



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

**SÍNTESE E FUNCIONALIZAÇÃO DE NITROSILO COMPLEXOS DE
RUTÊNIO DO TIPO *cis*-[Ru(bpy)₂(L)NO] EM NANOPARTÍCULAS
METÁLICAS**

WALYSSON GOMES PEREIRA

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes
Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa

FORTALEZA - CE

2013



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

**SÍNTESE E FUNCIONALIZAÇÃO DE NITROSILO COMPLEXOS DE
RUTÊNIO DO TIPO *cis*-[Ru(bpy)₂(L)NO] EM NANOPARTÍCULAS
METÁLICAS**

WALYSSON GOMES PEREIRA

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes

Dissertação de mestrado submetida à Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Ceará como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Fortaleza, Março de 2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P496s Pereira, Walysson Gomes.

Síntese e funcionalização de nitrosilo complexos de rutênio do tipo cis-[Ru(bpy)2(L)NO] em nanopartículas metálicas / Walysson Gomes Pereira. – 2013.

112 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2013.

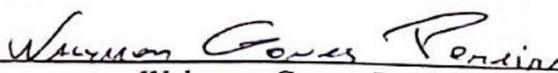
Orientação: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes.

Coorientação: Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa.

1. óxido nítrico. 2. nitrosilo complexos de rutênio. 3. nanopartículas metálicas. 4. terapia fotodinâmica. I. Título.

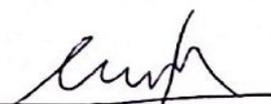
CDD 540

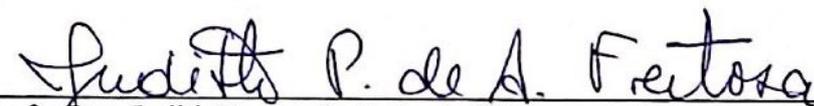
Esta Dissertação foi aprovada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Química, área de concentração Química Inorgânica, outorgada pela Universidade Federal do Ceará, em cuja Biblioteca de Ciências e Tecnologia/UFC encontra-se à disposição dos interessados.

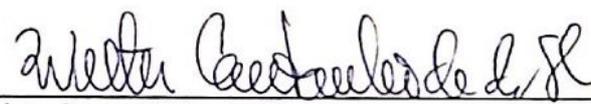

Walysson Gomes Pereira

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 14/03/2013.

EXAMINADORES:


Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes
Universidade Federal do Ceará – UFC


Prof. Dra. Judith Pessoa de Andrade Feitosa
Universidade Federal do Ceará – UFC


Prof. Dr. Welter Cantanhêde da Silva
Universidade Federal do Piauí – UFPI

"Este trabalho é especialmente dedicado a memória do meu pai, Raimundo Iran Soares Pereira, que, infelizmente, partiu no ano de 2012. Seja onde estiver, saiba que serei eternamente grato pelos, não muitos, mas especiais momentos em que estivemos juntos".

Agradecimentos

Gostaria, antes de tudo, de agradecer a Deus, pela oportunidade da vida, dom tão valioso, mas tantas vezes depreciado.

Gostaria de agradecer a minha mãe, Maria Eunice Gomes da Silva, por todo amor que dedicou e ainda dedica a mim em todos os momentos.

A minha amada namorada, Katianny Jorge Viana. Parafraseando Carl Sagan: "Diante da vastidão do espaço e na imensidade do tempo, é uma alegria pra mim partilhar um planeta e uma época com você Katianny".

Ao meu orientador, Prof.Dr.Luiz Gonzaga de França Lopes, por toda paciência e confiança depositados em mim durante os dois anos de execução deste trabalho.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa, sem o qual este trabalho não existiria, sendo a sua contribuição imensurável.

Aos membros de meu exame de conhecimento Prof^a.Dr^a.Jeanny Silva Maciel, Prof^a.Dr^a.Judith de Andrade Feitosa e Prof^a.Dr^a.Alda Karine Medeiros Feitosa pelas contribuições e sugestões dados ao presente trabalho.

Aos professores do Programa de pós-graduação em química da Universidade Federal do Ceará, por todo o conhecimento ofertado durante as disciplinas.

Aos membros do Laboratório de Polímeros (LABPOL) da UFC, Natália e Vinicius, pela realização dos experimentos no equipamento NanoZeta Sizer.

Aos amigos do Laboratório de Bioinorgânica: Adílson, Aldenor, Amanda, André, Ari, Auridéia, Carlos, Denise, Dieric, Elis, Felipe, Florêncio, Gilmara, Jefferson, Jéssica, Júnior, Marquinhos, Michele, Natally, Natanna, Nayara, Ordelei,

Patrícia, Paula, Priscila, Ramon, Renato Soares, Ricardo Douglas, Samuel Santos, Samuel Victor, Sérgio, Tércio, Thiago Portela, Thiago Santos, Ticyano, Yves e todos os outros que não mencionei, pelo apoio oferecidos e os ótimos momentos de descontração e risadas que tivemos juntos.

Aos órgãos de fomento CNPq, CAPES e FUNCAP pelo apoio financeiro dado ao desenvolvimento do projeto.

A todos os outros que, embora não mencionados, contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	2
1.1. Nanociências e Nanotecnologia	2
1.2. Nanopartículas Metálicas	3
1.3. Óxido Nítrico: síntese, função e reatividade	8
1.4. Nitrosilo Complexos de Rutênio	10
1.5. Nitrosilos Complexos Suportados Sobre Matrizes Sólidas	12
2. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS	17
3. PARTE EXPERIMENTAL	21
3.1. Reagentes e Soluções	21
3.1.1. Natureza e Procedência de Reagentes e Solventes.....	21
3.2. Equipamentos e Técnicas Experimentais	22
3.2.1. Espectroscopia de Absorção no Infravermelho.....	22
3.2.2. Espectroscopia Eletrônica de Absorção no UV-Vís	22
3.2.3. Medidas Eletroquímicas	22
3.2.4. Ressonância Magnética Nuclear de ¹ H e ¹³ C	22
3.2.5. Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS) e Potencial Zeta	22
3.2.6. Estudos de Fotoliberação do NO	23
3.3. Síntese dos Complexos.....	23
3.3.1. Síntese do Complexo cis-[Ru(bpy) ₂ Cl ₂]	23
3.3.2. Síntese do Complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO ₂]PF ₆	23
3.3.3. Síntese do Complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO](PF ₆) ₃	23
3.3.4. Síntese do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)NO]PF ₆	23
3.4. Síntese das Nanopartículas Metálicas	24
3.4.1. Síntese e Diálise de Nanopartículas de Prata estabilizadas por citrato (NPsAg).....	24
3.4.2. Síntese das Nanopartículas de Ouro Estabilizadas por citrato (NPsAu).....	24
3.4.3. Síntese de NPsAg estabilizadas por Galactomanana da Fava Danta (GFD)	25

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4.1. Caracterização do Complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO](PF ₆) ₃	27
4.1.1. Caracterização por Espectroscopia de Absorção Vibracional no Infravermelho	27
4.1.2. Caracterização por Espectroscopia de Absorção Eletrônica no Ultravioleta e Visível.....	32
4.1.3. Caracterização por Voltametria Cíclica e Voltametria de Onda Quadrada	35
4.1.4. Caracterização por Ressonância Magnética Nuclear de ¹ H e ¹³ C	40
4.2. Estudo de Reatividade do Complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO](PF ₆) ₃	46
4.2.1. Reação Ácido-Base e interconversão Nitrosil-Nitrito	46
4.2.2. Estudo por Voltametria de Onda Quadrada.....	49
4.2.3. Liberação Fotoquímica do Óxido Nítrico.....	50
4.3. Síntese e Caracterização de Nanopartículas Metálicas.....	56
4.3.1. Nanopartículas de Prata (NPsAg).....	56
4.3.2. Nanopartículas de Ouro (NPsAu)	61
4.3.3. Nanopartículas de Prata Estabilizadas por Galactomanana da Fava Danta (GFD-NPsAg)	64
4.4. Funcionalização das Nanopartículas Metálicas Pelos Nitrosilo Complexos cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO](PF ₆) ₃ e cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)NO]PF ₆	67
4.4.1. Estudo com NPsAg	67
4.4.2. Estudos com NPsAu	74
4.4.3. Estudo com GFD-NPsAg	80
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	87
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89

Lista de Figuras

Figura 1. Materiais em diferentes escalas de tamanho, destacando aqueles em escala nanométrica (10 a 100nm).....	2
Figura 2. (a) O Cálice de Licurgo, apresentando a cor verde quando iluminado do exterior e a cor vermelha quando iluminado do seu interior. (b) Imagem de uma única nanopartícula metálica obtida por microscopia eletrônica de transmissão.....	4
Figura 3. Ilustração da interação da radiação eletromagnética com (a) nanoesferas metálicas e (b) nanobastões metálicos.....	5
Figura 4. Espectro de Absorção no UV-Visível de uma suspensão coloidal de nanopartículas dos metais nobres (ouro, prata e platina).....	6
Figura 5. Mecanismo de vasodilatação mediado pelo óxido nítrico (NO).....	9
Figura 6. Diagrama de orbital molecular para a molécula do NO.....	10
Figura 7. Fotoliberação do NO coordenado em meio aquoso a partir de complexos do tipo $[\text{Fe}(\text{CN})_4(\text{L})\text{NO}]^+$ suportados sobre esferas de sílica mesoporosas.....	13
Figura 8. Nanopartículas de platina modificadas por molécula orgânica doadora de NO. O NO é labilizado após irradiação próxima a 400 nm.....	14
Figura 9. Nanopartícula de ouro modificada pelo complexo cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{NO})(\text{ATPh})]\text{Cl}_2$ segundo Cao. O NO é liberado após irradiado a 430 nm.	15
Figura 10. Fórmula estrutural proposta para complexos do tipo cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})\text{NO}]$ bem como para os ligantes 1,4-ditiano e sulfito.....	18
Figura 11. Diferentes formas possíveis de coordenação do NO ao centro metálico. ...	27
Figura 12. Diferentes formas de ressonância para a coordenação linear do óxido nítrico a um centro metálico.....	28
Figura 13. Espectro vibracional na região do infravermelho para o complexo cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$	30
Figura 14. Espectro eletrônico do complexo cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ em: (—) água e (---) acetonitrila. $[\text{Ru}] = 3,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$	33
Figura 15. Espectros eletrônico dos complexos precursores: (—) cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Cl}_2]$, (---) cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}_2]\text{PF}_6$ e (—) cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ em acetonitrila. $[\text{Ru}] = 3,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$	34
Figura 16. Voltamograma cíclico obtido para o íon complexo cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}]^{3+}$ em NaTFA pH = 2,03. Sentido anódico. Velocidade de varredura de potencial 100 mVs^{-1}	36
Figura 17. Voltamograma de onda quadrada obtido para o íon complexo cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}]^{3+}$ em NaTFA pH = 2,03. Sentido catódico. Incremento de Varredura de 4mV, Amplitude do Pulso de 25mV e frequência do pulso de 15Hz.	37

Figura 18. Correlação entre os parâmetros eletroquímicos ($E_{1/2}$) e vibracionais (ν_{NO^+}) para complexos do tipo $[Ru(bpy)_2LNO]$.	38
Figura 19. Voltamogramas cíclicos para o íon complexo $cis-[Ru(bpy)_2(1,4-dt)NO]^{3+}$ nas velocidades de varredura de: (—) 50 mVs^{-1} , (—) 75 mVs^{-1} , (—) 100 mVs^{-1} , (—) 125 mVs^{-1} , (—) 150 mVs^{-1} e (—) 200 mVs^{-1} . Sentido catódico.	39
Figura 20. Espectro de RMN de 1H para o composto $cis-[Ru(bpy)_2(1,4-dt)NO](PF_6)_3$ em D_2COCD_3 e numeração dos núcleos hidrogênicos com a fórmula estrutural proposta.	41
Figura 21. Espectro de RMN de 1H bidimensional COSY para o íon complexo $cis-[Ru(bpy)_2(1,4-dt)NO](PF_6)_3$.	43
Figura 22. Espectro de RMN de ^{13}C para o complexo $cis-[Ru(bpy)_2(1,4-dt)NO](PF_6)_3$ em D_3COCD_3C .	45
Figura 23. Ilustração do ligante 1,4-dt coordenado ao Ru^{II} com a atribuição dos sinais de RMN de ^{13}C .	45
Figura 24. Espectro de UV-Vís para o íon complexo $cis-[Ru(bpy)_2(1,4-dt)NO]^{3+}$ em solução aquosa de NaTFA em diferentes valores de pH. Varredura realizada de 200 a 800 nm em temperatura ambiente.	47
Figura 25. Determinação do pH de equilíbrio da conversão da forma $[Ru-NO]^{3+}$ em $[Ru-NO_2]^+$ através da medida dos valores de absorvância a 408 nm em função do pH.	48
Figura 26. Voltamogramas de onda quadrada para o íon complexo $cis-[Ru(bpy)_2(1,4-dt)NO]^{3+}$ após polarização em 100 mV por: (—) 0 segundos, (—) 120 segundos e (—) 300 segundos. Sentido de varredura anódico. Incremento de varredura de 4mV, amplitude do pulso de 25mV e frequência da onda de 15Hz.	50
Figura 27. Estiramentos NO^+ após a exposição do complexo $cis-[Ru(bpy)_2(1,4-dt)NO](PF_6)_3$ no estado sólido a luz nos comprimento de onda (λ) de 350 nm após os tempos de exposição de: (—) 0 minutos, (—) 30 minutos, (—) 45 minutos e (—) 60 minutos.	51
Figura 28. Estiramentos NO^+ após a exposição do complexo $cis-[Ru(bpy)_2(1,4-dt)NO](PF_6)_3$ no estado sólido a luz nos comprimento de onda (λ) de 419 nm após os tempos de exposição de: (—) 0 minutos, (—) 30 minutos, (—) 45 minutos e (—) 60 minutos.	51
Figura 29. Estiramentos NO^+ após a exposição do complexo $cis-[Ru(bpy)_2(1,4-dt)NO](PF_6)_3$ no estado sólido a luz nos comprimento de onda (λ) de 575 nm após os tempos de exposição de: (—) 0 minutos, (—) 30 minutos, (—) 45 minutos e (—) 60 minutos.	52
Figura 30. Cronoamperograma referente a liberação de óxido nítrico a partir da reação de $NaNO_2$ em meio ácido na presença de KI.	53
Figura 31. Cronoamperogramas referentes à liberação de óxido nítrico a partir de soluções de: (—) $cis-[Ru(bpy)_2(1,4-dt)(H_2O)](PF_6)_2$ $29\ \mu\text{mol.L}^{-1}$, (—) $cis-[Ru(bpy)_2(1,4-$	

dt)NO](PF ₆) ₃ 8,5 μmol.L ⁻¹ , (—) cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO](PF ₆) ₃ 18 μmol.L ⁻¹ e (—) cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO](PF ₆) ₃ 29 μmol.L ⁻¹ em solução tampão pH 2,03.	54
Figura 32. Cronoamperogramas referente à liberação de óxido nítrico a partir de solução de cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO] ₂ PF ₆ em solução tampão pH 5.	56
Figura 33. Espectros de absorção no UV-Vís para as NPsAg sintetizadas, sendo o volume de KBr adicionado igual a: (—) 0 μL, (—) 10 μL, (—) 25 μL e (—) 40 μL.	57
Figura 34. Ilustração das NPsAg sintetizadas com diferentes concentrações de KBr, sendo o volume de KBr adicionados igual a: (a) 0 μL, (b) 10 μL, (c) 25 μL e (d) 40 μL.	58
Figura 35. Distribuição de tamanho das NPsAg estabilizadas por citrato em função do número de partículas em solução. pH = 8,3.	59
Figura 36. Distribuição de tamanho das NPsAg, estabilizadas por citrato em função do número de partículas em solução, após diálise da solução. pH = 4,5.	60
Figura 37. Acompanhamento espectral da redução de íons AuCl ₄ ⁻ por citrato de sódio em meio aquoso, com a consequente formação de NPsAu.	62
Figura 38. Mudança de coloração verificada durante a síntese de NPsAu pela redução de AuCl ₄ ⁻ em solução com citrato de sódio após: (a) 0 minutos, (b) 5 minutos (c) 10 minutos e (d) 15 minutos.	63
Figura 39. Distribuição de tamanho das NPsAg, estabilizadas por citrato em função do número de partículas em solução, após diálise da solução. pH = 7,8.	64
Figura 40. Estrutura básica de uma galactomanana com razão manose/galactose 3:1.	65
Figura 41. Espectro de Absorção no UV-visível para a suspensão de GFD-NPsAg sintetizada.	66
Figura 42. Imagem da suspensão coloidal de GFD-NPsAg sintetizada.	66
Figura 43. Varredura espectrofotométrica obtida para um volume de 3,00 mL de suspensão coloidal de NPsAg após a adição do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)NO]PF ₆ em concentrações iguais a: (a) 5 μmolL ⁻¹ , (b) 10 μmolL ⁻¹ , (c) 15 μmolL ⁻¹ , (d) 20 μmolL ⁻¹ e (e) 30 μmolL ⁻¹	68
Figura 44. Acompanhamento cinético do processo de agregação das nanopartículas após a adição do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)NO]PF ₆ nas concentrações de: (—) 5 μmolL ⁻¹ , (—) 10 μmolL ⁻¹ , (—) 15 μmolL ⁻¹ , (—) 20 μmolL ⁻¹ e (—) 30 μmolL ⁻¹	70
Figura 45. Modificação da cor da suspensão coloidal de NPsAg com a adição de diferentes concentrações do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)NO]PF ₆ . O líquido a direita é aquele após 24 horas da adição do complexo, onde há precipitação das NPsAg.	70
Figura 46. Varredura espectrofotométrica obtida para um volume de 3,00mL de suspensão coloidal de NPsAg após a adição do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO](PF ₆) ₃ em concentrações iguais a: (a) 5 μmolL ⁻¹ , (b) 10 μmolL ⁻¹ , (c) 20 μmolL ⁻¹ e (d) 30 μmolL ⁻¹	71

Figura 47. Acompanhamento cinético do processo de agregação das nanopartículas após a adição do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO](PF ₆) ₃ nas concentrações de: (→) 5 μmol.L ⁻¹ , (←) 10 μmol.L ⁻¹ , (→) 20 μmol.L ⁻¹ e (←) 30 μmol.L ⁻¹ .	73
Figura 48. Ilustração da AgNPs modificada por n moléculas do íon complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO] ³⁺ , ilustrando ainda a presença de citrato e PF ₆ ⁻ na superfície.	74
Figura 49. Varredura espectrofotométrica obtida para um volume de 3,00 mL de suspensão coloidal de NPs _{Au} após a adição do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)NO]PF ₆ em concentrações iguais a: (a) 5 μmol.L ⁻¹ , (b) 10 μmol.L ⁻¹ , (c) 15 μmol.L ⁻¹ , (d) 20 μmol.L ⁻¹ , (e) 30 μmol.L ⁻¹ e (f) 40 μmol.L ⁻¹ .	75
Figura 50. Imagem que indica a mudança de cor da suspensão de NPs _{Au} após a adição do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)NO]PF ₆ .	76
Figura 51. Acompanhamento cinético do processo de agregação das NPs _{Au} após a adição do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)NO]PF ₆ nas concentrações de: (→) 5 μmol.L ⁻¹ , (←) 10 μmol.L ⁻¹ , (→) 15 μmol.L ⁻¹ , (←) 20 μmol.L ⁻¹ , (→) 30 μmol.L ⁻¹ e (←) 40 μmol.L ⁻¹ .	77
Figura 52. Varredura espectrofotométrica obtida para um volume de 3,00 mL de suspensão coloidal de NPs _{Au} após a adição do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO](PF ₆) ₃ em concentrações iguais a: (a) 5 μmol.L ⁻¹ , (b) 10 μmol.L ⁻¹ , (c) 15 μmol.L ⁻¹ , (d) 20 μmol.L ⁻¹ , (e) 30 μmol.L ⁻¹ e (f) 40 μmol.L ⁻¹ .	78
Figura 53. Acompanhamento cinético do processo de agregação das NPs _{Au} após a adição do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO](PF ₆) ₃ nas concentrações de: (→) 5 μmol.L ⁻¹ , (←) 10 μmol.L ⁻¹ , (→) 15 μmol.L ⁻¹ , (←) 20 μmol.L ⁻¹ , (→) 30 μmol.L ⁻¹ e (←) 40 μmol.L ⁻¹ .	79
Figura 54. Espectro de absorção no UV-visível para a suspensão coloidal de GFD-NPs _{Ag} com a adição do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)NO]PF ₆ .	81
Figura 55. Espectro de absorção no UV-visível para a suspensão coloidal de GFD-NPs _{Ag} com a adição do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO](PF ₆) ₃ .	81
Figura 56. Espectro de absorção no UV-visível para a suspensão coloidal de GFD-NPs _{Ag} com a adição do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)NO]PF ₆ após diálise por 48 horas.	82
Figura 57. Espectro de absorção no UV-visível para a suspensão coloidal de GFD-NPs _{Ag} com a adição do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO]PF ₆ após diálise por 48 horas.	83
Figura 58. Cronoamperograma obtido após irradiação em 350 nm de: (→) solução do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO](PF ₆) ₃ e (←) suspensão coloidal de GFD-NPs _{Ag} modificados pelo complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO](PF ₆) ₃ .	85
Figura 59. Cronoamperograma obtido após irradiação em 419 nm de: (→) solução do complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO](PF ₆) ₃ e (←) suspensão coloidal de GFD-NPs _{Ag} modificados pelo complexo cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO](PF ₆) ₃ .	85

Lista de Tabelas

Tabela 1. Procedência dos reagentes utilizados durante a síntese e a caracterização dos complexos e nanopartículas.	21
Tabela 2. Influência dos ligantes auxiliares L na frequência de estiramento da ligação NO em complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{LNO}]^n$ onde L é: 1,4-ditiano(1,4-dt), imidazol (imn), isonicotinamida (isn), tiouréia (TU) e sulfito (SO_3^{2-}).	30
Tabela 3. Atribuição das bandas observadas por FTIR para o complexo cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$	31
Tabela 4. Valores de $E_{1/2}$ para os complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{LNO}]$ vs Ag/AgCl, onde L é: 1,4-ditiano(1,4-dt), imidazol (imn), isonicotinamida (isn), tiouréia (TU) e sulfito (SO_3^{2-}). Velocidade de varredura de $0,1\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$	38
Tabela 5. Deslocamentos químicos de ^1H e atribuições para o íon complexo cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}]^{3+}$	44
Tabela 6. Dados obtidos a partir da técnica de cronoamperometria com eletrodo seletivo a NO^0	54

RESUMO

No presente trabalho foi realizada a síntese de nitrosilo complexos de rutênio do tipo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})\text{NO}]^{n+}$, onde L = sulfito ou 1,4-ditiano. A síntese dos complexos se deu com o objetivo de estudar a interação dos compostos com nanopartículas metálicas, de prata e de ouro.

Visto que o complexo com L = 1,4-ditiano não é reportado na literatura, inicialmente, realizou-se a caracterização do composto. A caracterização do nitrosilo composto sintetizado se deu pelas técnicas de espectroscopia de absorção no infravermelho, no UV-Visível e por espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C . Os estiramentos verificados no espectro de infravermelho, bem como as bandas evidenciadas nos espectros de UV-Vís e RMN corroboram a formulação sugerida. Os complexos foram ainda caracterizados por Voltametria Cíclica e por Voltametria de Onda Quadrada, onde foi possível verificar um processo eletroquímico reversível com $E_{1/2} = 176\text{mV}$, corroborando para a característica π aceptora atribuída ao ligante 1,4-ditiano quando coordenado ao centro metálico.

Não obstante, estudos de reatividade foram realizados para a melhor compreensão das características químicas do composto $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}^+](\text{PF}_6)_3$. Com auxílio da espectroscopia de absorção no UV-Vis foi realizado o estudo da interconversão das formas nitrosilo-nitrito para o composto sintetizado. Foi verificado que em condições de pH ácido o NO^+ coordenado é susceptível ao ataque nucleofílico do meio, convertendo-se ao nitrito complexo. O pH de equilíbrio entre as formas nitrosilo-nitrito foi estimado em 2,9. No presente estudo foi ainda verificado que o nitrosilo complexo é passível de liberar NO, na forma de NO^0 , após redução eletroquímica, conforme verificado por voltametria de onda quadrada, ou por irradiação em 350 e 419nm, conforme experimento realizado sob acompanhamento cronoamperométrico com auxílio de eletrodo seletivo de NO.

Por outro lado, Nanopartículas de Prata (NPsAg) e Ouro (NPsAu), foram sintetizadas conforme procedimentos estabelecidos na literatura. Em ambos os tipos de nanopartículas foi verificado o aparecimento da banda de SPR, sugerindo a redução dos sais metálicos originais e o crescimento das nanopartículas, de acordo com o processo *Bottom-Up*. Tanto NPsAg como NPsAu exibem diâmetro médio próximo a 14nm, estimado por espalhamento dinâmico de luz. Experimentos de titulação espectrofotométrica das nanopartículas metálicas pela adição dos complexos $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}]^{3+}$ e $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)\text{NO}]\text{PF}_6$ foram realizadas, onde foi verificado que os nitrosilo complexos induzem a agregação irreversível tanto de NPsAg quanto de

NPsAu, sugerindo a interação dos compostos com a superfície das nanopartícula, por adsorção via átomo de enxofre e/ou atração eletrostática.

De modo a obter nanopartículas mais estáveis foram sintetizadas nanopartículas de prata estabilizadas estericamente pelo polissacarídeo galactomanana extraído da Fava Danta (GFD-NPsAg). A síntese das nanopartícula se deu pela redução de íons prata por boridreto de sódio na presença do polissacarídeo. Após sintetizadas, e adequadamente dialisadas, à suspensão GFD-NPsAg foi adicionado os nitrosilo complexos. A adição do complexo não induziu a agregação das nanopartículas. Foi verificado que, dentre os nitrosilo complexos utilizados, apenas o *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO]³⁺ interage com as nanopartículas de prata protegidas por galactomanana, indicando assim a funcionalização da superfície das nanopartículas pelo nitrosilo complexo via átomo de enxofre.

Deste modo, foi proposto um acompanhamento semi quantitativo do NO liberado do complexo funcionalizado as GFD-NPsAg em comparação ao nitrosilo complexo livre. É evidenciado o aumento da quantidade de NO liberado a partir do complexo ancorado as nanopartículas quando comparado ao complexo livre. Este fato indica uma contribuição da banda de SPR das GFD-NPsAg na fotoliberação do NO a partir do nitrosilo complexo estudado.

ABSTRACT

The synthesis of the complex of nitrosyl ruthenium type cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})\text{NO}]^{n+}$, L = sulfite or 1,4-dithiane was researched on the study. The synthesis of complexes made with the aim of studying the interaction of the compounds with silver and gold metal nanoparticles.

Since the complex with L = 1,4-dithiane is not reported in the literature initially the characterization of the compound was performed. The characterization of the compound of synthesized nitrosyl occurred by infrared absorption spectrum infrared techniques, in UV-Visible and by spectroscopy of ^1H and ^{13}C NMR. The verified stretches in the infrared spectrum, as well as the bands proven in the UV-Vis and NMR spectra confirm the suggested formulation. The complexes were also characterized by Cyclic voltammetry and by square wave voltammetry, which a reversible electrochemical process with $E_{1/2} = 176\text{mV}$ was observed, corroborating the acceptor characteristic attributed to the ligand 1,4-dithiane when coordinated to the metal center.

However, reactivity studies were conducted to better understand the chemical characteristics of the compound cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}^+](\text{PF}_6)_3$. Using the absorption spectroscopy in the UV-Vis was performed to study the interconversion of nitrosyl-nitrite forms for the synthesized compound. It was found that in the acid pH conditions coordinated NO + is susceptible to nucleophilic attack of the medium, converting to nitrite complex. The pH balance enters the nitrosyl-nitrite forms was estimated at 2.9. In the present study it was also observed that the nitrosyl complex is capable of releasing NO, as NO^0 after electrochemical reduction, as monitored by square wave voltammetry, or by irradiation at 350 and 419nm as the experiment carried out under chronoamperometric monitoring with the aid of selective electrode NO.

On the other hand, silver nanoparticles (NPsAg) and gold (NPsAu) were synthesized according to procedures in the literature. In both types of nanoparticles was observed the appearance of SPR band, suggesting the reduction of the original metal salts and growth of nanoparticles in accordance with the bottom-up process. NPsAg as well as NPsAu exhibit an average diameter close to 14nm, estimated by dynamic light scattering. Spectrophotometric titration experiments of metal nanoparticles by adding the complexes cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}]^{3+}$ and cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)\text{NO}]^+$ were held, which was found that the nitrosyl complex induces the irreversible aggregation of both NPsAg as NPsAu, suggesting the interaction of the compounds with the surface of the nanoparticle by adsorption via a sulfur atom and / or electrostatic attraction.

In order to obtain more stable nanoparticles Silver nanoparticles were synthesized by sterically stabilized galactomannan polysaccharide extracted from Fava Danta (GFD-NPsAg). The synthesis of the nanoparticle is made by reducing silver ions by sodium borohydride in the presence of the polysaccharide. Once synthesized, and adequately dialyzed, the GFD-NPsAg suspension nitrosyl complex was added. The addition of the compound did not induce aggregation of the nanoparticles. It was found that, among the nitrosyl complexes used only cis- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}]^{3+}$ interacts with

silver nanoparticles protected by galactomannan, thus indicating the functionalization of the surface of the nanoparticles by nitrosyl complex via the sulfur atom.

Thus, it was proposed a semi-quantitative monitoring of NO released from the complex functionalized GFD-NPsAg compared to the free nitrosyl complex. It is evident the increase in amount of NO released from the complex anchored nanoparticles when compared to the free compound. This indicates a contribution band SPR of GFD-NPsAg in photorealising of NO from nitrosyl studied complex.

Introdução



“Saber muito não lhe torna inteligente. A inteligência se traduz na forma que você recolhe, julga, maneja e, sobretudo, onde e como aplica esta informação.”

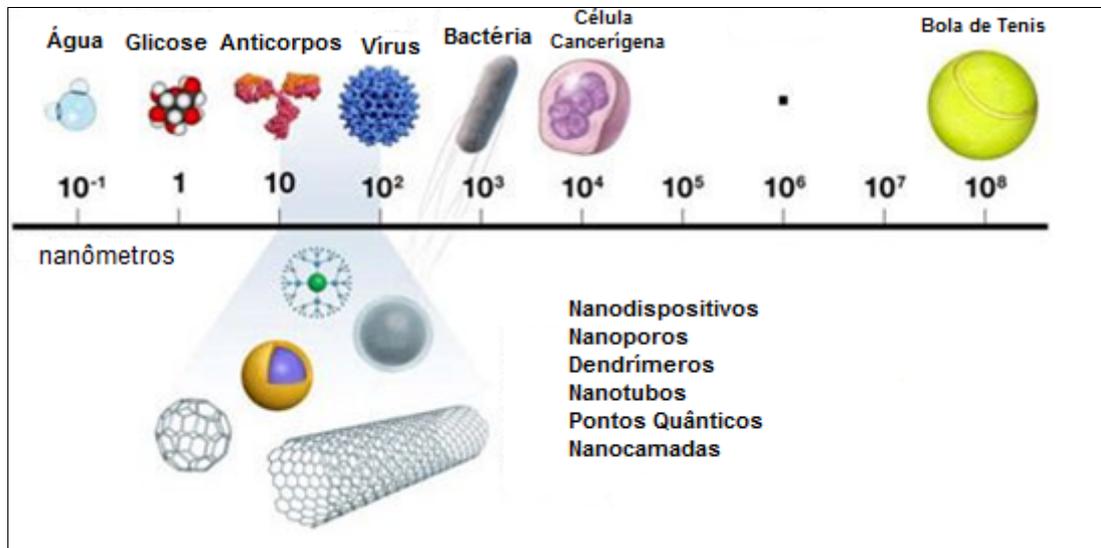
Carl Sagan

1. INTRODUÇÃO

1.1. Nanociências e Nanotecnologia

Nanociência é comumente definida como o estudo do fenômeno da manipulação de sistemas físicos que produzam informações significativas em nanoescala (1 a 100 nm), conforme ilustrado na Figura 1. Por outro lado, o termo nanotecnologia foi introduzido pelo engenheiro japonês Norio Tanigushi e refere-se a nanociência aplicada ao setor tecnológico¹. A maturação da nanociência e da nanotecnologia ocorreu mais notavelmente nos anos de 1950, a partir da conferência do físico Richard Feynman, intitulada “Há mais espaço lá embaixo”, apresentada durante a Reunião da Sociedade Americana de Física, contudo, foi a partir nos anos de 1980 com a descoberta dos fulerenos por Kroto² e a síntese dos nanotubos de carbono por Iijima³, que a nanociência e a nanotecnologia deixaram de ser consideradas pseudociências e passaram a ser tratadas com maior seriedade.

Figura 1. Materiais em diferentes escalas de tamanho, destacando aqueles em escala nanométrica (10 a 100 nm).



Quando os materiais se encontram em escala nanométrica, estes apresentam propriedades físicas (capacidade térmica, variedade de cores, condutividade) e químicas distintas daquelas observadas para materiais em macro e microescala⁴. Um dos principais motivos das diferentes propriedades apresentadas por nanomateriais é o aumento da razão área/volume, o que torna os efeitos de superfície fundamentalmente importantes em nanopartículas⁵. São estas características únicas

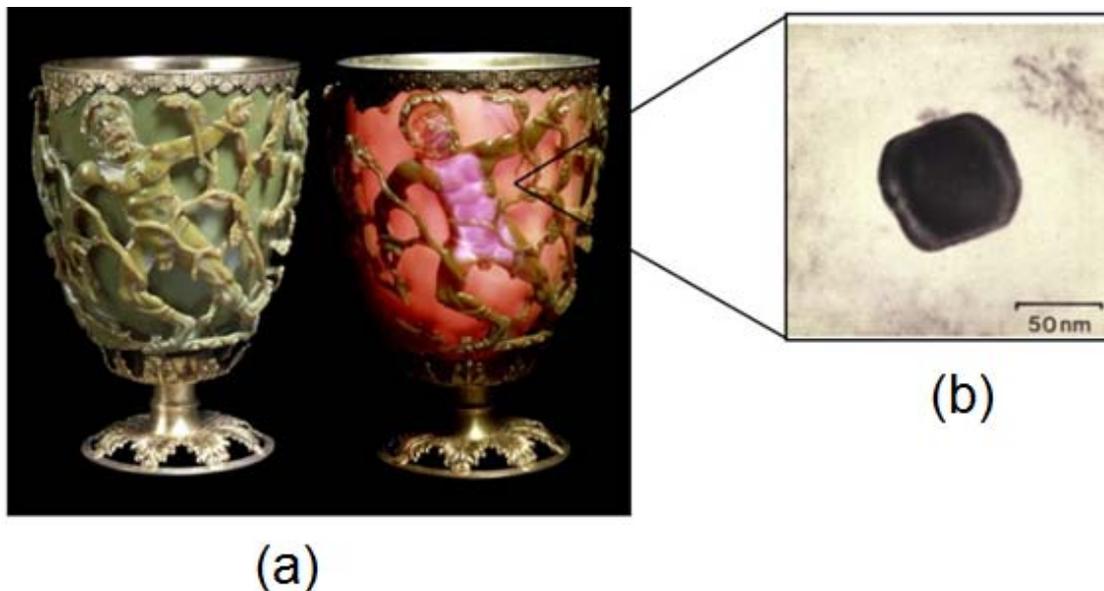
que tornam o uso de nanopartículas extremamente atrativo. Espera-se que o advento da nanotecnologia conduza a uma nova revolução industrial, se tornando a força motora do crescimento econômico neste século⁶.

Com este objetivo, investimentos massivos por parte dos órgãos e agências de fomento de todo o mundo são dispensados ao avanço da nanociência. Estima-se em US\$ 40 bilhões anuais os investimentos mundiais dispensados a nanotecnologia⁴. No Brasil, por exemplo, o Programa Nacional de Desenvolvimento em Nanotecnologia investiu cerca de US\$ 30 milhões no período de 2005 e 2006. Como resultado dos investimentos massivos em nanociência, algumas nanopartículas já se encontram disponíveis comercialmente. Nanopartículas de dióxido de titânio, ouro e prata estão sendo comercializadas, sendo adicionadas em materiais diversos, melhorando assim o desempenho destes. Nanotubos e nanopartículas que atuam como dispositivos de transporte de drogas no organismo humano também já estão próximos da comercialização⁴.

1.2. Nanopartículas Metálicas

Embora a nanociência seja uma recente vertente do conhecimento científico, o uso de nanopartículas metálicas remonta períodos longínquos da revolução tecnológica. Nanopartículas de metais nobres, por exemplo, faziam parte da composição do Cálice de Licurgo, um artefato do século IV a.C., feito de vidro com a incorporação de nanopartículas de ouro e prata (Figura 2)⁷. Se vista do exterior, a figura de Licurgo gravada no cálice apresenta a cor verde, enquanto que, se iluminada do seu interior, a figura de Licurgo no cálice torna-se vermelha. A distinção entre as cores decorre da absorção e espalhamento da luz pelas nanopartículas presentes na constituição do vidro⁷. Em 1856, Michael Faraday, em correspondência a George Gabriel Stokes, sugeriu que a cor vermelha de dispersões coloidais de ouro era decorrente de partículas de ouro finamente divididas⁸.

Figura 2. (a) O Cálice de Licurgo, apresentando a cor verde quando iluminado do exterior e a cor vermelha quando iluminado do seu interior. (b) Imagem de uma única nanopartícula metálica obtida por microscopia eletrônica de transmissão⁷.



Contudo, apenas no século XX uma descrição teórica satisfatória seria desenvolvida na descrição das cores de nanopartículas metálicas. Em 1904, J.C.Maxwell-Garnett utilizou das equações de Rayleigh e Lorentz, na descrição da polarizabilidade de partículas esféricas, para interpretar as diferentes cores em sistemas nanoparticulados de um mesmo metal e com diferentes espaços entre partículas. A teoria de Maxwell-Garnett foi satisfatória para sistemas onde as dimensões das partículas são negligenciáveis em comparação com o comprimento de onda da radiação incidente⁹.

Por outro lado, foi com o trabalho publicado por Gustav Mie, em 1908, que se estabeleceu o primeiro tratamento teórico rigoroso das propriedades ópticas de nanopartículas metálicas. Os valores de coeficiente de extinção dos espectros de absorção de nanopartículas de ouro, conforme estimados pela teoria de Mie, são bastante próximos àqueles verificados experimentalmente. Deste modo, a teoria de espalhamento de Mie é aplicada até hoje, sendo utilizada ainda para descrever sistemas nanoparticulados não metálicos e nanopartículas metálicas não esféricas¹⁰.

Atualmente, a natureza óptica das nanopartículas metálicas é interpretada utilizando o modelo físico dos *plasmons de superfície*. O *plasmon* pode ser entendido

como uma onda eletromagnética proveniente da oscilação coletiva de cargas em um dado meio; correspondendo aos elétrons da superfície no caso dos metais¹¹. A consequência da formação do *plasmon* em uma nanopartícula é a excitação coletiva dos elétrons, gerando uma separação bipolar de cargas (Figura 3). Uma vez que a partícula possui cargas opostas em lados opostos, uma força restauradora surge devido à atração eletrostática, o que contribui para a formação do *plasmon*¹². Quando a frequência da radiação incidente está em ressonância com a da oscilação coletiva dos elétrons livres de uma nanopartícula, mesmo um campo eletromagnético de baixa intensidade é capaz de gerar intensas oscilações. A frequência de ressonância dos *plasmons* de superfície (frequência de SPR – *surface plasmons resonance*) está associada à intensidade da força restauradora e esta, por sua vez, depende da separação de cargas e das dimensões da partícula¹². Assim, a cor e as demais propriedades ópticas de nanopartículas estão intimamente relacionadas com o tamanho e forma que estas assumem. Experimentalmente, a frequência de SPR é verificada como um máximo no espectro de extinção das nanopartículas metálicas (Figura 4).

Figura 3. Ilustração da interação da radiação eletromagnética com (a) nanoesferas metálicas e (b) nanobastões metálicos¹².

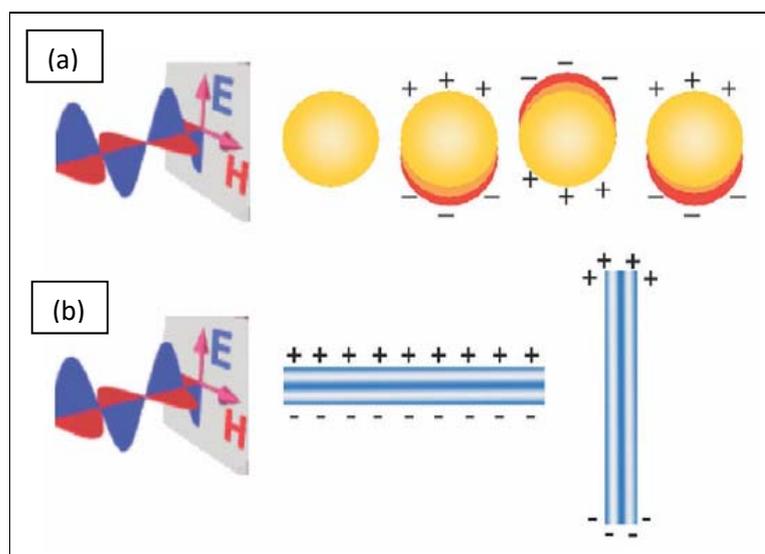
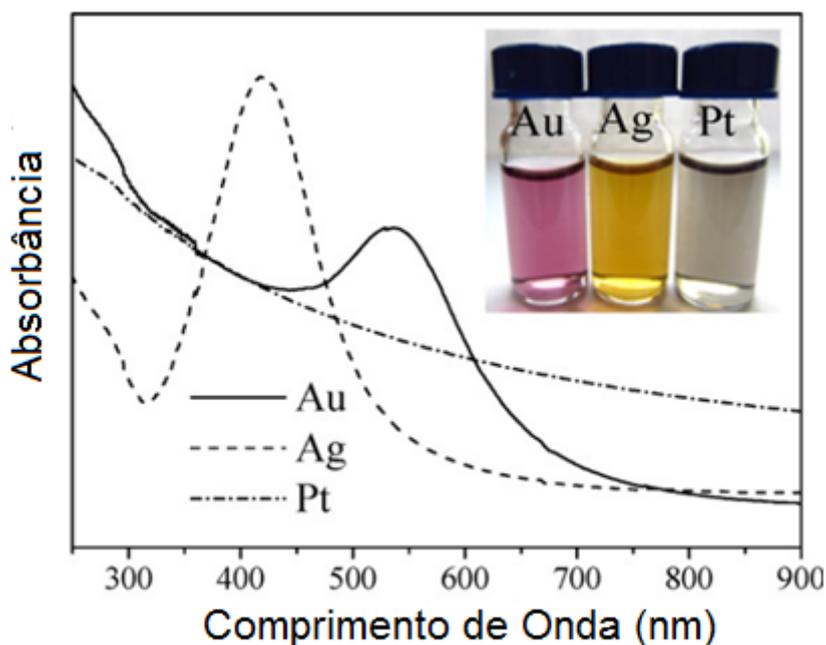


Figura 4. Espectro de Absorção no UV-Visível de uma suspensão coloidal de nanopartículas dos metais nobres (ouro, prata e platina)¹³.



A natureza óptica das nanopartículas metálicas possibilita diversas aplicações para estes nanodispositivos. Diversos estudos apontam a potencialidade de nanopartículas metálicas como substratos para análise de moléculas por SERS (*Surface Enhanced Raman Scattering*)^{14, 15}. SERS é um fascinante fenômeno no qual sinais, normalmente de fraca intensidade, observados na espectroscopia Raman podem ser amplificados em várias ordens de magnitude¹⁶. Quando a luz está em ressonância com a frequência de oscilação dos *plasmons*, dados sítios na superfície da nanopartícula experimentam incremento de intensidade em seus campos elétricos luz-induzidos. Estes sítios são denominados *hot spots*. Moléculas dentro de um *hot spot* exibem um enorme aumento do sinal em termos de espalhamento Raman, sendo, em alguns casos, possível obter espectros de até uma única molécula¹⁷. Deste modo, o uso de nanopartículas metálicas em SERS abre a perspectiva não apenas de uma melhor compreensão do fenômeno, mas, sobretudo, da sua utilização como uma importante ferramenta na análise de traços¹⁸.

Outra aplicabilidade de destaque das nanopartículas metálicas é a sua atuação como biocida frente a diversos microrganismos¹⁹. Nanopartículas de prata atuam como bactericida frente a diferentes tipos de bactérias, sendo seu efeito dependente da dimensão da nanopartícula de prata sintetizada^{20, 21}. É evidenciado que

nanopartículas em menores tamanhos promovem a morte de um maior número de células bacterianas. Este resultado foi atribuído pelos autores a maior área superficial que apresentam as nanopartículas de menor dimensionalidade, possibilitando assim uma interação maior com a parede celular ou a membrana plasmática das células bacterianas, inutilizando suas funções biológicas. Guzman e col.²² sintetizaram nanopartículas de prata com tamanhos entre 10 e 20 nm, verificando o seu efeito biocida frente às bactérias *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, demonstrando a sua ação bactericida tanto frente a bactérias Gram-positivas quanto as Gram-negativas. Apesar dos diversos estudos realizados a respeito da atuação de nanopartículas frente a microorganismos, o mecanismo de atuação das nanopartículas ainda não é completamente elucidado.

Diversas pesquisas apontam o uso de nanopartículas metálicas como sondas para a detecção de diferentes analitos. Nanopartículas de prata modificadas com ácido 4-mercaptobenzóico foram utilizadas para a detecção colorimétrica de íons Cu²⁺, o que é de significativa importância visto que a presença deste íon no organismo está associada a diversas enfermidades tornando possível sua identificação em fluido biológico²³. Íons Hg²⁺ e Ni²⁺ também são passíveis de serem identificados por métodos colorimétricos com o auxílio de nanopartículas de prata^{24, 25}. Wang e Ma²⁶ indicam que nanopartículas de ouro podem ser utilizadas eficientemente na detecção de diferentes espécies químicas tais como metais pesados, DNA e análise proteica.

Não obstante as grandes potencialidades das nanopartículas plasmônicas consequentes de suas propriedades ópticas, nanopartículas metálicas possuem ainda a qualidade de poderem ser facilmente funcionalizadas por diferentes tipos de moléculas, possuindo assim não apenas os atributos referentes a constituição da partícula em nanoescala, mas ainda aquelas características da molécula em sua superfície²⁷. Em nanobiotecnologia, nanopartículas metálicas são usadas em combinação com biomacromoléculas que podem interagir com sua superfície por adsorção física ou através de uma ligação química do tipo M-S, onde M é comumente ouro ou prata²⁸.

A funcionalização de nanopartículas está ainda intimamente relacionada a eficiência de absorção celular. Em geral, acredita-se que nanopartículas permanecem no endossoma, criado no processo de endocitose, a menos que estas sejam

microinjetadas ou inseridas na célula mecanicamente. Por outro lado, foi demonstrado que esta rota de absorção celular pode ser contornada pela funcionalização das nanopartículas por certos tipos de peptídeos²⁹. Algumas biomoléculas são eficientemente absorvidas no interior das células. Deste modo, a funcionalização superficial de nanopartículas por estas moléculas pode ser usada como um artifício para criar nanodispositivos de fácil absorção celular³⁰.

Devido a suas propriedades intrínsecas tais como tamanho controlável, fácil funcionalização e grande razão superfície/volume, nanopartículas de ouro tem encontrado promissora aplicação na tecnologia de transporte e liberação de drogas. Estudos recentes indicam a possibilidade do uso de nanopartículas de ouro, com dimensionalidade de 5 nm, funcionalizadas com os anticorpos cetuximab e gemcitabina. Os autores verificaram que havia a liberação específica de gencitabina em adenocarcinomas pancreáticos²⁷.

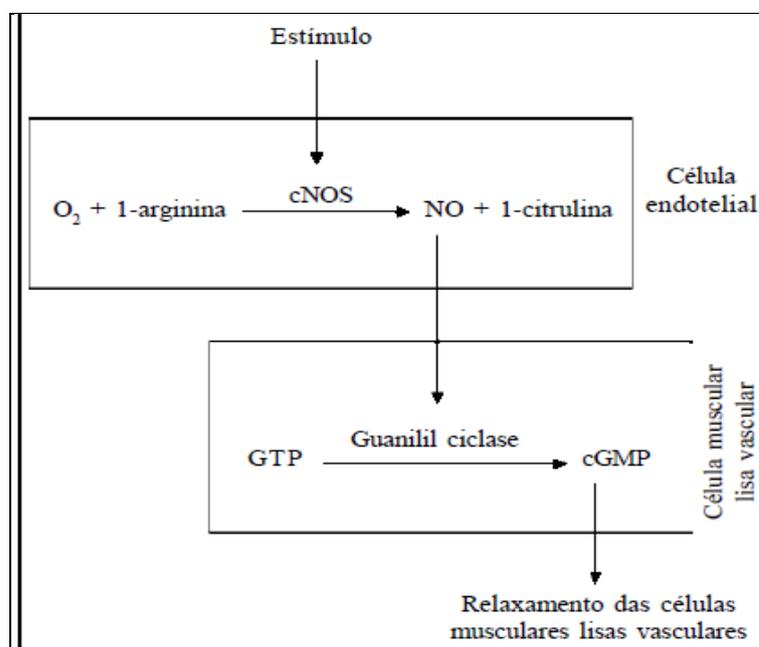
O uso de nanopartículas plasmônicas tem sido ainda explorado nas áreas de terapia fotodinâmica (TFD)³¹ e no recente campo da terapia fototérmica plasmônica (TFTP)²⁷. A excitação de nanopartículas plasmônicas com radiação eletromagnética próxima a sua banda de ressonância de *plasmons* pode induzir a uma emissão de calor, gerando assim um aquecimento local nas proximidades da nanopartículas, o que pode ser utilizado para induzir a apoptose de células cancerígenas. Contudo, esse aquecimento ocorre apenas em regiões próximas a superfície das nanopartículas, não havendo o aquecimento de tecidos subjacentes. Assim, este método clínico destaca-se por sua ação localizada²⁸.

1.3. Óxido Nítrico: síntese, função e reatividade.

Nos anos de 1980, foi demonstrado por Furchgott e Zawadski³² que o relaxamento vascular induzido por acetilcolina era dependente do endotélio, sendo mediado por um fator humoral lábil, mais tarde denominado de fator de relaxamento derivado do endotélio (EDRF). Em um estudo posterior, Palmer e col.³³ sugeriram que o EDRF e o óxido nítrico (NO) eram indistinguíveis em atividade biológica, estabilidade química e susceptibilidade a inibidores. Deste modo, foi demonstrado por Palmer que o fator de relaxamento derivado do endotélio era o óxido nítrico.

No organismo, várias células utilizam a L-arginina para sintetizar o óxido nítrico. Dentro das células do endotélio vascular a L-arginina reage com o oxigênio molecular produzindo L-citrulina e NO radicalar gasoso, em um processo catalisado pela enzima óxido nítrico-sintase (NOS)^{34,35}. O NO atravessa o espaço do endotélio para o músculo liso vascular onde estimula a enzima guanilato ciclase solúvel, acarretando a produção de monofosfato cíclico de guanosina (cGMP) resultando no relaxamento das células da musculatura lisa vascular³⁴ (Figura 5). Quando o nível de cGMP está elevado há uma aumento do cálcio intracelular provocando o relaxamento das células e a vasodilatação se desenvolve³⁴.

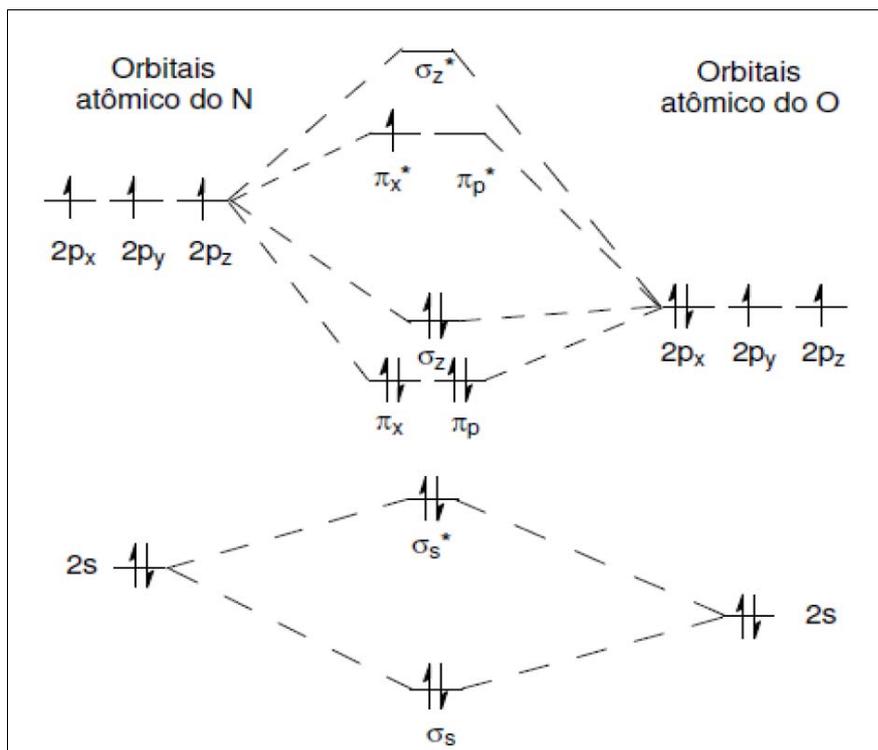
Figura 5. Mecanismo de vasodilatação mediado pelo óxido nítrico (NO)³⁴.



O NO atua mediando vários fenômenos fisiológicos como: vasorrelaxamento dependente do endotélio, citotoxicidade mediada por macrófagos, inibição da ativação, adesão e agregação plaquetária, relaxamento do corpo cavernoso peniano, regulação da pressão sanguínea basal, potencialização da transmissão sináptica em longo prazo^{36, 37}. O óxido nítrico pode atuar tanto como oxidante ou redutor, dependendo das características do meio. Reage facilmente com o oxigênio, sendo que sua oxidação produz nitrito e/ou nitrato. O NO tem o menor peso molecular dentre os outros produtos de secreção celular de mamíferos; sua meia-vida é curta e a especificidade de suas reações é reduzida³⁴.

A molécula do NO tem um elétron não pareado, daí ser descrita como uma molécula radicalar (Figura 6), reagindo facilmente com oxigênio, radical superóxido e metais de transição. É um gás incolor, moderadamente solúvel em solventes orgânicos e em meio aquoso³⁸. O óxido nítrico foi escolhido como a molécula do ano de 1992, o que ilustra a sua importância e destaque científico³⁹.

Figura 6. Diagrama de orbital molecular para a molécula do NO⁴⁰.



1.4. Nitrosilo Complexos de Rutênio.

O estudo da química de diversas classes de nitrosilo complexos metálicos vem crescendo substancialmente devido as suas funções biológicas promovidas pelo óxido nítrico liberado, cujo os compostos apresentam geralmente importantes vantagens como liberadores, tal como estabilidade cinética e termodinâmica. Nitroprussiato de sódio, por exemplo, têm sido utilizados com sucesso no tratamento de crises hipertensivas e casos de angina do peito⁴¹. Por outro lado, estudos realizados no final dos anos 1990 têm indicado que o NO atua induzindo a apoptose (morte celular programada) e a destruição celular em altas concentrações (na faixa de mM)⁴². Deste

modo, compostos que possam liberar NO especificamente tem sido foco de estudo de diversos grupos de pesquisa.

Com o advento da terapia fotodinâmica como uma promissora terapia contra certos tipos de câncer⁴³ (especialmente de pele), a síntese de compostos que sejam passíveis de liberar NO quando expostos a luz tem recebido muita atenção. Neste sentido, nitrosilo complexos de rutênio se apresentam como interessantes candidatos a estudo, uma vez que o comportamento químico e fotoquímico de diversos compostos de rutênio tem sido reportado⁴⁴, além da vantagem destes possuírem menor toxicidade quando comparados aos complexos formados por outros metais⁴⁵.

Lunardi e col.⁴⁶ sintetizaram os complexos cis-[Ru(bpy)₂Cl(NO)]⁺, trans-[RuCl([15]anén₄)NO]²⁺ e [Ru(terpy)(bdq-COO)NO]³⁺, onde [15]anén₄ = 1,4,8,12-tetraazociclotetradecano, e verificaram que estes liberavam NO quando induzidos pela norepinefrina. Adicionalmente foi verificado que estes complexos liberavam fotoquimicamente NO quando irradiados com luz ($\lambda_{\text{irradiação}} = 355\text{nm}$)⁴⁷. Para o complexo trans-[RuCl([15]anén₄)NO]²⁺ o rendimento quântico (ϕ) foi de 0,06. Em 2000, Lang e colaboradores reportaram que a redução do composto trans-[Ru(cyclam)(NO)Cl]²⁺ (cyclam = 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano) libera óxido nítrico lentamente quando irradiado em 355 nm ($\phi = 0,16$), sugerindo que esse tipo de composto possa ser usado como vasodilatador de longa duração⁴⁸.

Nitrosilo complexos do tipo trans-[Ru(NH₃)₄L(NO)]³⁺, onde L= imidazol, histidina,4-picolina, piridina, nicotinamida, pirazina e 4-acetipiridina, liberaram NO quando irradiados próximo a 330 nm, sendo o rendimento quântico dependente do pH e do comprimento de onda da radiação⁴⁹. A irradiação destes compostos com maiores comprimentos de onda ($\lambda_{\text{irradiação}} > 330\text{ nm}$) não resulta em qualquer fotoliberação, o que não os torna interessante do ponto de vista farmacológico, uma vez que deveriam ser fotolisados na região do visível para diminuir danos aos tecidos⁴⁹. O complexo trans-[Ru(NH₃)₄P(OEt)₃(NO)]³⁺ demonstrou ser capaz de liberar NO em cultura, exibindo uma capacidade vasodilatadora, semelhante ao nitroprussiato de sódio⁵⁰. Quando irradiado a 310 nm o complexo trans-[Ru(NH₃)₄P(OEt)₃(NO)]³⁺ libera NO satisfatoriamente ($\phi = 0,30$) em solução aquosa (pH 2,0).⁴⁴ Também foi demonstrado que o composto apresenta baixa toxicidade, bem como os seus metabólitos.

Complexos do tipo *cis*-[Ru(bpy)₂L(NO)]ⁿ⁺, onde L são os ligantes imidazol (Imn), sulfito (SO₃) e isonicotinamida (Isn), foram sintetizados e caracterizados por Lopes e colaboradores⁵¹. Estes compostos liberam NO após redução induzida eletroquimicamente, sendo que o valor de potencial de meia onda (E_{1/2}) para o processo de redução (NO⁺/NO⁰) é dependente da natureza de L. O complexo *cis*-[Ru(bpy)₂SO₃(NO)]⁺ mostrou-se ainda bastante promissor quanto a aplicações biológicas e perspectivas de testes clínicos, devido ao sua elevada estabilidade em pH fisiológico e a possibilidade de liberar NO pela reação com redutores biológicos típicos⁵². No entanto, testes quantitativos de fotolabilização de NO a partir destes compostos não é ainda reportado.

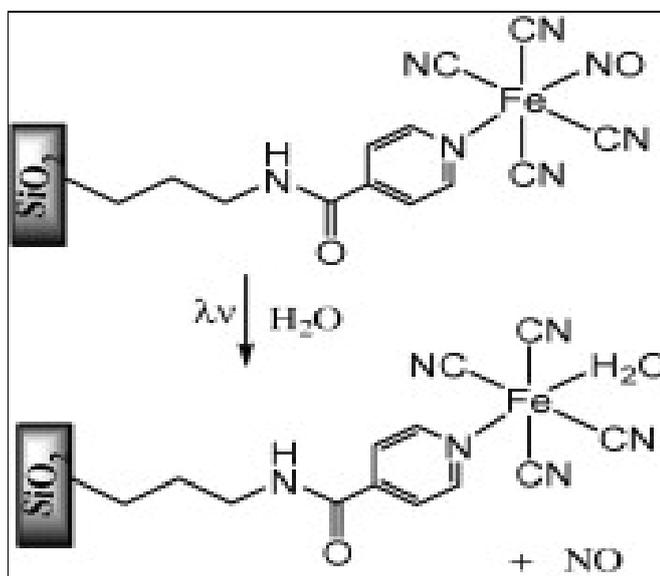
1.5. Nitrosilos Complexos Suportados Sobre Matrizes Sólidas

A imobilização de compostos de coordenação em matrizes sólidas é uma estratégia que vem sendo estudada em diferentes áreas tais como: sensores, biomateriais, carreadores de fármacos, etc⁵³. Uma vez que, como anteriormente discutido, o NO⁰ apresenta diversas funções biológicas essenciais ao organismo, a funcionalização de matrizes sólidas por moléculas doadoras de óxido nítrico, com o objetivo de proporcionar uma liberação mais controlada do NO *in vivo*, é de demasiado interesse da comunidade científica⁵⁴. O nitrosilo complexo *trans*-[Ru(NH₃)₄(py)NO](BF₄)₃.H₂O (onde py é o ligante piridina) foi eficientemente encapsulado em micropartículas poliméricas. Depois de suportado no polímero o composto retém a sua fórmula estrutural sendo susceptível de liberar o NO coordenado após estímulo de radiação eletromagnética no UV-Vis⁵⁵.

Tfouni e colaboradores⁵⁶ estudaram a liberação fotoquímica do NO a partir do complexo [Ru(cyclam)(NO)Cl](PF₆)₂, imobilizado em sílica xerogel. Os autores verificaram que quando o composto imobilizado na sílica é estimulado com luz em 334 nm há a fotoliberação do NO⁰. Os mesmos autores estudaram ainda a liberação de NO e a conversão entre as formas NO₂⁻ e NO⁺ em complexos de tetraminas de rutênio imobilizadas em sílica gel⁵⁷. Da Silva e colaboradores⁵⁸ estudaram a imobilização de nitrosilo complexos de rutênio do tipo [Ru(bpy)₂(L)NO]³⁺ e de ferro do tipo [Fe(CN)₄(L)NO]⁻ sobre esferas de sílica mesoporosas. Os autores encontraram que os complexos foram convenientemente suportados sobre a sílica, sendo que aqueles

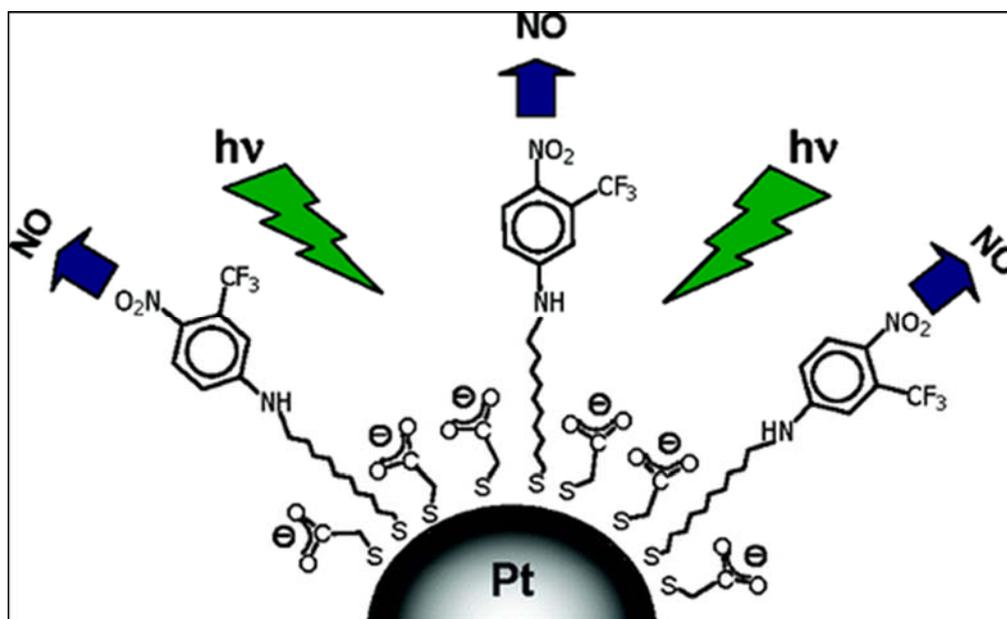
do tipo [Fe(CN)₄(L)NO]⁻ possui alto potencial na aplicação controlada de NO (Figura 7).

Figura 7. Fotoliberação do NO coordenado em meio aquoso a partir de complexos do tipo [Fe(CN)₄(L)NO]⁻ suportados sobre esferas de sílica mesoporosas⁵⁸.



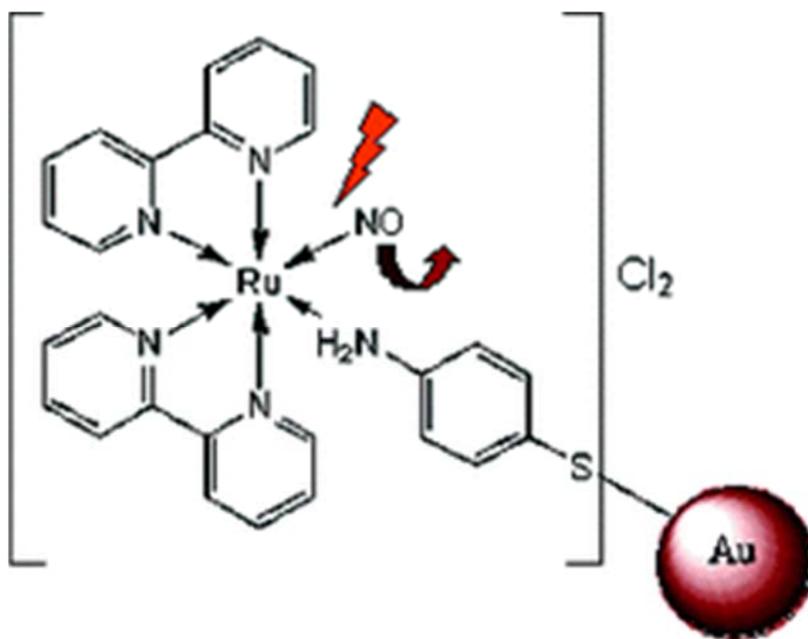
Além das matrizes sólidas, nanopartículas metálicas também tem despertado interesse como substrato para o ancoramento de moléculas doadoras de óxido nítrico. Sortino e colaboradores⁵⁹ investigaram a modificação de nanopartículas de platina por um doador de NO (Figura 8). Foi observado que, após a modificação da nanopartícula de platina pela molécula orgânica, o sistema foi susceptível a liberação de NO na região visível do espectro (próximo a 400 nm). Os autores encontraram ainda resultados semelhantes para a funcionalização de nanopartículas de prata pela mesma molécula orgânica estudada anteriormente⁶⁰. Schoenfish⁶¹ estudou a funcionalização de nanopartículas de ouro por diazeniodiolatos doadores de NO. O estudo indicou a possibilidade de liberação de NO em meio aquoso. A quantidade de NO liberado por este sistema é dependente do comprimento da cadeia carbônica da molécula funcionalizado e do número de grupos funcionais nitro. Contudo, a liberação de NO ocorre de maneira não seletiva. Resultados similares foram obtidos por Polizzi e colaboradores⁶².

Figura 8. Nanopartículas de platina modificadas por molécula orgânica doadora de NO. O NO é libalizado após irradiação próxima a 400nm⁵⁹.



Estudos realizados por Cao⁶³ e colaboradores indicam a possibilidade de funcionalização de nanopartículas de ouro por nitrosilo complexos de rutênio. O complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{NO})(\text{ATPh})]\text{Cl}_2$ (onde ATPh é o ligante 4-aminotiofenol) é convenientemente ancorado a superfície da nanopartícula através de seu grupo tiólico (Figura 9). O sistema nanopartícula-nitrosilcomplexo pode ainda ser gerado pela funcionalização da nanopartícula com o composto precursor $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{ATPh})]\text{Cl}$ seguido ao borbulhamento do meio com NO gasoso. A fotoliberação do NO foi evidenciada após irradiação das nanopartículas modificadas em 430nm. Deste modo, fica evidenciada a possibilidade de combinar as características das nanopartículas metálicas com aquelas referentes aos nitrosilos complexos de rutênio.

Figura 9. Nanopartícula de ouro modificada pelo complexo $cis-[Ru(bpy)_2(NO)(ATPh)]Cl_2$ segundo Cao⁶³. O NO é liberado após irradiado a 430nm.



Justificativa e Objetivos



Não está na natureza das coisas que o homem realize um descobrimento súbito e inesperado; a ciência avança passo a passo e cada homem depende do trabalho de seus predecessores.

Ernest Rutherford

2. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

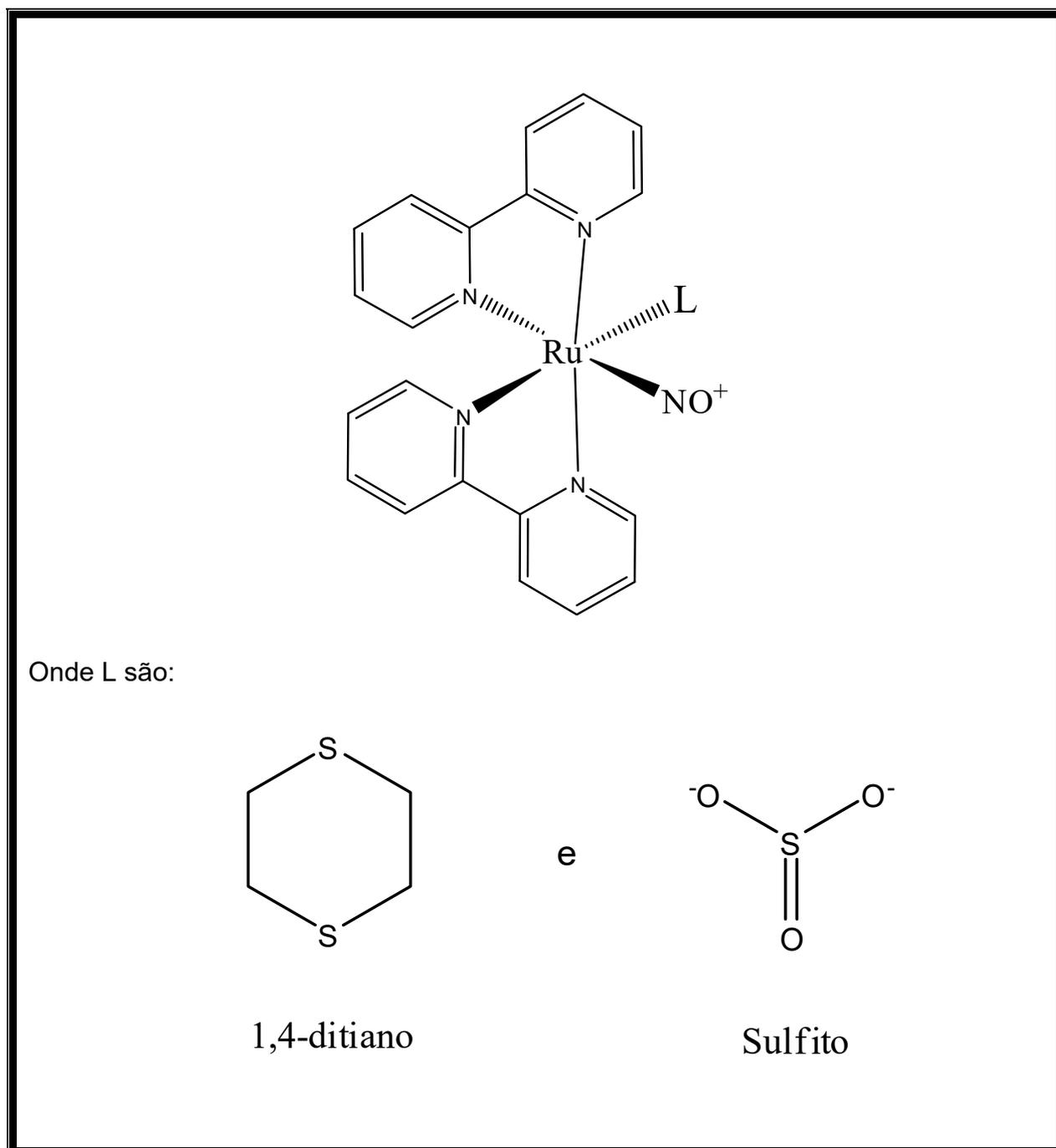
A despeito da eficácia dos nitrosilo complexos na liberação de NO, os compostos conhecidos apresentam ainda fatores inconvenientes para sua plena utilização. Alguns compostos são pouco estáveis em pH próximo da neutralidade, sendo susceptíveis a sofrerem substituição nucleofílica. Em outros, o potencial de redução do NO⁺ coordenado a NO⁰ é extremamente baixo para ser ativado biologicamente. Quase a totalidade dos complexos estudados liberam NO após estímulo de radiação eletromagnética somente na região do ultravioleta, limitando a sua aplicação em terapia fotodinâmica que é eficiente em longos comprimentos de onda, a chamada janela terapêutica (600-800 nm)

Por outro lado, nanopartículas dos metais do grupo 11 (Au, Ag e Cu) possuem diversas características físico-químicas únicas, tal como a existência da banda de ressonância de *plasmons* (SPR) na região visível do espectro. Deste modo, a incorporação de complexos metálicos a nanopartículas se trata de uma interessante estratégia, devido a possibilidade de combinar as características dos compostos de coordenação contendo NO e das nanopartículas metálica com bandas largas no visível.

O presente trabalho tem como objetivo geral a síntese dos nitrosilo complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ (onde 1,4-dt é o ligante 1,4-ditiano) e *cis*-[Ru(bpy)₂(SO₃)NO]PF₆ (onde SO₃ representa o ligante sulfito, SO₃²⁻) visando o ancoramento destes compostos a superfície de nanopartículas de prata (NPsAg) e nanopartículas de ouro (NPsAu). O composto *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ foi selecionado para o presente estudo devido a versatilidade de coordenação do ligante 1,4-ditiano⁶⁴, uma molécula bifuncional contendo dois átomos de enxofre em sua estrutura. Este ligante pode utilizar um átomo de enxofre presente em sua estrutura para coordena-se ao centro metálico e um segundo átomo de enxofre para ancorar-se a superfície da nanopartícula metálica, aproveitando-se da já referida interação metal-enxofre. Por outro lado, o estudo do ancoramento do composto *cis*-[Ru(bpy)₂(SO₃)NO]PF₆ em nanopartículas metálicas é de demasiado interesse visto que este o composto já foi extensivamente estudado quanto a diversas aplicações, sendo extremamente promissora a possibilidade de combinar suas múltiplas

funcionalidades com aquelas das nanopartículas metálicas. As estruturas dos complexos sob estudo são ilustrados na Figura 10.

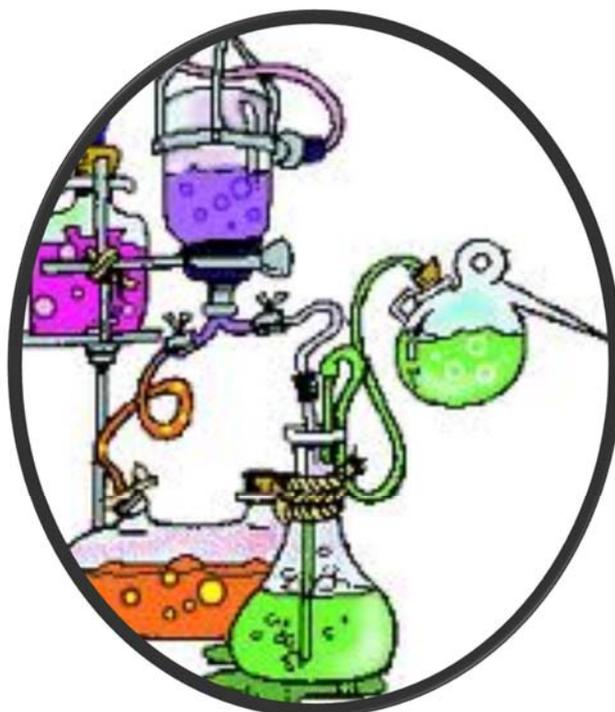
Figura 10. Fórmula estrutural proposta para complexos do tipo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})\text{NO}]$ bem como para os ligantes 1,4-ditiano e sulfito



Quanto aos objetivos específicos do presente trabalho tem-se:

- i. Sintetizar os complexos cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ e cis-[Ru(bpy)₂(SO₃)NO]PF₆ caracterizando-os com auxílio das técnicas de espectroscopia vibracional de absorção no infravermelho, espectroscopia de absorção eletrônica no UV-Vís, técnicas eletroquímicas e espectroscopia de ressonância magnética nuclear. Objetiva-se ainda realizar estudos de reatividade para o complexo cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃, visto que este é um composto inédito e sua completa caracterização contribui com a literatura;
- ii. Sintetizar e caracterizar nanopartículas de prata (NPsAg) e nanopartículas de ouro (NPsAu) utilizando rotas sintéticas já referenciadas na literatura;
- iii. Investigar a funcionalização das NPsAg e NPsAu pelos complexos cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ e cis-[Ru(bpy)₂(SO₃)NO]PF₆ com auxílio das técnicas de absorção no UV-Vis, espalhamento dinâmico de luz e medidas de potencial zeta;
- iv. Finalmente, objetiva-se verificar a liberação de NO *in situ* a partir do sistema contendo as nanopartículas metálicas funcionalizadas pelos nitrosilo complexos.

Parte Experimental



Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.

Madre Teresa de Calcutá

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Reagentes e Soluções

3.1.1. Natureza e Procedência de Reagentes e Solventes

Na Tabela 1 tem-se, de forma resumida, a natureza e procedência dos reagentes e solventes utilizados durante os procedimentos experimentais.

Tabela 1. Procedência dos reagentes utilizados durante a síntese e a caracterização dos complexos e nanopartículas.

Reagentes	Procedência
1,4-ditiano	Aldrich
2,2'-bipiridina	Aldrich
Acetona	Synth
Ácido trifluoroacético	Merck
Borohidreto de sódio	Vetec
Brometo de potássio	Aldrich
Citrato de Sódio	Vetec
Cloreto de Lítio	Aldrich
Cloreto de Ouro	Aldrich
Dimetilformamida (DMF)	Synth
Etanol	Tedia
Éter dietílico	Vetec
Metanol	Synth
Nitrato de prata	Vetec
Peróxido de hidrogênio	Synth
Sulfito de sódio	Fluka
Tricloreto de rutênio hidratado	Aldrich

3.1.2. Argônio

Nos experimentos em que se fez necessário atmosfera inerte foi utilizado argônio 98% de procedência White Martins. Esse foi tratado com a finalidade da remoção de traços de oxigênio e água, presentes no gás comercial, em um sistema

de colunas contendo sílica gel, cloreto de cálcio e catalisador BTS-R-11.9 (FLUKA Chemika).

3.2. Equipamentos e Técnicas Experimentais

3.2.1. Espectroscopia de Absorção no Infravermelho

Os espectros de absorção no infravermelho dos compostos foram obtidos em pastilhas de brometo de potássio (KBr) em um espectrômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR da ABB Bomem FTLA 2000-102, com varredura espectral de 4000 a 400 cm⁻¹.

3.2.2. Espectroscopia Eletrônica de Absorção no UV-Vís

Os espectros eletrônicos na região do ultravioleta e visível foram obtidos em espectrofotômetro Hewlett-Packard, modelo 8453 com arranjo de diodos. As amostras foram analisadas em solução usando uma cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico.

3.2.3. Medidas Eletroquímicas

O complexo sintetizado foi caracterizado com auxílio de métodos eletrométricos utilizando um sistema eletroquímico potenciostato/galvanostato BAS EpsilonE2 818, utilizando carbono vítreo, platina e Ag/AgCl como eletrodos de trabalho, auxiliar e de referência, respectivamente. Uma solução aquosa de NaTFA 0,1 mol.L⁻¹ com pH 2,03 foi utilizada como eletrólito suporte.

3.2.4. Ressonância Magnética Nuclear de ¹H e ¹³C

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹H, ¹³C e COSY foram obtidos em um espectrômetro AVANCE DPX 300 Bruker, a 300 MHz.

3.2.5. Espalhamento Dinâmico da Luz (DLS) e Potencial Zeta

O diâmetro médio das nanopartículas metálicas sintetizadas, bem como o seu potencial zeta (P ζ), foram medidas em equipamento Zetasizer Nano da Malvern Instruments. Para as medidas de tamanho de partículas foi utilizada uma cubeta de poliestireno (modelo DTS1060), e para as medidas de P ζ foram utilizadas celas capilares (modelo DTS1060).

3.2.6. Estudos de Fotoliberação do NO

A irradiação das amostras de modo liberar fotoquimicamente o NO foi realizada. Para este objetivo foi utilizado o Reator Fotoquímico Unt 001, utilizando lâmpadas de mercúrio no comprimento de onda de 350nm e 419 nm. O monitoramento do NO liberado foi realizado por meio da análise amperométrica utilizando o Eletrodo Seletivo de NO inNO da Innovative Instruments.

3.3. Síntese dos Complexos

3.3.1. Síntese do Complexo cis-[Ru(bpy)₂Cl₂]

O complexo foi sintetizado de acordo com o método citado na literatura⁶⁵.

3.3.2. Síntese do Complexo cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO₂](PF₆)₃

150mg (0,31mmol) do complexo cis-[Ru(bpy)₂Cl₂] e 45 mg (0,37 mmol) do ligante 1,4-ditiano (1,4-dt) foram dissolvidos em 20mL de uma solução 3:1 etanol/água, deixando em refluxo por 12 horas. Em seguida, adicionou-se 26 mg (0,37 mmol) de NaNO₂, ficando sob agitação e refluxo por 2 horas. Após esse tempo evaporou-se o solvente até reduzido o volume a um quarto do inicial e coletou-se um precipitado de cor laranja pela adição de uma solução saturada com NH₄PF₆. O sólido foi filtrado, lavado e estocado sob vácuo.

3.3.3. Síntese do Complexo cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃

100mg do complexo cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO₂](PF₆)₃ foram dissolvidos em 15 mL de metanol sob fluxo de argônio e agitação. Em seguida, adicionou-se 2 mL de uma solução aquosa de HTFA (ácido trifluoroacético) 70%, deixando reagir por 1 hora. Após o termino da reação, coletou-se um precipitado amarelo pela adição de uma solução saturada de NH₄PF₆. O sólido foi filtrado, lavado e estocado sob vácuo.

3.3.4. Síntese do complexo cis-[Ru(bpy)₂(SO₃)NO](PF₆)₃

O complexo foi sintetizado de acordo com o método citado na literatura⁵¹. Verifica-se a presença de NO coordenado no espectro de infravermelho $\nu_{\text{NO}^+} = 1911 \text{ cm}^{-1}$; A redução eletroquímica do NO coordenado em $E_{1/2} = -0,14 \text{ V}$. Verifica-se ainda a presença das bandas no espectro de UV-vís do composto, em solução de NaTFA pH

7, nos comprimentos de onda de 294nm ($\epsilon = 1,34 \times 10^4$) e 321 nm ($\epsilon = 1,11 \times 10^4$) atribuídas a transferências do tipo intra ligante e MLCT, respectivamente em NaTFA pH =7.

3.4. Síntese das Nanopartículas Metálicas

3.4.1. Síntese e Diálise de Nanopartículas de Prata estabilizadas por citrato (NPsAg)

As sínteses das NPsAg foram realizadas de acordo com procedimento anteriormente descrito na literatura⁶⁶. Em um balão volumétrico de borosilicato com capacidade para 25mL, foram adicionados, respectivamente: 2,0 mL de uma solução $1,25 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ de citrato de sódio, 5,0mL de uma solução $3,75 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ de nitrato de prata e 5,0 mL de uma solução $5,0 \times 10^{-2}$ mol.L⁻¹ de peróxido de hidrogênio. Em seguida, diferentes volumes de uma solução de KBr 10^{-3} mol L⁻¹ foram adicionados, para a síntese de diferentes nanopartículas, sendo estes volumes iguais a: 0, 10, 25 e 40 μ L. Para a etapa de redução de íons prata adicionou-se 2,5 mL de uma solução de boridreto de sódio ($5,0 \times 10^{-3}$ mol.L⁻¹) recentemente preparada. Após a síntese, as NPsAg foram submetidas a um tratamento de diálise com o objetivo da retirada de resíduos dos reagentes utilizados durante a síntese das nanopartículas. Para este objetivo, foi utilizada uma membrana de diálise de celulose da Sigma-Aldrich (largura 33mm MW08493), previamente tratada sob aquecimento em água Milli-Q. A bolsa de diálise foi preenchida com 15 mL de solução de NPsAg e imersa em um bécher contendo 1 litro de água Milli-Q durante um tempo de quatro horas sob agitação. Após isso, a água purificada pelo sistema Milli-Q foi trocada novamente e manteve-se sob diálise durante a noite ao abrigo da luz.

3.4.2. Síntese das Nanopartículas de Ouro Estabilizadas por citrato (NPsAu)

A síntese de NPsAu foi realizada pelo método de redução com citrato de sódio (método de Turkevich)⁶⁷. Brevemente, 100 mL de uma solução de cloreto de ouro 1% foi aquecida sob vigorosa agitação na presença de citrato de sódio como redutor. Após a solução tornar-se vermelha, manteve-se a agitação, sem aquecimento, por dez minutos. As NPsAu sintetizadas foram então protegidas da luz e estocadas a 4°C.

3.4.3. Síntese de NPsAg estabilizadas por Galactomanana da Fava Danta (GFD)

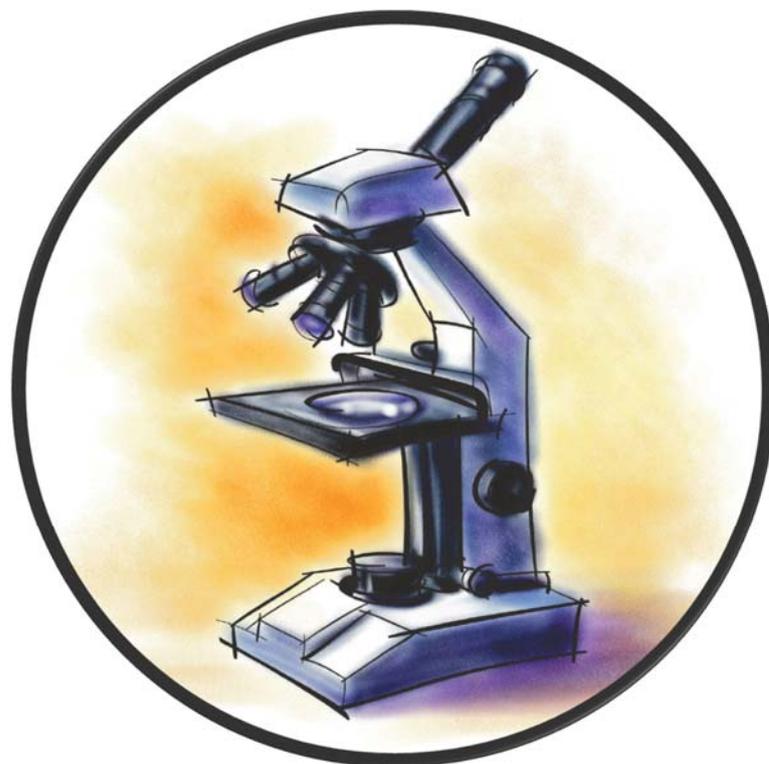
Com o objetivo de se obter nanopartículas com maior estabilidade foram sintetizadas NPsAg estabilizadas pelo polissacarídeo galactomanana, o qual foi extraído da Fava Danta (*Dimorphandra gardneriana* Tul. e *Dimorphandra mollis* Benth.) pelo grupo do Laboratório de Polímeros da UFC e gentilmente doado para a realização do presente estudo. O procedimento experimental utilizado na síntese das NPsAg é semelhante aquele proposto por Hebeish e colaboradores⁶⁴. Primeiramente, a galactomanana foi dissolvida em 100mL de água deionizada, em um frasco de vidro sob agitação magnética a temperatura ambiente, por 24h, levando a concentração de 0,032%(m/V), que corresponde a razão molar de unidade monossacarídicas de galactomanana da fava danta e número de mol de nitrato de prata de (GFD:Ag) 10:1.

Após o polímero ser completamente dissolvido, o frasco foi coberto com papel alumínio e então adicionou-se 2 mL de uma solução de AgNO₃ 10⁻¹molL⁻¹. Após 15 minutos, foi adicionado 2 mL da solução redutora de NaBH₄ 10⁻¹molL⁻¹. O sistema foi mantido sob agitação magnética constante por 3 h à temperatura ambiente, quando foi então retirado da agitação e estocado a 4°C ao abrigo da luz. As NPsAg foram então dialisadas conforme o procedimento descrito no item 3.4.1.

3.4.4. Titulação Espectrométrica das Nanopartículas Metálicas Por Nitrosilo Complexos de Rutênio

De modo a verificar a variação nos espectros de absorção das nanopartículas metálicas após a adição dos nitrosilo complexos de rutênio foi proposta a realização de uma titulação espectrométrica. Nesta, volumes pré-estabelecidos de uma solução 2x10⁻⁴molL⁻¹ dos complexos cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ e cis-[Ru(bpy)₂(SO₃)NO]PF₆ foram adicionados a um volume de 3 mL das NPsAg e NPsAu, separadamente. Cada titulação espectrométrica foi acompanhada de minuto a minuto, para um tempo total de 15 minutos. Os espectros foram obtidos em espectrofotômetro Varian, modelo Cary 5000, UV-Vís-NRI Spectrophotometer.

Resultados



"O êxito é a superação de obstáculos e o resultado positivo da persistência."

Sebastião Barros Travassos

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

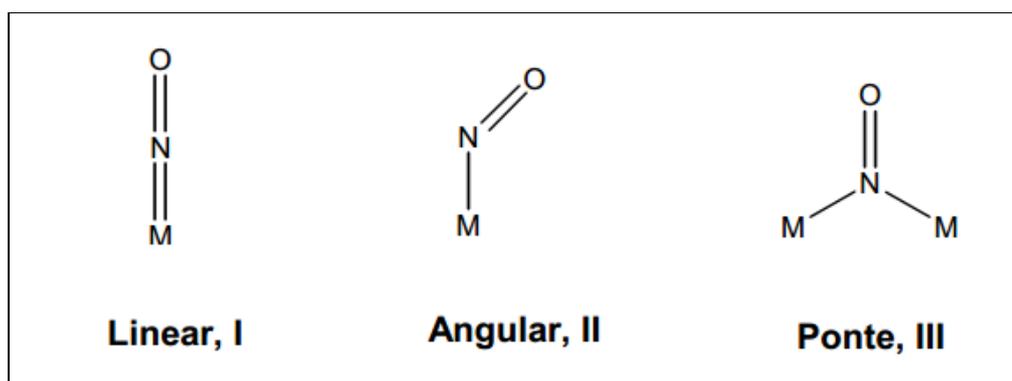
4.1. Caracterização do Complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃

O presente tópico tem como objetivo caracterizar o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ tendo em conta o caráter inédito do presente composto. A caracterização do nitrosilo complexo foi realizada com auxílio de diferentes técnicas espectroscópicas e métodos eletroquímicos de análise.

4.1.1. Caracterização por Espectroscopia de Absorção Vibracional no Infravermelho

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho (IV) é uma técnica de inestimável importância na análise química qualitativa, sendo amplamente utilizada nas áreas de química dos produtos naturais, sínteses orgânicas e inorgânicas e análise de modos de coordenação em complexos metálicos⁶⁸. Não obstante, a espectroscopia no IV é ainda de considerável importância na caracterização de nitrosilo complexos, visto que a coordenação do óxido nítrico ao centro metálico pode ocorrer de três diferentes formas: linear, angular e ponte (Figura 11) que podem estar relacionada aos estados de oxidação distintos do NO, como NO⁺, NO⁰ e NO⁻; cujos estiramentos surgem em regiões típicas do espectro de IV⁶⁹.

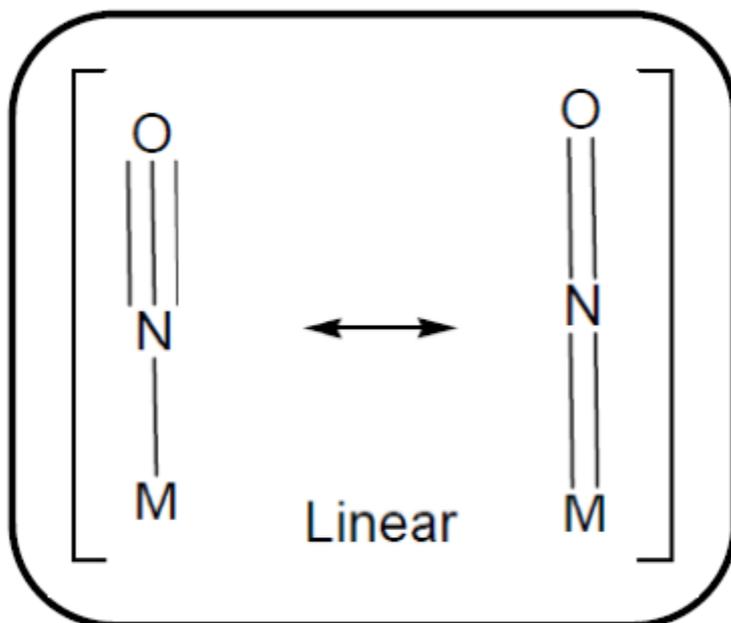
Figura 11. Diferentes formas possíveis de coordenação do NO ao centro metálico⁶⁹.



Na forma de NO⁺, o óxido nítrico coordena-se ao centro metálico de modo linear, sendo na verdade um híbrido entre duas formas de ressonância, conforme ilustrado na Figura 12. À medida que a ligação π entre o metal e o óxido nítrico é fortalecida, tem-se o enfraquecimento da ligação entre o nitrogênio e o oxigênio. Este fato é refletido nas diferentes frequências de estiramento da ligação NO em nitrosilo

complexos⁶⁷, uma vez que esta depende da força da ligação conforme a indicado pela lei de Hooke (equação 1).

Figura 12. Diferentes formas de ressonância para a coordenação linear do óxido nítrico a um centro metálico⁶⁷.



$$\bar{\nu} = \frac{1}{2 \pi C} \left(\frac{f}{\frac{M_x \cdot M_y}{M_x + M_y}} \right)^{1/2} \quad (1)$$

Onde:

$\bar{\nu}$ é a frequência vibracional em cm^{-1} ;

f é a constante de força da ligação em cm^{-1} ;

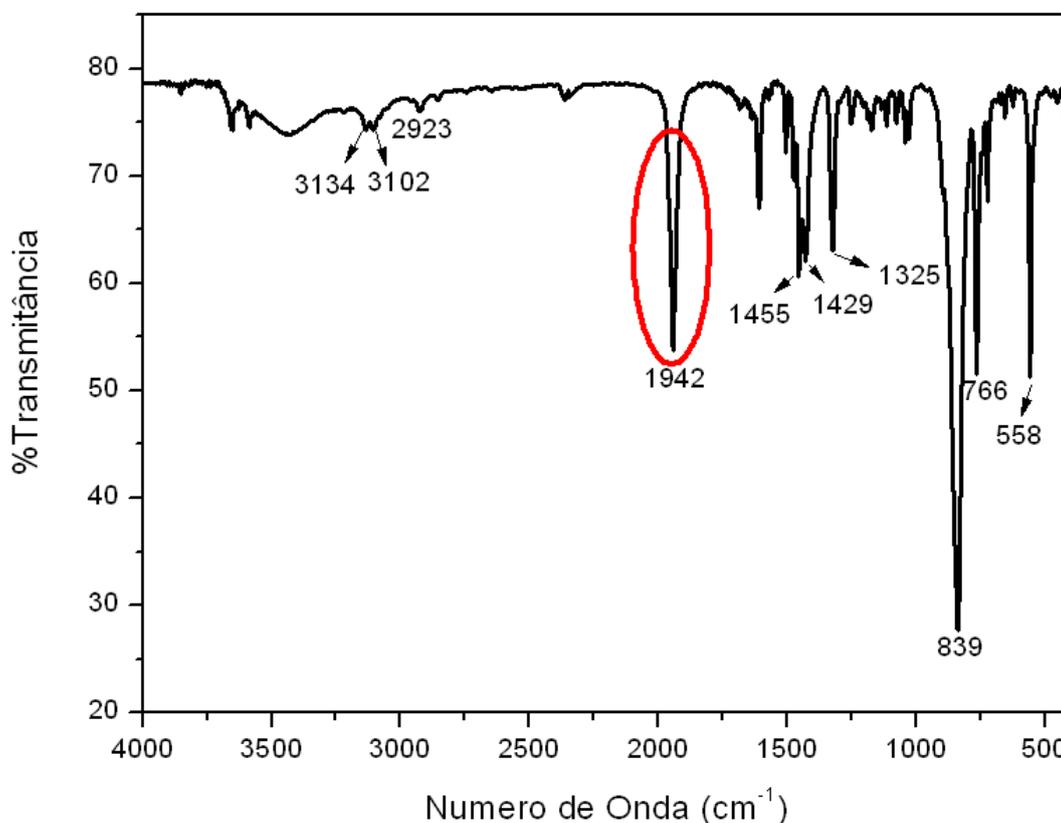
c é a velocidade da luz em $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$;

M_x é a massa do átomo x e

M_y é a massa do átomo y .

O espectro vibracional na região do infravermelho obtido para o complexo cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ em pastilhas de KBr encontra-se na Figura 13. A partir dos resultados obtidos, foram observadas bandas referentes ao ligante 1,4-ditiano em torno de 2923 cm⁻¹, atribuída ao estiramento da ligação CH de carbono com hibridação sp³, e em 1325 cm⁻¹ atribuída a deformação angular simétrica do grupo HCH⁷⁰. Bandas características dos ligantes bipyridina também foram verificadas, sendo estas em 3134 e 3102 cm⁻¹, atribuída ao estiramento C-H em aromáticos; 1455 e 1429 cm⁻¹, referentes aos estiramentos simétricos das ligações C=C e C=N, respectivamente, e em 766 cm⁻¹ atribuídas a deformação C-H⁶⁸. As bandas em 839 e 558 cm⁻¹ são referentes a diferentes modos de estiramento da ligação P-F, denotando a presença do PF₆⁻ como contra íon, indicando que o composto encontra-se na forma de um cátion complexo⁵¹.

Uma banda intensa em 1942 cm⁻¹ é ainda observada, sendo esta característica do estiramento da ligação N-O quando esta se encontra em sua forma catiônica. Este valor típico nos leva a sugerir que o óxido nítrico encontra-se coordenado ao centro metálico com caráter essencialmente de NO⁺ ^{51, 69}. Para complexos do tipo cis-[Ru(bpy)₂LNO], a frequência de estiramento da ligação νNO⁺ é fortemente influenciada pela natureza do ligante auxiliar L. Ligantes que atuam doando densidade eletrônica ao centro metálico tornam a ligação entre o Ru(II) e o átomo de nitrogênio do NO⁺ mais forte (formação de uma backbonding mais forte), o que, por outro lado, enfraquece a ligação entre o nitrogênio e o oxigênio do NO. Deste modo, ligantes que doam densidade eletrônica ao centro metálico formam nitrosilo complexos com menores frequências de estiramento νNO⁺. Por motivos contrários, ligantes que possuem como característica retirar densidade eletrônica do centro metálico formam nitrosilo complexos com maiores frequências de estiramento da ligação νNO⁺ ⁴⁰.

Figura 13. Espectro vibracional na região do infravermelho para o complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$.

A Tabela 2 mostra as vibrações νNO^+ para o complexo sintetizado no presente trabalho em comparação a outros complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{LNO}]^n$ reportados na literatura.

Tabela 2. Influência dos ligantes auxiliares L na frequência de estiramento da ligação NO em complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{LNO}]^n$ onde L é: 1,4-ditiano(1,4-dt), imidazol (imn), isonicotinamida (isn), tiouréia (TU) e sulfito (SO_3^{2-}).

Complexos	νNO^+ (cm^{-1})
$\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}]^{3+}$	1942
$\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{imn})\text{NO}]^{3+}$	1944 ⁵¹
$\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{isn})\text{NO}]^{3+}$	1948 ⁵¹
$\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{TU})\text{NO}]^{3+}$	1931 ⁵¹
$\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)\text{NO}]^+$	1911 ⁵²
$\text{trans-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)\text{NO}]^+$	1882 ⁵¹

É possível observar que a frequência do estiramento νNO^+ do complexo sintetizado encontra-se próxima daquela observada para complexos que possuem ligantes auxiliares do tipo N-heterocíclicos (aceptores π): imidazol (imn) e isonicotinamida (isn). Este fato indica que o ligante 1,4-ditiano (1,4-dt) se coordena fortemente ao centro metálico, provavelmente, utilizando seus orbitais “ $d\pi$ ” vazios de energia e simetria apropriada para receber a densidade eletrônica do metal, acarretando na formação de uma ligação π backbonding estável⁶⁴. Nota-se ainda que, embora os ligantes tiouréia (TU) e sulfito (SO_3^{2-}) possuam átomos de enxofre em sua estrutura, estes complexos apresentam νNO^+ em regiões de menor energia quando comparados ao ligante 1,4-ditiano, sugerindo que aqueles ligantes possuem características de σ doador mais acentuadas do que π receptor.

Na tabela 3 têm-se, resumidamente, as tentativas de atribuição para o complexo sintetizado.

Tabela 3. Atribuição das bandas observadas por FTIR para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃.

Número de Onda (cm ⁻¹)	Tentativa de Atribuição
3134 (f)	$\nu(\text{C-H})$
3102 (f)	$\nu(\text{C-H})$
2923 (f)	$\nu(\text{C-H})$
1942 (F)	$\nu(\text{N-O}^+)$
1455 (m)	$\nu(\text{C=N})$
1429 (m)	$\nu(\text{C=C})$
1325 (m)	$\delta(\text{C-H})$
766 (F)	$\delta(\text{C-H})$
839, 558 (mF, F)	$\nu(\text{P-F})$

Intensidades: f=fraco; m=médio; F=forte e mF=muito forte

4.1.2. Caracterização por Espectroscopia de Absorção Eletrônica no Ultravioleta e Visível

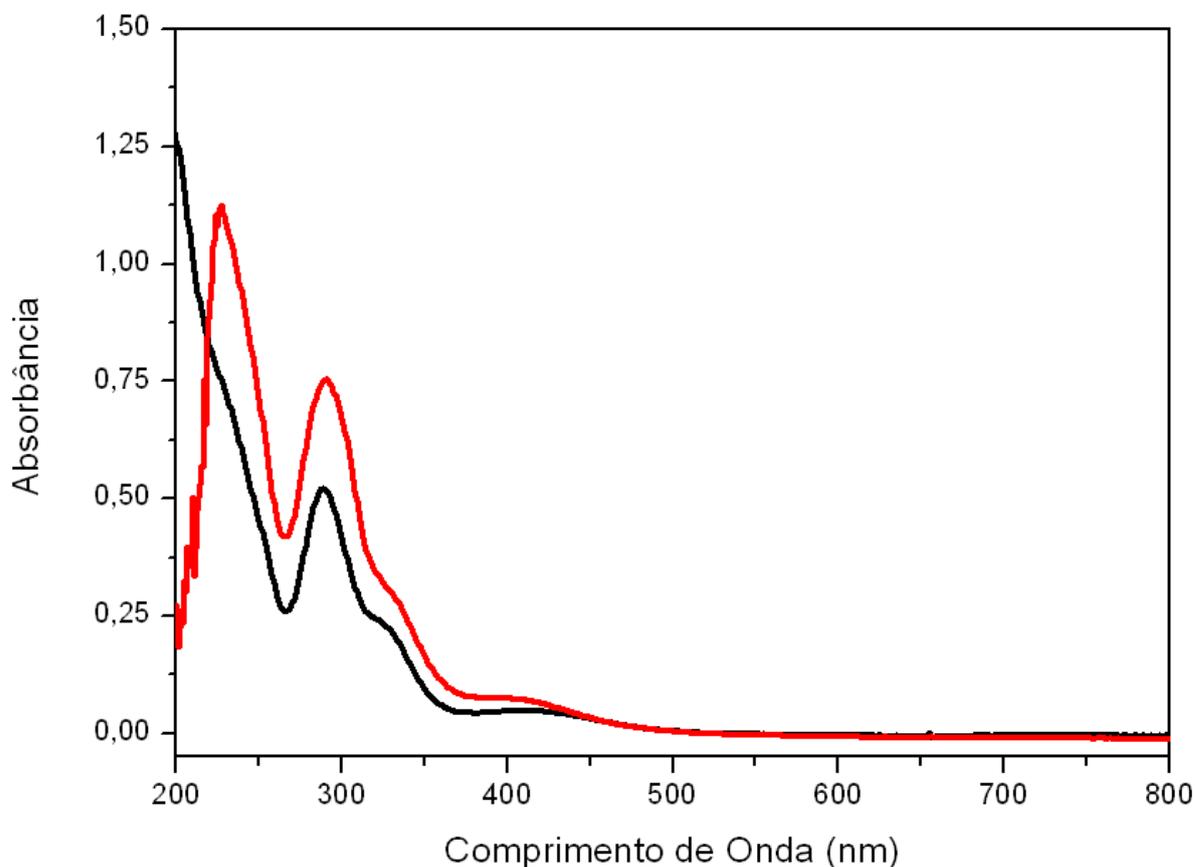
A espectroscopia eletrônica, também chamada de espectroscopia no Ultravioleta e Visível (UV-Vis), é decorrente da absorção luminosa na faixa típica de comprimento de onda (λ) entre 190 nm e 780 nm. Na região típica do UV-Vis, os processos de absorção dão-se por transições eletrônicas dos orbitais HOMO para estados não populados de orbitais LUMO constituintes desses compostos.

Os complexos metálicos apresentam, geralmente, quatro tipos de bandas em seus espectros eletrônicos, que são atribuídas às transições eletrônicas dos tipos: transições de campo ligante (transição do tipo d-d), transições de transferência de carga metal-ligante (MLCT), transições de transferência de carga ligante-metal (LMCT) e transições intraligantes. No presente trabalho a análise dos espectros foi realizada de maneira simplificada, sem a utilização de cálculos e experimentos mais detalhados, comparando o composto sintetizado com sistemas semelhantes reportados na literatura.

A Figura 14 ilustra o espectro eletrônico do composto *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃. O espectro é caracterizado pela presença de bandas intensas com máximos aproximadamente em 225 e 290 nm ($\epsilon \approx 10^5 \text{ molL}^{-1}\text{cm}^{-1}$), atribuídas a transição intraligante do tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ da 2,2'-bipiridina (bpy). Esta atribuição está de acordo com a descrita na literatura^{51, 71}.

Segundo a literatura, bandas de transferência de carga são características em complexos do tipo *cis*-[Ru(bpy)₂L(Cl)]⁺, sendo a energia da transição dependente da natureza de L⁷². As bandas observadas em compostos de bis-(2,2'-bipiridina) de Ru (II) próximas a 350nm ($\epsilon \approx 3 \times 10^3 \text{ mol.L}^{-1}\text{cm}^{-1}$) podem ser razoavelmente atribuídas a transferência de carga metal-ligante (MLCT) do tipo $d(\pi)\text{Ru} \rightarrow \pi^*$ (bpy). No presente caso tais transições aparecem com máximo em 323 nm e em 410 nm⁵¹.

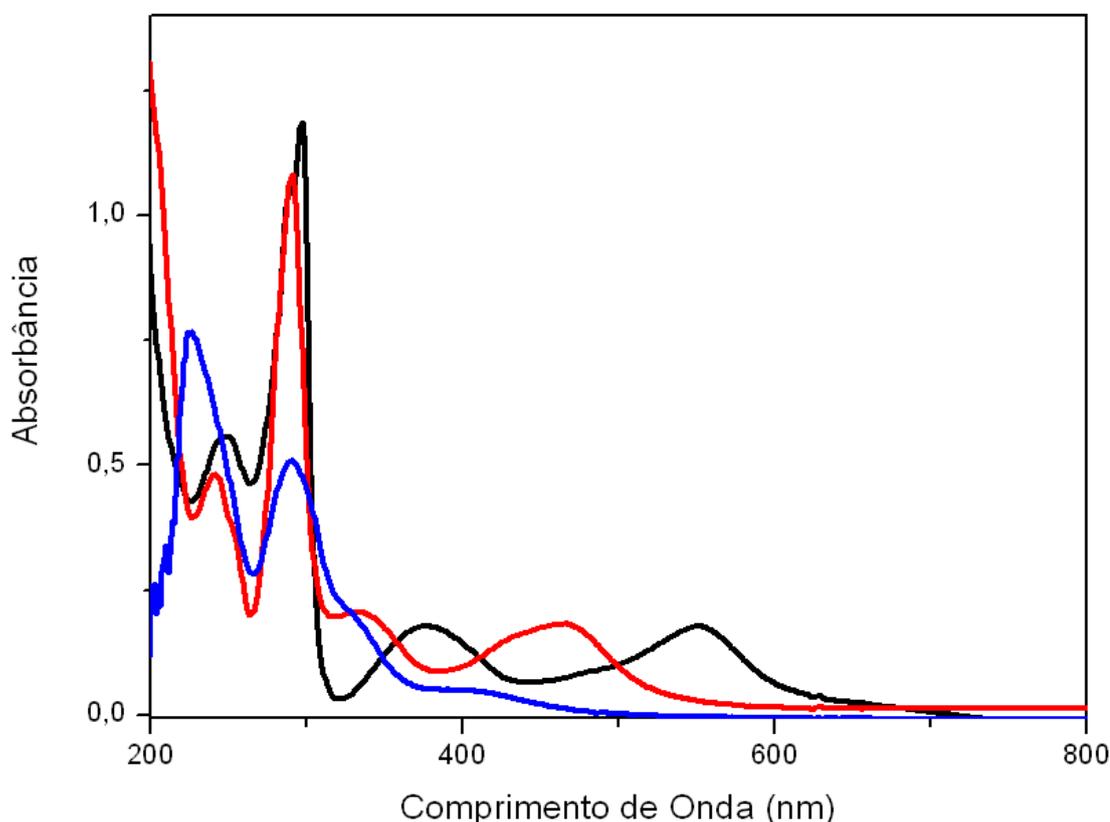
Figura 14. Espectro eletrônico do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}(\text{PF}_6)_3$ em: (—) água e (—) acetonitrila. $[\text{Ru}] = 3,0 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$.



Trabalhos com complexos do tipo $\text{cis-Ru(bpy)}_2\text{L}_2$ ^{73, 74} têm mostrado que o fenômeno de backbonding do metal para o ligante envolvendo orbitais do tipo $d\pi \rightarrow L(\pi^*)$ estabiliza os orbitais $d\pi$ (Ru). Entretanto não afeta significativamente os orbitais π^* . Deste modo, as energias de transferência de carga metal-ligante (MLCT) dependem da habilidade de L funcionar como π receptor quando coordenado ao Ru^{II} . No caso do íon complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}^{3+}$, tanto o ligante 1,4-ditiano quanto o NO^+ são receptores π e, deste modo, tendem a estabilizar bastante o orbital $d\pi$ (Ru), com o conseqüente deslocamento da banda de transferência de carga para regiões de mais alta energia do espectro.

Para melhor ilustrar a influencia dos ligantes auxiliares, L, sobre a energia da transferência de carga dos complexos do tipo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{L}_2]$ tem-se os espectros de absorção eletrônica para os complexos precursores, $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{Cl}_2]$ e $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO}_2]\text{PF}_6$, ilustrados na Figura 15.

Figura 15. Espectros eletrônico dos complexos precursores: (—) cis-[Ru(bpy)₂Cl₂], (—) cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO₂]PF₆ e (—) cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ em acetonitrila. [Ru] = 3,0 x 10⁻⁵ mol.L⁻¹.



O espectro do complexo cis-[Ru(bpy)₂Cl₂] (linha preta) é fortemente marcado pela presença de duas bandas de transferência de carga metal-ligante (MLCT), com máximos de absorção em 377 nm e 553 nm. Após a coordenação dos ligantes 1,4-ditiano e NO₂⁻ (linha vermelha), em substituição aos ligantes cloreto, as bandas de MLCT são deslocadas para menores comprimentos de onda, em função do caráter π receptor de elétrons destes ligantes. Por outro lado, após a conversão do nitrito complexo em nitrosil complexo, as banda de transferência de carga são deslocadas, indicando o maior caráter π receptor do ligante NO⁺ quando comparado ao NO₂⁻.

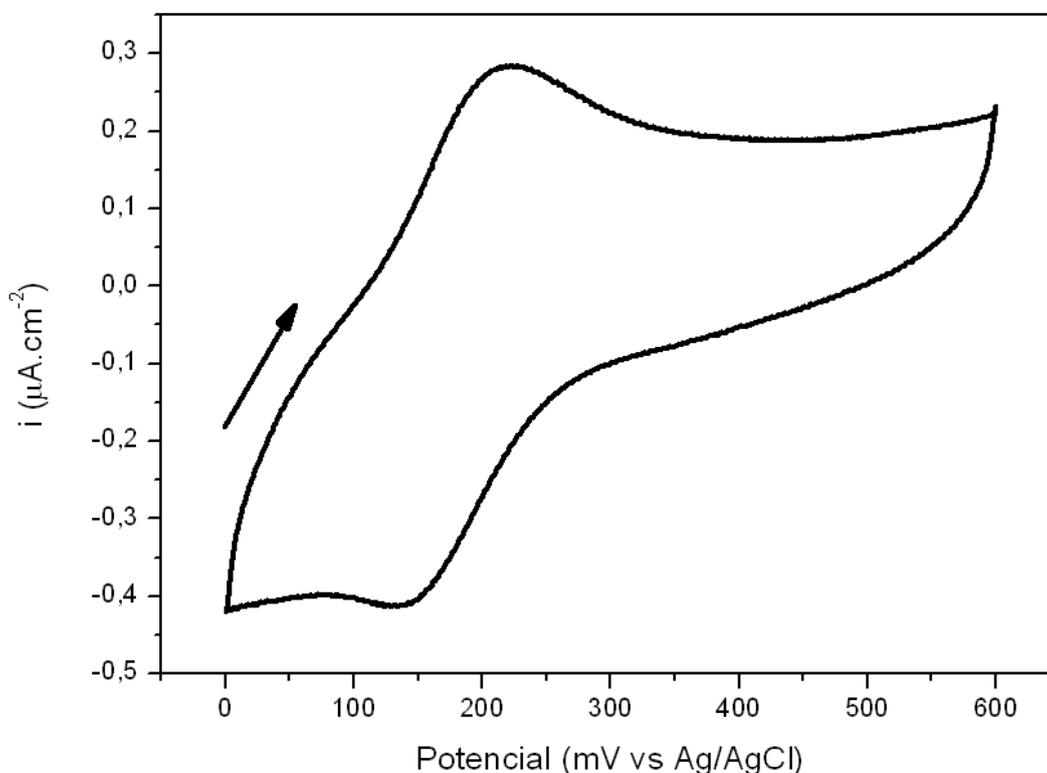
4.1.3. Caracterização por Voltametria Cíclica e Voltametria de Onda Quadrada

Voltametria cíclica (CV) é uma das mais versáteis técnicas eletroanalíticas para o estudo de espécies eletroativas. Sua versatilidade combinada com a sua praticidade explica o extensivo uso da CV por eletroquímicos, químicos inorgânicos, químicos orgânicos e bioquímicos⁷⁵. Em geral, os cientistas recorrem a voltametria por dois motivos: Para estudos analíticos e/ou estudos mecanísticos. Para estudos analíticos, os cientistas aproveitam-se da relação direta entre corrente e concentração para a quantificação de espécies químicas eletroativas em solução. Por outro lado, se o objetivo é mecanístico, químicos procuram conjuntos de condições para as quais uma ligeira alteração nas condições da reação, em concentração constante, produz uma alteração significativa na posição ou magnitude da resposta de corrente-potencial⁷⁶.

Para o estudo de compostos de coordenação a voltametria cíclica é de grande valia, principalmente na determinação dos potenciais formais de redução, os quais podem ser relacionados com o tipo predominante de interação metal-ligante (σ ou π).

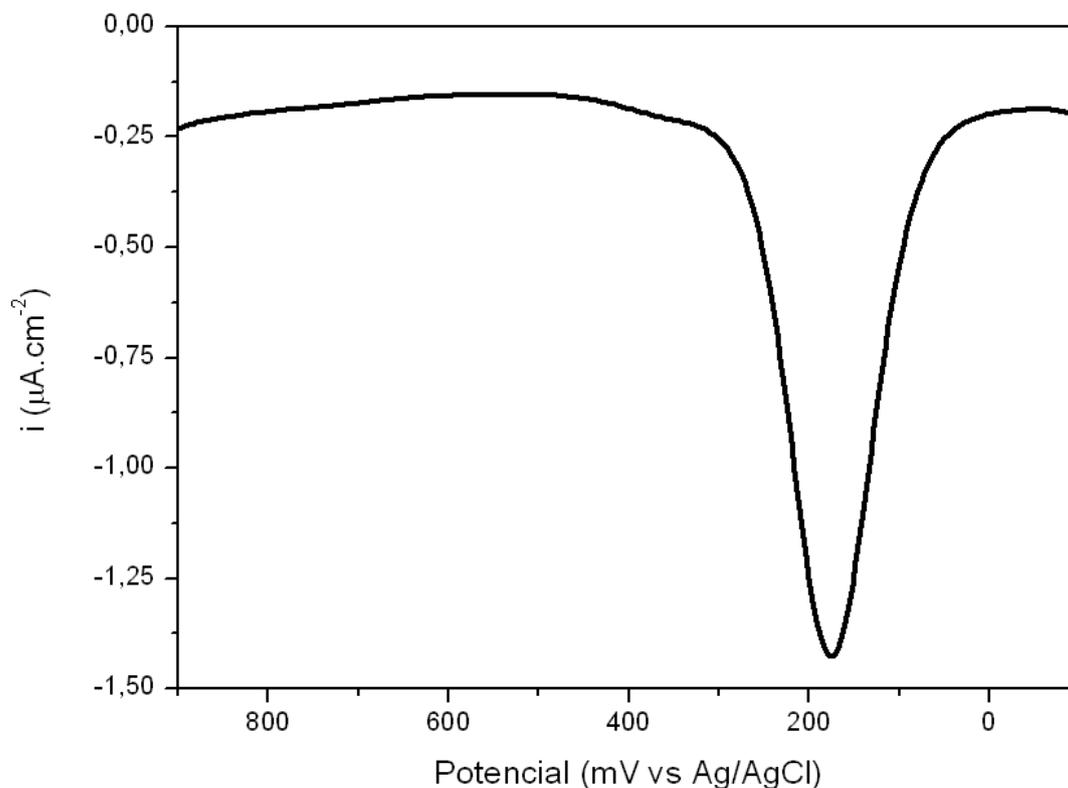
A Figura 16 ilustra o voltamograma cíclico obtido para uma solução do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃. Pode-se observar no voltamograma a existência de um único processo com potencial formal de meia onda ($E_{1/2}$) de 176 mV *versus* Ag/AgCl. Este processo está associado à transferência de elétrons do par redox NO^{+/0}, segundo o descrito para outros metalonitrosilos na literatura⁵¹.

Figura 16. Voltamograma cíclico obtido para o íon complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}^{\text{3+}}$ em NaTFA pH = 2,03. Sentido anódico. Velocidade de varredura de potencial $100\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$.



A voltametria de onda quadrada (SW), por ser mais sensível, foi utilizada para confirmar a existência do processo eletroquímico associado ao par redox $\text{NO}^{+/0}$. Na Figura 17 é ilustrado o voltamograma de onda quadrada para o íon complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}^{\text{3+}}$, onde inicialmente foi realizada a varredura do potencial positivo de 0,9 V ao potencial negativo de -0,1 V. Pode-se observar a inexistência de qualquer processo entre 0,3 V a 0,9 V, que indica a inexistência de complexos precursores ou decomposição do composto em solução. É possível ainda verificar a existência de um processo em 176 mV, corroborando o resultado observado pela técnica de CV.

Figura 17. Voltamograma de onda quadrada obtido para o íon complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}^{3+}$ em NaTFA pH = 2,03. Sentido catódico. Incremento de Varredura de 4mV, Amplitude do Pulso de 25mV e frequência do pulso de 15Hz.



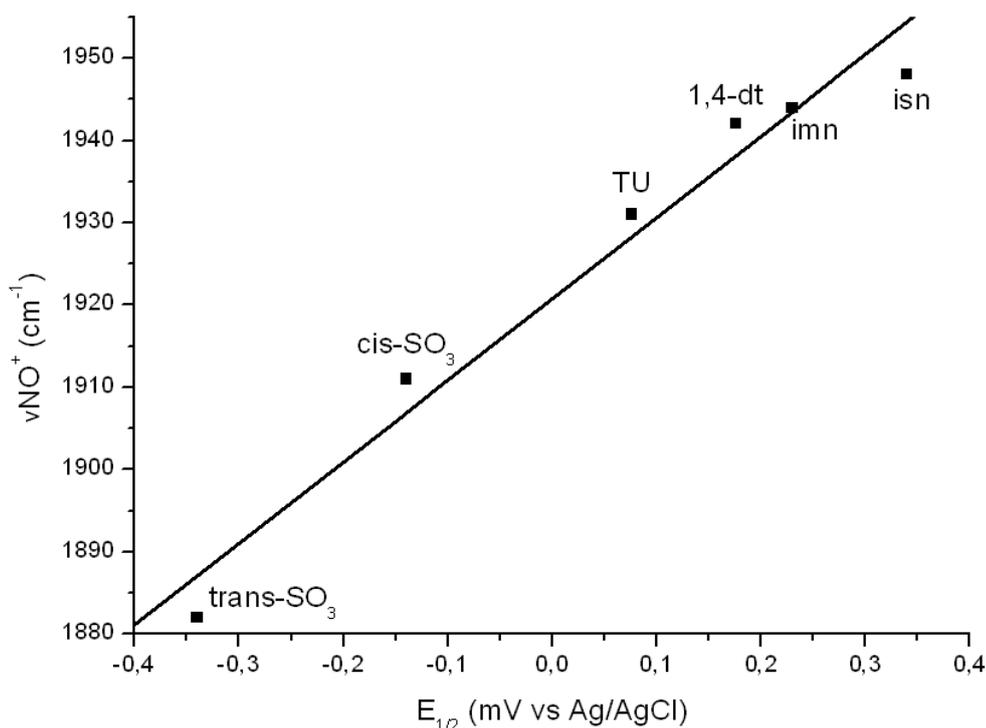
Na tabela 4 têm-se os valores de $E_{1/2}$ do complexo sintetizado em comparação a de outros complexos semelhantes presentes na literatura. Levando em consideração a natureza π receptora e σ doadora dos ligantes é possível explicar a diferença entre os valores de $E_{1/2}$. Pelos dados apresentados na tabela 4 é possível afirmar que o complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}(\text{PF}_6)_3$ possui caráter de NO^+ mais acentuado que o observado para os metalonitrosilos com os ligantes σ doadores (sulfito) e menos acentuado que os do tipo N-heterocíclicos (imidazol e isonicotinamida) que são mais típicos π receptores, uma vez que o $[\text{Ru-NO}]^{3+}$ é mais facilmente reduzido a $[\text{Ru-NO}]^{2+}$ (maior valor de $E_{1/2}$).

Tabela 4. Valores de $E_{1/2}$ para os complexos do tipo [Ru(bpy)₂LNO] vs Ag/AgCl, onde L é: 1,4-ditiano(1,4-dt), imidazol (imn), isonicotinamida (isn), tiouréia (TU) e sulfito (SO₃²⁻). Velocidade de varredura de 0,1V.s⁻¹.

Complexos	$E_{1/2}$ (V)
cis-[Ru(bpy) ₂ (1,4-dt)NO] ³⁺	0,176
cis-[Ru(bpy) ₂ (imn)NO] ³⁺	0,23 ⁵¹
cis-[Ru(bpy) ₂ (isn)NO] ³⁺	0,34 ⁵¹
cis-[Ru(bpy) ₂ (TU)NO] ³⁺	0,076 ⁵¹
cis-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)NO] ⁺	-0,14 ⁵¹
trans-[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)NO] ⁺	-0,34 ⁵¹

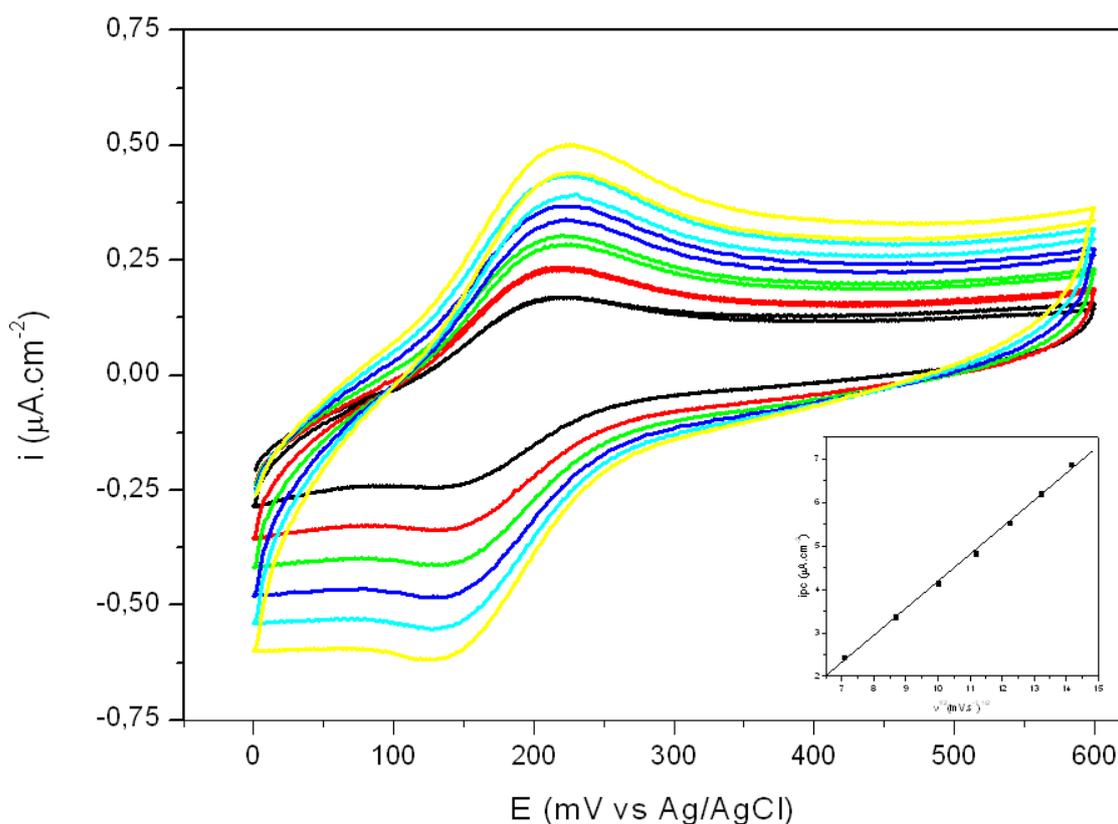
A figura 18 ilustra a correlação entre os parâmetros eletroquímicos e os parâmetros vibracionais, conforme o discutido no tópico 4.1.1. Neste gráfico, verifica-se que o novo nitrosilo complexo sintetizado neste trabalho se enquadra na série apresentada apresentando um coeficiente de correlação de 0,983, apesar das diferenças nas condições experimentais.

Figura 18. Correlação entre os parâmetros eletroquímicos ($E_{1/2}$) e vibracionais (νNO^+) para complexos do tipo [Ru(bpy)₂LNO].



Para estudar a reversibilidade do processo eletroquímico $\text{NO}^{+/0}$ foram obtidos vários voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura para o composto $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}(\text{PF}_6)_3$, conforme ilustrado na figura 19.

Figura 19. Voltamogramas cíclicos para o íon complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}^{3+}$ nas velocidades de varredura de: (—) $50\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$, (—) $75\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$, (—) $100\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$, (—) $125\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$, (—) $150\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ e (—) $200\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$. Sentido catódico.



Um parâmetro de fundamental importância ao se considerar a reversibilidade de um processo redox é a linearidade entre a corrente de pico (i_p) e a raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$). A linearidade desta relação, descrita pela equação de Randles-Sevcik (equação 2), é ainda um indicativo de que o transporte de massa para a superfície do eletrodo ocorre por gradiente de concentração (difusão).

$$i_p = (2,69 \times 10^5) n^{3/2} A D^{1/2} C v^{1/2} \quad (2)$$

Onde: i_p é a corrente de pico, n o número de elétrons, A é área do eletrodo, D o coeficiente de difusão, C a concentração da espécie eletroativa e v é a velocidade de varredura.

Inserido na figura 19 tem-se ilustrada a linearidade entre a corrente de pico catódica (i_{pc}) e a raiz quadrada da velocidade de varredura ($v^{1/2}$) para o complexo sintetizado, sugerindo fortemente que o processo redox é reversível e que o transporte de massa para a superfície do eletrodo ocorre por difusão. A reversibilidade do sistema assegura ainda que o valor de $E_{1/2}$ é aproximadamente o mesmo do potencial formal de meia onda ($E_{1/2}^0$) para o processo⁷⁵.

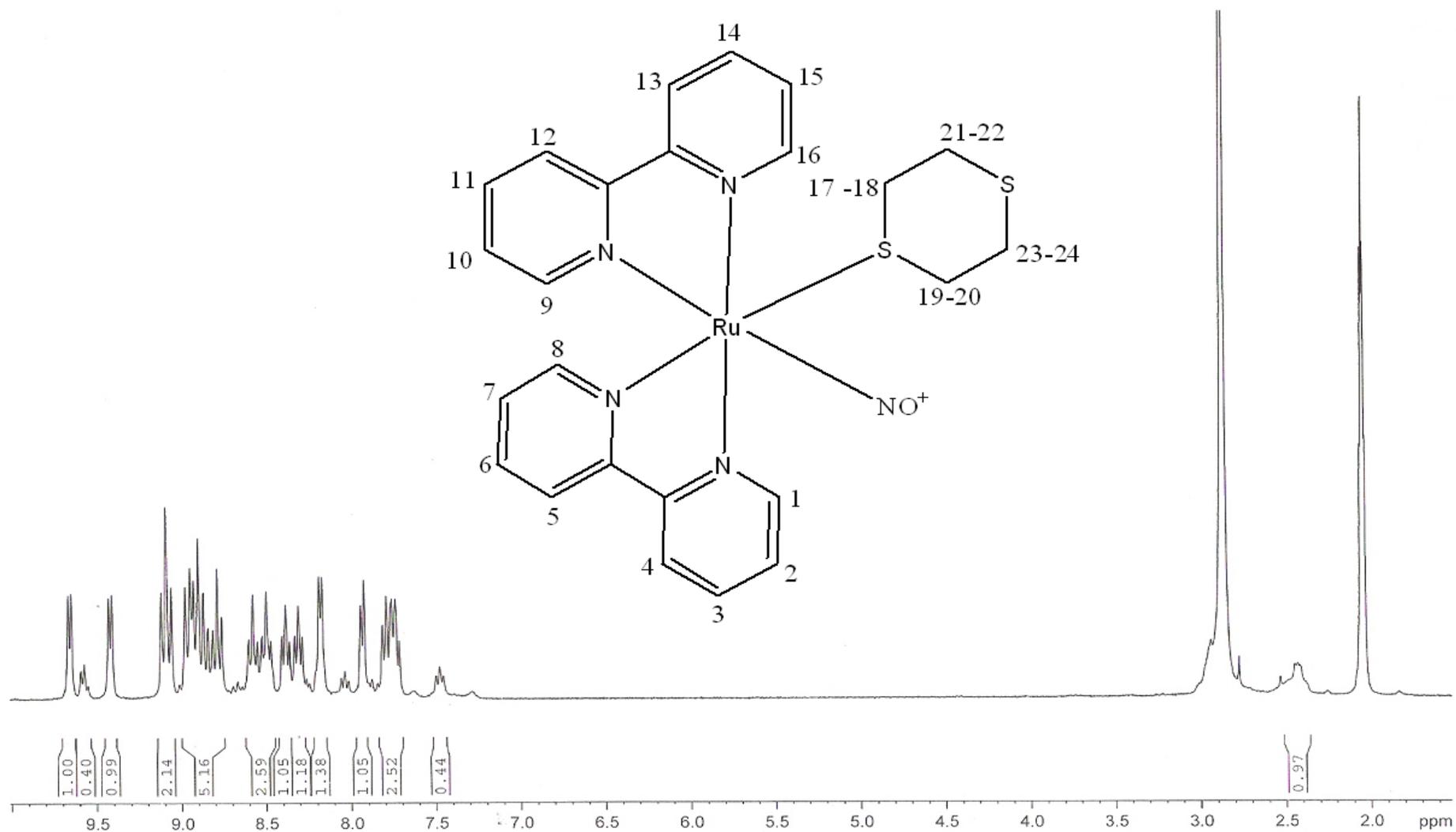
4.1.4. Caracterização por Ressonância Magnética Nuclear de ¹H e ¹³C

A espectrometria por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é uma técnica de extrema relevância na caracterização de compostos orgânicos e inorgânicos. Sob condições apropriadas, em um campo magnético, uma amostra pode absorver radiação na radiofrequência (RF), em uma frequência governada por características estruturais da amostra, sendo a absorção uma função de determinados núcleos da molécula. Um espectro de RMN é um registro gráfico das frequências dos picos de absorção contra as suas intensidades⁷⁷.

Todos os núcleos possuem carga. Em alguns casos a carga gira em torno do eixo nuclear gerando um dipolo magnético ao longo do eixo. O momento angular da carga em movimento pode ser descrito em termos de “número de spin” I , que pode assumir os valores de 0, $1/2$, 1, $3/2$ etc. Vários núcleos possuem número de spin, I , de $1/2$ e, portanto, uma distribuição de carga esférica e uniforme. Dentre estes os mais amplamente usados na espectrometria de RMN são ¹H e ¹³C⁷⁷.

No presente trabalho recorreu-se a espectrometria de ressonância magnética nuclear de ¹H e ¹³C com objetivo de confirmar a fórmula estrutural proposta para o complexo sintetizado. O espectro de RMN de ¹H do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃, em acetona deuterada, é apresentado na Figura 20. A atribuição dos ligantes da bipyridina foi realizada com auxílio da literatura⁵¹, uma vez que os complexos com conformação *cis* apresentam muitos sinais de prótons referentes ao ligante bipyridina. Isto ocorre devido à distorção que há no anel após a coordenação deste ligante. A configuração *cis* é confirmada pela existência de 16 sinais de hidrogênio na região ¹H ligado a carbono sp^2 (deslocamento químico, $\delta > 5$) indicando que os próprios anéis piridínicos não são equivalentes. Este fato é também reportado na literatura para outros complexos bipyridínicos em configuração *cis*⁵¹.

Figura 20. Espectro de RMN de ¹H para o composto *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ em D₃COCD₃ e numeração dos núcleos hidrogênios com a formula estrutural proposta.



Para uma atribuição mais correta dos sinais dos prótons dos ligantes bipyridina utilizou-se o espectro 2D COSY (Figura 21), para evidenciar a relação entre hidrogênios ligados a carbonos vizinhos. A numeração dos hidrogênios foi aquela utilizada na Figura 20. São esperados maiores valores de deslocamento químico (δ) para o anel piridínico em posição *trans* ao ligante NO⁺, uma vez que devido ao seu forte efeito π retirador de elétrons este pode atuar desblindando os hidrogênios do anel. Neste sentido, e tomando como referencia o trabalho realizado por Silva⁵¹ na síntese e caracterização dos complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(isn)NO]³⁺, *cis*-[Ru(bpy)₂(imn)NO]³⁺ e *cis*-[Ru(bpy)₂(SO₃)NO]⁺ seguiu-se a tentativa de atribuição dos sinais dos hidrogênios piridínicos. O sinal na forma de duplete em $\delta = 9,7$ ppm foi atribuído ao H-12. No espectro COSY é observada a correlação do sinal do H-12 com um tripleto em $\delta = 8,4$ ppm, sendo este atribuído ao H-11. Por outro lado, atribuiu-se o sinal em forma de duplete em $\delta = 9,4$ ppm ao H-13, o qual por sua vez correlaciona-se no espectro bidimensional com o tripleto em $\delta = 8,4$ ppm, atribuído ao H-14.

A integração do sinal (um aparente tripleto) com $\delta = 9,1$ ppm está relacionado a dois tipos de hidrogênios magneticamente distintos, sendo na verdade o sinal um duplete de duplete com constantes de acoplamento, J , muito próximas. Estes estão relacionados aos H-4 e H-5, conforme comparação ao atribuído por Silva⁵¹. Estes por sua vez correlacionam-se no espectro COSY aos sinais com $\delta = 8,9$ e $8,85$ ppm, atribuídos aos H-3 e H-6, respectivamente. Por sua vez, os sinais com $\delta = 9,0$ e $8,8$ ppm foram atribuídos aos H-9 e H-16. O sinal de H-9 correlaciona-se a um tripleto com $\delta = 8,6$ ppm, atribuído a H-10. Por outro lado, H-16 exibe correlação com o tripleto com $\delta = 8,5$ ppm, atribuído a H-15. H-2 foi atribuído aquele em $\delta = 7,7$ ppm cuja a multiplicidade do sinal é um tripleto. Este por sua vez correlaciona-se com um duplete em $\delta = 8,2$ ppm, atribuído a H-1. Finalmente, o tripleto com $\delta = 7,8$ ppm foi atribuído a H-7 e este correlaciona-se ao sinal na forma de duplete com $\delta = 7,9$ ppm, atribuído a H-8. As atribuição dos hidrogênios aos seus respectivos deslocamentos químicos é resumida na tabela 5.

Figura 21. Espectro de RMN de ^1H bidimensional COSY para o íon complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}](\text{PF}_6)$.

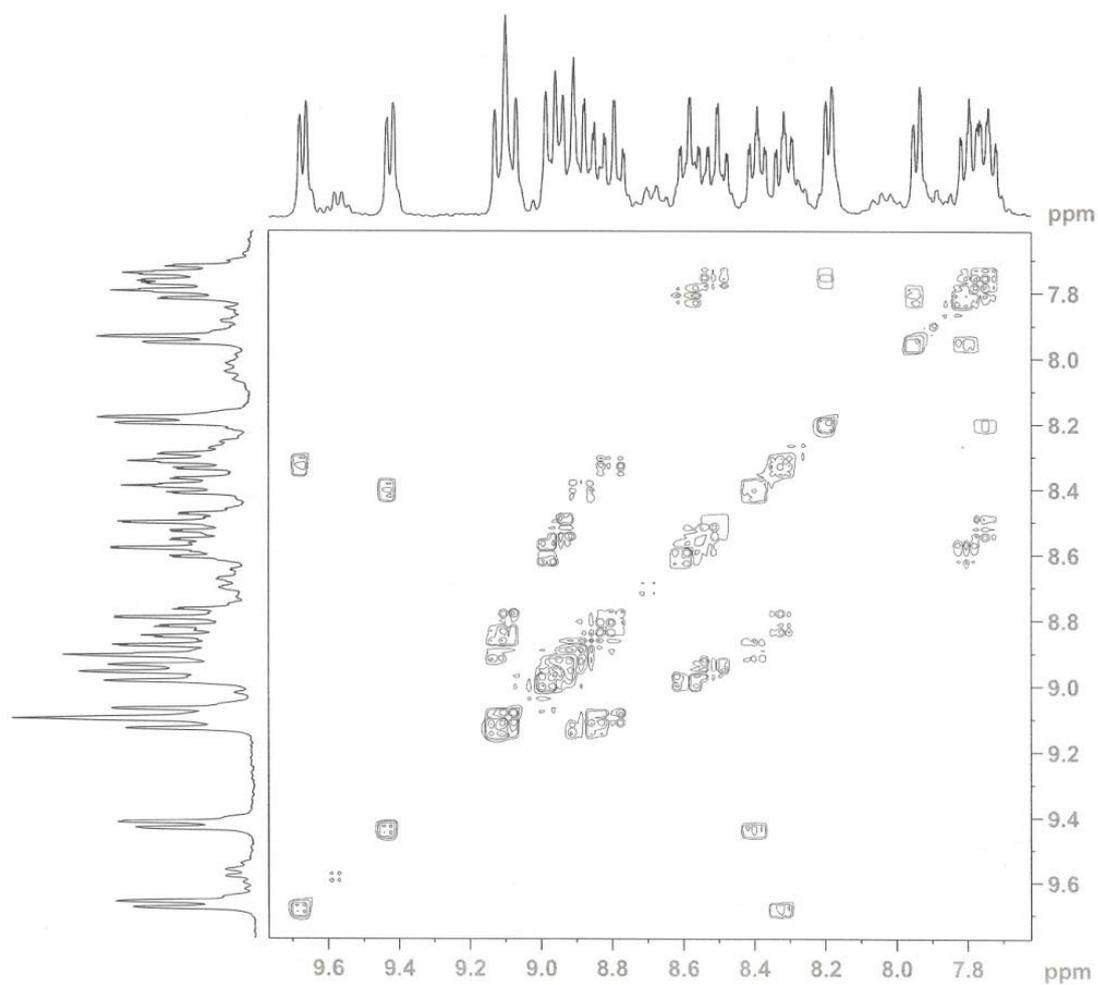


Tabela 5. Deslocamentos químicos de ¹H e atribuições para o íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO]³⁺.

Hidrogênio	δH ¹ (ppm)
1	8,2
2	7,7
3	8,9
4	9,1
5	9,1
6	8,85
7	7,8
8	7,9
9	9,0
10	8,6
11	8,4
12	9,7
13	9,4
14	8,4
15	8,5
16	8,8

Os sinais de hidrogênio para o ligante 1,4-ditiano são esperados na região próxima a 2,8 ppm. No entanto, esta região é aquela onde há absorção de energia de radiofrequência pelos hidrogênios da água presente na acetona, dificultando a visualização dos sinais do ligante 1,4-dt no espectro de RMN de ¹H. Deste modo, a confirmação do ligante 1,4-dt na esfera de coordenação do complexo sintetizado foi realizada pela técnica de RMN ¹³C (Figura 22). Pode-se verificar a presença de dois sinais distintos de carbono (próximos a absorção da acetona) em δ = 27,97 e 32,60 ppm. Estes dois picos confirmam a presença do ligante 1,4-ditiano coordenado ao Ru^{II}, sendo o sinal de campo mais alto associado aos carbonos mais próximo do Ru e o sinal em região de campo mais baixo associados aos carbonos mais distantes do centro metálico (Figura 23). Os sinais estourados no espectro da figura 22 são aqueles dos hidrogênio do solvente.

Figura 22. Espectro de RMN de ¹³C para o complexo cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ em D₃COCD₃C.

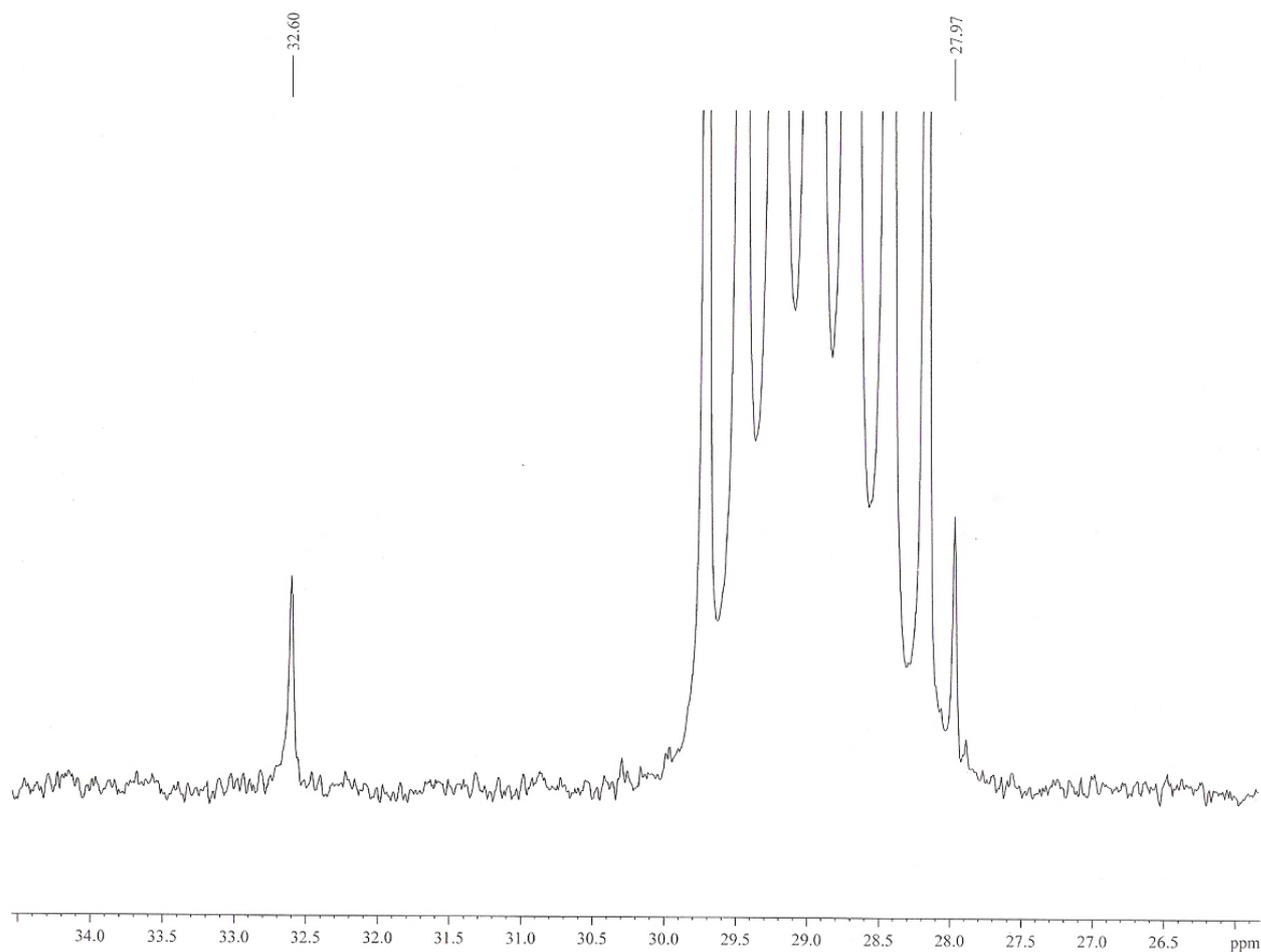
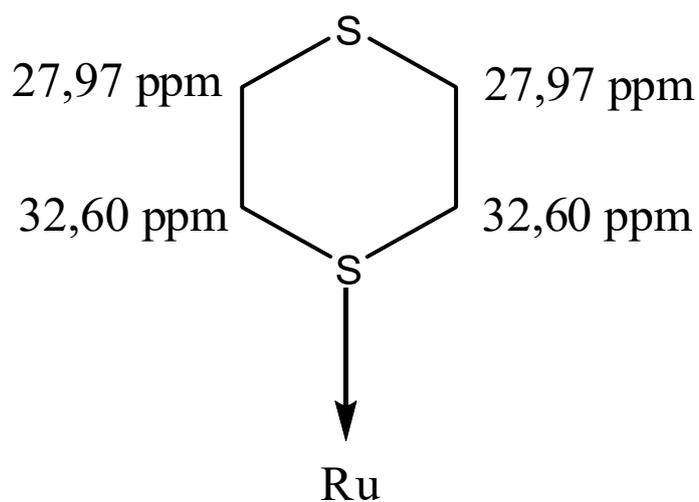


Figura 23. Ilustração do ligante 1,4-dt coordenado ao Ru^{II} com a atribuição dos sinais de RMN de ¹³C.



4.2. Estudo de Reatividade do Complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃

4.2.1. Reação Ácido-Base e interconversão Nitrosil-Nitrito

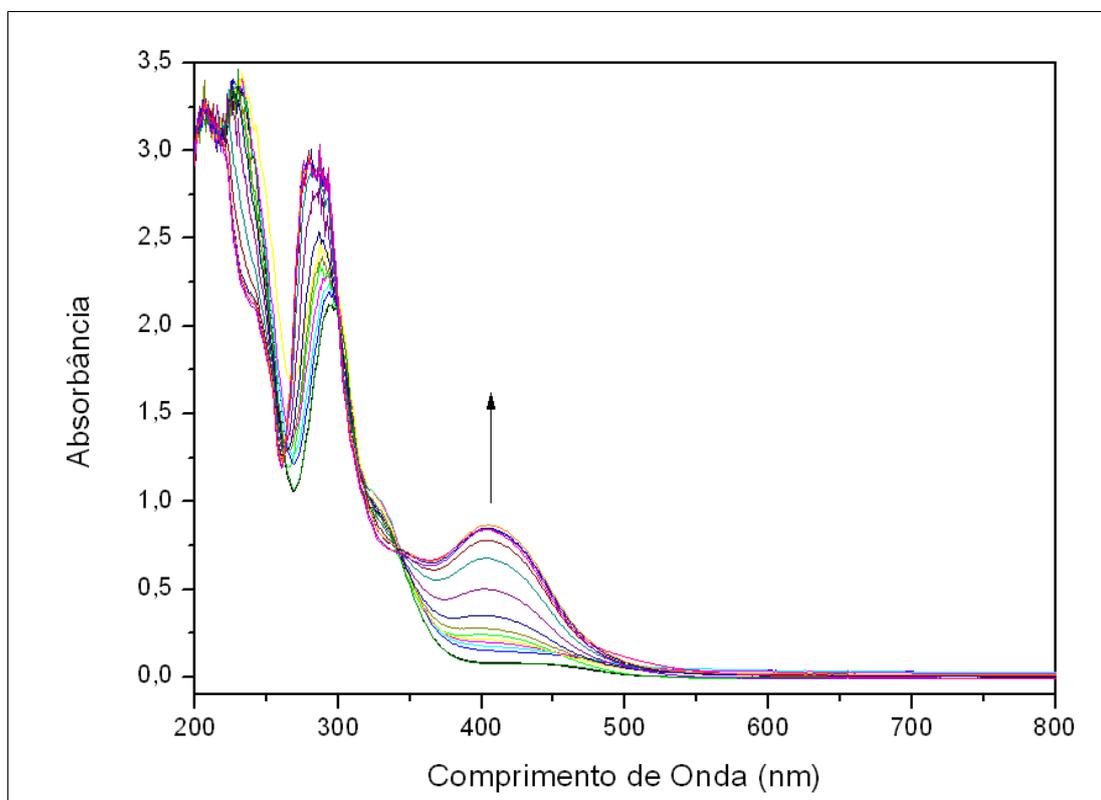
Nitrosilos complexos de rutênio são passíveis de sofrerem ataque nucleofílico, uma vez que o ligante nitrosil (NO⁺) possui caráter eletrofílico. Em meio aquoso, o ataque nucleofílico ao ligante NO⁺ ocorre promovido pelos íons OH⁻, com a consequente formação do nitrito complexo (equação 3)⁷⁸.

Esta reação ocorre em pH específico para cada composto, pois depende da vulnerabilidade do ligante NO⁺ ao ataque do OH⁻. Deste modo, a formação do nitrito complexo dependerá do caráter retrodoador do Ru²⁺ e, conseqüentemente, da natureza do ligante auxiliar coordenado ao centro metálico.



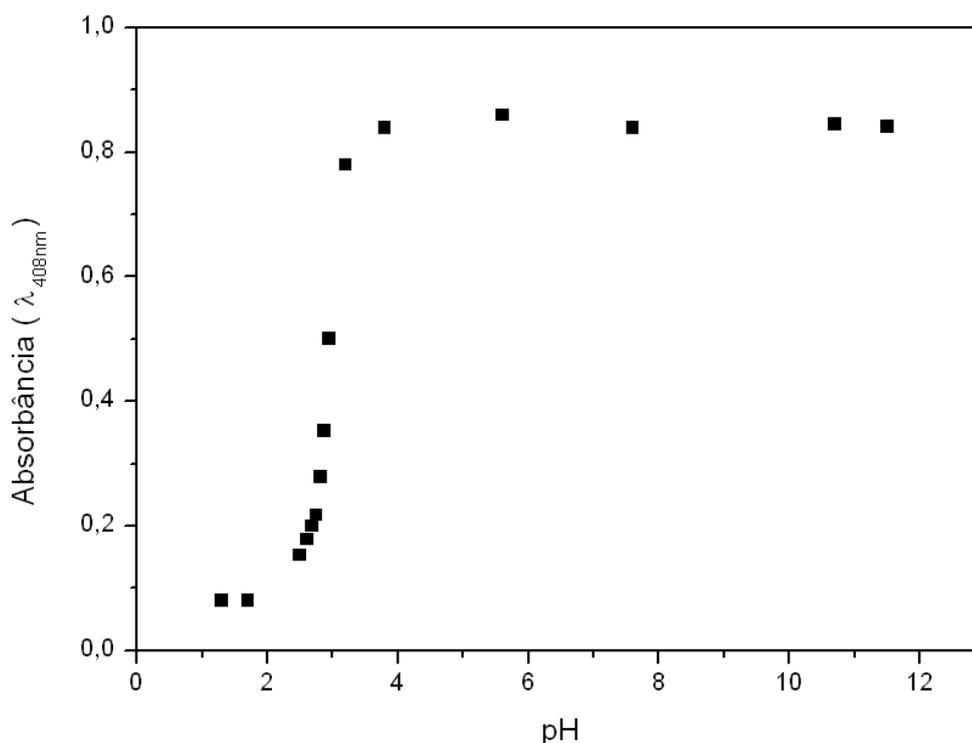
Uma vez que o íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO₂]⁺ apresenta uma banda de MLCT com máximo de absorção em 460 nm (Figura 15) e esta é ausente no nitrosilo complexo (Figura 10), a técnica de espectroscopia no UV-Vís é satisfatória para a realização do estudo de equilíbrio entre as formas nitrosil-nitrito em solução. A Figura 24 ilustra os espectros obtidos para uma solução do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO]³⁺ para diferentes valores de pH, utilizando uma solução aquosa de NaTFA com força iônica μ de 0,1 mol L⁻¹. Através do espectro eletrônico observa-se o aparecimento de uma banda de transferência de carga com comprimento de absorção máximo em 408 nm com o aumento do pH, evidenciando a formação do nitrito complexo. Note que neste espectro a banda de MLCT que surge tem um deslocamento hipsocrômico quando comparada aquela do nitrito complexo caracterizado na figura 15. Este fato decorre do aumento da polaridade do solvente, uma vez que anteriormente o espectro foi obtido em acetonitrila e no presente experimento em solução aquosa.

Figura 24. Espectro de UV-Vís para o íon complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}^{3+}$ em solução aquosa de NaTFA em diferentes valores de pH. Varredura realizada de 200 a 800nm em temperatura ambiente.



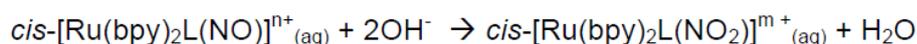
Na figura 25 observa-se o comportamento deste complexo em função do pH, observando-se a variação de absorbância em 408 nm. A análise do gráfico indica que o fragmento $[\text{Ru-NO}]^{3+}$ é passível de sofrer ataque nucleofílico em valores muito baixos de pH (pH próximo a 2,0). Por outro lado, em valores de pH maiores do que 4,0 tem-se o fragmento predominantemente na forma $[\text{Ru-NO}_2]^+$. O pH de equilíbrio para este processo foi estimado em 2,93 através de ajuste da curva da Figura 25. É interessante ainda ressaltar que a conversão do nitrosil complexo a nitrito complexo é reversível. Ou seja, a adição de ácido converte a forma $[\text{Ru-NO}_2]^+$ de volta a $[\text{Ru-NO}]^{3+}$.

Figura 25. Determinação do pH de equilíbrio da conversão da forma [Ru-NO]³⁺ em [Ru-NO₂]⁺ através da medida dos valores de absorbância a 408 nm em função do pH.



A partir do valor estimado para o pH de equilíbrio foi possível calcular o valor da constante de equilíbrio K_{eq} conforme observado no esquema 1. É verificado que, quão menor o valor de pH que remete a interconversão nitrosil-nitrito, maior é o valor da constante de equilíbrio. Para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ o valor de K_{eq} calculado foi de $1,38 \times 10^{22}$. Esse alto valor de K_{eq} corrobora o valor de ν_{NO^+} verificado por espectroscopia de absorção no infravermelho uma vez que, quão maior a característica de NO⁺ tem o óxido nítrico coordenado, mais suscetível este é ao ataque nucleofílico do solvente e a conversão a formação do nitrito complexo.

Esquema 1. Cálculo da constante de equilíbrio da interconversão nitrosil-nitro.



$$K = [cis-[Ru(bpy)_2L(NO_2)]^{m+}] / [cis-[Ru(bpy)_2L(NO)]^{n+}] \times [OH^-]^2$$

$$\text{Para } [cis-[Ru(bpy)_2L(NO_2)]^{m+}] = [cis-[Ru(bpy)_2L(NO)]^{n+}]$$

$$K = 1 / [OH^-]^2$$

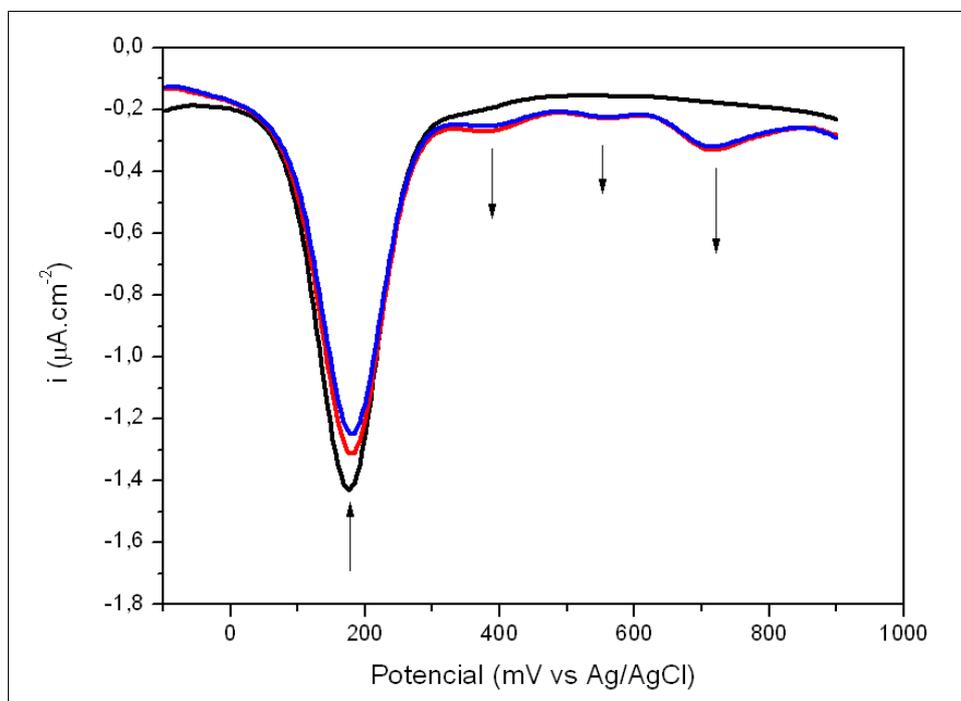
4.2.2. Estudo por Voltametria de Onda Quadrada

A voltametria de onda quadrada foi utilizada no sentido de evidenciar os produtos formados a partir das reações redox do íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO]³⁺. Os voltamogramas de onda quadrada são ilustrados na Figura 26. Estes experimentos foram realizados com diferentes tempos de polarização do eletrodo antes do início da varredura, para verificar a labilização do ligante nitrosilo.

O voltamograma de onda quadrada exibe um único processo eletroquímico em 176 mV, isto na primeira varredura de potencial sem tempo de polarização, idêntico ao ilustrado anteriormente na Figura 17. Este potencial é atribuído a oxidação NO⁰ → NO⁺, visto que a varredura é anódica o que promoverá a oxidação do NO⁰ reduzido inicialmente.

Nas varreduras seguintes, após a aplicação de potencial inicial de -100 mV por 120 e 300 segundos, evidencia-se a diminuição da intensidade da corrente em 176 mV e o surgimento de processos em: 383 mV, 556 mV e 716 mV. Isto decorre da labilização do ligante NO⁰, com a conseqüente coordenação de água e formação do aquo complexo ao centro metálico, com o processo em 556 mV sendo atribuído a oxidação Ru(II) → Ru(III), no aquo complexo⁵¹. Por outro lado, o processo em 716 mV é atribuído a oxidação NO⁰ → NO⁺ livre (diferentemente daquele em 176 mV que refere-se a oxidação do NO⁰ coordenado). Esta atribuição é confirmada após a diminuição da intensidade de corrente da onda voltamétrica do processo após o borbulhamento de argônio no meio. Por outro lado, a natureza mecanística que leva ao produto o qual é oxidado a 383 mV não pode ser completamente elucidado unicamente com o experimento de polarização acompanhado por voltametria de onda quadrada. Este processo pode estar associado a formação de uma espécie onde, após a labilização do NO⁺ coordenado, o ligante 1,4-ditiano atua utilizando dois átomos de enxofre pra coordena-se ao centro metálico, atuando como um ligante bidentado. Compostos de coordenação onde o 1,4-dt atua como ligante bidentado é reportado na literatura⁶⁴, embora, em geral, este se coordene através de um único átomo de enxofre. É importante salientar que esta atribuição é apenas uma sugestão, sendo necessária a realização de novos experimentos em trabalhos futuros para a compreensão mecanística deste processo eletroquímico.

Figura 26. Voltamogramas de onda quadrada para o íon complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}^{\text{3+}}$ após polarização em 100 mV por: (—) 0 segundos, (—) 120 segundos e (—) 300 segundos. Sentido de varredura anódico. Incremento de varredura de 4mV, amplitude do pulso de 25mV e frequência da onda de 15Hz.



4.2.3. Liberação Fotoquímica do Óxido Nítrico

Em nitrosilos-complexos, uma vez que a molécula de óxido nítrico está coordenada ao metal, esta será labilizada da esfera de coordenação apenas se sofrer algum tipo de redução que torne a ligação instável. Diversos nitrosil complexos de rutênio tiveram o seu comportamento fotoquímico estudado⁴⁴ e as etapas de fotoliberação de NO são razoavelmente bem estabelecidas.

Os estudos de fotoliberação do NO a partir do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}(\text{PF}_6)_3$ foi realizado no estado sólido, em pastilhas de KBr, através do acompanhamento do estiramento νNO pela técnica de espectroscopia de absorção vibracional no infravermelho. A Figura 27 ilustra o estiramento νNO^+ para diferentes tempos de irradiação do composto em comprimentos de onda de 350 nm. É observada a diminuição da intensidade do estiramento νNO^+ , indicando que a radiação eletromagnética, neste comprimento de onda, tem energia suficiente para reduzir NO^+

a NO⁰, com a posterior liberação de NO. Comportamento semelhante foi observado após a irradiação em λ de 419nm (Figura 28).

Figura 27. Estiramentos NO⁺ após a exposição do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ no estado sólido a luz nos comprimento de onda (λ) de 350 nm após os tempos de exposição de: (–) 0 minutos, (–) 30minutos, (–) 45 minutos e (–) 60 minutos.

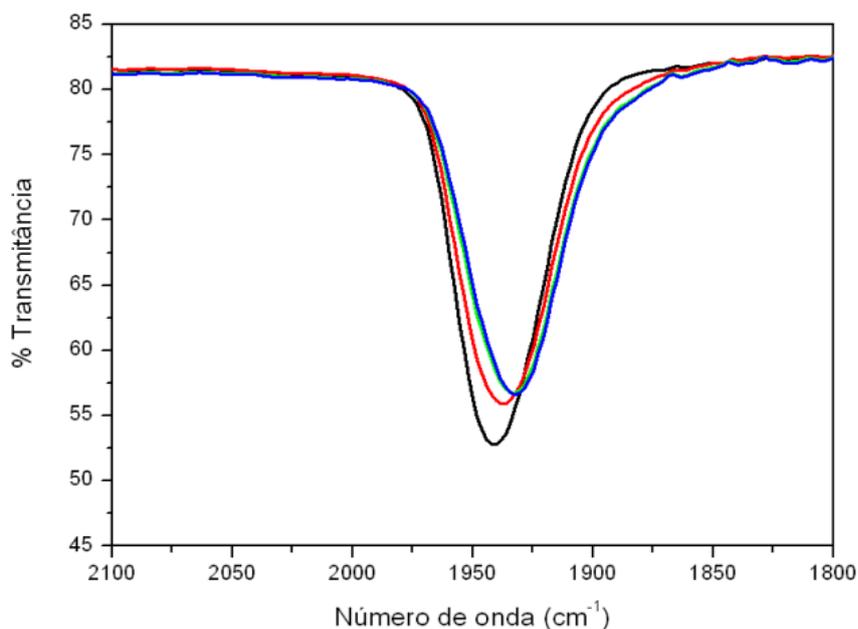
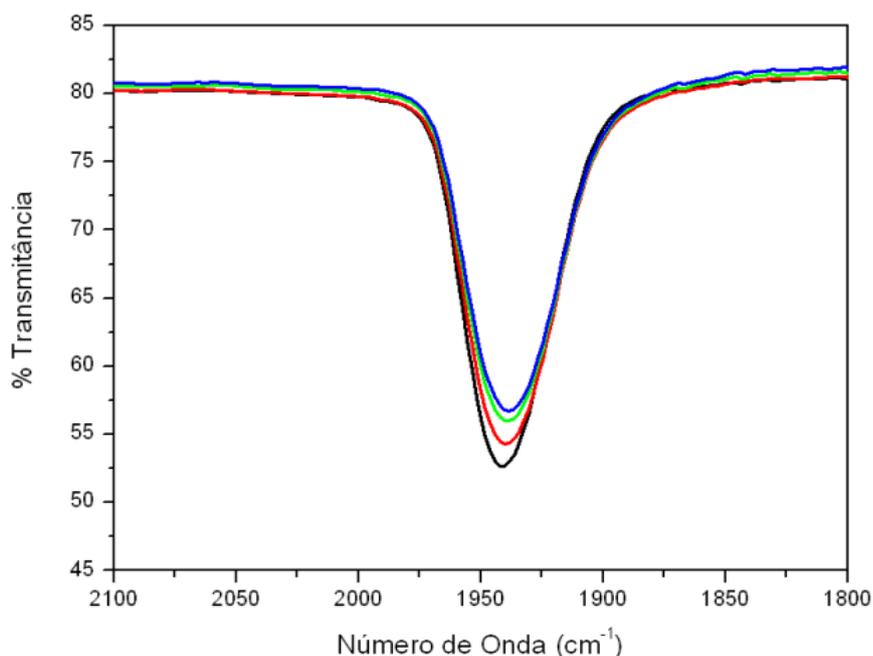
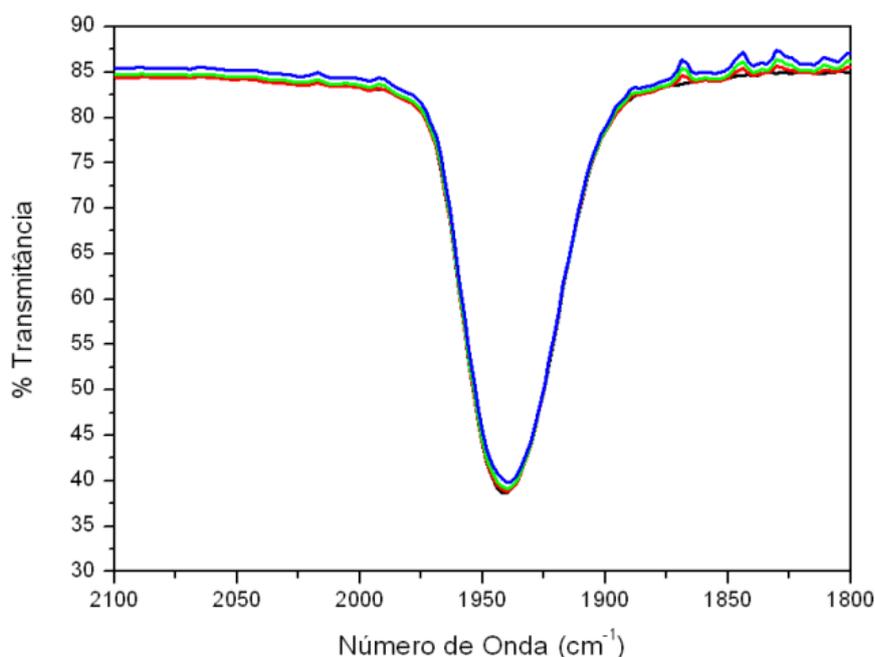


Figura 28. Estiramentos NO⁺ após a exposição do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ no estado sólido a luz nos comprimento de onda (λ) de 419 nm após os tempos de exposição de: (–) 0 minutos, (–) 30minutos, (–) 45 minutos e (–) 60 minutos.



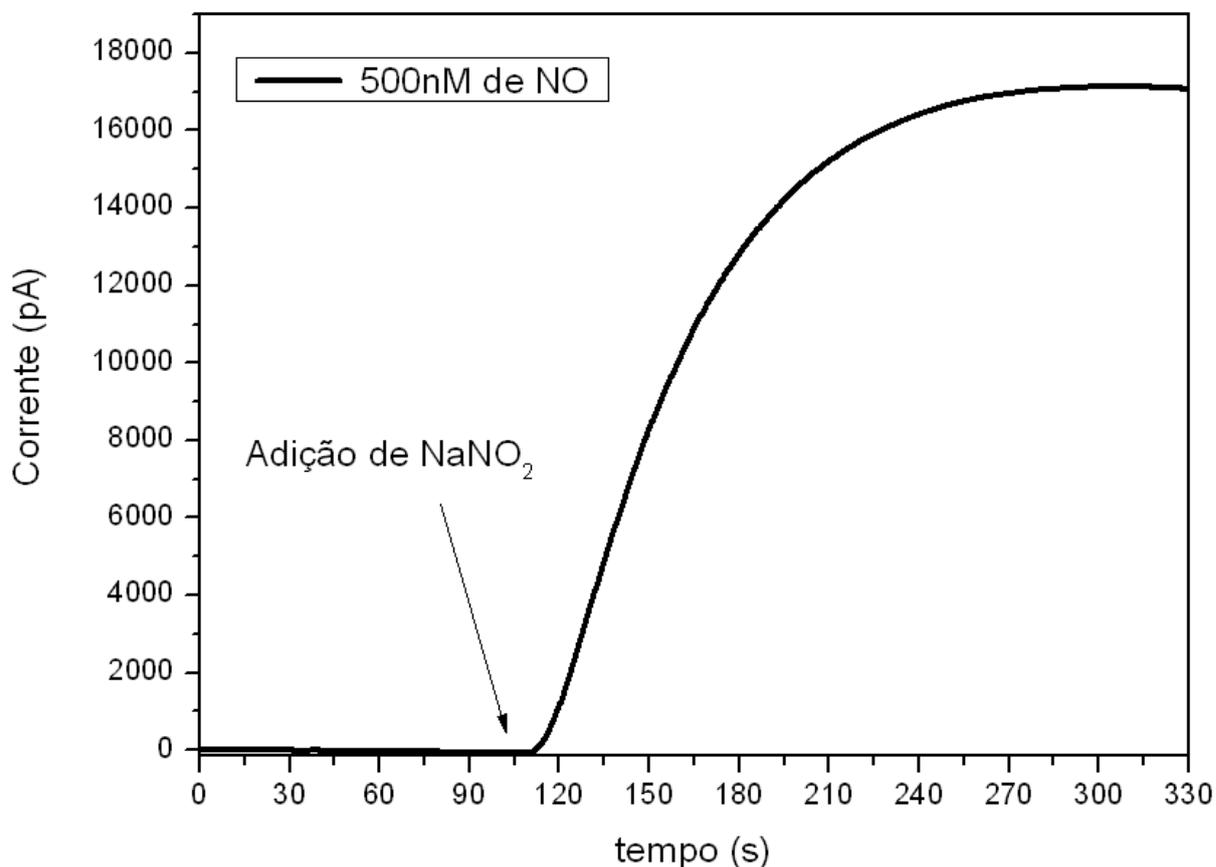
Por outro lado, quando o complexo foi irradiado em comprimentos de onda próximos aqueles da janela terapêutica utilizados em TFD ($\lambda = 575 \text{ nm}$), não foi verificada diminuição significativa dos valores transmitância para o estiramento da ligação νNO^+ , indicando que não há fotoliberação de NO (Figura 29). Este fato sugere que a utilização do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}(\text{PF}_6)_3$ em terapia fotodinâmica só pode ser realizada se alguma estratégia for elaborada para que a fotoliberação de NO após exposição a luz em regiões menos energéticas.

Figura 29. Estiramentos NO^+ após a exposição do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}(\text{PF}_6)_3$ no estado sólido a luz nos comprimento de onda (λ) de 575 nm após os tempos de exposição de: (–) 0 minutos, (–) 30 minutos, (–) 45 minutos e (–) 60 minutos.



De modo a verificar a liberação do óxido nítrico coordenado em meio aquoso foi utilizada a técnica de cronoamperometria com auxílio de um eletrodo seletivo de NO, conforme metodologia já reportado na literatura⁷⁹. A relação de corrente medida por concentração de NO liberado é primeiramente mensurada a partir de uma solução padrão NaNO_2 em meio ácido na presença de iodeto de potássio conforme indicado pela equação 4. A figura 30 indica a corrente resultante da adição de uma solução de NaNO_2 500 nmolL^{-1} . Uma vez que a relação de NaNO_2 adicionado e NO produzido é equimolar e considerando que todo NaNO_2 é convertido em NO^0 , tem-se assim uma solução com concentração de NO^0 igual a 500 nmolL^{-1} . De acordo com o cronoamperograma da figura 30 tem-se a relação de $34,3 \text{ pA/nmolL}^{-1}$ de NO^0 liberado.

Figura 30. Cronoamperograma referente a liberação de óxido nítrico a partir da reação de NaNO₂ em meio ácido na presença de KI.



A figura 31 ilustra os cronoamperogramas obtidos após irradiação do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ com luz em 350 nm, em diferentes concentrações do composto, tomando-se como referência o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)(H₂O)]PF₆ (linha preta). É verificado um aumento da intensidade de corrente após a adição do nitrosilo complexo sintetizado, indicando a liberação do NO coordenado na forma de NO⁰ em solução. Tem-se ainda que a intensidade de corrente registrada é proporcional aquela de nitrosilo complexo adicionado. Por outro lado, não há qualquer registro de corrente após a adição do aquo-complexo ao meio, corroborando que o aumento da intensidade de corrente é aquele característico para o NO liberado a partir do nitrosilo complexo. Na tabela 5 tem-se registrado de forma resumida os principais dados obtidos para o complexo sintetizado por cronoamperometria com eletrodo seletivo de NO⁰.

Figura 31. Cronoamperogramas referentes à liberação de óxido nítrico a partir de soluções de: (—) *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)(H₂O)](PF₆)₂ 29 μmol.L⁻¹, (—) *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ 6,5 μmol.L⁻¹, (—) *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ 18 μmol.L⁻¹ e (—) *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ 29 μmol.L⁻¹ em solução tampão pH 2,03.

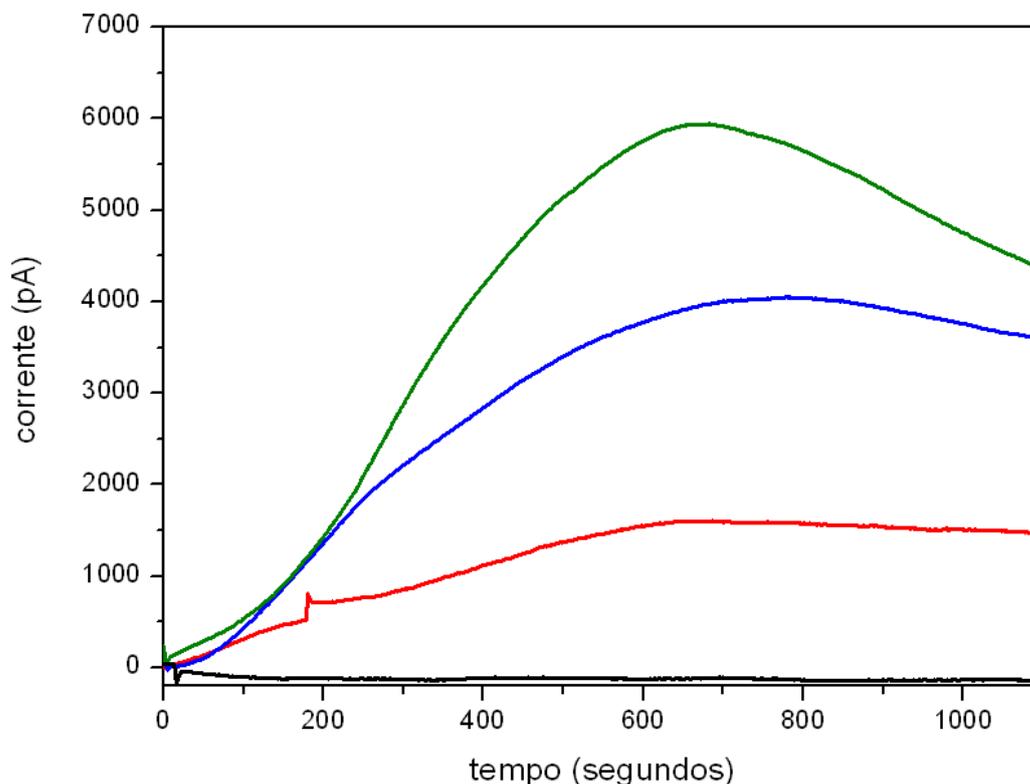


Tabela 6. Dados obtidos a partir da técnica de cronoamperometria com eletrodo seletivo a NO⁰.

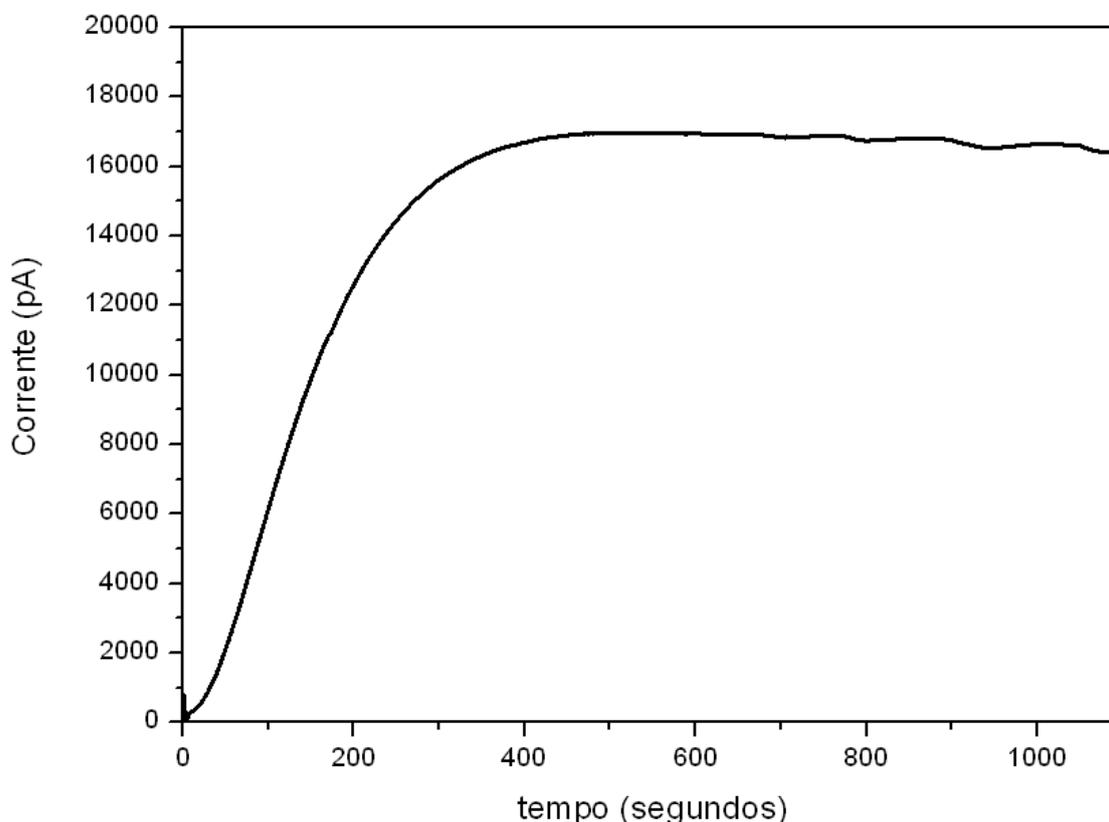
Concentração do complexo (μmol.L ⁻¹)	Intensidade de Corrente Máxima (pA)	[NO ⁰] liberado (nmol.L ⁻¹)	[NO ⁰] liberado/[complexo adicionado]
6,5	1613	47	7,23x10 ⁻³
18	4026	117	6,5x10 ⁻³
29	5947	173	6,0x10 ⁻³

Por outro lado, conforme indicado anteriormente no item 4.2.1., o complexo sintetizado encontra-se predominantemente na forma do nitrito complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO₂]PF₆. Deste modo, é importante a verificação da possibilidade de fotoliberação do NO⁰ a partir do nitrito complexo. Santana⁸⁰ reporta a liberação fotoquímica de NO⁰ a partir da espécie *cis*-[Ru(bpy)₂(4-pic)NO₂] após irradiação em 355 nm. Estudos posteriores indicaram também a possibilidade de liberação de NO⁰

após os complexos cis-[Ru(bpy)₂(py)NO₂]⁺, cis-[Ru(bpy)₂(pz)NO₂]⁺ e cis-[Ru(bpy)(terpy)NO₂]⁺ serem irradiados no UV⁸¹. De um modo geral, menores valores de rendimento quântico para os nitrito complexos são observados quando comparados com aqueles mensurados para nitrosilo complexos.

O cronoamperograma obtido para uma solução 0,1 mmolL⁻¹ do complexo cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO₂]PF₆ em condições de pH 5, é ilustrada na figura 32. Após irradiado a 350 nm, verifica-se o aumento da intensidade de corrente, o qual refere-se a liberação de NO⁰ do nitrosilo complexo. O valor máximo de corrente verificado foi de 16923,3 pA, a qual corresponde a uma concentração de 494 nmolL⁻¹ de NO⁰ liberado. A razão entre as concentrações de NO liberado e de complexo adicionado foi de 4,9x10⁻³, valor próximo àqueles encontrados para o complexo com NO⁺ coordenado, conforme anteriormente reportado na tabela 5. Estes resultados indicam que, embora o complexo cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ seja extremamente suscetível ao ataque nucleofílico, convertendo-se em cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO₂]PF₆, este fenômeno não representa um empecilho do ponto de vista da liberação fotoquímica do NO⁰, visto que as duas espécies são passíveis de liberar óxido nítrico quando irradiados em 350 nm.

Figura 32. Cronoamperogramas referente à liberação de óxido nítrico a partir de solução de *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO₂]PF₆ em solução tampão pH 5.



4.3. Síntese e Caracterização de Nanopartículas Metálicas

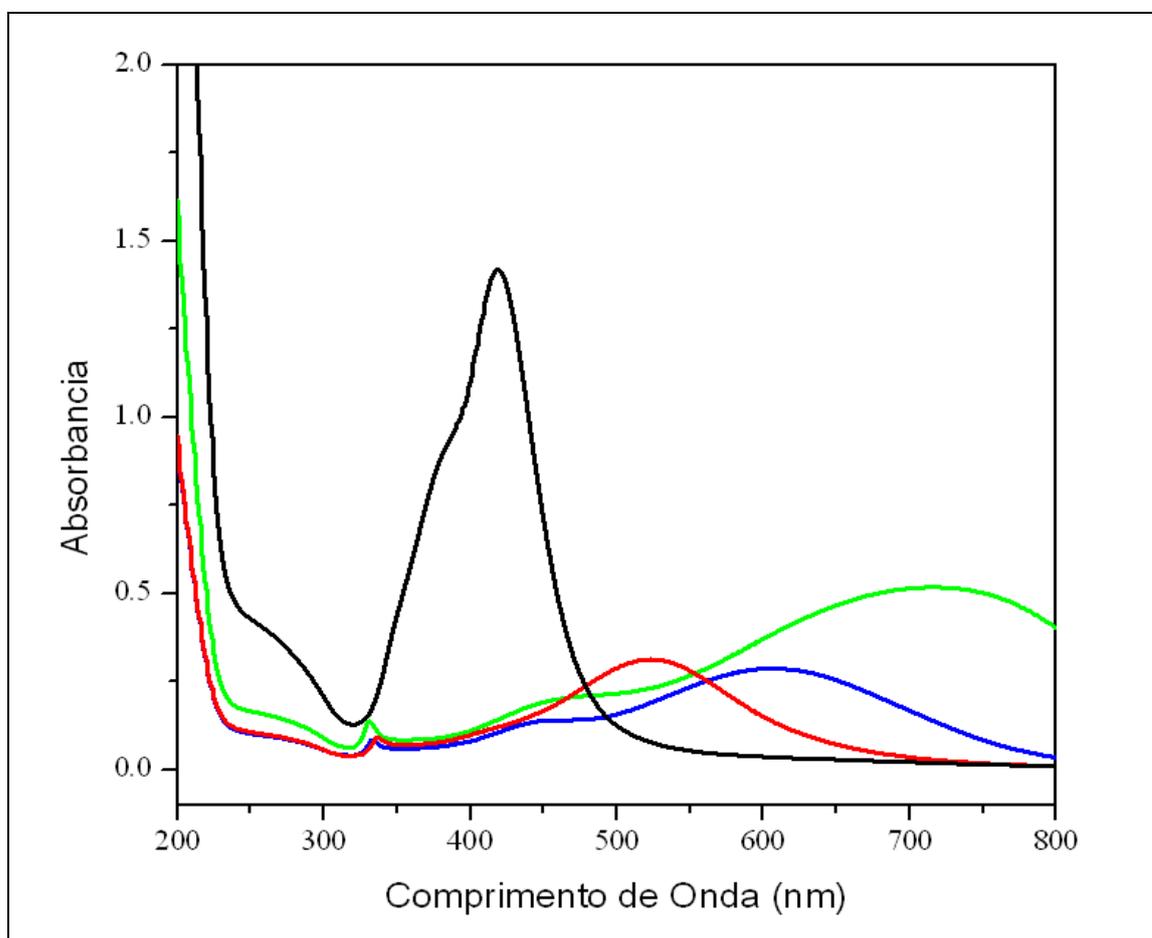
4.3.1. Nanopartículas de Prata (NPsAg)

Nanopartículas de prata de diferentes formas e tamanhos foram obtidas a partir da redução química de AgNO₃ com boridreto de sódio. Íons prata são então convertidos em átomos de prata e iniciam a agregar-se, formando a nanopartícula. A síntese da dispersão coloidal de NPsAg requereu ainda a adição de um composto estabilizante de superfície (citrato de sódio) e de agentes modificantes de forma e tamanho (H₂O₂ e KBr). A concentração de KBr é crítica e limita o tamanho das NPsAg que foi preparada tal como descrito na literatura.

Na Figura 33 observa-se os espectros de absorção no UV-Vis para as NPsAg sintetizadas com diferentes concentrações de KBr. É evidenciado que o aumento da concentração de KBr no meio produz NPsAg com bandas de ressonância de *plasmons* (SPR) deslocadas para regiões de mais alta energia do espectro. Segundo reportado na literatura⁷ nanopartículas com diferentes tamanhos e formas tendem a

exibir bandas de SPR em distintas frequências no espectro, sendo que, nanopartículas maiores tendem a absorver em regiões de menor energia. Deste modo tem-se que, o aumento da concentração de KBr produz NPsAg de diâmetros menores. Estes resultados são de acordo com aqueles exibidos na literatura⁶⁶, onde o tamanho médio e a forma das nanopartículas foram estimados pela técnica de microscopia de varredura por tunelamento, sendo evidenciado ainda que as NPsAg possuem forma geométrica prismática, tendendo a uma geometria próxima a esférica para maiores concentrações de KBr.

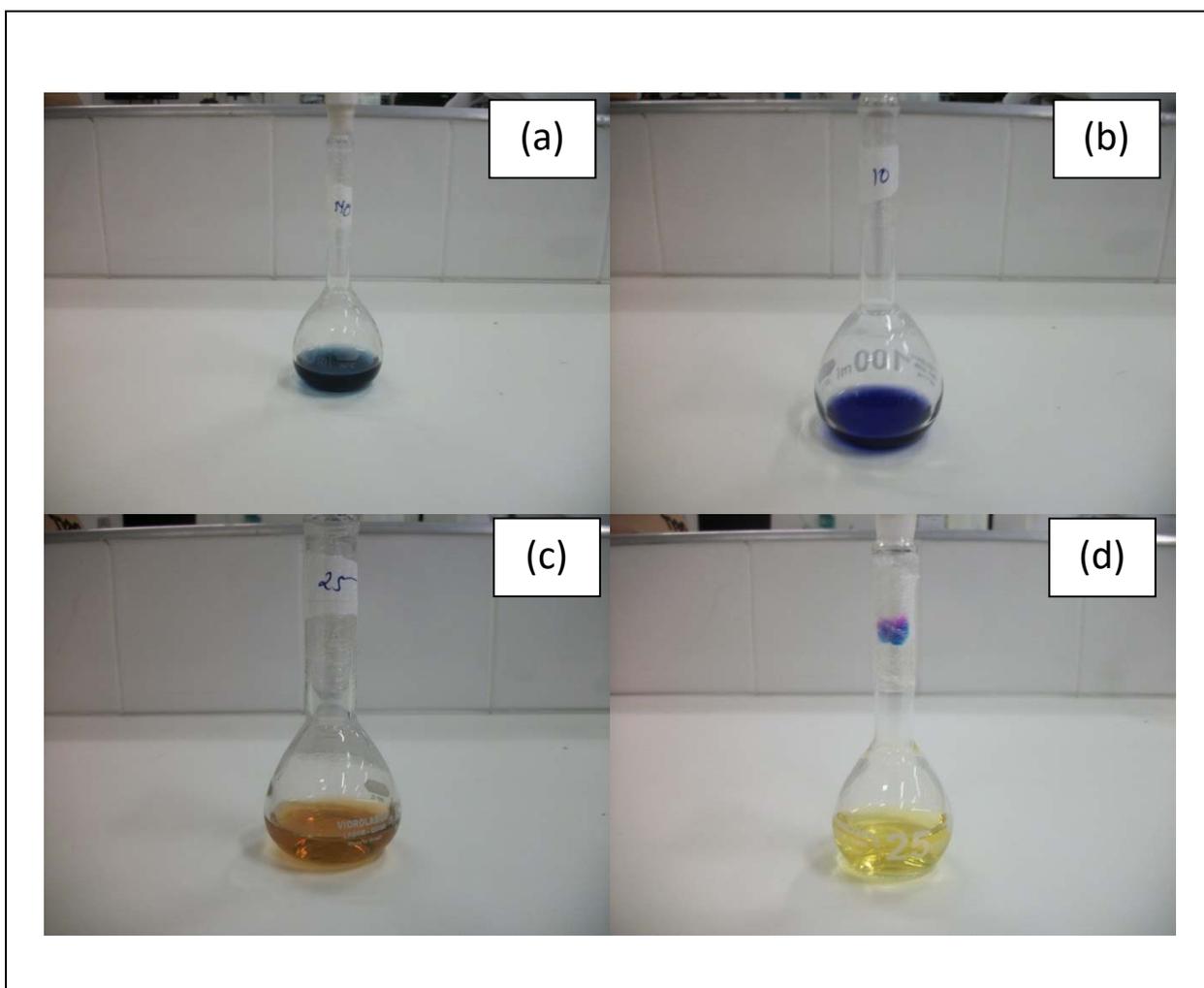
Figura 33. Espectros de absorção no UV-Vís para as NPsAg sintetizadas, sendo o volume de KBr adicionado igual a: (—) 0 μ L, (—) 10 μ L, (—) 25 μ L e (—) 40 μ L.



Uma vez que, como ilustrado na figura 33, as NPsAg sintetizadas com diferentes concentrações de KBr possuem comportamento óptico distintos entre si, estas apresentam-se visualmente diferenciadas (figura 34). Nanopartículas sintetizadas sem adição de KBr apresentam uma coloração azul. Por outro lado

NPsAg sintetizadas com a adição de KBr 1 mmolL^{-1} nos volumes de 10, 25 e 40 μL apresentam-se como suspensões com as cores violeta, laranja e amarela, respectivamente.

Figura 34. Ilustração das NPsAg sintetizadas com diferentes concentrações de KBr, sendo o volume de KBr adicionados igual a: (a) 0 μL , (b) 10 μL , (c) 25 μL e (d) 40 μL .



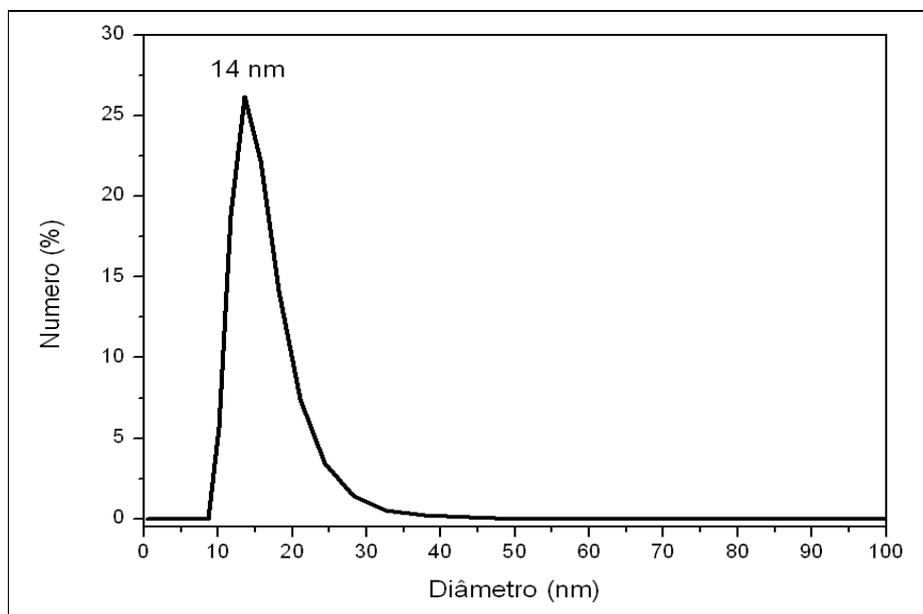
No presente trabalho procurou-se estimar o diâmetro médio das NPsAg em solução pela técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS) com o uso do equipamento zetasizer nano. No entanto, o equipamento mostrou possuir limitações quanto a forma geométrica da amostra que pode ser analisada, sendo que, apenas amostras esféricas reproduzem resultados confiáveis. Deste modo, apenas a NPsAg sintetizada com a adição de 40 μL de KBr (figura 34 d) reproduziu um experimento confiável baseado neste método, apesar das outras terem comportamento espectral

típico ao descrito na literatura base seguida. Deste modo, decidiu-se dar sequencia aos experimentos empregando essa NPsAg determinadas por zetasizer.

A Figura 35 exibe o gráfico que expressa a distribuição de tamanho pelo número de nanopartículas em solução. É observado que a dispersão coloidal apresenta NPsAg monodispersa e com diâmetro médio de 14 nm. Este tamanho encontra-se de acordo com aquele estimado pela técnica de microscopia de varredura por tunelamento para esta suspensão coloidal de NPsAg com bandas de SPR próximas a 400 nm como descrito na literatura⁶⁶.

Foi ainda estimado o potencial zeta ($P\zeta$) para a solução de NPsAg, sendo este igual a -41 mV e pH da solução igual 8,3. Segundo a literatura, nanopartículas com valores de $P\zeta$ mais negativos que -20 mV e mais positivos do que +20 mV são bastante estáveis devido a intensa repulsão eletrostática, o que evita a agregação e fusão das nanopartículas⁷.

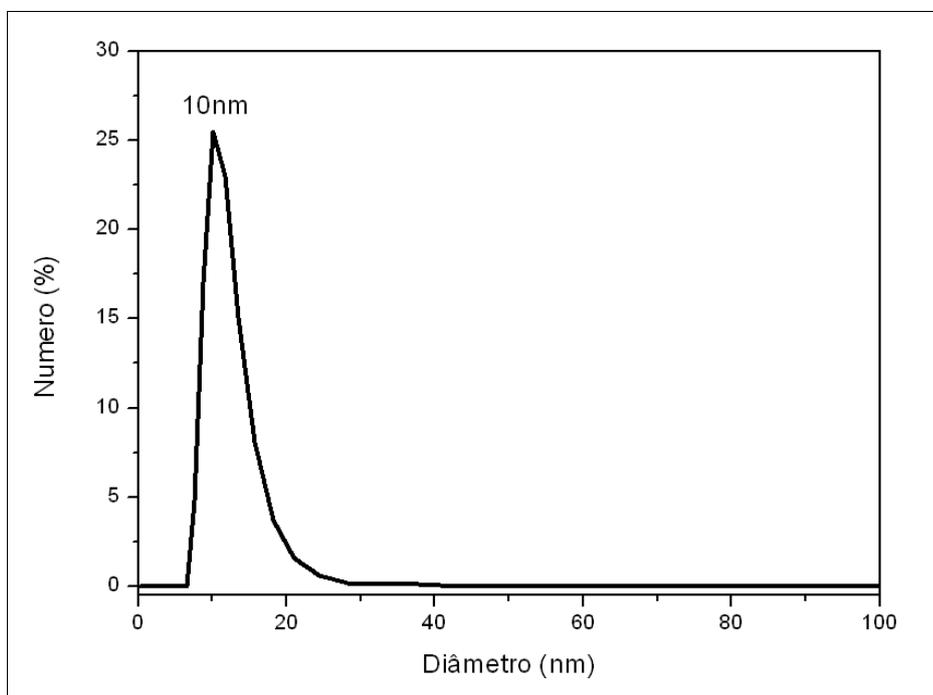
Figura 35. Distribuição de tamanho das NPsAg estabilizadas por citrato em função do número de partículas em solução. pH = 8,3.



As NPsAg foram então submetidas ao processo de diálise com objetivo de obtenção de uma solução isenta de resíduos dos reagentes utilizados, principalmente boridreto de sódio, que pode atuar como forte agente redutor, e H₂O₂, que tem forte efeito oxidante.

A Figura 36 ilustra a distribuição de tamanhos para as nanopartículas após o tratamento da solução por diálise. É observada uma pequena diminuição dos tamanhos das nanopartículas, quando comparadas aquelas antes da diálise, para 10 nm. No entanto, a suspensão permanece monodispersa. Por outro lado, os valores de pH e $P\zeta$ foram drasticamente modificados após o processo de diálise. O $P\zeta$ estimado foi de +4,3mV e o valor de pH igual a 4,5. A diminuição do pH provavelmente está associada a retirada de íons citrato da solução uma vez que este atua não apenas como estabilizante na superfície das NPsAg mas ainda como um eficiente tampão, garantindo que o meio fique moderadamente básico. Consequentemente ao abaixamento de pH tem-se que as nanopartículas tornam-se mais positivas, uma vez que a solução é mais rica em íons positivos H^+ que interagem com as NPsAg. Embora o valor de potencial zeta estimado não esteja dentro da faixa de valores que se espera para uma maior estabilidade de nanopartículas, não foi observado com o tempo 72 horas nenhum tipo de agregação ou fusão.

Figura 36. Distribuição de tamanho das NPsAg, estabilizadas por citrato em função do número de partículas em solução, após diálise da solução. pH = 4,5.



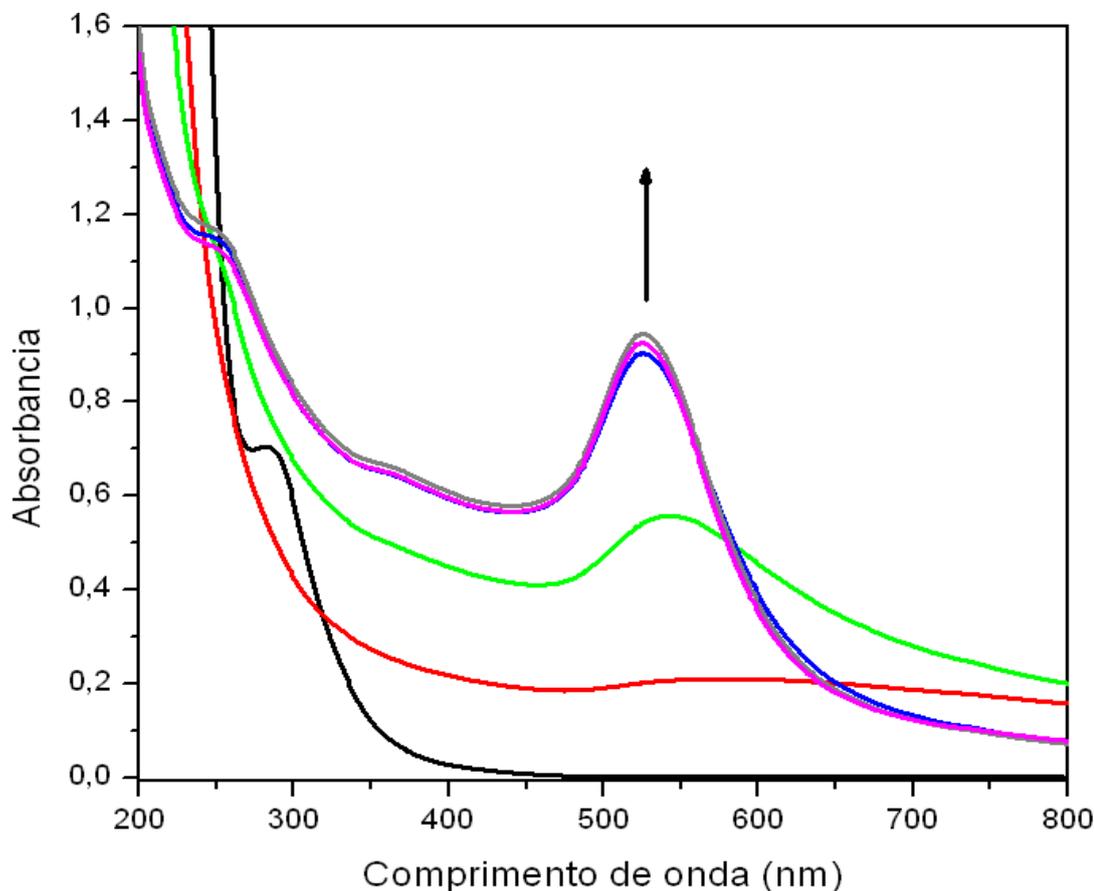
4.3.2. Nanopartículas de Ouro (NPsAu)

Diversas rotas sintéticas de NPsAu são reportadas na literatura. No método de Brust e Schiffrin⁸² o íon complexo AuCl₄⁻ é reduzido por NaBH₄ em solução na presença do ligante desejado. Dependendo do ligante, partículas cujas dimensões variam de 1,5 a 6 nm podem ser obtidas. Esta síntese possui a vantagem de ser rápida e NPsAu sintetizadas são protegidas por monocamadas de citrato que podem ser facilmente obtidas. Para a síntese de nanopartículas de ouro de maior diâmetro o método de redução de sais de ouro por citrato de sódio é largamente utilizado (método de Turkevich)⁶⁷. Este foi o procedimento sintético utilizado no presente trabalho. Esta rota sintética foi adotada por apresentar algumas vantagens quanto as características das NPsAu sintetizadas. Dentre estas vantagens podem ser citadas: (i) a presença de monocamadas de citrato na superfície das NPsAu, os quais estabilizam as nanopartículas frente a agregação, bem como ainda atuam como um ligante lábil, possibilitando a funcionalização das nanopartículas por outros tipos de ligantes; (ii) a síntese de nanopartículas com carga negativa, oriundas do íon citrato. Uma vez que os íons complexos de rutênio em solução assumem sua forma catiônica é provável uma atração eletrostática entre os nitrosilo complexos e as NPsAu sintetizadas e (iii) a presença de bandas plasmônicas entre 520 e 580 nm, comprimentos de onda próximos da janela terapêutica utilizada em TFD.

A síntese de NPsAu estabilizadas por citrato foi acompanhada, em intervalos de cinco minutos, por espectroscopia de absorção no UV-Vís (Figura 37). Verifica-se inicialmente apenas a presença do sal de ouro utilizado, que em solução encontra-se na forma do íon complexo AuCl₄⁻, o qual apresenta uma banda com máximo em 300 nm (linha preta). Após poucos minutos é iniciada a redução dos íons AuCl₄⁻ e a formação de nanopartículas de ouro, as quais podem ser acompanhadas pelo surgimento de uma banda próximo a 527 nm. É ainda possível observar que, inicialmente, a banda é bastante larga, ficando mais bem definida com o tempo reacional. Este fato indica que, inicialmente, tem-se a formação de NPsAu multidispersas, ou seja, de diferente distribuição de tamanhos. Contudo, aquelas de maiores tamanhos são menos estáveis e tendem ser desfeitas, enquanto NPsAu cuja a dimensionalidade é aquela que garante maior estabilidade são prioritariamente sintetizadas⁸³. Por outro lado, pode-se verificar o surgimento de uma banda entre 300

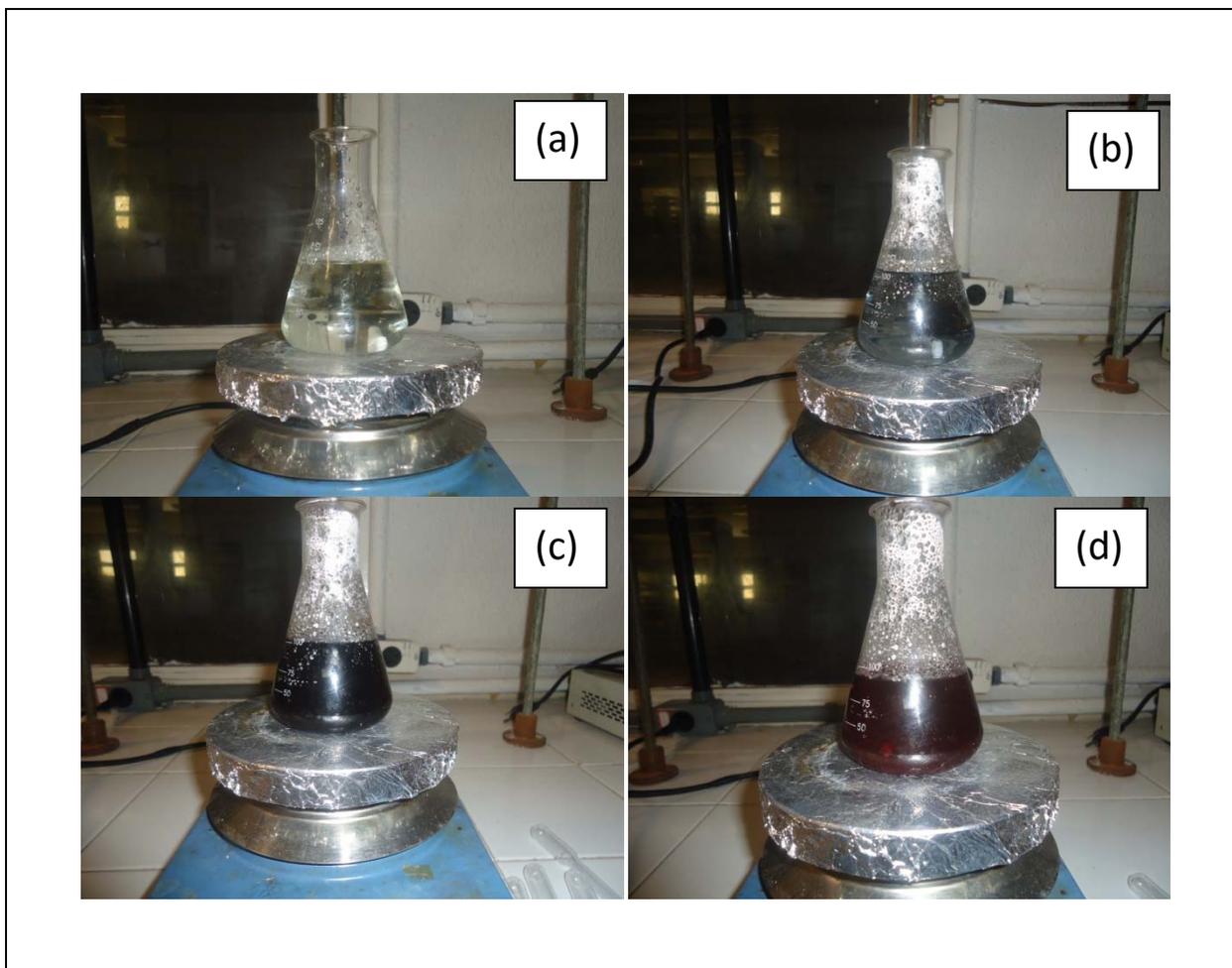
e 400 nm. Estas bandas podem estar associadas a presença de nanoclusters, cujo as dimensões são menores do que 10 nm⁸³.

Figura 37. Acompanhamento espectral da redução de íons $AuCl_4^-$ por citrato de sódio em meio aquoso, com a conseqüente formação de NPsAu.



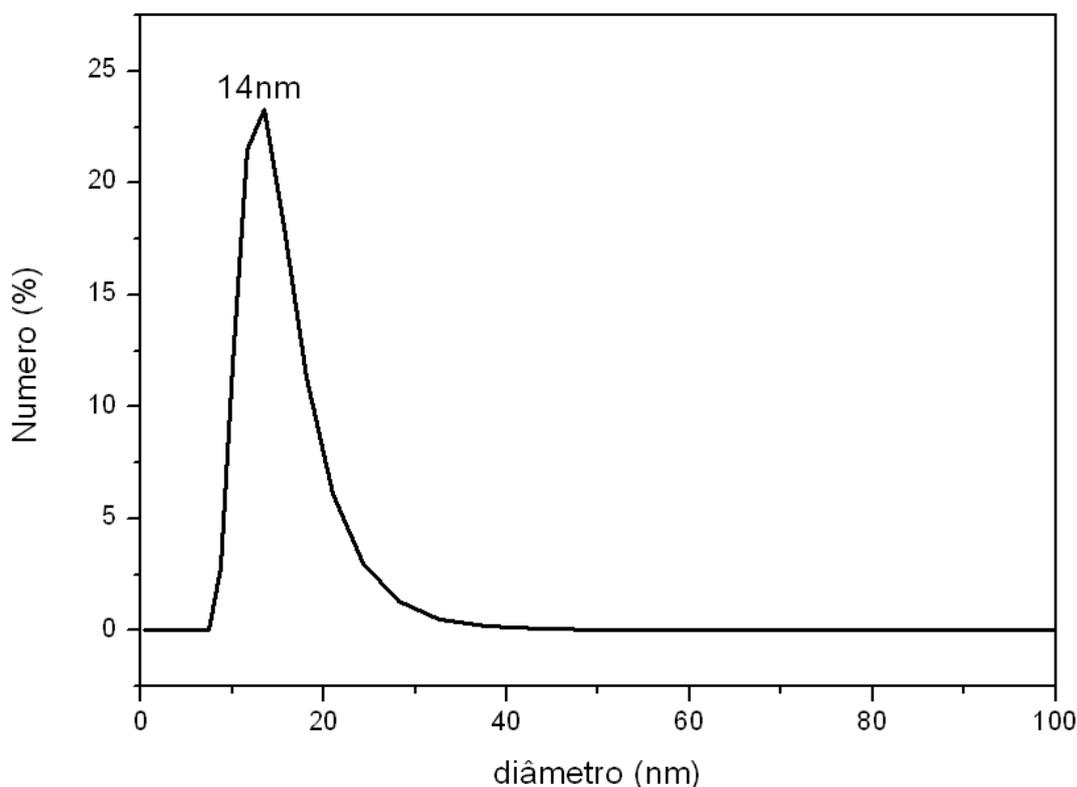
A síntese das NPsAu também pôde ser acompanhada apenas visualmente, conforme ilustrado na figura 34. Inicialmente é observada uma solução de coloração dourada, como ilustrado na figura 38a, típico de espécies $AuCl_4^-$ em solução. A medida que as nanopartículas iniciavam a sua formação a solução passava de um azul pálido (figura 38b), para azul escuro (figura 38c) até ser verificada a coloração vermelha típica das NPsAu com banda de plasmons próximo a 520 nm (figura 38d). Após sintetizadas as NPsAu foram estocadas em geladeira ao abrigo da luz por 24 horas quando o pH foi medido de 7,6.

Figura 38. Mudança de coloração verificada durante a síntese de NPsAu pela redução de $AuCl_4^-$ em solução com citrato de sódio após: (a) 0 minutos, (b) 5 minutos (c) 10 minutos e (d) 15 minutos.



Em seguida, realizou-se a caracterização das suspensões coloidais de NPsAu pela técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS). O gráfico do número de partículas em função do tamanho das NPsAu é ilustrado na figura 39. De acordo com o estimado, as NPsAu sintetizadas possuem um diâmetro médio de 14 nm, semelhante aqueles das NPsAg sintetizadas. É possível ainda verificar que as NPsAu encontram-se razoavelmente monodispersas. O valor de $P\zeta$ estimado foi igual a -35,2 mV. Este valor corrobora a presença de íons citrato na superfície das NPsAu, os quais contribuem para a carga negativa das nanopartículas. Ainda mais, este valor de potencial zeta indica que as NPsAu são estabilizadas eficientemente por efeitos eletrostáticos.

Figura 39. Distribuição de tamanho das NPsAg, estabilizadas por citrato em função do número de partículas em solução, após diálise da solução. pH = 7,6.



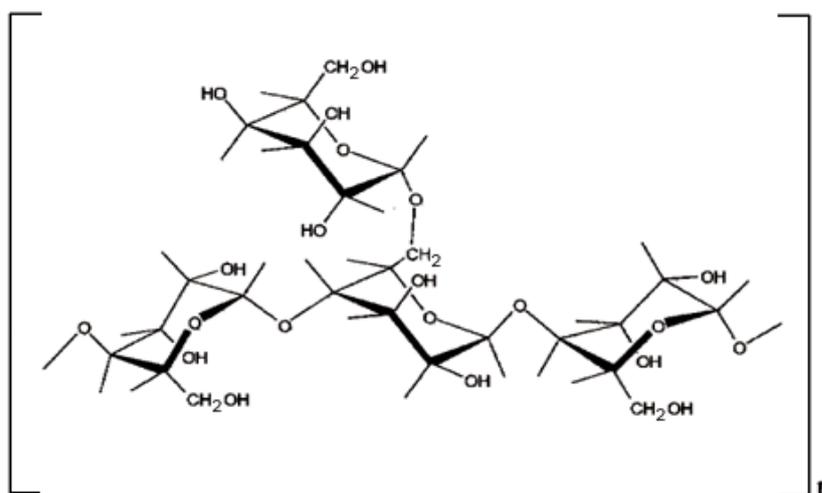
As NPsAu sintetizadas não necessitaram ser submetidas a purificação por diálise, uma vez que no procedimento sintético foi utilizado apenas citrato de sódio como agente redutor, diferentemente ao realizado para as NPsAg (tópico 4.3.1.) onde havia a presença de fortes agentes oxidantes e redutores. Além disso, as NPsAu não mostraram nenhuma mudança visual após a adição de 1 mL de uma solução de KCl 0,1 mol.L⁻¹, o que mostra sua estabilidade eletrostática, uma vez que nanopartículas instáveis tendem a precipitar com o aumento da força iônica do meio.

4.3.3. Nanopartículas de Prata Estabilizadas por Galactomanana da Fava Danta (GFD-NPsAg)

Um novo aspecto de demasiada importância na síntese de nanopartículas metálicas é a denominada síntese verde (green synthesis). Neste processo três pontos principais devem ser levados em conta no planejamento da síntese: a escolha adequada do solvente, a seleção do redutor e a escolha de materiais não tóxicos para a estabilização das nanopartículas⁸⁴. Sob esta perspectiva estudos recentes apontam para o uso de polissacarídeos como estabilizante, tal como quitosana⁸⁵ e queratina⁸⁶.

No presente trabalho foi utilizado o polissacarídeo Galactomanana (Figura 40) extraído da Fava danta (*Dimorphandra gardneriana* Tul. e *Dimorphandra mollis* Benth.) para a estabilização das nanopartículas. O polissacarídeo foi extraído, purificado e gentilmente doado pelo grupo do Laboratório de Polímeros da Universidade Federal do Ceará, bem como a metodologia utilizada na síntese das GFD-NPsAG foi estabelecida por este grupo.

Figura 40. Estrutura básica de uma galactomanana com razão manose/galactose 3:1⁸⁷.



O espectro de absorção no UV-Vis para suspensão coloidal de GFD-NPsAg é ilustrada na figura 41. É verificada a presença da banda de SPR com comprimento de onda máximo em 400 nm, semelhante a aquela observada para NPsAg sintetizada anteriormente, conforme descrito no item 4.3.1., na qual havia a adição de 40 μ L de KBr 10^{-3} mol.L⁻¹. Visualmente a suspensão coloidal de GFD-NPsAg apresenta-se como um líquido de cor amarela intensa (figura 42), característica de nanopartículas de prata cujas dimensões variam de 10 a 20 nm.

Contudo, a caracterização destas nanopartículas quanto ao seu tamanho pela técnica de DLS não se mostrou eficaz. Provavelmente, a presença do polissacarídeo, o qual já possui dimensões consideráveis, dificulta a análise precisa do tamanho das nanopartículas com auxílio do equipamento zetasizer. Por outro lado, como o máximo no espectro de UV-Vis é próximo daquele verificado para NPsAg com 14 nm de diâmetro é provável que as GFD-NPsAg tenham aproximadamente estas dimensões.

Figura 41. Espectro de Absorção no UV-visível para a suspensão de GFD-NPsAg sintetizada.

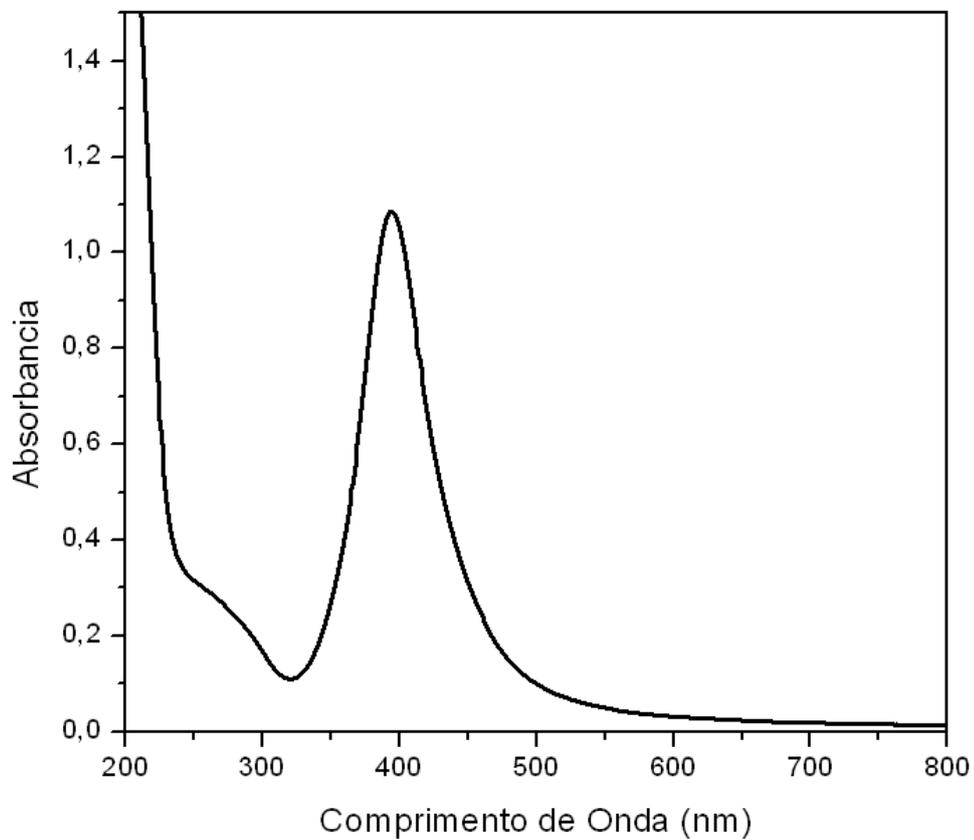


Figura 42. Imagem da suspensão coloidal de GFD-NPsAg sintetizada.



Por outro lado, o valor de $P\zeta$ estimado foi de -11,0 mV em pH = 7. Este valor de $P\zeta$ indica que a molécula de galactomanana não confere as nanopartículas grande estabilidade eletrostática. Contudo, estas partículas se mostram extremamente estáveis, podendo ser estocadas por vários dias. Este fato está relacionado com a estabilização por repulsão estérica, a qual é conferida pelo polissacarídeo às nanopartículas de prata. Após a diálise foi verificada uma diminuição do valor de pH para 5,5, o valor de $P\zeta$ estimado foi de -7,69.

4.4. Funcionalização das Nanopartículas Metálicas Pelos Nitrosilos Complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ e *cis*-[Ru(bpy)₂(SO₃)NO]PF₆

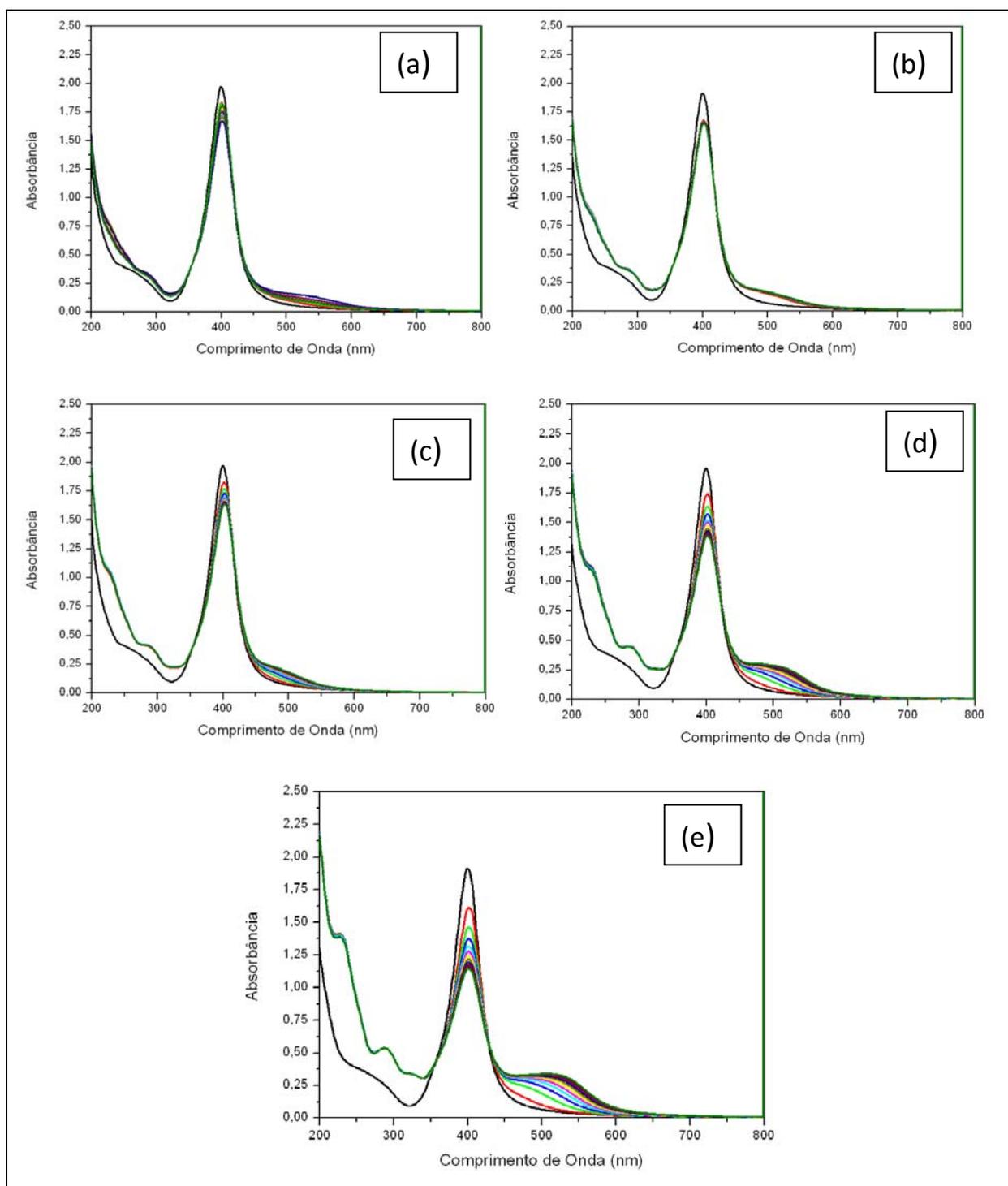
4.4.1. Estudo com NPsAg

De modo a avaliar a interação dos nitrosilos complexos com a superfície das nanopartículas metálicas sintetizadas foi proposta a realização de uma titulação espectrofotométrica no UV-Visível (800-200 nm) das NPsAg e NPsAu pelos íons complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO]³⁺ e *cis*-[Ru(bpy)₂(SO₃)NO]⁺, de forma a avaliar a passivação de forma tempo e concentração dependentes. A figura 43 ilustra a varredura espectrofotométrica obtida para uma suspensão coloidal de NPsAg após a adição do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(SO₃)NO]PF₆ em diferentes concentrações. Observa-se nitidamente que a banda de SPR em 400 nm diminui seu máximo de absorção após a adição do complexo. Por conseguinte, verifica-se o aumento de absorção em regiões superiores a 500 nm. Este fenômeno é indicativo da interação entre NPsAg e o complexo adicionado, uma vez que o surgimento da banda próxima a 520 nm pressupões a agregação das nanopartículas⁸⁸.

A agregação pode ser entendida como a alteração das distâncias interpartículas na suspensão coloidal. Quando nanopartículas se aproximam suficientemente, seus campos elétricos superficiais interagem mutuamente, gerando o surgimento de bandas em maiores comprimentos de onda. Vale ressaltar que há distinção entre um processo de agregação e um processo de fusão. No processo de agregação as nanopartículas se aproximam apenas o suficiente para que seus campos elétricos interajam, não havendo precipitação destas. Já no processo de fusão duas ou mais nanopartículas se juntam, formando uma nova partícula de maior

dimensão. Neste caso, as partículas precipitam e a banda com absorção em maiores comprimentos de onda no espectro de UV-Vís não é observada.

Figura 43. Varredura espectrofotométrica obtida para um volume de 3,00 mL de suspensão coloidal de NPsAg após a adição do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(SO}_3\text{)NO]PF}_6$ em concentrações iguais a: (a) $5 \mu\text{molL}^{-1}$, (b) $10 \mu\text{molL}^{-1}$, (c) $15 \mu\text{molL}^{-1}$, (d) $20 \mu\text{molL}^{-1}$ e (e) $30 \mu\text{molL}^{-1}$.



Pode-se ainda verificar que a velocidade de decaimento da banda em 400 nm depende da concentração de complexo adicionado, como melhor ilustrado na figura 44, onde se tem o acompanhamento cinético da absorvância em $\lambda = 400$ nm. O perfil cinético observado é de acordo com aquele verificado em experimentos realizados por Bellino⁸⁹. Nestes, o autor realizou um estudo cinético a respeito da interação de nanopartículas metálicas estabilizadas por citrato com um composto orgânico positivamente carregado e outro negativamente carregado. No caso do ligante positivamente carregado o processo de funcionalização das nanopartículas obedeceu a uma cinética de segunda ordem e a rápida reação é atribuída a interação eletrostática favorável entre ligantes e nanopartículas. Já no estudo com o ligante negativamente carregado a cinética foi um pouco mais lenta, sendo observado um período de indução anterior ao início do processo de funcionalização, o qual está associado à repulsão eletrostática inicial entre composto e a superfície das nanopartículas. No presente caso, tem-se que o complexo, $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(SO}_3\text{)NO]}^+$, é positivamente carregado em solução, deste modo, há uma atração eletrostática favorável com as NPsAg estabilizadas por citrato, visto que nenhum período de indução é observado. Após a adição do composto também é verificada a mudança de cor da suspensão de NPsAg, que é modificada de amarela para vermelha, como resultado do surgimento da banda em 520 nm. Por outro lado, o íon complexo não se mostrou eficiente na estabilização das nanopartículas, visto que há a precipitação destas após um período de 24 horas da adição do composto.

Figura 44. Acompanhamento cinético do processo de agregação das nanopartículas após a adição do complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)\text{NO}]\text{PF}_6$ nas concentrações de: (—) $5 \mu\text{molL}^{-1}$, (—) $10 \mu\text{molL}^{-1}$, (—) $15 \mu\text{molL}^{-1}$, (—) $20 \mu\text{molL}^{-1}$ e (—) $30 \mu\text{molL}^{-1}$

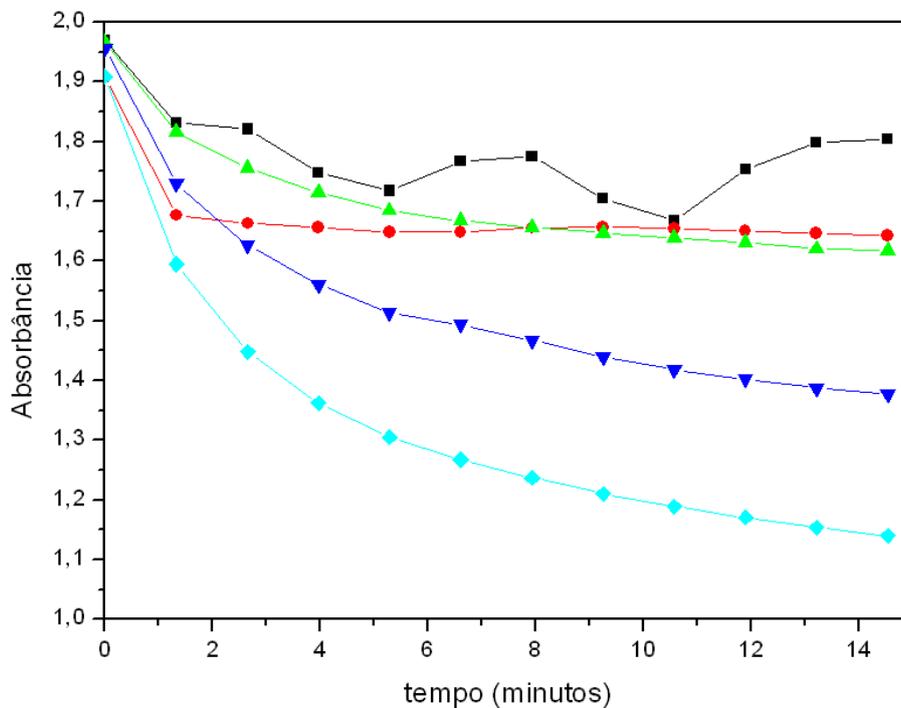
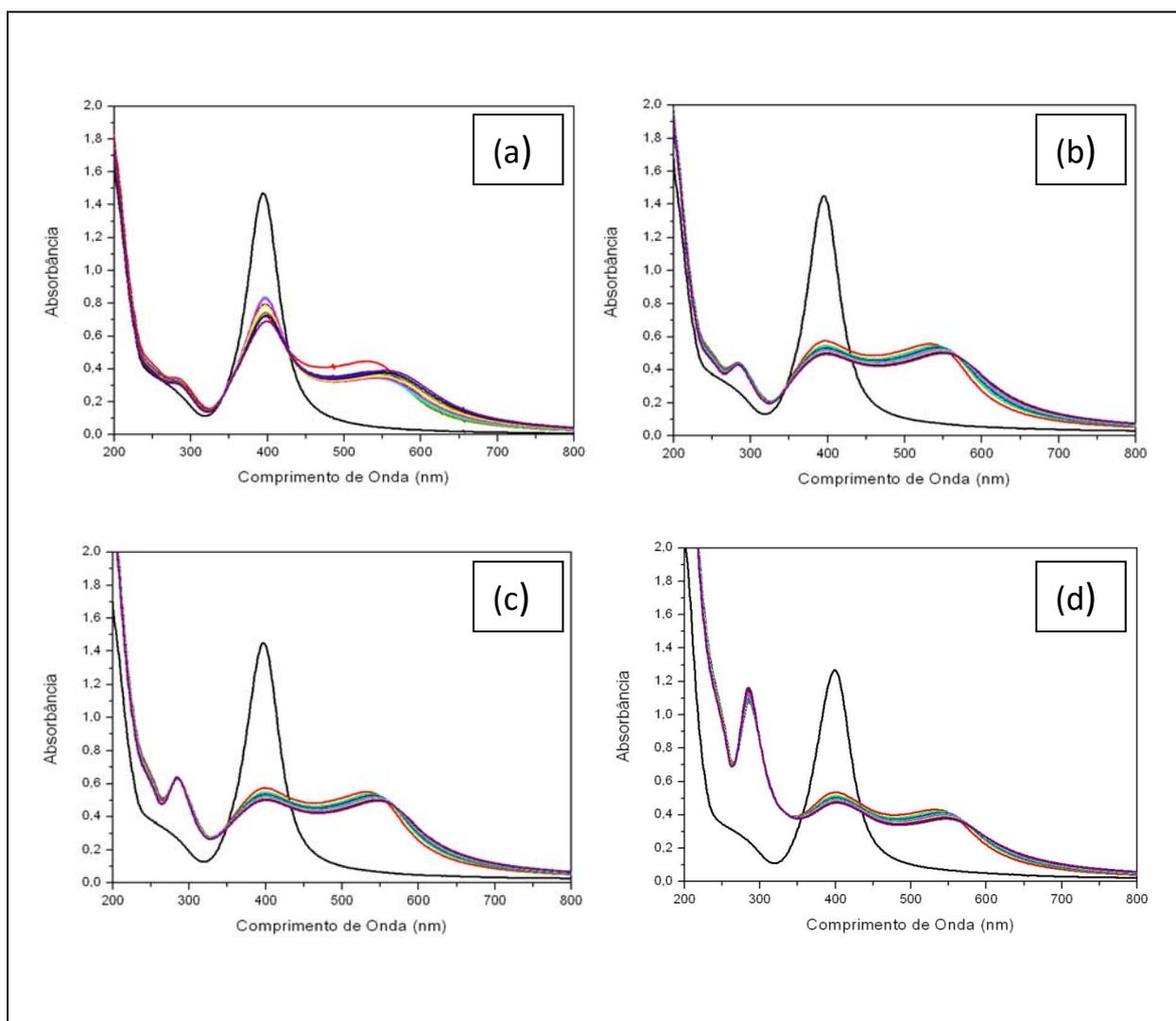


Figura 45. Modificação da cor da suspensão coloidal de NPsAg com a adição de diferentes concentrações do complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)\text{NO}]\text{PF}_6$. O líquido à direita é aquele após 24 horas da adição do complexo, onde há precipitação das NPsAg.



De modo similar foi realizada a titulação espectrofotométrica da suspensão coloidal de NPsAg pelo complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}(\text{PF}_6)_3$. Na figura 46 tem-se ilustrados os espectros de absorção para diferentes concentrações do complexo. Semelhantemente ao observado na adição do íon complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(SO}_3\text{)NO]}^+$ a adição de $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}(\text{PF}_6)_3$ na suspensão coloidal de NPsAg induz a diminuição de absorção no comprimento de onda de 400 nm e o surgimento de uma banda em comprimentos de onda superiores a 500 nm, indicando que, como anteriormente discutido, a adição do nitrosilo complexo de rutênio induz a agregação das nanopartículas de prata ao interagir com a sua superfície.

Figura 46. Varredura espectrofotométrica obtida para um volume de 3,00mL de suspensão coloidal de NPsAg após a adição do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}(\text{PF}_6)_3$ em concentrações iguais a: (a) $5 \mu\text{molL}^{-1}$, (b) $10 \mu\text{molL}^{-1}$, (c) $20 \mu\text{molL}^{-1}$ e (d) $30 \mu\text{molL}^{-1}$.

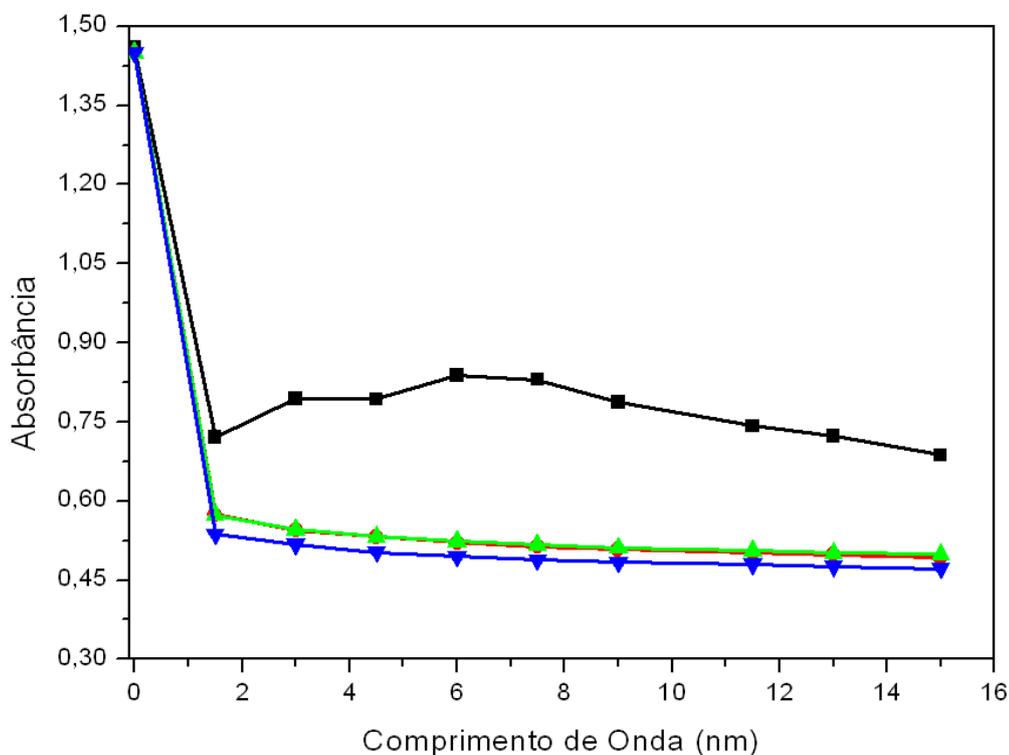


Tem-se ainda que, no presente caso, a banda que surge em maiores comprimentos de onda é mais larga do que aquela observada para a adição do nitrosilo complexo com o ligante sulfito, mudando a coloração da suspensão das NPsAg de seu amarelo típico para azul escuro. Este fato pode ser um indicativo que o nitrosilo complexo contendo o ligante 1,4-ditiano interage mais fortemente com a superfície das nanopartículas do que o composto contendo o ligante sulfito. Este fato é já esperado uma vez que o ligante 1,4-ditiano possui um átomo de enxofre disponível para interagir covalentemente com a superfície das NPsAg. Por outro lado, no ligante sulfito o único átomo de enxofre existente coordena-se ao centro metálico na formação do complexo. Deste modo, é esperado que o complexo interaja com a superfície das nanopartículas apenas por atração eletrostática.

Também é observada diferenças nas velocidades de agregação das NPsAg na adição dos dois nitrosilo complexos com ligantes distintos. A Figura 47 ilustra o acompanhamento da absorvância no comprimento de onda de 400 nm em função do tempo de análise. Observa-se que, diferentemente do caso do complexo com o ligante sulfito, a adição de $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ ocasiona uma queda abrupta de absorvância que pouco varia posteriormente com o tempo. Este fato indica que o ancoramento do nitrosilo complexo contendo o ligante 1,4-ditiano às NPsAg ocorre mais rapidamente do que aquele observado para o complexo contendo o ligante sulfito. Este fato pode ser explicado com base na maior carga do íon complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}]^{3+}$ do que no íon complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)\text{NO}]^+$, fazendo com que o a etapa inicial no processo de funcionalização das NPsAg, que é a interação eletrostática, seja mais efetiva⁸⁹.

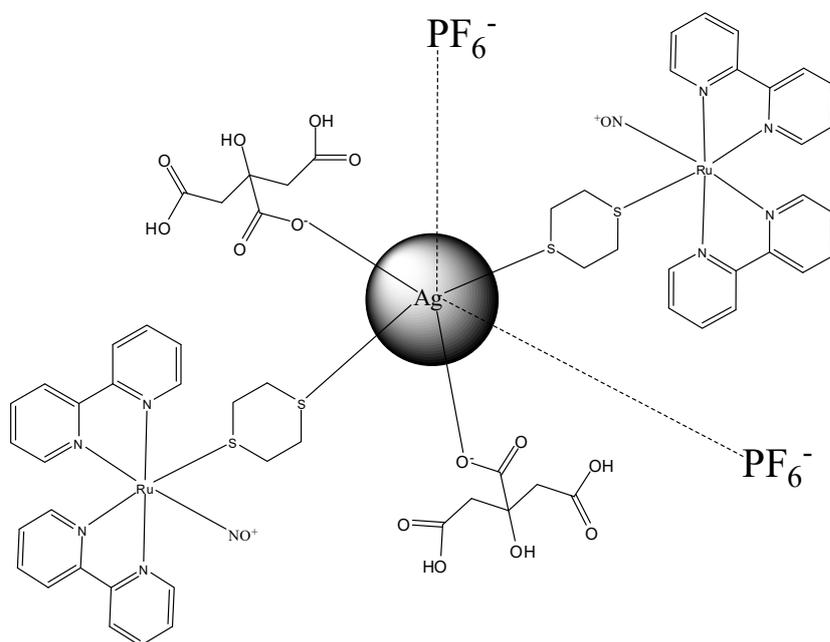
Por outro lado, a análise da Figura 47 evidencia ainda que nenhuma mudança significativa no perfil cinético é observada quando comparado os gráficos para a adição de $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ na concentração $10\ \mu\text{molL}^{-1}$ com aqueles de concentrações superiores. Este fato indica que a concentração de $10\ \mu\text{molL}^{-1}$ deve ser próxima daquela na qual a superfície das NPsAg encontram-se saturadas pelo nitrosilo complexo.

Figura 47. Acompanhamento cinético do processo de agregação das nanopartículas após a adição do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}(\text{PF}_6)_3$ nas concentrações de: (—) $5 \mu\text{mol.L}^{-1}$, (—) $10 \mu\text{mol.L}^{-1}$, (—) $20 \mu\text{mol.L}^{-1}$ e (—) $30 \mu\text{mol.L}^{-1}$.



Observou-se ainda a modificação do valor de $P\zeta$ para as suspensões coloidais NPsAg após a adição dos complexos $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(SO}_3\text{)NO]}PF_6$ e $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}(\text{PF}_6)_3$, ambos em concentração igual a $30 \mu\text{mol.L}^{-1}$. Os dois nitrosilo complexos alteraram o valor $P\zeta$ das NPsAg após a sua adição. Quando o sulfito complexo foi adicionado o $P\zeta$ foi modificado de $+4,3 \text{ mV}$ para $+6,4 \text{ mV}$. Este fato sugere o incremento de cargas positivas na superfície das NPsAg, indicando a troca de ligantes na superfície da nanopartícula, sendo que alguns ligantes citrato são substituídos pelo nitrosilo complexo adicionado. Por outro lado, a adição do nitrosilo complexo com o ligante 1,4-ditiano modificou o valor $P\zeta$ das NPsAg de $+4,3 \text{ mV}$ para -36 mV . Este fato indica que não apenas o íon complexo interage com a superfície das NPsAg em suspensão, mas ainda o contra íon PF_6^- . Visto que no complexo sintetizado a razão de íon complexo para o seu contra íon é de 1:3, diferentemente do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(SO}_3\text{)NO]}PF_6$ onde a razão é 1:1, tem-se o maior incremento de cargas negativas às NPsAg com a adição do complexo. A Figura 48 ilustra um modelo simplificado de como o sistema é proposto.

Figura 48. Ilustração da AgNPs modificada por n moléculas do íon complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}^{3+}$, ilustrando ainda a presença de citrato e PF_6^- na superfície.



4.4.2. Estudos com NPsAu

Do mesmo modo que realizado para as nanopartículas de prata, foi proposta a titulação espectrofotométrica das NPsAu pelos nitrosilos complexos em estudo afim de avaliar a interação destes compostos com a superfície das nanopartículas de ouro. A Figura 49 ilustra as varreduras espectrofotométricas após a adição de diferentes concentrações do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(SO}_3\text{)NO]PF}_6$ em um volume de 3,0 mL da suspensão coloidal de nanopartículas de ouro. De modo análogo ao verificado para as NPsAg, observa-se a diminuição dos valores de absorvância da banda de SPR das NPsAu em 522 nm, com o aparecimento de uma banda de absorção próximo a 700 nm, sugerindo a agregação das NPsAu, induzidas pela interação do nitrosilo complexo com as nanopartículas. Contudo, o surgimento das bandas em maiores comprimentos de onda só ocorre mais significativamente a partir da adição do complexo em concentração igual a $20 \mu\text{mol.L}^{-1}$, indicando que esta é a concentração onde se tem o início do fenômeno da agregação das NPsAu promovido pela adição do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(SO}_3\text{)NO]PF}_6$. Visualmente, tem-se a alteração de cor das NPsAu variando do vermelho típico para um azul escuro (Figura 50).

Figura 49. Varredura espectrofotométrica obtida para um volume de 3,00 mL de suspensão coloidal de NPs_{Au} após a adição do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(SO}_3\text{)NO]PF}_6$ em concentrações iguais a: (a) $5 \mu\text{mol.L}^{-1}$, (b) $10 \mu\text{mol.L}^{-1}$, (c) $15 \mu\text{mol.L}^{-1}$, (d) $20 \mu\text{mol.L}^{-1}$, (e) $30 \mu\text{mol.L}^{-1}$ e (f) $40 \mu\text{mol.L}^{-1}$.

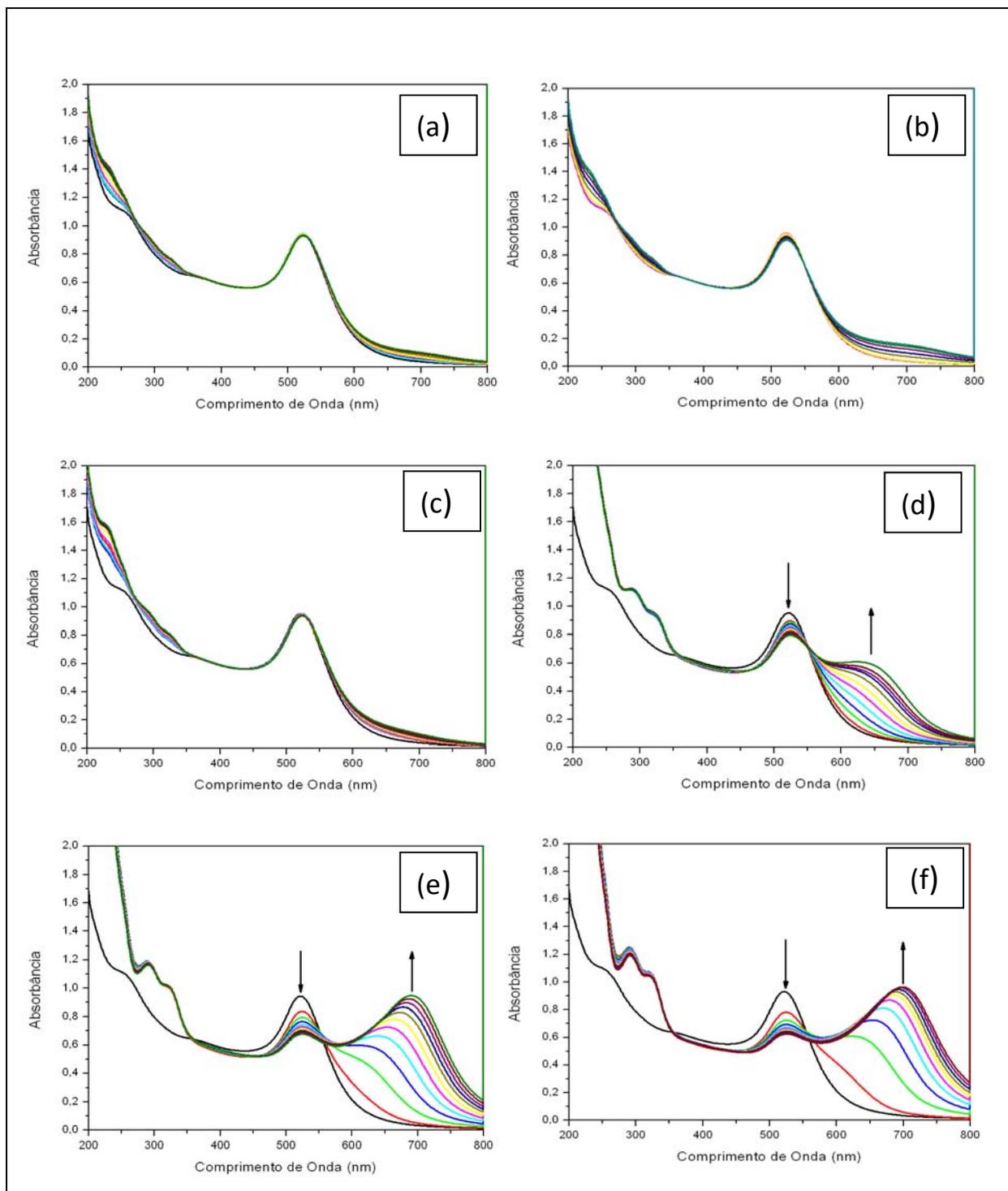
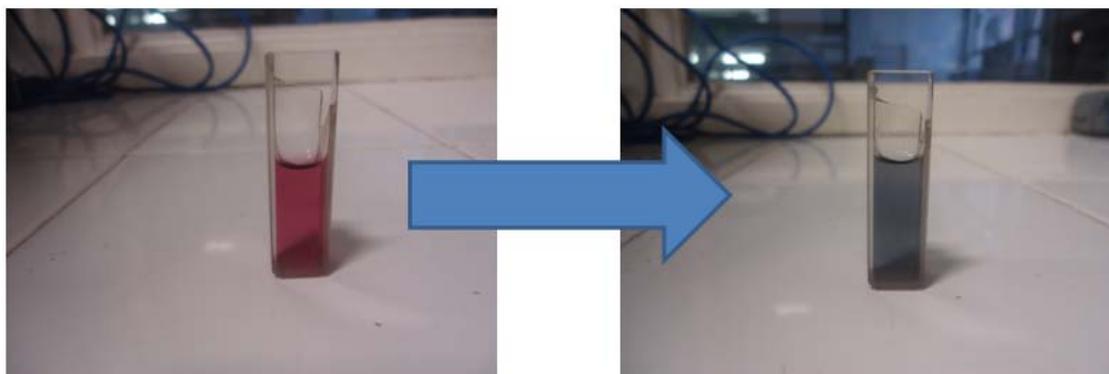


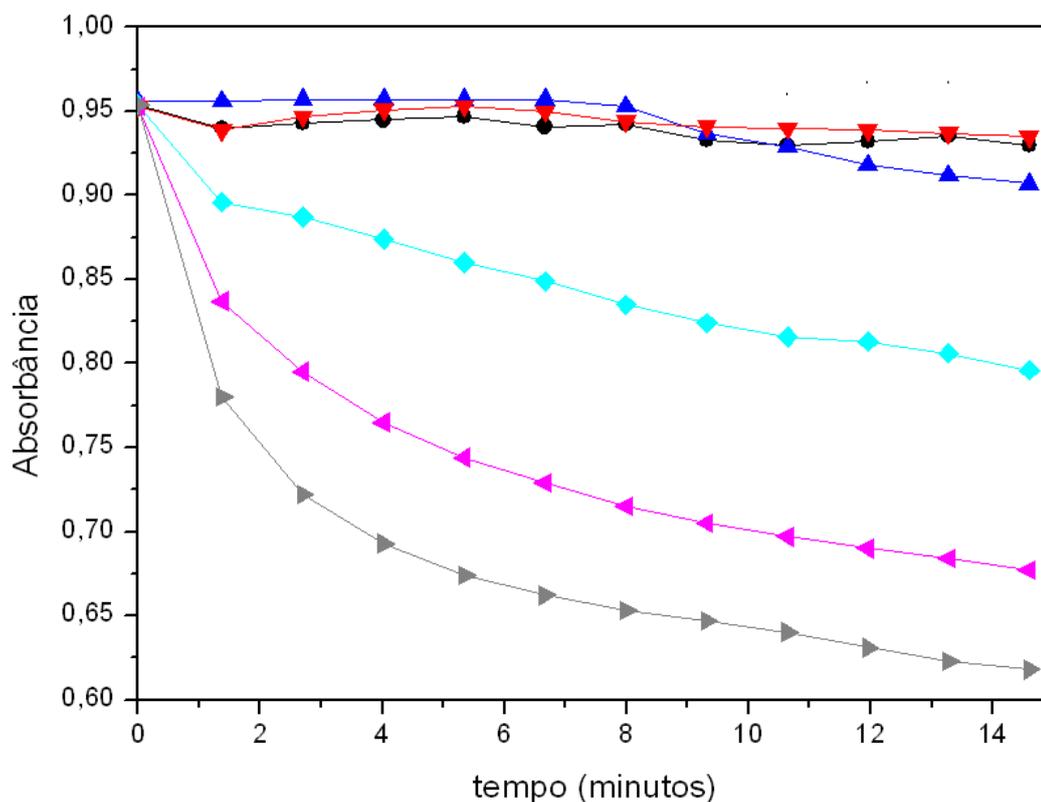
Figura 50. Imagem que indica a mudança de cor da suspensão de NPsAu após a adição do complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)\text{NO}]\text{PF}_6$.



O acompanhamento das variações de absorvância em 522 nm com o tempo (Figura 51) ilustra mais claramente a discussão anterior. Nota-se que, para menores concentrações do composto $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)\text{NO}]\text{PF}_6$ (5, 10 e 15 $\mu\text{mol.L}^{-1}$) adicionadas, tem-se um comportamento gráfico semelhantes entre si, onde praticamente nenhuma variação de absorvância é verificada com a adição dos complexos. Contudo, a partir da concentração de 20 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ tem-se um queda gradual dos valores de absorvância com a adição do complexo, significando que, como anteriormente comentado, a partir desta concentração tem-se a indução da agregação das NPsAu pela adição do complexo.

As medições dos valores de $P\zeta$ mensurados corroboram a funcionalização das NPsAu pela o nitrosilo complexo. Observa-se que o valor inicial de $P\zeta$ das NPsAu igual a -35,2 mV é alterado para -30,1, -28,7 e -25,7 mV pela adição de 5, 20 e 40 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ do complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)\text{NO}]\text{PF}_6$, respectivamente. Esta diminuição de carga negativa indica a adsorção de espécies de carga positiva na superfície das nanopartículas, indicando a interação destas com o íon complexo. Contudo, a respeito do experimento com as NPsAg, tem-se a precipitação das NPsAu após 24 horas da adição do complexo.

Figura 51. Acompanhamento cinético do processo de agregação das NPsAu após a adição do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(SO}_3\text{)NO]PF}_6$ nas concentrações de: (—) $5 \mu\text{mol.L}^{-1}$, (—) $10 \mu\text{mol.L}^{-1}$, (—) $15 \mu\text{mol.L}^{-1}$, (—) $20 \mu\text{mol.L}^{-1}$, (—) $30 \mu\text{mol.L}^{-1}$ e (—) $40 \mu\text{mol.L}^{-1}$.



Seguindo a metodologia proposta, foi realizada a titulação espectrofotométrica da suspensão coloidal de NPsAu pelo complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]PF}_6$. Os espectros para diferentes adições do complexo em NPsAu é ilustrado na Figura 52 e revela similaridades com os experimentos realizados com NPsAg. É observado que a adição de $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]PF}_6$ induz a agregação das NPsAu em concentrações menores do que aquelas para o complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(SO}_3\text{)NO]PF}_6$, indicando que, como discutido para as NPsAg, o complexo com o ligante 1,4-ditiano interage mais fortemente com a superfícies das NPsAu pela provável formação de ligações do tipo Au-S e pela forte interação eletrostática, visto que o íon complexo em solução apresenta-se na forma $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}^{3+}$. Tem-se a representação das absorbâncias em 522nm em função do tempo ilustradas na Figura 53.

Figura 52. Varredura espectrofotométrica obtida para um volume de 3,00 mL de suspensão coloidal de NPs_{Au} após a adição do complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(1,4\text{-dt})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ em concentrações iguais a: (a) $5 \mu\text{mol.L}^{-1}$, (b) $10 \mu\text{mol.L}^{-1}$, (c) $15 \mu\text{mol.L}^{-1}$, (d) $20 \mu\text{mol.L}^{-1}$, (e) $30 \mu\text{mol.L}^{-1}$ e (f) $40 \mu\text{mol.L}^{-1}$.

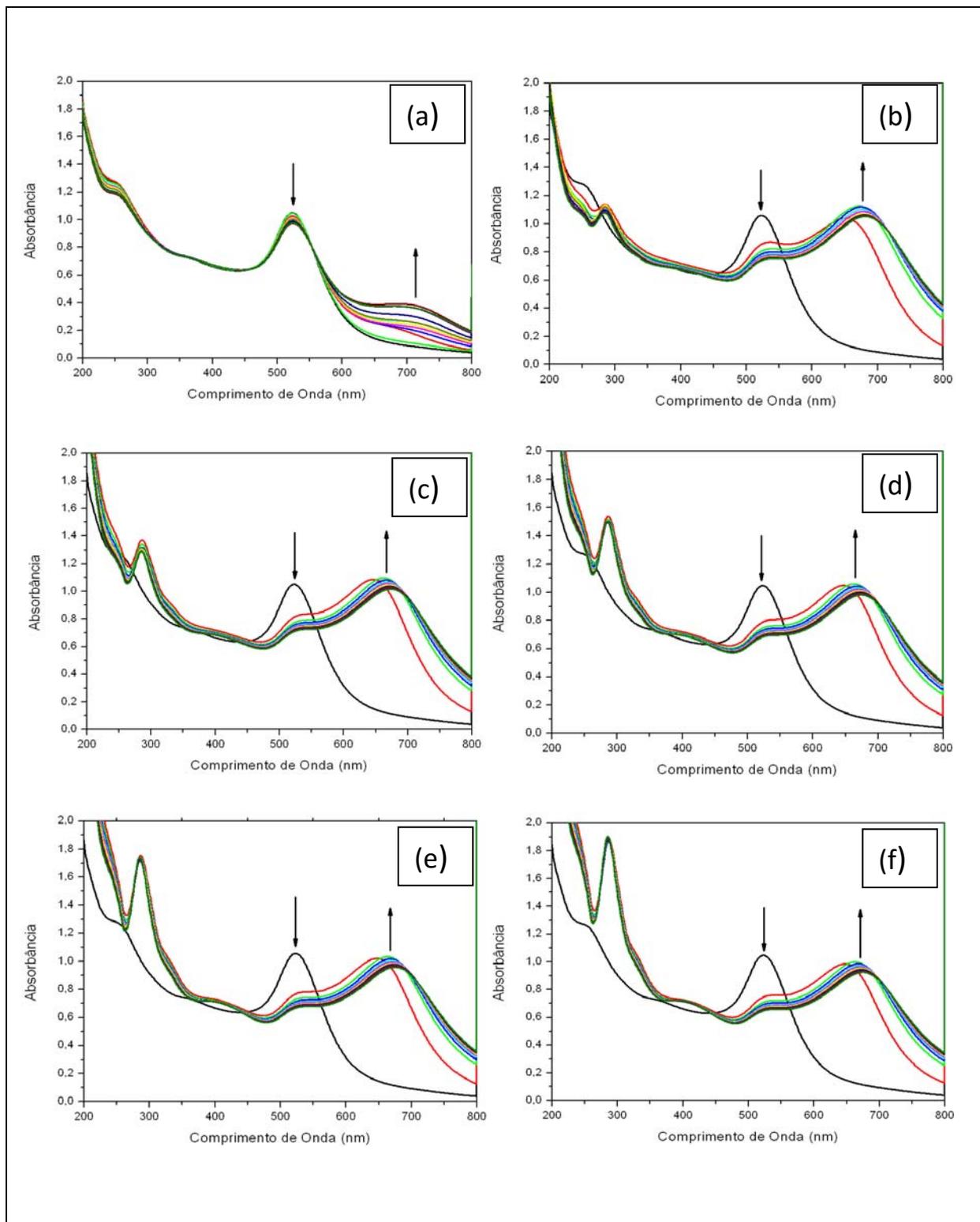
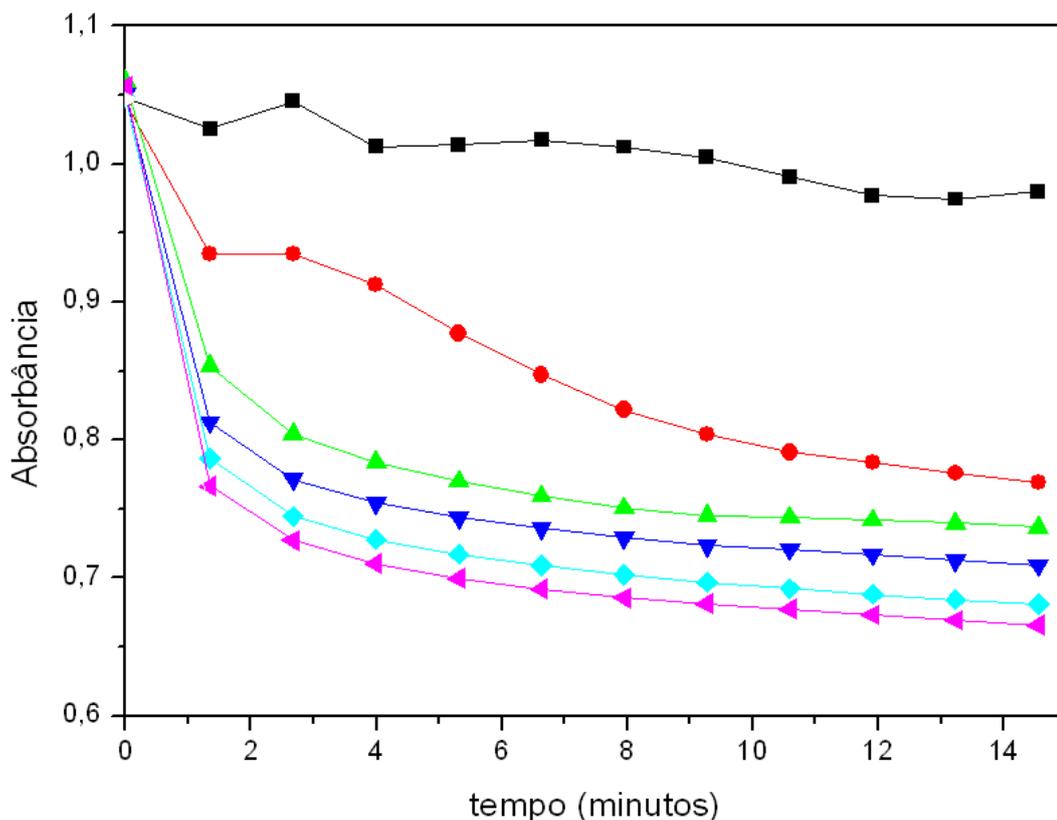


Figura 53. Acompanhamento cinético do processo de agregação das NPsAu após a adição do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ nas concentrações de: (—) 5 μmolL⁻¹, (—) 10 μmolL⁻¹, (—) 15 μmolL⁻¹, (—) 20 μmolL⁻¹, (—) 30 μmolL⁻¹ e (—) 40 μmolL⁻¹.



Por outro lado, os valores de $P\zeta$ das NPsAu pouco variam com a adição do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃, alterando seu valor inicial de -35,2 mV para -34,9, -34,5 e -34,4 pela adição de 5, 20 e 40 μmol.L⁻¹ do composto, respectivamente. Esta pequena diminuição do valor negativo de $P\zeta$ indica a interação do íon complexo positivo com a superfície. Contudo, se comparado às variações de $P\zeta$ quando adicionado o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(SO₃)NO]PF₆, os valores de $P\zeta$ para o complexo contendo o ligante 1,4-ditiano pouco se modificam. Este fato corrobora a interação dos contra íons PF₆⁻ com a superfície das NPsAu, o que contrabalança o aumento de carga positiva esperado devido a adição do íon complexo na superfície das NPsAu.

Também foi verificado que o complexo induz a precipitação das NPsAu em um tempo aproximado de 24 horas, assim como o verificado nos casos anteriores. É importante também comentar que tanto no estudo com NPsAu e NPsAg não foi possível separar as nanopartículas no estado sólido após o experimento pois estas

rapidamente se auto-organizavam passando ao estado metálico. Este fato limitou a verificação direta dos complexos funcionalizados às nanopartículas, embora os experimentos de UV-Vis e potencial zeta sugiram fortemente o ancoramento dos compostos.

4.4.3. Estudo com GFD-NPsAg

Uma vez que as nanopartículas de prata e ouro estabilizadas por citrato (embora aptas a funcionalização pelos nitrosilos complexos em estudo) se mostraram instáveis mediante a adição dos complexos e de difícil isolamento após a sua precipitação, seguiu-se o estudo do ancoramento dos nitrosilo complexos às nanopartículas de prata estabilizadas pelo polissacarídeo galactomanana extraído da fava danta (GFD-NPsAg), uma vez que, dado o impedimento estérico proporcionado pelo polissacarídeo, espera-se que estas se mantenham estáveis com o tempo mesmo após modificadas com os íons complexos.

As Figuras 54 e 55 ilustram os espectros de absorção para a suspensão coloidal de GFD-NPsAg após a adição dos complexos cis-[Ru(bpy)₂(SO₃)NO]PF₆ e cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃, respectivamente. Pode ser observada em ambos os espectros a presença de bandas características dos complexos na região do ultravioleta e a banda de SPR próxima 400 nm, indicando a presença dos complexos e das nanopartículas no meio. Verifica-se ainda a inexistência de bandas em comprimentos de onda maiores, indicando que não há a agregação das GFD-NPsAg promovida pela adição do complexo. Este fato pode estar associado ao efeito estérico promovido pelas moléculas de galactomanana. Deste modo, embora algumas moléculas do polissacarídeo sejam substituídas por moléculas do complexo, aquelas que permanecem nas nanopartículas garantem a sua estabilização. Por outro lado, também é possível que inexistência de processos de agregação decorra da não interação dos nitrosilo complexos com as nanopartículas visto que, diferentemente do íon citrato, a galactomanana não é um ligante que seja facilmente retirado da superfície.

Figura 54. Espectro de absorção no UV-visível para a suspensão coloidal de GFD-NPsAg com a adição do complexo $cis-[Ru(bpy)_2(SO_3)NO]PF_6$.

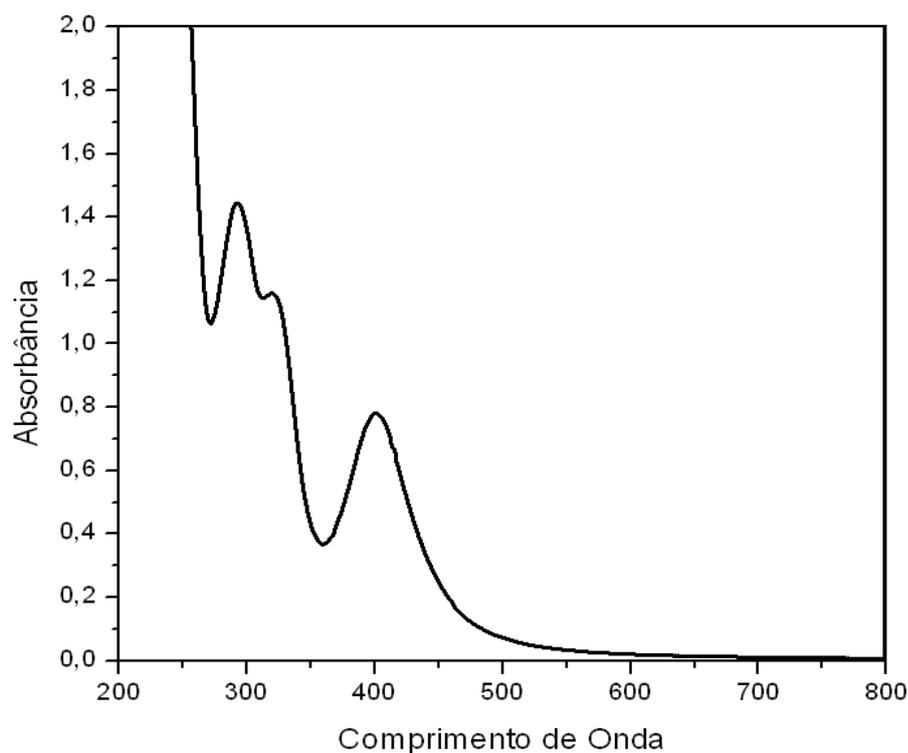
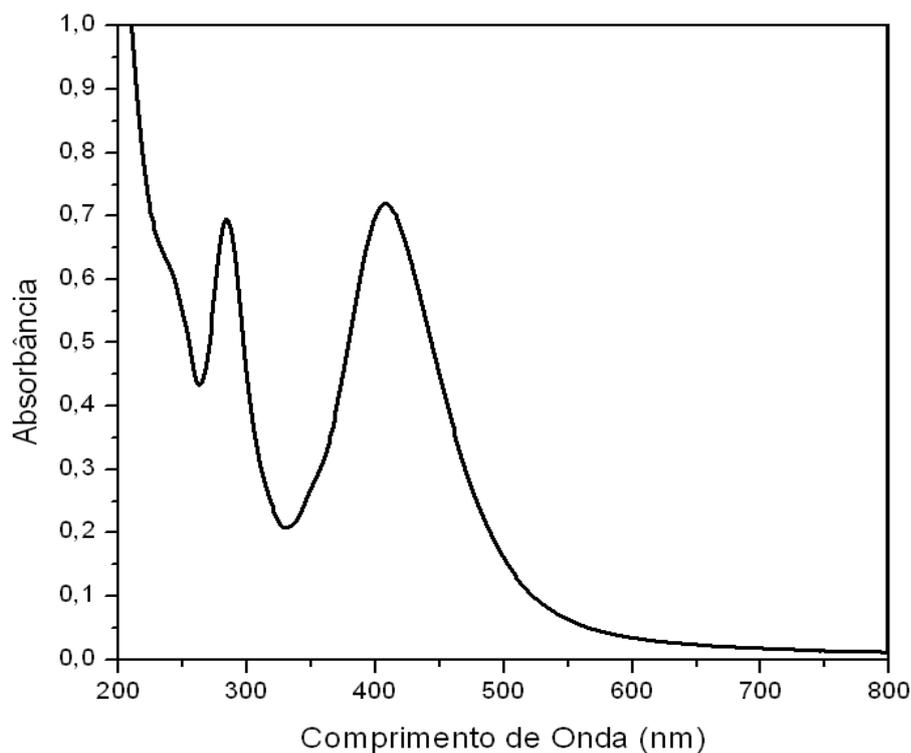


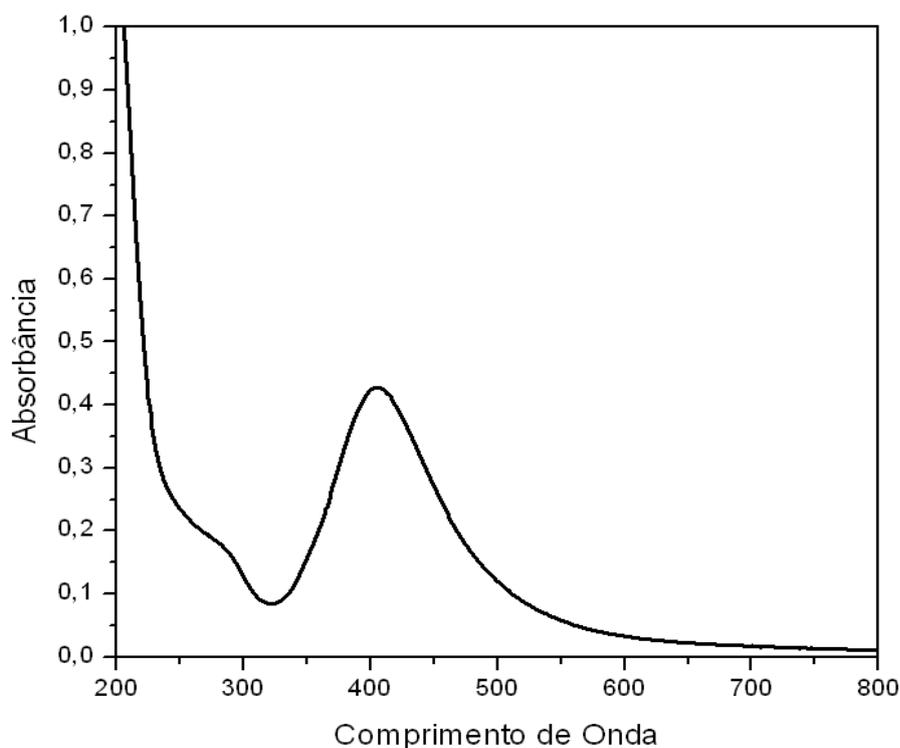
Figura 55. Espectro de absorção no UV-visível para a suspensão coloidal de GFD-NPsAg com a adição do complexo $cis-[Ru(bpy)_2(1,4-dt)NO](PF_6)_3$.



Para investigar este contexto foi realizada uma nova diálise da suspensão coloidal de GFD-NPsAg de modo a separar os complexos ancorados as nanopartículas daqueles que permanecem em solução. Deste modo, poder-se-ia constatar a funcionalização ou não, das nanopartículas pela verificação da presença ou ausência das bandas de absorção típicas dos complexos.

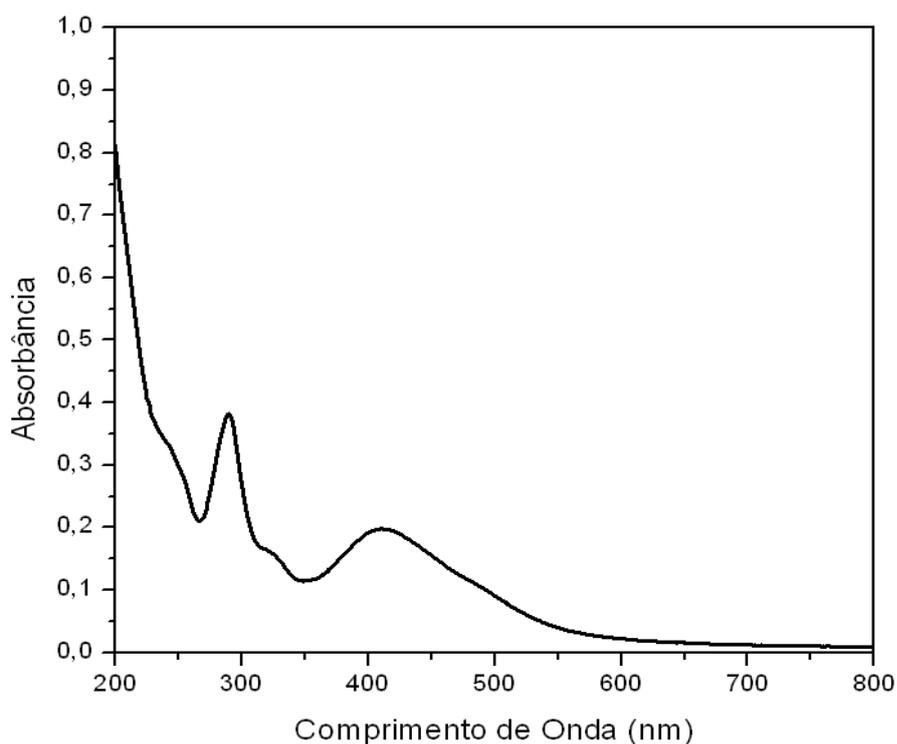
A Figura 56 ilustra o espectro obtido após 48 horas de diálise das GFD-NPsAg no qual foi adicionado o complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(SO}_3\text{)NO]PF}_6$. É observada a presença da banda de SPR próximo a 400 nm indicando a presença das nanopartículas de prata na suspensão. Contudo não é observada a presença das bandas de absorção típicas do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(SO}_3\text{)NO]PF}_6$ (Figura 54), indicando que o complexo não é ancorado a superfície das GFD-NPsAg. Esta observação sugere que, como a interação do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(SO}_3\text{)NO]PF}_6$ ocorre apenas por interação eletrostática, este complexo é incapaz de substituir moléculas do polímero na superfície das nanopartículas de prata, permanecendo livre em solução.

Figura 56. Espectro de absorção no UV-visível para a suspensão coloidal de GFD-NPsAg com a adição do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(SO}_3\text{)NO]PF}_6$ após diálise por 48 horas.



Por outro lado, no espectro obtido para o sistema onde foi adicionado o complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}(\text{PF}_6)_3$ (Figura 57) tem-se não somente a banda de SPR característica das nanopartículas de prata, mas ainda a presença da banda de absorção característica do nitrosilo complexo, indicando o ancoramento do composto na superfície das GFD-NPsAg. Este fenômeno está provavelmente associado à formação de uma ligação covalente dos átomos de prata superficiais de valência incompleta das nanopartículas com o átomo de enxofre presente no ligante 1,4-ditiano do nitrosilo complexo. Uma vez que a interação metal-enxofre é relativamente forte, o complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}(\text{PF}_6)_3$ é capaz de substituir algumas moléculas do polímero na superfície das GFD-NPsAg.

Figura 57. Espectro de absorção no UV-visível para a suspensão coloidal de GFD-NPsAg com a adição do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(1,4-dt)NO]}(\text{PF}_6)_3$ após diálise por 48 horas.



Dado a estabilidade frente a agregação do sistema contendo as GFD-NPsAg modificadas pelo nitrosilo complexo contendo o ligante 1,4-ditiano, tem-se a possibilidade da realização dos estudos de fotoliberação do NO em solução acompanhadas amperometricamente com o sensor de NO. As Figuras 58 e 59 ilustram os cronoamperogramas obtidos quando irradiou-se em 350 e 419 nm, respectivamente, as GFD-NPsAg modificadas, comparando-se estas com aquelas

verificadas para irradiação nos mesmos comprimentos de onda para o complexo livre. O preparo da solução do complexo para a realização do experimento de fotoliberação foi realizado de modo que a banda de absorção do composto, próxima a 300 nm, tivesse o mesmo valor de absorbância verificado para aquela remanescente no espectro das GFD-NPsAg modificadas, garantindo que a concentração do complexo livre e ancorado as nanopartículas fosse mantida aproximadamente a mesma no experimento.

Em ambos os comprimentos de onda estudados, verifica-se o aumento da intensidade de corrente com o tempo. Deste modo, as nanopartículas modificadas com o nitrosilo complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ constitui-se em um nanodispositivo passível de liberar NO⁰ fotoquimicamente. Verifica-se ainda que o perfil dos cronoamperogramas para a liberação de NO⁰ a partir do complexo livre e daquele ancorado são semelhantes. Este fato indica que as reações fotoquímicas que levam a liberação do NO em ambos os casos são idênticas.

Por outro lado, a intensidade dos sinais de corrente são superiores para o sistema onde os nitrosilo complexos encontram-se funcionalizadas às nanopartículas. Deste modo sugerida a possibilidade de que, após irradiadas, as nanopartículas transfiram parte da energia absorvida as moléculas do complexo, aumentando a quantidade de NO liberada, ou seja, incrementando o rendimento do processo fotoquímico. Com o mesmo enfoque, alguns estudos apontam que, após absorverem energia eletromagnética, nanopartículas metálicas dissipam o excesso de energia principalmente na forma de calor, aumentando a temperatura na região imediatamente vizinha a sua superfície⁹⁰. Deste modo é possível que o aumento de temperatura favoreça a liberação térmica do NO⁰ que, associado ao NO⁰ liberado fotoquimicamente, incremente a liberação de NO⁰ total no sistema.

Figura 58. Cronoamperograma obtido após irradiação em 350 nm de: (—) solução do complexo cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ e (—) suspensão coloidal de GFD-NPsAg modificados pelo complexo cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃.

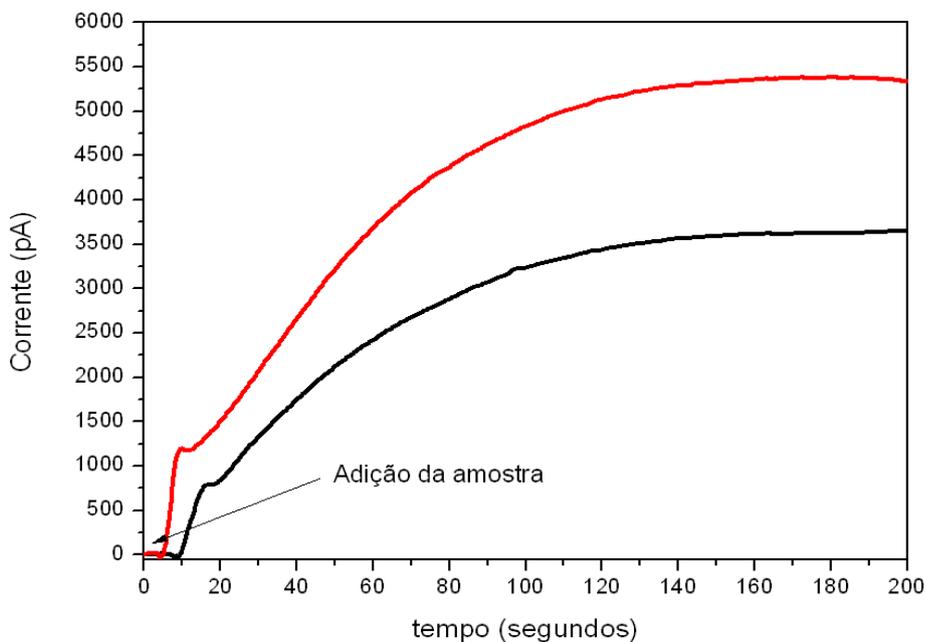
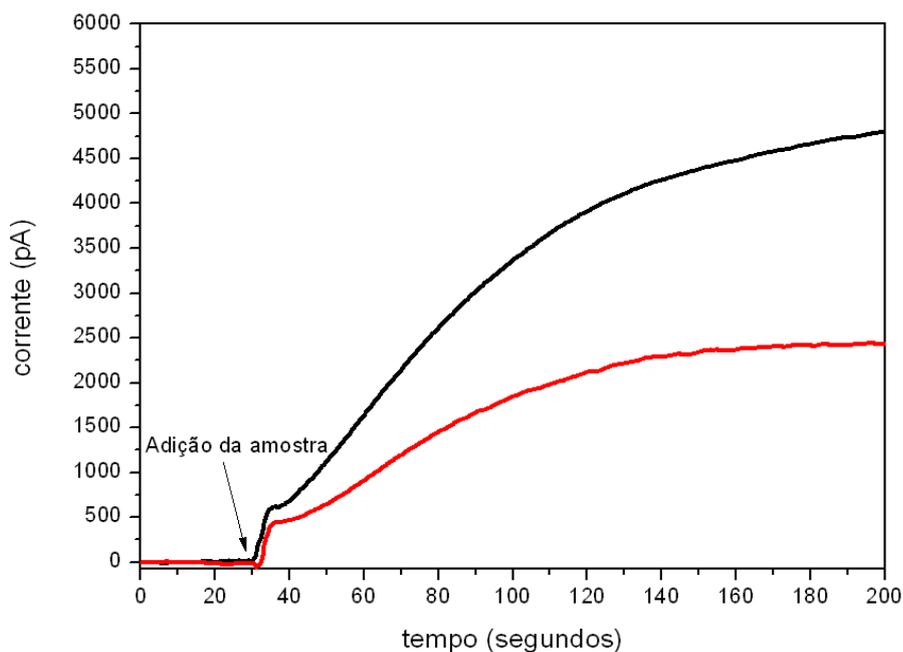


Figura 59. Cronoamperograma obtido após irradiação em 419 nm de: (—) solução do complexo cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ e (—) suspensão coloidal de GFD-NPsAg modificados pelo complexo cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃.



Considerações Finais



*A maneira mais fácil e mais segura de vivermos honradamente
consiste em sermos, na realidade, o que parecemos ser.*

Sócrates

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Caracterizou-se o composto $cis-[Ru(bpy)_2(1,4-dt)NO](PF_6)_3$ para a comprovação da formulação proposta. O espectro de absorção vibracional no infravermelho apresenta bandas características do ligante NO^+ e dos demais ligantes, indicando a formação do complexo. A formação do composto foi ainda evidenciada pelo deslocamento das bandas de transferência de carga quando comparados os espectros eletrônicos de absorção no UV-vís dos precursores com o do composto final. A caracterização eletroquímica do complexo em pH 2,03, evidencia a formação do complexo, sendo caracterizado por um processo reversível com $E_{1/2}$ igual a 176 mV., atribuído ao par redox $NO^{+/0}$. O espectro de RMN de H^1 indica a manutenção dos ligantes piridínicos na formulação e a coordenação do ligante 1,4-ditiano. Diante dos resultados obtidos há suporte para a formulação proposta.

O complexo sintetizado mostrou ser bastante instável em meio alcalino tendendo a se converter em nitrito complexo, sendo o pH de equilíbrio das formas nitro e nitrito complexo igual a 2,93. Por outro lado, a redução do complexo durante os experimentos de voltametria de onda quadrada evidenciaram a labilização do NO coordenado, com a consequente formação do aquo complexo. Os produtos formados a partir da redução eletroquímica do complexo necessitam de mais estudos posteriores. Após a exposição da luz próximas ao UV ($\lambda = 350$ nm e 419 nm) o complexo sintetizado libera NO. No entanto, é verificada liberação de NO quando o complexo é irradiado em $\lambda = 575$ nm, próximo a janela terapêutica utilizada em TFD. Em solução verifica-se a fotoliberação do nitrosilo complexo quando irradiado em 350 e 419 nm. O complexo $cis-[Ru(bpy)_2(1,4-dt)NO_2]PF_6$ também atuou como doador de NO^0 quando irradiado nos mesmos comprimentos de onda, indicando a possibilidade de conversão fotoquímica entre as formas nitrito e nitrosilo no complexo.

NPsAg e NPsAu estabilizadas por citrato foram sintetizadas e caracterizadas quanto ao seus espectros de absorção, diâmetro de partícula e valores de potencial zeta ($P\zeta$). As nanopartículas mostraram-se estáveis em virtude dos valores $P\zeta$, os quais garantem a estabilização por efeitos eletrostáticos. Seguiu-se deste modo a adição dos complexos $cis-[Ru(bpy)_2(SO_3)NO]PF_6$ e do complexo sintetizado no presente trabalho, $cis-[Ru(bpy)_2(1,4-dt)NO](PF_6)_3$, às nanopartículas metálicas com o objetivo da funcionalização destas com os nitrosilo complexos. O monitoramento dos

espectros de absorção das nanopartículas com a adição dos complexos mostra a diminuição da banda de ressonância dos plasmons de superfície (SPR) e aparecimento de bandas em comprimentos de ondas superiores, indicando a agregação das nanopartículas induzidas pela adição dos nitrosilo complexos. Este fato indica a interação dos compostos com a superfície das nanopartículas.

Por outro lado, após modificadas com os nitrosilo complexos, as nanopartículas metálicas estabilizadas por citrato se mostraram instáveis, precipitando após 24 horas, impedindo a realização de testes em solução. Deste modo, seguiu-se a síntese de nanopartículas de prata estabilizadas estericamente pelo polissacarídeo galactomanana, extraído da fava danta. A adição dos nitrosilo complexos ao sistema não induz a agregação das nanopartículas. Após tratamento por diálise, as bandas de absorção do complexo cis-[Ru(bpy)₂(SO₃)NO]PF₆ não são mais observadas, enquanto que aquelas do complexo cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ são mantidas no espectro, indicando que apenas este último é capaz de substituir algumas moléculas do polissacarídeo na superfície das nanopartículas e ligar-se a sua superfície.

O sistema contendo as GFD-NPsAg modificadas pelo nitrosilo complexo cis-[Ru(bpy)₂(1,4-dt)NO](PF₆)₃ foi avaliado quanto a possibilidade de geração de NO⁰ após irradiados em 350 e 419 nm. Verificou-se a fotoliberação após irradiação da suspensões de nanopartículas, havendo incremento na quantidade de NO⁰ liberado quando comparado com ao averiguado para complexo livre. Deste modo, verifica-se a possibilidade de geração de nanodispostivos para a geração fotoquímica de NO⁰ pela funcionalização de nanopartículas metálicas com nitrosilo complexos de rutênio.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Uskoković, V., Nanotechnologies: What we do not know. *Technology in Society* 2007, 29 (1), 43-61.
2. Kroto, H. W.; Heath, J. R.; O'Brien, S. C., C60: Buckminsterfullerene. *Nature* 1985, 318, 162-163.
3. Iijima, S., Helical Microtubules of Graphitic Carbon. *Nature* 1991, 354, 56-58.
4. Galembeck, F.; Rippel, M. M., Nanocompósitos poliméricos e nanofármacos: fatos, oportunidades e estratégias. *Parcerias Estratégicas (Brasília)* 2004, 18, 41-61.
5. Toma, H. E., *O Mundo Nanométrico: A Dimensão do Novo Século*. 2ª ed.; 2009; p 104.
6. Ferreira, H. S.; Rangel, M. d. C., Nanotecnologia: aspectos gerais e potencial de aplicação em catálise. *Química Nova* 2009, 32, 1860-1870.
7. Noginov, M. A.; Zhu, G.; Drachev, V. P.; Shalaev, V. M., Chapter 5 - Surface plasmons and gain media. In *Nanophotonics with Surface Plasmons*, Shalaev, V. M.; Kawata, S., Eds. Elsevier: Amsterdam, 2007; pp 141-169.
8. Daniel L. Feldheim e Colby A. Foss, J., *Metal Nanoparticles: Synthesis, Characterization and Applications*. Marcel Dekker, inc.: United States of America, 2002; p 338.
9. Ruppin, R., Evaluation of extended Maxwell-Garnett theories. *Optics Communications* 2000, 182 (4-6), 273-279.
10. Horvath, H., Gustav Mie and the scattering and absorption of light by particles: Historic developments and basics. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* 2009, 110 (11), 787-799.
11. Lazarides, A. A.; Lance Kelly, K.; Jensen, T. R.; Schatz, G. C., Optical properties of metal nanoparticles and nanoparticle aggregates important in biosensors. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* 2000, 529 (1-3), 59-63.
12. Liz-Marzán, L. M., Nanometals: Formation and color. *Materials Today* 2004, 7 (2), 26-31.
13. Liu, J.; Chang, M.-J.; Gou, X.-C.; Xu, Z.-G.; Zhang, H.-L., One-step synthesis of antibody-stabilized aqueous colloids of noble metal nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2012, 404 (0), 112-118.

14. Photopoulos, P.; Boukos, N.; Panagopoulou, M.; Meintanis, N.; Pantiskos, N.; Raptis, Y.; Tsoukalas, D., Size control of Ag nanoparticles for SERS sensing applications. *Procedia Engineering* 2011, 25 (0), 280-283.
15. Cañamares, M. V.; Garcia-Ramos, J. V.; Sanchez-Cortes, S.; Castillejo, M.; Oujja, M., Comparative SERS effectiveness of silver nanoparticles prepared by different methods: A study of the enhancement factor and the interfacial properties. *Journal of Colloid and Interface Science* 2008, 326 (1), 103-109.
16. Moskovits, M., Surface-enhanced Raman spectroscopy: a brief retrospective. *Journal of Raman Spectroscopy* 2005, 36 (6-7), 485-496.
17. Nie, S.; Emory, S. R., Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering. *Science* 1997, 275 (5303), 1102-1106.
18. Rycenga, M.; Camargo, P. H. C.; Li, W.; Moran, C. H.; Xia, Y., Understanding the SERS Effects of Single Silver Nanoparticles and Their Dimers, One at a Time. *The Journal of Physical Chemistry Letters* 2010, 1 (4), 696-703.
19. Sharma, V. K.; Yngard, R. A.; Lin, Y., Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science* 2009, 145 (1-2), 83-96.
20. Song, X.-l.; Li, B.; Xu, K.; Liu, J.; Ju, W.; Wang, J.; Liu, X.-d.; Li, J.; Qi, Y.-f., Cytotoxicity of water-soluble mPEG-SH-coated silver nanoparticles in HL-7702 cells. *Cell Biology and Toxicology*, 1-13.
21. (a) Martinez-Gutierrez, F.; Olive, P. L.; Banuelos, A.; Orrantia, E.; Nino, N.; Sanchez, E. M.; Ruiz, F.; Bach, H.; Av-Gay, Y., Synthesis, characterization, and evaluation of antimicrobial and cytotoxic effect of silver and titanium nanoparticles. *Nanomedicine : nanotechnology, biology, and medicine* 2010, 6 (5), 681-8; (b) Sondi, I.; Salopek-Sondi, B., Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science* 2004, 275 (1), 177-182.
22. Guzman, M.; Dille, J.; Godet, S., Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 2012, 8 (1), 37-45.
23. Zhou, Y.; Zhao, H.; He, Y.; Ding, N.; Cao, Q., Colorimetric detection of Cu²⁺ using 4-mercaptobenzoic acid modified silver nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2011, 391 (1-3), 179-183.
24. Li, H.; Cui, Z.; Han, C., Glutathione-stabilized silver nanoparticles as colorimetric sensor for Ni²⁺ ion. *Sensors and Actuators B: Chemical* 2009, 143 (1), 87-92.

25. Farhadi, K.; Forough, M.; Molaei, R.; Hajizadeh, S.; Rafipour, A., Highly selective Hg²⁺ colorimetric sensor using green synthesized and unmodified silver nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical* 2012, 161 (1), 880-885.
26. Wang, Z.; Ma, L., Gold nanoparticle probes. *Coordination Chemistry Reviews* 2009, 253 (11–12), 1607-1618.
27. Shen, Q.; Wang, X.; Fu, D., The amplification effect of functionalized gold nanoparticles on the binding of anticancer drug dacarbazine to DNA and DNA bases. *Applied Surface Science* 2008, 255 (2), 577-580.
28. Khlebtsov, N. G.; Dykman, L. A., Optical properties and biomedical applications of plasmonic nanoparticles. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* 2010, 111 (1), 1-35.
29. Nativo, P.; Prior, I. A.; Brust, M., Uptake and Intracellular Fate of Surface-Modified Gold Nanoparticles. *ACS Nano* 2008, 2 (8), 1639-1644.
30. Yang, P.-H.; Sun, X.; Chiu, J.-F.; Sun, H.; He, Q.-Y., Transferrin-Mediated Gold Nanoparticle Cellular Uptake. *Bioconjugate Chemistry* 2005, 16 (3), 494-496.
31. Issa, M. C. A.; Manela-Azulay, M., Terapia fotodinâmica: revisão da literatura e documentação iconográfica. *Anais Brasileiros de Dermatologia* 2010, 85, 501-511.
32. Furchgott, R. F.; Zawadzki, J. V., The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980, 288 (5789), 373-376.
33. Palmer, R. M. J.; Ferrige, A. G.; Moncada, S., Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987, 327 (6122), 524-526.
34. Palmer, R. M. J.; Ashton, D. S.; Moncada, S., Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988, 333 (6174), 664-666.
35. Cerqueira, N. F.; Yoshida, W. B., Óxido nítrico: revisão. *Acta Cirurgica Brasileira* 2002, 17, 417-423.
36. Dattilo, J. B.; Makhoul, R. G., The Role of Nitric Oxide in Vascular Biology and Pathobiology. *Annals of Vascular Surgery* 1997, 11 (3), 307-314.
37. Kiechle, F. L.; Malinski, T., Nitric oxide: Biochemistry, Pathophysiology, and detection. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 1994, 32 (2), 123.
38. Barreto, R. d. L.; Correia, C. R. D.; Muscará, M. N., Óxido nítrico: propriedades e potenciais usos terapêuticos. *Química Nova* 2005, 28, 1046-1054.

39. Queiroz, S. L.; Batista, A. A., Funções biológicas do óxido nítrico. *Química Nova* 1999, 22, 584-590.
40. James E. Huheey, E. A. K., Richard L. Keiter., *Inorganic Chemistry: Principles of Structure and Reactivity*. Fourth ed.; Harper Collins College Publishers: New York, 1993; p 964.
41. Schlant, R. G.; Tsagaris, T. S.; Robertson Jr, R. J., Studies on the acute cardiovascular effects of intravenous sodium nitroprusside. *The American Journal of Cardiology* 1962, 9 (1), 51-59.
42. Hofseth, L. J., Nitric oxide as a target of complementary and alternative medicines to prevent and treat inflammation and cancer. *Cancer Letters* 2008, 268 (1), 10-30.
43. Dai, T.; Huang, Y.-Y.; Hamblin, M. R., Photodynamic therapy for localized infections—State of the art. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 2009, 6 (3–4), 170-188.
44. Rose, M. J.; Mascharak, P. K., Photoactive ruthenium nitrosyls: Effects of light and potential application as NO donors. *Coordination Chemistry Reviews* 2008, 252 (18–20), 2093-2114.
45. Pereira, A. C.; Paulo, M.; Araújo, A. V.; Rodrigues, G. J.; Bendhack, L. M., Nitric oxide synthesis and biological functions of nitric oxide released from ruthenium compounds. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2011, 44, 947-957.
46. Lunardi, C. N.; da Silva, R. S.; Bendhack, L. M., New nitric oxide donors based on ruthenium complexes. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2009, 42, 87-93.
47. Ferezin, C. Z.; Oliveira, F. S.; da Silva, R. S.; Simioni, A. R.; Tedesco, A. C.; Bendhack, L. M., The complex trans-[RuCl([15]aneN₄)NO]₂⁺ induces rat aorta relaxation by ultraviolet light irradiation. *Nitric Oxide* 2005, 13 (3), 170-175.
48. Lang, D. R.; Davis, J. A.; Lopes, L. G. F.; Ferro, A. A.; Vasconcellos, L. C. G.; Franco, D. W.; Tfouni, E.; Wieraszko, A.; Clarke, M. J., A Controlled NO-Releasing Compound: Synthesis, Molecular Structure, Spectroscopy, Electrochemistry, and Chemical Reactivity of R,R,S,S-trans-[RuCl(NO)(cyclam)]₂⁺(1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane). *Inorganic Chemistry* 2000, 39 (11), 2294-2300.
49. Carlos, R. M.; Ferro, A. A.; Silva, H. A. S.; Gomes, M. G.; Borges, S. S. S.; Ford, P. C.; Tfouni, E.; Franco, D. W., Photochemical reactions of trans-[Ru(NH₃)₄L(NO)]₃⁺ complexes. *Inorganica Chimica Acta* 2004, 357 (5), 1381-1388.

50. Lopes, L. G. F.; Castellano, E. E.; Ferreira, A. G.; Davanzo, C. U.; Clarke, M. J.; Franco, D. W., Reactivity of : modulation of the release of NO by the trans-effect. *Inorganica Chimica Acta* 2005, 358 (10), 2883-2890.
51. Silva, F. O. N.; Araújo, S. X. B.; Holanda, A. K. M.; Meyer, E.; Sales, F. A. M.; Diógenes, I. C. N.; Carvalho, I. M. M.; Moreira, Í. S.; Lopes, L. G. F., Synthesis, Characterization, and NO Release Study of the cis- and trans-[Ru(Bpy)₂(SO₃)(NO)]⁺ Complexes. *European Journal of Inorganic Chemistry* 2006, 2006 (10), 2020-2026.
52. Silva, F. O. N.; Cândido, M. C. L.; Holanda, A. K. M.; Diógenes, I. C. N.; Sousa, E. H. S.; Lopes, L. G. F., Mechanism and biological implications of the NO release of cis-[Ru(bpy)₂L(NO)]ⁿ⁺ complexes: A key role of physiological thiols. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2011, 105 (5), 624-629.
53. Tfouni, E.; Doro, F. G.; Gomes, A. J.; Silva, R. S. d.; Metzker, G.; Benini, P. G. Z.; Franco, D. W., Immobilized ruthenium complexes and aspects of their reactivity. *Coordination Chemistry Reviews* 2010, 254 (3–4), 355-371.
54. Mowery, K. A.; H. Schoenfisch, M.; Saavedra, J. E.; Keefer, L. K.; Meyerhoff, M. E., Preparation and characterization of hydrophobic polymeric films that are thromboresistant via nitric oxide release. *Biomaterials* 2000, 21 (1), 9-21.
55. Gomes, A. J.; Barbougli, P. A.; Espreafico, E. M.; Tfouni, E., trans-[Ru(NO)(NH₃)₄(py)](BF₄)₃·H₂O encapsulated in PLGA microparticles for delivery of nitric oxide to B16-F10 cells: Cytotoxicity and phototoxicity. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2008, 102 (4), 757-766.
56. Ferreira, K. Q.; Schneider, J. F.; Nascente, P. A. P.; Rodrigues-Filho, U. P.; Tfouni, E., Design of an NO photoinduced releaser xerogel based on the controlled nitric oxide donor trans-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ (cyclam= = 1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane). *Journal of Colloid and Interface Science* 2006, 300 (2), 543-552.
57. Doro, F. G.; Rodrigues-Filho, U. P.; Tfouni, E., A regenerable ruthenium tetraammine nitrosyl complex immobilized on a modified silica gel surface: Preparation and studies of nitric oxide release and nitrite-to-NO conversion. *Journal of Colloid and Interface Science* 2007, 307 (2), 405-417.
58. da Silva, F. O. N.; Gomes, E. C. C.; Francisco, T. d. S.; Holanda, A. K. M.; Diógenes, I. C. N.; de Sousa, E. H. S.; Lopes, L. G. F.; Longhinotti, E., NO donors cis-[Ru(bpy)₂(L)NO]³⁺ and [Fe(CN)₄(L)NO]⁻ complexes immobilized on modified mesoporous silica spheres. *Polyhedron* 2010, 29 (18), 3349-3354.
59. Caruso, E. B.; Petralia, S.; Conoci, S.; Giuffrida, S.; Sortino, S., Photodelivery of Nitric Oxide from Water-Soluble Platinum Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* 2006, 129 (3), 480-481.

60. Vittorino, E.; Giancane, G.; Manno, D.; Serra, A.; Valli, L.; Sortino, S., Photofunctional multilayer films by assembling naked silver nanoparticles and a tailored nitric oxide photodispenser at water/air interface. *Journal of Colloid and Interface Science* 2012, 368 (1), 191-196.
61. Rothrock, A. R.; Donkers, R. L.; Schoenfish, M. H., Synthesis of Nitric Oxide-Releasing Gold Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* 2005, 127 (26), 9362-9363.
62. Polizzi, M. A.; Stasko, N. A.; Schoenfish, M. H., Water-Soluble Nitric Oxide-Releasing Gold Nanoparticles. *Langmuir* 2007, 23 (9), 4938-4943.
63. Diaz-Garcia, A. M.; Fernandez-Oliva, M.; Ortiz, M.; Cao, R., Interaction of nitric oxide with gold nanoparticles capped with a ruthenium(ii) complex. *Dalton Transactions* 2009, 0 (38), 7870-7872.
64. Santiago, M. O.; Sousa, J. R.; Diógenes, I. C. N.; Lopes, L. G. F.; Meyer, E.; Castellano, E. E.; Ellena, J.; Batista, A. A.; Moreira, I. S., The versatility of the 1,4-dithiane ligand towards the coordination chemistry of ruthenium-phosphine complexes. *Polyhedron* 2006, 25 (7), 1543-1548.
65. Sullivan, B. P.; Salmon, D. J.; Meyer, T. J., Mixed phosphine 2,2'-bipyridine complexes of ruthenium. *Inorganic Chemistry* 1978, 17 (12), 3334-3341.
66. Frank, A. J.; Cathcart, N.; Maly, K. E.; Kitaev, V., Synthesis of Silver Nanoprisms with Variable Size and Investigation of Their Optical Properties: A First-Year Undergraduate Experiment Exploring Plasmonic Nanoparticles. *Journal of Chemical Education* 2010, 87 (10), 1098-1101.
67. Turkevich, J.; Stevenson, P. C.; Hillier, J., The Formation of Colloidal Gold. *The Journal of Physical Chemistry* 1953, 57 (7), 670-673.
68. Lopes, W. A.; Fascio, M., Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. *Química Nova* 2004, 27, 670-673.
69. Nakamoto, K., *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*. John Wiley: 1986; Vol. A.
70. Rosso, T. E.; Ellzy, M. W.; Jensen, J. O.; Hameka, H. F.; Zeroka, D., Vibrational frequencies and structural determinations of 1,4-dithiane. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 1998, 55 (1), 121-134.
71. Togniolo, V.; Santana da Silva, R.; 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.
72. Sizova, O. V.; Ershov, A. Y.; Ivanova, N. V.; Shashko, A. D.; Kuteikina-Teplyakova, A. V., Ru(II) Chloro-Bis(bipyridyl) Complexes with Substituted

Pyridine Ligands: Interpretation of Their Electronic Absorption Spectra. *Russian Journal of Coordination Chemistry* 2003, 29 (7), 494-500.

73. Bignozzi, C. A.; Chiorboli, C.; Murtaza, Z.; Jones, W. E.; Meyer, T. J., Photophysical and photochemical behavior of nitro complexes of ruthenium(II). *Inorganic Chemistry* 1993, 32 (6), 1036-1038.

74. Durham, B.; Walsh, J. L.; Carter, C. L.; Meyer, T. J., Synthetic applications of photosubstitution reactions of poly(pyridyl) complexes of ruthenium(II). *Inorganic Chemistry* 1980, 19 (4), 860-865.

75. Mabbott, G. A., An introduction to cyclic voltammetry. *Journal of Chemical Education* 1983, 60 (9), 697.

76. Faulkner, L. R., Understanding electrochemistry: Some distinctive concepts. *Journal of Chemical Education* 1983, 60 (4), 262.

77. Morril, R. M. S. G. C. B. e. T. C., *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*. 5ª edição ed.; Editora Guanabara Koogan S.A.: Rio de Janeiro, 1994; Vol. único.

78. Godwin, J. B.; Meyer, T. J., Nitrosyl-nitrite interconversion in ruthenium complexes. *Inorganic Chemistry* 1971, 10 (10), 2150-2153.

79. Sauaia, M. G.; de Lima, R. G.; Tedesco, A. C.; da Silva, R. S., Photoinduced NO Release by Visible Light Irradiation from Pyrazine-Bridged Nitrosyl Ruthenium Complexes. *Journal of the American Chemical Society* 2003, 125 (48), 14718-14719.

80. de Santana, D. C. A. S.; Pupo, T. T.; Sauaia, M. G.; da Silva, R. S.; Lopez, R. F. V., Nitric oxide photorelease from hydrogels and from skin containing a nitro-ruthenium complex. *International Journal of Pharmaceutics* 2010, 391 (1-2), 21-28.

81. de Lima, R. G.; Sauaia, M. G.; Bonaventura, D.; Tedesco, A. C.; Vianna Lopez, R. F.; Bendhack, L. M.; da Silva, R. S., Controlled nitric oxide photo-release from nitro ruthenium complexes: The vasodilator response produced by UV light irradiation. *Inorganica Chimica Acta* 2005, 358 (9), 2643-2650.

82. Bethell, D.; Brust, M.; Schiffrin, D. J.; Kiely, C., From monolayers to nanostructured materials: an organic chemist's view of self-assembly. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 1996, 409 (1-2), 137-143.

83. Haiss, W.; Thanh, N. T. K.; Aveyard, J.; Fernig, D. G., Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from UV-Vis Spectra. *Analytical Chemistry* 2007, 79 (11), 4215-4221.

84. Raveendran, P.; Fu, J.; Wallen, S. L., Completely “Green” Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles. *Journal of the American Chemical Society* 2003, 125 (46), 13940-13941.
85. Tran, H. V.; Tran, L. D.; Ba, C. T.; Vu, H. D.; Nguyen, T. N.; Pham, D. G.; Nguyen, P. X., Synthesis, characterization, antibacterial and antiproliferative activities of monodisperse chitosan- based silver nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2010, 360 (1–3), 32-40.
86. Lü, X.; Cui, S., Wool keratin-stabilized silver nanoparticles. *Bioresource Technology* 2010, 101 (12), 4703-4707.
87. Mercê, A. L. R.; Fernandes, E.; Mangrich, A. S.; Sierakowski, M. R.; Szpoganicz, B., Fe (III) - Galactomannan Solid and Aqueous Complexes: Potentiometric, EPR Spectroscopy and Thermal Data. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 2001, 12, 791-798.
88. Toma, H. E.; Zamarion, V. M.; Toma, S. H.; Araki, K., The coordination chemistry at gold nanoparticles. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 2010, 21, 1158-1176.
89. Bellino, M. G.; Calvo, E. J.; Gordillo, G., Adsorption kinetics of charged thiols on gold nanoparticles. *Physical Chemistry Chemical Physics* 2004, 6 (2), 424-428.
90. Šiler, M.; Chvátal, L.; Zemánek, P., Metallic nanoparticles in a standing wave: Optical force and heating. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* (0).