dos complexos *cis*-[RuCl(indz)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> e *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, em DMSO, foi atribuído os deslocamentos químicos dos hidrogênios do complexo *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (Figura 60).

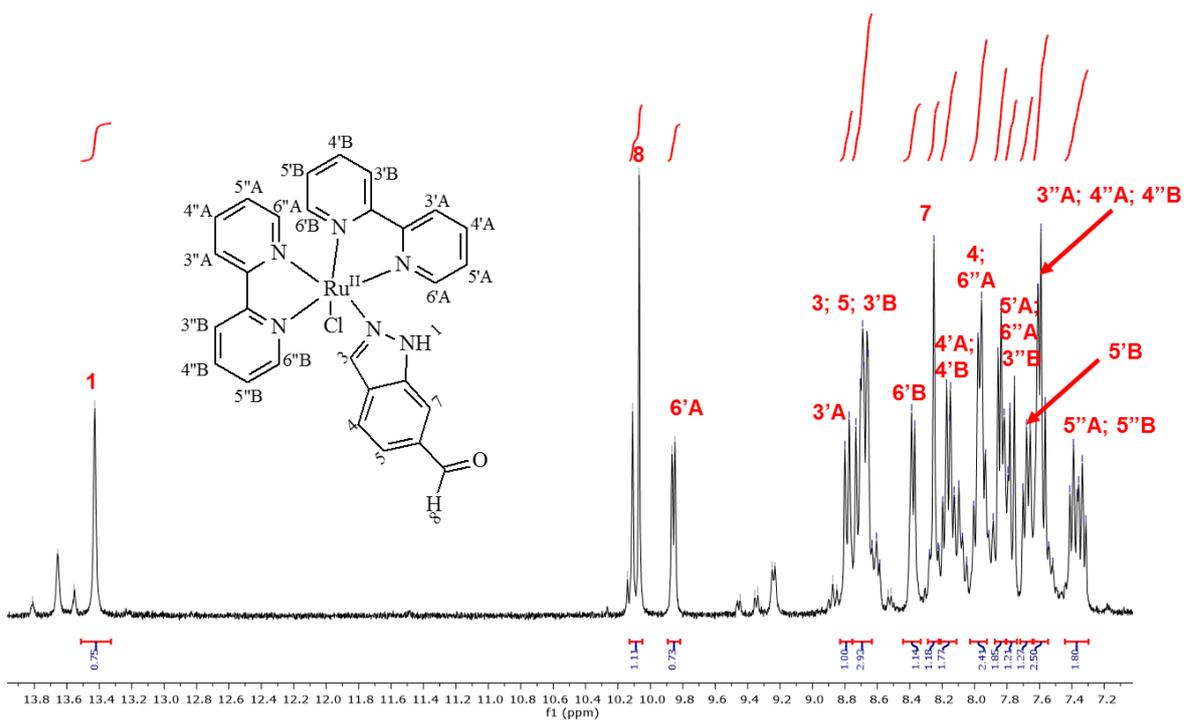
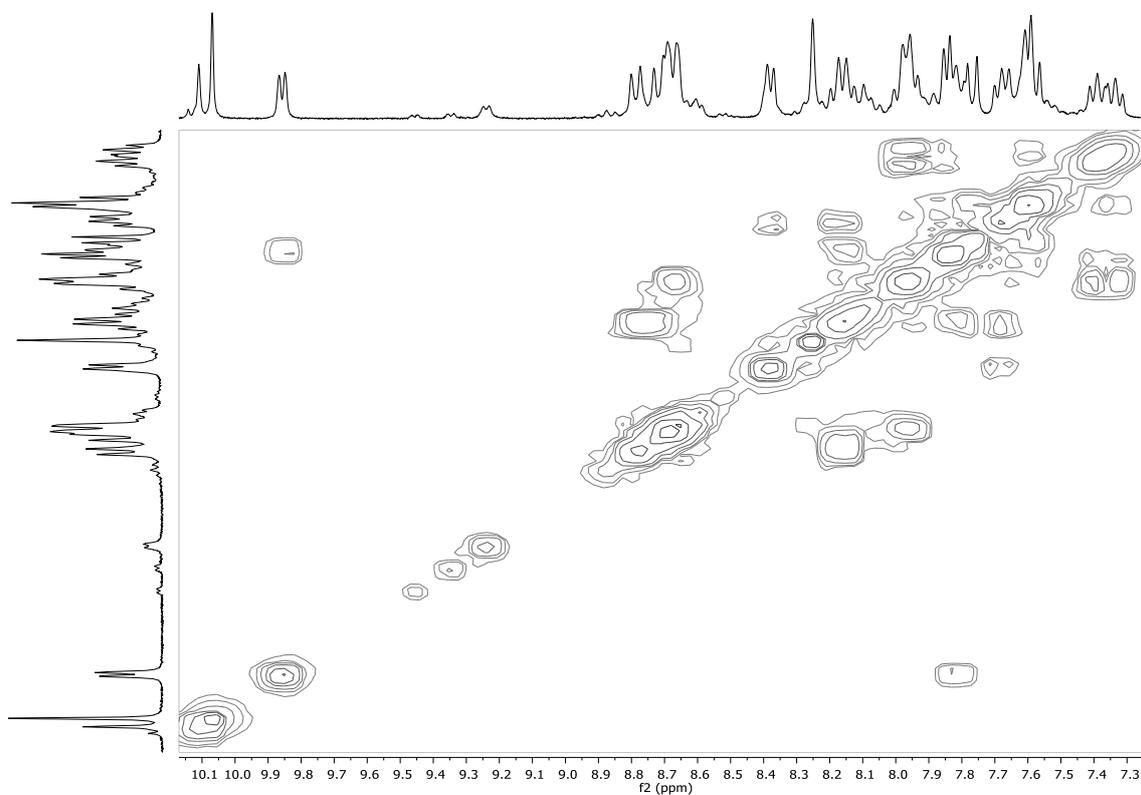
Observa-se na Figura 60 que o sinal de H(3), bem como de H(1) são menos deslocados que do ligante coordenado. Coerente com o caráter  $\pi$ -doador do metal, a influência da nuvem do anel de bpy e do átomo de cloro na densidade eletrônica desses hidrogênios. Outro aspecto relevante é que H(3) apresenta deslocamento químico maior quando está no complexo *cis*-[RuCl(indz)(X-X)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> em que X-X é phen (8,28 ppm). Isto indica que o caráter  $\pi$ -receptor da 1,10-fenantrolina é tão maior que o da 2,2-bipiridina, a ponto de a nuvem eletrônica

do metal ser menos retrodoada para o indazol no complexo contendo fenantrolina e, portanto, menor a nuvem eletrônica de H(3) no complexo *cis*-[RuCl(indz)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

Figura 60. Espectro de <sup>1</sup>H do complexo *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> em DMSO-d<sub>6</sub>.

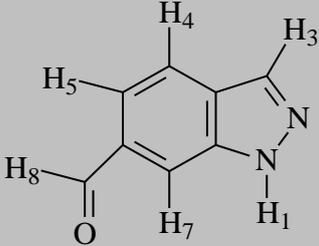


Da mesma forma que o complexo *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, atribuiu-se os sinais de <sup>1</sup>H do complexo *cis*-[RuCl(COH-indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, em DMSO-d<sub>6</sub>, cujos dados estão apresentados nas Figuras 61 e 62.

Figura 61. Espectro de  $^1\text{H}$  do complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{COH-indz})(\text{bpy})_2]\text{PF}_6$  em  $\text{DMSO-d}_6$ .Figura 62. Espectro COSY do complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{COH-indz})(\text{bpy})_2]\text{PF}_6$  em  $\text{DMSO-d}_6$ .

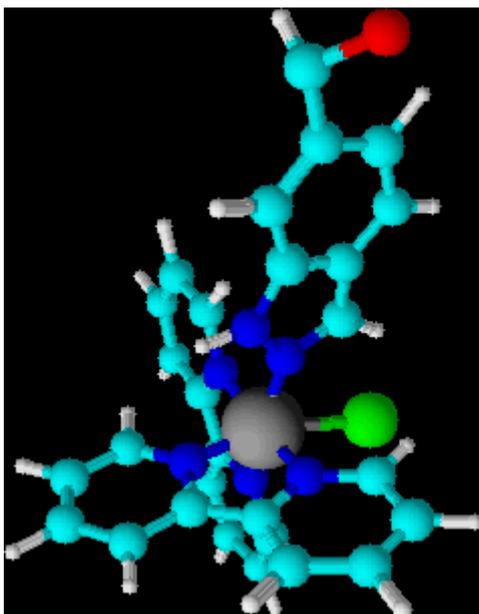
Comparando-se os deslocamentos químicos dos hidrogênios no 6-carboxialdeído-1H-indazol não coordenado, em relação ao referido ligante coordenado, nota-se que H(1) e H(3), semelhante ao caso do complexo *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, não apresentam variação significativa (Figura 61 e Tabela 10), comportamento este coerente com o caráter π-acceptor do COH-indz, bem como com a influência da nuvem do cloro ou do anel da bipyridina na nuvem eletrônica dos referidos ligantes (Figura 63).

Tabela 10. Deslocamento químico dos hidrogênios no 6-carboxialdeído-1H-indazol, em DMSO-d<sub>6</sub>.

Espécie	Deslocamento químico (ppm)	Atribuição
	14,09/ 1H	H <sub>1</sub>
	10,60/ 1H	H <sub>8</sub>
	8,71 – 8,61/ 2H	H <sub>7</sub> e H <sub>3</sub>
	8,400/ 1H	H <sub>5</sub>
	8,05/ 1H	H <sub>4</sub>

Fonte: Autoria própria

Figura 63. Estrutura em 3D do complexo *cis*-[RuCl(COH-indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

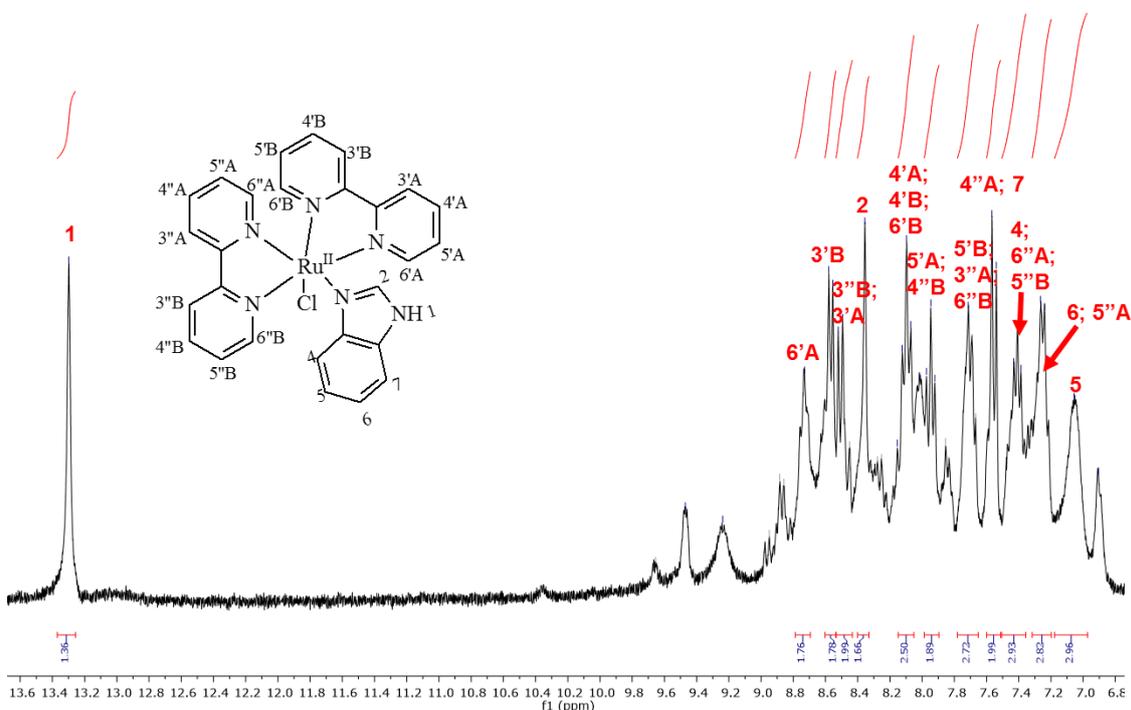


Fonte: Autoria própria

Assim como observado entre os ligantes livres (indz e COH-indz), o deslocamento químico de H(1) e H(3) em *cis*-[RuCl(COH-indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> são maiores que em *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>. Esta diferença é atribuída ao grupamento aldeído do COH-indz, que atua diminuindo a nuvem eletrônica dos anéis (indazólico e benzênico) por efeito de ressonância.

A partir dos espectros de <sup>1</sup>H (Figura 64) e COSY (Figura 65) do *cis*-[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, foram atribuídos os sinais do mesmo cujos dados estão apresentados na Figura 64.

Figura 64. Espectro de <sup>1</sup>H do complexo *cis*-[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> em DMSO-d<sub>6</sub>.

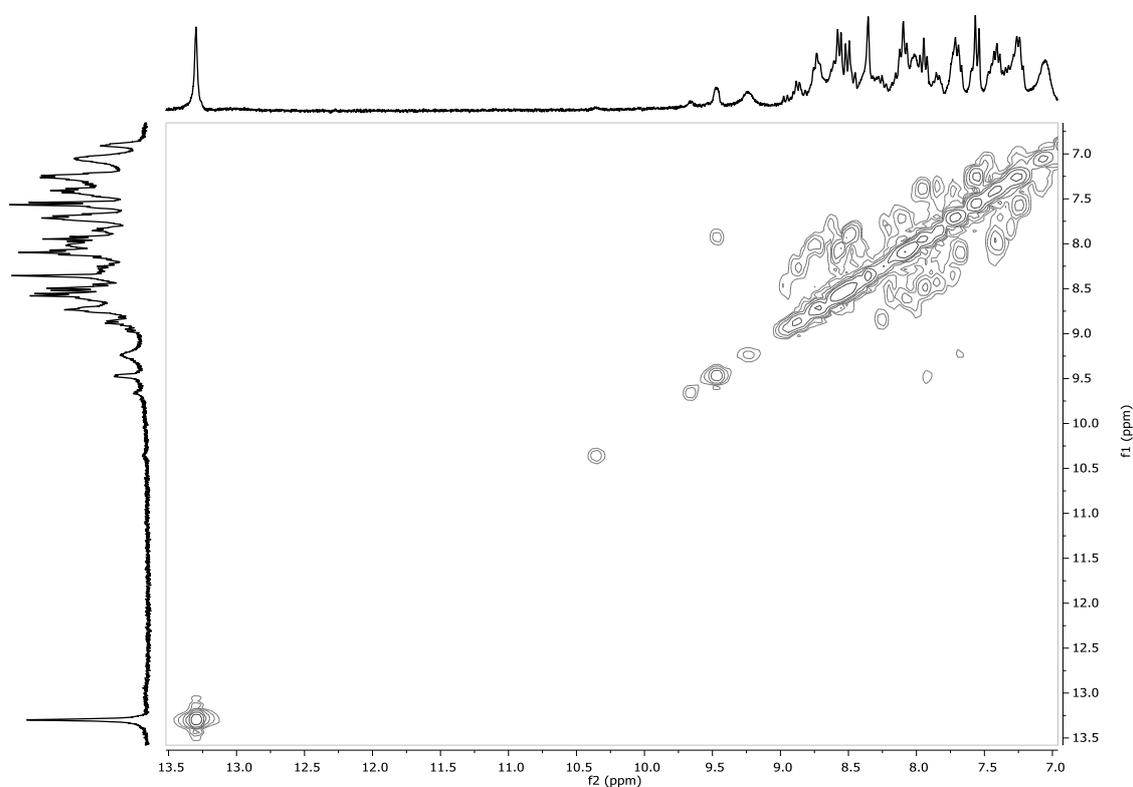


Verifica-se na Figura 64 que o deslocamento químico do hidrogênio H(2) do complexo *cis*-[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> é maior que o do hidrogênio H(3) dos complexos *cis*-[RuCl(COH-indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> e *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> apesar de todos representarem o hidrogênio mais próximo ao átomo de rutênio. Isto pode ser justificado uma vez que há dois átomos de nitrogênios diretamente ligados ao carbono-2, o que proporciona uma redução de densidade eletrônica disponível para este átomo e por consequência ao do átomo de hidrogênio H(2). Por outro lado, o hidrogênio H(6'A) do complexo *cis*-[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>

apresenta maior densidade eletrônica em relação ao hidrogênio H(6'A) dos complexos *cis*-[RuCl(COH-indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> e *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>. Estes dados evidenciam que o caráter π-receptor do benzimidazol, frente ao Ru(II), é menos acentuado do que o do 6-carboxialdeído-1-Hindazol e do 1H-indazol.

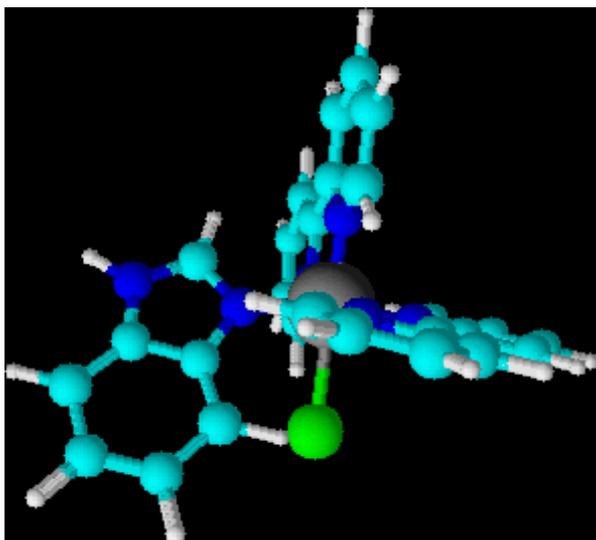
É possível notar na Figura 64 que H(5) e H(6), bem como H(4) e H(7) no ligante coordenado apresentam deslocamento químicos diferentes, isto porque a vizinhança de cada um desses átomos é diferente.

Figura 65. Espectro COSY de *cis*-[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> em DMSO-d<sub>6</sub>.



A Figura 66 ilustra a estrutura espacial do complexo *cis*-[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, no qual se observa que H(4) e (5) estão mais próximos da nuvem eletrônica de uma das bipyridinas.

Figura 66. Estrutura em 3D do complexo *cis*-[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.



Fonte: Autoria própria

Outros sinais com integração relativa menores que 0,60 são observados nas Figuras 64 e 65, os quais podem estar associados a uma conformação menos estável do complexo *cis*-[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>. Vale salientar que o número de sinais de <sup>1</sup>H dos complexos *cis*-[RuCl(indz)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, *cis*-[RuCl(COH-indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> e *cis*-[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, é consistente com complexos de isomeria geométrica *cis*.

#### 4.2.10. Espectros de ressonância magnética nuclear <sup>1</sup>H do complexo *cis*-[RuCl(qui)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>

Com base nos deslocamentos químicos dos outros complexos do tipo *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, bem como da quinolina não coordenada (Tabela 11), foram atribuídos os sinais de <sup>1</sup>H do complexo *cis*-[RuCl(qui)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, Figuras 67 e 68.

Analisando-se as Figuras 67 e 68, verifica-se que a integração dos sinais é consistente com 23 átomos de hidrogênio. Além disto, verifica-se que a coordenação da quinolina ao Ru(II) promove um aumento no deslocamento químico dos hidrogênios H(2) e H(4). Isto indica que o efeito polarizante do metal diminui tanto a densidade eletrônica do átomo de nitrogênio N(sp<sup>2</sup>) e provoca redução da nuvem eletrônica do anel, contribuindo, deste modo, para tornar os hidrogênios do mesmo mais desprotegidos. Já os deslocamentos químicos dos

hidrogênios do anel benzênico adjacente não são influenciados significativamente pela presença do metal. É importante destacar que tal como no caso dos outros complexos de formulação  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{X-X})_2]^+$ , observa-se nas Figuras 67 e 68 sinais adicionais cuja integração relativa é menor que 0,60, os quais podem ser característicos do complexo em outras conformações (situação em que o hidrogênio H(2) pode ficar mais próximo dos elétrons de um dos anéis da bipyridina), como ilustrado na Figura 69. Já os deslocamentos químicos dos hidrogênios das duas bipyridinas seguem o mesmo comportamento observado no caso do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$ , sendo H(6'A) o hidrogênio da bipyridina que está *cis* ao átomo de cloro.

Figura 67. Espectro de  $^1\text{H}$  do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{qui})(\text{bpy})_2]\text{PF}_6$  em  $\text{DMSO-d}_6$ .

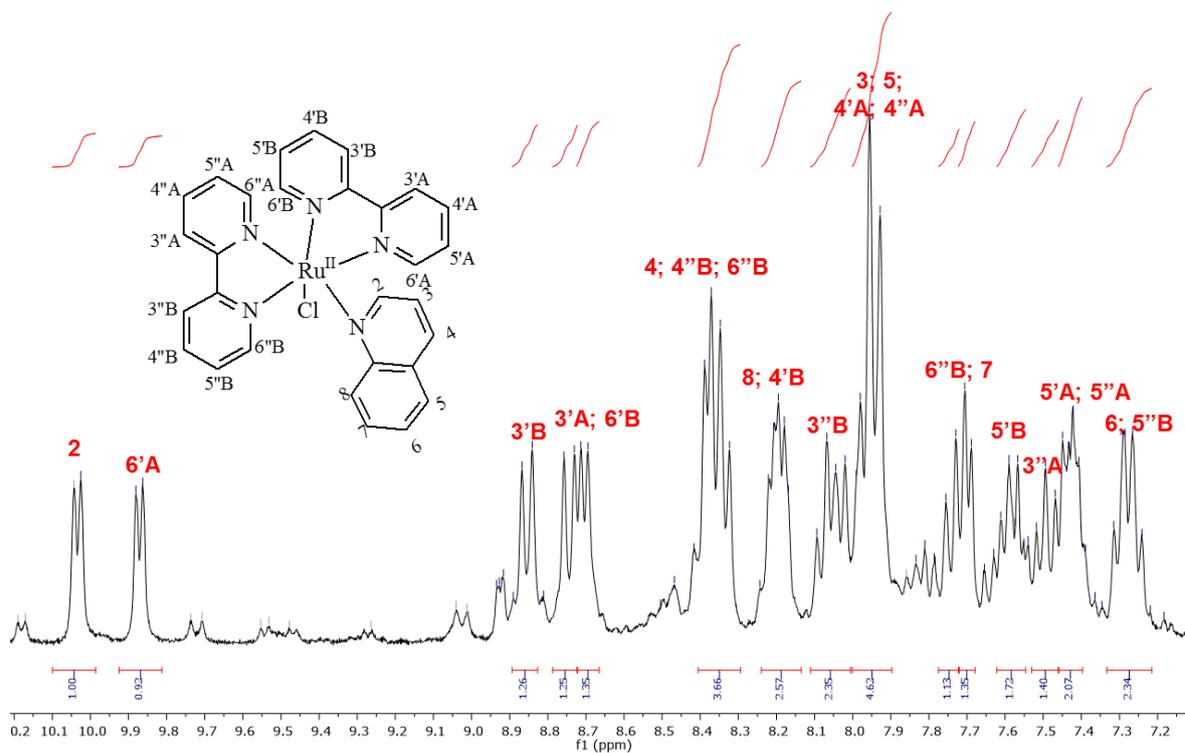
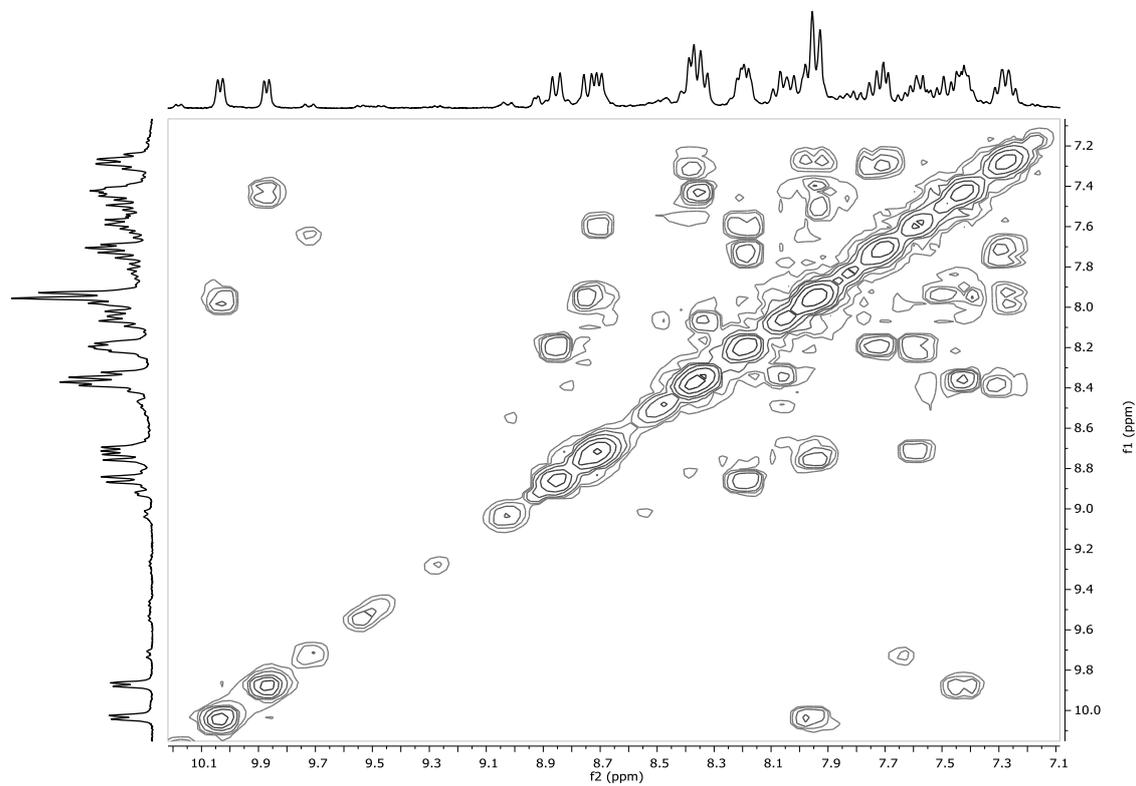
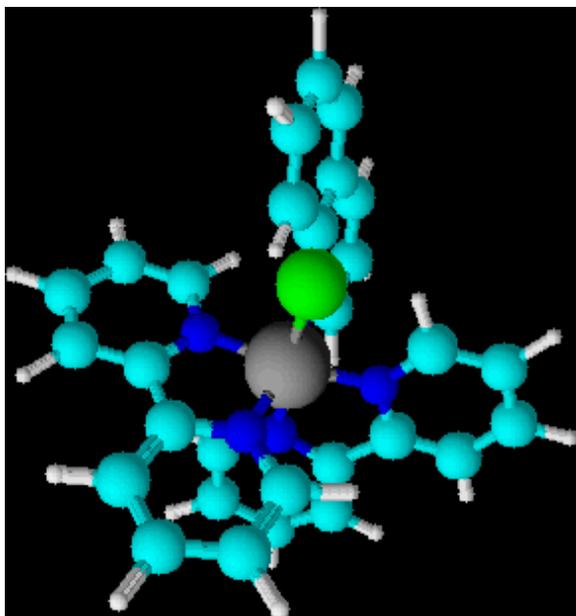
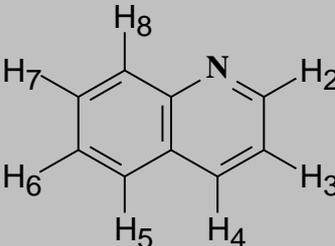


Figura 68. Espectro COSY de *cis*-[RuCl(qui)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> em DMSO-d<sub>6</sub>.Figura 69. Estrutura em 3D do complexo *cis*-[RuCl(qui)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

Fonte: Autoria própria

Tabela 11. Deslocamento químico dos hidrogênios na quinolina, em CDCl<sub>3</sub>.

Espécie	Deslocamento químico (ppm)	Atribuição
	8,923	H <sub>2</sub>
	8,153	H <sub>8</sub>
	8,123	H <sub>4</sub>
	7,816	H <sub>5</sub>
	7,721	H <sub>7</sub>
	7,548	H <sub>6</sub>
	7,394	H <sub>3</sub>

Fonte: Autoria própria

A Figura 67 também evidencia que a isomeria do complexo é *cis*, já que o número de sinais é maior que 11 (Hesek, Inoue et al. 1999; Zobi, Hohl et al. 2004).

### 4.3. Estudo da reatividade dos complexos de formulação *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>

#### 4.3.1. Estudo eletroquímico dos complexos *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> em acetonitrila

De acordo com a literatura (Evgenov, Pacher et al. 2006), a ativação e a inibição da guanilato ciclase solúvel, no que se refere à vasodilatação, pode estar associada a processos redox envolvendo o átomo de ferro da referida enzima. Sabe-se, por exemplo, que problemas cardiovasculares, como hipertensão, estão associados ao aumento do nível de estresse oxidativo que promove a oxidação da sGC e, portanto, sua inativação. Por conta disto, estudou-se o comportamento eletroquímico dos complexos de formulação *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> no intuito de elucidar a possível atuação dos mesmos frente à referida enzima ou outras proteínas envolvidas na vasodilatação, bem como de caracterizar os compostos sintetizados.

As Figuras 70 a 78 ilustram o perfil dos voltamogramas cíclicos dos complexos *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, concentração na faixa de 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup>, em MeCN, na faixa de +1,0 a -2,1 V vs Ag/AgCl.

Figura 70. Voltamogramas cíclicos do complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 9,4 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>, em MeCN, contendo perclorato de tetrabutilamônio (PTBA), 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Velocidade de varredura de 100 mV s<sup>-1</sup>. Faixa de varredura: +1,0 a -2,1 V (A) e 0,0 a +1,0 V (B). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo.

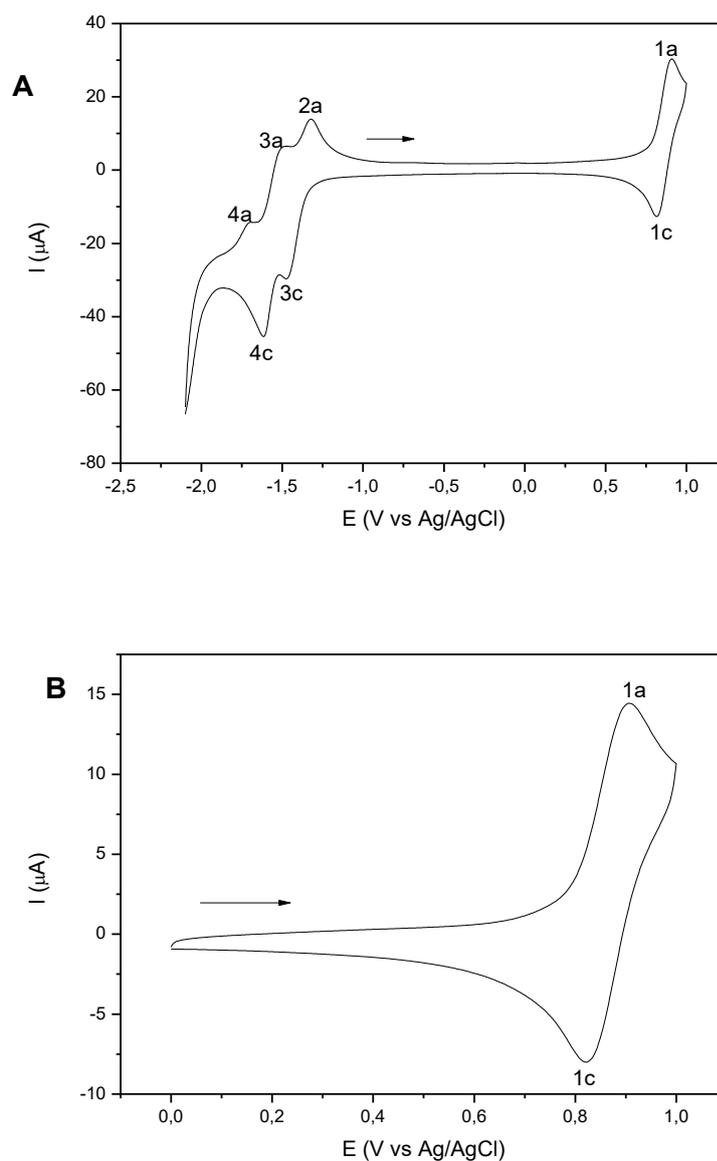


Figura 71. Voltamograma cíclico do complexo *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 9,4 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>, em MeCN contendo perclorato de tetrabutilamônio (PTBA), 0,1 mol.L<sup>-1</sup>. Velocidade de varredura de 100 mV.s<sup>-1</sup>. Faixa de varredura: +1,0 a -2,1 V (A) e 0,0 a +1,0 V (B). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo.

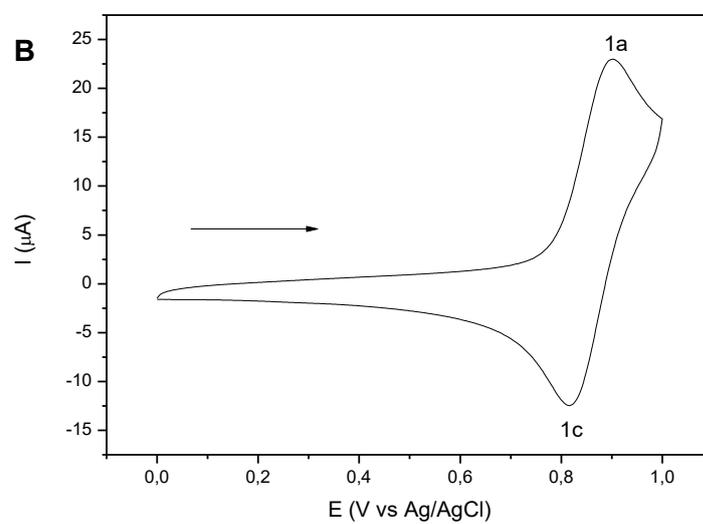
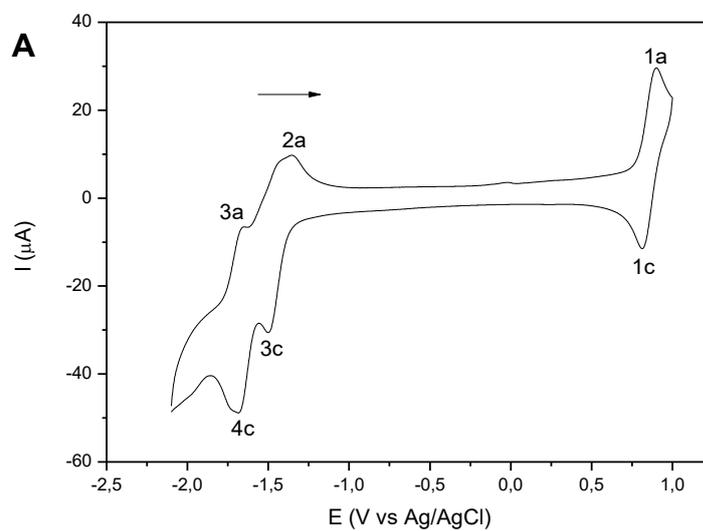


Figura 72. Voltamograma cíclico do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{5-ain})(\text{bpy})_2]^+$ ,  $9,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , em MeCN contendo perclorato de tetrabutilamônio (PTBA),  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ . Velocidade de varredura de  $100 \text{ mV.s}^{-1}$ . Faixa de varredura:  $+1,0$  a  $-2,1 \text{ V}$  (A) e  $0,0$  a  $+1,0 \text{ V}$  (B). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo.

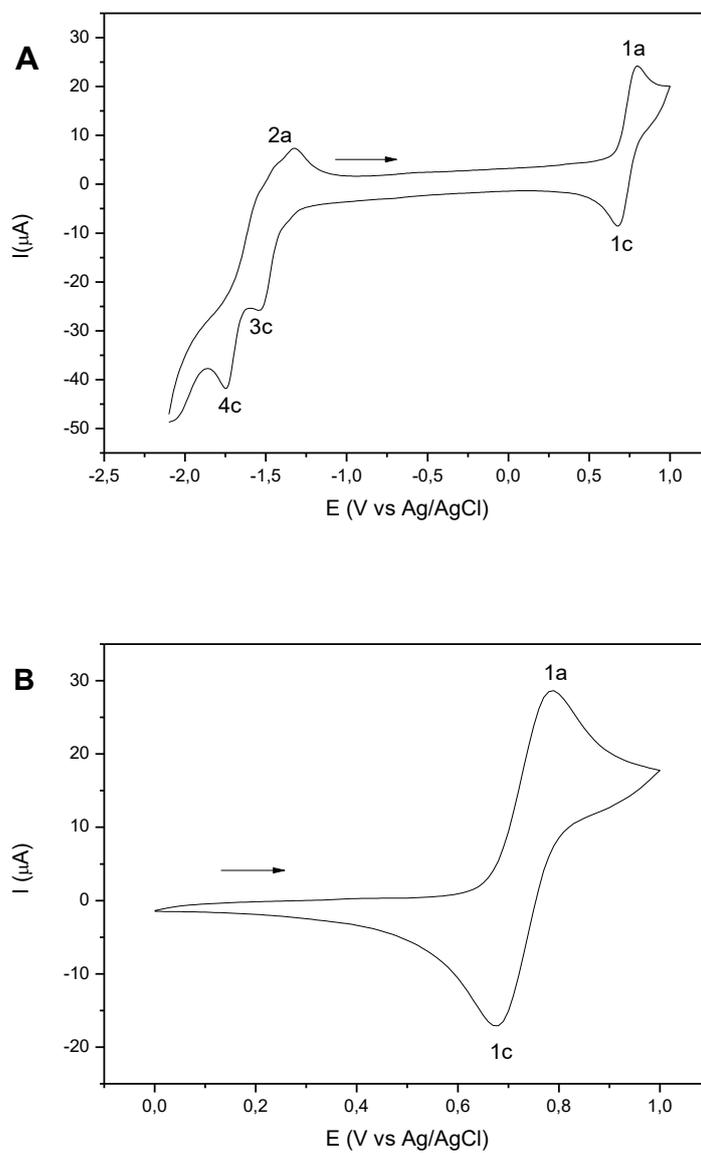


Figura 73. Voltamograma cíclico do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{COH-indz})(\text{bpy})_2]^+$ ,  $9,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , em MeCN contendo perclorato de tetrabutilamônio (PTBA),  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ . Velocidade de varredura de  $100 \text{ mV.s}^{-1}$ . Faixa de varredura:  $+1,0$  a  $-2,1 \text{ V}$  (A) e  $0,0$  a  $+1,0 \text{ V}$  (B). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo.

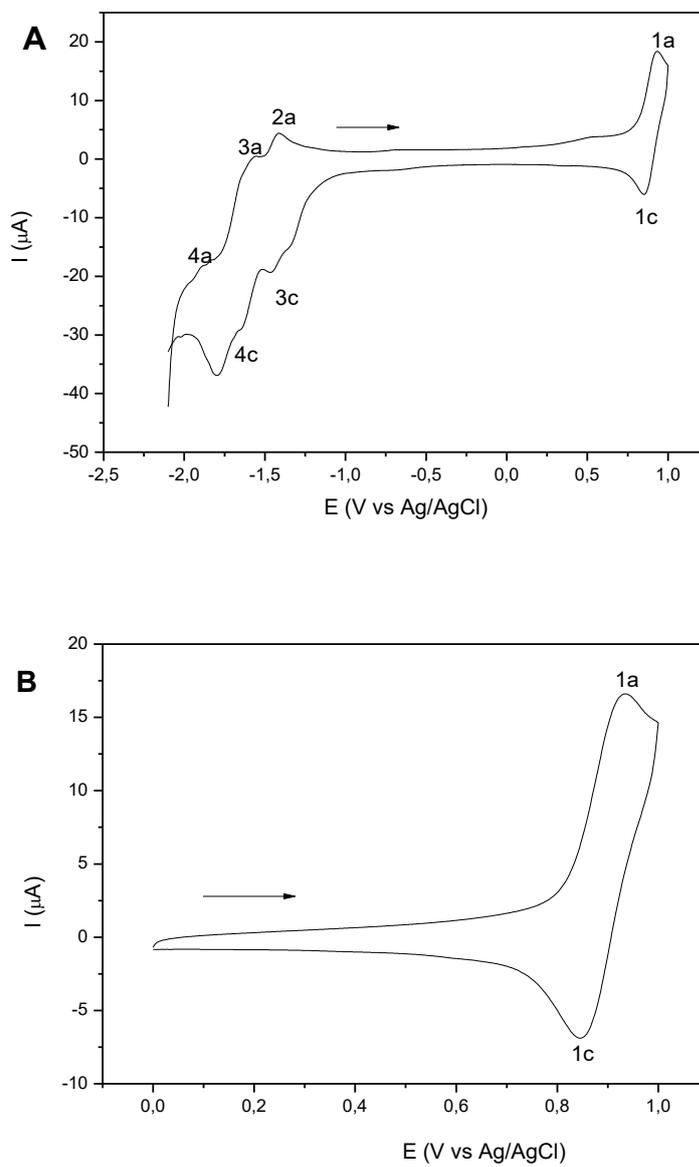


Figura 74. Voltamograma cíclico do complexo *cis*-[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 9,4 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>, em MeCN contendo perclorato de tetrabutilamônio (0,1 mol L<sup>-1</sup>). Velocidade de varredura de 100 mV.s<sup>-1</sup>. Faixa de varredura: +1,0 a -2,1 V (A) e 0,0 a +1,0 V (B). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo.

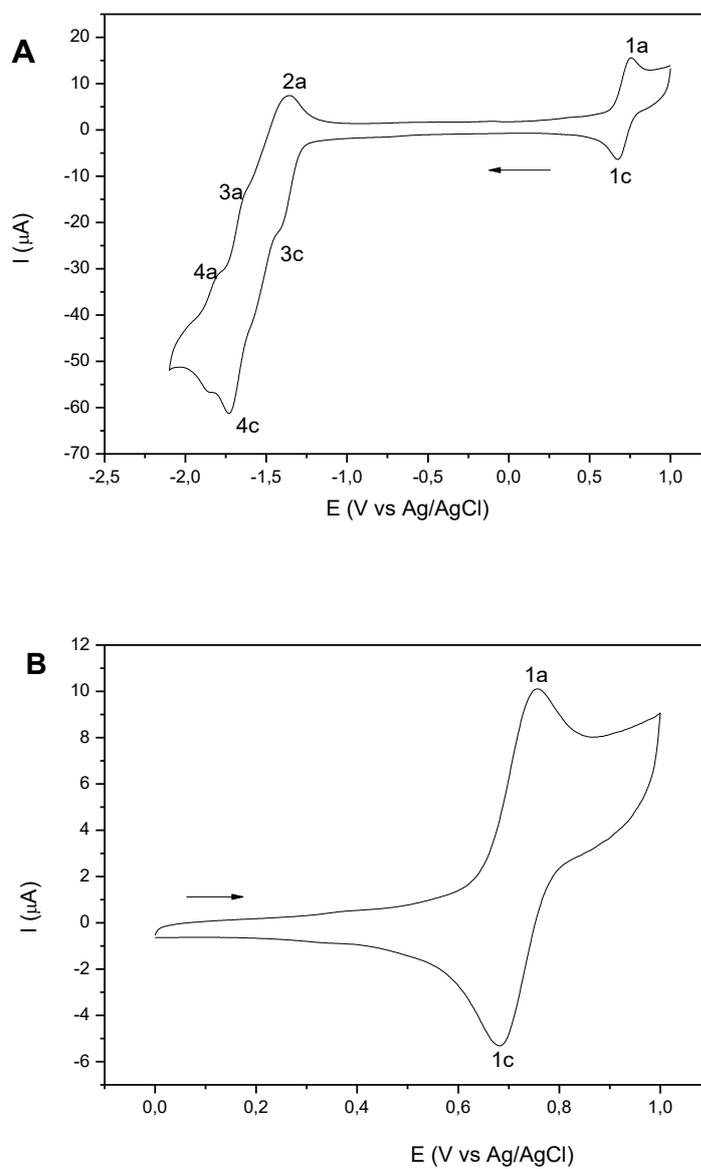


Figura 75. Voltamograma cíclico do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(4\text{-ain})(\text{bpy})_2]^+$ ,  $9,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , em MeCN contendo perclorato de tetrabutilamônio ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ). Velocidade de varredura de  $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . Faixa de varredura:  $+1,0$  a  $-2,1 \text{ V}$  (A) e  $0,0$  a  $+1,0 \text{ V}$  (B). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo.

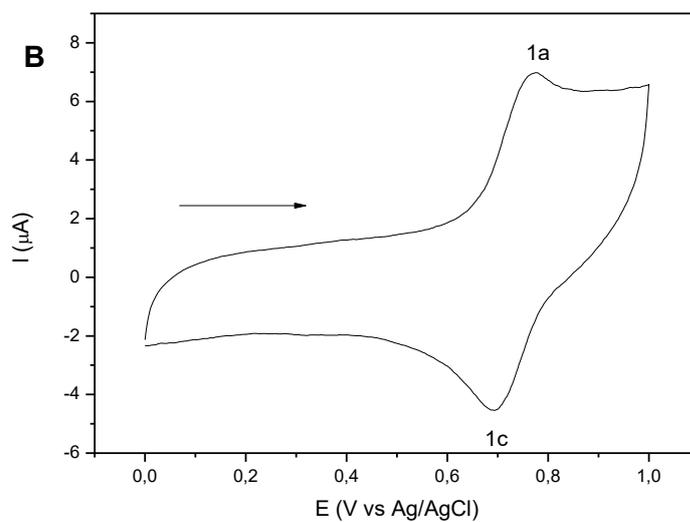
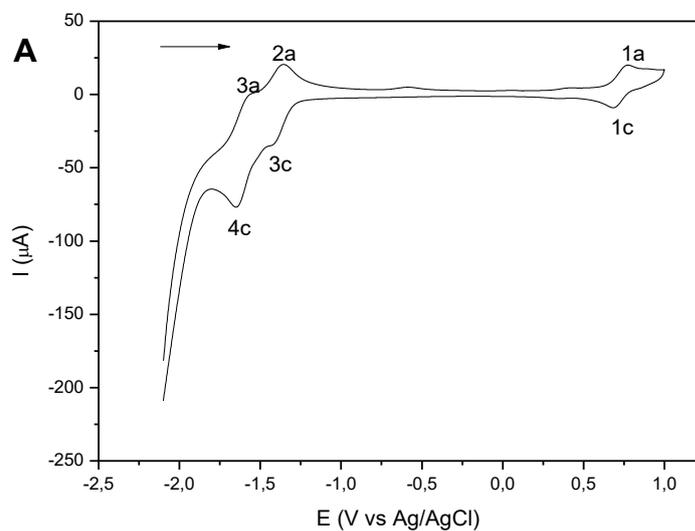


Figura 76. Voltamograma cíclico do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{phen})_2]^+$ ,  $9,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , em MeCN contendo perclorato de tetrabutilamônio ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ). Velocidade de varredura de  $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ . Faixa de varredura:  $+1,0$  a  $-2,1 \text{ V}$  (A) e  $0,0$  a  $+1,0 \text{ V}$  (B). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo.

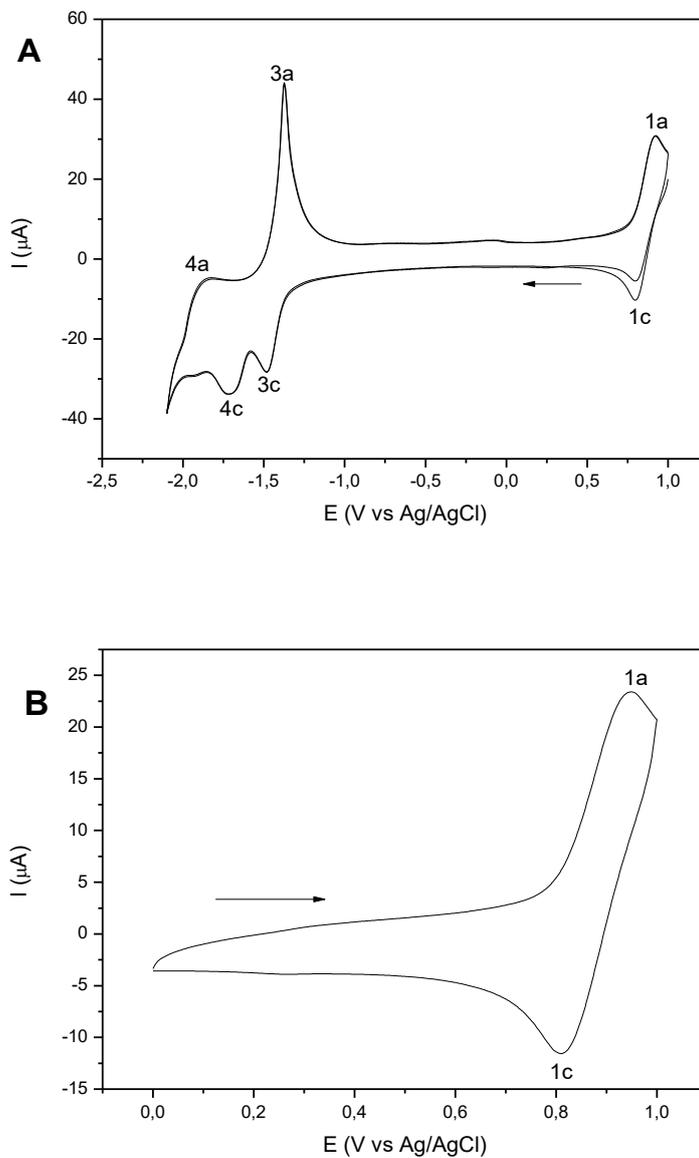


Figura 77. Voltamograma cíclico do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{qui})(\text{bpy})_2]^+$ ,  $9,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , em MeCN contendo perclorato de tetrabutilamônio ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ). Velocidade de varredura de  $100 \text{ mV s}^{-1}$ . Faixa de varredura:  $+1,0$  a  $-2,1 \text{ V}$  (A) e  $0,0$  a  $+1,0 \text{ V}$  (B). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo.

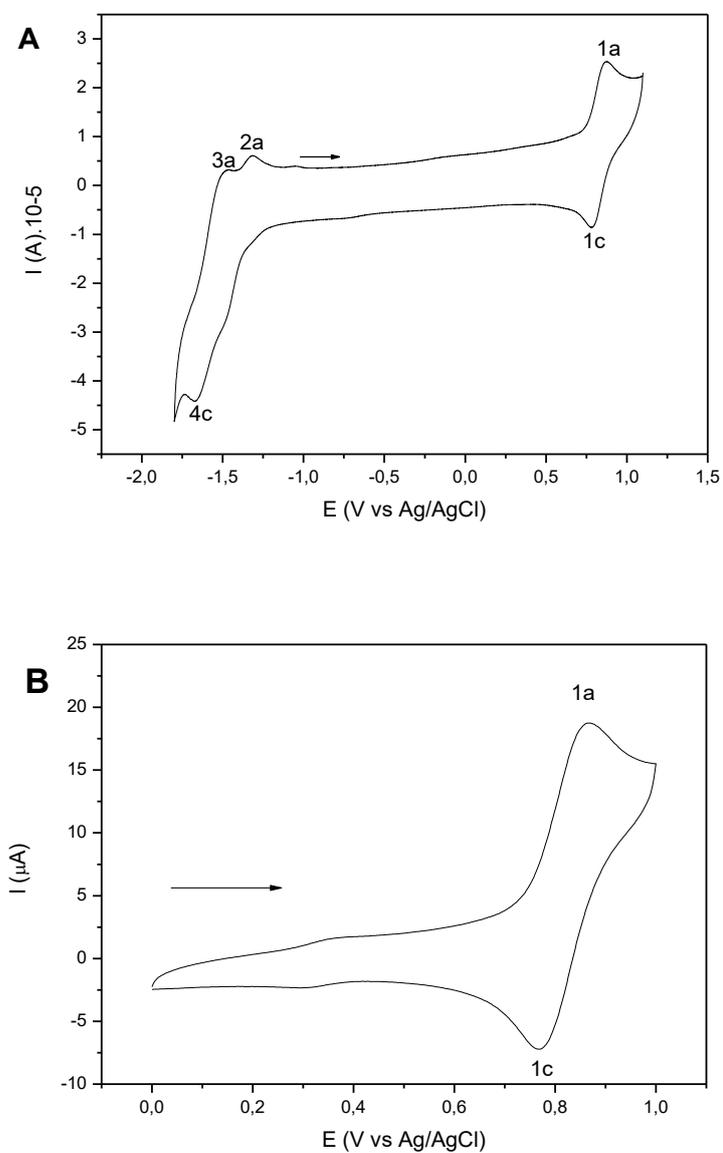
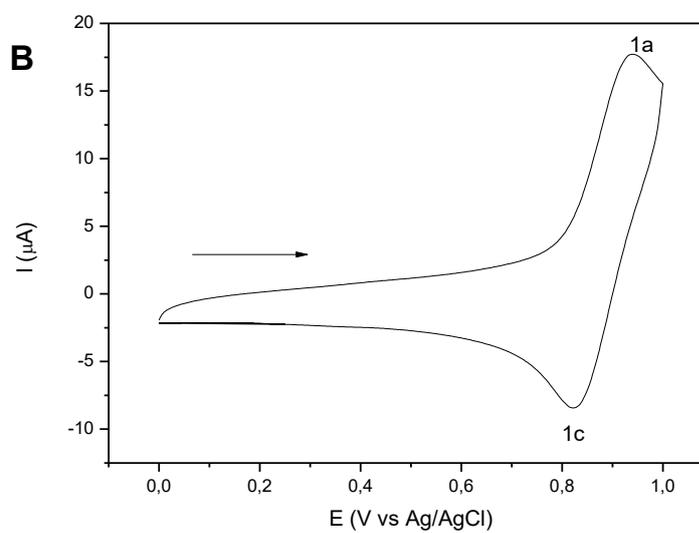
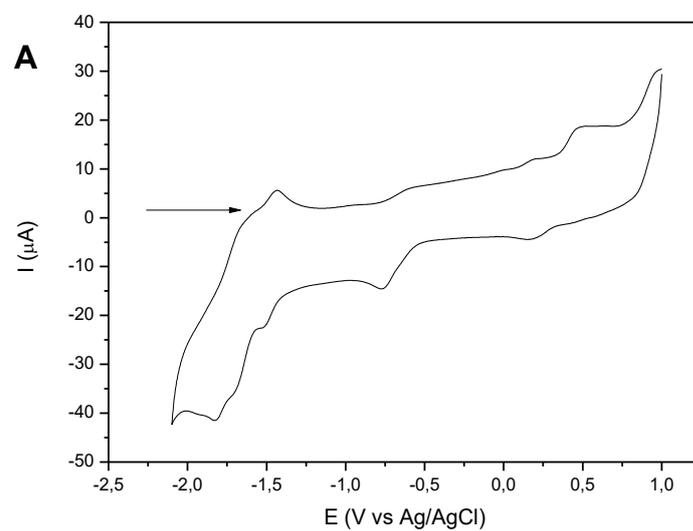
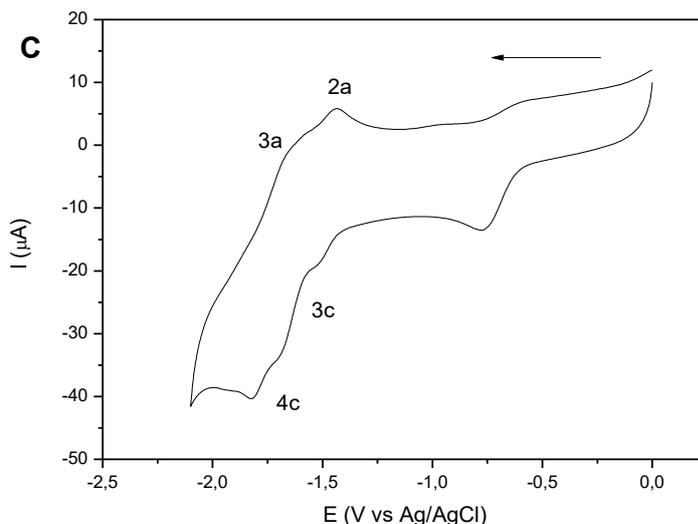
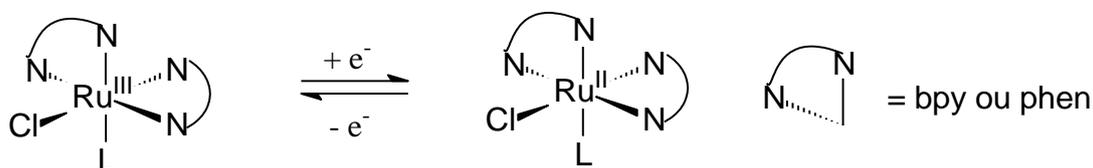


Figura 78. Voltamograma cíclico do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{phen})_2]^+$ ,  $9,4 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , em MeCN contendo perclorato de tetrabutilamônio ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ). Velocidade de varredura de  $100 \text{ mV s}^{-1}$ . Faixa de varredura:  $+1,0$  a  $-2,1 \text{ V}$  (A);  $0,0$  a  $+1,0 \text{ V}$  (B) e  $0,0$  a  $-2,1 \text{ V}$  (C). Eletrodo de trabalho de carbono vítreo.





Nota-se nas Figuras 70 a 78 um par de sinais em potencial positivo (1a/1c). Baseando-se no comportamento eletroquímico de compostos de formulação semelhantes (Callahan, Brown et al. 1975; Dodsworth and Lever 1986; Cruz, Kirgan et al. 2010), atribui-se o referido par de sinais a processos  $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$ , como ilustrado na equação Eq. 3.



Eq. 3

Fonte: Autoria própria

Comparando-se os potenciais de oxidação do metal, no complexo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{X-X})_2]\text{PF}_6$ , com o do complexo *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{X-X})_2]$ , Tabela 12, verifica-se que é mais difícil oxidar  $\text{Ru}^{\text{II}}$  no complexo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{X-X})_2]^+$ .

Uma vez que o cloreto atua apenas como  $\sigma$ -doador, frente ao  $\text{Ru}^{\text{II}}$ , ele contribui para que haja um aumento de densidade eletrônica sobre o metal, diferentemente do que ocorre com os ligantes L empregados, os quais atuam como  $\pi$ -receptor. Por conta disto, é mais fácil o metal doar elétrons no complexo *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{X-X})_2]$  do que no complexo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{X-X})_2]^+$ .

Tabela 12. Potenciais de oxidação e redução dos complexos de formulação  $cis-[RuCl(L)(X-X)_2]^+$  e  $cis-[RuCl_2(X-X)_2]$ , obtidos em MeCN/PTBA, vs Ag/AgCl. O potencial de meia onda do ferroceno é +0,50 V vs Ag/AgCl, em MeCN.

Complexos	1a/1c (V)	2a (V)	3a/3c (V)	4a/4c(V)
$cis-[RuCl_2(bpy)_2]$	+0,36/+0,28	-1,49	-1,73(3c)	-1,93/-1,82
$cis-[RuCl_2(phen)_2]$	+0,50/+0,43		-1,61/-1,70	
$cis-[RuCl(indz)(bpy)_2]^+$	+0,90/+0,82	-1,36	-1,66/-1,50	-1,75/-1,68
$cis-[RuCl(ain)(bpy)_2]^+$	+0,91/+0,82	-1,32	-1,49/-1,48	-1,68/-1,61
$cis-[RuCl(qui)(bpy)_2]^+$	+0,87/+0,79	-1,26	-1,40 (3c)	-1,70/-1,68
$cis-[RuCl(5-ain)(bpy)_2]^+$	+0,78/+0,69	-1,33	-1,55/-1,51	-1,80/-1,75
$cis-[RuCl(4-ain)(bpy)_2]^+$	+0,78/+0,70	-1,38	-1,60/-1,43	-1,92/-1,62
$cis-[RuCl(bzim)(bpy)_2]^+$	+0,76/+0,68	-1,43	-1,63/-1,43	-1,82/-1,60
$cis-[RuCl(COH-indz)(bpy)_2]^+$	+0,93/+0,86	-1,42	-1,57/-1,46	-1,96/-1,81
$cis-[RuCl(ain)(phen)_2]^+$	+0,93/+0,82		-1,34/-1,38	-1,59(4c)
$cis-[RuCl(indz)(phen)_2]^+$	+0,93/+0,85		-1,39/-1,41	-1,52/-1,68

Fonte: Autoria própria

Em analogia aos dados obtidos por Cruz (Cruz, Kirgan et al. 2010), e baseando-se no voltamograma cíclico da 2,2'-bipiridina (Figura 79) e 1,10-fenantrolina (Figura 80) livres, atribui-se os sinais em potenciais negativos a processos centrados em X-X, como expressos nas equações Eq. 4 e 5.

Com base nos dados de potenciais redox da bpy e da phen livres (Figuras 79 e 80) e coordenados (Figuras 70 a 78), verifica-se que os potenciais de redução da bpy e phen livres são mais negativos, quando comparado aos ligantes coordenados. Isto é indicativo de que tais ligantes livres são mais difíceis de serem reduzidos. Sendo assim, pode-se afirmar que Ru<sup>II</sup> atrai tanto nuvem eletrônica de X-X o suficiente para que seja mais fácil X-X coordenado ser reduzido (Eq. 4). Comportamento análogo pode ser proposto para X-X<sup>-</sup> a X-X<sup>2-</sup>, livre em relação a coordenado (Eq. 5).

Figura 79. Voltamograma cíclico de bpy em MeCN/PTBA (0,1 mol L<sup>-1</sup>). Velocidade de varredura de 100 mV s<sup>-1</sup> e eletrodo de trabalho de carbono vítreo.

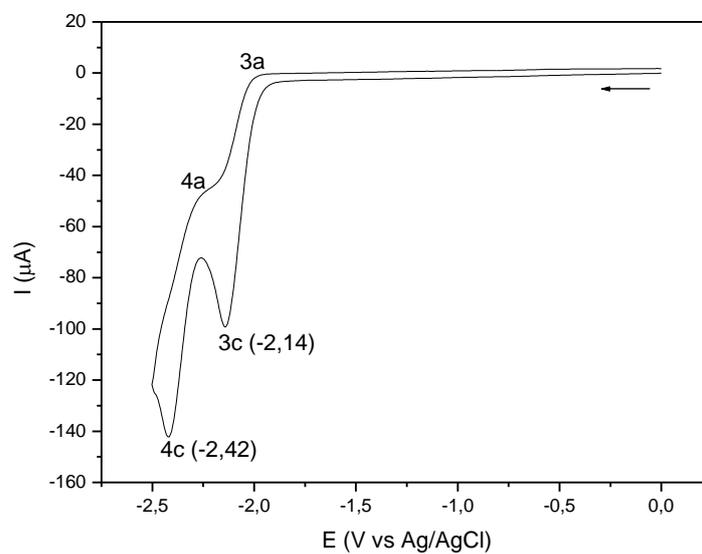
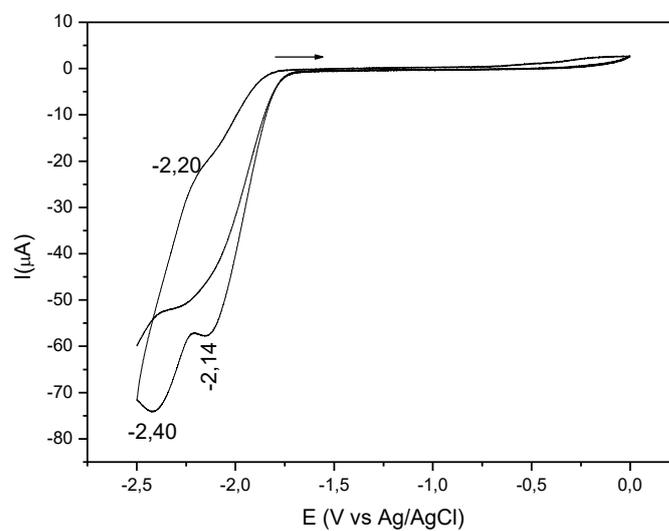
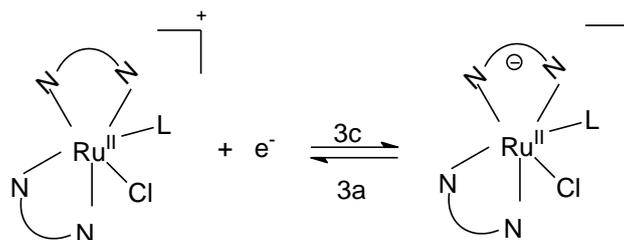
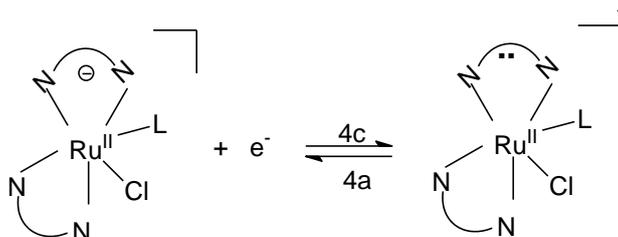


Figura 80. Voltamograma cíclico de phen em MeCN/PTBA (0,1 mol L<sup>-1</sup>). Velocidade de varredura de 100 mV s<sup>-1</sup> e eletrodo de trabalho de carbono vítreo.





Eq. 4



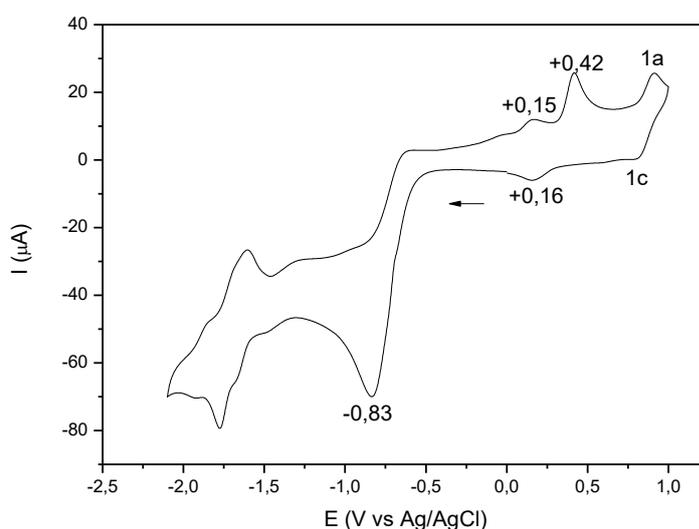
Eq. 5

Nos voltamogramas cíclicos dos complexos *cis*-[RuCl(COH-indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (Figura 73) e *cis*-[RuCl(indz)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (Figura 78), além de se observar os sinais citados anteriormente, há também outros entre +0,10 e 0,50 V, os quais não são observados ao se iniciar a varredura na faixa de 0,0 a +1,0 V vs Ag/AgCl. Estes dados experimentais indicam que os sinais apresentados no voltamograma cíclico do complexo *cis*-[RuCl(COH-indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (Figura 73) e *cis*-[RuCl(indz)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (Figura 78) na faixa de 0,0 a +0,5 V são dependentes dos processos que ocorrem entre -1,3 e -2,1 V. Vale salientar que no caso do complexo *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, quando se inverte o sentido da varredura na faixa de -2,1 a +1,0 V, verifica-se uma alteração no perfil da curva, como ilustrado na Figura 81. Este comportamento também é evidenciado no voltamograma dos outros complexos em análise, a depender do sentido da varredura e/ou do número de ciclos. Por conta disto, pode-se sugerir que os sinais apresentados entre 0,0 e +0,5 V são provenientes de reações químicas acopladas a processos que ocorrem em potenciais negativos. Estudos mais detalhados devem ser realizados para propor o mecanismo da reação de eletrodo.

De acordo com a literatura (Karthikeyan and Loganathan 2013), azaindóis e indazóis também apresentam propriedades adsorptivas. Sendo assim, as

alterações nos voltamogramas dos complexos  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{X-X})_2]^+$  podem ser decorrentes destas propriedades.

Figura 81. Voltamograma cíclico do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{bpy})_2]^+$  em MeCN/PTBA (0,1 mol L<sup>-1</sup>), velocidade de varredura de 100 mV s<sup>-1</sup>. Varredura: +1,0 a -2,1 e de -2,1 até 1,0 V vs Ag/AgCl.



DODSWORTH e LEVER, (Dodsworth and Lever 1986; Lever 2010) apresentaram a correlação entre as propriedades ópticas e eletroquímicas de complexos do tipo  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{L})(\text{A})(\text{bpy})_2]^{n+}$ . Um exemplo disto se refere à relação entre a energia da banda de transferência de carga com potenciais de oxidação e/ou redução do metal, como também a relação da referida energia da banda com a diferença entre os potenciais de oxidação do metal e de redução do ligante coordenado.

Vale salientar que a correlação entre as propriedades ópticas e as eletroquímicas são lineares quando os efeitos de alterações das configurações das espécies envolvidas no processo, bem como a solvatação das mesmas, não influenciam de modo significativo no valor destas propriedades (Dodsworth and Lever 1986). Com base nestas informações e na Tabela 13, traçou-se uma curva da energia da banda de TCML do Ru(II) para preferencialmente a bipyridina (de maior comprimento de onda) *versus* potencial de oxidação do metal tanto nos

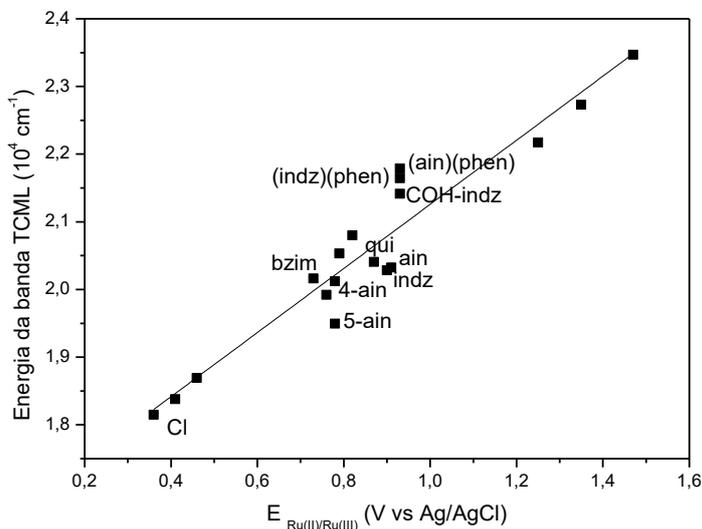
complexos em análise como em alguns descritos na literatura (Dodsworth and Lever 1986), Figura 82.

Tabela 13. Potenciais de oxidação do metal em complexos do tipo  $cis$ -[Ru(L)(A)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>n+</sup> vs Ag/AgCl ( $E_{(Ru^{III} \rightarrow Ru^{II})}$ ) e energia da banda de transferência de carga do Ru(II) para a bipyridina ( $E_{op}(TCML)$ ).

Complexo	$E_{(Ru^{II} \rightarrow Ru^{III})}/V$ vs Ag/AgCl	$E_{op}(TCML)/cm^{-1}$
<b><i>cis</i>-[RuCl<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>]</b>	<b>0,36</b>	<b>18149*</b>
<i>cis</i> -[Ru(trz) <sub>2</sub> (bpy) <sub>2</sub> ]	0,41	18380
<i>cis</i> -[RuCl(NCS)(bpy) <sub>2</sub> ]	0,46	18690
<i>cis</i> -[Ru(H <sub>2</sub> O) <sub>2</sub> (bpy) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	0,59	20830
<i>cis</i> -[RuCl(py)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	0,73	20160
<b><i>cis</i>-[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup></b>	<b>0,76</b>	<b>19920*</b>
<b><i>cis</i>-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup></b>	<b>0,78</b>	<b>19493*</b>
<b><i>cis</i>-[RuCl(4-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup></b>	<b>0,78</b>	<b>20121*</b>
<i>cis</i> -[RuCl(4,4'-bpy)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	0,79	20530
<i>cis</i> -[RuCl(MeCN)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>+</sup>	0,82	20800
<b><i>cis</i>-[RuCl(qui)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup></b>	<b>0,87</b>	<b>20408*</b>
<b><i>cis</i>-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup></b>	<b>0,90</b>	<b>20284*</b>
<b><i>cis</i>-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup></b>	<b>0,91</b>	<b>20325*</b>
<b><i>cis</i>-[RuCl(ain)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup></b>	<b>0,93</b>	<b>21413*</b>
<b><i>cis</i>-[RuCl(indz)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup></b>	<b>0,93</b>	<b>21645*</b>
<b><i>cis</i>-[RuCl(COH-indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup></b>	<b>0,93</b>	<b>21786*</b>
<i>cis</i> -[Ru(bpy) <sub>3</sub> ] <sup>2+</sup>	1,25	22170
<i>cis</i> -[Ru(MeCN)(py)(bpy) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	1,35	22730
<i>cis</i> -[Ru(MeCN) <sub>2</sub> (bpy) <sub>2</sub> ] <sup>2+</sup>	1,47	23470

\* **Complexos sintetizados neste trabalho**

Figura 82. Curva de energia da banda de transferência de carga (TCML) em função do potencial de oxidação do metal, em  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{L})(\text{A})(\text{bpy})_2]^{n+}$ .  $R^2 = 0,9096$  e a equação da reta é:  $E_{\text{op}} = 1,65 \cdot 10^4 E_{\text{Ru(II)/Ru(III)}} + 4736$ .



É possível observar na Figura 82 que, quanto maior o potencial de oxidação do metal, maior a energia da banda de transferência de carga do metal para o ligante, ou seja, maior a diferença de energia entre os orbitais envolvidos na TCML, indicativo de que existe uma correlação linear entre a energia da banda de TCML com o potencial de oxidação do Ru(II). Isto porque, quanto maior o caráter aceptor de nuvem eletrônica de L menor é a capacidade do Ru(II) retrodoar nuvem eletrônica para bpy. Sendo assim, menor é o comprimento de onda associada à transição e, portanto, maior a energia da banda de transferência de carga.

Uma vez que é mais difícil o metal ser oxidado em  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  e  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{indz})(\text{bpy})_2]^+$  do que nos complexos em que L = qui, bzim, 4-ain ou 5-ain, é possível sugerir que ain e indz são  $\pi$ -receptores mais fortes quando comparado a bzim, 5-ain, 4-ain, frente à Ru(II). Esta proposta também foi evidenciada pela diferença de deslocamento químico do hidrogênio da bipyridina, particularmente com relação ao H(6'A) nos complexos em análise. Tomando como base tais resultados, pode-se inferir também que o caráter  $\pi$ -receptor da fenantrolina, frente ao Ru(II), é tão maior que o da bpy, o que torna mais difícil a

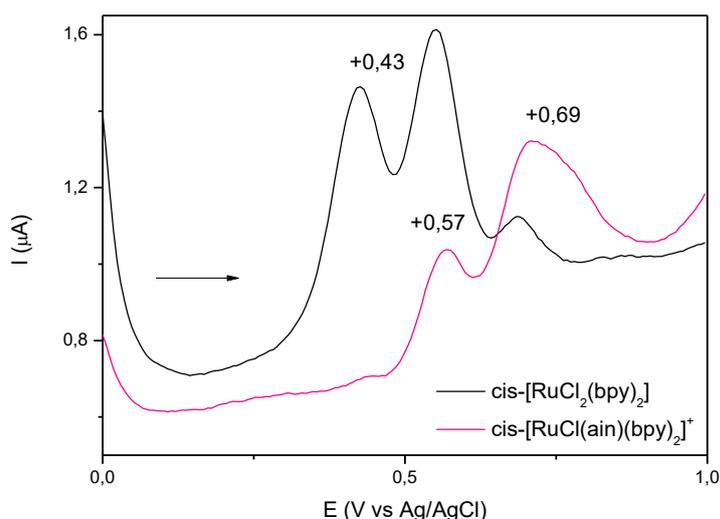
oxidação do metal em  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{phen})_2]^+$  e, portanto, maior a energia da TCML.

Vale salientar que na curva apresentada na Figura 82, alguns complexos, a exemplo do  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{COH-indz})(\text{bpy})_2]^+$  e do  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{Cl})(\text{qui})(\text{bpy})_2]^+$ , desviam significativamente da tendência de linearidade. Isto é um indicativo de que no caso desses dois complexos tanto a solvatação como o arranjo espacial dos complexos influenciam de modo significativo nas propriedades ópticas e eletroquímicas.

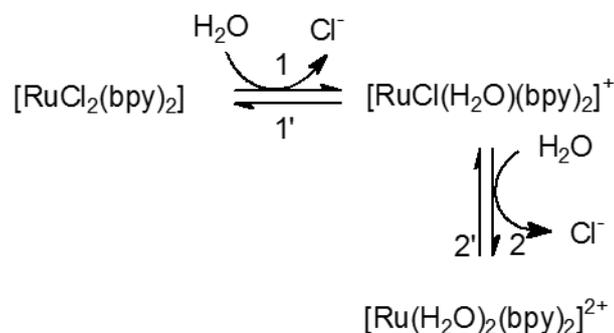
#### 4.3.2. Reatividade eletroquímica dos complexos de formulação $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]^+$ em meio aquoso

Uma vez que a possível atuação dos complexos de formulação  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]\text{PF}_6$  como fármacos deve ocorrer em meio aquoso, registrou-se o voltamograma de pulso diferencial (VPD) do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  e do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$  em solução aquosa de HCl/KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 1, na faixa de varredura de 0,0 a  $+1,0 \text{ V}$  vs Ag/AgCl, cujos dados estão apresentados na Figura 83.

Figura 83. Voltamogramas de pulso diferencial dos complexos  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  e  $cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$  em solução aquosa HCl/KCl ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ). Curva anódica,  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ .



Observa-se na Figura 83 que no voltamograma de pulso diferencial do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$ , em meio aquoso ácido, apresenta mais sinais na faixa de 0 a 1,0 V vs Ag/AgCl, em relação ao que se observa no voltamograma do referido complexo em acetonitrila (Figura 70). Há dois sinais anódicos em potenciais positivos (+0,57 e +0,69 V, Figura 83), os quais também são destacados no VPD do precursor  $cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$  (Figura 83). Segundo SULLIVAN (Sullivan, Salmon et al. 1978), o complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$  reage lentamente com a água, de modo que há reação de substituição, como expresso no Esquema 2.

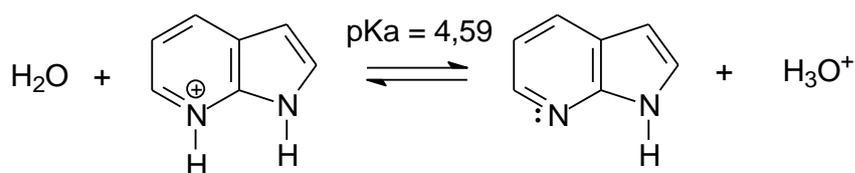


Esquema 2. Representação dos processos de substituição que ocorrem no diclorobisbipiridinarutênio(II) em meio aquoso ácido, pH 1. Fonte: Autoria própria.

Ainda segundo SULLIVAN (Sullivan, Salmon et al. 1978) e MOYER e MEYER (Moyer and Meyer 1979), o processo de redução  $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$  no diclorocomplexo é em +0,59 V vs Ag/AgCl, já no caso do cloroaqua é em +0,40 V vs Ag/AgCl e no diaqua em +0,70 V vs Ag/AgCl, em todos os casos os complexos se apresentam em meio aquoso ácido (HCl/KCl). Estes potenciais são consistentes com os sinais apresentados no voltamograma do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$  (Figura 83).

Diante do Esquema 2 e da diferença de perfil de voltamograma do  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  em meio orgânico (Figura 70) e em meio aquoso (Figura 83) propõe-se que o referido complexo também participa de reação de substituição por água. Como na solução do complexo em análise há uma concentração relativamente alta de íons cloreto ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ), espera-se que seja mais difícil substituir o íon  $\text{Cl}^-$  da esfera de coordenação do Ru(II) do que substituir o ligante

7-azaindol. Um outro fator que sustenta essa proposta é o fato de que em pH menor que 4,59, uma maior concentração de 7-azaindol livre apresenta-se na forma protonada, como ilustrado na Eq. 6, já que o pKa do 7-azaindol protonado é 4,59 (Hidalgo, Muñoz et al. 1990). Sendo assim, existe a possibilidade do 7-azaindol coordenado ser protonado e substituído pela molécula do solvente e/ou íon cloreto, uma vez que o pH da solução do eletrólito foi 1,0.



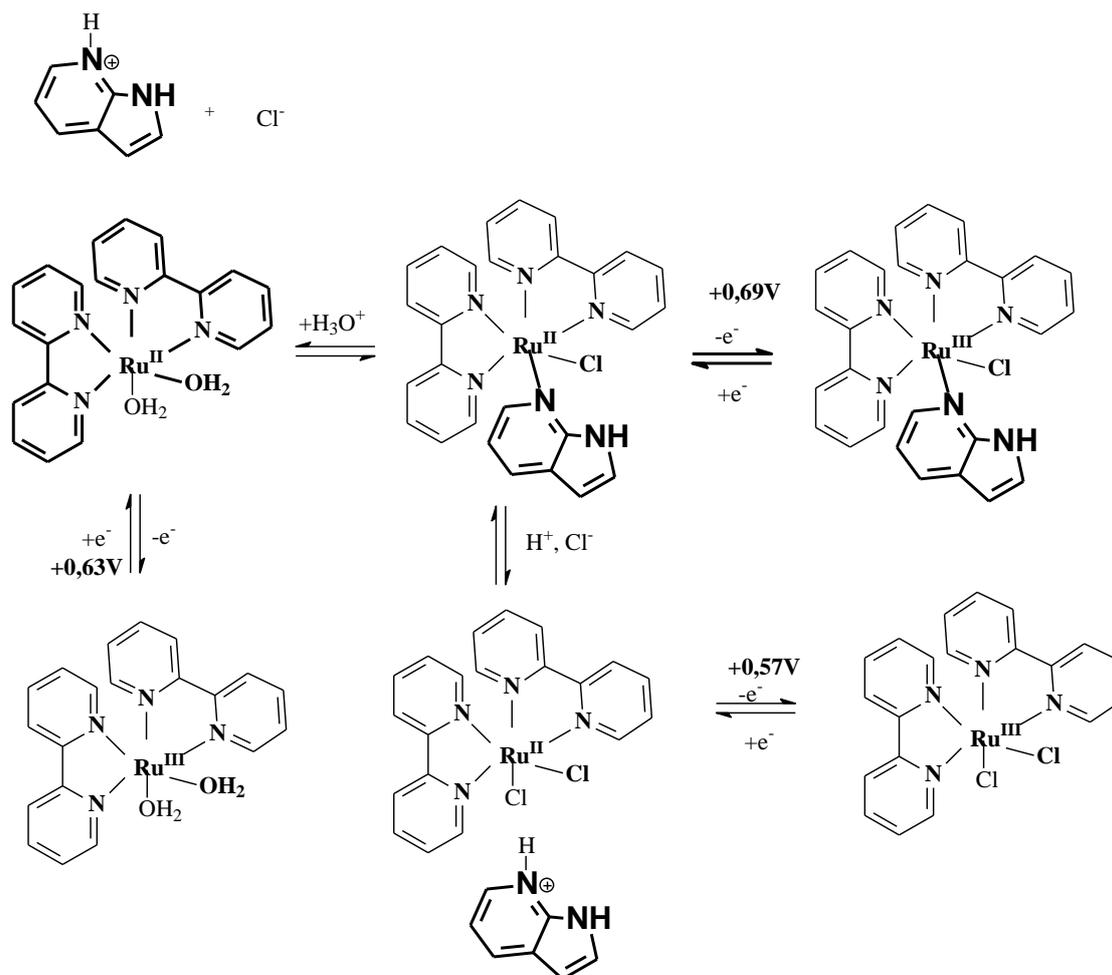
Eq. 6

Fonte: Autoria própria

Em analogia aos sinais apresentados no voltamograma do complexo *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>] (Figura 83), atribui-se o sinal apresentado em +0,57 V, no voltamograma do complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (Figura 83), o processo Ru(II)/Ru(III) no *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>]. Já o sinal apresentado em +0,69 V pode ser associado a Ru(II)/Ru(III) no *cis*-[Ru(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> e/ou *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

A proposta de oxidação do metal em *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> e *cis*-[Ru(H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> Figura 83, é baseada na largura do sinal em +0,69 V.

O Esquema 3 ilustra o mecanismo da reação de oxirredução do *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> na superfície do eletrodo de trabalho, em HCl/KCl pH 1.



Esquema 3. Mecanismo da reação de oxirredução do *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, na superfície do eletrodo de trabalho, em solução de HCl/KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>.

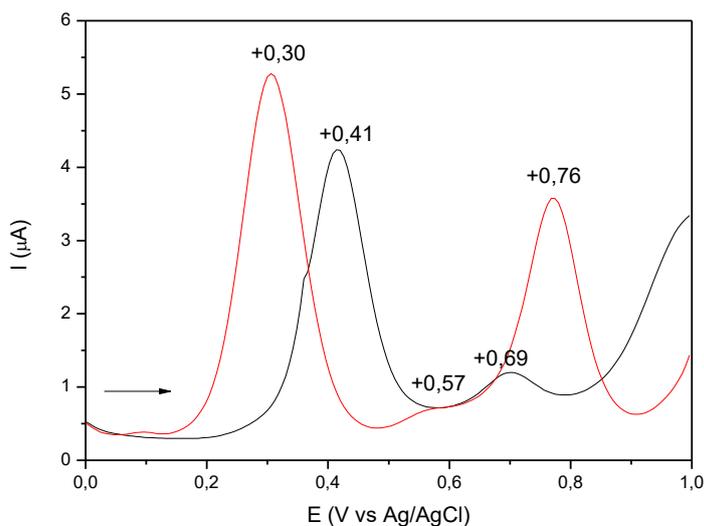
Fonte: Autoria própria

Com o objetivo de avaliar a influência do pH e do íon cloreto no mecanismo da reação na superfície do eletrodo de trabalho, registrou-se o voltamograma de *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> e do *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>] em solução tampão fosfato, pH 7,4, condição em que são realizados os estudos biológicos, cujos dados estão apresentados na Figura 84.

No VPD do complexo *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>], Figura 84, observa-se três sinais (+0,30, +0,57 e +0,76V), os quais, tal como discutido anteriormente, são associados a processos Ru<sup>III</sup>/Ru<sup>II</sup>, das espécies [RuCl(H<sub>2</sub>O)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (+0,30V); [RuCl<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>] (+0,57 V) e [Ru(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> (+0,76 V) (Sullivan, Salmon et al. 1978; Moyer and Meyer 1981). É possível observar também na Figura 84, curva

em vermelho, que a intensidade do sinal associado ao dicloro é menor que o associado ao aqua (comportamento diferente do observado na Figura 82), fato este que ratifica a influência do  $\text{Cl}^-$  na tendência do dicloro ser convertido em aquacomplexos. Todavia, no VPD do complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  destaca-se um sinal em +0,41 V e outro em +0,69 V (Figura 84). Nota-se que o sinal em potencial menos positivo não é observado para o cloroaquacomplexo. Diante disto pode-se sugerir que o processo que ocorre em +0,41V não envolve a mesma espécie do processo em +0,30 V. Tal sinal pode estar associado ao processo  $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$  no  $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{ain})(\text{bpy})_2]^{2+}$ .

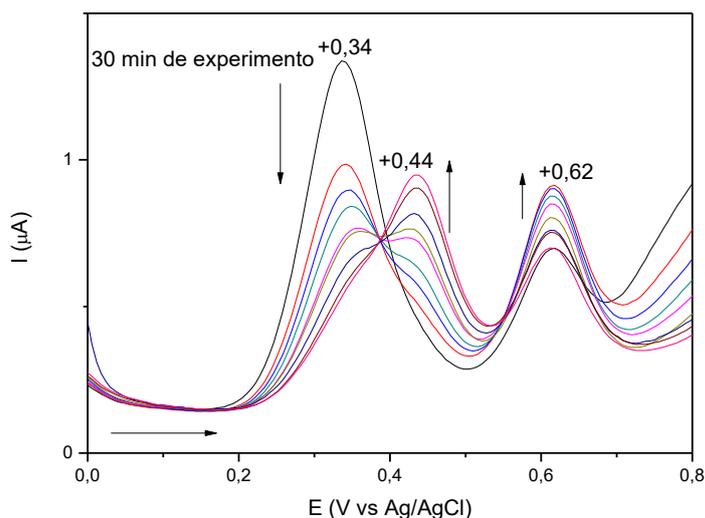
Figura 84. Voltamograma de pulso diferencial do  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  (curva preta) e do  $\text{cis-}[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$  (curva vermelha) em solução tampão fosfato pH = 7,4. Velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ .



A proposta de formação do  $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{ain})(\text{bpy})_2]^{2+}$  também foi sustentada pela evidência de formação do complexo diaqua, obtido após adição do complexo  $[\text{RuCO}_3(\text{bpy})_2]$  em solução ácida e posterior adição do 7-azaindol. Isto porque, nota-se no VPD o surgimento de um sinal em +0,44 V (Figura 85), tal como observado no VPD do  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$ , em solução tampão fosfato (Figura 84). Ainda na Figura 85, observa-se que o sinal em +0,44 V vai

aumentando de intensidade a medida que a intensidade do sinal em +0,34 V diminui.

Figura 85. Voltamogramas de pulso diferencial da mistura  $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{bpy})_2]^{2+}$ , obtido a partir da reação do  $[\text{RuCO}_3(\text{bpy})_2]$  com  $\text{CH}_3\text{COOH}$  e posterior neutralização do meio com  $\text{NaCO}_3$ , e 7-azaindol, em solução tampão fosfato pH 7,4. Velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ . Curvas sucessivas do diaquocomplexo na presença do 7-azaindol.



Estas alterações no perfil do voltamograma são explicadas pelo fato de que, baseando-se na literatura, (Cruz, Kirgan et al. 2010), a adição do complexo  $[\text{RuCO}_3(\text{bpy})_2]$  em solução aquosa ácida gera o complexo  $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{bpy})_2]^{2+}$ ,  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$ , tal como expresso na Eq. 7. Entretanto, como a espécie responsável por tornar o meio ácido é o ácido acético, pode-se obter também  $[\text{Ru}(\text{CH}_3\text{COO})_2(\text{bpy})_2]$ , espécie possivelmente responsável pelo surgimento do sinal em +0,34 V (Figura 85). Diante disto e baseando-se na literatura (Johnson, Sullivan et al. 1978; Cruz, Kirgan et al. 2010), pode-se propor que há substituição do íon acetato do complexo  $[\text{Ru}(\text{CH}_3\text{COO})_2(\text{bpy})_2]$  pela molécula de água, formando o complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{ain})(\text{bpy})_2]^{2+}$ . Já o sinal em +0,66 V é associado à oxidação do metal no complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{bpy})_2]^{2+}$ .

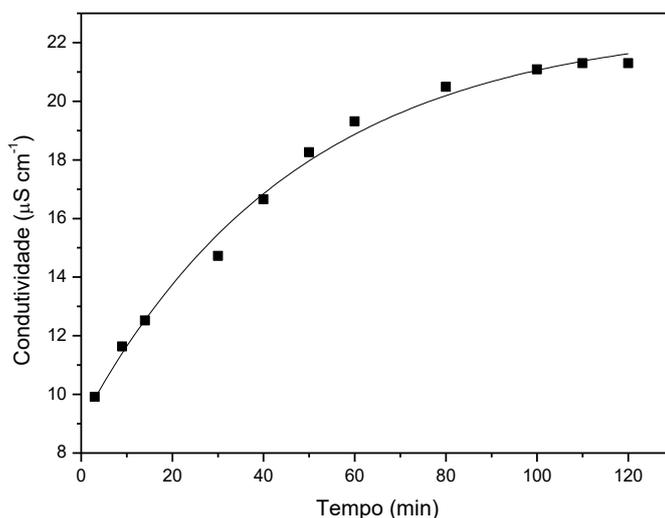


Eq. 7

Fonte: Autoria própria

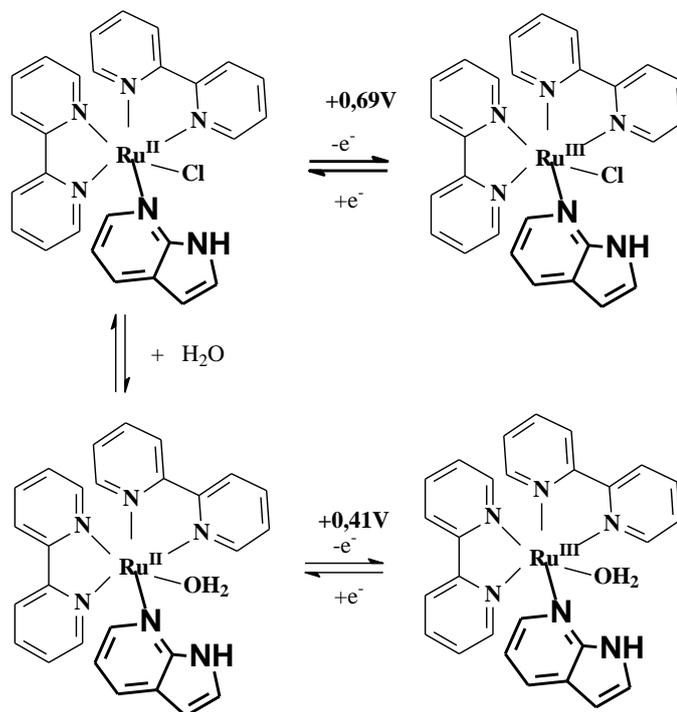
A formação do complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{ain})(\text{bpy})_2]^{2+}$  também é sustentada no fato de que, ao adicionar complexo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]\text{PF}_6$ , previamente dissolvido em dimetilformamida, em água isenta de íons cloreto, verifica-se que a condutividade elétrica da solução aumenta com o aumento do tempo que o composto permanece em solução, Figura 86. Este fato é coerente com o aumento da concentração de íons no meio. Neste caso, a única possibilidade de aumentar a concentração de íons é pela substituição do  $\text{Cl}^-$ , da esfera do Ru(II), pela molécula do solvente. Portanto, estes dados também sustentam a formação do *cis*- $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{ain})(\text{bpy})_2]^{2+}$ .

Figura 86. Curva de condutividade do complexo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$ , previamente dissolvido em DMF, em água em função do tempo. Equação: Condutividade =  $-13,67044^{(-\text{tempo}/47,0234)} + 22,687$  e o coeficiente de correlação é 0,99206.



Diante do que foi discutido, foi proposto o mecanismo da reação do complexo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  na superfície do eletrodo de trabalho, em solução tampão fosfato, pH 7,4, Esquema 4.

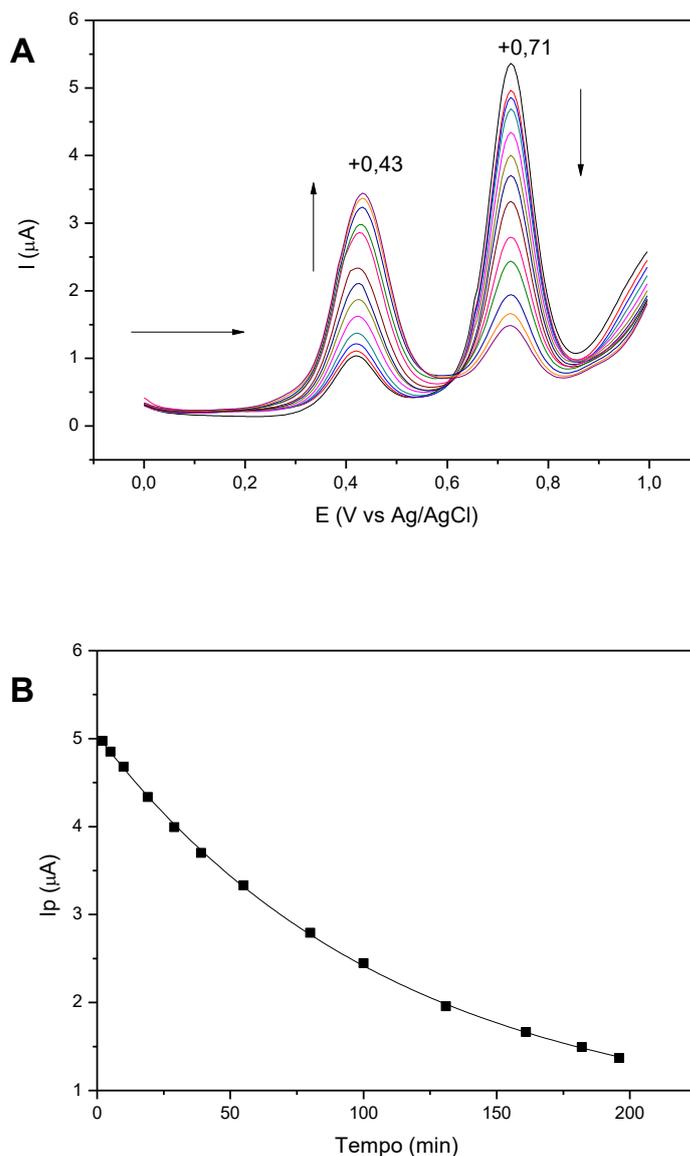
Esquema 4. Mecanismo da reação de oxirredução do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$ , na superfície do eletrodo de trabalho, em solução tampão fosfato pH 7,4.



Apesar da proposta de reação do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  em meio aquoso, apenas uma pequena fração dissolve e reage diretamente neste meio. Por conta disto e sabendo que os estudos em meio biológicos são realizados em uma mistura de solvente orgânico (10%)/solução aquosa, registrou-se o voltamograma do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  na mistura DMF/ tampão fosfato pH 7,4, cuja curva está apresentada na Figura 87.

Observa-se na Figura 87 que a intensidade dos sinais destacados no voltamograma do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  na mistura DMF/Tampão fosfato (Figura 86), inicialmente, é diferente daquele apresentado no VPD do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  somente em tampão fosfato (Figura 84). O sinal em  $+0,71\text{V}$ , associado a  $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$  no complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$ , é mais intenso que aquele apresentado em  $+0,43\text{V}$ . Estes dados indicam que na mistura DMF/tampão, a concentração de  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  é mais alta que na situação em que o complexo é adicionado apenas na solução tampão fosfato.

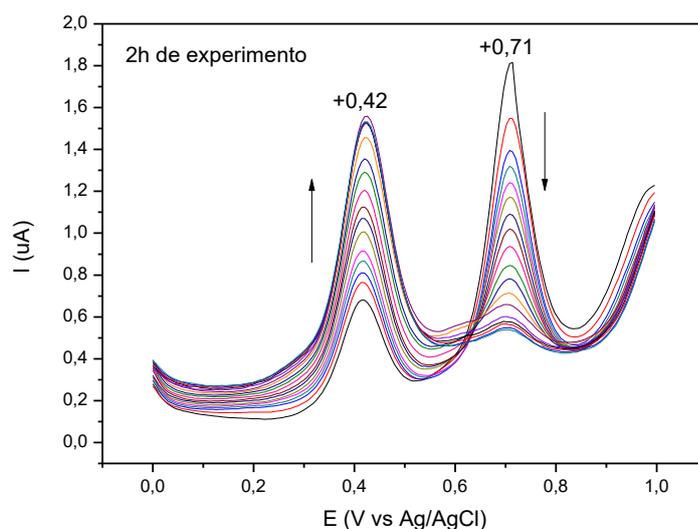
Figura 87. (A) Voltamograma de pulso diferencial do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  em DMF (10%) e solução tampão fosfato pH = 7,4. Velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa. (B) Curva de corrente associada à oxidação do centro metálico no complexo  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{ain})(\text{bpy})_2]^{2+}$  (+0,71 V) em função do tempo.



Entretanto, com o passar do tempo a intensidade do sinal em +0,71 V diminui significativamente (Figura 87-B) com concomitante aumento da intensidade do sinal em +0,43V. Isto sustenta a proposta de que um dos ligantes da esfera do metal, neste caso  $\text{Cl}^-$ , pode estar sendo substituído pela molécula de água, daí a interconversão de  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  em

$[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{ain})(\text{bpy})_2]^{2+}$ . O mesmo comportamento é observado quando o complexo é previamente dissolvido em metanol e posteriormente adicionado na solução tampão fosfato pH 7,4 (Figura 88).

Figura 88. Voltamograma de pulso diferencial do complexo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  metanol (10%) e solução tampão fosfato pH = 7,4. Velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa.



As alterações observadas no VPD do complexo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  em solução tampão fosfato/DMF também são observadas no voltamograma dos outros complexos estudados neste trabalho. Os dados de alguns destes estão apresentados nas Figuras 89 a 92.

Observa-se nas Figuras 89 a 92, um sinal ao redor de +0,40 V e outro entre 0,50 e 0,70 V, os quais, em analogia ao comportamento eletroquímico do complexo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$ , em solução tampão fosfato, foram atribuídos ao processo  $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$  nos complexos *cis*- $[\text{Ru}(\text{OH}_2)(\text{L})(\text{bpy})_2]^{2+}$  e *cis*- $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]^+$ , respectivamente.

Nas Figuras 91 e 92 também são destacados um sinal ao redor de +0,75 V, o qual, com base no VPD do precursor (Figura 84), *cis*- $[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$ , é associado ao processo  $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$  no complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{OH}_2)_2(\text{bpy})_2]^{2+}$ . Portanto, a

quinolina e o benzimidazol, bem como o íon cloreto, podem ser substituídos pela molécula de água na esfera de coordenação do  $\text{Ru}^{\text{II}}$  ou  $\text{Ru}^{\text{III}}$ .

Figura 89. (A) Voltamogramas de pulso diferencial do complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{5-ain})(\text{bpy})_2]^+$  dimetilformamida (10%) e solução tampão fosfato pH = 7,4. Velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa. (B) Curva de corrente (+0,63V) em função do tempo.

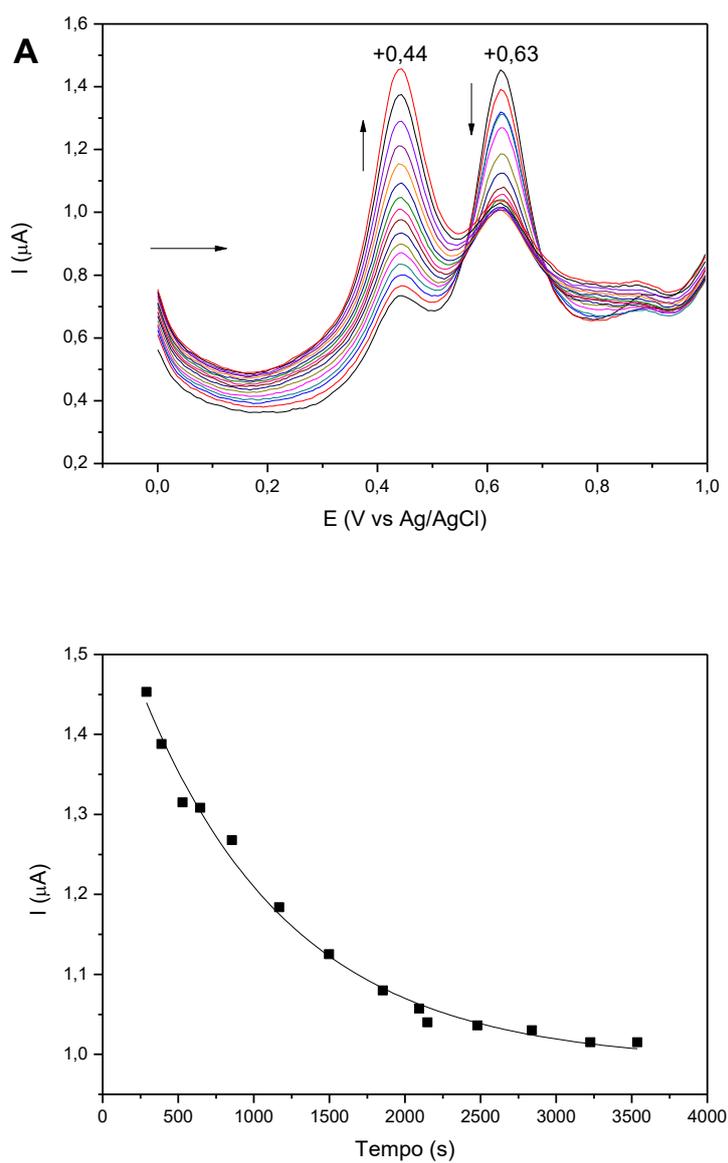


Figura 90. Voltamogramas de pulso diferencial do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{4-ain})(\text{bpy})_2]^+$  dimetilformamida (10%) e solução tampão fosfato pH = 7,4. Velocidade de varredura de  $10\text{ mV s}^{-1}$ , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa. (B) Curva de corrente (+0,64V) em função do tempo.

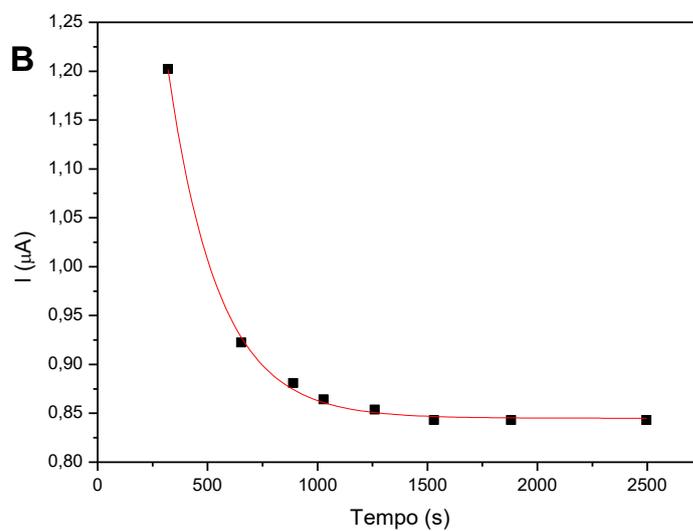
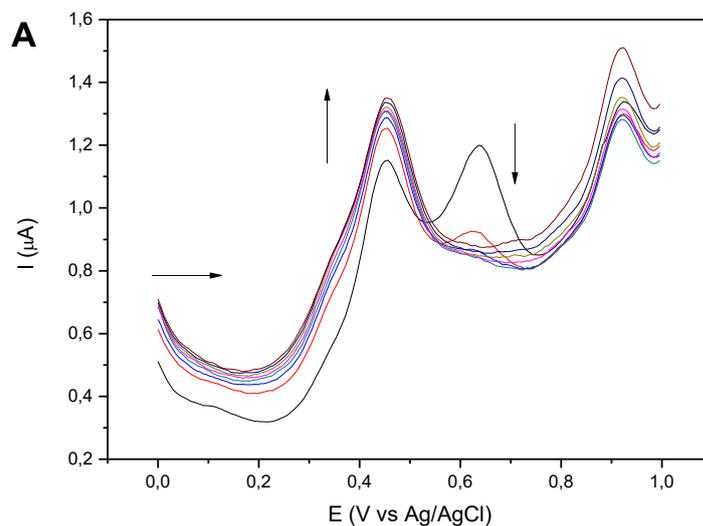


Figura 91. Voltamograma de pulso diferencial do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{qui})(\text{bpy})_2]^+$  dimetilformamida (10%) e solução tampão fosfato pH = 7,4. Velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa. (B) Curva de corrente (+0,46V) em função do tempo.

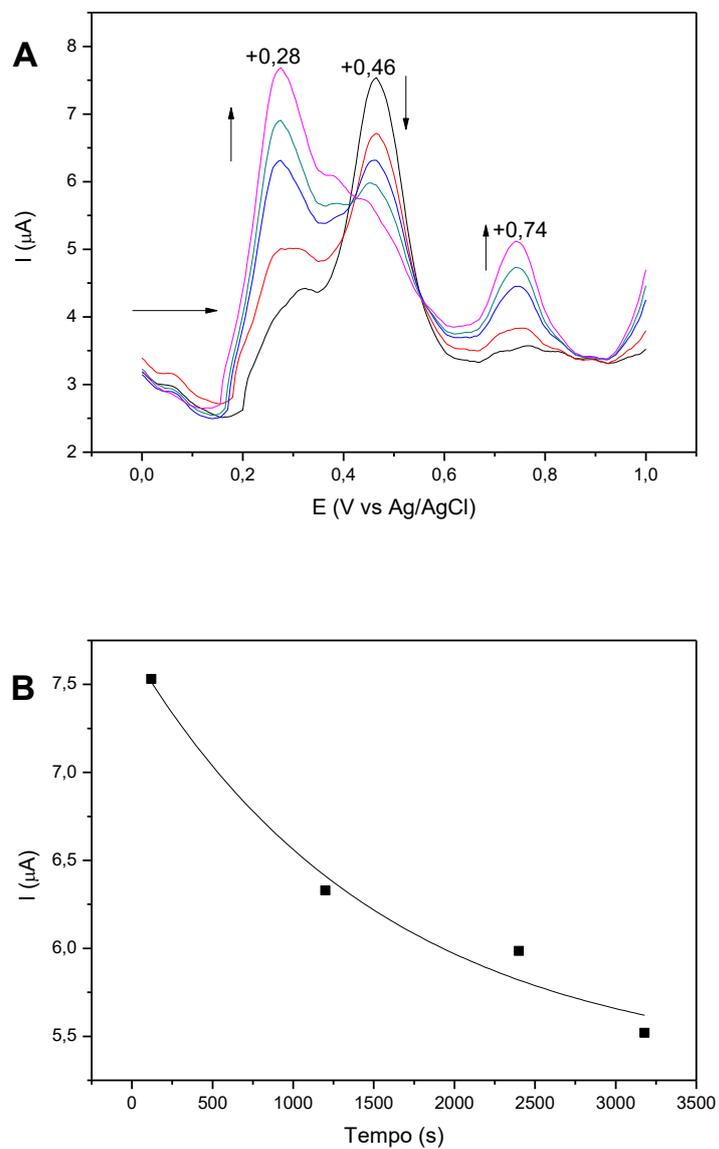
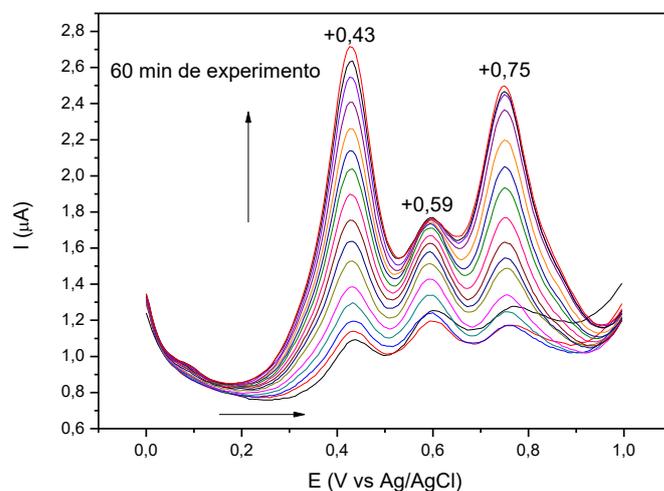


Figura 92. Voltamograma de pulso diferencial do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{bzim})(\text{bpy})_2]^+$  dimetilformamida (10%) e solução tampão fosfato pH = 7,4. Velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa.



Vale salientar que a substituição de L pela molécula de água pode ser facilitada com a oxidação do Ru(II) no  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]^+$  ou  $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{OH}_2)(\text{L})(\text{bpy})_2]^{2+}$ . Isto porque Ru(III) tem menor tendência em doar densidade eletrônica do que o Ru(II). Este fator contribui para a ligação Ru(III)-L ser mais fraca que Ru(II)-L e, portanto, maior facilidade de substituir L da esfera do metal no estado de oxidação +3. Uma vez que em solução aquosa os complexos contêm o metal como Ru(II), é possível que o processo citado anteriormente ocorra apenas na interface do eletrodo de trabalho com a solução do complexo.

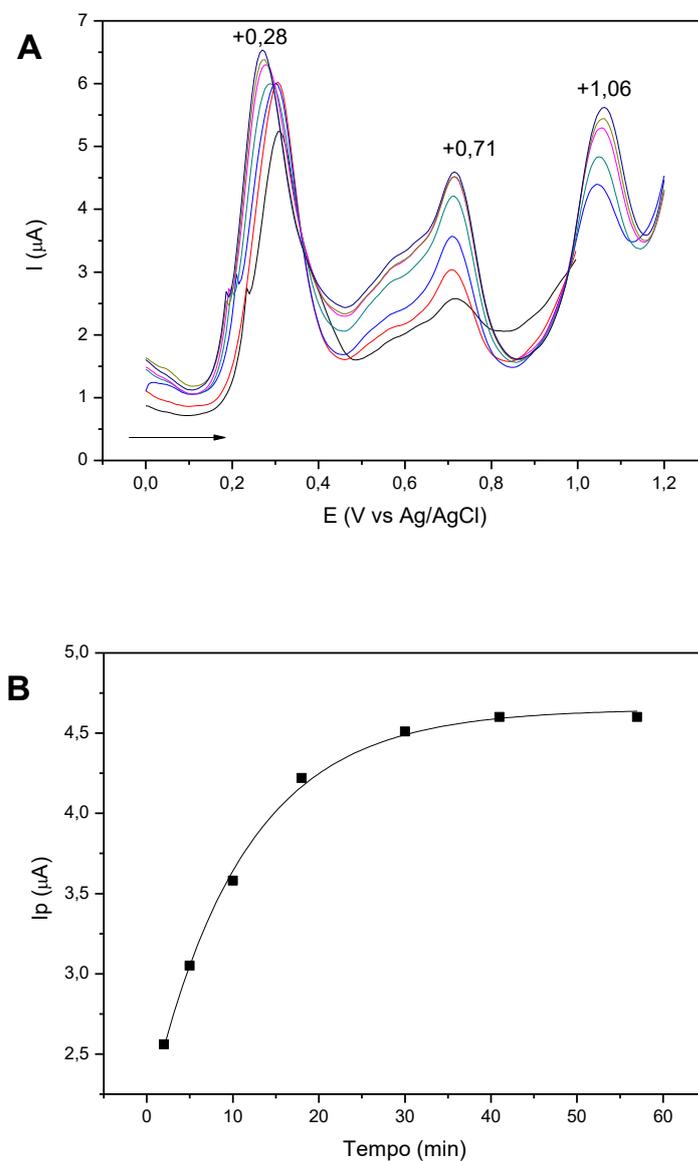
Na Figura 91, observa-se que há destaque de um sinal em +0,28 V, o qual também é destacado no voltamograma do precursor (Figura 93), sendo assim, pode associar o sinal a oxidação do metal no diclorocomplexo.

Por outro lado, nota-se na Figura 92 que todos os sinais aumentam de intensidade a medida que aumenta o tempo em que o complexo permanece em solução, isto indica há aumento da concentração das espécies eletroativas no meio.

Um outro aspecto relevante para ser mencionado é que nas Figuras 88 a 91 há destaque um sinal entre +0,75 e +1,0 V, o qual também é observado no

VPD do complexo *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>], Figura 93. Com base na literatura (Moyer and Meyer 1981; Takeuchi, Thompson et al. 1984; Llobet 1994), este sinal pode ser associado a Ru<sup>II</sup>/Ru<sup>III</sup> em alguma espécie contendo DMF.

Figura 93. Voltamograma de pulso diferencial do complexo *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>] em dimetilformamida (10%) e solução tampão fosfato pH = 7,4. Velocidade de varredura de 10 mV s<sup>-1</sup>, curvas sucessivas do complexo em solução aquosa. (B) Curva de corrente (+0,71V) em função do tempo.



Com o objetivo de avaliar a influência do íon cloreto na reatividade dos complexos, registou-se o VPD dos mesmos em KCl, Figuras 94 a 97.

Figura 94. Voltamograma de pulso diferencial do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  em dimetilformamida (10%) e solução de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>.  $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa.

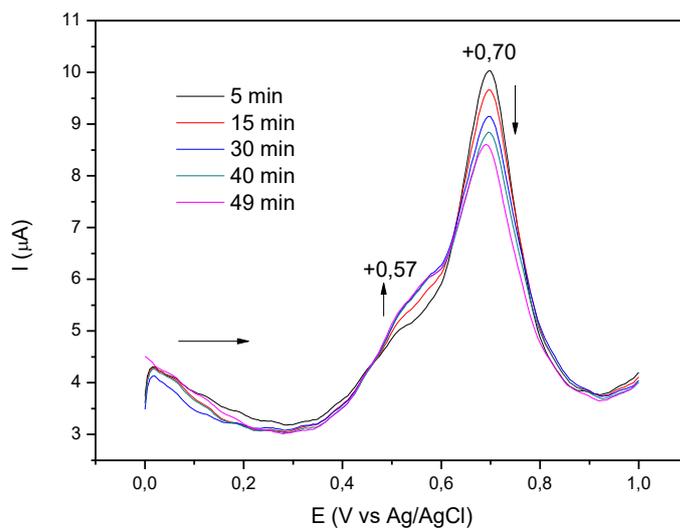


Figura 95. Voltamograma de pulso diferencial do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(5\text{-ain})(\text{bpy})_2]^+$  em dimetilformamida (10%) e solução de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>.  $v = 10 \text{ mV s}^{-1}$ , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa.

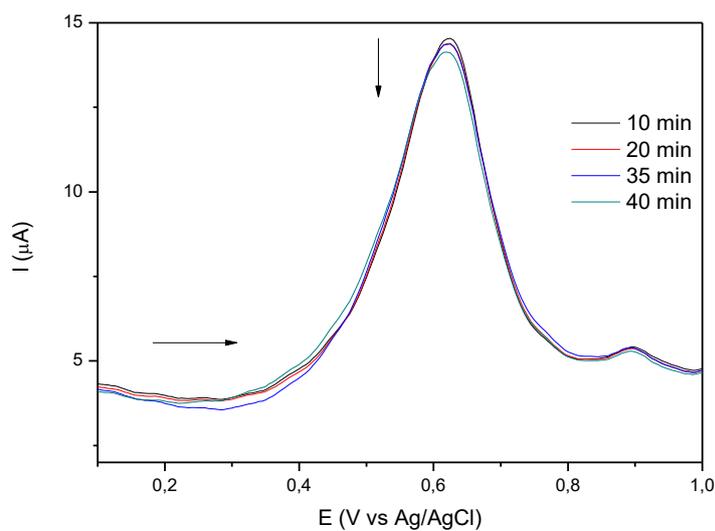


Figura 96. Voltamograma de pulso diferencial do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{bpy})_2]^+$  em dimetilformamida (10%) e solução de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .  $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$ , curvas sucessivas do complexo em solução aquosa.

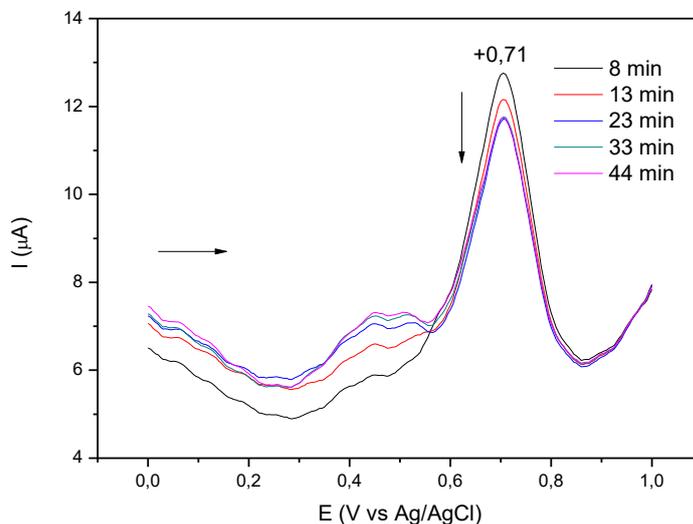
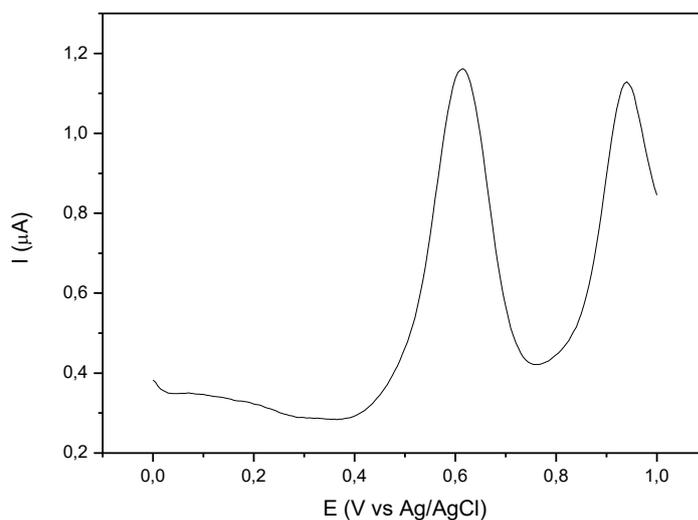


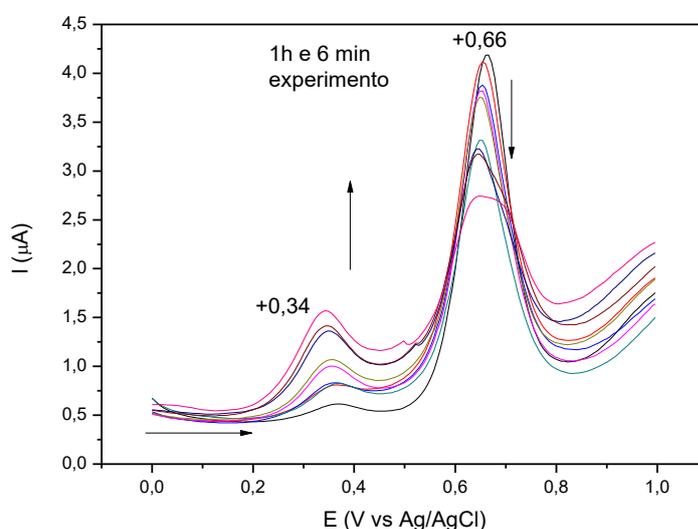
Figura 97. Voltamograma de pulso diferencial do  $cis\text{-}[\text{RuCl}(4\text{-ain})(\text{bpy})_2]^+$  em dimetilformamida (10%) e solução de KCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ .  $\nu = 10 \text{ mV s}^{-1}$ .



É possível observar nas Figuras 94 a 97 que o sinal que mais se destaca é aquele apresentado entre  $+0,60$  e  $+0,80$ , característico da oxidação do metal em  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]^+$ . Nota-se que apenas no caso dos complexos  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]^+$ , em que L é 7-azaindol ou indazol, observa-se um sinal ao redor de  $+0,57 \text{ V}$ , característico da oxidação do metal no diclorocomplexo.

Registrou-se também o voltamograma de pulso diferencial do *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, na condição similar em que são realizados os experimentos de vasodilatação (em solução H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NaCl, glutaciona e albumina sérica bovina (BSA)), cujos dados estão apresentados na Figura 98.

Figura 98. Voltamograma de pulso diferencial do complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, previamente dissolvido em DMF, em solução contendo 4 mmol L<sup>-1</sup> NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 100 mmol L<sup>-1</sup> NaCl, 25 mmol L<sup>-1</sup> NaHCO<sub>3</sub>, pH 7,4, 0,5 mmol L<sup>-1</sup> de albumina e 0,5 mmol L<sup>-1</sup> glutaciona. Curvas sucessivas do complexo em solução aquosa. Velocidade de varredura de 10 mV s<sup>-1</sup>.



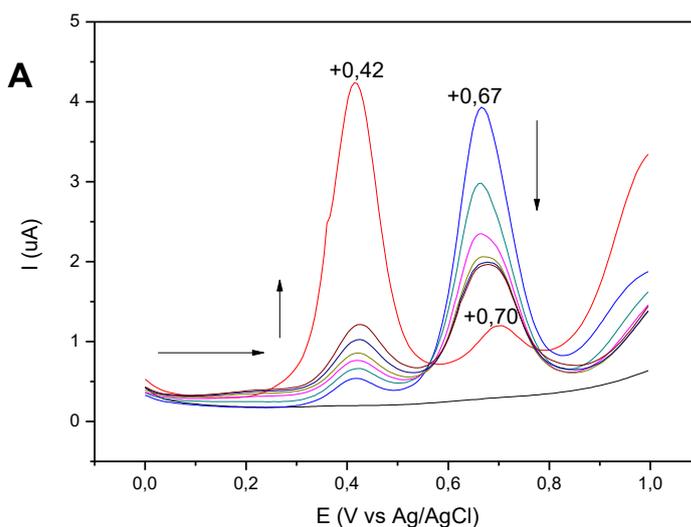
Diferentemente do que se observa no VPD do complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> em tampão fosfato, pH 7,4, Figura 84, verifica-se na Figura 98 que o sinal em +0,66 V é bem mais intenso do que aquele apresentando em potencial menos positivo. Além disto, nota-se com o tempo que o sinal em +0,66 V diminui de intensidade seguido de um aumento da intensidade do sinal em +0,34 V. Como discutido anteriormente, o sinal em potencial mais positivo pode ser associado a oxidação do metal no complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, já o sinal em +0,34 V pode ser associado ao processo Ru<sup>II</sup>/Ru<sup>III</sup> no complexo [RuCl(H<sub>2</sub>O)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

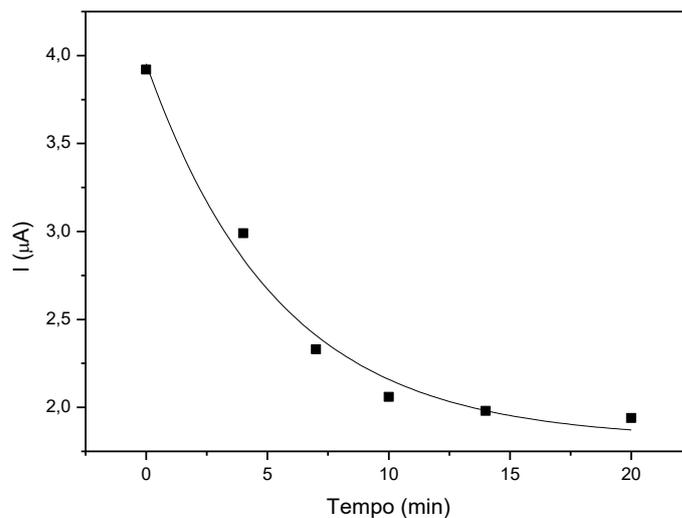
Verifica-se na Figura 98 que mesmo após 1h e 6 min que o complexo permanece em solução com glutaciona, BSA e Cl<sup>-</sup>, o perfil da curva é diferente

daquele apresentado quando em solução tampão fosfato, Figura 84. Isto indica que tanto glutatona quanto BSA devem contribuir para dificultar a reação de substituição do  $\text{Cl}^-$  por  $\text{H}_2\text{O}$ . A proposta de que glutatona também contribui desse modo é sustentado no acompanhamento da alteração nas curvas do voltamograma de pulso do complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  em solução do  $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HCO}_3^-$  e glutatona (Figura 99).

Assim como apresentado na Figura 98, na Figura 99 mostra que o sinal em potencial mais positivo (+0,70 V) é mais intenso que aquele apresentado em potencial menos positivo, comportamento diferente do apresentado no VPD do complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  em pH 7,4 (Figura 99, em vermelho). Portanto, estes dados mostram que a glutatona contribui para dificultar a reação de solvólise. Além disto, observa-se na Figura 99, que o sinal em potencial menos positivo se apresenta em +0,42 V, coerente com  $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$  em  $[\text{Ru}(\text{H}_2\text{O})(\text{ain})(\text{bpy})_2]^{2+}$ .

Figura 99. Voltamograma de pulso diferencial do complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  em solução glutatona ( $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ ),  $4 \text{ mmol L}^{-1} \text{ NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $25 \text{ mmol L}^{-1} \text{ NaHCO}_3$ , pH = 7,4 e apenas em solução tampão fosfato (curva em vermelho). (B) Curva de corrente (+0,67V) em função do tempo. Velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ .



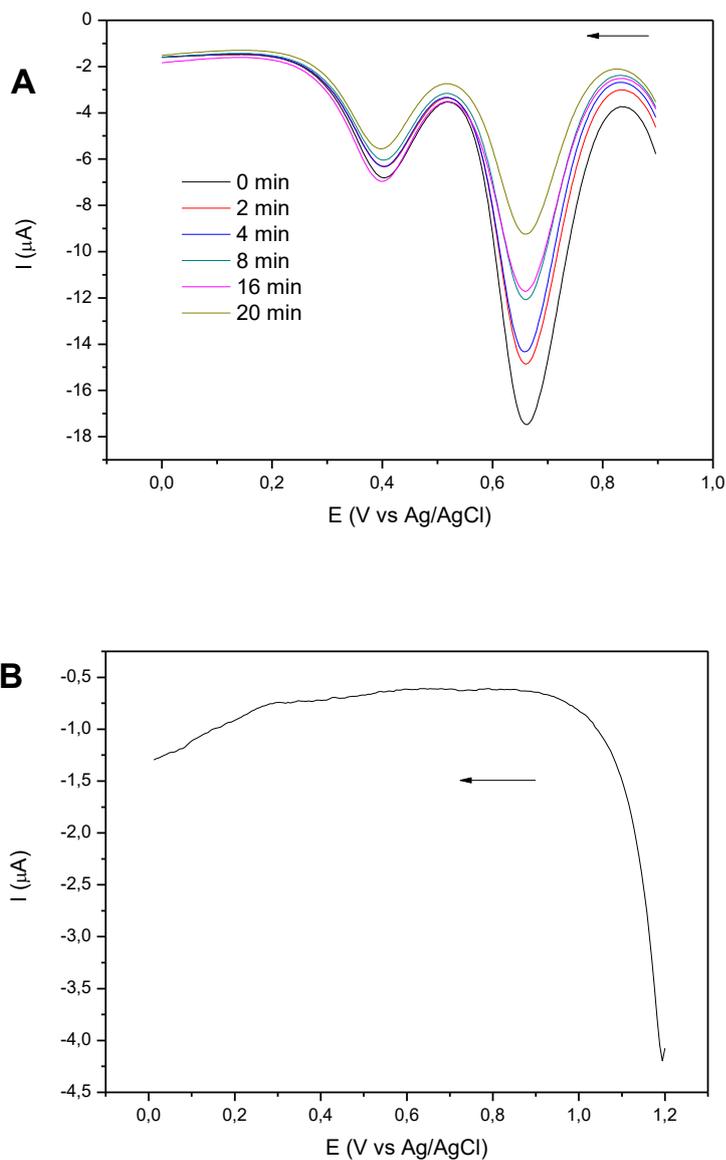


A partir dos dados apresentados nas Figuras 87, 97 e 98, verifica-se que a estabilidade de  $cis-[RuCl(ain)(bpy)_2]^+$  é maior quando em uma mistura de solvente com solução tampão fosfato, bem como na presença da glutatona e da albumina sérica.

#### 4.3.3. Reatividade dos complexos $cis-[RuCl(L)(X-X)_2]PF_6$ na presença da albumina sérica bovina (BSA)

As albuminas séricas são as principais proteínas solúveis do sistema circulatório. Estas proteínas atuam no transporte de compostos essenciais para o organismo, dentre os quais se destacam as vitaminas (Carter and Ho 1994). Uma vez que os complexos são pouco solúveis em água e sabendo-se que albuminas séricas têm a capacidade de transportar fármacos para diferentes regiões do organismo, avaliou-se a possibilidade da albumina sérica bovina interagir com os complexos, o que pode afetar sua biodisponibilidade, além disto, investigou-se a influência da referida proteína na capacidade dos complexos reagirem em meio aquoso. Para tanto, registrou-se voltamograma de pulso diferencial dos complexos na presença da BSA, como ilustrado na Figura 100.

Figura 100. (A) Voltamogramas de pulso diferencial de *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> (2 mg) em pasta de carbono ativo, imerso em solução tampão fosfato pH = 7,4 e BSA (65 μmol L<sup>-1</sup>). Curvas obtidas em diferentes tempos em que a pasta é mantida em solução (20 min tempo total). Velocidade de varredura de 10 mV s<sup>-1</sup>. (B) Voltamograma de pulso diferencial da solução do BSA sem complexo.



Observa-se na Figura 100-A que o VPD do complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> apresenta sinais associados aos complexos *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> e *cis*-[Ru(H<sub>2</sub>O)(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>, da mesma forma que o observado no VPD do complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> somente em solução tampão fosfato (Figura 84). Entretanto, a intensidade do sinal em +0,69 V,

quando o complexo está na presença de BSA é mais intenso que aquele apresentado em +0,41V e com o tempo o sinal em +0,69 V diminui enquanto o sinal em +0,41 V praticamente não varia. Isto evidencia que a concentração do clorocomplexo neste meio é maior que a do aquacomplexo (Figura 100-A) e que, portanto, a albumina dificulta a conversão do clorocomplexo no aquacomplexo. Vale salientar que no voltamograma do BSA, sem o complexo, Figura 100-B não há destaque de sinal entre 0,0 e +1,2 V, coerente com o fato de que BSA não é eletroativo na faixa de potencial em análise.

Nota-se também na Figura 100 que com o passar do tempo a intensidade dos sinais em +0,41 e +0,69 V diminui, indicativo que a concentração de *cis*-[Ru(OH<sub>2</sub>)(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> e *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, no eletrodo, diminuem. Sendo assim, pode-se sugerir que BSA está interagindo com tais complexos, diminuindo a concentração de espécies eletroativas na faixa de potencial em análise. Por outro lado, como a cor da solução vai mudando de incolor para amarelo, é possível sugerir também que o complexo, inicialmente na pasta, vai para solução. Daí o destaque do sinal associado a oxidação do metal no aquacomplexo.

A proposta de que BSA interage com o aquacomplexo também é sustentada no fato de que, ao adicionar o complexo em solução tampão, inicialmente observa-se que o sinal associado ao aquacomplexo é mais intenso que do clorocomplexo; com a adição de BSA no meio, a intensidade da onda associada ao aquacomplexo (+0,41 V) diminui de intensidade, como ilustrado na Figura 101.

Outros complexos estudados neste trabalho também são capazes de interagir com a proteína BSA, como observado nas Figuras 102 a 104. A diminuição da intensidade das correntes (Figuras 102 a 104) indica que os complexos *cis*-[RuCl(qui)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, *cis*-[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, *cis*-[RuCl(4-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, *cis*-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> e *cis*-[RuCl(ain)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> interagem com a albumina sérica bovina. Como esta proteína é a que apresenta homologia com a albumina sérica humana (Carter and Ho 1994), pode-se sugerir que a interação contribui para aumentar a biodisponibilidade do fármaco no sangue.

Figura 101. Voltamogramas de pulso diferencial do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  ( $2,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) em solução tampão fosfato pH = 7,4 e BSA ( $65 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Curvas obtidas em diferentes tempos. Eletrodo de pasta de carbono. Velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ . (A) Solução do complexo com BSA; (B) Solução do complexo sem BSA.

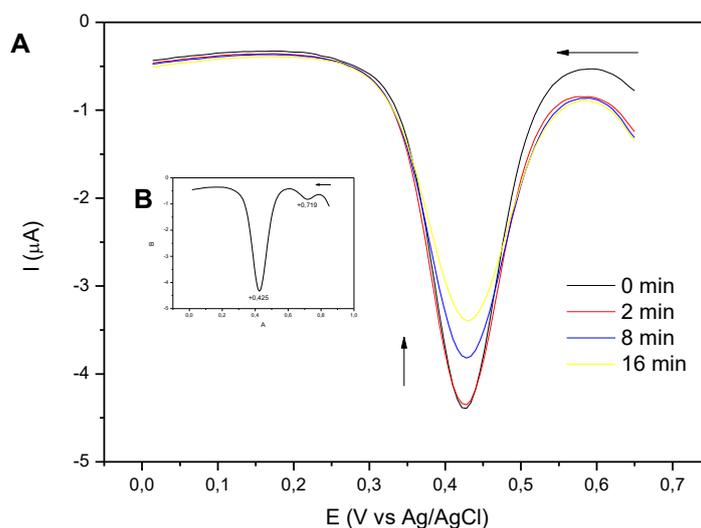


Figura 102. Voltamogramas de pulso diferencial de  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{bzim})(\text{bpy})_2]\text{PF}_6$  (2 mg) em pasta de carbono ativo, imerso em solução tampão fosfato pH = 7,4 e BSA ( $65 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Curvas obtidas em diferentes tempos. Velocidade de varredura de  $10 \text{ mV s}^{-1}$ .

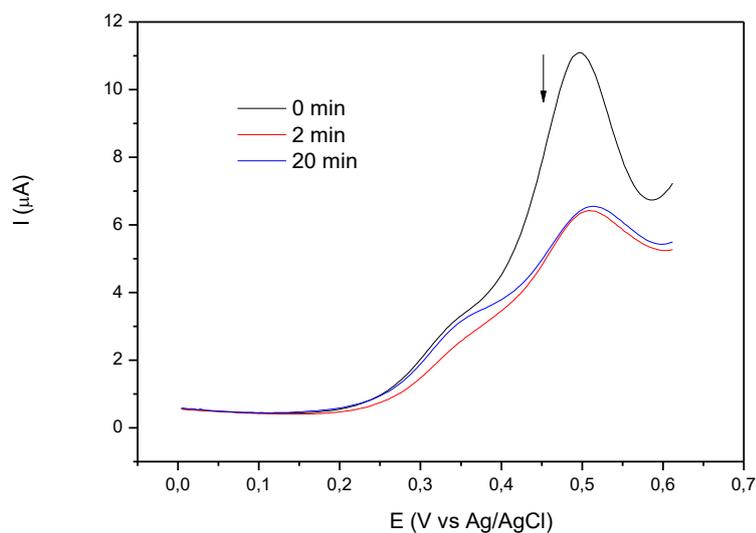


Figura 103. Voltamogramas de pulso diferencial de *cis*-[RuCl(4-ain)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> (2 mg) em pasta de carbono ativo, imerso em solução tampão fosfato pH = 7,4 e BSA (65 μmol L<sup>-1</sup>). Curvas obtidas em diferentes tempos. Velocidade de varredura de 10 mV s<sup>-1</sup>.

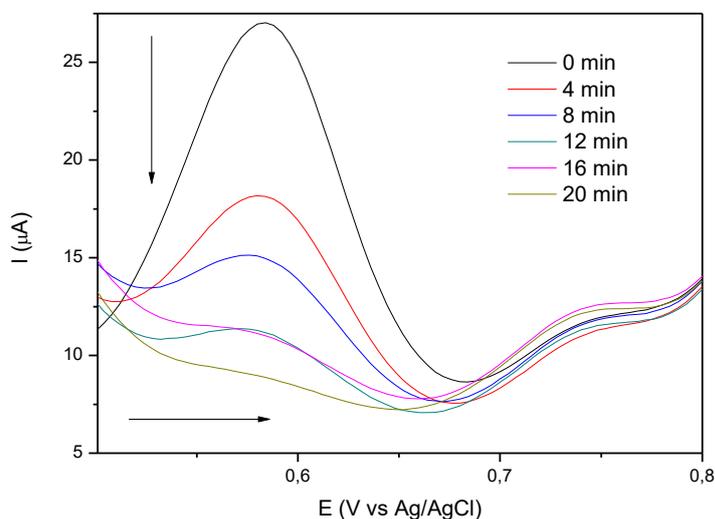
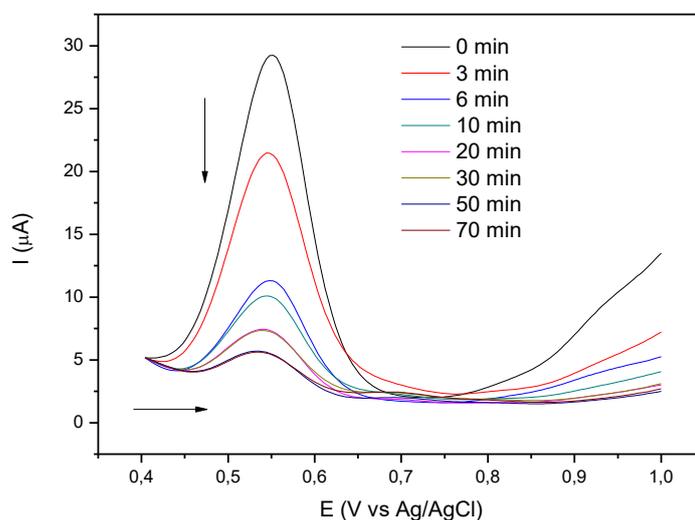


Figura 104. Voltamogramas de pulso diferencial de *cis*-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> (2 mg) em pasta de carbono ativo, imerso em solução tampão fosfato pH = 7,4 e BSA (65 μmol L<sup>-1</sup>). Curvas obtidas em diferentes tempos. Velocidade de varredura de 10 mV s<sup>-1</sup>.



Estudos sobre a constante de associação bem como a influência de L na interação com o BSA serão realizados para verificar qual a situação em que a biodisponibilidade do complexo no meio aumenta.

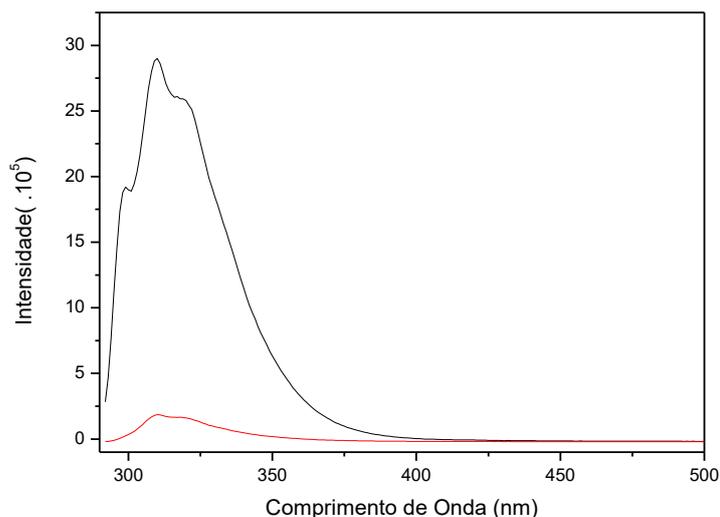
#### 4.3.4. Reatividade fotoquímica dos complexos $cis$ -[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>

De acordo com a literatura, alguns complexos de rutênio com bipyridina são fotossensíveis, podendo emitir luz ou participar de processos fotoquímicos, quando excitados. Com base neste raciocínio, estudou-se o comportamento fotoquímico dos complexos de formulação  $cis$ -[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

Analisando-se os espectros de emissão do complexo  $cis$ -[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, nota-se que apenas o composto em que L = indazol apresenta uma banda de emissão, como ilustrado na Figura 105.

Verifica-se na Figura 105 que no espectro de emissão do complexo  $cis$ -[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> há uma banda com máximo em 315 nm, a qual também é observada no espectro do ligante livre.

Figura 105. Espectro de emissão do complexo  $cis$ -[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (vermelho, 24,5 μmol L<sup>-1</sup>) e do ligante 1H-indazol (preto, 8,2 nmol L<sup>-1</sup>) em metanol. Excitação em 292 nm.



Na Figura 105 observa-se, também, que o perfil do espectro de emissão do complexo  $cis$ -[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> é semelhante ao do ligante livre indz. Além disto, verifica-se que a intensidade da banda do complexo  $cis$ -[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> é cerca de 750 vezes menor que aquele apresentado para o ligante livre. Isto mostra que o metal suprime fortemente a emissão do ligante. Desta forma, torna

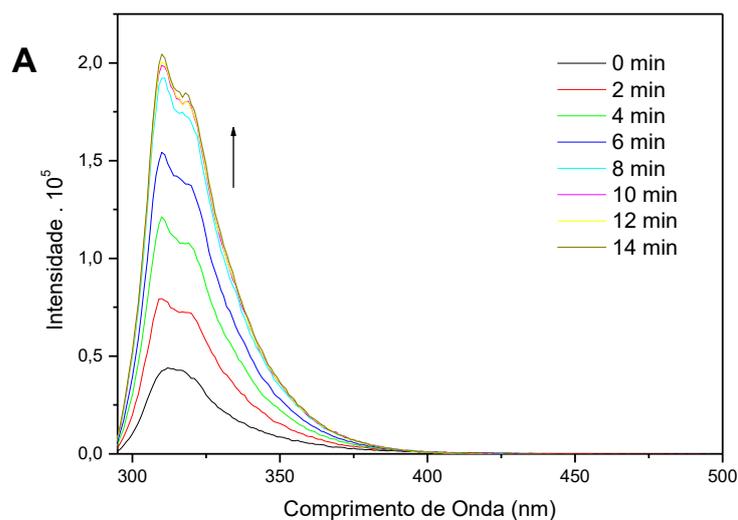
fácil compreender porque não foi possível observar emissão para os outros complexos.

A fim de avaliar a estabilidade do complexo *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> com as sucessivas irradiações de luz ultravioleta (UV-B), registrou-se o espectro de emissão do referido complexo em diferentes tempos de irradiação, como ilustrado na Figura 106.

Observa-se na Figura 106 (A e B) que, com as sucessivas irradiações de luz na solução metanólica de *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, há aumento da intensidade da banda de emissão em 315 nm. O mesmo comportamento é observado ao irradiar luz branca na solução metanólica do referido complexo, ilustrado na Figura 107.

Para compreender as alterações espectroscópica do complexo *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> em metanol (Figura 106), registrou-se o espectro de emissão da amostra também na ausência de oxigênio (Figura 108) e comparou-se com aquele obtido sob a condição atmosférica (Figura 106).

Figura 106. (A) Espectros de emissão do complexo *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 24,5 μmol L<sup>-1</sup>, em metanol, em diferentes tempos de irradiação de luz ultravioleta. Excitação em 292 nm. (B) Curva cinética da de emissão do complexo *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 24,5 μmol L<sup>-1</sup>, em metanol, em diferentes tempos de irradiação de luz ultravioleta.



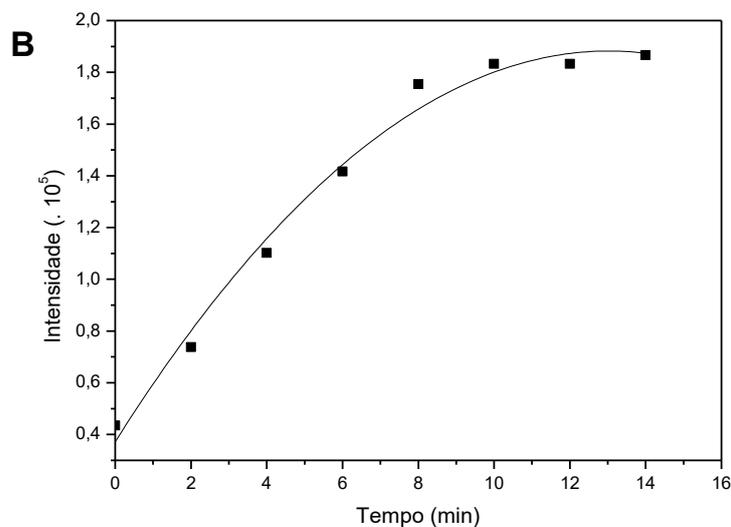
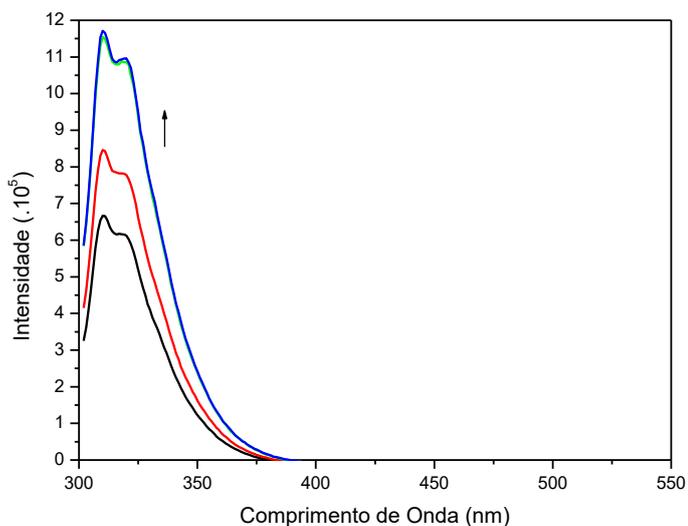


Figura 107. Espectros de emissão do complexo *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 24,5 μmol L<sup>-1</sup>, em metanol, em diferentes tempos de irradiação de luz branca. Excitação em 292 nm.



Verifica-se na Figura 108 que mesmo mantendo a solução do complexo sob atmosfera de argônio há aumento da intensidade da banda em 315 nm, com a sucessiva irradiação da amostra. Diante desta evidência experimental, pode-se inferir que as alterações espectroscópicas não são dependentes de oxigênio e que as mesmas são dependentes somente de luz ultravioleta, fato que não é observado no espectro de emissão do ligante indazol livre, após sucessivas irradiações de luz ultravioleta (Figura 109).

Figura 108. Espectros de emissão do complexo *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, 24,5 μmol L<sup>-1</sup>, em metanol e sob atmosfera de argônio, em diferentes tempos de irradiação de luz ultravioleta. Excitação em 292 nm.

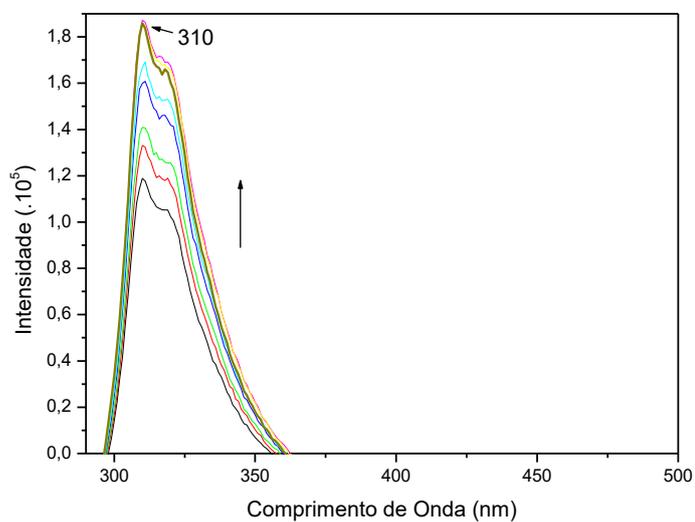
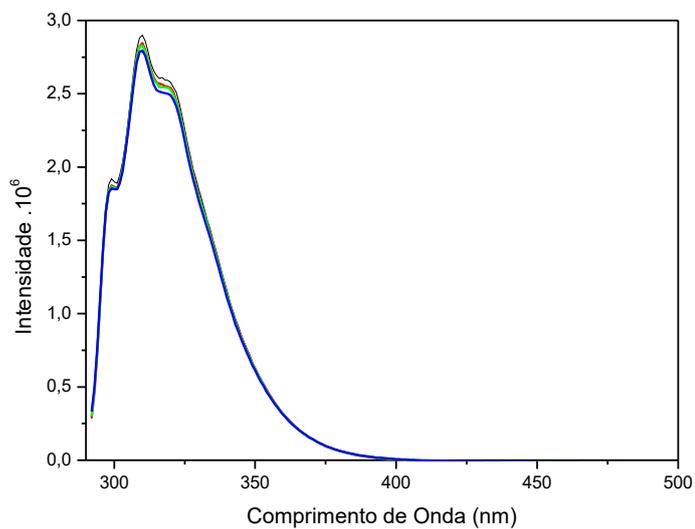


Figura 109. Espectros de emissão do 1H-indazol, 8,2 nmol L<sup>-1</sup>, em metanol, em diferentes tempos de irradiação do fluorímetro. Espectros obtidos a cada 2 min de irradiação de luz. Excitação em 292 nm.

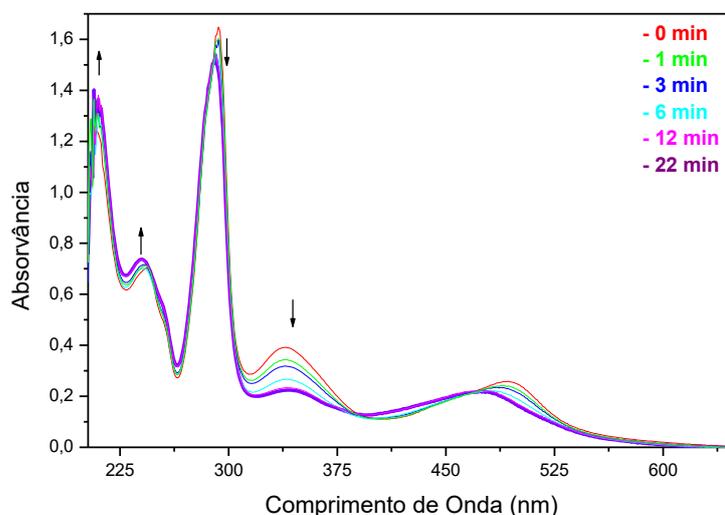


Para se obter mais informações a respeito da alteração espectral de *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> com a irradiação de luz ultravioleta acompanhou-se o comportamento fotoquímico da espécie via espectro de absorção.

#### 4.3.5. *Reatividade: Fotoquímica dos complexos cis-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> monitorada por espectros de absorção*

Sabendo-se que o complexo *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, ao ser excitado em 292 nm, emite luz ao redor de 315 nm, acompanhou-se o comportamento fotoquímico do referido complexo via espectros de absorção na região do ultravioleta-visível, com as sucessivas irradiações de luz em 300 nm, como se pode observar na Figura 110.

Figura 110. Espectros na região do ultravioleta-visível do complexo *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> em MeCN. Durante sucessivas irradiações de luz em 300 nm.



É possível observar na Figura 110 que, com as sucessivas irradiações de luz em 300 nm, na solução do complexo *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, há deslocamento das bandas de transferência de carga Ru<sup>II</sup> → bpy. Isto significa que a luz em 300 nm promove alteração na esfera de coordenação do metal. Além disto, observa-se que estas alterações são dependentes do meio em que

se encontra o referido complexo, como se pode notar nas Figuras 111 e 112, quando empregou-se metanol e diclorometano.

Figura 111. Espectros na região do ultravioleta-visível do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{bpy})_2]^+$  em MeOH. Durante sucessivas irradiações de luz em 300 nm.

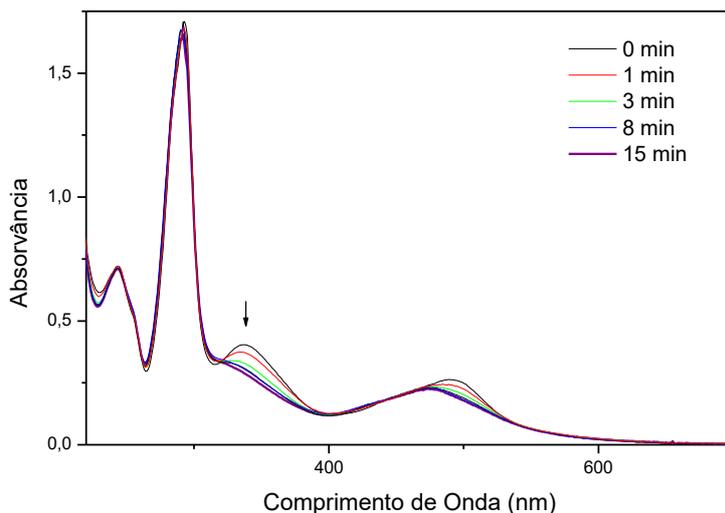
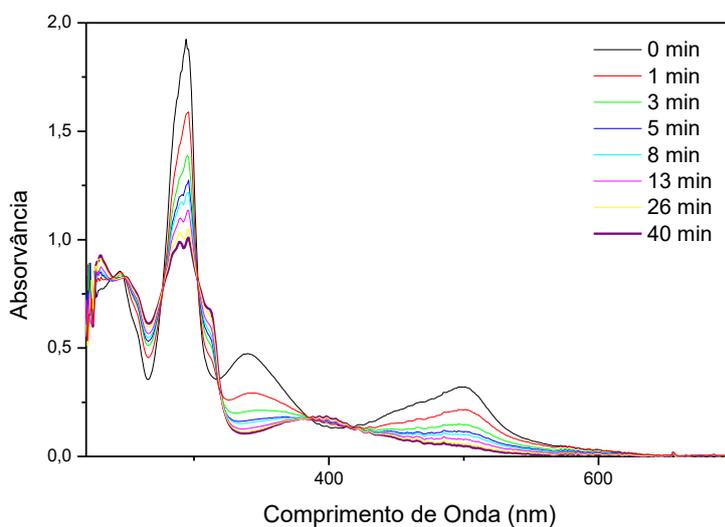


Figura 112. Espectros na região do ultravioleta-visível do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{bpy})_2]^+$  em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Durante sucessivas irradiações de luz em 300 nm.



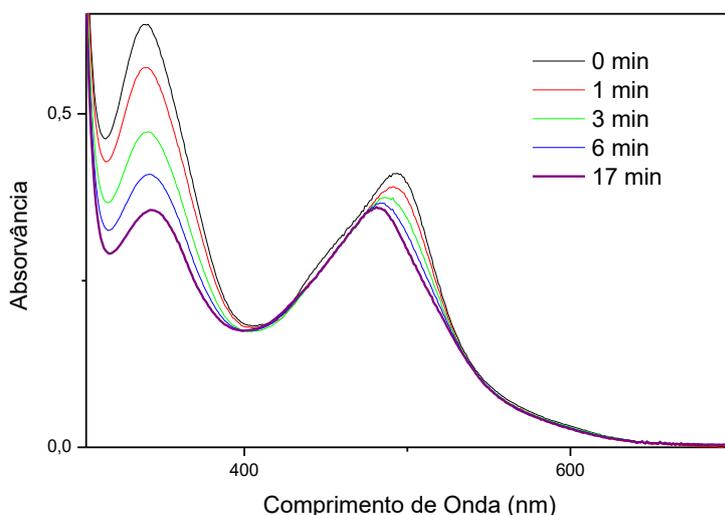
Segundo Cruz (Cruz, Kirgan et al. 2010) e Inglez (Inglez, Lima et al. 2010), ao irradiar luz suficiente para que ocorra transferência de elétrons do  $\text{Ru}^{\text{II}}$  para

bpy, há reação de substituição em que um ligante do complexo é substituído pela molécula do solvente.

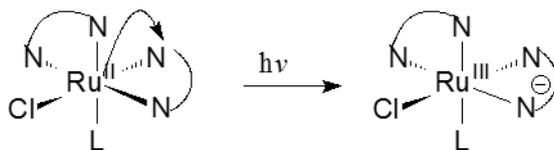
Uma vez que parte da banda em 338 nm (com maior contribuição da transição  $d\pi_{\text{Ru(II)}} \rightarrow \pi^*_{\text{bpy}}$ ) é sobreposta com aquela apresentada em 293 nm (Figura 20), a luz em 300 nm é suficiente para algumas espécies excitadas sejam do tipo  $[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}(\text{L})(\text{bpy}^-)(\text{bpy})]^+$ . Sendo assim, existe a possibilidade de ocorrer reação de substituição do ligante.

A fim de sustentar a proposta de que a reação de substituição é proveniente da transferência de elétrons, principalmente, do  $\text{Ru}^{\text{II}}$  para bpy, irradiou-se luz em 420 nm na solução de  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{bpy})_2]^+$ , como ilustrado na Figura 113.

Figura 113. Espectros na região do ultravioleta-visível do complexo  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{bpy})_2]^+$  em MeCN. Durante sucessivas irradiações de luz em 420 nm.



Nota-se, na Figura 113, que o perfil do espectro obtido após sucessivas irradiações em 420 nm é igual aquele obtido com as irradiações em 300 nm (Figura 110). Portanto, estes dados estão consistentes com a proposta de que a luz, tanto em 300 nm como em 420 nm, promove a excitação de  $\text{cis-}[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{bpy})_2]^+$ , como ilustrado em Eq. 8.



Eq. 8

Fonte: Autoria própria

Baseando-se em Veletsky (Veletsky, Dementiev et al. 1995), ao irradiar luz, suficiente para ocorrer transferência de carga do Ru<sup>II</sup> para bpy, na solução de  $[(bpy)_2ClRu(4,4bpy)RuCl(bpy)_2]^{2+}$  em MeCN, há formação de *cis*- $[RuCl(MeCN)(bpy)_2]^+$ , o qual apresenta banda de TCML em 480 nm e  $E_{1/2} = +0,86$  V vs Ag/AgCl. Sendo assim, pode-se sugerir que ao irradiar luz (300 ou 420 nm) em *cis*- $[RuCl(indz)(bpy)_2]^+$ , há formação do referido clorocomplexo *cis*- $[RuCl(S)(bpy)_2]^+$ , em que S é uma molécula do solvente. Portanto, a irradiação de luz na solução do complexo *cis*- $[RuCl(indz)(bpy)_2]^+$  em acetonitrila promove a substituição do ligante indz pela molécula do solvente (MeCN).

Para sustentar a proposta de formação de *cis*- $[RuCl(MeCN)(bpy)_2]^+$  irradiou-se luz na solução dos outros complexos de formulação *cis*- $[RuCl(L)(bpy)_2]^+$ , como ilustrado nas Figuras 114 a 116.

Figura 114. Espectros na região do ultravioleta-visível do complexo *cis*- $[RuCl(ain)(bpy)_2]^+$  em MeCN. Durante sucessivas irradiações de luz em 420 nm.

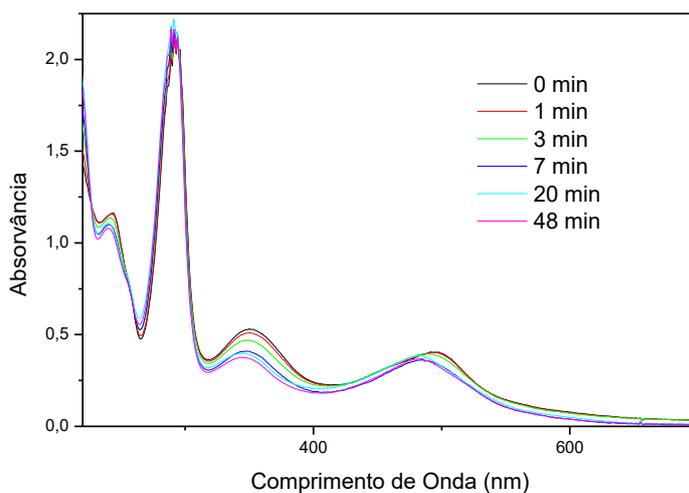


Figura 115. Espectros na região do ultravioleta-visível do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{5-ain})(\text{bpy})_2]^+$  em MeCN. Durante sucessivas irradiações de luz em 300 nm.

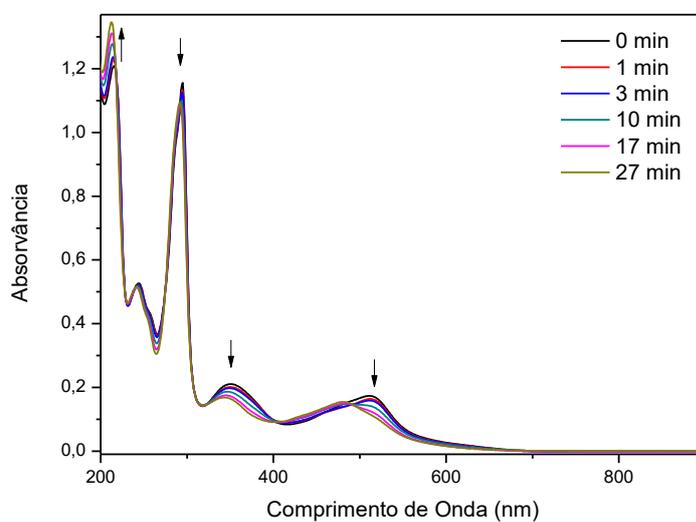
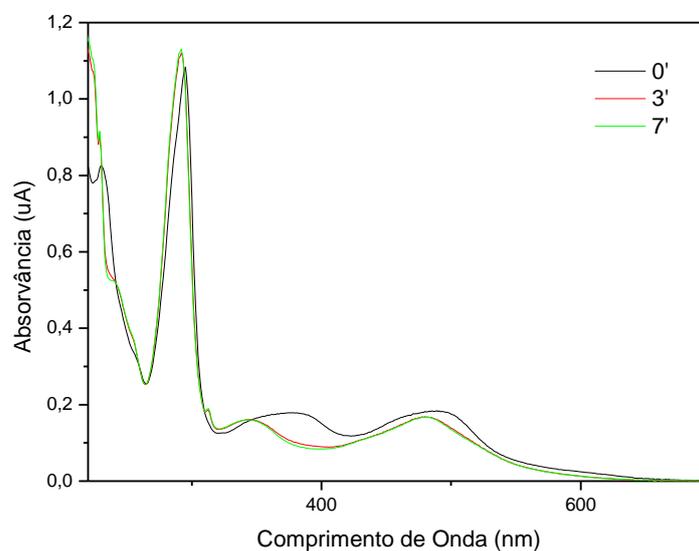


Figura 116. Espectros na região do ultravioleta-visível do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{qui})(\text{bpy})_2]^+$  em MeCN. Durante sucessivas irradiações de luz em 300 nm.



Verifica-se, nas Figuras 114 a 116, deslocamento das bandas de TCML, após as sucessivas irradiações de luz (300 nm ou 420 nm), havendo destaque de uma banda em 480 nm.

A Tabela 14 ilustra as bandas de transferência de carga, do metal para o ligante, antes e após a irradiação de luz na solução dos complexos de formulação  $cis-[RuCl(L)(bpy)_2]^+$ , em MeCN.

Tabela 14. Dados espectrais de fotólise medidos antes e após irradiação de luz (300 nm) na solução de MeCN do complexo  $cis-[RuCl(L)(bpy)_2]^+$ .

L	$\lambda$ (nm)	$\lambda$ (nm)
	antes da irradiação	após a irradiação
quinolina	492	480
	377	345
indazol	493	480
	337	343
4-azaindol	497	480
	355	345
5-azaindol	513	480
	351	345
7-azaindol	492	480
	351	345

Fonte: Autoria própria

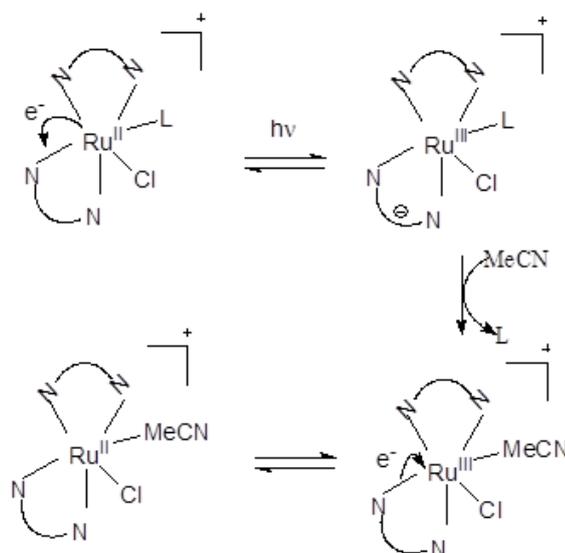
Na Tabela 14 observa-se que o produto da fotólise (em 300 nm e 420 nm) da solução de  $cis-[RuCl(L)(bpy)_2]^+$  apresenta bandas idênticas sugerindo que seja devido à formação do mesmo complexo, como expresso no Esquema 5.

A formação do complexo  $cis-[RuCl(MeCN)(bpy)_2]^+$  a partir dos diferentes complexos de formulação  $cis-[RuCl(L)(bpy)_2]^+$  pode ser explicada avaliando-se a força das ligações entre os centros metálicos ( $Ru^{II}$  e  $Ru^{III}$ ) e os ligantes ( $Cl^-$  e L).

Uma vez que há formação do complexo de  $Ru^{III}$ , após a irradiação, e que a ligação  $Ru^{III}-Cl^-$  é mais forte que a ligação  $Ru^{II}-Cl^-$  e considerando-se que  $Ru^{II}$  é  $\pi$ -doador mais forte que  $Ru^{III}$ , a ligação entre o metal e L é mais fraca após irradiação de luz, contribuindo para que este seja mais facilmente substituído pela molécula do solvente do que  $Cl^-$ , daí obter o cloro complexo expresso no Esquema 5.

A partir das discussões realizadas anteriormente é possível propor que a excitação de  $cis\text{-[RuCl(indz)(bpy)}_2\text{]}^+$ , na solução metanólica, em 292 nm há a substituição do indazol pela molécula do solvente metanol (Cruz, Kirgan et al. 2010). Deste modo, o aumento da intensidade da banda de emissão em 315 nm (Figura 106) é decorrente do aumento da concentração de indazol livre em solução.

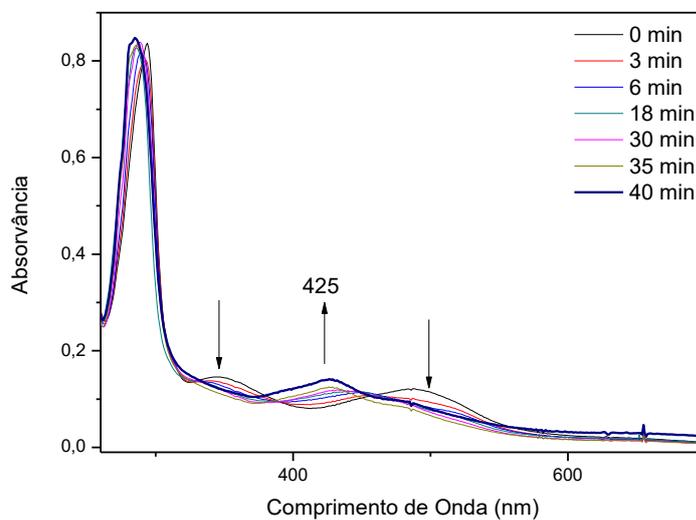
Esquema 5. Mecanismo de reação fotoquímica dos complexos  $cis\text{-[RuCl(L)(bpy)}_2\text{]}^+$  em MeCN.



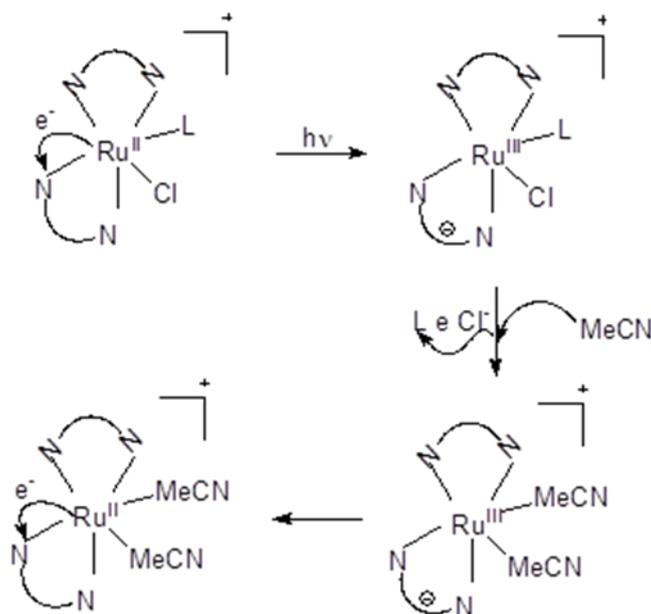
Por outro lado, observa-se na Figura 117, que a irradiação de luz (300 nm) na solução de  $cis\text{-[RuCl(bzim)(bpy)}_2\text{]}^+$  em MeCN gera um espectro diferente do observado no caso dos outros complexos contendo bipyridina, estudados neste trabalho.

De acordo com a literatura (Walsh and Durham 1982), o complexo  $cis\text{-[Ru(MeCN)}_2\text{(bpy)}_2\text{]}^{2+}$  apresenta banda de transferência de carga em 425 nm. Uma vez que a irradiação de luz na solução de  $cis\text{-[RuCl(bzim)(bpy)}_2\text{]}^+$ , em MeCN, promove o destaque de uma banda em 425 nm, pode-se sugerir que a complexo formado é  $cis\text{-[Ru(MeCN)(bpy)}_2\text{]}^{2+}$ , Figura 117. Portanto, o mecanismo de reação de substituição no caso do complexo com benzimidazol é diferente dos outros complexos estudados neste trabalho, como ilustrado no Esquema 6.

Figura 117. Espectros na região do ultravioleta-visível de  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{bzim})(\text{bpy})_2]^+$  em MeCN. Durante sucessivas irradiações de luz em 300 nm.



Esquema 6. Mecanismo de reação fotoquímica dos complexos  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{bzim})(\text{bpy})_2]^+$  em MeCN.



Fonte: Autoria própria

Assim como observado nos espectros dos complexos de formulação  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]^+$ , verifica-se no espectro de  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{phen})_2]^+$ , em MeCN, que as sucessivas irradiações de luz em 300 nm promove o deslocamento da banda

na região do visível para uma região de menor comprimento de onda (Figuras 118 e 119).

Figura 118. Espectros na região do ultravioleta-visível de *cis*-[RuCl(indz)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> em MeCN. Durante sucessivas irradiações de luz em 300 nm.

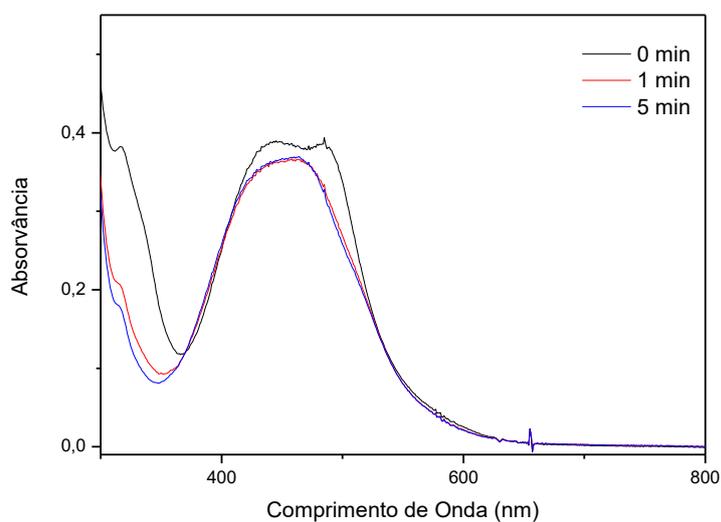
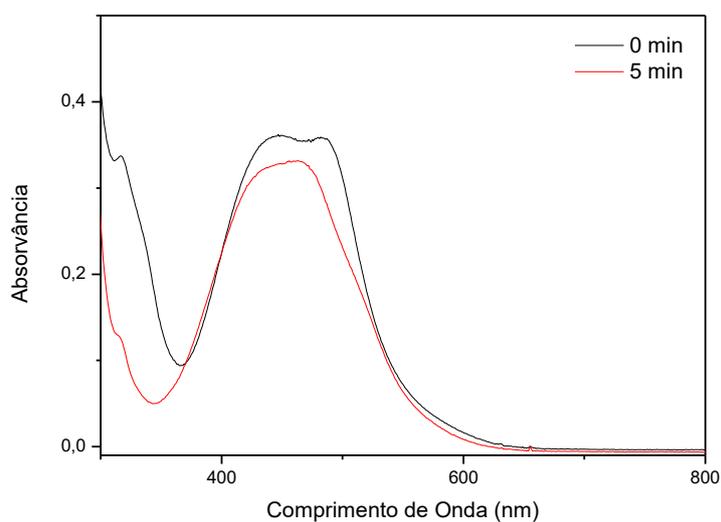


Figura 119. Espectros na região do ultravioleta-visível de *cis*-[RuCl(ain)(phen)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> em MeCN. Durante sucessivas irradiações de luz em 300 nm.

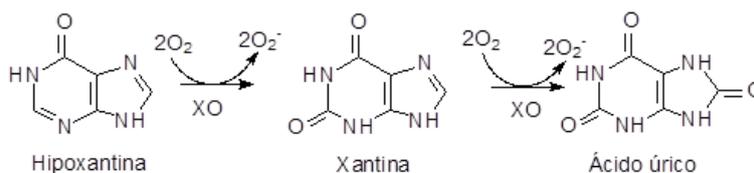


Além disto, tanto no caso do complexo com indazol como no caso do complexo com 7-azaindol, o perfil espectroscópico do produto da fotólise é o

mesmo, em que se observa uma banda em 452 nm. Estes dados indicam que assim como no caso de  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]^+$ , a luz promove a transferência de carga do tipo  $\text{Ru}^{\text{II}} \rightarrow \text{phen}$ , de modo que há formação do intermediário  $[\text{Ru}^{\text{III}}(\text{Cl})(\text{L})(\text{phen}^-)(\text{phen})]^+$ . Nesta condição, L é substituído pela molécula de acetonitrila, formando  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{MeCN})(\text{phen})_2]^+$ .

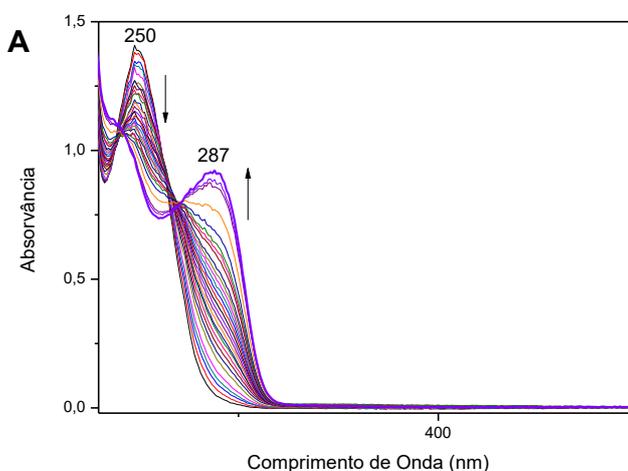
#### 4.3.6. Reatividade dos complexos $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]\text{PF}_6$ frente ao íon superóxido

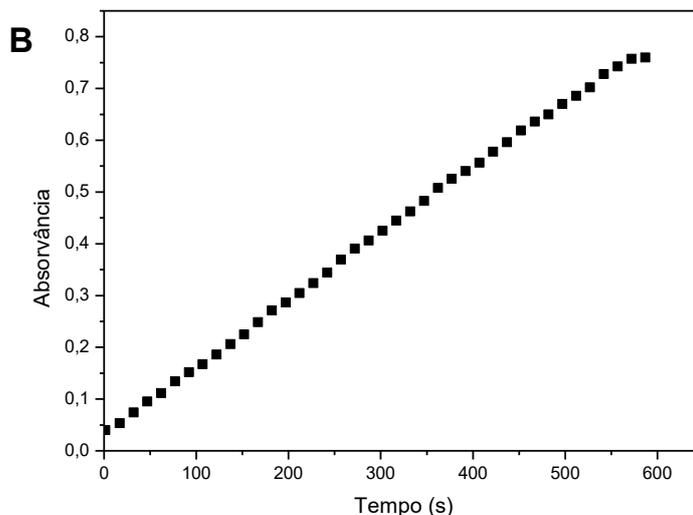
De acordo com a literatura, hipoxantina na presença de xantina oxidase (XO), pode ser convertida em xantina e íon superóxido (Younes and Weser 1976; Dew, Day et al. 2005). A xantina também pode ser convertida a ácido úrico e íon superóxido, como expresso em Eq. 9 e nas Figuras 120 A e B. Sendo assim, pode-se usar esta reação para obter íon superóxido.



Eq. 9. Fonte: Autoria própria

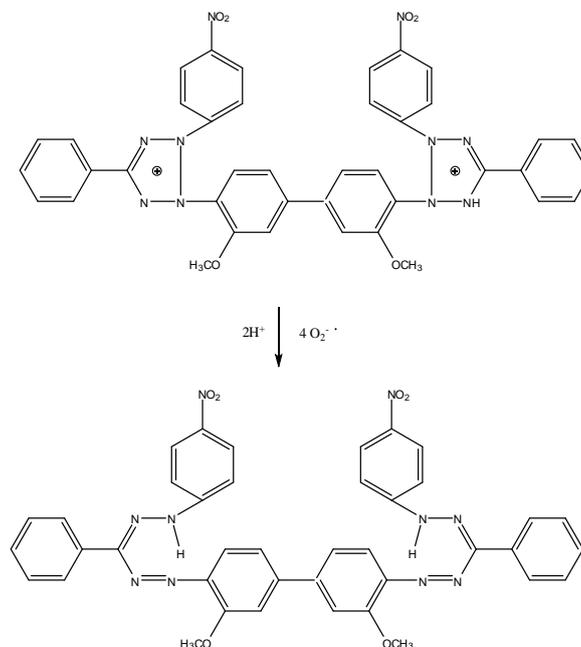
Figura 120. (A) Espectros eletrônicos na região do ultravioleta-visível da mistura: hipoxantina ( $7,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ ), xantina oxidase ( $1,8 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) e solução tampão fosfato pH 7,4. O tempo de acompanhamento das alterações espectroscópicas foi de 600 s. (B) Curva de absorvância (em 280 nm) em função do tempo (s) da reação da hipoxantina com oxigênio, em meio aquoso, na presença da xantina oxidase.





Observa-se na Figura 120 (A) que há diminuição da intensidade da banda em 250 nm com concomitante aumento da intensidade da banda em 290 nm, característico de conversão da hipoxantina em ácido úrico, o qual apresenta banda de transição eletrônica em 290 nm (Dew, Day et al. 2005).

O íon superóxido pode reagir com azul de nitrotetrazolina (NBT), formando NBT na forma reduzida, espécie azul em solução, como expresso na equação Eq. 10.

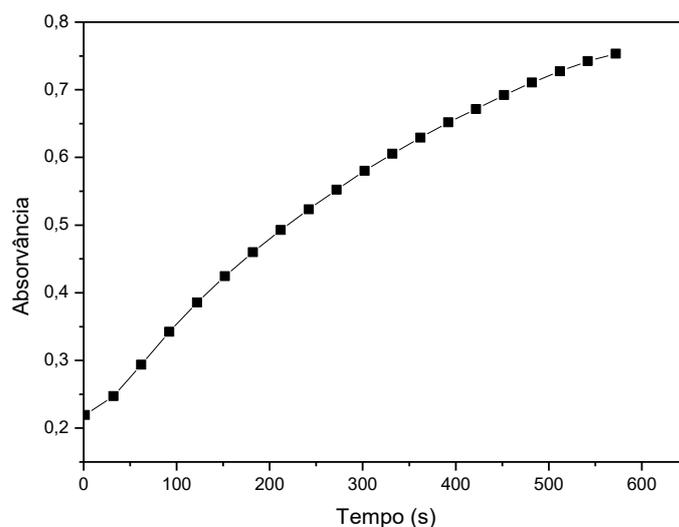


Eq. 10

Fonte: Autoria própria

Uma vez que esta espécie é colorida, pode-se acompanhar sua formação via espectroscopia eletrônica na região do visível, em 540 nm (Younes and Weser 1976), como ilustrado na Figura 121.

Figura 121. Curva de absorvância (em 540 nm) em função do tempo da reação de formação do NBT reduzido a partir do NBT ( $0,5 \text{ mmol L}^{-1}$ ) e íon superóxido, obtido na reação da hipoxantina ( $7,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ) com oxigênio e catalisada pela xantina oxidase ( $1,8 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ).



Caso alguma espécie química, além do NBT, reaja com o íon superóxido, o máximo de absorção do NBT reduzido diminui. Baseando-se neste raciocínio, avaliou-se a possibilidade de *cis*- $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]\text{PF}_6$  reagir com o íon superóxido, obtido a partir da hipoxantina na presença da xantina oxidase, acompanhando-se as curvas do máximo de absorção de NBT reduzido (controle), na presença dos complexos, em função do tempo. Os resultados obtidos estão apresentados nas Figuras 122 a 127.

As Figuras 122 a 127 mostram que há diminuição da concentração do NBT reduzido à medida que aumenta a concentração do complexo *cis*- $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]^+$  no meio. Isto é evidenciado na diminuição do máximo de absorção, em 540 nm, com o aumento da concentração do complexo no meio. Uma vez que a formação do NBT reduzido é dependente da presença do íon superóxido, *cis*- $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]^+$  diminui a quantidade de  $\text{O}_2^-$  disponível para reagir com o corante (NBT).

Figura 122. Medidas de consumo do íon superóxido através das curvas do máximo de absorção do NBT reduzido (540 nm) em função do tempo. Obtido a partir da mistura de NBT, hipoxantina e xantina oxidase em solução tampão fosfato, na presença do complexo *cis*-[RuCl(qui)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

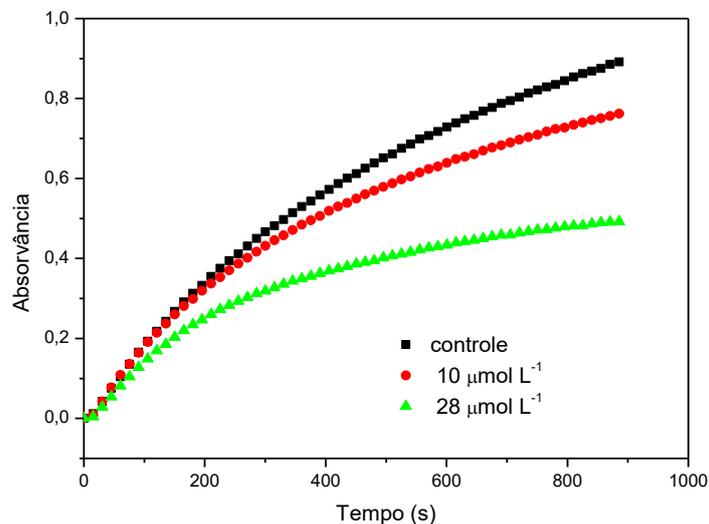


Figura 123. Medidas de consumo do íon superóxido através das curvas do máximo de absorção do NBT reduzido (540 nm) em função do tempo. Obtido a partir da mistura de NBT oxidado, hipoxantina e xantina oxidase em solução tampão fosfato, na presença de *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

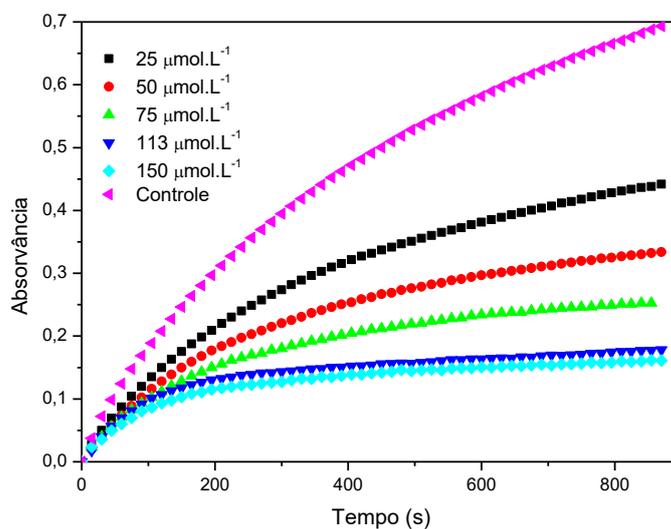


Figura 124. Medidas de consumo do íon superóxido através das curvas do máximo de absorção do NBT reduzido (540 nm) em função do tempo. Obtido a partir da mistura de NBT oxidado, hipoxantina e xantina oxidase em solução tampão fosfato, na presença do complexo *cis*-[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

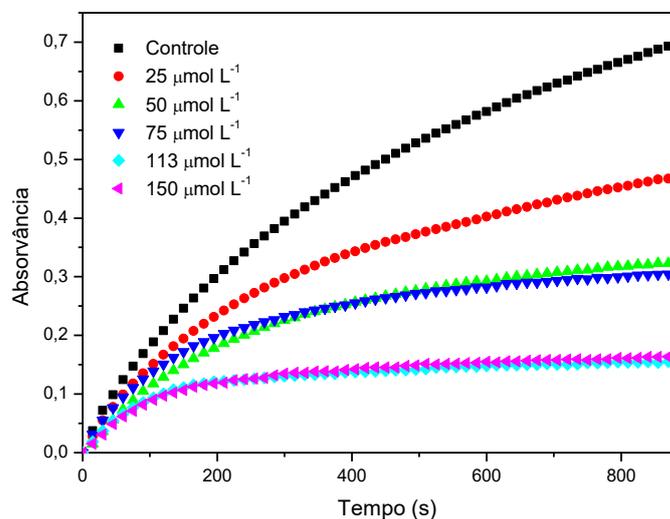


Figura 125. Medidas de consumo do íon superóxido através das curvas do máximo de absorção do NBT reduzido (540 nm) em função do tempo. Obtido a partir da mistura de NBT oxidado, hipoxantina e xantina oxidase em solução tampão fosfato, na presença do complexo *cis*-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

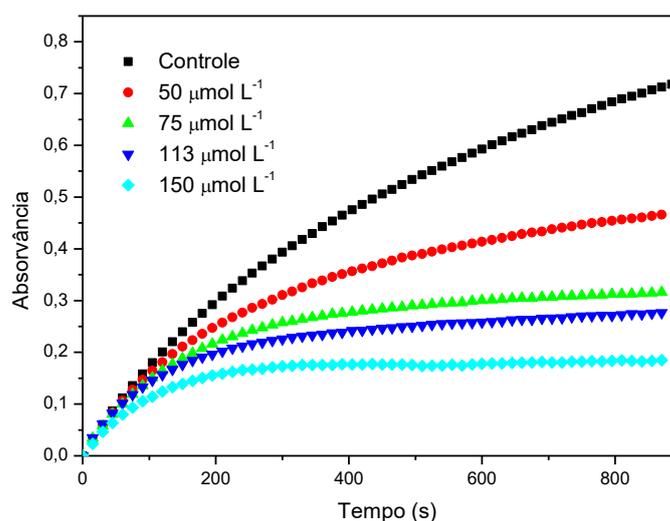


Figura 126. Medidas de consumo do íon superóxido através das curvas do máximo de absorção do NBT reduzido (540 nm) em função do tempo. Obtido a partir da mistura de NBT oxidado, hipoxantina e xantina oxidase em solução tampão fosfato, na presença do complexo *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

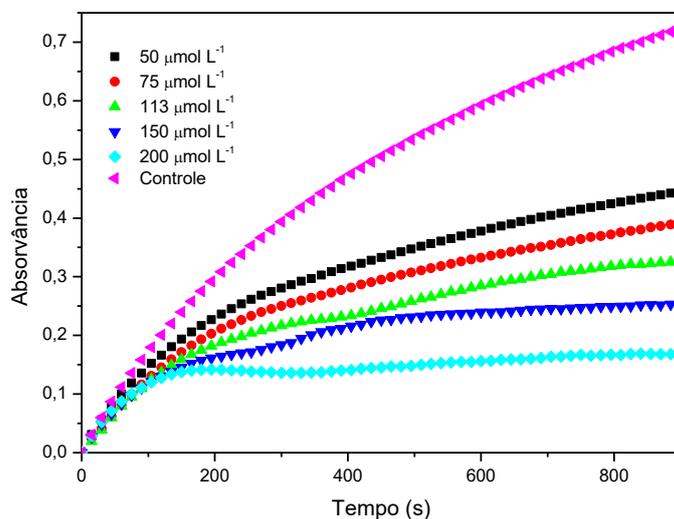
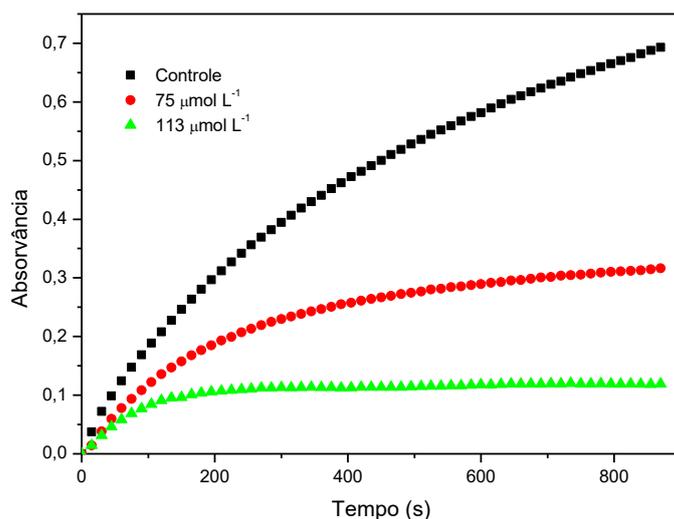


Figura 127. Medidas de consumo do íon superóxido através das curvas do máximo de absorção do NBT reduzido (540 nm) em função do tempo. Obtido a partir da mistura de NBT oxidado, hipoxantina e xantina oxidase em solução tampão fosfato, na presença do complexo *cis*-[RuCl(4-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>.

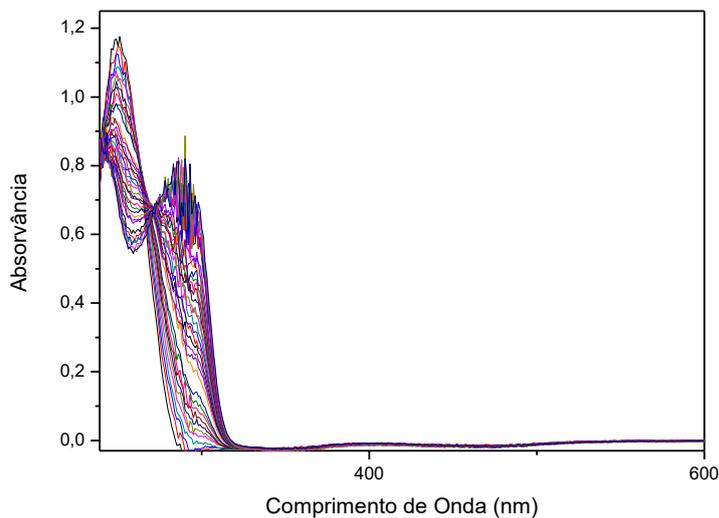


Assim, as alterações observadas nas Figuras 122 a 127 indica que o complexo *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> reage com O<sub>2</sub><sup>-</sup>, daí haver a diminuição do máximo

de absorção (do NBT reduzido) em 540 nm, quando NBT está na presença dos complexos.

Vale salientar que o complexo não influencia na atividade da xantina oxidase, na conversão da hipoxantina em xantina e íon superóxido (Eq. 9), visto que, mesmo com a adição do complexo na mistura citada, há diminuição da intensidade da banda em 250 nm com concomitante aumento da intensidade da banda em 290 nm (característico da formação do ácido úrico - Eq. 9), como se pode observar na Figura 128.

Figura 128. Alterações espectroscópicas da hipoxantina, em solução tampão fosfato, na presença xantina oxidase e do complexo  $cis-[RuCl(4-ain)(bpy)_2]^+$ .



Assim como observado nas Figuras 122 a 127, observa-se nas Figuras 129 a 133 que o máximo de absorção de NBT reduzido diminui com o aumento da concentração de complexo.

Figura 129. Curva percentagem de formação do NBT reduzido em função da concentração do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{bpy})_2]^+$ .

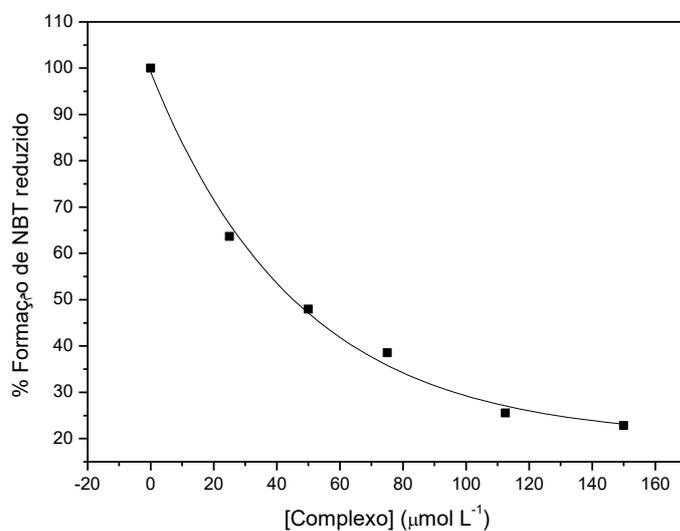


Figura 130. Curva percentagem de formação do NBT reduzido em função da concentração do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{bzim})(\text{bpy})_2]^+$ .

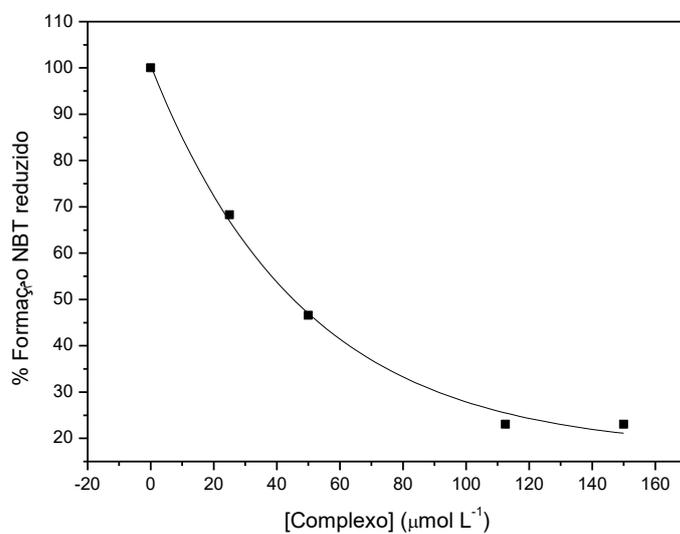


Figura 131. Curva porcentagem de formação do NBT reduzido em função da concentração do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{5-ain})(\text{bpy})_2]^+$ .

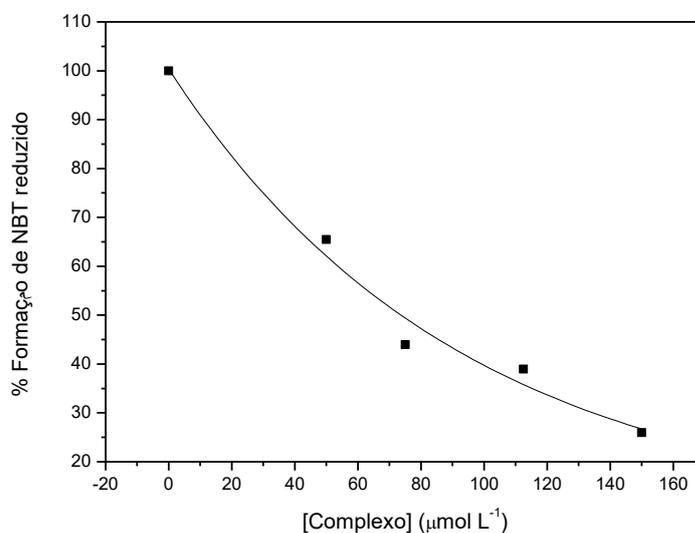
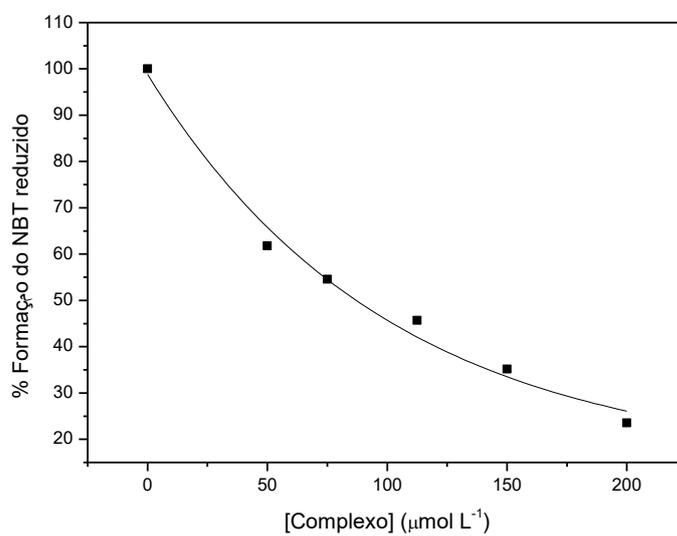


Figura 132. Curva porcentagem de formação do NBT reduzido em função da concentração do complexo  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$ .



Os dados apresentados nas Figuras 129 a 132 sustentam a proposta de que  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]^+$  está reagindo com  $\text{O}_2^-$  e diminui significativamente a quantidade deste íon disponível para reagir com NBT e, portanto, menor a concentração da espécie NBT reduzido no meio.

Com base nas curvas cinéticas apresentadas nas Figura 129 a 132 determinou-se a concentração mínima de complexo necessária para que o consumo de  $O_2^-$  pelo NBT seja 50% ( $IC_{50}$ ), cujos dados estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Dados de concentração mínima de complexo  $cis$ -[RuCl(L)(bpy) $_2$ ]PF $_6$  necessária para que o consumo de  $O_2^-$  pelo NBT seja 50% ( $IC_{50}$ ), e  $E_{1/2}$  do Ru(II/III).

Complexo	$IC_{50}$ ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	$E_{1/2}$ (V) MeCN	$E_{1/2}$ (V) Tampão fosfato pH 7,4
$cis$ -[RuCl(ain)(bpy) $_2$ ] $^+$	86	+0,87	+0,71
$cis$ -[RuCl(indz)(bpy) $_2$ ] $^+$	86	+0,86	+0,65
$cis$ -[RuCl(5-ain)(bpy) $_2$ ] $^+$	78	+0,74	+0,63
$cis$ -[RuCl(bzim)(bpy) $_2$ ] $^+$	45	+0,72	+0,60

Fonte: Autoria própria

De acordo com os dados apresentados na Tabela 15, verifica-se que  $cis$ -[RuCl(indz)(bpy) $_2$ ]PF $_6$  e  $cis$ -[RuCl(ain)(bpy) $_2$ ]PF $_6$  são os que precisam estar em maior concentração para reduzir em 50% a concentração de NBT reduzido, enquanto que  $cis$ -[RuCl(bzim)(bpy) $_2$ ]PF $_6$  é o que precisa de uma menor concentração. Estes dados estão coerentes com os dados de potenciais de oxidação de Ru(II) em  $cis$ -[RuCl(L)(bpy) $_2$ ]PF $_6$ , como ilustrado na Tabela 15.

Como sinalizado anteriormente, quanto maior o caráter  $\pi$ -receptor do ligante menor a nuvem eletrônica sobre o metal e, portanto, maior o potencial de oxidação do mesmo. Assim, quanto maior o potencial de oxidação do metal mais difícil de L aceitar elétron de  $O_2^-$ . Por este motivo, se a concentração necessária para que haja consumo de uma dada quantidade de íons superóxido no caso do complexo  $cis$ -[RuCl(ain)(bpy) $_2$ ] $^+$ , é maior que no caso do complexo  $cis$ -[RuCl(bzim)(bpy) $_2$ ] $^+$ , isto é um indicativo de que este complexo reage mais facilmente com o íon superóxido do que aquele complexo.

Estes dados experimentais indicam, portanto, que há possibilidade de complexos de formulação  $cis$ -[RuCl(L)(bpy) $_2$ ]PF $_6$  atuarem como antioxidantes em meio biológicos e que  $cis$ -[RuCl(indz)(bpy) $_2$ ]PF $_6$  e  $cis$ -[RuCl(ain)(bpy) $_2$ ]PF $_6$  são os que tem menor capacidade de consumir  $O_2^-$ . Assim, tais complexos

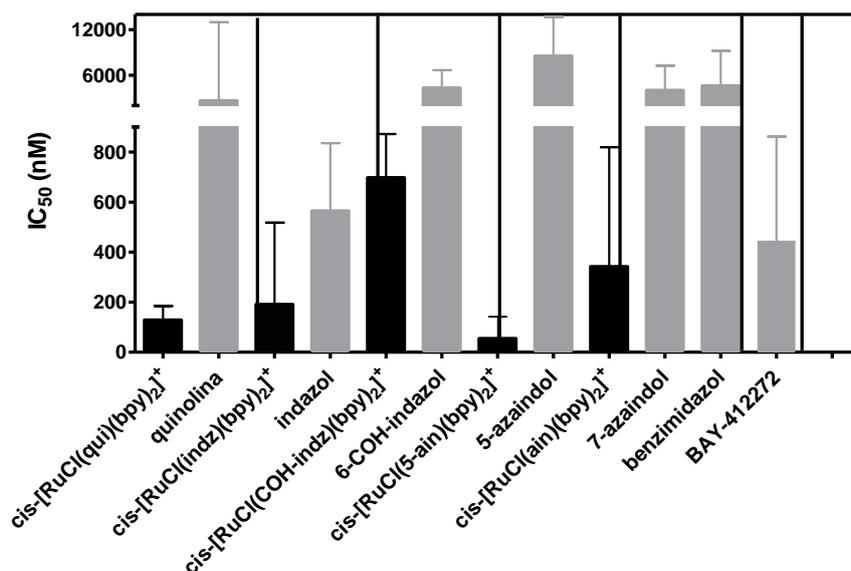
podem contribuir para que, em situação de estresse oxidativo, diminuir a concentração de  $O_2^-$  no meio, dificultando, deste modo, a desativação da sGC e o desenvolvimento de uma série de patologias associadas à ERO, ou seja, estes dados indicam que tais complexos podem apresentar ação dupla: na vasodilatação e evitar que ERO prejudiquem a vasodilatação (Forsythe, Gilchrist et al. 2001).

#### 4.3.7. Atividade vasodilatadora promovida por complexos de formulação $cis-[RuCl(L)(X-X)_2]^+$

Em parceria com o grupo de pesquisa do professor Dr. Nilberto Robson Falcão do Nascimento (UECE), estudos de vasodilatação dos complexos de formulação  $cis-[RuCl(L)(bpy)_2]^+$  foram realizados. Vale salientar que alguns dos resultados já foram apresentados em dissertações de mestrado, como será sinalizado posteriormente.

A Figura 133 ilustra a concentração mínima necessária para que alguns complexos de formulação  $cis-[RuCl(L)(bpy)_2]^+$  e alguns ligantes (L) gere uma vasodilatação de 50% ( $IC_{50}$ ) em anéis de aorta de rato.

Figura 133. Ensaio de vasodilatação, medida de  $IC_{50}$  dos ligantes livres e dos complexos do tipo  $cis-[RuCl(L)(bpy)_2]^+$  e o padrão BAY 412272 em anéis de aorta de ratos.



Observa-se na Figura 133 que tanto os ligantes quanto os complexos *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> relaxam os vasos em anéis de aorta de ratos pré-contraídos. Entretanto, o IC<sub>50</sub> foi significativamente menor para *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>. Isto evidencia que o metal potencializa a ação dos ligantes. Além disto, verifica-se também, na Figura 133, que o complexo *cis*-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> é o que se destaca como mais eficiente neste processo, uma vez que o IC<sub>50</sub> é 55 nmol L<sup>-1</sup> mais baixo em relação ao dos outros complexos analisados e apresenta atividade cerca 150 vezes maior que o do 5-azaindol.

Comparando-se os dados de IC<sub>50</sub> do *cis*-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> em relação ao do *cis*-[RuCl(ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> e *cis*-[RuCl(indz)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, nota-se que para o complexos com 5-ain o IC<sub>50</sub> foi significativamente menor. Uma vez que o potencial de oxidação do Ru(II) no complexo com 5-ain é menor que nos outros dois complexos (com ain ou indz), este aspecto chama atenção, pois pode ter uma correlação com a atividade vasodilatadora deste ligante coordenado para ser mais eficiente em relação ao dos outros complexos.

Ainda com base nos estudos de vasodilatação, há evidências de que *cis*-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> apresenta maior atividade em tecidos de aorta do que o BAY 41-2272 (Figura 133), o qual, de acordo com a literatura, apresenta uma ação bastante eficiente neste seguimento (Priviero and Webb 2010).

Os dados de vasodilatação indicam que azaindóis ou indazóis de estruturas mais simples que YC-1 e BAY tem atividade vasodilatadora ainda mais eficiente que os compostos orgânicos de estrutura mais complexas caso esteja ligados a metais de transição, a exemplo do Ru(II).

Estudos preliminares realizados pelo Dr. Emil Martin e Iraidia Sharina na *University of Texas Health Center* em Houston não mostraram qualquer ativação direta significativa da SGC, pelos complexos em análise (Figura 134), apesar de não ter sido investigado por estimulação com NO/CO. No entanto, foi observado aumento significativo na concentração da cGMP após tratamento do tecido vascular com o complexo *cis*-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> (Figura 135). Indicativo de que tal complexo atua diretamente na ativação do NO-sGC e/ou inibição da PDE. Estudos mecanísticos serão realizados para melhor compreensão da atuação dos complexos em meio biológico.

Figura 134. Ensaio de ativação da sGC usando complexos  $cis\text{-}[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]^+$ , em que L é indz, bzim, 4-ain, 5-ain, ain,  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ , sem qualquer estimulação com doadores de NO, a  $37^\circ\text{C}$ .

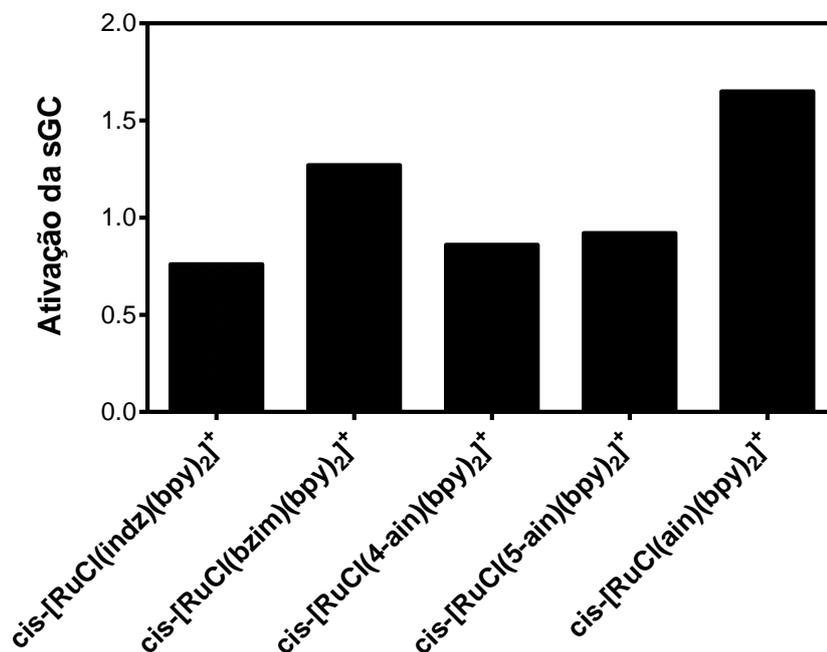
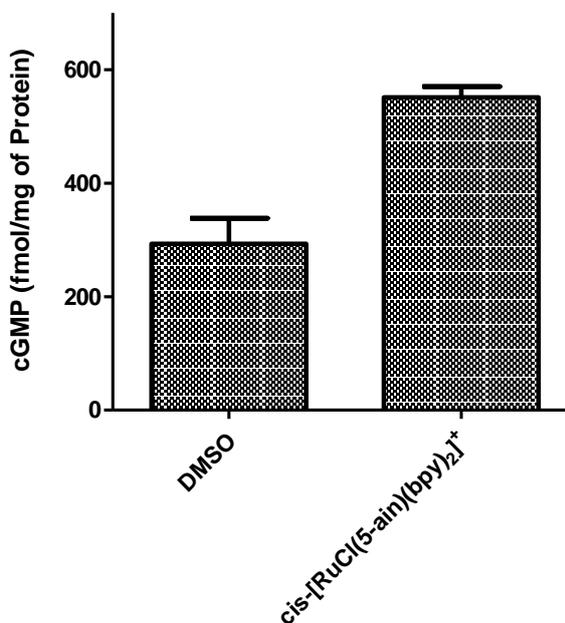


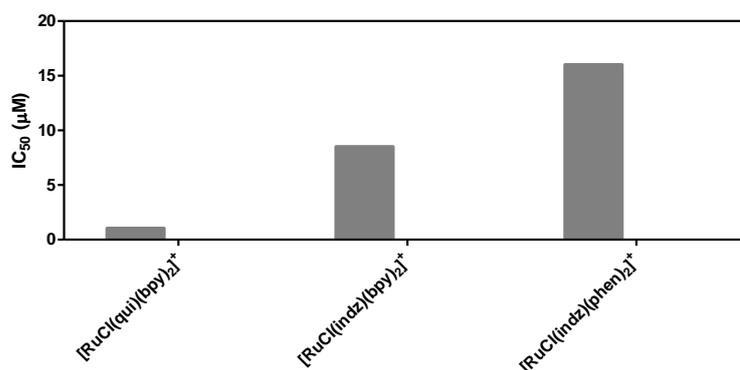
Figura 135. Medidas de produção de cGMP total (kit de ELISA de cGMP) em tecido vascular tratadas com DMSO (controle) e  $cis\text{-}[\text{RuCl}(5\text{-ain})(\text{bpy})_2]^+$  ( $n = 6$ , ANOVA seguido por teste de Bonferroni). (Costa 2012)



Estudos de relaxamento de corpos cavernosos isolados de humanos pré-contráídos com fenilefrina também foram realizados com alguns dos complexos

e os dados de  $IC_{50}$  estão apresentados na Figura 136 (Chromiński, Banach et al. 2013). Entretanto, quando se compara o relaxamento gerado por esses complexos em relação ao veículo (DMSO) verifica-se que as alterações não são significativas. Indicativo que tais complexos não são eficientes para esse tipo de linhagem.

Figura 136. Concentração mínima necessária para relaxar 50% dos corpos cavernosos isolados de humanos ( $IC_{50}$ ) pre-contráídos com fenilefrina ( $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). (CAMPOS 2012 )



#### 4.3.8. Estudo da citotoxicidade dos complexos de formulação $cis$ - $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]^+$

Avaliou-se, em colaboração com o professor doutor Manoel Odorico de Moraes, a citotoxicidade de complexos  $cis$ - $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]^+$  em células de cólon humano (HCT-116), ovário humano (Ovacar-8), leucemia (HL-60) e glioblastoma humano (SF-295), cujos dados estão apresentados nas Figuras 137 a 140.

Com base nos dados apresentados nas Figuras 137 a 140, nota-se que os complexos  $cis$ - $[\text{RuCl}(\text{ain})(\text{bpy})_2]^+$  e  $cis$ - $[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{bpy})_2]^+$  apresentam atividade citotóxica elevada (entre 75 e 100%) em células leucêmicas e células do cólon humano. Além disto, o complexo  $cis$ - $[\text{RuCl}(\text{indz})(\text{bpy})_2]^+$  apresenta atividade citotóxica em células tumorais de ovário humano. Já os outros complexos de formulação  $cis$ - $[\text{RuCl}(\text{L})(\text{bpy})_2]^+$ , em análise, apresentam atividade citotóxica moderada (entre 50 e 75%) em linhagens de ovário humano. Vale salientar que tais complexos não se mostram citotóxicos em células normais indicando, deste modo, que são seletivos.

Assim, pode-se sugerir que, diferentemente da atividade vasodilatadora dos complexos, a atividade citotóxica dos complexos em células tumorais pode ser mais eficiente quando se usa complexos em que a capacidade aceptora- $\pi$  dos ligantes indólicos ou azaindólicos, frente à Ru(II), seja elevada ou então a disposição dos ligantes no complexo pode contribuir para este efeito mais acentuado com complexos contendo indz ou ain na composição. Independentemente, tais resultados também reforçam a baixa citotoxicidade dos complexos a células normais.

Figura 137. Inibição de células HCT-116 empregando-se os complexos *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, na dosagem de 25  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

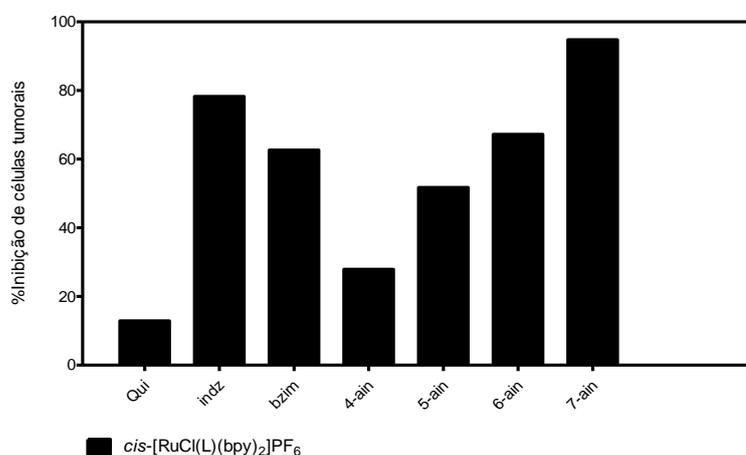


Figura 138. Inibição de células Ovacar-8 empregando-se os complexos *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, na dosagem de 25  $\mu\text{g mL}^{-1}$ .

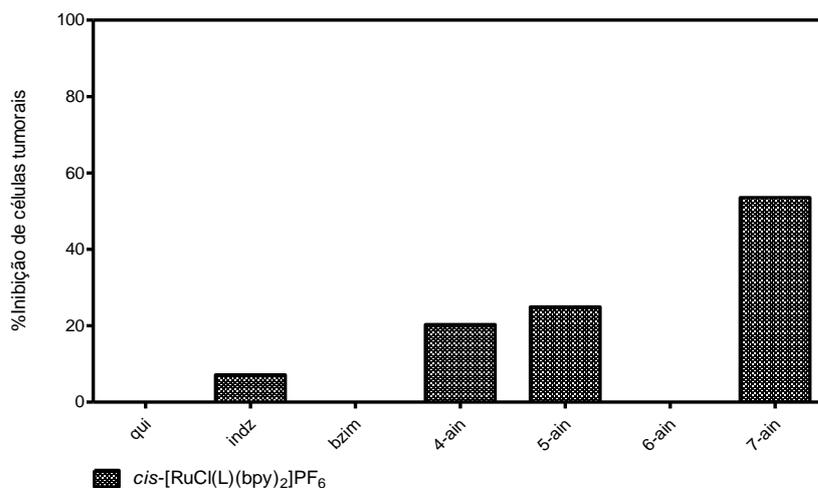


Figura 139. Inibição de células SF-295 empregando-se os complexos *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>, na dosagem de 25 µg mL<sup>-1</sup>.

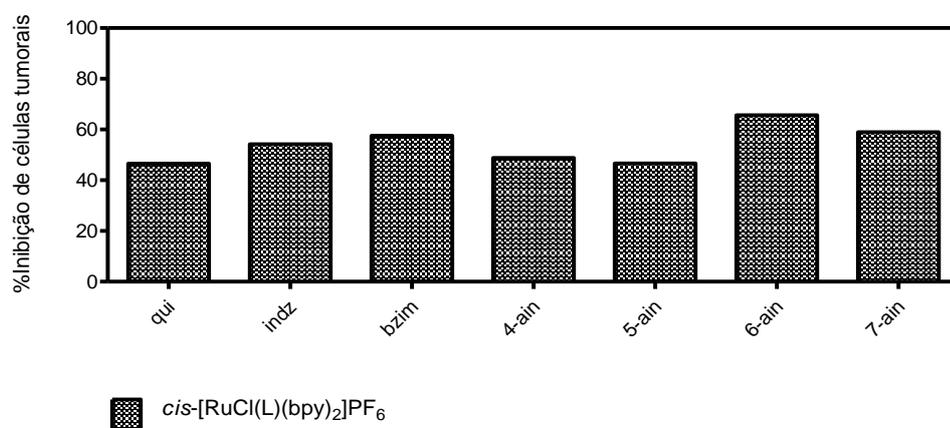
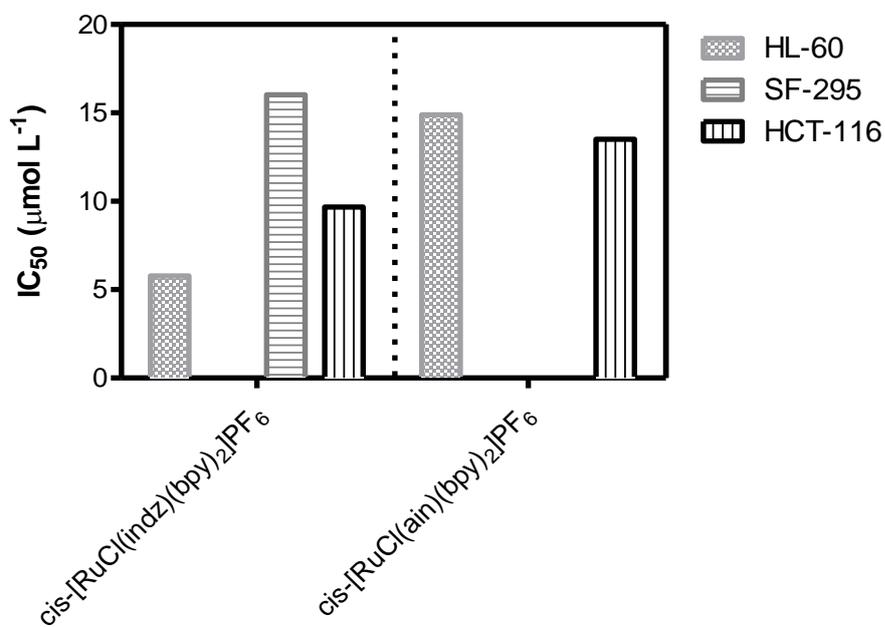


Figura 140. Dados de IC<sub>50</sub> (µmol L<sup>-1</sup>) de *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> para inibir células tumorais.



## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos procedimentos de síntese, descrito anteriormente, foi possível obter uma série de complexos do tipo *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>.

A proposta de formação dos referidos complexos foi baseada nos espectros de RMN de <sup>13</sup>C e <sup>1</sup>H, os quais indicam que o ligante L faz parte da composição dos complexos. Os dados de análise elementar também são consistentes com a formulação dos compostos, indicando que os compostos sintetizados apresentam a composição sugerida.

Nos complexos *cis*-[RuCl(ain)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> e *cis*-[RuCl(indz)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> a oxidação do metal é mais difícil que nos outros complexos *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>. Verificou-se também que há reação de substituição quando se adiciona o complexo *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> em meio aquoso, o que não é evidenciado em meio orgânico. Entretanto, na presença de cloreto, albumina sérica, glutatona e/ou o complexo é previamente dissolvido em meio orgânico a solvólise, em meio aquoso, é mais lenta.

Nota-se que quanto maior o potencial de oxidação do metal maior a concentração do complexo necessária para consumir 50% do O<sub>2</sub><sup>-</sup> produzido no meio. Sendo assim, os complexos estudados podem atuar como antioxidantes e dentre os complexos analisados o complexo *cis*-[RuCl(bzim)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> é o mais eficiente (menor IC<sub>50</sub>). Estes dados indicam que os complexos *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> são potencialmente capazes de atuarem como antioxidante em meio biológico.

Uma vez que espécies reativas de nitrogênio também pode contribuir para o estresse oxidativo, tem-se como perspectiva estudo de reatividade dos *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub> com outros radicais, no intuito de obter metalofármacos eficientes na diminuição da concentração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio.

Apesar dos complexos *cis*-[RuCl(L)(X-X)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> serem pouco solúveis em água, os mesmos tem a capacidade de interagir com albumina sérica bovina, a qual tem estrutura bem semelhante a albumina sérica humana. Isto torna possível o transporte de complexos em meio biológico e pode aumentar a biodisponibilidade do mesmo no sangue. A Determinação das constantes de

associação do BSA com estes complexos serão medidas no intuito avaliar a intensidade da interação entre estas espécies.

Os ensaios de citotoxicidade preliminares utilizando três linhas celulares tumorais (ovário humano, glioblastoma humano e colo humano) mostra que não há um bloqueio significativo do crescimento das células, indicando que estes complexos não apresentam citotoxicidade expressiva, em particular para o complexo *cis*-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>+</sup> que possui atividade vasodilatadora, a 55 nmol L<sup>-1</sup>, e que 35 umol L<sup>-1</sup> deste composto não mostrou inibição significativa do crescimento de células tumorais, o que sugere um índice de seletividade potencial acima de 600.

Diante dos ensaios de vasodilatação (IC<sub>50</sub>) dos complexos e dos ligantes em tecidos de aorta de ratos, é possível afirmar que o metal potencializa a capacidade vasodilatadora de L, além disto, os complexos são mais eficientes na vasodilatação do que o BAY 412272. Estudos preliminares não mostraram qualquer ativação direta significativa da SGC, pelos complexos em análise. No entanto, foi observado aumento significativo na concentração da cGMP após tratamento do tecido vascular com o complexo *cis*-[RuCl(5-ain)(bpy)<sub>2</sub>]PF<sub>6</sub>. Indicativo de que tal complexo atua diretamente na ativação do NO-sGC e/ou PDE. Estudos mecanísticos serão realizados para melhor compreensão da atuação dos complexos em meio biológico.

Novas classes de compostos contendo ligantes L na composição estão sendo investigados no intuito de verificar a influência dos outros ligantes, presentes no fragmento [RuCl(L)], na reatividade de L. Deste modo, é possível avaliar a influência de tais ligantes na capacidade vasodilatadora dos complexos.

## 6. REFERÊNCIAS

BOERRIGTER, G., COSTELLO-BOERRIGTER, L. C., LAPP, H., STASCH, J. P. AND BURNETT, J. C. "Co-Activation of Soluble and Particulate Guanylate Cyclase by BAY 58-2667 and BNP Enhances Cardiorenal Function in Experimental Heart Failure." Journal of Cardiac Failure (2005) **11**(6, Supplement): S89.

BONNEUX, L., BARENDREGT J. J., MEETER, K., BONSEL, G. J., and VAN DER MAAS P. J. "Estimating clinical morbidity due to ischemic heart disease and congestive heart failure: the future rise of heart failure." American Journal of Public Health (1994) **84**(1): 20-28.

BUECHLER, W. A., IVANOVA K., WOLFRAM G., DRUMMER C., HEIM J. M., AND GERZER R. Soluble guanylyl cyclase and platelet function, Ann. NY Acad. Sci. (1995) **714**.

CALLAHAN, R. W., BROWN, G. M., AND MEYER T. J. "Effects of weak metal-metal interactions in ligand-bridged complexes of ruthenium. Dimeric complexes containing ruthenium ions in different coordination environments." Inorganic Chemistry (1975) **14**(7): 1443-1453.

CAMPOS, R. D. M. Triagem de complexos coordenado por ferro e rutênio no trato geniturinário. Dissertação de mestrado, (2012 ) Universidade Estadual do Ceará.

CARTER, D. C. AND HO J. X. Structure of Serum Albumin. Advances in Protein Chemistry. J. T. E. F. M. R. C.B. Anfinsen and S. E. David, Academic Press. (1994) **Volume 45**: 153-203.

CEBRIÁN-LOSANTOS, B., REISNER, E., KOWOL, C. R., ROLLER, A., SHOVA, S., ARION, V. B. AND KEPPLER, B. K.. "Synthesis and Reactivity of the Aquation Product of the Antitumor Complex trans-[Ru III Cl<sub>4</sub>(indazole)<sub>2</sub>]<sup>-</sup>." Inorganic Chemistry (2008) **47**(14): 6513-6523.

CHINKERS, M., GARBERS, D. L., CHANG, M. S., LOWE, D. G., CHIN, H., GOEDDE, D. V. AND SCHULZ, S. "A membrane form of guanylate cyclase is an atrial natriuretic peptide receptor." Nature (1989) **338**(6210): 78-83.

CHROMIŃSKI, M., BANACH, L. et al. "Synthesis and Evaluation of Bifunctional sGC Regulators: Optimization of a Connecting Linker." Journal of Medicinal Chemistry (2013) **56**(18): 7260-7277.

CHUN, YS., YEO, EJ. AND PARK, JW. "Versatile pharmacological actions of YC-1: anti-platelet to anticancer." Cancer Letters (2004) **207**(1): 1-7.

CLARKE, M. J. "Ruthenium metallopharmaceuticals." Coordination Chemistry Reviews (2003) **236**(1): 209-233.

COE, B. J., MEYER, T. J. AND WHITE, P. S. "Control of axial ligand substitution in trans-bis(2,2'-bipyridine)ruthenium(II) complexes. Crystal and molecular structure of trans-(4-ethylpyridine)(dimethyl sulfoxide)bis(2,2'-bipyridine)ruthenium(II) hexafluorophosphate, trans-[Ru(bpy)2(4-Etpy)(DMSO)](PF6)2." Inorganic Chemistry (1993) **32**(19): 4012-4020.

COHEN, S. M. "New approaches for medicinal applications of bioinorganic chemistry." Current Opinion in Chemical Biology (2007) **11**(2): 115-120.

COLTHUP, N. B., DALY, L. H. et al. CHAPTER 1 - VIBRATIONAL AND ROTATIONAL SPECTRA. Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy (Third Edition). N. B. Colthup, L. H. Daly and S. E. Wiberley. San Diego, (1990) Academic Press: 1-73.

COSTA, P. P. C. Desenvolvimento de Novos Candidatos a Metalofármacos Ativadores/Estimuladores da Enzima Guanilato Ciclase Solúvel. Mestre, Universidade Federal do Ceará (2012).

CRUZ, A. J., KIRGAN, R., SIAM, K., HEILAND, P. AND RILLEMA, D. P.. "Photochemical and photophysical properties of ruthenium(II) bis-bipyridine bis-nitrile complexes: Photolability." Inorganica Chimica Acta (2010) **363**(11): 2496-2505.

DENNINGER, J. W. AND MARLETTA, M. A. "Guanylate cyclase and the ·NO/cGMP signaling pathway." Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics (1999) **1411**(2-3): 334-350.

DEW, T. P., A. J. DAY, et al. "Xanthine Oxidase Activity in Vitro: Effects of Food Extracts and Components." Journal of Agricultural and Food Chemistry (2005) **53**(16): 6510-6515.

DODSWORTH, E. S. AND LEVE, A. B. P. "Correlations between electrochemical potentials and optical charge transfer energies in ruthenium bipyridine derivatives." Chemical Physics Letters (1986) **124**(2): 152-158.

DWYER, F. P., GOODWIN, H. A. AND GYARFAS, E. C. "Mono- and Bis-(2,2'-bipyridine) and (1,10-Phenanthroline) Chelates of Ruthenium and Osmium. I. Monochelates of Bivalent, Tervalent, and Quadrivalent Ruthenium." Australian Journal of Chemistry (1963) **16**(1): 42-50.

EVGENOV, O. V., PACHER, P., SCHMIDT, P. M., HASKO, G., SCHMIDT, H. H. H. W. AND STASCH, J. P. "NO-independent stimulators and activators of soluble guanylate cyclase: discovery and therapeutic potential." Nat Rev Drug Discov (2006) **5**(9): 755-768.

FELDMAN, P. L., GRIFFITH, O. W. AND STUEHR, D.J. "The surprising life of NITRIC OXIDE." Chemical & Engineering News Archive (1993) **71**(51): 26-38.

FORSYTHE, P., GILCHRIST, M., KULKA, M. AND BEFUS, A. D. "Mast cells and nitric oxide: control of production, mechanisms of response." International Immunopharmacology (2001) **1**(8): 1525-1541.

FRICKER, S. P. "Metal based drugs: from serendipity to design." Dalton Transactions (2007) (43): 4903-4917.

FURUYAMA, T., INAGAKI, S. AND TAKAGI, H. "Localizations of  $\alpha 1$  and  $\beta 1$  subunits of soluble guanylate cyclase in the rat brain." Molecular Brain Research (1993) **20**(4): 335-344.

GEARY, W. J. "The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds." Coordination Chemistry Reviews (1971) **7**(1): 81-122.

GIFFORD, R. W. and Jr. "Management of hypertensive crises." JAMA (1991) **266**(6): 829-835.

GODWIN, J. B. and MEYER, T. J. The preparation of ruthenium nitrosyl complexes containing 2,2'-bipyridine and 1,10-phenanthroline. Inorg. Chem. (1971) **10**.

GRANIK, V. G. AND GRIGORIEV, N. B. "Exogenous nitric oxide donors in the series of C-nitro compounds." Russian Chemical Reviews (2011) **80**(2): 171.

- HALLIWELL, B. AND GUTTERIDGE, J. M. "Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease." Biochemical Journal (1984) **219**(1): 1-14.
- HAMBLEY, T. W. "Developing new metal-based therapeutics: challenges and opportunities." Dalton Transactions (2007) (43): 4929-4937.
- HARDMAN, J. G. and SUTHERLAND, E. W. "Guanylate cyclase, an enzyme catalyzing the formation of guanosine 3',5'-monophosphate from guanosine triphosphate." Journal of Biological Chemistry (1969) **244**(23): 6363-6370.
- HESEK, D., INOUE, Y., EVERITT, S. R. L., ISHIDA, H., KUNIEDA, M. AND DREW, M. G. B. "Preparation and structural elucidation of novel cis ruthenium(II) bis(bipyridine) sulfoxide complexes [dagger]." Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions (1999) (21): 3701-3709.
- HIDALGO, J., MUÑOZ, A. M., CARMONA, M. C. AND BALÓN, M. "Fluorescence characteristics of 7-azaindole in highly acidic and basic aqueous media." Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry (1990) **54**(1): 57-62.
- HOBBS, A. J. "Soluble guanylate cyclase: the forgotten sibling." Trends in Pharmacological Sciences (1997) **18**(12): 484-491.
- HOSHIKAWA, Y., ONO, S., SUZUKI, S., TANITA, T., CHIDA, M., SONG, C., NODA, M., TABATA, T., VOELKEL, M. F. AND FUJIMURA, S. Generation of oxidative stress contributes to the development of pulmonary hypertension induced by hypoxia (2001).
- HOSMANE, R. S. AND LIEBMAN, J. F. "Aromaticity of heterocycles: experimental realization of Dewar-Breslow definition of aromaticity." Tetrahedron Letters (1991) **32**(32): 3949-3952.
- IGNARRO, L. J., DEGNAN, J. N., BARICOS, W. H., KADOWITZ, P. J. AND WOLIN, M. S. "Activation of purified guanylate cyclase by nitric oxide requires heme: comparison of heme-deficient, heme-reconstituted and heme-containing forms of soluble enzyme from bovine lung." BBA - General Subjects (1982) **718**(1): 49-59.
- IGNARRO, L. J., WOOD, K. S. AND WOLIN, M. S. "Activation of purified soluble guanylate cyclase by protoporphyrin IX." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (1982) **79**(9 I): 2870-2873.

ILLINGWORTH, J. "Methods of enzymatic analysis: Third edition." Biochemical Education (1985) **13**(1): 38.

INGLEZ, S. D, LIMA, F. CA., CAMILO, M. R., DANIEL, J. FS. SANTOS, E., LIMA-NETO, B. S. AND CARLOS, R. M. "Tuning of Photochemical and Photophysical Properties of [Ru(II) (2, 2-bipyridine)<sub>2</sub> L<sub>x</sub>] Complexes using Nonchromophoric Ligand Variations." Journal of the Brazilian Chemical Society (2010) **21**(1): 157.

ISHIKAWA, E., ISHIKAWA, S., DAVIS, J. W. AND SUTHERLAND, E... W. "Determination of guanosine 3',5'-monophosphate in tissues and of guanylate cyclase in rat intestine." Journal of Biological Chemistry (1969) **244**(23): 6371-6376.

JAFFREY, S. R. AND SNYDER, S. H. "Nitric oxide: a neural messenger." Annual review of cell and developmental biology (1995) **11**(1): 417-440.

JOHNSON, E. C., SULLIVAN, B. P., SALMON, D. J., ADEYEMI, S. A. AND MEYER, T. J. "Synthesis and properties of the chloro-bridged dimer [(bpy)<sub>2</sub>RuCl]<sub>2</sub><sup>2+</sup> and its transient 3+ mixed-valence ion." Inorganic Chemistry (1978) **17**(8): 2211-2215.

JURIS, A., BALZANI, V., BARIGELLETTI, F., CAMPAGNA, S., BELSER, P. AND ZELEWSKY, A. V. "Ru(II) polypyridine complexes: photophysics, photochemistry, electrochemistry, and chemiluminescence." Coordination Chemistry Reviews (1988) **84**(0): 85-277.

KARTHIKEYAN, B. AND LOGANATHAN, B. "A close look of Au/Pt/Ag nanocomposites using SERS assisted with optical, electrochemical, spectral and theoretical methods." Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures (2013) **49**: 105-110.

KO, FN., WU, C. C., KUO, S., LEE, F. AND TENG, C. "YC-1, a novel activator of platelet guanylate cyclase." Blood (1994) **84**(12): 4226-4233.

KULIKOV, A. S., MAKHOVA, N. N. "Reactions of bromoacetyl derivatives of furoxan and furazan with S-nucleophiles." Russian Chemical Bulletin (1998) **47**(1): 139.

KROENER, RUDI, MARY JANE HEEG, AND EDWARD DEUTSCH. "Synthesis and characterization of polypyridine ruthenium(II) complexes containing S-bonded thioether ligands. X-ray crystal structures of cis- and trans-bis(2,2'-

bipyridine)bis(phenothiazine-S)ruthenium(II) hexafluorophosphates." Inorganic Chemistry (1988) **27**(3): 558-566.

LAI, Y.-L., H.-D. WU, AND C.-F. CHEN. "Antioxidants Attenuate Chronic Hypoxic Pulmonary Hypertension." Journal of cardiovascular pharmacology (1998) **32**(5): 714-720.

LEE, J. D. Química Inorgânica não tão Concisa. tradução da 5ª ed. Henrique E. Toma, Koiti Akati, Reginaldo C. Rocha - São Paulo: Blucher (1999).

LEVER, A. B. P. "Electronic characteristics of an extensive series of ruthenium complexes with the non-innocent o-benzoquinonedimine ligand: A pedagogical approach." Coordination Chemistry Reviews (2010) **254**(13–14): 1397-1405.

LLOBET, A. "Synthesis, spectral and redox properties of a new series of aqua complexes of ruthenium(II)." Inorganica Chimica Acta (1994) **221**(1–2): 125-131.

LOO, G. "Redox-sensitive mechanisms of phytochemical-mediated inhibition of cancer cell proliferation<sup>1</sup> (review)." The Journal of Nutritional Biochemistry (2003) **14**(2): 64-73.

MARKS, G. S., BRIEN, J. F., NAKATSU, K. AND MCLAUGHLIN, B. E. "Does carbon monoxide have a physiological function?" Trends in Pharmacological Sciences (1991). **12**(0): 185-188.

MARTIN, E., LEE, Y.-C. et al. "YC-1 activation of human soluble guanylyl cyclase has both heme-dependent and heme-independent components." Proceedings of the National Academy of Sciences (2001) **98**(23): 12938-12942.

MEGGERS, E. "Targeting proteins with metal complexes." Chemical Communications (2009) (9): 1001-1010.

MILLER, L. N., NAKANE, M., HSIEH, G. C., CHANG, R., KOLASA, T., MORELAND, R. B. AND BRIONI, J. D. "A-350619: A novel activator of soluble guanylyl cyclase." Life Sciences (2003) **72**(9): 1015-1025.

MIRANDA, K. M., ESPEY, M. G. AND WINK, D. A. "A discussion of the chemistry of oxidative and nitrosative stress in cytotoxicity." Journal of Inorganic Biochemistry (2000) **79**(1–4): 237-240.

MITTENDORF, J., WEIGAND, S., ALONSO-ALIJA, C., BISCHOFF, E., FEURER, A., GERISCH, M., KERN, A., KNORR, A., LANG, D., MUENTER, K., RADTKE, M., SCHIROK, H., SCHLEMMER, KH., STAHL, E., STRAUB, A.,

WUNDER, F. AND STASCH, JP. "Discovery of Riociguat (BAY 63-2521): A Potent, Oral Stimulator of Soluble Guanylate Cyclase for the Treatment of Pulmonary Hypertension." ChemMedChem (2009) **4**(5): 853-865.

MOYER, B. A. AND T. J. MEYER "Reduction of nitrate ion by (bpy)<sub>2</sub>pyRu(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub><sup>+</sup>." Journal of the American Chemical Society (1979) **101**(5): 1326-1328.

MOYER, B. A. AND MEYER, T. J. "Properties of the oxo/aqua system (bpy)<sub>2</sub>(py)RuO<sub>2</sub><sup>+</sup>/(bpy)<sub>2</sub>(py)Ru(OH<sub>2</sub>)<sub>2</sub><sup>+</sup>." Inorganic Chemistry (1981) **20**(2): 436-444.

MÜLSCH, A., BAUERSACHS, J., SCHÄFER, A., STASCH, J. P., KAST, R. AND BUSSE, R. "Effect of YC-1, an NO-independent, superoxide-sensitive stimulator of soluble guanylyl cyclase, on smooth muscle responsiveness to nitrovasodilators." British Journal of Pharmacology (1997) **120**(4): 681-689.

MURALIDHARAN, S. AND BOON, E. M.. "Heme Flattening Is Sufficient for Signal Transduction in the H-NOX Family." Journal of the American Chemical Society (2012) **134**(4): 2044-2046.

NAKANE, M. Soluble Guanylyl Cyclase: Physiological Role as an NO Receptor and the Potential Molecular Target for Therapeutic Application. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. (2003) **41**: 865.

NAMACHIVAYAM, P., THEILEN, U., BUTT, W. W., COOPER, S. M., PENNY, D. J. AND SHEKERDEMIAN, L. S. "Sildenafil Prevents Rebound Pulmonary Hypertension after Withdrawal of Nitric Oxide in Children." American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine (2006) **174**(9): 1042-1047.

NAZEERUDDIN, MD K., ZAKEERUDDIN, S. M., HUMPHRY-BAKER, R., GORELSKY, S. I., LEVER, A. B. P. AND GRÄTZEL, M.. "Synthesis, spectroscopic and a ZINDO study of cis- and trans-(X<sub>2</sub>)bis(4,4'-dicarboxylic acid-2,2'-bipyridine)ruthenium(II) complexes (X=Cl<sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O, NCS<sup>-</sup>)." Coordination Chemistry Reviews (2000) **208**(1): 213-225.

OHLSTEIN, E. H., WOOD, K. S., AND IGNARRO, L. J. "Purification and properties of heme-deficient hepatic soluble guanylate cyclase: Effects of heme and other factors on enzyme activation by NO, NO-heme, and protoporphyrin IX." Archives of Biochemistry and Biophysics (1982) **218**(1): 187-198.

PAL, B. AND KITAGAWA, T. "Binding of YC-1/BAY 41-2272 to soluble guanylate cyclase: A new perspective to the mechanism of activation." Biochemical and biophysical research communications (2010) **397**(3): 375-379.

POULOS, T. L. "Soluble guanylate cyclase." Current Opinion in Structural Biology (2006) **16**(6): 736-743.

PRIVIERO, F. B. AND WEBB, R. C. "Heme-dependent and independent soluble guanylate cyclase activators and vasodilation." Journal of cardiovascular pharmacology (2010) **56**(3): 229.

RALL, T. W. AND SUTHERLAND, E. W. "FORMATION OF A CYCLIC ADENINE RIBONUCLEOTIDE BY TISSUE PARTICLES." Journal of Biological Chemistry (1958) **232**(2): 1065-1076.

REISNER, E., ARION, V. B., RUFINSKA, A., CHIORESCU, I., SCHMID, W. F. AND KEPPLER, B. K. "Isomeric [RuCl<sub>2</sub>(dmsO)<sub>2</sub>(indazole)<sub>2</sub>] complexes: ruthenium(ii)-mediated coupling reaction of acetonitrile with 1H-indazole." Dalton Transactions (2005) (14): 2355-2364.

ROSENBERG, B., CAMP, L. V., GRIMLEY, E. B. AND THOMSON, A. J. "The Inhibition of Growth or Cell Division in Escherichia coli by Different Ionic Species of Platinum(IV) Complexes." Journal of Biological Chemistry (1967) **242**(6): 1347-1352.

ROSENBERG, B. AND VANCAMP, L. "The Successful Regression of Large Solid Sarcoma 180 Tumors by Platinum Compounds." Cancer Research (1970) **30**(6): 1799-1802.

RYBALKIN, S. D., RYBALKINA, I. G., SHIMIZU-ALBERGINE, M., TANG, X. AND BEAVO, J. A. "PDE5 is converted to an activated state upon cGMP binding to the GAF A domain." The EMBO Journal (2003) **22**(3): 469-478.

SAWYER, D. T. AND VALENTINE, J. S. "How super is superoxide?" Accounts of Chemical Research (1981) **14**(12): 393-400.

SCHMIDT, P. M., ROTHKEGEL, C., WUNDER, F., SCHRÖDER, H. AND STASCH, J. P. "Residues stabilizing the heme moiety of the nitric oxide sensor soluble guanylate cyclase." European Journal of Pharmacology (2005) **513**(1-2): 67-74.

STASCH, J. P., BECKER, E. M., ALONSO-ALIJA, C., APELER, H., DEMBOWSKY, K., FEURER, A., GERZER, R., MINUTH, T., PERZBORN, E., PLEISZ, U., SCHRODER, H., SCHROEDER, W., STAHL, E., STEINKE, W., STRAUB, A. AND SCHRAMM, M. "NO-independent regulatory site on soluble guanylate cyclase." Nature (2001) **410**(6825): 212-215.

STEWART, I. C., BENITEZ, D., O'LEARY, D. J., TKATCHOUK, E., DAY, M. W., GODDARD, W. A. AND GRUBBS, R. H. "Conformations of N-Heterocyclic Carbene Ligands in Ruthenium Complexes Relevant to Olefin Metathesis." Journal of the American Chemical Society (2009) **131**(5): 1931-1938.

STEWART, S., MACINTYRE, K., HOLE, D. J., CAPEWELL, S. AND MCMURRAY, J. J. V. "More 'malignant' than cancer? Five-year survival following a first admission for heart failure." European Journal of Heart Failure (2001). **3**(3): 315-322.

SULLIVAN, B. P., SALMON, D. J. AND MEYER, T. J.. "Mixed phosphine 2,2'-bipyridine complexes of ruthenium." Inorganic Chemistry (1978) **17**(12): 3334-3341.

TABIMA, D. M., FRIZZELL, S. AND GLADWIN, M. T. "Reactive oxygen and nitrogen species in pulmonary hypertension." Free Radical Biology and Medicine (2012) **52**(9): 1970-1986.

TAKEUCHI, K. J., THOMPSON, M. S., PIPES, D. W. AND MEYER, T. J. "Redox and spectral properties of monooxo polypyridyl complexes of ruthenium and osmium in aqueous media." Inorganic Chemistry (1984) **23**(13): 1845-1851.

TESMER, J. J. G., SUNAHARA, R. K., GILMAN, A. G. AND SPRANG, S. R. "Crystal Structure of the Catalytic Domains of Adenylyl Cyclase in a Complex with G $\alpha$ ·GTP $\gamma$ S." Science (1997) **278**(5345): 1907-1916.

THORPE, D. S. AND GARBERS, D. L. "The membrane form of guanylate cyclase. Homology with a subunit of the cytoplasmic form of the enzyme." Journal of Biological Chemistry (1989) **264**(11): 6545-6549.

TOGNILOLO, V., SILVA, R. S. AND TEDESCO, A. C. "Photo-induced nitric oxide release from chlorobis(2,2'-bipyridine)nitrosylruthenium(II) in aqueous solution." Inorganica Chimica Acta (2001) **316**(1-2): 7-12.

TSAI, E. J. AND KASS, D. A.. "Cyclic GMP signaling in cardiovascular pathophysiology and therapeutics." Pharmacology & Therapeutics (2009) **122**(3): 216-238.

VAN VLIET, P. M., HAASNOOT, J. G. AND REEDIJK, J. "Binding of 9-Methylhypoxanthine and 9-Ethylguanine to [cis-Ru (2, 2'-bipyridine) 2] 2+. NMR and X-ray Structure of cis-Chlorobis (2, 2'-bipyridine)(9-ethylguanine-. kappa. N7) ruthenium (II) Chloride." Inorganic Chemistry (1994) **33**(9): 1934-1939.

VELETSKY, N. I., DEMENTIEV, I. A., ERSHOV, A. Y. AND NIKOL'SKII, A. B. "Photochemistry of bridged symmetrical polypyridyl ruthenium(II) complexes." Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry (1995) **89**(2): 99-103.

WALSH, J. L. AND DURHAM, B. "Trans isomers of ruthenium(II) complexes containing two bipyridine ligands." Inorganic Chemistry (1982) **21**(1): 329-332.

WEI, Q. H., HAN, L. J., CHEN, J. H., XIAO, F. N., ZENG, S. L. AND CHEN, G. N. "Electrochemical behavior of Ru(H2bpp)2(PF6)2 and its interaction with bovine serum albumin (BSA)." Chinese Chemical Letters (2011) **22**(6): 713-716.

WILSON, E. M. AND CHINKERS, M. "Identification of sequences mediating guanylyl cyclase dimerization." Biochemistry (1995) **34**(14): 4696-4701.

WOLIN, M. S., WOOD, K. S. AND IGNARRO, L. J. "Guanylate cyclase from bovine lung. A kinetic analysis of the regulation of the purified soluble enzyme by protoporphyrin IX, heme, and nitrosyl-heme." Journal of Biological Chemistry. (1982). **257**(22): 13312-13320.

WU, C. C., KO, F. N. S., KUO, C., LEE, F. Y., AND TENG, C. M. "YC-1 inhibited human platelet aggregation through NO-independent activation of soluble guanylate cyclase." British Journal of Pharmacology. (1995). **116**(3): 1973-1978.

YOUNES, M. AND WESER, U. "Inhibition of nitroblue tetrazolium reduction by cuprein (superoxide dismutase), Cu (tyr)2 and Cu (lys) 2." FEBS letters. (1976). **61**(2): 209-212.

YOUNES, M. AND WESER, U. "Inhibition of nitroblue tetrazolium reduction by cuprein (superoxide dismutase), Cu(tyr)2 and Cu(lys)2." FEBS Letters. (1976). **61**(2): 209-212.

ZAMPAGLIONE, B., PASCALE, C., MARCHISIO, M. AND PERIN, P. C. "Hypertensive Urgencies and Emergencies: Prevalence and Clinical Presentation." Hypertension. (1996). **27**(1): 144-147.

ZHANG, M. AND KASS, D. A. "Phosphodiesterases and Cardiac cGMP: Evolving Roles and Controversies." Trends in Pharmacological Sciences. (2011). **32**(6): 360-365.

OBI, F., HOHL, M., ZIMMERMANN, I. AND ALBERTO, R. "Binding of 9-Methylguanine to [cis-Ru(2,2'-bpy)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>: First X-ray Structure of a cis-Bis Purine Complex of Ruthenium." Inorganic Chemistry. (2004). **43**(9): 2771-2772.

## 7. Anexos

Os resultados do trabalho geraram duas publicações: um artigo publicado na Dalton Transactions, intitulado Non-nitric oxide based metallovasodilators: synthesis, reactivity and biological studies; e uma patente depositada intitulada “Metalocompostos Aplicados para o Tratamento de Distúrbios Cardiovasculares, Endoteliais, Pulmonares, e suas Formulações Farmacêuticas.

Dalton  
Transactions



PAPER



Cite this: Dalton Trans., 2015, 44, 13633

### Non-nitric oxide based metallovasodilators: synthesis, reactivity and biological studies†

Denise S. Sá,<sup>a,b</sup> André F. Fernandes,<sup>b</sup> Carlos D. S. Silva,<sup>a,b</sup> Paula P. C. Costa,<sup>c</sup> Manassés C. Fonteles,<sup>c</sup> Nilberto R. F. Nascimento,<sup>c</sup> Luiz G. F. Lopes<sup>d</sup> and Eduardo H. S. Sousa<sup>a,b</sup>

There is an increasing number of compounds developed to target one or more pathways involved in vasodilation. Some studies conducted with azaindole and indazole derivatives showed cardiovascular activity associated with these compounds. Fast and easy structural modification of these organic molecules can be achieved using metal complexes promoting a much larger spatial change than organic strategies, potentially leading to novel drugs. Here, we have prepared a series of complexes with a formula  $cis-[RuCl(L)(bpy)_2]PF_6$ , where L = 7-azaindole (7-ain), 5-azaindole (5-ain), 4-azaindole (4-ain), indazole (indz), benzimidazole (bzim) or quinoline (qui), which were characterized by spectroscopic and electrochemical techniques (CV, DPV). These compounds showed reasonable stability exhibiting photoreactivity only at low wavelength along with superoxide scavenger activity. Cytotoxicity assays indicated their low activity preliminarily supporting *in vivo* application. Interestingly, vasodilation assays conducted in rat aorta exhibited great activity that largely improved compared to free ligands and even better than the well-studied organic compound (BAY 41-42272), with  $IC_{50}$  reaching 55 nM. These results have validated this strategy opening new opportunities to further develop cardiovascular agents based on metallo-bicyclic rings.

Received 27th April 2015,  
Accepted 18th June 2015  
DOI: 10.1039/c5dt01582k  
www.rsc.org/dalton

## 1. Introduction

Cardiovascular diseases are among the leading causes of death worldwide. In many cases, the origin of these diseases is associated with disturbances in the endogenous production of cyclic guanosine-3',5'-monophosphate (cGMP), malfunctioning of cGMP-dependent kinases (PKG) and phosphodiesterase (PDE) proteins. Despite the advances in diagnosis and treatment, cardiovascular diseases continue to be among the leading causes of deaths worldwide. cGMP is an intracellular second messenger that regulates a variety of physiological processes, such as neurotransmission, relaxation of smooth muscle, regulation of blood pressure and platelet aggregation among others.<sup>1,2</sup>

Cyclic GMP is endogenously produced from the conversion of guanosine triphosphate (GTP), which is catalyzed by soluble

guanylate cyclase (sGC). This enzyme is a heme protein activated by nitric oxide (NO), which accelerates cGMP production up to 400-fold.<sup>3</sup> Once cGMP is produced it binds to PKG leading, for example, to a decrease in blood pressure. On the other hand, active PDE catalyzes the hydrolysis of cGMP disrupting this process. In cases of hypertension, the use of drugs able to stimulate the activation of sGC, PKG activation and/or inhibition of PDE5 could be essential in vasodilation.<sup>4,5</sup> Unfortunately, NO is not a molecule only selective to sGC, and NO donors can lead to interactions with a variety of off targets, which might cause other side effects or diseases. Therefore, we sought to develop compounds that could act in the vasodilation process even in the absence of NO.

YC-1 (3-(5'-hydroxymethyl-2'-furyl)-1-benzylindazol), Fig. 1, was the first synthetic organic compound to be used in the activation of sGC independent of NO.<sup>6</sup> This compound stimulates the activation of sGC, but the mechanism of action of YC-1 is not yet fully elucidated. Moreover, its sGC activation is not as significant as that promoted by NO, however it can cause activation in combination with carbon monoxide (CO) or subnanomolar concentration of NO.<sup>7,8</sup> A series of other analogous compounds were developed, e.g. BAY41-2272 (Fig. 1), which has shown much higher stimulation of sGC activity, including PDE5 inhibition.<sup>4</sup> However, BAY41-2272 activity in inhibiting PDE5 is only significant at high concentrations,

<sup>a</sup>Department of Chemistry, Federal Institute of Bahia, Salvador, 40301-250, Brazil

<sup>b</sup>Group of Biocatalysis, Department of Organic and Inorganic Chemistry, Federal University of Ceará, PO Box 6021, Fortaleza, 60460-900, Brazil.  
E-mail: eduardos@ufc.br

<sup>c</sup>Department of Physiology and Pharmacology, Superior Institute of Biomedical Sciences, State University of Ceará, Pausanias Av. 1700, Fortaleza, Ceará 60740-60, Brazil

† Electronic supplementary information (ESI) available: Fig. S1 to S12, Tables S1 and S2, Scheme S1. See DOI: 10.1039/c5dt01582k

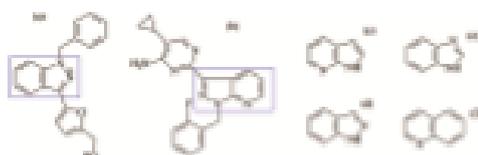


Fig. 1 (a) YC-1; (b) 897-41-2272; (c) 7-aminindole (ind) and isomers; (d) indazole (indz); (e) benzimidazole (benz); (f) quinoline (qui).

which is not biologically relevant.<sup>8</sup> On the other hand, clinically used sildenafil works by inhibiting PDE5 and therefore keeps the concentration of cGMP high, as required for vasodilation. However, this drug is still dependent on the presence of normal levels of NO, whose deficiency disables or minimizes its pharmacological effect.<sup>19,21</sup>

Given the structural limitations associated with the use of organic compounds to stimulate vasodilation, it is necessary to develop alternatives to prepare more effective drugs for this purpose.<sup>22</sup> It is known that transition metal compounds have the ability to alter the electronic distribution of the ligands thus influencing their reactivity and binding to the protein active site.<sup>23–25</sup> Additionally, a modification of organic molecules with the metal complex can promote a larger structural and spatial diversity due to the larger number of geometries, which has been used successfully for developing kinase inhibitors elsewhere.<sup>26,27</sup> Since the pharmacological activity of YC-1 and its derivatives (e.g. 897) is based on indazole and indazole (Fig. 1) structures,<sup>28</sup> we have prepared a small series of ruthenium complexes with these types of ligands and investigated their chemical and biological properties for their use as potential vasodilators.

## 2. Experimental

### 2.1. Materials

$\text{cis}[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$  was prepared according to published procedures.<sup>29</sup> All other chemicals were of reagent grade purchased from Sigma-Aldrich or Santa Cruz Biotechnology and used without further purification. Water used in all experiments was obtained using a Direct-Q3/UV (Millipore) system (>18 MΩ cm).

### 2.2. Synthesis of $\text{cis}[\text{RuCl}_2(\text{L})_2]\text{PF}_6$

These syntheses were based on procedures described in the literature for compounds of similar preparation methods.<sup>29,30</sup> Briefly, a 150.0 mg of  $\text{cis}[\text{RuCl}_2(\text{bpy})_2]$  (P060000) (0.31 mmol) was dissolved in 20 mL of a 3 : 1 ethanol : water mixture and kept under argon flow and refluxed for 15 minutes. After this 0.31 mmol of the organic ligand (L) was added, which was previously dissolved or mixed with 5 mL of a 3 : 1 ethanol : water solution. This reaction mixture was kept under reflux for 2 h, followed by addition of 340 mg of  $\text{PF}_6^-$  (2 mmol). This solu-

tion was reprecipitated to remove ethanol and kept in a refrigerator, and then a solid was collected by filtration, washed with water and diethyl ether, dried and stored under vacuum in the absence of light. Yield was better than 80%.

2.2.1.  $\text{cis}[\text{RuCl}_2(\text{ind})_2]\text{PF}_6$  (P060007), ind = 7-aminindole. Elemental analysis, calculated (found): C: 45.55 (45.73); H: 3.11 (3.09); N: 11.80 (11.77). <sup>1</sup>H NMR:  $\delta$  (DMSO, 300 MHz) 12.21 (1H), 10.02 (1H), 8.82 (1H), 8.68 (1H), 8.63 (1H), 8.56 (1H), 8.32 (1H), 8.19 (1H), 8.09 (1H), 7.99 (1H), 7.95 (1H), 7.89 (1H), 7.82 (1H), 7.77 (1H), 7.68 (1H), 7.60 (1H), 7.58 (1H), 7.35 (1H), 7.24 (1H), 7.22 (1H), 6.87 (1H), 6.51 (1H). Electronic spectrum in acetonitrile  $\lambda(\text{nm})/\log \epsilon (\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$ : 242/4.44, 250/4.76, 261/4.64, 493/3.94. IR (KBr pellet,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3319, 2986, 2966, 1674, 1600, 1545, 1423–995, 840, 763, 729, 515, 429. Conductivity measured in acetonitrile (1 mmol L<sup>-1</sup>) is 160 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup> (1 : 1).

2.2.2.  $\text{cis}[\text{RuCl}_2(\text{5-ain})_2]\text{PF}_6 \cdot 0.5 \text{H}_2\text{O}$  (P060008), 5-ain = 5-aminindole. Elemental analysis, calculated (found): C: 45.55 (46.15); H: 3.11 (3.34); N: 11.51 (11.62). <sup>1</sup>H NMR:  $\delta$  (DMSO, 300 MHz) 11.81 (1H), 9.96 (1H), 8.77 (1H), 8.69–8.50 (2H), 8.15 (1H), 8.09 (1H), 7.92–7.85 (2H), 7.68 (1H), 7.50 (1H), 7.28–7.24 (2H), 7.28 (1H), 6.57 (1H). Electronic spectrum in acetonitrile  $\lambda(\text{nm})/\log \epsilon (\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$ : 243/4.18, 249/4.70, 352/4.09, 513/3.90. IR (KBr pellet,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3643, 2966, 2948, 1629, 1599, 1573, 1500–1030, 813, 770, 737, 662, 623, 562, 421. Conductivity measured in acetonitrile (1 mmol L<sup>-1</sup>) is 137 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup> (1 : 1).

2.2.3.  $\text{cis}[\text{RuCl}_2(4-\text{ain})_2]\text{PF}_6$  (P060004), 4-ain = 4-aminindole. Elemental analysis, % calculated and (% found): C: 44.42 (43.27); H: 3.11 (3.10); N: 11.80 (11.47). <sup>1</sup>H NMR:  $\delta$  (DMSO, 300 MHz) 11.54 (1H), 9.99 (1H), 9.09 (1H), 8.81 (1H), 8.71–8.66 (1H), 8.52–8.41 (2H), 8.36 (1H), 8.32–8.04 (1H), 7.96–7.89 (1H), 7.77 (1H), 7.69 (1H), 7.58–7.52 (1H), 7.28–7.24 (1H), 5.84 (1H). Electronic spectrum in acetonitrile  $\lambda(\text{nm})/\log \epsilon (\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$ : 242/4.56, 250/4.82, 355/4.23, 497/3.99. FTIR (KBr pellet,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3432, 2992, 1623, 1603, 1563, 1500–973, 843, 763, 729, 623, 523, 423. Conductivity measured in acetonitrile (1 mmol L<sup>-1</sup>) is 158 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup> (1 : 1).

2.2.4.  $\text{cis}[\text{RuCl}_2(\text{benz})_2]\text{PF}_6$  (P060001), benz = benzimidazole. Elemental analysis, % calculated and (% found): C: 45.55 (44.98); H: 3.11 (3.23); N: 11.80 (11.62). <sup>1</sup>H NMR:  $\delta$  (DMSO, 300 MHz) 13.20 (1H), 9.25 (1H), 8.78–8.70 (2H), 8.57 (1H), 8.31 (1H), 8.43 (1H), 8.26 (1H), 8.13–8.04 (2H), 7.95 (1H), 7.87–7.82 (1H), 7.74–7.67 (2H), 7.60–7.54 (2H), 7.48 (1H), 7.41 (1H), 7.29–7.22 (2H), 7.10–7.05 (2H). Electronic spectrum in acetonitrile  $\lambda(\text{nm})/\log \epsilon (\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1})$ : 238/3.69, 295/3.92, 332/3.15, 503/3.11. FTIR (KBr pellet,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3643, 1629, 1600, 1567, 1500–1000, 816, 770, 730, 649, 599, 553, 424. Conductivity measured in acetonitrile (1 mmol L<sup>-1</sup>) is 138 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup> (1 : 1).

2.2.5.  $\text{cis}[\text{RuCl}_2(\text{indz})_2]\text{PF}_6 \cdot 0.5 \text{H}_2\text{O}$  (P060002), indz = indazole. Elemental analysis, % calculated and (% found): C: 47.42 (46.26); H: 3.31 (3.49); N: 11.51 (11.99). <sup>1</sup>H NMR:  $\delta$  (DMSO, 300 MHz) 12.94 (1H), 9.68 (1H), 8.79–8.25 (4H), 8.15 (1H), 8.24–8.11 (2H), 7.99–7.92 (2H), 7.86–7.78 (2H), 7.71–7.66 (2H), 7.48–7.20 (4H), 7.10 (1H). Electronic spectrum in acetonitrile

$\lambda$  (nm)/log  $\epsilon$  ( $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 242/4.34, 252/4.63, 340/3.90, 492/3.92. FTIR (KBr pellet,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3345, 3100, 2900, 1624, 1604, 1587, 1500–1000, 836, 770, 730, 649, 599, 552, 450. Conductivity measured in acetonitrile (1 mmol  $L^{-1}$ ) is 161  $S \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$  (1 : 1).

3.2.6. *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(5-COH-ind)(bpy)]<sub>2</sub>PF<sub>6</sub>·2H<sub>2</sub>O (P060024), 5-COH-ind = 1/2 indazole 5-carboxaldehyde. Elemental analysis, % calculated and (% found): C: 44.37 (44.90); H: 2.39 (3.21); N: 11.89 (10.99). Electronic spectra in acetonitrile  $\lambda$  (nm)/log  $\epsilon$  ( $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 237/4.63, 291/4.81, 363/4.11, 470/3.99. <sup>1</sup>H NMR:  $\delta$  (DMSO, 300 MHz) 13.42 (1H), 10.87 (1H), 9.86 (1H), 8.79 (1H), 88.72 (1H), 8.68 (1H), 8.67 (1H), 8.38 (1H), 8.25 (1H), 8.17 (1H), 8.13 (1H), 7.98 (1H), 7.94 (1H), 7.84 (2H), 7.77 (1H), 7.68 (1H), 7.59 (1H), 7.39 (1H), 7.31 (1H). FTIR (KBr pellet,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3386, 2916, 2846, 1689, 1604, 1442, 1382, 1145, 840, 783, 583, 438. Conductivity measured in acetonitrile (1 mmol  $L^{-1}$ ) is 145  $S \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$  (1 : 1).

3.2.7. *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(qui)(bpy)]<sub>2</sub>PF<sub>6</sub>·CH<sub>2</sub>Cl (P060004), qui = quinoline. Elemental analysis, % calculated and (% found): C: 43.77 (43.84); H: 2.87 (2.92); N: 8.21 (8.26). Electronic spectra in acetonitrile  $\lambda$  (nm)/log  $\epsilon$  ( $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ): 238/4.54, 290/4.62, 377/3.79, 494/5.82. <sup>1</sup>H NMR:  $\delta$  (DMSO, 300 MHz) 10.03 (1H), 9.87 (1H), 8.96 (1H), 8.74 (1H), 8.70 (1H), 8.38 (1H), 8.36 (1H), 8.21 (1H), 8.21 (1H), 8.19 (1H), 8.08 (1H), 8.03 (1H), 7.98–7.93 (2H), 7.75–7.69 (2H), 7.59 (1H), 7.49 (1H), 7.45–7.41 (2H), 7.31–7.24 (2H). FTIR (KBr pellet,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3050, 2925, 1608, 1593, 1473–1014, 827, 787, 725, 555. Conductivity measured in acetonitrile (1 mmol  $L^{-1}$ ) is 144  $S \text{ cm}^2 \text{ mol}^{-1}$  (1 : 1).

### 3.3. Apparatus

The electronic absorption spectrum was acquired on a Cary 5000 spectrophotometer (Varian) using a 1.0 cm quartz cell, where sample concentration was between  $0.5 \times 10^{-5}$  and  $1.0 \times 10^{-5}$  mol  $L^{-1}$  for most of the experiments, unless otherwise stated. The infrared spectrum was recorded on an ABB-BOMEM FT/AA 3000-103 spectrophotometer, using solid samples dispersed in KBr pellets. The electrochemical experiment was done using a BAS electrochemical analyser (Bioanalytical Systems-BAS, Spark model). A conventional three-electrode glass configuration cell with a glassy carbon of 0.128  $\text{cm}^2$  geometrical area, and a Pt foil was used as working and auxiliary electrodes, respectively. 0.1 mol  $L^{-1}$  PTBA in acetonitrile was used as an electrolyte for all ruthenium complexes, at 25 °C. The electrochemical potential value was measured versus Ag/AgCl (1.5 mol  $L^{-1}$  KCl, BAS) as the reference electrode and connected to a normal hydrogen electrode (NHE) and is cited accordingly throughout the text. Luminescence measurement was conducted in a 4-sided quartz cassette with excitation and emission slits of 5 nm, using a spectrofluorimeter QM-40 from Photon Technology International. NMR measurement was conducted in deuterated solvents (DMSO) using a 300 MHz Bruker spectrometer. Vasodilation in aortic rings was measured by means of isometric transducers (TR20002; Pandolfi, Barcelona, Spain) coupled with a data acquisition and analysis system (PowerLab, ADInstruments, Sydney, Australia).

### 3.4. Photochemical studies

The continuous photolysis experiment was performed in acetonitrile, methanol and dichloromethane solutions of the complexes using a 1 cm quartz cuvette. These experiments were carried out in a photochemical reactor using lamps of 300 nm and 420 nm.

### 3.5. Superoxide scavenging assay

Superoxide was generated using hypoxanthine and xanthine oxidase enzyme systems, which was measured with nitrocestatium blue dye (NBT) as described elsewhere.<sup>28</sup> This assay was conducted in 0.1 mol  $L^{-1}$  phosphate buffer pH 7.4, containing 10  $\mu\text{mol } L^{-1}$  xanthine oxidase, 150  $\mu\text{mol } L^{-1}$  hypoxanthine, 600  $\mu\text{mol } L^{-1}$  NBT and 100  $\mu\text{M}$  of metal complexes or their organic ligands (L). This reaction was maintained at 25 °C and monitored for 15 min by UV-vis at 560 nm. The data was fitted to a first order kinetic reaction and the maximum production of superoxide was used for comparison of scavenging efficiency. The control without metal complexes was assigned 100% and measurements taken relative to that one.<sup>28</sup>

### 3.6. Vasodilation assay

Rats were killed by overdose of sodium thiopental (150 mg  $\text{kg}^{-1}$ ). The thoracic aorta was carefully removed and cut in rings of approximately 5 mm length. These aortic rings were mounted in a 5 mL organ bath containing Krebs-Henseleit solution with the following composition: 120 mmol  $L^{-1}$  NaCl, 4.7 mmol  $L^{-1}$  KCl, 1.8 mmol  $L^{-1}$  CaCl<sub>2</sub>, 1.43 mmol  $L^{-1}$  MgCl<sub>2</sub>, 26 mmol  $L^{-1}$  NaHCO<sub>3</sub>, 1.17 mmol  $L^{-1}$  KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> and glucose, and maintained at 37 °C. After equilibration, the rings were precontracted with phenylephrine (PE, 0.2  $\mu\text{mol } L^{-1}$ ), and once a stable response to PE was achieved, cumulative concentration-response curves were constructed using metal-based compounds ranging from 0.1 mmol  $L^{-1}$  up to 100  $\mu\text{mol } L^{-1}$ . The tissue response was checked after these experiments to find out if the tissues were still functioning properly.

### 3.7. Cytotoxicity assay

Cytotoxicity measurements were carried out using HCT-116, Oesart, H1-40 and SF295 cells obtained as a gift from the National Cancer Institute, maintained in RPMI 1640 medium, supplemented with 10% FBS at 37 °C under an atmosphere of 5% CO<sub>2</sub>. Samples were evaluated using an MTT assay,<sup>27</sup> where cells were incubated for 72 hours with 25  $\mu\text{g mL}^{-1}$  of the complexes, and IC<sub>50</sub> was measured only for those compounds which caused at least 50% cell death during this assay. Readings were recorded using a 96-well plate reader spectrophotometer at 595 nm.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Synthesis and characterization of complexes with formula *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(L)(bpy)]<sub>2</sub>PF<sub>6</sub>

These complexes were prepared using a mixture of solvents ethanol/water under reflux, which enabled chloride ion

substitution by aromatic ligands used in stoichiometric amounts. An earlier color change from purple to red was noticed due to the formation of aquo species.<sup>24</sup> Once the ligands were added a further color change was observed suggesting coordination with the ruthenium complex (Table 1). This proposal was initially supported by elemental analysis of isolated complexes, which showed values consistent with the theoretical data. Moreover, these complexes showed electronic bands in the visible range from 400 to 500 nm, which differs from the precursor with bands from 300 to 400 nm (ESI Fig. S1†), along with bands of the ligands in the ultraviolet range. These data agreed with the better ability of the aromatic ligands to decrease LUMO energy due to the backbonding effect, promoting a larger gap for electronic transitions.

Hydrogen NMR spectra for the complexes *cis*-(RuCl<sub>2</sub>)(L)<sub>2</sub>[(py)<sub>2</sub>]<sub>2</sub>PF<sub>6</sub>, showed signals from 8.00 to 6.00 ppm, characteristic of pyridinic derivative hydrogens, with integrations consistent with the proposed species (Fig. 3), along with <sup>13</sup>C NMR signals found from 120 to 170 ppm (ESI Fig. S2–S4†). Moreover, all hydrogen signals between 11.00 ppm and 14.00 ppm were characteristic of N–H from ligands (L), which are also observed in the free ligand. Therefore, these data indicated that L was bound to the ruthenium metal complex, which causes electronic redistribution of charge particularly due to sigma bonding and the backbonding effect promoted by ruthenium. Despite the fact, some complexes showed additional smaller peaks (ESI Fig. S4–A†), they were not compatible with

Table 1 List of ligands, abbreviations and codes for complexes

Complexes	Ligand (abbreviation)	Structure of ligand
FOH001	Quinoline (qnl)	
FOH002	1 <i>H</i> -Indazole (ind)	
FOH003	1 <i>H</i> -Indazole-6-carboxylic acid (6-COOH ind)	
FOH004	Benzimidazole (ben)	
FOH005	4-Azaindazole (4-ain)	
FOH006	5-Azaindazole (5-ain)	
FOH007	7-Azaindazole (7-ain)	

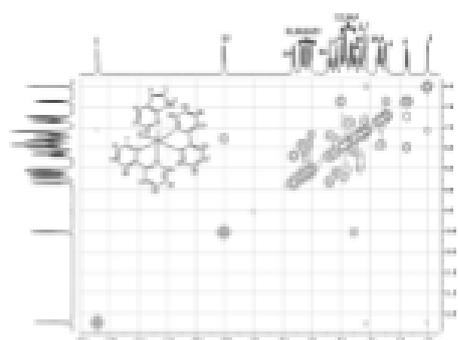


Fig. 2 COSY spectrum of FOH007 (*cis*-(RuCl<sub>2</sub>)-*cis*-(py)<sub>2</sub>PF<sub>6</sub>) in deuterated DMSO.

a free ligand or a precursor. Besides, these peaks were also solvent and temperature sensitive, suggesting that they might come from conformational species or even linkage isomers.

Molar conductivity was measured for all of these complexes at 1 mM concentration in acetonitrile. The conductivity value varied from 144 to 161 S cm<sup>2</sup> mol<sup>-1</sup>, which is indicative of a cation to anion ratio of 1 : 1. These results are consistent with the formulae proposed for the complexes (Table 1).

Fig. 3 illustrates the cyclic voltammogram profile of the FOH007 complex in acetonitrile (vs. Ag/AgCl), which is similar to the other complexes synthesized (Table 1, ESI Fig. S5†).

There is a pair of electrochemical waves (1a/1c) in the cyclic voltammograms of all complexes (Fig. 3, Table 2, ESI Fig. S5†), which is assigned to the Ru<sup>III</sup>/Ru<sup>II</sup> process based on the electrochemical behavior of similar complexes.<sup>26–28</sup> Comparing the oxidation potentials of these complexes to the precursor, FOH000, shown in Table 2, we observe that Ru<sup>II</sup> is harder to oxidize, where the electrochemical potentials are at least +400 mV higher than the precursor. These data are consistent with the  $\pi$ -acceptor ability of these ligands (L) in comparison with chloride, causing stabilization of the reduced state.

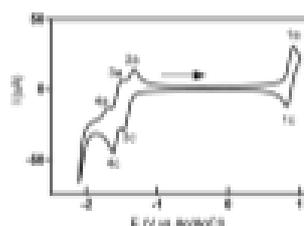
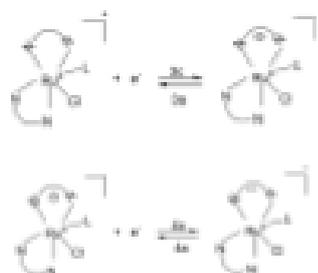


Fig. 3 Cyclic voltammogram of FOH007 in acetonitrile (MeCN)/tetrabutylammonium perchlorate (TBA) 0.1 mol L<sup>-1</sup>. Rate scan: 100 mV s<sup>-1</sup>.

Table 2 Electrochemical potentials of the complexes in MeCN/0.01M TBAH, Ag/AgCl

	1a/1c	2a	3a/3c	4a/4c
PO0000	+0.36(+0.38)	-1.49	-1.79 (1c)	-1.89/-1.88
PO0001	+0.87(+0.79)	-1.36	-1.40 (1c)	-1.70/-1.68
PO0002	+0.90(+0.82)	-1.34	-1.66/-1.58	-1.75/-1.68
PO0003A	+0.94(+0.85)			
PO0003	+0.76(+0.68)	-1.41	-1.61/-1.43	-1.85/-1.60
PO0004	+0.78(+0.70)	-1.38	-1.66/-1.43	-1.85/-1.62
PO0005	+0.78(+0.69)	-1.33	-1.57/-1.51	-1.80/-1.75
PO0007	+0.91(+0.82)	-1.32	-1.49/-1.48	-1.69/-1.61



Scheme 1

The highest electrochemical potential for  $\text{Ru}^{\text{II}}/\text{Ru}^{\text{III}}$  was measured for PO0002 and PO0007, which suggests indole and 7-azaindole are likely the strongest  $\pi$ -acceptor ligands among them. Similarly as reported by Cruz and colleagues,<sup>20</sup> the waves found at negative potentials are assigned to an electrochemical process involving 3,3'-bipyridine (bpy), as illustrated in Scheme 1.

### 3.2. Photoreactivity

Once indole and its isomers exhibit fluorescence, the emission spectrum of the synthesized complex was also recorded in methanol. Fig. 3 shows the PO0002 emission band with the maximum at 315 nm, close to free indole (at 292 nm), but it exhibited a slightly distinct structured band. However, there is a dramatic decrease in ligand emission upon coordination with the  $\text{Ru}^{\text{II}}$  fragment  $[\text{RuCl}(\text{bpy})_2]^+$ , analogous behavior is observed for the other complexes studied here. This type of behavior has been described before for other ligands elsewhere.<sup>21</sup> Interestingly, emission spectra for PO0002 showed an increased intensity at 315 nm and a shift toward a peak at 292 nm after successive measurements with excitation at 292 nm (Fig. 4a). This behavior was not observed using only the free ligand (Fig. 4b). These data suggested there is a photochemical reaction that takes place causing the release of the ligand (L) upon light irradiation. These spectroscopic changes were observed in methanol and acetonitrile.

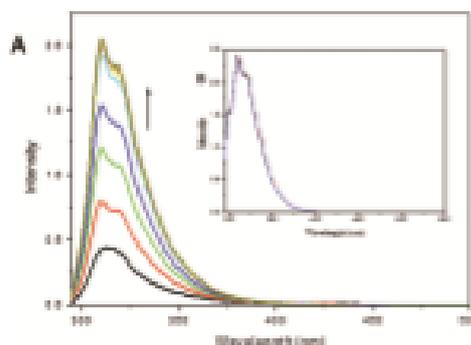


Fig. 4 Emission spectrum of PO0002, 24.5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (A) indole (blue) 0.2  $\mu\text{mol L}^{-1}$  (B) in MeCN, at different times of ultraviolet light irradiation. Excitation at 292 nm.

Spectroscopic change of the UV-vis spectrum for PO0002 was noticed upon irradiation in acetonitrile (see Fig. S6-A†), which was also noticed for the other complexes described here. Moreover, the same final spectrum for all the complexes under study was observed, suggesting formation of an identical product after photolysis. Similar behavior was noticed upon light irradiation at 430 nm (see Fig. S6-B†), suggesting that these complexes should be protected from light.

According to Cruz *et al.*<sup>20</sup> and Ingler<sup>22</sup> light irradiation can lead to a transient electron transfer from  $\text{Ru}^{\text{II}}$  to bipyridine promoting noncovalent ligand substitution by the solvent. Once light at 300 nm and 430 nm are sufficient to form excited species of the type  $\text{cis}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{Cl})(\text{bpy})_2(\text{bpy})]^+$  it is reasonable to observe solvolysis. This is reinforced by the fact that we observe the identical final product after irradiation independent of the complex used (see Table S1†), suggesting that  $\text{cis}[\text{RuCl}(\text{solvent})(\text{bpy})_2]^+$  is mainly formed. Since there is transient production of the  $\text{Ru}^{\text{III}}$  complex right after irradiation, based on spectroscopic similarities, and  $\text{Ru}^{\text{II}}-\text{Cl}^-$  bonding being stronger than  $\text{Ru}^{\text{II}}-\text{Cl}^-$ , it is reasonable to propose that the chloride ion is kept bound. On the other hand, aromatic ligand L can be more strongly bound to  $\text{Ru}^{\text{II}}$  than  $\text{Ru}^{\text{III}}$ , once the former is a  $\sigma$ -donor metal, so this could explain its photo-release and replacement by solvent (see Scheme S1†). Another aspect supporting this proposal relates to the MLCT band of  $\text{cis}[\text{Ru}(\text{MeCN})_2(\text{bpy})_2]^+$  at 436 nm, which was not observed upon light irradiation.

### 3.3. Reaction with superoxide

Cardiovascular disorders have consistently exhibited generation of radical oxygen species (ROS), including superoxide, which has been associated with tissue damage and disruption of other physiological pathways.<sup>23</sup> Here, we investigated the reaction of the superoxide with these ruthenium-based compounds, which could eventually work preventing these harmful activities. This measurement was carried out using

hypoxanthine/thymine oxidase as a superoxide generator and NBT as a detection dye. Superoxide promotes reduction of NBT to formazan, a blue dye that is used to quantify this radical when it is measured at 540 nm.<sup>24</sup>

These ruthenium complexes *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>, were investigated to see if they were susceptible to superoxide, and their reactions were followed in a buffered solution at 25 °C. Fig. 5 shows **RO0002** reacting with the superoxide in a concentration-dependent manner, where a decrease in formazan production was observed. Similar behavior was observed for the other complexes studied here, whose values are reported as IC<sub>50</sub> in Table 3.

Since the formation of reduced NBT or formazan is dependent on the presence of the superoxide ion,<sup>24</sup> *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> hinders the reaction of NBT with O<sub>2</sub><sup>-</sup>. Interestingly, these complexes did not show any direct reaction with NBT, neither inhibition of hypoxanthine oxidase, supporting their direct reaction with O<sub>2</sub><sup>-</sup>.

Based on the kinetics curves shown in Fig. 5, the minimum concentration of compound required for the consumption of 50% of O<sub>2</sub><sup>-</sup> (IC<sub>50</sub>) was determined as described elsewhere,<sup>24</sup> whose data are shown in Table 3. According to the data in Table 3, **RO0002** and **RO0007** are the least efficient scavengers, where higher concentrations are required to deplete superoxide. On the other hand, **RO0003** required only 45 μM to

consume 50% of the superoxide produced, almost twice more effective than others. These data are consistent with the electrochemical potential measured for Ru<sup>2+/3+</sup> in *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> (Table 3), indicating these compounds could be indeed oxidized by the superoxide produced *in vivo*.

Curiously, ruthenium complex **RO0005** displayed distinct IC<sub>50</sub> values toward the superoxide, despite their identical electrochemical potentials (Table 3). This result suggested that this reaction cannot be fully explained based on their redox reaction as the driving force, but it might also involve frontier molecular orbitals as relevant for this process. Further studies are required to shed more light on this reaction.

Nevertheless, these data indicated that there is a possibility of preparing *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup> complexes working also as antioxidants in biological medium. So, these compounds could contribute to minimize oxidative stress by decreasing the concentration of O<sub>2</sub><sup>-</sup> in the medium. As ROS are described as disabling sGM and also as the cause for several diseases,<sup>25</sup> it is interesting to mention that these compounds could eventually consume one of these reactive species as well.

Since, all these reactions took place in phosphate buffered solution, the stability of **RO0007** was checked (*cis*-[RuCl(*cis*)-(bpy)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>) under such conditions. The appearance of a new wave at 0.41 V followed by the disappearance of a wave at 0.73 V within 3 hours was observed by differential pulse voltammetry (DPV Fig. S7†). Interestingly, the precursor *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>] under these conditions showed three waves at 0.10 V, 0.57 V (minor signal) and 0.76 V, assigned to *cis*-[Ru(II)Cl<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>], *cis*-[RuCl<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>] and *cis*-[Ru(II)Cl<sub>2</sub>(bpy)<sub>2</sub>], respectively. Additionally, once this complex was placed in 10% DMF : water a consistent increase in electrical conductivity was observed over time (ESI Fig. S7†). These data support a relatively fast chloride release, which was reported for other similar complexes before,<sup>26</sup> and production of (*cis*-[Ru(II)Cl(*cis*)-(bpy)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>).

### 3.4. Vasodilation activity

Aiming to investigate the vasodilator potential for these metal-based compounds rat aortic rings pre-contracted with phenylephrine and measurements of their dose-response were used. The five bicyclic ligands were also tested, but their activities were always much lower than the complexes as measured by their IC<sub>50</sub> values, corresponding to the concentration causing 50% of vasodilation. These results are shown in Fig. 6 and Table 4.

Vasodilation activity was measured side-by-side with a control compound (RAY-413272), where most of the complexes showed better activity than the control (Fig. 6). Indeed, **RO0005** was 3-fold more active than the organic compound RAY-413272. Interestingly, there is a clear enhancement on vasodilatory activity upon incorporation of the metal-based fragment [RuCl(bpy)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>. The most remarkable case was for the 3-aminotriazole ligand, where the vasodilator activity was enhanced up to 150 times upon coordination with the ruthenium moiety. Preliminary data have shown that **RO0005** promoted a relevant increase of cGMP levels in these tissues (ESI Fig. S8†). These results support this strategy as a suitable route to develop newer potent cardiovascular agents.

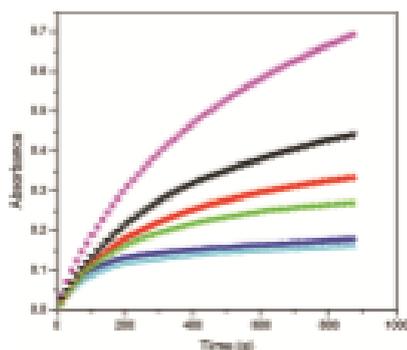


Fig. 5 Reaction of ruthenium complex **RO0002** with superoxide using NBT dye in phosphate buffer pH 7.4 at 25 °C, followed at 540 nm. Concentrations in μmol L<sup>-1</sup>: 25 (black); 50 (red); 75 (green); 112.5 (blue); 150 (cyan) and control (magenta).

Table 3 Superoxide reactivity and electrochemical behavior ( $E_{red}$ ) of *cis*-[RuCl(L)(bpy)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>, versus Ag/AgCl

Complex	IC <sub>50</sub> (μmol L <sup>-1</sup> )	$E_{red}$ (V)
<b>RO0007</b>	86	+0.87
<b>RO0008</b>	86	+0.85
<b>RO0005</b>	28	+0.78
<b>RO0003</b>	45	+0.73

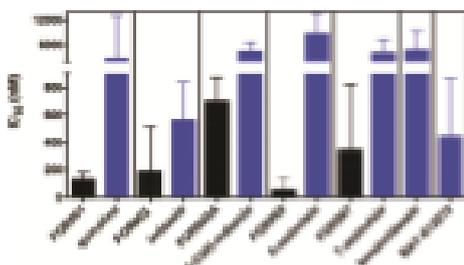


Fig. 6 Measurement of vasodilation activity of  $\text{cis-[RuCl}_2(\text{bpy})_2\text{]}^{2+}$ , (black), free ligands (blue) and P10001–100020 (blue) using rat aortic rings.

Table 4 Vasodilation assay for  $\text{cis-[RuCl}_2(\text{bpy})_2\text{]}^{2+}$  using rat aortic rings ( $\text{EC}_{50}$  values)

	Free ligand ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	Complex ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )
P100001	3300	130
P100002	560	190
P100003	4300	700
P100004	4600	n.a.
P100005	8500	55
P100007	4000	340

Despite the fact there is no clear correlation of structure and activity yet, it is interesting to note that the most active complex showed lower electrochemical potential than the least active. Unless we have a larger library to investigate these effects and identify hints on structure–activity we cannot assign this trend properly. Other metal complexes with distinct overall charge, backbonding effect and surrounding auxiliary ligands are going to be prepared with the aim to answer these questions.

Preliminary cytotoxicity assays were done using three cancer cell lines (human ovarian (Ovarcar-8), human glioblastoma (SF-298) and human colorectal (HCT-116)). However, significant blockage of cell growth was not observed (see Fig. S8–S10, Table S2†), indicating that these complexes do not exhibit expressive cytotoxicity. Indeed, particularly for the most active compound P100005 with vasodilatory activity at 55 nM, even 35  $\mu\text{M}$  of this compound did not show significant inhibition of cancer cell growth, suggesting a potential selectivity index for this compound above 600.

## 4. Conclusions

Here, we prepared and characterized a series of ruthenium-based complexes aiming to provide structural diversity to bicyclic aromatic ligands, which share similarity with organic stimulators developed for soluble guanylate cyclase. Our biological data have supported a proof-of-principle for this strategy, where azaindoles or indazoles, much simpler structures of VC-1 and BAY-412272, showed very efficient vasodilatory

activity using inorganic chemistry modification, e.g.  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ . Indeed, one of these complexes, P100005 ( $\text{EC}_{50} = 55$  nM), was 8-fold more active than BAY-412272. Besides that, they showed apparently low cytotoxicity and promising reactivity toward superoxide, which might have further impact on the development of newer cardiovascular agents. Particularly regarding ROS species produced during cardiovascular disorders, they have been described to impair the sGC activity making nitric oxide donors inefficient. This problem has caused researchers to propose co-administration of ROS scavenger agents to maximize efficiency of therapy.<sup>34</sup> So, this work opens up new opportunities to design agents by combining vasodilatory activity and potential ROS scavenger action in the same therapeutic agent. Unfortunately, there is no evidence that these compounds promote direct activation of sGC. Indeed, preliminary studies conducted by Dr R. Martin and I. Sharina at UT Health Center at Houston did not show any significant direct activation of sGC (see, Fig. S12†), despite it was not being investigated upon stimulation with NO<sub>2</sub>O or even sGC. Nevertheless, we have observed a modest increase of cGMP levels measured upon P100005 treatment, which might indicate that these complexes target either NO-sGC (or oxidized sGC) and/or PDE (see, Fig. S8†). Mechanistic studies are going to be conducted to shed light on these biological activities.

Dedicated efforts have been made in our lab to prepare nitric oxide donors based on ruthenium complexes,<sup>35,37–39</sup> some of them carrying similar ruthenium moieties employed here. The activity of these complexes had been linked mainly to nitric oxide release. However, based on our data, it is possible to derive that some activity is associated with the ruthenium product. Additionally, it is likely that a combination of the ruthenium complexes prepared here with NO could lead to even better cardiovascular agents, e.g.  $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}\text{-nit}(\text{NO})^{2+}$ , which deserves further studies.

## Acknowledgements

The authors thank Dr Manuel Odeiro de Moraes and Trinity Emanuelly Lima Soares for their preliminary cytotoxicity measurements, and Dr Rudi Martin and Dr Irina Sharina for measurement of sGC activity *in vitro*, additionally we are thankful to CAPES, CNPq (L. G. E. Lopes 307732/2014-8), FINECAP (P19018 13535691-9) for financial support.

## Notes and references

- O. V. Bogrenov, P. Fischer, P. M. Schmidt, G. Hasko, H. H. H. W. Schmidt and J.-P. Stoeck, *Nat. Rev. Drug Discovery*, 2006, 5, 755–768.
- J. S. Rice, D. S. Barley and G. F. Baxter, *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.*, 2014, 19, 269–282.
- R. E. Donnelly and M. A. Marletta, *Ann. Rev. Biochem.*, 2012, 81, 511–559.
- J. P. Stoeck and O. V. Bogrenov, *Handb. Exp. Pharmacol.*, 2013, 218, 279–313.

- 5 M. Zhang and D. A. Kass, *Trends Pharmacol. Sci.*, 2011, **32**, 360–365.
- 6 E. H. Ko, C. C. Wu, S. C. Kao, E. Y. Lee and C. M. Teng, *Blood*, 1994, **84**, 4226–4231.
- 7 Y. S. Chan, E. J. Yoo and J. W. Park, *Cancer Lett.*, 2004, **207**, 1–7.
- 8 M. Hoericka, E. M. Becker, H. Apeler, T. Strichalek, H. Schneider, E. Gerner and J. P. Stasch, *J. Med. Med.*, 1999, **77**, 14–23.
- 9 F. Malkandhasan, M. Hussain, A. Frisch and D. Koesling, *Circulation*, 2004, **109**, 1711–1713.
- 10 F. B. Frisero and R. C. Webb, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 2010, **54**, 229–233.
- 11 S. Gar, P. J. Kadowitz, I. Garkas, S. Chandra, S. V. DeWitt, A. Harbin, S. G. Sikka, K. C. Agnew and W. J. Holstrom, *Exp. Biol.*, 2010, **106**, 78–83.
- 12 N. P. Barry and P. J. Sadler, *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 5106–5121.
- 13 E. Meggers, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2011, **50**, 2442–2448.
- 14 E. H. S. Sousa, F. G. de Mesquita Vieira, J. S. Botler, L. A. Basso, D. S. Santiago, I. C. Diogenes, L. G. Lopes and P. J. Sadler, *J. Inorg. Biochem.*, 2014, **140**, 236–244.
- 15 B. Gabriel-Lomonte, R. Brizosa, C. R. Kosso, A. Botler, S. Shosa, V. B. Arlon and B. K. Koppke, *Inorg. Chem.*, 2008, **47**, 6513–6525.
- 16 E. H. S. Sousa, D. L. Pontes, I. C. Diogenes, L. G. Lopes, J. S. Oliveira, L. A. Basso, D. S. Santos and I. S. Moreira, *J. Inorg. Biochem.*, 2005, **98**, 368–375.
- 17 M. Doer and E. Meggers, *Chem. Opin. Chem. Biol.*, 2014, **19**, 76–81.
- 18 J. X. Ong, C. W. Yap and W. H. Ang, *Inorg. Chem.*, 2012, **51**, 12482–12492.
- 19 A. J. Salmen, M. L. Williams, A. Innocenti, D. Walk, C. T. Supuran and S. A. Poulsen, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, **17**, 5012–5015.
- 20 L. Peng, Y. Gollweber, S. Blauk, A. Wilbauer, G. R. Athil-Gokcumen, P. Filippakopoulos, E. Krüger, M. A. Gellk, K. Harms, J. Maksimaska, R. Marmorstein, G. Fronking, S. Knapp, L. O. Essen and E. Meggers, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 5476–5486.
- 21 J. Maksimaska, L. Peng, K. Harms, C. Yi, J. Kissil, R. Marmorstein and E. Meggers, *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 15794–15795.
- 22 O. V. Bogdanov, P. Pachter, P. M. Schmidt, G. Hasko, H. H. Schmidt and J. P. Stasch, *Mol. Rev. Drug Discovery*, 2006, **5**, 755–768.
- 23 R. P. Sullivan, D. J. Salmon and T. J. Meyer, *Inorg. Chem.*, 1978, **17**, 3134–3141.
- 24 M. G. Souza, F. D. R. Oliveira, R. G. de Lima, A. D. L. Caçiani, E. Tlozmi and R. S. da Silva, *Inorg. Chem. Commun.*, 2006, **9**, 347–349.
- 25 F. O. N. Silva, S. X. B. Araújo, A. K. M. Holanda, R. Meyer, F. A. M. Sales, H. C. N. Diogenes, I. M. M. Carvalho, I. S. Moreira and L. G. F. Lopes, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2006, 3000–3006.
- 26 M. Younes and U. Weser, *FEBS Lett.*, 1976, **61**, 209–212.
- 27 T. Mosmann, *J. Immunol. Methods*, 1983, **65**, 55–63.
- 28 J. B. Goheen and T. J. Meyer, *Inorg. Chem.*, 1971, **10**, 471–474.
- 29 R. W. Callahan, G. M. Brown and T. J. Meyer, *Inorg. Chem.*, 1975, **14**, 1443–1451.
- 30 A. J. Cruz, R. Kirgan, K. Siam, P. Bellard and D. P. Kilena, *Inorg. Chim. Acta*, 2010, **363**, 2456–2465.
- 31 G. J. Wilson, A. Larrickovic, W. H. F. Sasse and A. W. H. Mau, *J. Phys. Chem. A*, 1997, **101**, 4860–4866.
- 32 S. D. Inglis, F. C. A. Lima, M. R. Camilo, J. R. S. Daniel, E. D. A. Santos, E. S. Lima-Pato and R. M. Carlos, *J. Braz. Chem. Soc.*, 2010, **21**, 157–168.
- 33 T. Mizuno, T. Goto, R. M. Bruno and S. Taddei, *Eur. Heart J.*, 2010, **31**, 2741–2748.
- 34 M. Younes and U. Weser, *FEBS Lett.*, 1976, **61**, 209–212.
- 35 F. R. Pólvora, S. M. Xerxes, C. R. Teixeira and R. C. Webb, *Am. J. Hypertens.*, 2009, **22**, 493–499.
- 36 M. R. Durkin and T. L. Mullins, *Aust. J. Chem.*, 1967, **20**, 657–668.
- 37 A. K. M. Holanda, D. L. Pontes, I. C. N. Diogenes, I. S. Moreira and L. G. F. Lopes, *Transition Met. Chem.*, 2004, **29**, 436.
- 38 F. O. N. da Silva, R. C. C. Gomes, T. D. Francisco, A. K. M. Holanda, I. C. N. Diogenes, E. H. S. de Sousa, L. G. F. Lopes and E. Longhinatti, *Prep. Polym.*, 2010, **29**, 3349–3354.
- 39 L. G. F. Lopes, E. H. S. Sousa, J. C. V. Miranda, C. P. Oliveira, I. M. M. Carvalho, A. A. Batista, J. Elina, E. F. Castellano, O. R. Nascimento and I. S. Moreira, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 2003, 1903–1909.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COORDENADORIA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA

### DECLARAÇÃO

Declaramos, para os devidos fins, que Denise Santos de Sá, é um dos inventores da patente intitulada “**Metalocompostos Aplicados para o Tratamento de Distúrbios Cardiovasculares, Endoteliais, Pulmonares, e suas Formulações Farmacêuticas**”, em depósito no INPI (Instituto Nacional de Propriedade Industrial), sob número de processo de patente definitivo BR 10 2014 027290 9.

Fortaleza, 17 de julho de 2015.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Gil de Aquino Farias', written over a horizontal line.

Prof. Gil de Aquino Farias  
Pró-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação

< Uso exclusivo do INPI >  
 INSTITUTO NACIONAL DE PROPRIEDADE INDUSTRIAL  
 PROTOCOLO GERAL

31/10/2014 14:36 DECE  
 013140000333

BR 10 2014 027290 9

Espaço reservado para o protocolo      Espaço reservado para a etiqueta      Espaço reservado para o código QR

---


**INPI** INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL  
**INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL**  
**Sistema de Gestão da Qualidade**  
**Diretoria de Patentes**

<b>DIRPA</b>	Tipo de Documento: <b>Formulário</b>	<b>DIRPA</b>	Página: <b>1/3</b>
Título do Documento: <b>Depósito de Pedido de Patente</b>		Código: <b>FQ001</b>	Versão: <b>2</b>
		Procedimento: <b>DIRPA-PQ006</b>	

**Ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial:**  
 O requerente solicita a concessão de um privilégio na natureza e nas condições abaixo indicadas:

1. **Depositante (71):**
  - 1.1 Nome: UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
  - 1.2 Qualificação: INSTITUIÇÃO DE ENSINO SUPERIOR
  - 1.3 CNPJ/CPF: 07272636000131
  - 1.4 Endereço Completo: AV. DA UNIVERSIDADE 2853, BENFICA
  - 1.5 CEP: 60020180
  - 1.6 Telefone: 85-33669434      1.7 Fax: 85-33669941
  - 1.8 E-mail: selma@ufc.br

continua em folha anexa

---

2. **Natureza:**     Invenção       Modelo de Utilidade       Certificado de Adição

---

3. **Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):**  
 "METALOCOMPOSTOS APLICADOS PARA O TRATAMENTO DE DISTÚRBIOS CARDIOVASCULARES, ENDOTELIAIS, PULMONARES, E SUAS FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS"

continua em folha anexa

---

4. **Pedido de Divisão: do pedido Nº**      **Data de Depósito:**

---

5. **Prioridade:**       Interna (66)       Unionista (30)

O depositante reivindica a(s) seguinte(s):

País ou Organização do depósito	Número do depósito (se disponível)	Data de depósito

continua em folha anexa


**INPI** INSTITUTO  
NACIONAL  
DA PROPRIEDADE  
INDUSTRIAL

**INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL**  
Sistema de Gestão da Qualidade  
Diretoria de Patentes

<b>DIRPA</b>	Tipo de Documento:	DIRPA	Página:
	Formulário		2/3
Título do Documento:		Código:	Versão:
<b>Depósito de Pedido de Patente</b>		FQ001	2
		Procedimento: DIRPA-PQ006	

**6. Inventor (72):**
 Assinale aqui se o(s) mesmo(s) requer(em) a não divulgação de seus nome(s), neste caso não preencher os campos abaixo.

6.1 Nome: EDUARDO HENRIQUE SILVA DE SOUSA

6.2 Qualificação: DOUTOR EM QUIMICA

6.3 CPF: 50654020353

6.4 Endereço Completo: RUA JUVENAL DE CARVALHO 921 APT 103 BAIRRO DE FATIMA

6.5 CEP: 60050-220

6.6 Telefone: 85-33669978

6.7 FAX:

6.8 E-mail: eduardohss@dqoi.ufc.br

 continua em folha anexa

**7. Declaração de divulgação anterior não prejudicial.**

 Artigo 12 da LPI – período de graça.   
Informe no item 11.13 os documentos anexados, se houver.

**8. Declaração na forma do item 3.2 da Instrução Normativa PR nº 17/2013:**
 Declaro que os dados fornecidos no presente formulário são idênticos ao da certidão de depósito ou documento equivalente do pedido cuja prioridade está sendo reivindicada.

**9. Procurador (74):**

9.1 Nome:

9.2 CNPJ/CPF:

9.3 API/OAB:

9.4 Endereço Completo:

9.5 CEP:

9.6 Telefone:

9.7 FAX:

9.8 E-mail:

 continua em folha anexa

**10. Listagem de sequências biológicas.**

 Informe nos itens 11.9 ao 11.12 os documentos anexados, se houver.


**INPI** INSTITUTO  
NACIONAL  
DA PROPRIEDADE  
INDUSTRIAL

**INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL**  
Sistema de Gestão da Qualidade  
Diretoria de Patentes

<b>DIRPA</b>	Tipo de Documento: <b>Formulário</b>	<b>DIRPA</b>	Página: <b>3/3</b>
Título do Documento: <b>Depósito de Pedido de Patente</b>		Código: <b>FQ001</b>	Versão: <b>2</b>
		Procedimento: <b>DIRPA-PQ006</b>	

**11. Documentos Anexados:**

(Assinale e indique também o número de folhas);

(Deverá ser indicado o número total de somente uma das vias de cada documento).

	Documentos Anexados		folhas
<input checked="" type="checkbox"/>	11.1	Guia de Recolhimento da União (GRU).	01
<input type="checkbox"/>	11.2	Procuração.	
<input type="checkbox"/>	11.3	Documentos de Prioridade.	
<input type="checkbox"/>	11.4	Documento de contrato de trabalho.	
<input checked="" type="checkbox"/>	11.5	Relatório descritivo.	27
<input checked="" type="checkbox"/>	11.6	Reivindicações.	02
<input checked="" type="checkbox"/>	11.7	Desenho(s) (se houver). Sugestão de figura a ser publicada com o resumo: nº. <u>03</u> por melhor representar a invenção (sujeito à avaliação do INPI).	10
<input checked="" type="checkbox"/>	11.8	Resumo.	01
<input type="checkbox"/>	11.9	Listagem de seqüências em arquivo eletrônico: _____ nº de CDs ou DVDs (original e cópia).	
<input type="checkbox"/>	11.10	Código de controle alfanumérico no formato de código de barras referente às listagem de seqüências.	
<input type="checkbox"/>	11.11	Listagem de seqüências em formato impresso.	
<input type="checkbox"/>	11.12	Declaração relativa à Listagem de seqüências.	
<input checked="" type="checkbox"/>	11.13	Outros (especificar) INVENTORES	02

**12. Total de folhas anexadas:** 43 fls.

**13. Declaro, sob as penas da Lei que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.**

FORTALEZA, 14 de Outubro de 2014

Local e Data

Assinatura e Carimbo

 Prof. Jesualdo Pereira Farias  
Reitor da UFC

**"Metalocompostos Aplicados para o Tratamento de Distúrbios Cardiovasculares,  
Endoteliais, Pulmonares, e suas Formulações Farmacêuticas"**

**Resumo**

A presente invenção trata do emprego de metalocompostos derivados de ligantes orgânicos aza-bicíclicos e similares N-heterocíclicos no tratamento e profilaxia de doenças cardiovasculares, pulmonares, endoteliais tais como hipertensão arterial, pulmonar, trombozes, angina pectoris, insuficiência cardíaca, arteriosclerose, desordem cardiovascular inflamatória, disfunção erétil, cirrose hepática, diabetes, doença renal crônica, choque anafilático, glaucoma, osteoporose, dentre outras associadas a ação destes metalocompostos na enzima guanilato ciclase solúvel e ou fosfodiesterases, proteína quinase cGMP dependente, Rho quinase (ROCK) e renina e sistemas correlatos.