



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

AURIDÉIA POSSIDÔNIO DE SOUSA

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DE REATIVIDADE DOS COMPLEXOS
***cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ E *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ (onde bpy = 2,2'-**
bipiridina e 4-bzpy = 4-benzoilpiridina).

FORTALEZA

2015

AURIDÉIA POSSIDÔNIO DE SOUSA

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DE REATIVIDADE DOS COMPLEXOS *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ E *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{CO}](\text{PF}_6)_2$ (onde bpy = 2,2'-bipiridina e 4-bzpy = 4-benzoilpiridina).

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Inorgânica.

Orientadora: Profa. Dra. Alda Karine Medeiros Holanda

FORTALEZA

2015

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)

S696s Sousa, Auridéia Possidônio de.
síntese, caracterização e estudo de reatividade dos complexos cis-[Ru(bpy)2(4-bzpy)NO](PF6)3 e cis-[Ru(bpy)2(4-bzpy)CO](PF6)2 (onde bpy = 2,2'-bipiridina e 4-bzpy = 4-benzoilpiridina). / Auridéia Possidônio de Sousa. – 2015.
96 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2015.
Orientação: Profa. Dra. Alda Karine Medeiros Holanda.

1. Óxido nítrico. 2. Monóxido de carbono. I. Título.

CDD 540

AURIDÉIA POSSIDÔNIO DE SOUSA

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DE REATIVIDADE DOS COMPLEXOS *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ E *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{CO}](\text{PF}_6)_2$ (onde bpy = 2,2'-bipiridina e 4-bzpy = 4-benzoilpiridina).

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Química. Área de concentração: Química Inorgânica.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa.
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Adonay Rodrigues Loiola.
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

A Deus pelo dom da minha vida e
pela força constante em todos os
momentos.

Aos meus pais Maria Aurení e João Bernardo,
pelo amor e dedicação ao longo de toda minha
trajetória. Sem os seus esforços eu não teria
chegado até aqui. Ao Emerson pelo amor,
amizade e compreensão. Obrigada pelo apoio e
presença constantes!

AGRADECIMENTOS

*A Profa. **Dra. Alda Karine Medeiros de Holanda** pela orientação, paciência e dedicação. Agradeço pelos ensinamentos e pela amizade, indispensáveis para meu crescimento pessoal e profissional.*

*Aos Professores **Luiz Gonzaga** e **Eduardo Henrique** pela contribuição neste trabalho.*

*Aos Professores da Graduação e Pós-Graduação **Idalina M. Moreira, Jackson Sousa, Audísio Filho, Elisane, Belmino, Izaura, Luiz Gonzaga, Luizão e Chico Monte** que muito contribuíram para minha formação acadêmica.*

*Aos Professores **Ordelei** e **Sérgio** pelas discussões científicas.*

*Ao prof. Dr. **Nilberto Robson Falcão do Nascimento** e ao **André Florêncio** pelo resultado de vasodilatação.*

*Ao **CENAUREMN** pela obtenção dos espectros de RMN.*

*A todos meus amigos do Grupo de Bioinorgânica, em especial a **Gilmara Vieira, Vivania Alves, Danielle Queiroz, Edinilton Muniz, Carlos Daniel, Wellinson Gadêlha, Géssica Marques, Amanda Lopes, Marquinhos, Walysson Gomes e Felipe Diógenes.***

*As alunas de iniciação científica **Magna Abreu** e **Juliana Sales** pela amizade e ajuda na síntese dos compostos.*

A todos meus familiares e amigos, que fora do convívio acadêmico me proporcionaram apoio e compreensão.

*Ao **CNPq, FUNCAP e CAPES** pelo apoio financeiro.*

“A vida não dá nem empresta, não se comove e nem se apieda. Tudo que ela faz é retribuir e transferir aquilo que nós lhe oferecemos.”

Albert Einstein.

RESUMO

Durante muito tempo o NO (óxido nítrico) foi conhecido apenas como um gás tóxico que em grandes concentrações causava danos à saúde. Entretanto, na década de 1980, estudos demonstraram sua participação em diversos processos fisiológicos, incluindo sua atividade como mediação do sistema nervoso central, relaxação da musculatura lisa, participação na capacidade do sistema imunológico de destruir células tumorais e parasitas intracelulares, adesão e agregação plaquetária. Ao que tudo indica, o NO não está sozinho nesses processos biológicos. Recentemente o CO (monóxido de carbono) vem surgindo como uma importante molécula sinalizadora em vários destes processos. Apesar dos efeitos benéficos, é importante alertar para o perigo do tratamento direto com NO ou CO gasosos, uma vez que é difícil determinar até que ponto estes gases são terapêuticos, sem provocar efeitos tóxicos. Esse fato estimulou, recentemente, o estudo de alguns complexos metálicos capazes de liberar NO ou CO de forma controlada. Assim, neste trabalho realizou-se a síntese, caracterização e avaliação de compostos do tipo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ e *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ (onde bpy = 2,2'-Bipiridina e 4-bzpy = 4-Benzoilpiridina). A caracterização dos compostos foi realizada utilizando-se técnicas eletroquímicas (voltametria cíclica), espectroscópicas (espectroscopia vibracional na região do IV e espectroscopia eletrônica), ressonância magnética nuclear de ¹H e ¹³C e difração de raios-X de monocristais. O nitrosilo complexo foi submetido a testes de reatividade quanto a liberação de NO⁰, apresentando bons resultados quanto a redução eletroquímica, fotoquímica e frente ao redutor biológico cisteína. Após caracterizado, o complexo carbonílico também foi submetido à testes de reatividade onde a liberação de CO foi avaliada através de ensaios com mioglobina, utilizando-se para isso o método espectrofotométrico.

Palavras-Chave: Óxido nítrico. Monóxido de carbono. Rutênio. Vasodilatação.

ABSTRACT

For a long time NO (nitric oxide) was known only as a toxic gas that in large concentrations caused damage to health. However, in the 1980s, studies have shown their participation in various physiological processes, including its activity as a mediation of the central nervous system, smooth muscle relaxation, participation in the ability of the immune system to destroy tumor cells and intracellular parasites, platelet adhesion and aggregation. Apparently, NO is not alone in many of these biological processes. Recently CO (carbon monoxide) is emerging as an important signaling molecule in these processes. Despite the beneficial effects, it is important to warn the danger of direct treatment with NO or CO gas, since it is difficult to determine the extent to which these gases are therapeutic, without causing toxic effects. This fact led recently the study of some metal complexes capable of releasing NO or CO in a controlled manner. This work was carried out the synthesis, characterization and evaluation of compounds of type *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ and *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ (where bpy = 2,2'-Bipyridina and 4-bzpy = 4-Benzoylpyridina). The characterization of the compounds was performed using electrochemical techniques (cyclic voltammetry), spectroscopic (vibrational spectroscopy in the IR region and electron spectroscopy), H and C nuclear magnetic resonance, X-ray diffraction monocrystals. The nitrosyl complex underwent reactivity testing as the release of NO⁰, showing good results as the electrochemical reduction, photochemical and biological front of a reducer. Once characterized, the carbonyl compound reactivity was also subjected to tests where the CO release was assessed by testing with myoglobin, using for this the spectrophotometric method.

Keywords: Nitric oxide. Carbon monoxide. Ruthenium. Vasodilation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Diagrama de orbital molecular para o NO.....	18
Figura 2- Representação da síntese do NO <i>in vivo</i>	19
Figura 3- Ativação do relaxamento da musculatura vascular pela acetilcolina em que o NO atua como molécula mensageira.	20
Figura 4- Representação do ligante nitrosil coordenado ao centro metálico adotando: (a) Geometria linear e (b) Geometria angular	21
Figura 5- Degradação do grupo heme catalisadas pelas enzimas heme oxigenases.	24
Figura 6- Representação das ligações σ e π do monóxido de carbono a um centro metálico..	25
Figura 7- Estruturas dos compostos liberadores de CO, CORM-1 e CORM-2.	27
Figura 8- Estruturas dos compostos liberadores de CO, CORM-A1 e CORM-3.....	27
Figura 9- Cuba utilizada para o estudo farmacológico com aortas de ratos.....	34
Figura 10- Espectro vibracional na região do infravermelho para o complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)Cl]PF ₆ em pastilha de KBr.	36
Figura 11- Representação ORTEP do íon complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)Cl] ⁺	38
Figura 12- Espectros eletrônicos do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)Cl]PF ₆ 1,9x10 ⁻⁵ mol ⁻¹ L em água () e 1,12x10 ⁻⁵ mol ⁻¹ L acetonitrila ()......	41
Figura 13- Voltamograma cíclico para o complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)Cl]PF ₆ 5,2x10 ⁻³ mol ⁻¹ L em NaTFA 0,1 Mol L ⁻¹ pH= 7,00.	43
Figura 14- Espectro vibracional na região do infravermelho para os complexos <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)Cl]PF ₆ () e <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO ₂]PF ₆ () em pastilha de KBr.....	44
Figura 15- Representação ORTEP do íon complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO ₂] ⁺	45
Figura 16- Espectros eletrônicos do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO ₂]PF ₆ 2,5x10 ⁻⁵ mol ⁻¹ L em água () e 1,3x10 ⁻⁵ mol ⁻¹ L acetonitrila ()......	48
Figura 17- Voltamograma cíclico para o complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO ₂]PF ₆ 3,5x10 ⁻² mol ⁻¹ L em NaTFA 0,1 mol L ⁻¹ pH= 7,00.....	49
Figura 18- Espectro de absorção na região do infravermelho para o complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO](PF ₆) ₃ em pastilha de KBr.	49
Figura 19- Espectro eletrônico do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO](PF ₆) ₃ 3,25x10 ⁻⁵ mol ⁻¹ L em NaTFA 0,1 Mol L ⁻¹ pH= 2,00.	52
Figura 20- Voltamograma cíclico para o complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO](PF ₆) ₃ 1,3x10 ⁻³ mol ⁻¹ L em NaTFA 0,1 Mol L ⁻¹ pH= 2,00.	53

Figura 21- Correlação entre $v(\text{NO})$ para complexos <i>trans</i> e <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{LNO}](\text{PF}_6)_n$ e $E_{1/2}$ para a reação redox <i>trans</i> e <i>cis</i> - $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bpy})_2\text{LNO}^+]^{+n} + e^- \leftrightarrow \text{trans e cis-} [\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bpy})_2\text{LNO}^0]^{+n}$, vs Ag/AgCl	54
Figura 22- Numeração dos átomos de carbono e hidrogênio para os anéis aromáticos do complexo <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$	55
Figura 23- Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H para o complexo <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ em acetona deuterada.	56
Figura 24- Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C para o complexo <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ em acetona deuterada.	56
Figura 25- Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H - ^{13}C bidimensional HMBC para o complexo <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ em acetona deuterada.	59
Figura 26- Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H bidimensional COSY para o complexo <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ em acetona deuterada	60
Figura 27- Espectro de absorção na região do infravermelho para o complexo <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{CO}](\text{PF}_6)_2$ em pastilha de KBr.	62
Figura 28- Espectro eletrônico do complexo <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{CO}](\text{PF}_6)_2$ $5,24 \times 10^{-5}$ Mol L^{-1} em acetonitrila.....	63
Figura 29- Voltamograma cíclico do complexo <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{CO}](\text{PF}_6)_2$ $3,25 \times 10^{-3}$ mol ^{-1}L em solução de acetonitrila contendo PTBA 0,1M. $\text{Fc}^{+/0} = 0,56$ V vs $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-$	64
Figura 30- Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H para o complexo <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{CO}](\text{PF}_6)_2$ em acetona deuterada.	65
Figura 31- Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C para o complexo <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{CO}](\text{PF}_6)_2$ em acetona deuterada.	65
Figura 32- Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H - ^{13}C bidimensional HMBC para o complexo <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{CO}](\text{PF}_6)_2$ em acetona deuterada.....	68
Figura 33- Gráfico de absorbância versus pH para o complexo <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$	70
Figura 34- Espectro do complexo <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ $5,7 \times 10^{-5}$ mol ^{-1}L em NaTFA 0,1 Mol L^{-1} em diferentes valores de pH.....	71
Figura 35- Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo <i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ em pastilha de KBr, submetido à irradiação com luz $\lambda_{\text{irradiação}}=575$ nm durante 5h.	73

- Figura 36- Voltamograma cíclico para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ em KCl 1,0 mol L⁻¹, pH = 2,0. Antes de irradiar (), após irradiação em 575 nm (). 74
- Figura 37- Percursos propostos para a formação de NO ou HNO pela adição de RS⁻ aos nitrosilo complexos de rutênio..... 75
- Figura 38- Variações espectrais na região do UV-visível da reação do íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO]³⁺ com cisteína em pH = 2,0. T = 37°C. 76
- Figura 39- Variações espectrais na região do UV-visível da reação do íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO]³⁺ com cisteína em pH = 2,0. T = 37°C 77
- Figura 40- Voltamograma de onda quadrada para o eletrodo Au/*trans*-[Fe(cyclam)(NCS)₂]⁺ em solução 0.2 mol L⁻¹ KCl pH=2, contendo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO]³⁺ (8.5x10⁻⁴ M) e cisteína (8.5x10⁻³ M). 78
- Figura 41- Efeito vaso relaxante de *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ () (1nM - 1µM) em anéis de aorta pré-contraídas com fenilefrina (1µM). Os valores são expressos utilizando o SNP () como controle. 79
- Figura 42- Espectros de absorção na região UV-vis para mioglobina 12µmol.L⁻¹ (Mb) nas formas: desoxigenada, saturada com CO e na forma reduzida saturada com O₂. . 81
- Figura 43- Acompanhamento por espectroscopia de absorção na região UV-vis de uma solução contendo 24µmol.L⁻¹ do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ a 37°C por 24 horas. 82
- Figura 44- Acompanhamento por espectroscopia de absorção na região UV-vis de uma solução contendo Mb 12µmol.L⁻¹ e 24µmol.L⁻¹ do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ a 37°C por 24 horas. 82
- Figura 45- Acompanhamento por espectroscopia de absorção na região UV-Vis de uma solução contendo Mb 12µmol.L⁻¹ e 24µmol.L⁻¹ do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ em PBS 0,1 M pH 7,4 irradiado em 302 nm por 226 minutos a 37°C 83
- Figura 46- Curva para fotoliberação de CO do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ em PBS 0,1 M pH 7,4 irradiado em 302 nm por 226 minutos a 37°C. k = 0,1109 (± 0,0039) , R² = 0,9981. 84
- Figura 47- Acompanhamento por espectroscopia de absorção na região UV-Vis de uma solução contendo Mb 12µmol.L⁻¹ e 24µmol.L⁻¹ do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ em PBS 0,1 M pH 7,4 irradiado em 350 nm por 206 minutos a 37°C 84

Figura 48- Curva para fotoliberação de CO do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ em PBS 0,1 M pH 7,4 irradiado em 350 nm por 206 minutos a 37°C. $k = 0,0228 (\pm 0,0018)$, $R^2 = 0,9821$ 85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Procedência dos reagentes utilizados durante a síntese e a caracterização dos complexos.	30
Tabela 2- Dados de infravermelho do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)Cl]PF ₆ em pastilha de KBr.....	37
Tabela 3- Dados cristalográficos, parâmetros de raios-x e resultados de refinamento do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)Cl]PF ₆	39
Tabela 4- Comprimentos das ligações [Å] e ângulos [°] para a estrutura de raio-x do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)Cl]PF ₆	39
Tabela 5- Dados de UV-Visível para o complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)Cl]PF ₆ em acetonitrila.....	42
Tabela 6- Dados de infravermelho do complexo e <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO ₂]PF ₆ em pastilha de KBr.....	44
Tabela 7- Dados cristalográficos, parâmetros de raios-x e resultados de refinamento do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO ₂]PF ₆	46
Tabela 8- Comprimentos das ligações [Å] e ângulos [°] para a estrutura de raio x do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO ₂]PF ₆	46
Tabela 9- Atribuição das bandas observadas no espectro de absorção na região do infravermelho para o complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO](PF ₆) ₃ em pastilha de KBr.....	50
Tabela 10- Influência dos ligantes auxiliares L no estiramento da ligação NO em complexos do tipo [Ru(bpy) ₂ L(NO)] onde L: 4-benzoilpiridina (4-bzpy), imidazol (imN), isonicotinamida (isn), tiouréia (TU) e sulfito (SO ₃ ²⁻).	51
Tabela 11- Deslocamentos químicos (RMN ¹ H e ¹³ C) observados para o complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO](PF ₆) ₃ em acetona deuterada.	57
Tabela 12- Deslocamentos químicos (RMN ¹ H e ¹³ C) observados para o complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)CO](PF ₆) ₂ em acetona deuterada.....	66
Tabela 13- Valores de Keq e νNO ⁺ para complexos do tipo [Ru(bpy) ₂ (L)NO] ⁿ⁺	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

δ	Deslocamento químico (ppm) em RMN
ϵ	Coefficiente de extinção molar
ν	Vibração de estiramento (IV) ou frequência (cm^{-1})
Å	Angstrom, 10^{-8} centímetros
λ	Comprimento de onda (nm)
4-bzpy	4-benzoilpiridina
bpy	2,2'-bipiridina
$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	Acetona deuterada
cGMP	Guanilato monofosfato cíclico
cNOS	Óxido nítrico sintetase constitutiva
$E_{1/2}$	Potencial de meia onda
EC_{50}	Concentração que induz metade do efeito máximo
EDRF (FRED)	Fator relaxante endotélio dependente
eNOS	Óxido nítrico sintetase endotelial
GTP	Guanosina trifosfato
HTFA	Ácido trifluoracético
IL	Transições intraligantes
iNOS	Óxido nítrico sintetase induzida
IV	Infravermelho
KBr	Brometo de potássio
L	Representa um ligante genérico
LUMO	Orbital molecular desocupado de energia mais baixa
M	Átomo de metal em um complexo
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (forma reduzida)

NH_4PF_6	Hexafluorofosfato de amônio
nm	Nanômetro
NOS	Óxido nítrico sintetase
NO_2^-	Íon nitrito
ORTEP	OaK ridige thermal ellipsoid program
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
sGC	Guanilato ciclase solúvel
SNP	Nitroprussiato de sódio
TCML	Transferência de carga metal ligante
TMS	Tetrametilsilano
UV-Vis	Ultravioleta e visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
1.1	Aspectos gerais do NO	17
1.2	Biossíntese e funções fisiológicas do NO.....	19
1.3	Nitrosilo complexos	21
1.4	Aspectos gerais e toxicológicos do CO.....	23
1.5	Aspectos fisiológicos do CO.....	23
1.6	Complexos carbonílicos	24
1.7	Complexos inorgânicos e aplicações biológicas	25
1.8	Complexos liberadores de NO.....	26
1.9	Compostos liberadores de CO (CORMs).....	27
2	OBJETIVOS	29
3	PARTE EXPERIMENTAL	30
3.1	Reagentes e soluções.....	30
3.2	Aparelhos e Técnicas Experimentais.....	31
3.2.1	<i>Espectroscopia de absorção na região do UV-vis</i>	31
3.2.2	<i>Voltametria cíclica</i>	31
3.2.3	<i>Espectroscopia de vibracional na região do Infravermelho</i>	31
3.2.4	<i>Difração de Raios-X</i>	31
3.2.5	<i>Ressonância Magnética Nuclear</i>	32
3.2.6	<i>Irradiação das soluções</i>	32
3.2.7	<i>Ensaio de liberação de CO</i>	32
3.2.8	<i>Medidas Cinéticas</i>	33
3.2.9	<i>Ensaio Farmacológico de Vasodilatação</i>	33
3.3	Sínteses	34
3.3.1	<i>Síntese do complexo cis-[Ru(bpy)₂Cl₂]</i>	34
3.3.2	<i>Síntese do complexo cis-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆</i>	34
3.3.3	<i>Síntese do complexo cis-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂]PF₆</i>	35
3.3.4	<i>Síntese do complexo cis-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃</i>	35
3.3.5	<i>Síntese do complexo cis-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂</i>	35
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36

4.1	Caracterização dos complexos <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)Cl]PF ₆	36
4.2	Caracterização dos complexos <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO ₂]PF ₆	43
4.3	Caracterização do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO](PF ₆) ₃	49
4.4	Caracterização do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)CO](PF ₆) ₂	61
5	ESTUDO DA REATIVIDADE DO COMPLEXO <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4- bzpy)NO](PF ₆) ₃	69
5.1	Reação de interconversão ácido-base nitrosil-nitrito.....	69
5.2	Ensaio fotoquímico.....	72
5.3	Ensaio de reatividade do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO](PF ₆) ₃ com cisteína	74
5.4	Ensaio de vasodilatação em anéis de aorta	79
6	ENSAIOS DE LIBERAÇÃO DE CO PARA O COMPLEXO <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4- bzpy)CO](PF ₆) ₂	80
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	86
	REFERÊNCIAS	87

1 INTRODUÇÃO

Há décadas, o óxido nítrico (NO) era conhecido apenas como um gás tóxico proveniente da queima de combustíveis fósseis contribuindo assim para a ocorrência da chuva ácida e destruição da camada de ozônio¹. No entanto, durante a década de 1980, Green e colaboradores demonstraram que óxidos de nitrogênio eram produzidos pelo metabolismo de mamíferos². Assim, o conceito que se tinha sobre o óxido nítrico foi mudado e com resultados de investigações foi possível concluir que embora tratando-se de uma molécula simples, estaria envolvida em diversos processos fisiológicos, tais como: mediação do sistema nervoso central³, relaxação da musculatura lisa, participação na capacidade do sistema imunológico de destruir células tumorais e parasitas intracelulares^{4,5}, adesão e agregação plaquetária, além do envolvimento no mecanismo de morte celular programada (apoptose)^{6,7}.

A partir de 1987, com a descoberta da atuação do NO no organismo humano como o fator relaxante do endotélio (EDRF, do inglês *endothelium-derived relaxing fator*)⁸ intensificou-se o interesse nessa molécula, resultando em inúmeras publicações sobre o assunto. Tais estudos culminaram, posteriormente, na escolha do NO como a molécula do ano pela revista Science em 1992 e Prêmio Nobel de medicina em 1998 para Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro e Ferid Murad por suas descobertas referentes à atuação do NO como mensageiro biológico^{9,10}.

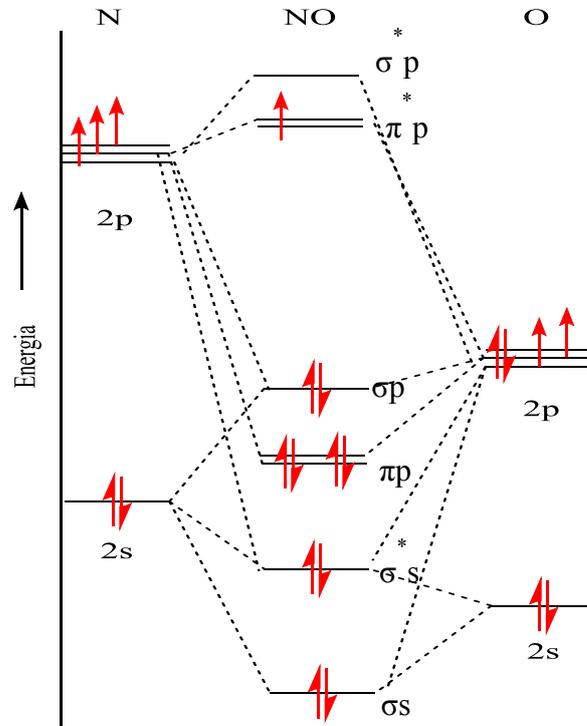
1.1. Aspectos gerais do NO

O NO é um gás (P.E. = -151,7°C) incolor e termodinamicamente instável ($\Delta G^\circ = 86,57 \text{ kJ.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$) que se decompõe em N_2 e O_2 em altas temperaturas. Possui certa característica lipofílica, o que confere ao NO uma maior solubilidade em solventes apolares em relação a água. É habitualmente encontrado no ar atmosférico em pequenas quantidades e é altamente tóxico⁸.

O NO é uma molécula neutra que possui a seguinte configuração eletrônica da camada de valência: $(\sigma 2s)^2(\sigma 2s^*)^2(\sigma 2p_z)^2(\pi 2p)^4(\pi 2p^*)^1$ (Figura 1), que possui um elétron desemparelhado, sendo portanto uma molécula paramagnética. Esta propriedade é importante, pois está diretamente ligada as interações do NO em sistemas biológicos que é caracterizada

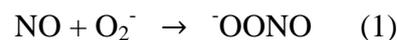
pela estabilização do elétron desemparelhado. Podendo ocorrer através da reação com outra espécie paramagnética ou complexação a um metal¹¹.

Figura 1- Diagrama de orbital molecular para o NO.



Fonte: Adaptado da referência 31.

Por se tratar de uma espécie radicalar, o óxido nítrico é capaz de reagir com espécies reativas de oxigênio. Estas reações são de grande interesse químico e fisiológico, pois são importantes para o estudo da toxicologia e fisiologia do NO. Uma das reações mais importantes é a do óxido nítrico com o íon superóxido (O_2^-), obtendo-se o íon peroxinitrito ($ONOO^-$) como produto da reação (Equação 1)^{12,13}.



O peroxinitrito atua como um oxidante em meio fisiológico, capaz de oxidar tióis e bases do DNA. Desse modo, pode destruir componentes celulares que podem ser cancerígenos ou não no organismo humano¹⁴.

Através da oxidação do óxido nítrico mediada pelo O_2 (Equação 2), produz-se o dióxido de nitrogênio (NO_2). Um intermediário desta reação é o N_2O_3 que pode reagir prontamente com bases nitrogenadas do DNA, danificando sua estrutura¹⁵.



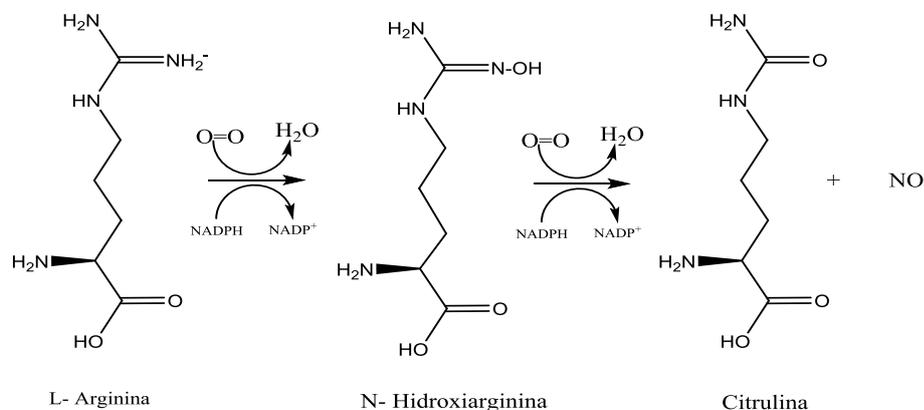
As reações do óxido nítrico com espécies reativas de oxigênio e nitrogênio em meio fisiológico podem gerar espécies que podem ser prejudiciais a saúde, dependendo de suas concentrações.

1.2. Biossíntese e funções fisiológicas do NO

O óxido nítrico é um importante mensageiro intercelular nos mamíferos. O mecanismo de sinalização é geralmente realizado através de receptores de membrana celular na célula alvo. Estes receptores são, habitualmente, transmembranosos tendo contato com o citoplasma e desencadeando uma “cascata” de sinais intracelulares que finalizarão em uma mudança na célula⁸. Devido a sua penetração intracelular sem intermediários membranosos, o organismo utiliza o NO em funções fisiológicas em que é necessária uma resposta rápida.

A síntese do óxido nítrico no corpo humano e em outros mamíferos é realizada continuamente pela reação de oxidação do aminoácido L-arginina formando citrulina. Essa reação é catalisada pela enzima óxido nítrico sintetase (NOS) utilizando nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) e O_2 como co-substratos¹⁶, como mostrado na Figura 2.

Figura 2- Representação da síntese do NO *in vivo*.

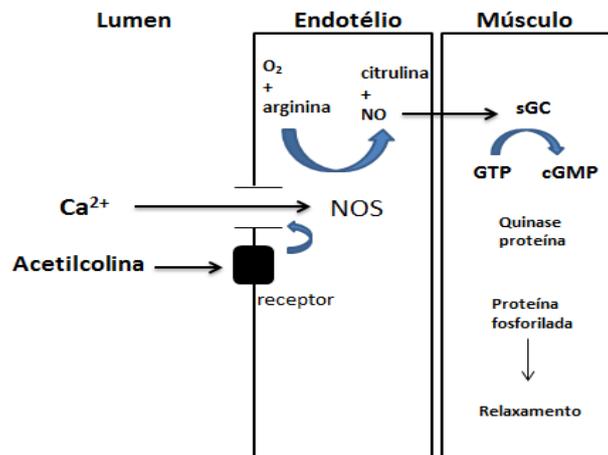


Fonte: Adaptado da referência 8.

A conversão da L-arginina em citrulina e NO é uma oxidação de cinco elétrons de um dos nitrogênios guanidínicos da L-arginina. Primeiramente, ocorre oxidação de dois elétrons, uma hidroxilação que forma a N-hidroxiarginina como um produto intermediário ligado à enzima. Em seguida, ocorre uma oxidação de três elétrons, com a inserção de oxigênio e quebra da ligação carbono-nitrogênio para formar a citrulina e NO¹.

Dentre às inúmeras funções fisiológicas desempenhadas pelo NO vale ressaltar a sua capacidade de ocasionar vasodilatação. A Figura 4 ilustra este processo, onde vários mensageiros químicos como a acetilcolina ativam a enzima óxido nítrico sintetase endotelial (eNOS) ligando-se a receptores apropriados na membrana da célula endotelial. Estas ligações desencadeiam a abertura de canais, permitindo que o Ca²⁺ penetre na célula. O aumento da concentração de Ca²⁺ dentro da célula ativa a enzima eNOS. O NO produzido (mecanismo representado na Figura 3) difunde-se da célula endotelial para a célula muscular, onde ativa a enzima guanilato ciclase solúvel (sGC) que participa da conversão de guanosina trifosfato (GTP) a guanilato monofosfato cíclico (cGMP). O aumento dos níveis de cGMP diminui a quantidade de Ca²⁺ livre na célula muscular, causando sua relaxação^{1,17}.

Figura 3- Ativação do relaxamento da musculatura vascular pela acetilcolina em que o NO atua como molécula mensageira.



Fonte: Adaptado da referência 17.

Em virtude do envolvimento do NO em funções fisiológicas importantes, é esperado que alterações no seu metabolismo levem a distúrbios, os quais relacionam-se aos baixos ou altos níveis de NO circulando no sangue. O primeiro caso, por exemplo, ocorre

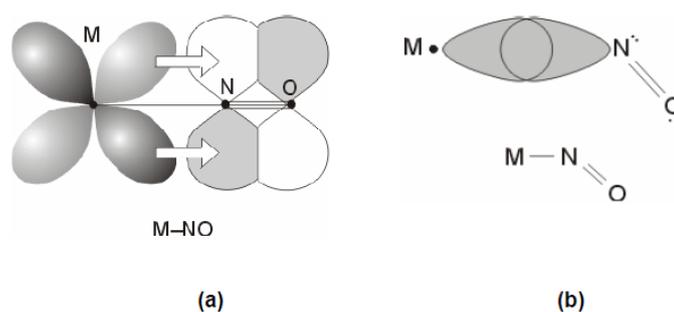
quando a enzima óxido nítrico sintetase constitutiva (cNOS) tem uma atividade reduzida, podendo ocasionar hipertensão. Por outro lado, a superprodução é um fator importante em doenças como diabetes, artrite, epilepsia e choque séptico. A produção excessiva de NO ocorre quando o nível de bactérias circulando no sangue está alto, estimulando a enzima iNOS a produzir mais óxido nítrico¹⁸.

1.3. Nitrosilo complexos

O estudo da coordenação do óxido nítrico a um centro metálico é uma área de bastante interesse para a química de coordenação. A molécula de NO pode ligar-se ao centro metálico via nitrogênio ou oxigênio formando nitrosilos (M-NO) ou isonitrosilos (M-ON) complexos. Na prática, a ligação da molécula de NO ao centro metálico ocorre preferencialmente pela primeira forma citada¹⁹.

O NO coordenado pode adotar duas diferentes geometrias de ligação M-N-O linear (NO^+) ou angular (NO^0), refletindo em diferentes interações da ligação metal-NO (Figura 4).

Figura 4- Representação do ligante nitrosil coordenado ao centro metálico adotando: (a) Geometria linear e (b) Geometria angular



Fonte: Adaptado da referência 23.

A geometria linear é mais comum e consiste de doação eletrônica do orbital σ do NO para o metal e doação de densidade eletrônica dos orbitais $nd\pi$ ocupados para os orbitais π^* do NO, caracterizando a retrodoação¹⁹.

A forma linear é caracterizada por comprimentos de ligação M-N curtos ($\cong 1,60$ - $1,75\text{\AA}$), alta frequência de estiramento do NO ($\nu_{\text{NO}} 1650$ - 1985 cm^{-1}) e reatividade

eletrofílica. Enquanto que, para a forma angular os comprimentos da ligação M-N são $\cong 1,80-1,95\text{\AA}$, menores frequências de estiramento NO ($\nu_{\text{NO}} 1525-1590\text{ cm}^{-1}$) e reatividade nucleofílica¹⁹.

Os nitrosilo complexos formam uma classe de compostos que podem ser utilizados como agentes potencialmente capazes de capturar ou liberar NO *in vivo*. Entre estes, o composto nitroprussiato de sódio ($\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5(\text{NO})]\cdot\text{H}_2\text{O}$) foi um dos primeiros compostos a ser utilizado no tratamento de crises hipertensivas, mesmo antes de se conhecer o seu mecanismo de ação²⁰. No entanto, além da liberação de NO, há também a liberação de cianeto (CN^-), que é uma molécula tóxica e necessita da administração de outro medicamento que interfira nesse efeito indesejável no organismo^{21,22}. Além disso, a liberação do NO é muito rápida, acarretando em uma queda brusca de pressão arterial. Tais fatos estimularam o desenvolvimento de drogas menos tóxicas e que possibilitem a liberação do NO de forma controlada.

Nitrosilo complexos de rutênio mostram-se promissores para tal finalidade^{23,24} devido à formação de complexos estáveis e por acreditar-se que a defesa contra a toxicidade deste metal no organismo seja semelhante a do ferro, que quando em excesso, aumenta a produção de proteínas capazes de capturá-lo como a transferrina e albumina²⁵ eliminando-o.

A junção das propriedades do óxido nítrico com a estabilidade do rutênio é um assunto presente em vários grupos de pesquisa, que trabalham com a modulação de nitrosilo complexos de rutênio visando aplicação como vasodilatador, tratamento alternativo para o câncer, entre outros^{26,27,28}.

Ao que tudo indica, essa molécula diatômica não está sozinha nos processos biológicos. Mais recentemente, a molécula de monóxido de carbono (CO) vem surgindo como uma “nova” e importante molécula sinalizadora em vários destes processos²⁹. Apesar de estar cerca de 15 anos atrás com relação aos estudos biológicos do NO, uma gama de importantes funções biológicas vem atraindo a atenção para essa molécula, resultando em congressos, simpósios, livros e surpreendente número de publicações, além do surgimento de empresas dedicadas ao desenvolvimento de fármacos a base de CO (Alfama Inc., hemoCORM Ltda)^{29,30}.

1.4. Aspectos gerais e toxicológicos do CO

O monóxido de carbono é um gás (P.E.=-192°C) incolor, insípido, inodoro e moderadamente insolúvel em água. É conhecido por sua alta toxicidade e destaca-se por ser um grande poluente atmosférico, podendo gerar doenças crônicas ou agudas dependendo do tempo de exposição^{31,32}. Este gás é produzido pela combustão incompleta de todos os tipos de matéria orgânica na natureza, no entanto, a maior produção é originada na indústria e por veículos automotores³³.

Devido ser um gás incolor e inodoro, o monóxido de carbono é dificilmente detectado, o que ocasiona um grande número de intoxicações por inalação deste gás. As circunstâncias causadoras destas intoxicações incluem: incêndios, motores de automóveis com mau funcionamento em ambientes fechados e aquecedores a gás natural ineficientes, dentre outras.

O CO é um gás tóxico e nocivo aos seres humanos por possuir uma alta afinidade pelos sítios de ligação de oxigênio na hemoglobina e mioglobina (200-250 vezes maior que o oxigênio)³⁴.

O produto da reação da hemoglobina e o CO é a carboxihemoglobina, onde sua formação é favorável em ambientes com elevada concentração de CO. A carboxihemoglobina não tem capacidade de transportar o oxigênio e, além disso, sua presença interfere na dissociação do oxigênio da oxiemoglobina remanescente, reduzindo, assim, a transferência de oxigênio para os tecidos, o que pode causar desde tonturas, fortes dores de cabeça ou até mesmo a morte do indivíduo^{35,36}.

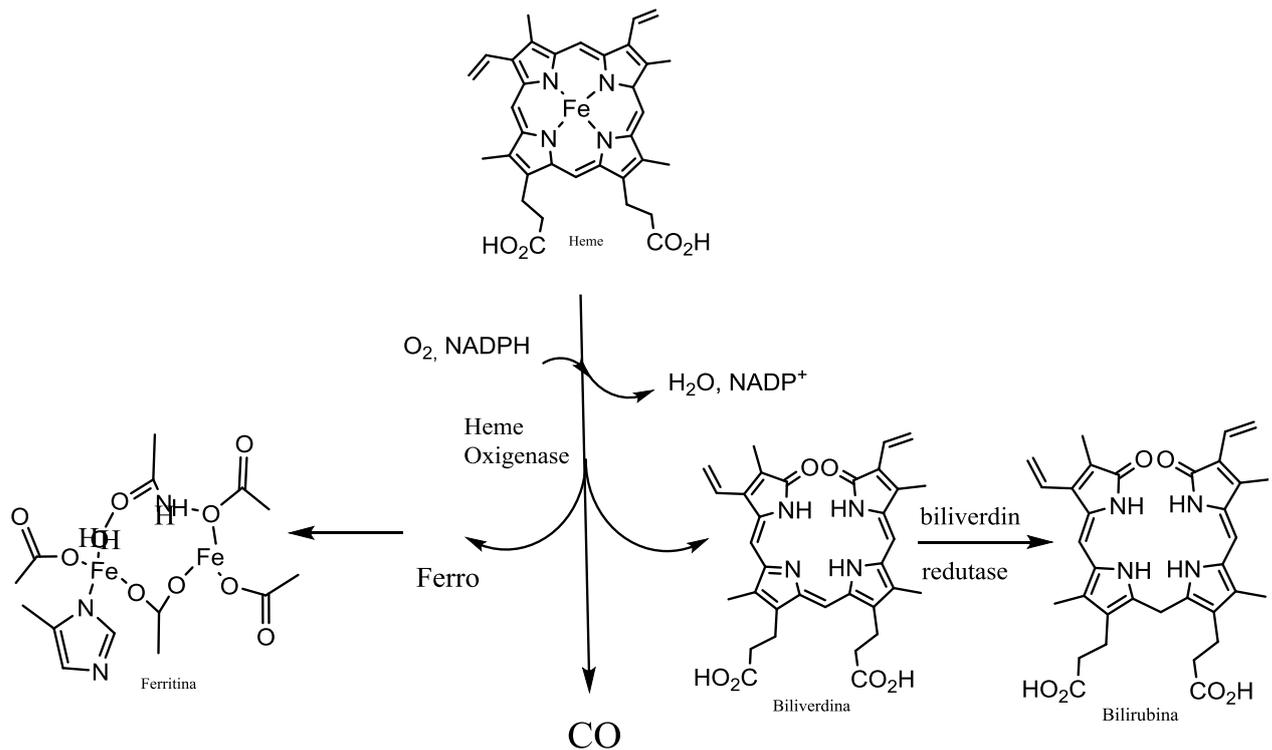
1.5. Aspectos fisiológicos do CO

Durante muito tempo o monóxido de carbono foi conhecido apenas como um gás tóxico e nocivo à saúde. No entanto, na década de 90 numerosos estudos demonstraram sua participação em diversos processos fisiológicos, incluindo sua atividade como neurotransmissor cerebral, inibidor da agregação plaquetária³⁷, vasodilatador³⁸ e regulador das funções endócrinas³⁹.

Nos mamíferos, o CO, íons de ferro e a biliverdina são gerados a partir da degradação de heme proteínas através de enzimas denominadas heme oxigenases (HO) (Figura 5). Esta

degradação ocorre através da oxidação na posição α do anel da ferroprotoporfirina⁴⁰. O CO, íons de ferro e biliverdina são os produtos iniciais do catabolismo do grupo heme, posteriormente a biliverdina é reduzida para bilirrubina e o Fe^{2+} transferido para a transferrina e armazenado nas ferritinas³².

Figura 5- Degradação do grupo heme catalisadas pelas enzimas heme oxigenases.



Fonte: Adaptado das referências 32 e 40.

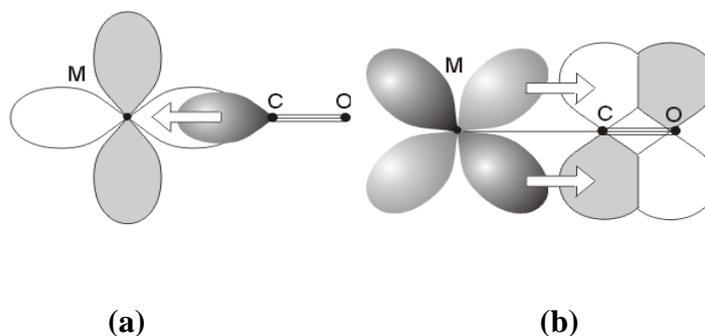
1.6. Complexos carbonílicos

O desenvolvimento de complexos carbonílicos de metais de transição torna-se cada vez mais expressivo, com o intuito de usá-los como uma ferramenta biológica que seja capaz de reproduzir a geração endógena de CO. Para isso, é importante entender como o monóxido de carbono liga-se a complexos metálicos.

A ligação do monóxido de carbono aos átomos metálicos se dá através do átomo de carbono. Quando CO atua como ligante, um orbital de simetria σ serve como doador muito fraco a um íon metálico, formando uma ligação σ (Figura 6a). Os orbitais LUMOs do CO são π^* . Esses dois orbitais apresentam uma função importante porque podem se sobrepor com os orbitais d do metal que têm simetria local π (Figura 6b). A interação π conduz à

deslocalização de elétrons dos orbitais d preenchidos no átomo metálico para orbitais π^* vazios nos ligantes CO, assim o ligante atua também como π receptor³¹.

Figura 6- Representação das ligações σ e π do monóxido de carbono a um centro metálico.



Fonte: Retirado da referência 31.

Tendências nos comprimentos das ligações CO e frequências de estiramento obtidas do espectro de infravermelho estão em concordância geral com o modelo de ligação descrito, ou seja, o sinergismo que envolve a ligação M-CO afeta o caráter da tripla ligação do CO, assim quanto maior for a ordem de ligação M-CO menor será a ordem de ligação C \equiv O. A diminuição na ordem de ligação deste ligante tem como consequência a diminuição da frequência de estiramento do CO. Isto pode ser comprovado ao se comparar as frequências de estiramento do CO livre (aproximadamente 2143 cm^{-1}) e coordenado como grupo terminal (entre 2125 e 1850 cm^{-1})⁴¹. Além disso, a espectro de infravermelho também é útil para distinguir CO terminal (MCO) de CO unido por ponte a dois (M_2CO) ou três metais (M_3CO). Geralmente, as frequências de estiramentos do CO seguem a ordem $\text{MCO} > \text{M}_2\text{CO} > \text{M}_3\text{CO}$, o que sugere um aumento na ocupação do orbital π^* à medida que a molécula CO se liga a mais átomos metálicos⁴².

1.7. Complexos inorgânicos e aplicações biológicas

Compostos inorgânicos constituem uma área de grande interesse na química bioinorgânica por terem a possibilidade de estar em meio biológico, seja para fins terapêuticos ou por contaminação⁴³. O reconhecimento da eficiência dos complexos de metais de transição foi um processo lento, devido ao conhecimento da alta toxicidade em decorrência dos casos de envenenamento. Tais fatos levaram ao desinteresse dos cientistas no desenvolvimento de

fármacos provenientes de complexos inorgânicos. Somente no início do século XX surgiram os primeiros medicamentos contendo metais⁴⁴.

Dentre os exemplos de compostos inorgânicos importantes no tratamento de doenças pode-se citar o nitroprussiato de sódio usado em crises hipertensivas²⁰, a auranofina utilizada como antirreumático e antiartrítico⁴⁵, o quimioterápico bleomicina⁴⁶ e um dos exemplos mais clássicos que é a cis-platina⁴⁷.

1.8. Complexos liberadores de NO

Conhecendo-se as propriedades do NO e a estabilidade dos complexos de rutênio muito se tem feito no intuito de modular novos nitrosilo complexos de rutênio para que possam posteriormente atuar como vasodilatadores, tratamento alternativo para o câncer, entre outros.

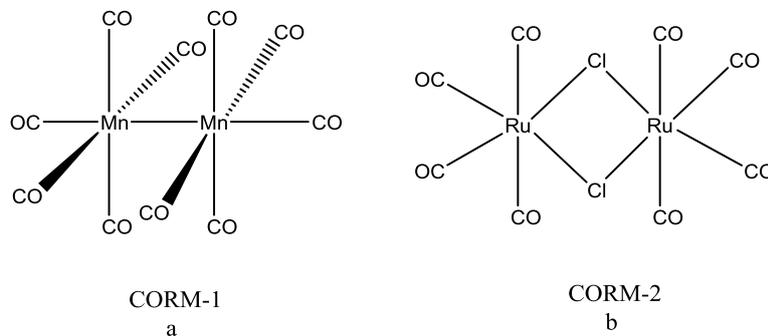
Entre os exemplos reportados na literatura pode-se citar: o complexo *trans*-[Ru(cyclam)(NO)Cl]²⁺ (cyclam = 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano) que leva à liberação de óxido nítrico lentamente, sugerindo que esse tipo de composto possa ser utilizado como um vasodilatador de longa duração⁴⁸. Estudos envolvendo o composto *trans*-[Ru(NH₃)₄P(OEt)₃(NO)]³⁺ com respeito à liberação de NO, mostraram que o mesmo apresenta baixa toxicidade, bem como seus prováveis metabólitos⁴⁹. Este ainda exibe uma capacidade vasodilatadora semelhante a do nitroprussiato de sódio, um vasodilatador de emergência já citado anteriormente. Compostos do tipo *cis*-[Ru(NO₂)L(bpy)₂]⁺, onde bpy=2,2'-bipiridina e L=piridina, 4-picolina e pirazina, foram avaliados quanto a fotoliberação de óxido nítrico. Quando estes compostos foram irradiados com luz em 355 nm exerceram ação vasodilatadora eficaz⁵⁰.

Embora boa parte dos nitrosilo complexos reportados na literatura tenham apresentado alguma ação farmacológica, a liberação do NO ocorre após irradiação com luz na região do ultravioleta, o que não seria interessante, visto que para ser utilizado biologicamente os compostos devem ser irradiados com luz na região do visível.

1.9. Compostos liberadores de CO (CORMs)

Após conhecer a ação exercida pelo CO no sistema cardiovascular e imunológico, Motterlini e colaboradores desenvolveram carbonilas de Mn (CORM-1) e Ru (CORM-2) (Figuras 7a e 7b, respectivamente) que apresentavam como característica principal a capacidade de liberar quantidades controladas de CO *in vivo* e, assim, promoveram ação vasodilatadora em animais^{51,52}. Entretanto, estes compostos apresentavam como inconveniente a baixa solubilidade em meio aquoso.

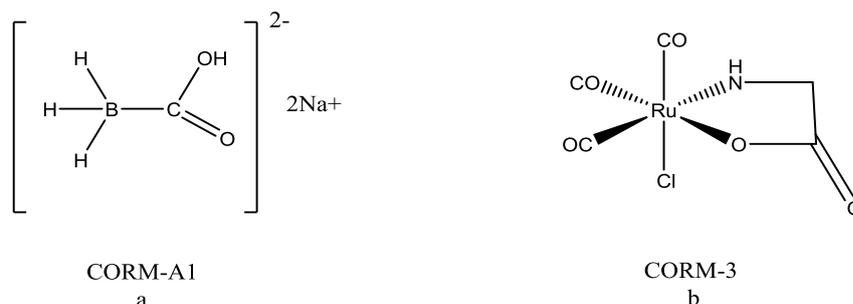
Figura 7- Estruturas dos compostos liberadores de CO, CORM-1 e CORM-2.



Fonte: Retirado da referência 52.

Após os primeiros trabalhos publicados sobre os compostos liberadores de CO, houve um maior interesse em desenvolver e estudar CORMs com maior solubilidade em água. Posteriormente, foram identificados os complexos CORM-A1 e CORM-3 (Figuras 8a e 8b, respectivamente), os quais apresentaram ação farmacológica como vasodilatador, inibidor da agregação plaquetária e ação anti-inflamatória, entre outras. Devido aos bons resultados estes complexos vêm tendo suas atividades biológicas estudadas amplamente^{53,54}.

Figura 8- Estruturas dos compostos liberadores de CO, CORM-A1 e CORM-3.



Fonte: Retirado da referência 52.

Estudos apontam ainda que o monóxido de carbono apresenta ação antimicrobiana⁵⁵. Chung e Colaboradores mostraram que em uma amostra de ratos com deficiência na enzima HO-1, o índice de letalidade por septicemia polimicrobiana era altíssimo. Entretanto, em outra amostra, a elevada expressão da enzima HO-1 aumentava o grau de sobrevivência das cobaias submetidas a septicemia induzida com *Enterococcus faecalis*⁵⁶. Com a descoberta das propriedades bactericidas ou bacteriostáticas do CO abre-se a porta a novos tratamentos e a novos antibióticos, capazes de combater a resistência que algumas bactérias desenvolveram em relação aos fármacos já existentes. Os compostos libertadores de CO poderão assim constituir uma nova geração de antibióticos com um modo de ação completamente distinto dos antibióticos atualmente utilizados. Devido estes resultados, muitos pesquisadores têm dirigido seus trabalhos para a síntese de novos CORMs, por estes compostos mostrarem propriedades químicas relevantes para a elaboração de novas drogas.

2 OBJETIVOS

Conhecendo-se a participação do monóxido de carbono e do óxido nítrico em diversos processos fisiológicos relevantes, justifica-se a importância dada pela comunidade científica ao desenvolvimento de compostos que possam atuar como doadores de NO ou CO em sistemas biológicos. Neste contexto, existe um especial interesse em compostos que apresentem baixa toxicidade para o organismo e possam liberar estas moléculas após indução por luz ou redutores biológicos.

Assim, este trabalho tem como objetivo geral a síntese e caracterização dos complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ e *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ (onde bpy = 2,2'-bipiridina e 4-bzpy = 4-benzoilpiridina), além do estudo da reatividade destes compostos, verificando-se a dissociação eletroquímica e fotoquímica de NO e CO.

3 PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Reagentes e soluções

Os reagentes e solventes utilizados para os procedimentos experimentais estão listados na Tabela 1, juntamente com as suas respectivas procedências.

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

Reagentes	Procedência
Ácido Trifluoroacético	Tedia
2,2'-bipiridina	Aldrich
Cloreto de lítio	Aldrich
Dimetilformamida (DMF)	Synth
Etanol	Vetec
Éter Dietílico	Vetec
Metanol	Merck
Tricloreto de rutênio hidratado	Aldrich
Nitrito de sódio	Merck
Hexafluorofosfato de amônio	Aldrich
4-benzoilpiridina	Acros Organics
Acetonitrila	Merck
L-cisteína	Aldrich

Fonte: elaborado pelo autor.

3.2. Aparelhos e Técnicas Experimentais

3.2.1. Espectroscopia de absorção na região do UV-vis

Os espectros eletrônicos nas regiões do ultravioleta e do visível foram obtidos em espectrofotômetro Hewlett-Packard, modelo 8453 Diode-Array. As amostras foram analisadas em solução utilizando cubeta de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm.

Os valores de absorvidade molares foram calculados pela lei de Lambert-Beer, através das medidas das absorbâncias das amostras em solução e em diversas concentrações, preparadas a partir de diferentes massas.

3.2.2. Voltametria cíclica

Os experimentos voltamétricos foram realizados utilizando-se um sistema eletroquímico potenciostato/galvanostato BAS EpsilonE2 818 à temperatura ambiente. Empregou-se para tanto uma cela convencional de três eletrodos: platina, carbono vítreo e prata/cloreto de prata como eletrodos auxiliar, de trabalho e de referência, respectivamente. As análises foram realizadas usando NaTFA 1,0 mol L⁻¹ com pH ajustado para 2,0 como eletrólito suporte. Nos experimentos em meio orgânico, utilizou-se como eletrólito suporte uma solução de perclorato de tetrabutylamônio (PTBA) 0,1 mol L⁻¹ em acetonitrila.

3.2.3. Espectroscopia de vibracional na região do Infravermelho

Os espectros foram obtidos na forma de dispersão em pastilha de KBr, utilizando-se um espectrofotômetro de infravermelho com Transformada de Fourier FTIR da ABB Bomem FTLA 2000-102, com uma janela espectral de 4000 a 400 cm⁻¹.

3.2.4. Difração de Raios-X

Os cristais dos complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ e *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)(NO₂)]PF₆ foram obtidos a partir de uma solução dos respectivos complexos em metanol/éter etílico 1,0 mol L⁻¹, a temperatura ambiente e na ausência de luz.

As análises estruturais dos compostos foram efetuadas no Laboratório de Cristalografia, do Departamento de Física de São Carlos. Os cristais foram montados em um

difratômetro Enraf-Nonius, modelo CAD4. Os parâmetros de cela foram obtidos e refinados usando-se 25 reflexões centradas automaticamente.

3.2.5. Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram obtidos em espectrômetro AVANCE DPX 500 Bruker, a 500 MHz. O solvente utilizado foi a acetona deuterada e os deslocamentos químicos foram determinados em relação ao tetrametilsilano (TMS).

3.2.6. Irradiação das soluções

Soluções contendo o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)(NO)](PF₆)₃, foram irradiadas utilizando um reator fotoquímico UNT 001 e fontes de luz com comprimentos de onda 350, 460 e 575 nm. Com o objetivo de evidenciar a liberação de óxido nítrico, os experimentos foram acompanhados por voltametria de pulso diferencial e espectroscopia vibracional na região do infravermelho. Determinações quantitativas foram realizadas por acompanhamento espectrofotométrico.

3.2.7. Ensaios de liberação de CO

A liberação de CO para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ foi avaliada por espectroscopia na região do UV-Vísivel em um espectrofotômetro Cary 500 UV-Vis-NIR da Varian, através da conversão de deoxihemoglobina (Mb) em carboxihemoglobina (MbCO)⁵⁷. Todas as soluções utilizadas no ensaio foram preparadas em meio anaeróbico (Coy Laboratory). As soluções foram deaeradas no interior da câmara por um período de 12 horas para garantir a remoção de oxigênio. As soluções estoques de mioglobina foram preparadas em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,4 e reduzidas com um excesso de 2 vezes de Na₂S₂O₄.

As soluções do complexo foram preparadas imediatamente antes do experimento em água e metanol previamente deaerados, atentando para não exceder o limite máximo de 5% do volume da solução final com metanol. O ensaio foi realizado em uma cubeta de quartzo com caminho ótico igual a 1,0 cm, usando-se o volume máximo (500 μL). Dentro da câmara preencheu-se a cubeta com uma solução 12 μM de Mb e 24 μM do composto em tampão fosfato 0,1 M e pH 7,4. Em seguida, a cubeta foi lacrada e retirada da câmara, os espectros eletrônicos foram coletados antes e entre os intervalos das irradiações.

3.2.8. Medidas Cinéticas

As medidas realizadas para identificação dos intermediários e estudo mecanístico foram realizadas em um Stopped-flow modelo SX20 (Photophysics). A cinética foi caracterizada através do acompanhamento em 372 e 450 nm, em tampão citrato/fosfato pH = 2,0 e T = 37°C.

3.2.9. Ensaios Farmacológicos de Vasodilatação

O ensaio farmacológico para o complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(4-bzpy)NO]}(\text{PF}_6)_3$ foi conduzido sob co-orientação do Prof. Dr. Nilberto Robson Falcão do Nascimento da Universidade Estadual do Ceará (UECE).

Como modelo experimental utilizou-se aorta torácica de ratos para registro da tensão isométrica. Depois de isolada, a aorta foi dividida em anéis de 4 mm de comprimento retirados da sua parte distal. Os anéis foram colocados em dois ganchos de metal inseridos no lúmen da artéria. Um dos ganchos foi conectado a um suporte fixo ajustável e o outro, a um transdutor de registro de força acoplado a um polígrafo, que medirá a tensão isométrica. O sistema foi montado em câmara (cuba), Figura 9, contendo 10 mL de solução fisiológica de Krebs modificada com a seguinte composição (em mmol L⁻¹): NaCl 130,0; KCl 4,7; KH₂PO₄ 1,2; CaCl₂ 1,6; MgSO₄ 1,2; NaHCO₃ 14,9; glicose 5,5; e EDTA 0,03 em pH= 7,4.

O sistema permaneceu em repouso para estabilização por 60 minutos. Em seguida, os anéis foram contraídos com fenilefrina 1 μM e após a resposta contrátil permanecer constante, adicionou-se a solução do complexo $\text{cis-[Ru(bpy)}_2\text{(4-bzpy)(NO)]}(\text{PF}_6)_3$ (1 nM a 1 μM), utilizando-se o nitroprussiato de sódio como controle.

Figura 9- Cuba utilizada para o estudo farmacológico com aortas de ratos.



Fonte: elaborado pelo autor.

3.3. Sínteses

3.3.1. Síntese do complexo $cis-[Ru(bpy)_2Cl_2]$

O complexo foi sintetizado de acordo com o método citado na literatura⁵⁸.

3.3.2. Síntese do complexo $cis-[Ru(bpy)_2(4-bzpy)Cl]PF_6$

150 mg (0,309 mmol) de $cis-[Ru(bpy)_2Cl_2]$ e 60 mg (0,327 mmol) de 4-benzoilpiridina foram dissolvidos em 20 mL de uma solução (1:1 etanol/água), deixando sob agitação e refluxo durante 3 horas. Após esse tempo, deixou-se a mistura reacional esfriar a temperatura ambiente. O precipitado foi obtido pela adição de uma solução aquosa concentrada de NH_4PF_6 . O sólido foi filtrado, lavado com água gelada e estocado sob vácuo. Rendimento: 87%.

3.3.3. Síntese do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂]PF₆

240 mg (0,309 mmol) de *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ e 25,57 mg de NaNO₂ (0,370 mmol) foram dissolvidos em 10 mL de uma solução (1:1 etanol/água), deixando sob agitação e refluxo durante 2 horas. Após esse período, deixou-se a mistura reacional esfriar a temperatura ambiente. O precipitado foi obtido pela adição de uma solução aquosa concentrada de NH₄PF₆. O sólido foi filtrado, lavado com água gelada e estocado sob vácuo. Rendimento: 79%.

3.3.4. Síntese do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃

150 mg (0,190 mmol) de *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂]PF₆ foram dissolvidos em 10 mL de metanol em um borbulhador sob atmosfera de argônio. A essa mistura foram adicionados 2,0 mL de solução aquosa de HTFA 4 mol L⁻¹, deixando reagir por 1 hora para promover a conversão NO₂⁻ a NO⁺ (Equação 3). Após esse tempo, o sólido foi obtido pela adição de uma solução concentrada de NH₄PF₆. O sólido foi filtrado e estocado sob vácuo ao abrigo da luz. Rendimento: 90%. Análise elementar para H₂₅P₃F₁₈C₃₂N₆O₂Ru: Experimental(calculado):C, 32.20 (36.21); H, 2.37 (2.18); N, 7.92 (7.55)%.



3.3.5. Síntese do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂

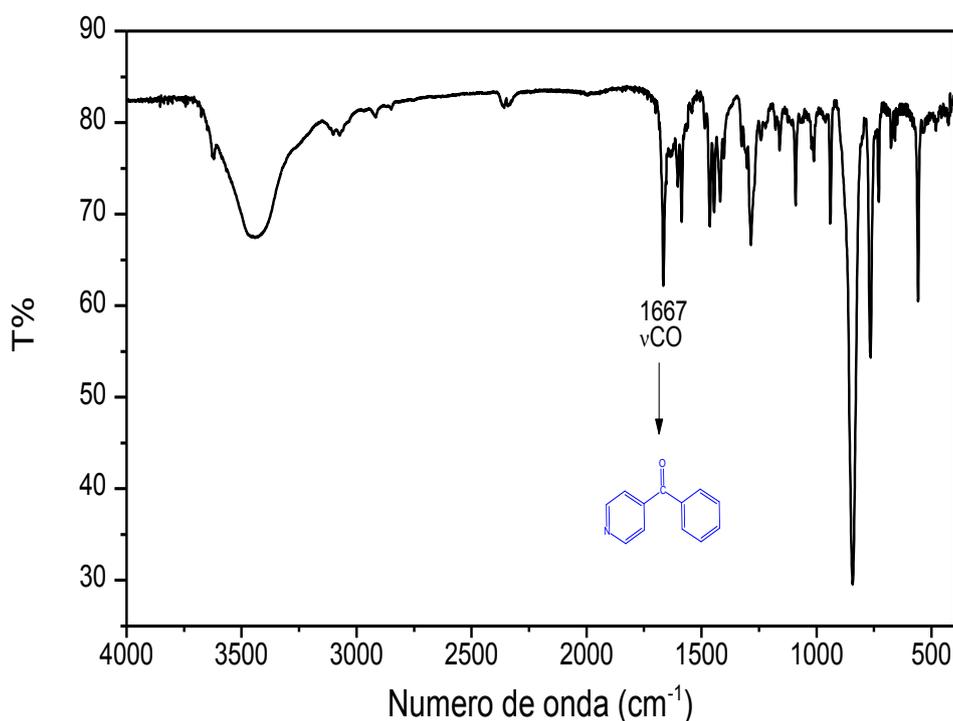
100 mg (0,14 mmol) do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ foram dissolvidos em 3,0 mL de dimetilformamida (DMF) em um SHLENK. A solução foi submetida a borbulhamento do gás CO, sob agitação e aquecimento (Temperatura=140°C) por 120 horas. Após esse período resfriou-se a solução e adicionou-se solução aquosa concentrada de NH₄PF₆. O precipitado foi filtrado, lavado com água gelada e estocado sob vácuo ao abrigo da luz. Rendimento: 93%.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Caracterização dos complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆

O espectro de absorção na região do infravermelho do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ (Figura 10) apresentou bandas características do ligante 4-bzpy. Entre as principais bandas, destacam-se os estiramentos C=O em 1667 cm⁻¹ referente ao grupo cetona e o estiramento assimétrico C_RC em 1280 cm⁻¹, onde C_R é o átomo de carbono do anel piridínico associado à carbonila^{59,60}. Também foram verificadas bandas características do ligante bipyridina em torno de 3117, 1446, 1468 e 763 cm⁻¹ atribuídas aos estiramentos C-H, C=N, C=C e deformação C-H, respectivamente. As demais atribuições encontram-se listadas na tabela 2.

Figura 10- Espectro vibracional na região do infravermelho para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ em pastilha de KBr.



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 2- Dados de infravermelho do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ em pastilha de KBr.

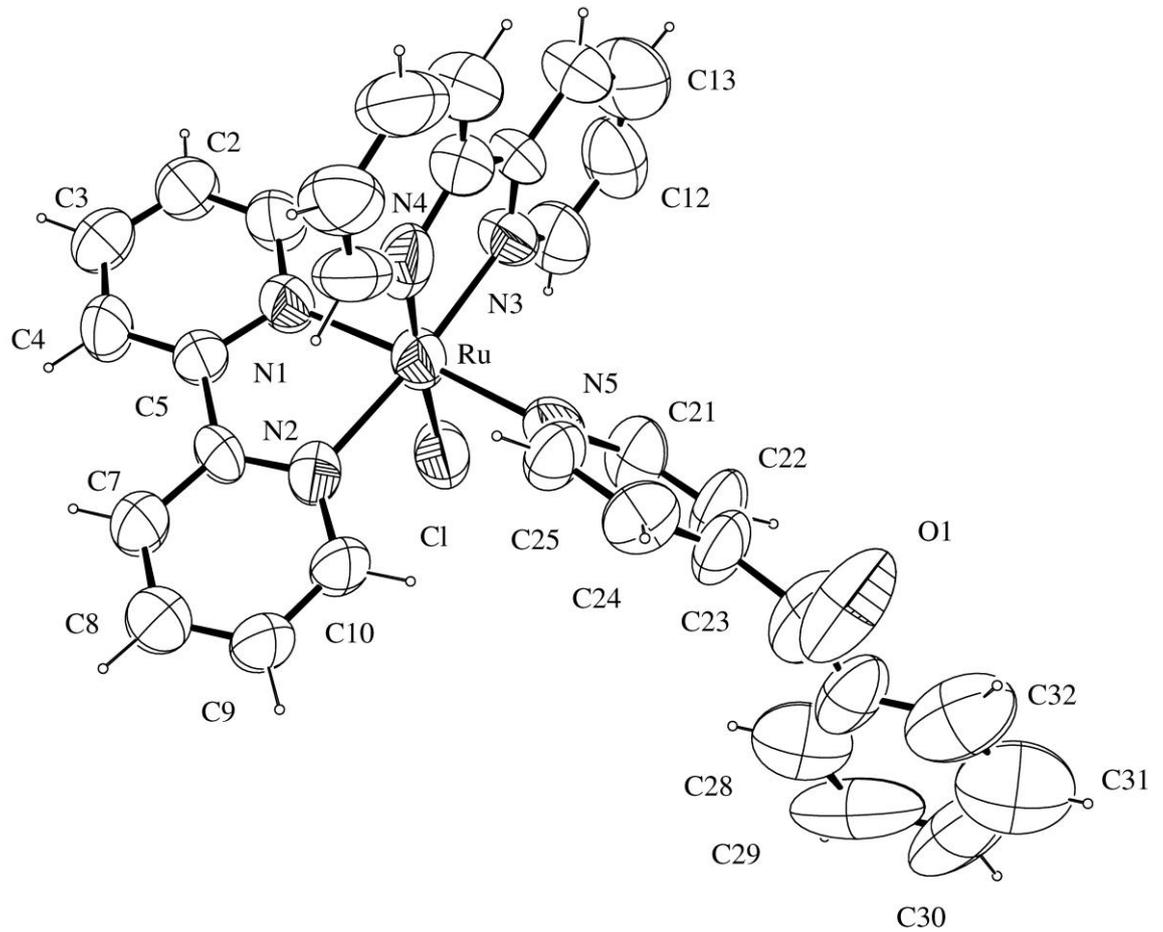
Complexo	Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)Cl]PF ₆	3117 (F)	ν(C-H)
	1667 (F)	ν(C=O)
	1468 (M)	ν(C=C)
	1446 (M)	ν(C=N)
	1279 (M)	ν _{assim} (C _R C)
	763 (F)	δ(C-H)
	843, 551 (F)	ν(P-F ₆ ⁻)

Fonte: elaborado pelo autor.

Outra técnica utilizada para a caracterização deste complexo foi a difração de raios X que se trata de uma técnica bastante importante para a determinação estrutural de compostos quando os cristais são crescidos adequadamente. Através dos dados cristalográficos é possível obter informações de como os ligantes estão coordenados ao centro metálico.

Os cristais do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ foram obtidos por meio da evaporação lenta de uma solução de metanol/éter, à temperatura ambiente. A troca de um ligante cloro presente no complexo precursor *cis*-[Ru(bpy)₂Cl₂] pelo ligante 4-bzpy foi confirmada através da análise de um monocristal por difração de raios X. A representação ORTEP, juntamente com a numeração dos átomos são mostradas na Figura 11. Os parâmetros cristalográficos de refinamento das estruturas e os principais comprimentos das ligações e os ângulos encontram-se listados nas Tabelas 3 e 4 respectivamente.

Figura 11- Representação ORTEP do íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]⁺.



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 3- Dados cristalográficos, parâmetros de raios-x e resultados de refinamento do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆.

Fórmula empírica	(C ₃₂ H ₂₅ N ₅ OCIRu) ⁺ .PF ₆ ⁻
Massa molar	777.06
Temperatura	293(2) K
Comprimento	0.71070 Å
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P2 ₁ /c
Unidades e dimensões da célula unitária	$a = 11.42(4) \text{ \AA}$ $b = 21.24(6) \text{ \AA}$ $c = 15.31(6) \text{ \AA}$ $\beta = 99.8(2)^\circ$
Volume	3660(23) Å ³
Célula unitária, Z	4
Densidade (calculada)	1.410 mg/m ³
Coefficiente de absorção	0.607 mm ⁻¹
F(000)	1560
Dimensões do cristal	0.3 x 0.2 x 0.1 mm ³
Limite de θ para col. de dados	2.345 to 25.802°
Razão de h, k, l	-11 ≤ h ≤ 13, -24 ≤ k ≤ 25, -15 ≤ l ≤ 17
Reflexões coletadas	23911
Reflexões independentes	5819 [R(int) = 0.0973]
Completeness to theta = 25.242°	87.6 %
Correlação de absorção	Semi-empírico de equivalentes
Máx. e mín. de transmissão	0.892 e 0.801
Método de refinamento	Full-matrix least-squares on F ²
Computação	COLLECT ² , HKL Denzo and Scalepack ³ SHELXS ⁴ , SHELXL ⁴

Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 4- Comprimentos das ligações [Å] e ângulos [°] para a estrutura de raio-x do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆.

Comprimento de ligação [Å]		Ângulo de ligação [°]	
Ru-N(4)	1.965(14)	N(4)-Ru-N(1)	91.2(3)
Ru-N(1)	2.052(9)	N(1)-Ru-N(3)	95.0(4)
Ru-N(2)	2.064(9)	N(2)-Ru-N(3)	174.4(4)
Ru-N(3)	2.074(10)	N(2)-Ru-N(5)	96.0(5)
Ru-N(5)	2.125(9)	N(1)-Ru-N(5)	176.0(3)

Ru-Cl	2.408(10)	N(4)-Ru-Cl	173.7(4)
N(1)-C(1)	1.351(10)	N(2)-Ru-Cl	86.3(3)
N(1)-C(5)	1.355(11)	N(5)-Ru-Cl	91.1(3)
N(2)-C(6)	1.327(11)	C(1)-N(1)-C(5)	116.6(8)
N(2)-C(10)	1.354(10)	C(1)-N(1)-Ru	128.3(8)
O(1)-C(26)	1.313(16)	C(25)-N(5)-Ru	118.9(9)
C(22)-C(23)	1.326(13)	O(1)-C(26)-C(27)	122.5(17)
C(23)-C(24)	1.386(13)	O(1)-C(26)-C(23)	116.8(15)
C(24)-C(25)	1.396(12)	C(27)-C(26)-C(23)	120.5(16)
C(26)-C(27)	1.384(16)	C(26)-C(27)-C(28)	129.1(17)

Fonte: elaborado pelo autor.

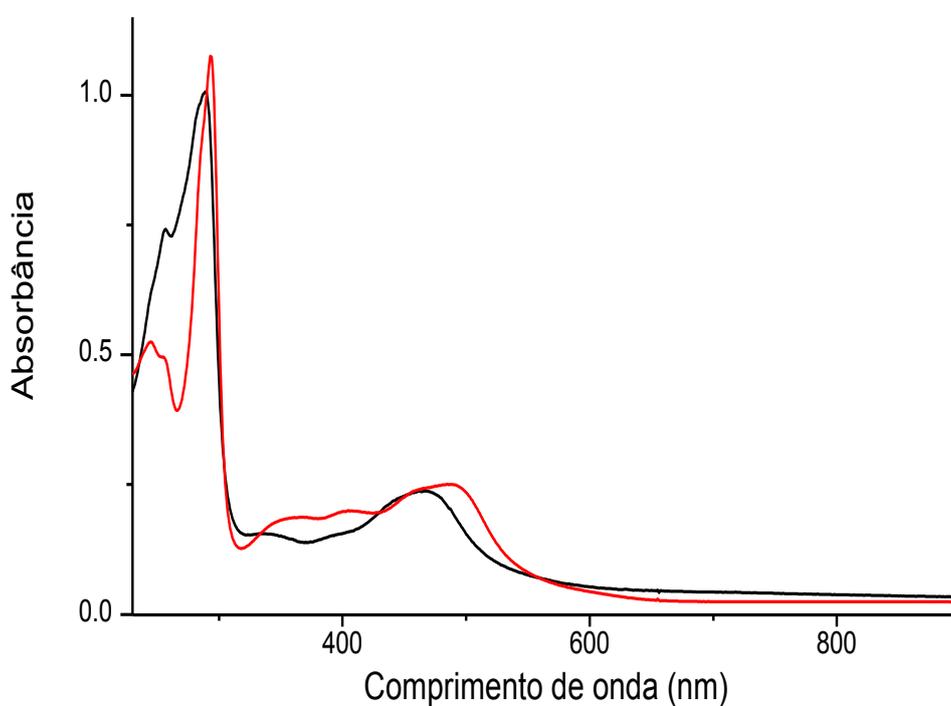
O complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ cristalizou no grupo espacial P2₁/c monoclinico, com os átomos coordenados ao centro metálico distribuídos em uma geometria octaédrica distorcida. Este desvio de geometria pode ser constatado verificando os ângulos de ligação N(4)-Ru-N(1), N(2)-Ru-N(3), N(2)-Ru-Cl com os valores de ângulos de 91,2(3)°, 174,4(4)° e 86,3(3)°, respectivamente. As distâncias das ligações Ru-N(1), Ru-N(2), Ru-N(3) e Ru-N(4) encontram-se dentro da faixa de valores observados para complexos contendo ligantes bipyridínicos coordenados ao átomo de rutênio^{61,62}. A presença do contra íon PF₆⁻ (omitido na Figura 11, mas mostrado na Tabela 3), dá o correto balanço de cargas para a estrutura, indicando a presença do centro metálico no estado de oxidação II.

Os espectros eletrônicos na região do UV-visível para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ obtidos em meio aquoso e em acetonitrila são apresentados na Figura 12. A partir da análise dos mesmos, observa-se a presença de bandas em 246 e 288 nm atribuídas às transições $\pi^* \leftarrow \pi$ do ligante bipyridina⁶³, sendo observadas também no espectro da bipyridina livre, o que reforça a atribuição.

As bandas em 351 e 483 nm podem ser atribuídas à transições de transferência de carga do metal para o ligante (TCML) do tipo $\pi^*(\text{bpy}) \leftarrow d\pi(\text{Ru})$ ⁶⁴ e em 404 nm ocorre a transição do tipo TCML atribuída à $\pi^*(4\text{-bzpy}) \leftarrow d\pi(\text{Ru})$ ⁶⁵. Tais atribuições foram feitas comparando o espectro da espécie citada com outras similares citadas na literatura, bem como

através da observação do deslocamento da energia dessas bandas com a variação do solvente, uma vez que é conhecido da literatura que bandas de transferência de carga experimentam variação de energia com a variação do momento de dipolo do solvente utilizado. Além disso, apresentam elevados valores de absorvidade molar (ϵ) quando comparadas às transições 'd-d'⁶⁶. A Tabela 5 lista os valores de ϵ para as bandas do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆.

Figura 12- Espectros eletrônicos do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ $1,9 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em água (—) e $1,12 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ acetonitrila (—).



Fonte: elaborado pelo autor.

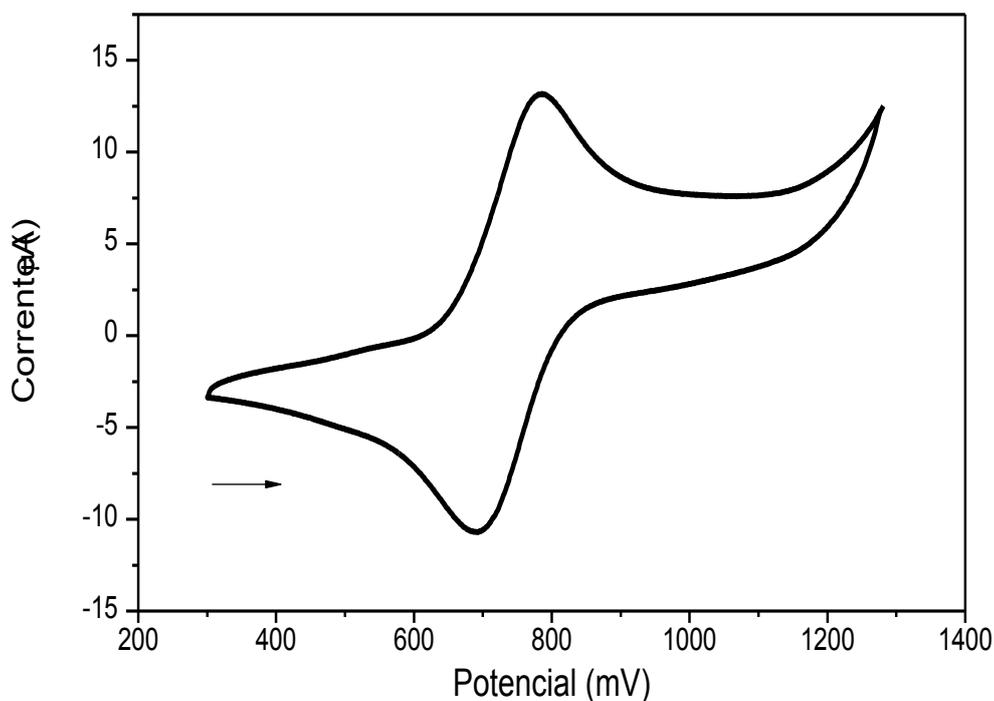
Tabela 5- Dados de UV-Visível para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ em acetonitrila.

Complexo	λ (nm)	(ϵ , mol ⁻¹ L cm ⁻¹)	Atribuição
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)Cl]PF ₆	256	2,21 x 10 ⁴	IL (π^* (bpy) \leftarrow π)
	293	3,13 x 10 ⁴	IL (π^* (bpy) \leftarrow π)
	351	7,02 x 10 ³	TCML (π^* (bpy) \leftarrow d π Ru ^{II})
	404	7,77 x 10 ³	TCML (π^* (4-bzpy) \leftarrow d π Ru ^{II})
	483	9,88 x 10 ³	TCML (π^* (bpy) \leftarrow d π Ru ^{II})

Fonte: elaborado pelo autor.

O voltamograma cíclico para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ é apresentado na Figura 13, onde se observa um único processo com $E_{1/2} = 736$ mV vs Ag/AgCl, referente ao par redox Ru^{III/II} no complexo. Com base nesse resultado, observa-se que a coordenação do ligante 4-bzpy conferiu uma maior estabilidade ao centro metálico na forma reduzida, pois o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ apresentou um potencial de meia onda mais positivo quando comparado ao complexo precursor *cis*-[Ru(bpy)₂Cl₂], que tem potencial de meia onda de 590 mV⁶⁷, sob as mesmas condições experimentais. Isto ocorre devido à capacidade π -aceptora do ligante 4-bzpy, que ocasiona uma diminuição na densidade eletrônica sobre o centro metálico de Ru^{II}, dificultando o processo de oxidação.

Figura 13- Voltamograma cíclico para o complexo cis -[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ $5,2 \times 10^{-3}$ mol⁻¹L em NaTFA 0,1 mol L⁻¹ pH= 7,00.

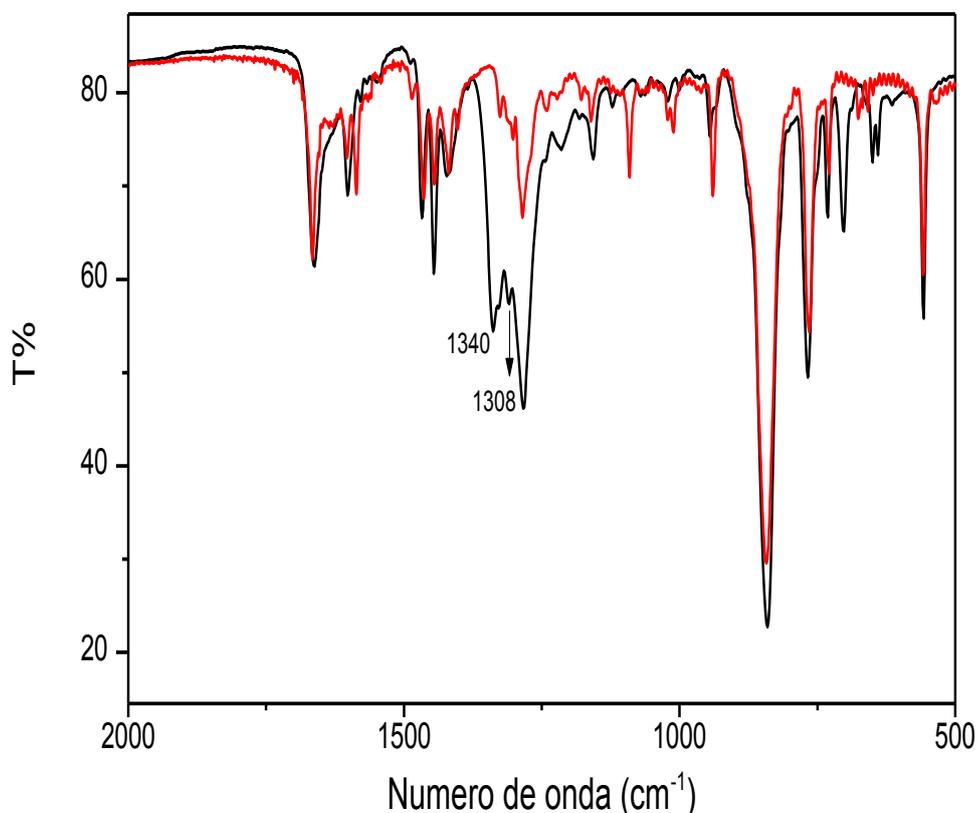


Fonte: elaborado pelo autor.

4.2. Caracterização dos complexos cis -[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂]PF₆

No espectro de absorção na região do infravermelho do complexo cis -[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂]PF₆ (Figura 14, linha preta) pode-se observar duas bandas em 1308 e 1340 cm⁻¹ referentes aos estiramentos simétrico e assimétrico do grupo NO₂⁻. Essas bandas não estão presentes no espectro IV do complexo cis -[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ (Figura 14, linha vermelha), o que indica a coordenação do ligante NO₂⁻ ao centro metálico. De acordo com Nakamoto⁶⁸ quando se obtém uma diferença entre os dois modos vibracionais abaixo de 100 cm⁻¹, a coordenação deste ligante é feita através do átomo de nitrogênio. Se a diferença for maior que 300 cm⁻¹, a coordenação do nitrito é feita através do oxigênio. Analisando-se os dados obtidos, verifica-se que o ligante nitrito está coordenado ao centro metálico via átomo de nitrogênio. As demais atribuições encontram-se listadas na Tabela 6.

Figura 14- Espectro vibracional na região do infravermelho para os complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ (—) e *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂]PF₆ (—) em pastilha de KBr.



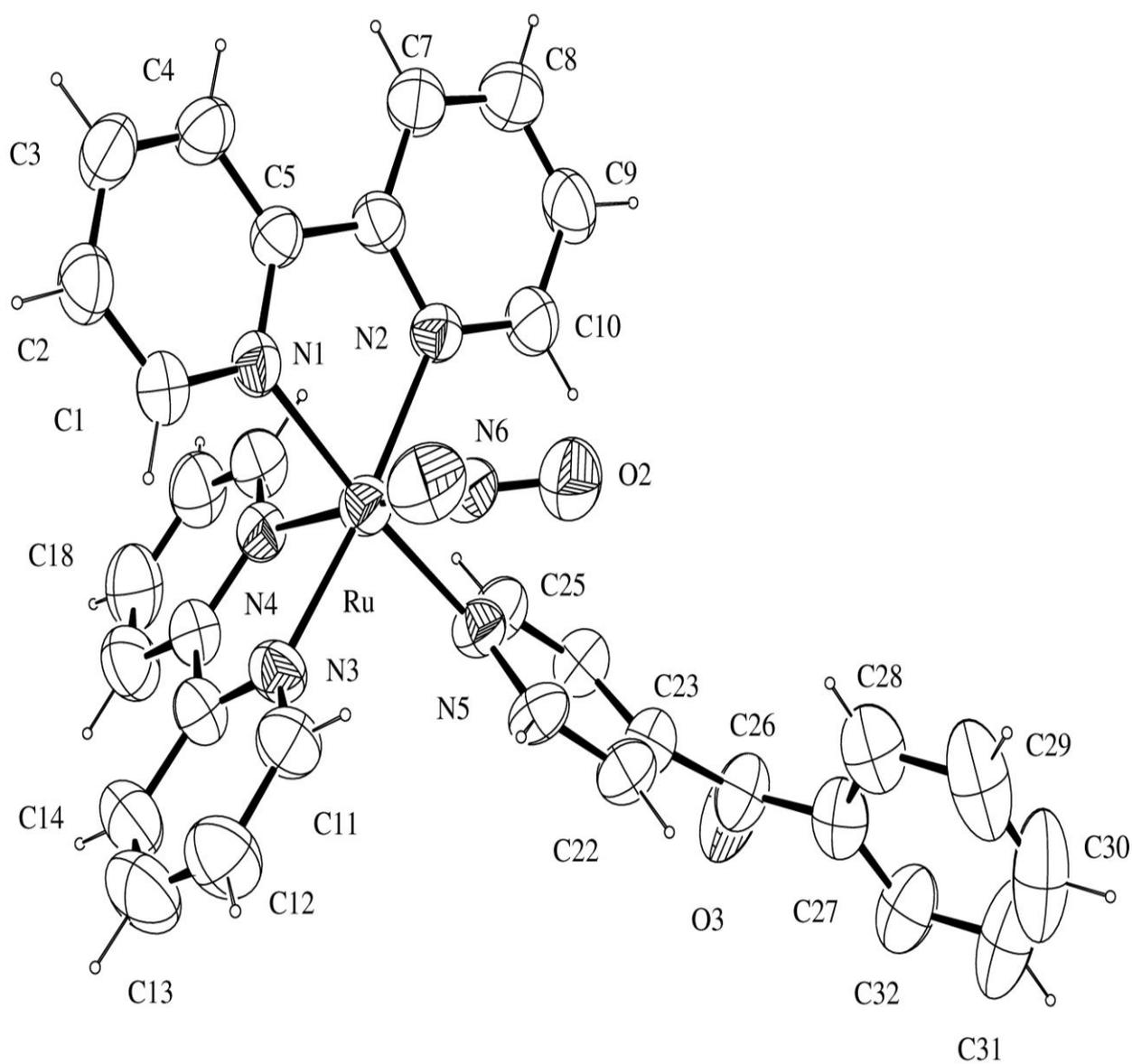
Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 6- Dados de infravermelho do complexo e *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂]PF₆ em pastilha de KBr.

Complexo	Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO ₂]PF ₆	3120 (F)	$\nu(\text{C-H})$
	1662 (F)	$\nu(\text{C=O})$
	1465 (M)	$\nu(\text{C=C})$
	1449 (M)	$\nu(\text{C=N})$
	1340 (F)	$\nu_{\text{assim}}(\text{N-O}_2^-)$
	1308 (F)	$\nu_{\text{sim}}(\text{N-O}_2^-)$
	1283 (M)	$\nu_{\text{assim}}(\text{C}_R\text{C})$
	765 (F)	$\delta(\text{C-H})$
842, 559 (F)	$\nu(\text{P-F}_6^-)$	

A presença do ligante nitrito no complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂]PF₆ como descrito anteriormente através da análise do espectro IV foi confirmada pela realização de estudos cristalográficos. Monocristais do complexo foram obtidos por meio da evaporação lenta de uma solução de metanol/éter, à temperatura ambiente. A Figura 15 mostra a estrutura do composto. Os dados cristalográficos e principais dados de comprimento e ângulo de ligação encontram-se nas Tabelas 7 e 8 respectivamente.

Figura 15- Representação ORTEP do íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂]⁺.



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 7- Dados cristalográficos, parâmetros de raios-x e resultados de refinamento do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂]₂PF₆.

Fórmula empírica	(C ₃₂ H ₂₅ N ₆ O ₃ Ru) ⁺ PF ₆ ⁻
Massa molar	810.65
Temperatura	293(2) K
Comprimento	0.71073 Å
Sistema cristalino	Monoclínico
Grupo espacial	P 21/c
Unidade e dimensões da célula unitária	$a = 11.4456(4) \text{ \AA}$ $b = 21.4796(11) \text{ \AA}$ $c = 15.6031(8) \text{ \AA}$ $\beta = 102.702(2)^\circ$
Volume	3742.1(3) Å ³
Célula unitária, Z	4
Densidade (calculada)	1.439 mg/m ³
Coefficiente de absorção	0.533 mm ⁻¹
F(000)	1636
Dimensões do cristal	0.38 x 0.1 x 0.08 mm ³
Limites θ para col. de dados	3.040 to 26.039°
Razão de h, k, l	-14 ≤ h ≤ 14, -26 ≤ k ≤ 24, -18 ≤ l ≤ 19
Reflexões coletadas	39409
Reflexões independentes	7231 [R(int) = 0.0774]
Máx. e mín. transmissão	0.966 e 0.929
Método de refinamento	Full-matrix least-squares on F ²
Computação	COLLECT ² , HKL Denzo and Scalepack ³ SHELXS ⁴ , SHELXL ⁴

Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 8- Comprimentos das ligações [Å] e ângulos [°] para a estrutura de raio x do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂]₂PF₆.

Comprimento de ligação [Å]		Ângulo de ligação [°]	
Ru-N(3)	2.061(4)	N(3)-Ru-N(1)	96.39(19)
Ru-N(1)	2.061(4)	N(3)-Ru-N(6)	96.0(2)
Ru-N(6)	2.075(6)	N(1)-Ru-N(6)	91.14(19)
Ru-N(2)	2.077(4)	N(3)-Ru-N(2)	174.20(19)
Ru-N(4)	2.091(5)	N(1)-Ru-N(4)	88.59(17)
Ru-N(5)	2.099(4)	N(6)-Ru-N(4)	175.0(2)
N(1)-C(5)	1.353(6)	N(2)-Ru-N(4)	98.09(18)
N(6)-O(2)	1.210(6)	O(2)-N(6)-O(1)	121.6(6)

N(6)-O(1)	1.212(6)	O(2)-N(6)-Ru	118.9(4)
O(3)-C(26)	1.227(7)	O(1)-N(6)-Ru	119.3(5)
N(1)-C(5)	1.353(6)	C(6)-N(2)-Ru	114.7(4)
N(2)-C(10)	1.341(7)	C(11)-N(3)-C(15)	117.7(5)
N(2)-C(6)	1.353(6)	C(27)-C(26)-C(23)	120.1(6)
N(3)-C(11)	1.317(7)	C(24)-C(25)-N(5)	122.9(5)
C(26)-C(27)	1.440(9)	C(1)-N(1)-C(5)	118.8(5)
C(27)-C(32)	1.398(9)	C(1)-N(1)-Ru	125.4(4)

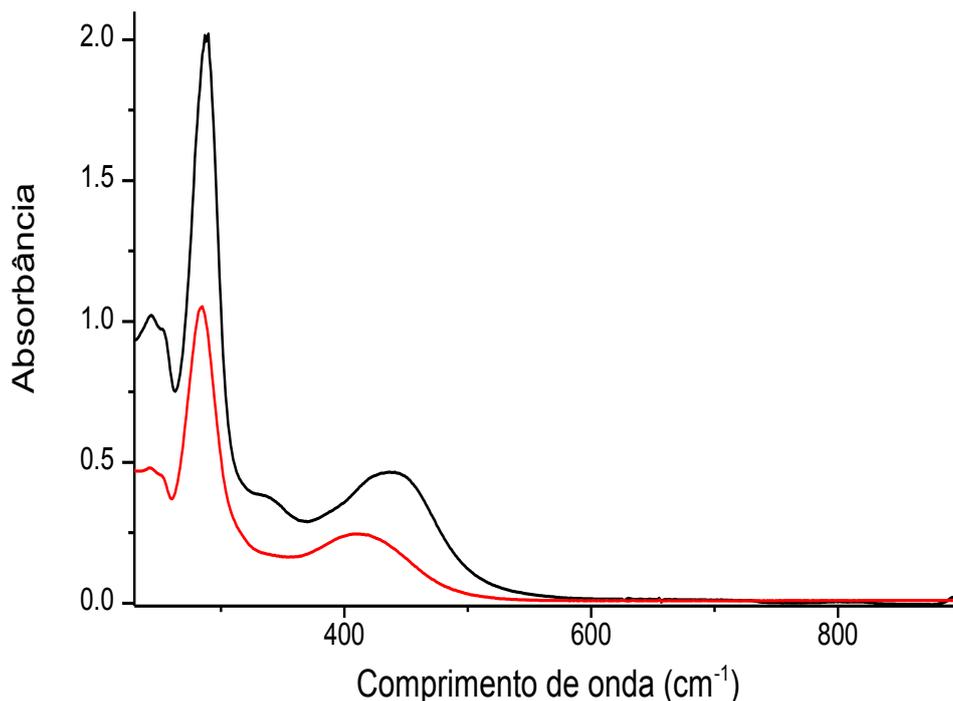
Fonte: elaborado pelo autor.

A análise do monocristal por difração de raios X, confirma a geometria na posição *cis* do grupo NO₂⁻ em relação ao ligante 4-bzpy sugerido pela rota sintética, bem como a coordenação do nitrito através do átomo de nitrogênio como foi indicado pelo espectro de absorção na região do infravermelho. Neste complexo o ângulo O(2)-N(6)-O(1) observado foi de 121.6 (6)°, concordando com a escala de ângulos apresentada por complexos do tipo M-NO₂ que varia de 113 a 127°⁶⁹. O comprimento da ligação Ru-N(6)NO₂ no complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂]⁺ é semelhante ao da mesma ligação apresentada no complexo [(*p*-cym)Ru(bpy)NO₂]PF₆, cujo valor é igual a 2.075 Å⁶⁹. Estas distâncias seriam cerca de 0.329 Å maior que a distância interatômica de Ru-NO⁺ no complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(SO₃)(NO⁺)]⁺, o que reflete uma melhor extensão da retrodoação do Ru(II)→NO⁺ quando comparada à Ru→NO₂⁻. Ainda de acordo com os dados coletados, o comprimento das ligações Ru-N(bpy), não apresentou variação significativa, encontrando-se dentro da faixa de 2.061 (Ru-N(3)) - 2.091 Å (Ru-N(4)). Esses resultados estão de acordo com os apresentados para complexos similares⁷⁰.

A Figura 16 ilustra os espectros do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂](PF₆)₂ obtidos em meio aquoso e em acetonitrila. No espectro obtido em meio aquoso observa-se uma banda em torno de 413 nm ($\epsilon = 8,2 \times 10^3 \text{ mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). De acordo com Meyer e colaboradores⁶³, bandas observadas em complexos do tipo bis-(2,2'-bipiridina) de Ru(II) na região de 413 nm podem ser atribuídas às transições de transferência de carga do metal para o ligante do tipo $\pi^*(\text{bpy}) \leftarrow d\pi(\text{Ru})$. Quando o espectro é obtido em meio de acetonitrila, tal banda apresenta um deslocamento para região de menor

energia, evidenciando também uma outra banda ($\lambda=330$ nm) que estava encoberta pela transição intraligante da bipyridina $\pi^* \leftarrow \pi$.

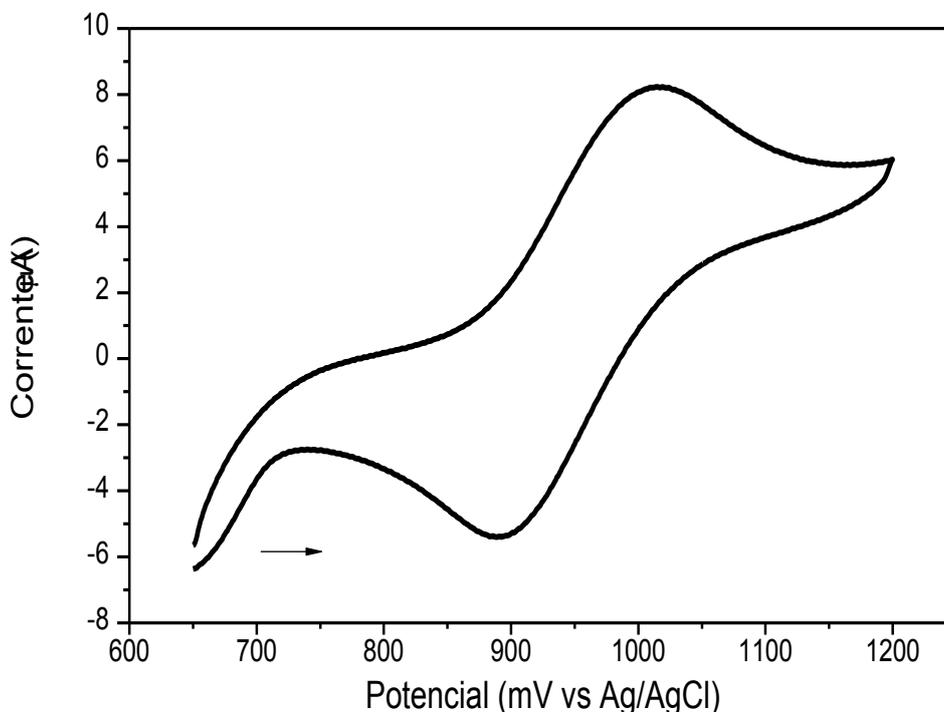
Figura 16- Espectros eletrônicos do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂]PF₆ 2,5x10⁻⁵ mol L⁻¹ em água (—) e 1,3x10⁻⁵ mol L⁻¹ acetonitrila (—).



Fonte: elaborado pelo autor.

O complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂]PF₆ apresentou um processo reversível com $E_{1/2}=955$ mV vs Ag/AgCl (Figura 17), referente ao par redox Ru^{III/II} no complexo. O mesmo apresentou um potencial de meia onda mais positivo quando comparado ao complexo precursor *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆, cujo valor apresentado foi de 736 mV. O efeito retirador de elétrons que o ligante nitrito proporciona ao centro metálico, faz com que o potencial de meia onda do complexo torne-se mais positivo devido à dificuldade no seu processo de oxidação. Esta observação é concordante com os dados obtidos utilizando espectroscopia eletrônica (UV-vis), onde o ligante NO₂⁻ ocasionou um maior desdobramento nos orbitais $d\pi$ do rutênio, provocando um aumento na energia das transferências de carga dos orbitais $d\pi$ do rutênio para os orbitais π^* da bipyridina.

Figura 17- Voltamograma cíclico para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂]₃PF₆ 3,5x10⁻² mol L⁻¹ em NaTFA 0,1 mol L⁻¹ pH= 7,00.

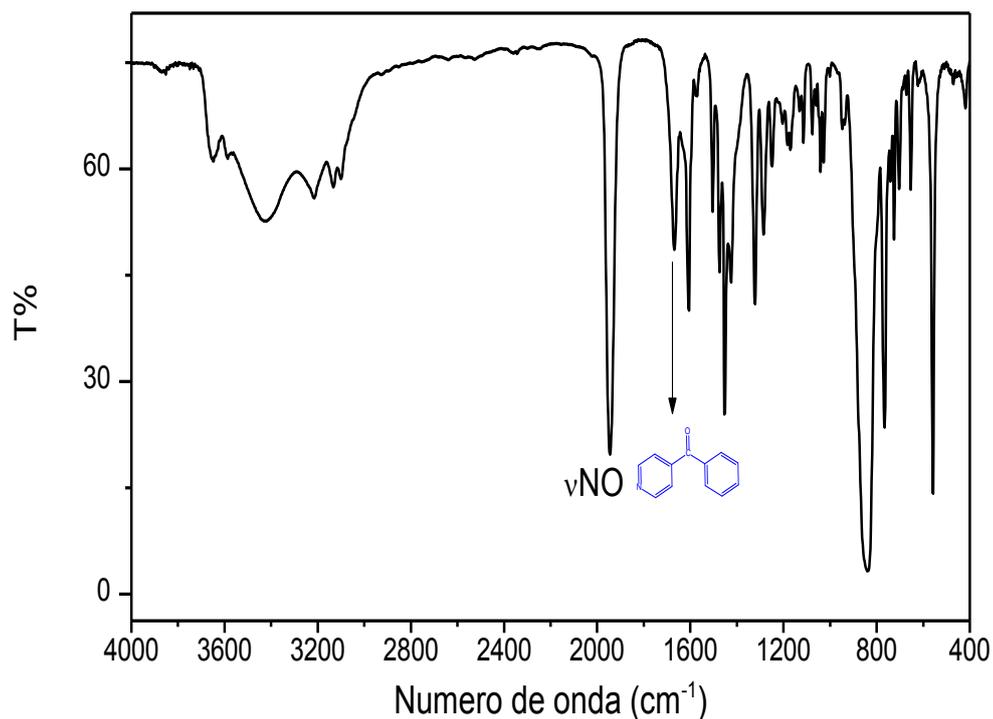


Fonte: elaborado pelo autor.

4.3. Caracterização do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃

O espectro de absorção na região do infravermelho obtido para o composto *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ é mostrado na Figura 18, sendo a atribuição de suas principais bandas resumidas na Tabela 9. É possível observar bandas referentes aos ligantes bipyridina (3117, 1446, 1468 e 763 cm⁻¹), 4-benzoilpiridina (1667 e 1280 cm⁻¹) e uma banda intensa em 1942 cm⁻¹, indicando que o complexo contém o fragmento [Ru-NO⁺], já que a $\nu_{N=O}$ pode ser utilizado para distinguir entre as formas linear (NO⁺, $\nu_{NO} > 1800$ cm⁻¹) e angular (NO⁻, $\nu_{NO} < 1600$ cm⁻¹)¹⁹.

Figura 18- Espectro de absorção na região do infravermelho para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ em pastilha de KBr.



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 9- Atribuição das bandas observadas no espectro de absorção na região do infravermelho para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ em pastilha de KBr.

Complexo	Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO](PF ₆) ₃	3120 (F)	ν(C-H)
	1668 (F)	ν(C=O)
	1474 (M)	ν(C=C)
	1452 (M)	ν(C=N)
	1942 (F)	ν(NO ⁺)
	1284 (M)	ν _{assim} C _R C
	769 (F)	δ(C-H)
	840, 557 (F)	ν(P-F ₆ ⁻)

Fonte: elaborado pelo autor.

Complexos do tipo *cis*-[Ru(bpy)₂LNO] mostram uma dependência da νNO^+ com a natureza do ligante auxiliar L. Ligantes que atuam doando densidade eletrônica ao centro metálico fortalecem a ligação do Ru(II) com o átomo de nitrogênio do NO^+ (formação de uma retrodoação mais forte), o que, por outro lado, enfraquece a ligação entre o nitrogênio e oxigênio do NO^+ , formando nitrosilo complexos com menores frequências de estiramento referente ao NO^+ . Por motivos contrários, ligantes que atuam retirando densidade eletrônica do metal formam nitrosilo complexos com maiores frequências de estiramento referentes ao NO^+ . Comparando o ligante do composto em estudo com outros utilizados em sistemas similares citados na literatura^{24,71}, verificou-se a seguinte ordem decrescente do caráter π receptor:

Isonicotinamida > imidazol > 4-Benzoilpiridina > tiouréia > sulfito.

É possível observar que a νNO^+ do complexo com L=4-Benzoilpiridina encontra-se próximo daqueles observados para complexos que possuem ligantes auxiliares π receptores: imidazol e isonicotinamida. Enquanto que complexos com L= tiouréia ou sulfito apresentam νNO^+ em regiões de menor energia, já que tais ligantes são σ -doadores. Os valores das νNO^+ são mostrados na Tabela 10 para eventuais comparações.

Tabela 10- Influência dos ligantes auxiliares L no estiramento da ligação NO em complexos do tipo [Ru(bpy)₂L(NO)] onde L: 4-benzoilpiridina (4-bzpy), imidazol (imN), isonicotinamida (isn), tiouréia (TU) e sulfito (SO₃²⁻).

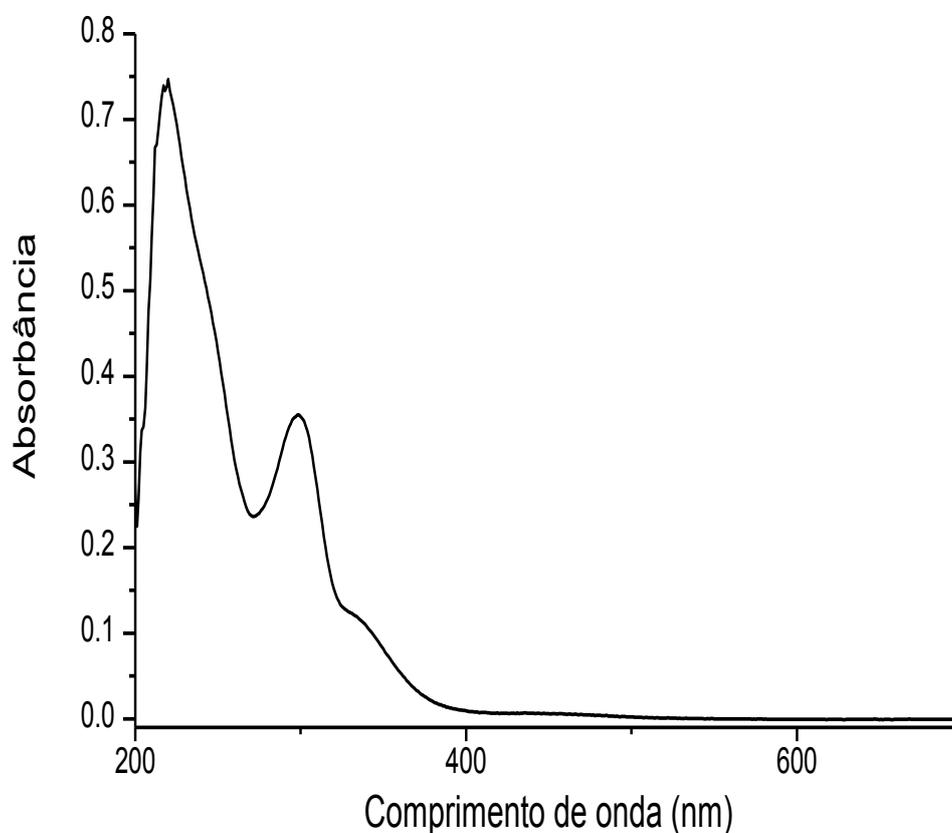
Complexo	νNO^+ (cm ⁻¹)
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (isn)NO] ³⁺	1948
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (imN)NO] ³⁺	1944
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (4-bzpy)NO] ³⁺	1942
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (TU)NO] ³⁺	1931
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)NO] ⁺	1911
<i>trans</i> -[Ru(bpy) ₂ (SO ₃)NO] ⁺	1882

Fonte: elaborado pelo autor.

O espectro eletrônico do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ encontra-se ilustrado na Figura 19, onde se pode observar uma intensa banda em 299 nm, atribuída a uma transição interna do ligante bipyridina do tipo $\pi^* \leftarrow \pi$ que geralmente aparece nesta região para complexos do tipo bis-(2,2 bipyridina)rutênio(II), e uma outra banda em torno de 337 nm, atribuída a uma transição de transferência de carga metal-ligante (TCML) do tipo $\pi^*(bpy) \leftarrow d\pi(Ru)$. Transições semelhantes podem ser encontradas em complexos relacionados citados na literatura⁷².

Observa-se que o nitrosilo complexo apresentou um deslocamento das absorções, referentes às transições de transferências de carga metal-ligante do tipo $\pi^*(bpy) \leftarrow d\pi(Ru)$, para região de maior energia em relação ao nitrito complexo. Isto ocorre porque a forte interação da retrodoação do ligante NO⁺ provoca um maior desdobramento dos orbitais $d\pi$ do rutênio. Com isso, há um aumento de energia dessas transições de transferência de carga para a bipyridina e, conseqüentemente, uma diminuição no comprimento de onda.

Figura 19- Espectro eletrônico do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ 3,25x10⁻⁵ mol L⁻¹ em NaTFA 0,1 mol L⁻¹ pH= 2,00.

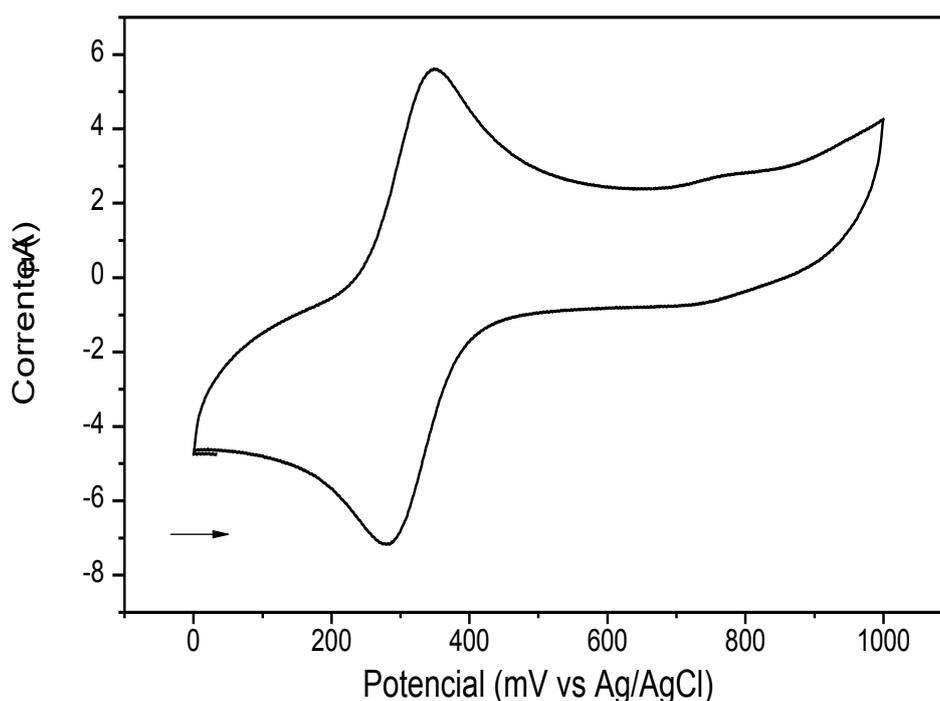


Fonte: elaborado pelo autor.

O voltamograma cíclico para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ é apresentado na Figura 20, onde observa-se a existência de um processo, com $E_{1/2}=+ 342$ mV referente ao par redox Ru-NO⁺/Ru-NO⁰. O processo referente à oxidação do centro metálico para este complexo não é observado nesta faixa de potencial devido a grande estabilização que o ligante NO⁺ proporciona ao centro metálico no estado de oxidação 2⁺.

Complexos com o ligante nitrosilo (NO⁺) são casos extremos de potencial do par redox Ru^{III/II}, pois os mesmos são observados em valores maiores que 2,0 V vs SCE, e as transições do tipo $\pi^*(bpy) \leftarrow d\pi(\text{Ru})$ aparecem na região do ultravioleta⁷⁴.

Figura 20- Voltamograma cíclico para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ 1,3x10⁻³ mol L⁻¹ em NaTFA 0,1 mol L⁻¹ pH= 2,00.

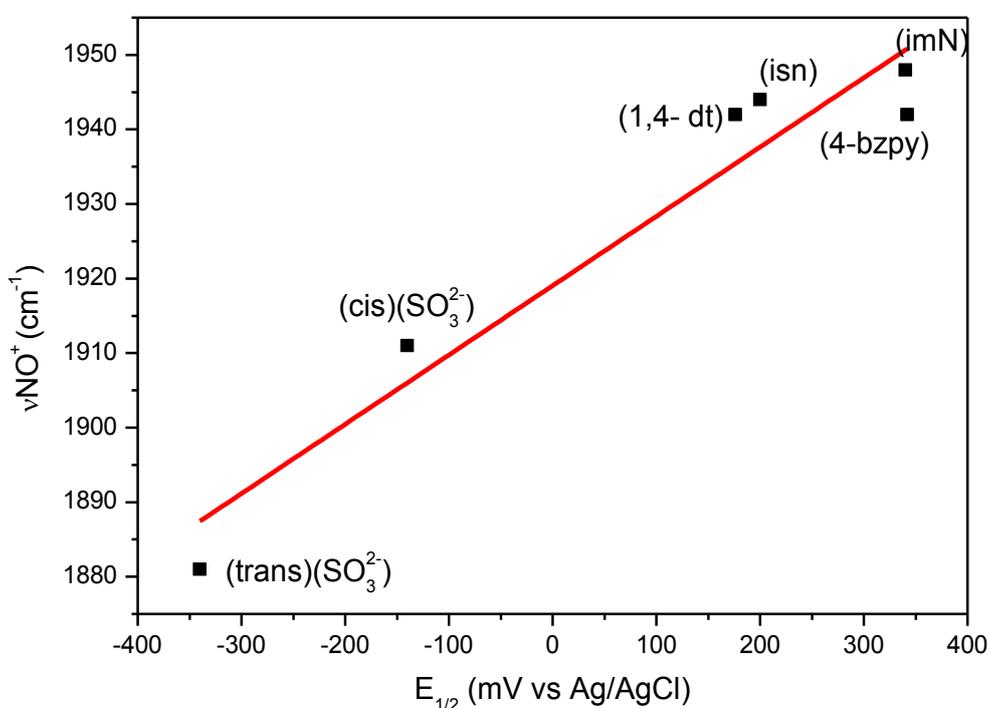


Fonte: elaborado pelo autor.

O gráfico apresentado na Figura 21 mostra uma relação entre $v(\text{NO}^+)$ e $E_{1/2}$ para o complexo sintetizado neste trabalho e complexos similares reportados na literatura^{24,74}. Uma vez que o sítio de redução nestes complexos está localizado no grupo nitrosilo, espera-se que haja uma relação direta entre esses dois parâmetros, já que ambos são dependentes da densidade eletrônica do grupo nitrosilo⁷⁵. No gráfico, observa-se uma correlação linear entre esses dois parâmetros para a série de complexos e para o complexo em estudo, onde este

encontra-se em conformidade com os demais, no que diz respeito ao caráter e posição do ligante auxiliar. Isto ocorre porque a força oxidante do NO^+ coordenado está relacionado com a extensão da interação $\pi^*(\text{NO}) \leftarrow d\pi$, sendo este afetado pelas ligações do centro metálico com os outros ligantes. Ou seja, uma variação no ligante em *trans* ou *cis* ao NO provoca alterações na intensidade da transferência de carga do rutênio para o NO, o que modifica os valores de $\nu(\text{NO}^+)$ e $E_{1/2}$.

Figura 21- Correlação entre $\nu(\text{NO})$ para complexos *trans* e *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{LNO}](\text{PF}_6)_n$ e $E_{1/2}$ para a reação redox *trans* e *cis*- $[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bpy})_2\text{LNO}^+]^{+n} + e^- \leftrightarrow \text{trans e cis-} [\text{Ru}^{\text{I}}(\text{bpy})_2\text{LNO}^0]^{+n}$, vs Ag/AgCl.



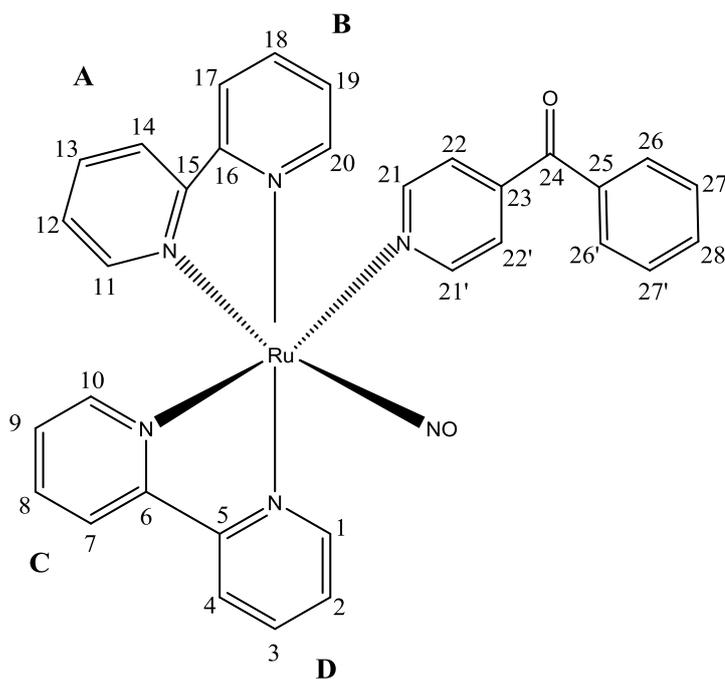
Fonte: elaborado pelo autor.

O complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ foi ainda caracterizado por espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), onde foram obtidos os espectros de ^1H , ^{13}C , COSY e HMBC em acetona deuterada.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C são apresentados nas Figuras 23 e 24 respectivamente. Primeiramente, foi feita a atribuição dos prótons do ligante 4-bzpy: 9,15;

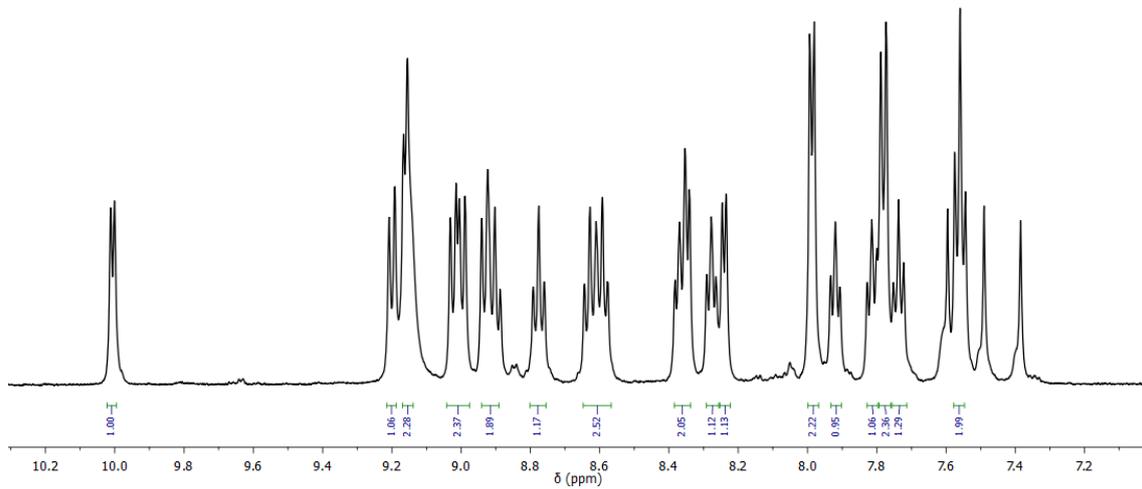
7,98; 7,77; 7,57 e 7,72 ppm. Em seguida, foi feita a tentativa de atribuição para os hidrogênios da bipyridina. Considerou-se que os hidrogênios do anel A (Figura 22) com estereoquímica *trans* ao NO^+ como sendo mais desprotegidos (maior deslocamento químico, δ) seguido dos hidrogênios ligados ao anel C, *trans* a 4-bzpy. O efeito de desproteção causado pelo NO^+ ocorre devido a interação π *back-bonding* do rutênio com o NO^+ , que retira densidade eletrônica do metal, diminuindo a retrodoação para a bipyridina e consequentemente causando uma desproteção dos hidrogênios deste ligante^{24,71}. A atribuição para os sinais de carbono seguiu o mesmo raciocínio empregado para a atribuição dos hidrogênios. A Tabela 11 apresenta os deslocamentos químicos e as tentativas de atribuições dos espectros de hidrogênio e carbono.

Figura 22- Numeração dos átomos de carbono e hidrogênio para os anéis aromáticos do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃.



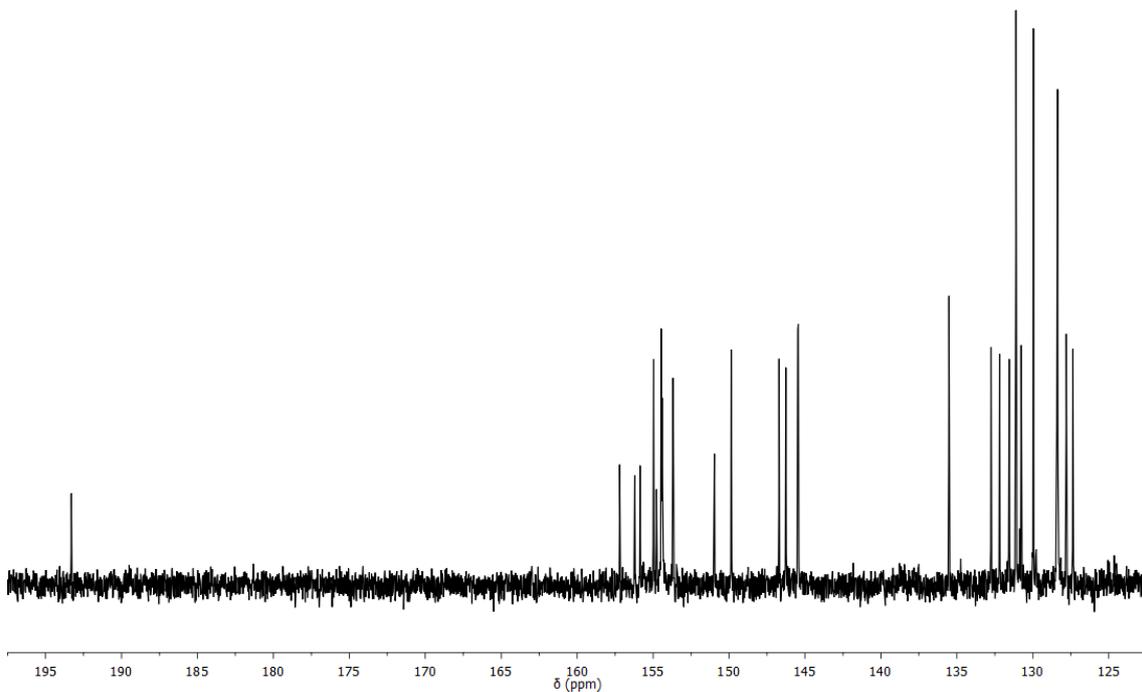
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 23- Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H para o complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ em acetona deuterada.



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 24- Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C para o complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ em acetona deuterada.



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 11- Deslocamentos químicos (RMN ^1H e ^{13}C) observados para o complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ em acetona deuterada.

Sítio	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)
1	8,24	135,75
2	7,91	132,75
3	8,61	132,18
4	9,01	131,55
5	-	154,72
6	-	156,15
7	9,01	135,52
8	8,61	146,26
9	8,91	146,25
10	9,20	146,71
11	10,01	154,97
12	8,37	154,47
13	8,77	153,70
14	8,89	149,85
15	-	157,14
16	-	155,73
17	8,24	127,80
18	7,81	128,39
19	8,27	128,40
20	9,15	130,76
21, 21'	9,15	145,45
22, 22'	7,98	131,09
23	-	154,22

24	-	193,30
25	-	150,96
26, 26'	7,77	129,95
27, 27'	7,57	128,37
28	7,72	127,37

Fonte: elaborado pelo autor.

O espectro de HMBC para este complexo é apresentado na Figura 25, o qual fornece a correlação ^1H - ^{13}C a longo alcance, podendo assim fornecer informações a respeito do átomo de carbono que está 2-3 ligações de distância do próton a qual ele se correlaciona.

Inicialmente, no espectro de HMBC, identificou-se o sinal referente à carbonila da cetona do ligante 4-bzpy em 193,3 ppm. Esse, correlaciona-se com dois dubletos em 7,77 e 7,98 ppm atribuídos aos H-26/26' e H-22/22', respectivamente. A partir desses dados e do espectro bidimensional COSY (Figura 26) foi possível atribuir todos os sinais referentes ao ligante 4-bzpy.

O dubleto com deslocamento químico igual a 7,77 ppm correlaciona-se com o dubleto em 9,15 ppm, indicando que este sinal pertence aos H-21/21'. Todos os sinais apresentaram deslocamento para campo mais forte em relação ao ligante livre, sendo esse efeito mais pronunciado para o sinal referente aos H-21/21', devido à proximidade com o centro metálico.

O espectro de COSY mostra ainda a correlação de um tripleto em 7,72 ppm com outro tripleto em 7,57 ppm, atribuídos aos H-28 e H-27/27', respectivamente.

Figura 25- Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H - ^{13}C bidimensional HMBC para o complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ em acetona deuterada.

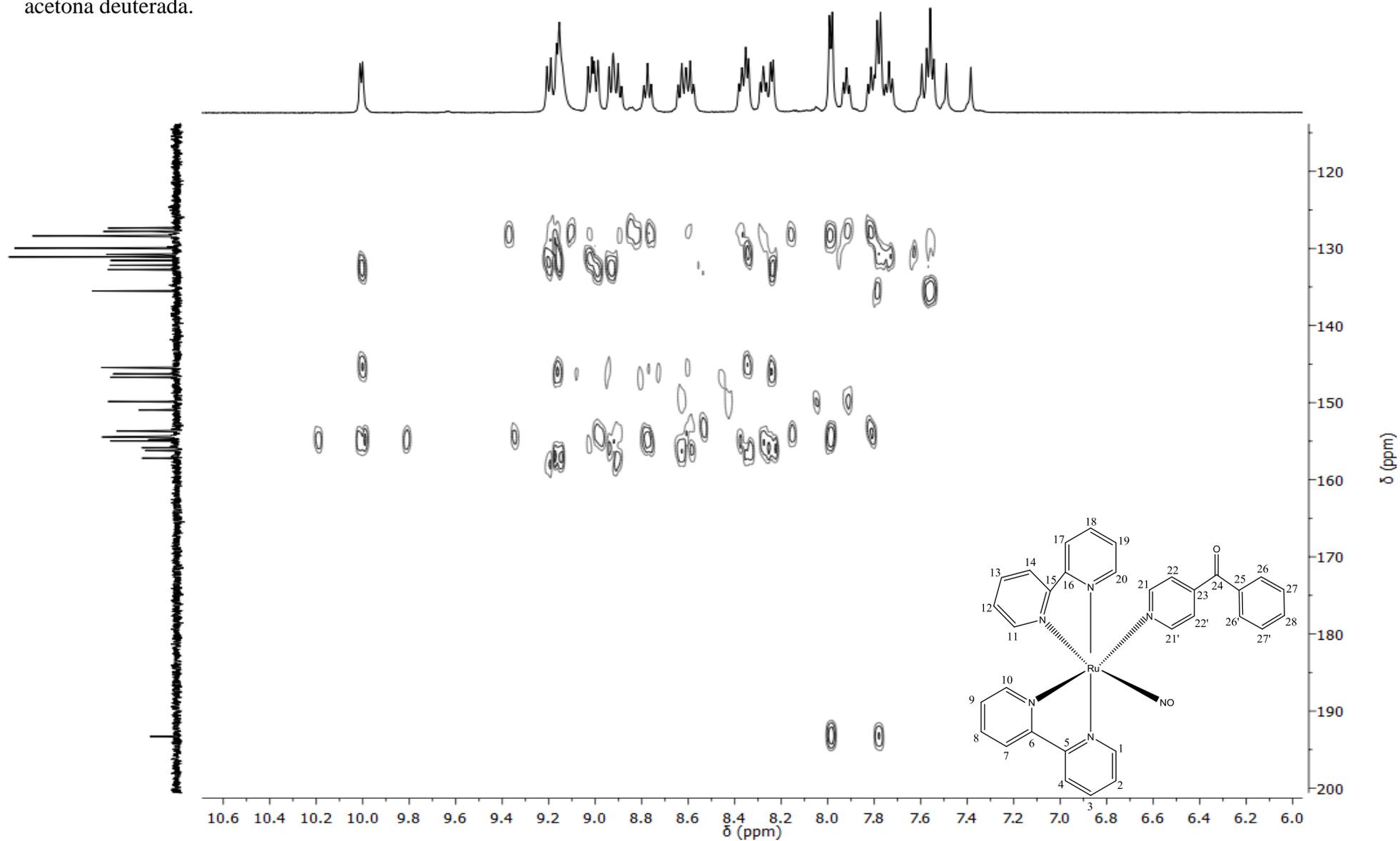
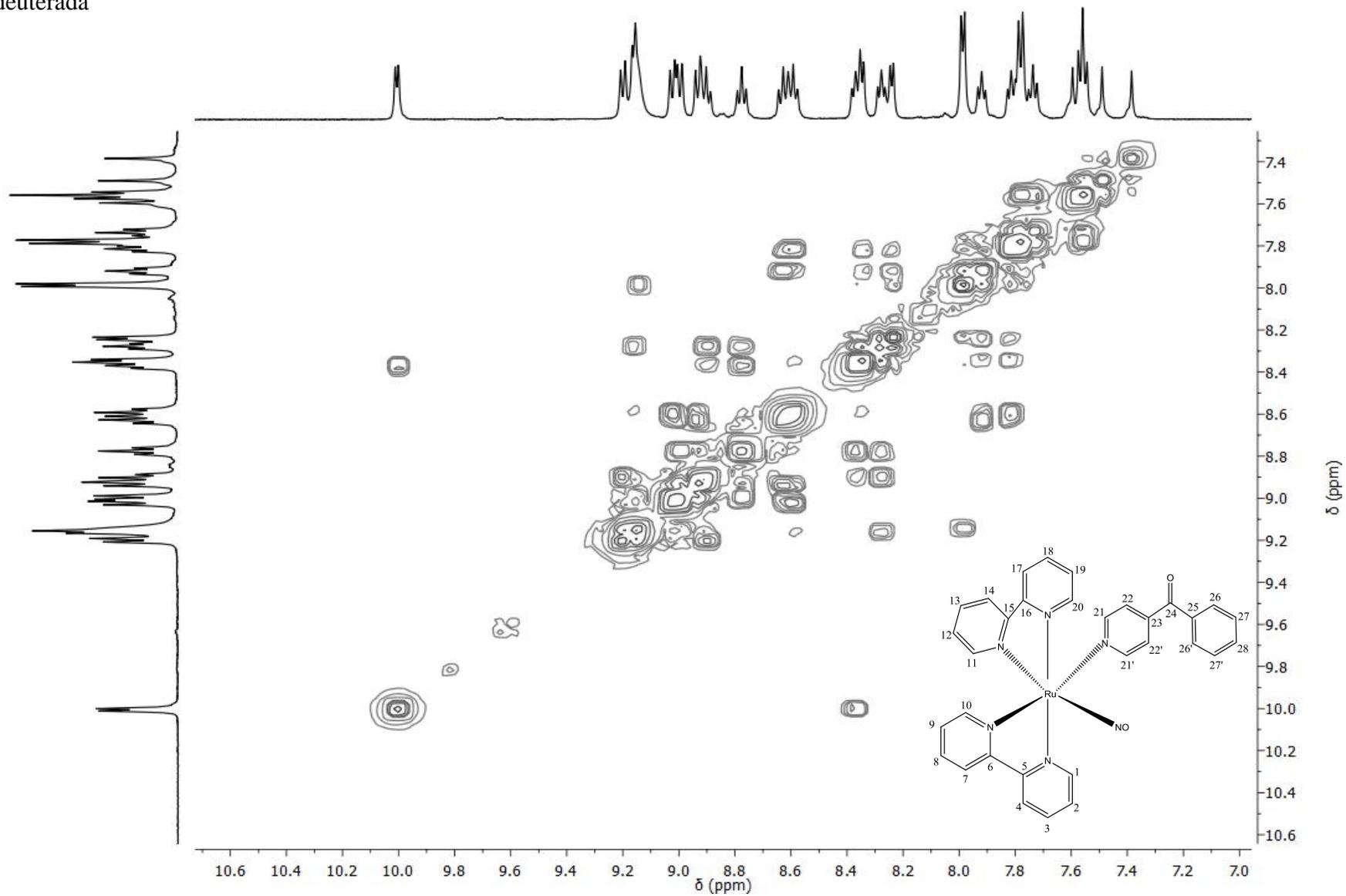


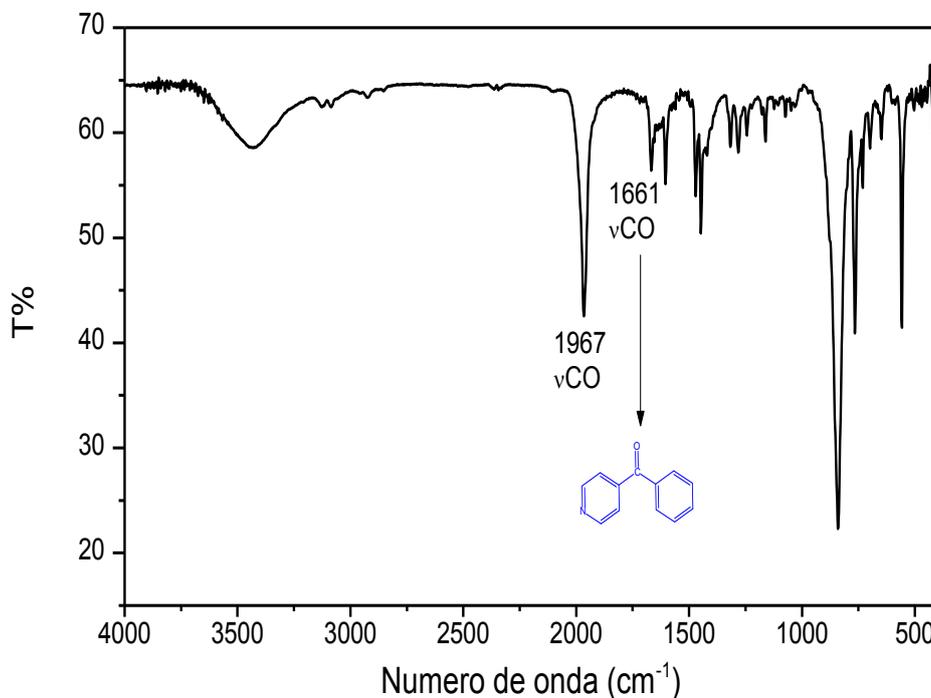
Figura 26- Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H bidimensional COSY para o complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ em acetona deuterada



4.4. Caracterização do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂

O espectro de absorção na região do infravermelho do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ em pastilha de KBr é apresentado na Figura 27. Esta técnica é bastante útil para a caracterização de carbonilas metálicas, uma vez que se pode distinguir quando o CO atua como ligante terminal (1850-2100 cm⁻¹), pontes duplas (1750-1850 cm⁻¹) ou pontes triplas (1620-1730 cm⁻¹)⁴². As frequências de estiramentos do CO seguem a ordem MCO > M₂CO > M₃CO o que sugere um aumento na ocupação do orbital π* à medida que a molécula de CO se liga a mais átomos metálicos. Para este complexo, observa-se o estiramento referente ao C≡O em 1967 cm⁻¹, o que caracteriza uma ligação do tipo terminal como proposto na rota sintética. Vale ressaltar a permanência da banda referente à carbonila (C=O) do ligante 4-benzoilpiridina em 1661 cm⁻¹, também encontrado no complexo precursor *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆, bem como em outros complexos carbonílicos contendo o ligante 4-benzoilpiridina como *fac*-[Re(4-benzoilpiridina)(CO)₃(bpy)] e *fac*-[Re(Cl)(4-benzoilpiridina)₂(CO)₃], que apresentaram esse sinal referente à carbonila da cetona em 1670 cm⁻¹⁶⁵. Além disso, podemos também observar os principais estiramentos característicos da bipyridina em: 3130, 1471, 1441 e 762 cm⁻¹.

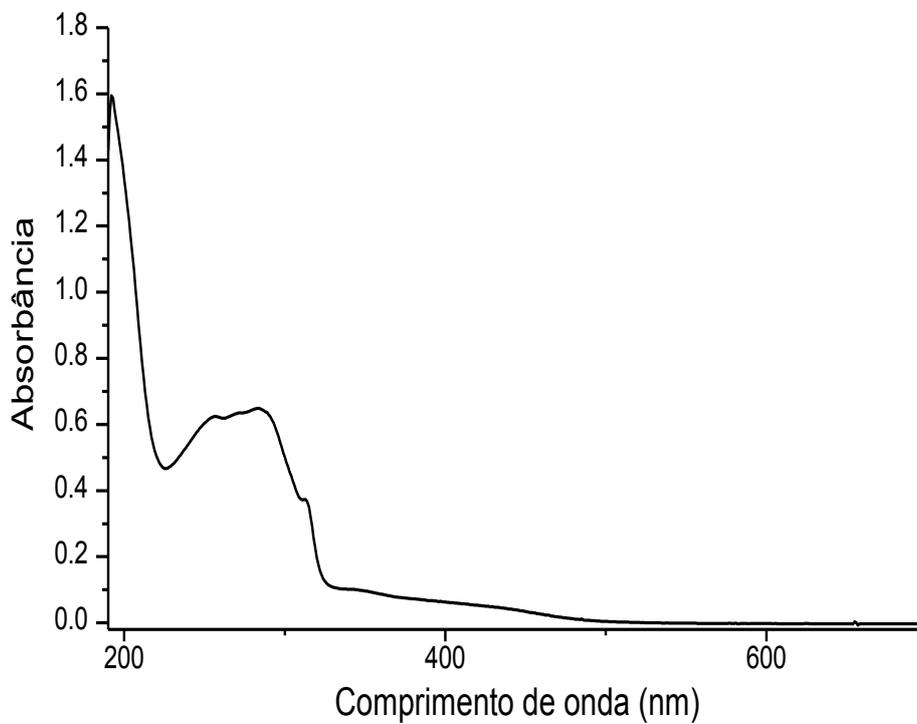
Figura 27- Espectro de absorção na região do infravermelho para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ em pastilha de KBr.



Fonte: elaborado pelo autor.

O espectro eletrônico em meio de acetonitrila do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ é apresentado na Figura 28, com um número reduzido de bandas deslocadas para a região do ultravioleta em consequência da coordenação do ligante CO. A banda em torno de 284 nm ($\epsilon = 1,20 \times 10^4 \text{ mol}^{-1}\text{L cm}^{-1}$) foi atribuída a uma transição $\pi^* \leftarrow \pi$ da bipyridina, em aproximadamente 313 nm ($\epsilon = 6,93 \times 10^3 \text{ mol}^{-1}\text{L cm}^{-1}$) atribuída a transferência de carga $\pi^*(\text{bpy}) \leftarrow d\pi(\text{Ru})$. Comparando os valores de $\lambda_{\text{máximo}}$ dessa absorção com as observadas para o complexo precursor ($\lambda_{\text{máximo}} = 483 \text{ nm}$) observa-se que a substituição do íon cloreto do composto de partida pelo ligante CO faz com que as absorções TCML desloquem-se para comprimentos de onda de maior energia, levando também a unificação dessas absorções devido à sobreposição.

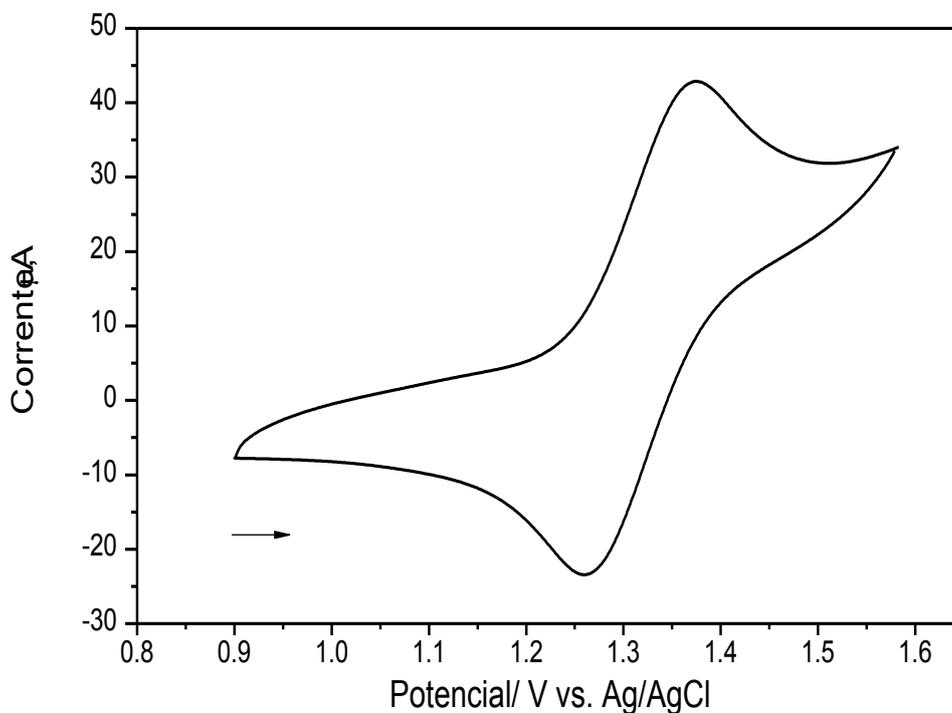
Figura 28- Espectro eletrônico do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ 5,24x10⁻⁵ Mol L⁻¹ em acetonitrila.



Fonte: elaborado pelo autor.

O comportamento redox do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ foi estudado em meio orgânico, apresentando um único processo reversível com $E_{1/2} = 1,68\text{V}$, sendo este processo atribuído ao par redox Ru^{III}/Ru^{II} do complexo (Figura 29). Quando se compara este potencial ao do complexo precursor *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl](PF₆) nota-se que houve um deslocamento de 0,944 V. Isso ocorre devido ao forte caráter π acceptor do CO coordenado, que através das interações de retrodoação do metal para este ligante, diminui a densidade eletrônica presente no centro metálico, tornando mais difícil sua oxidação, o que conseqüentemente eleva o potencial de oxidação. Tal resultado condiz com resultados similares reportados na literatura⁷⁶.

Figura 29- Voltamograma cíclico do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ 3,25x10⁻³ mol L⁻¹ em solução de acetonitrila contendo PTBA 0,1 mol L⁻¹. Fc⁺⁰ = 0,56 V vs Ag/AgCl/Cl⁻.

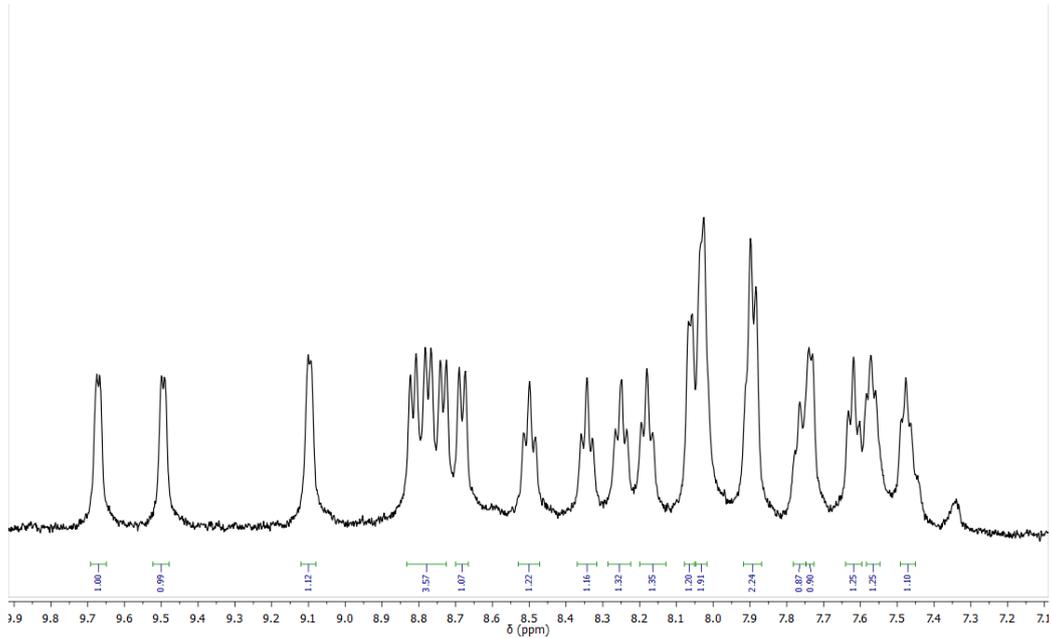


Fonte: elaborado pelo autor.

Também foram obtidos espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ em acetona deuterada.

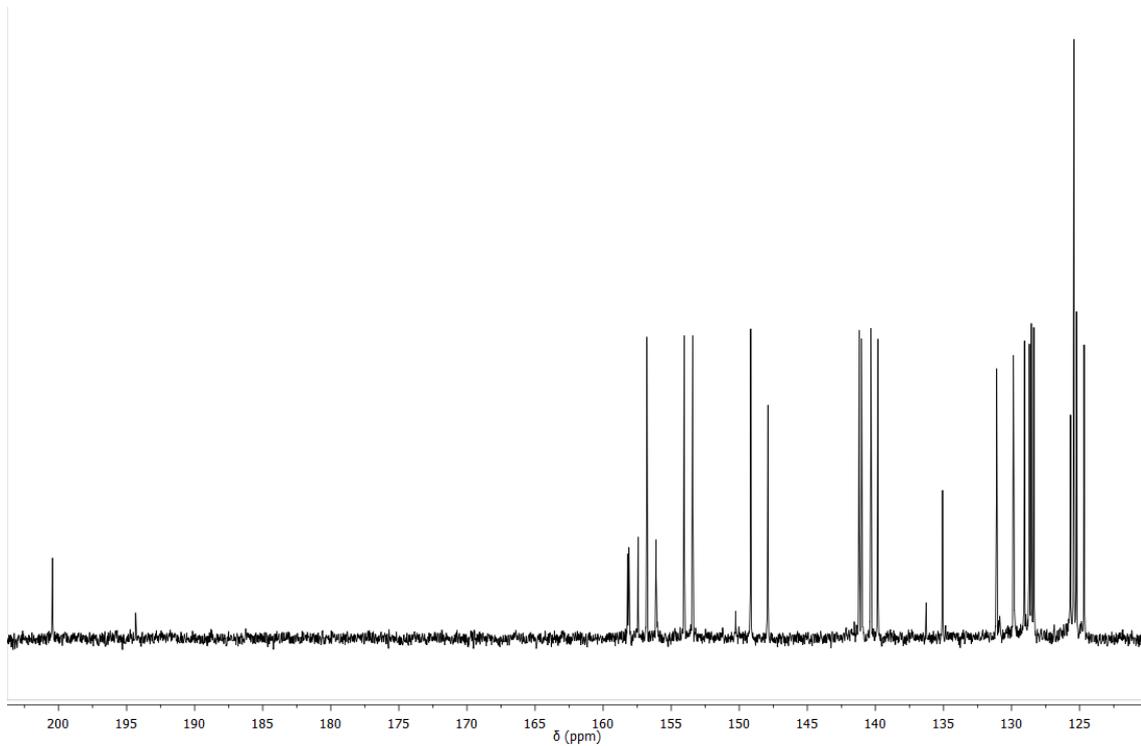
As Figuras 30 e 31 apresentam os espectros de RMN de ¹H e ¹³C, respetivamente. Os sinais de hidrogênios e carbonos para as duas bipyridinas foram atribuídos de modo similar ao complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃, considerando a esteoquímica e os efeitos da retroação entre o centro metálico e o monóxido de carbono. A Tabela 12 apresenta os deslocamentos químicos e as tentativas de atribuições dos sinais de hidrogênio e carbono.

Figura 30- Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H para o complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{CO}](\text{PF}_6)_2$ em acetona deuterada.



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 31- Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C para o complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{CO}](\text{PF}_6)_2$ em acetona deuterada.



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 12- Deslocamentos químicos (RMN ^1H e ^{13}C) observados para o complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{CO}](\text{PF}_6)_2$ em acetona deuterada.

Sítio	δ ^1H (ppm)	δ ^{13}C (ppm)
1	7,74	139,82
2	7,44	135,06
3	7,34	131,09
4	8,68	129,87
5	-	156,11
6	-	158,09
7	8,77	140,33
8	8,25	141,02
9	8,18	141,19
10	9,49	147,89
11	9,67	156,78
12	8,49	154,04
13	8,34	153,42
14	8,81	154,02
15	-	158,20
16	-	157,43
17	8,73	125,68
18	7,62	128,37
19	7,47	128,54
20	8,03	129,05
21, 21'	9,10	149,15
22, 22'	8,06	128,69
23	-	150,27

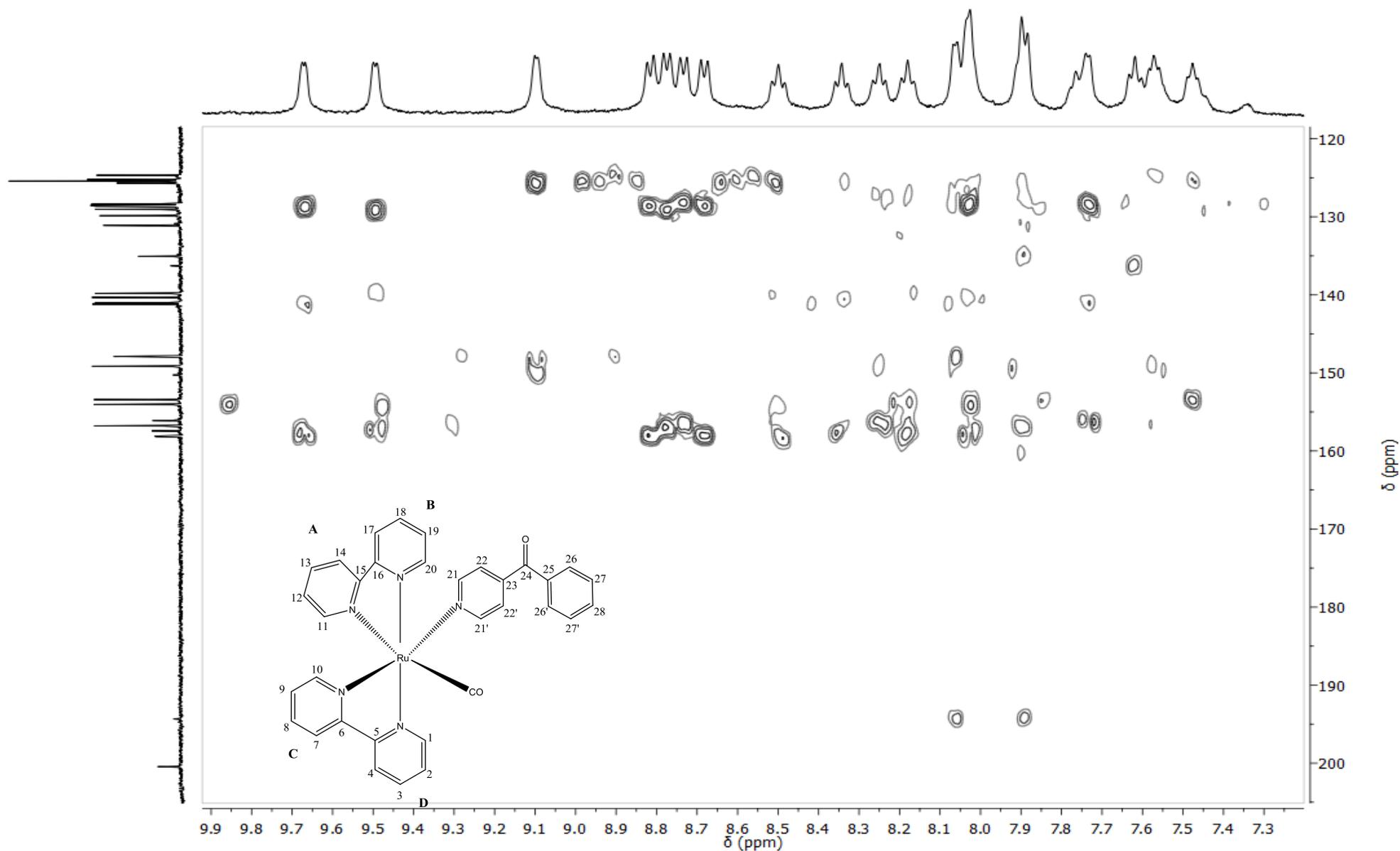
24	-	194,32
25	-	136,27
26, 26'	7,89	125,42
27, 27'	7,57	124,67
28	7,76	125,23

Fonte: elaborado pelo autor

Através do espectro de HMBC (Figura 32) foi possível detectar a presença de dois sinais de ^{13}C em 194,30 e 200,48 ppm, dos quais apenas o primeiro apresenta correlação com os hidrogênios das ligações vizinhas. Esses hidrogênios apresentam deslocamento químico de 7,89 e 8,06 ppm e foram atribuídos aos H-26,26' e H-22,22'. Deste modo, conclui-se que o sinal em 194,30 ppm refere-se a carbonila presente na estrutura do ligante 4-bzpy. A partir desta correlação, foi possível atribuir os demais sinais deste ligante.

O sinal de ^{13}C com deslocamento químico igual 200,48 ppm foi atribuído ao ligante monóxido de carbono⁶⁵.

Figura 32- Espectro de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H - ^{13}C bidimensional HMBC para o complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{CO}](\text{PF}_6)_2$ em acetona deuterada..



5. ESTUDO DA REATIVIDADE DO COMPLEXO *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃

5.1. Reação de interconversão ácido-base nitrosil-nitrito

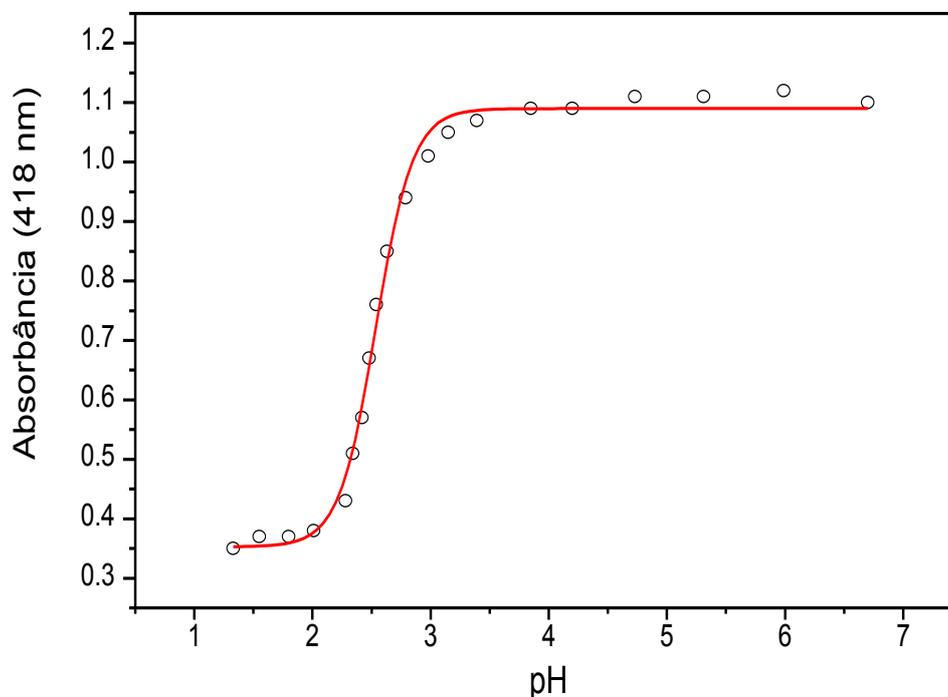
O estudo da interconversão nitrosil-nitrito para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ e o cálculo da constante de equilíbrio para esse fenômeno foram realizados pelo método espectrofotométrico, utilizando o comprimento de onda de 418 nm para o acompanhamento da reação. A força iônica foi mantida constante com NaTFA 0,5 mol L⁻¹ de acordo com estudos similares reportados na literatura^{75,77}.

Uma vez que o ligante nitrosil possui caráter eletrofílico, em meio aquoso, estes complexos são convertidos em nitrito complexos com a adição do íon OH⁻ de acordo com a Equação 4. Esta reação ocorre em pH específico para cada composto, dependendo da disponibilidade do ligante NO⁺ ao ataque do OH⁻. A alteração da densidade eletrônica no centro metálico concorre com a retrodoação do Ru(II) para o ligante nitrosilo, sendo assim, a formação do nitro complexo será influenciada pelo ligante auxiliar⁷⁸.



O equilíbrio ácido-base da conversão nitrosil-nitrito do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ (Figura 33) ocorre em pK_{NO} = 2,58, que é o valor de pH onde o nitrosilo-complexo e nitro-complexo encontram-se em iguais quantidades em solução. Observa-se um baixo valor de pH para este evento, o que corrobora com resultados reportados na literatura para complexos semelhantes²⁴. Isso ocorre devido ao caráter π receptor do ligante 4-bzpy, que enfraquece a transferência de carga do metal para o NO. A diminuição da densidade eletrônica sobre o ligante NO, torna a reação com a hidroxila mais favorável.

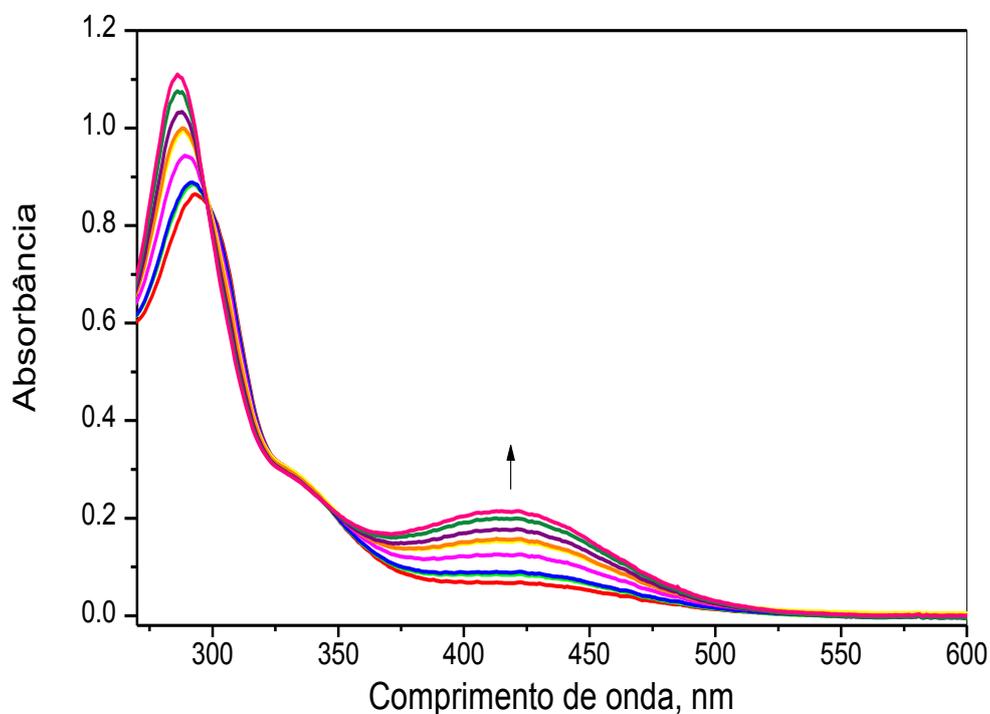
Figura 33- Gráfico de absorvância versus pH para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃.



Fonte: elaborado pelo autor.

A Figura 34 mostra o comportamento do complexo em estudo em função do pH. Com o aumento do pH da solução contendo o complexo, pela adição de NaOH, observam-se as seguintes mudanças no espectro eletrônico: as bandas de transferência de carga da bipyridina deslocam-se para regiões de menor energia devido à menor capacidade π receptora do ligante nitrito, quando comparado ao complexo com ligante NO^+ . Entretanto a principal mudança observada refere-se ao surgimento de uma banda com $\lambda_{\text{máximo}} = 418 \text{ nm}$, proporcionalmente ao aumento do pH do meio. Essa banda pode ser atribuída a uma transferência de carga (TCML) $(\text{bpy})\pi^* \leftarrow d\pi(\text{Ru})$ da espécie nitrito formada. A reversibilidade da interconversão foi comprovada através da adição de uma solução de HTFA $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ após o término do experimento (pH = 8,0), sendo observado a regeneração do espectro inicial, sugerindo que após a formação do complexo com o ligante nitrito, este retorna para a forma de nitrosilo complexo, sem a saída dessa espécie da esfera de coordenação.

Figura 34- Espectro do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ 5,7x10⁻⁵ mol L⁻¹ em NaTFA 0,1 mol L⁻¹ em diferentes valores de pH.



Fonte: elaborado pelo autor.

A partir do valor de pK_{NO} , calculou-se o valor da constante de equilíbrio (K) para a reação de interconversão nitrosil-nitrito. De acordo com a Equação 4:



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

Quando $pH=2,58$ (valor de pK_{NO}):

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

Logo a expressão da constante de equilíbrio neste valor de pH é dada por:

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

Deste modo, tem-se:

$$K = 6,94 \times 10^{22} \text{ L}^2 \text{ mol}^{-2}$$

A Tabela 13 apresenta uma dependência de K_{eq} e νNO^+ para complexos similares citados na literatura²⁴. A análise dos dados indica que quanto maior for a frequência de estiramento do ligante NO^+ coordenado, menor será a interação de retrodoação entre este ligante e o centro metálico, o que tornaria o NO^+ coordenado deficiente em elétrons. Isto indica o fato destes complexos (com maior valor de νNO^+) sofrerem facilmente ataque nucleofílico do íon OH^- em meio aquoso, implicando em um maior valor de K .

Tabela 13- Valores de K_{eq} e νNO^+ para complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})\text{NO}]^{n+}$.

Complexo	K_{eq}	νNO^+ (cm^{-1})
<i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{isn})\text{NO}]^{3+}$	$1,80 \times 10^{25}$	1948
<i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{imN})\text{NO}]^{3+}$	$1,42 \times 10^{16}$	1944
<i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}]^{3+}$	$6,94 \times 10^{22}$	1942
<i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)\text{NO}]^+$	$1,74 \times 10^7$	1911
<i>trans</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)\text{NO}]^+$	$6,42 \times 10^3$	1882

Fonte: elaborado pelo autor.

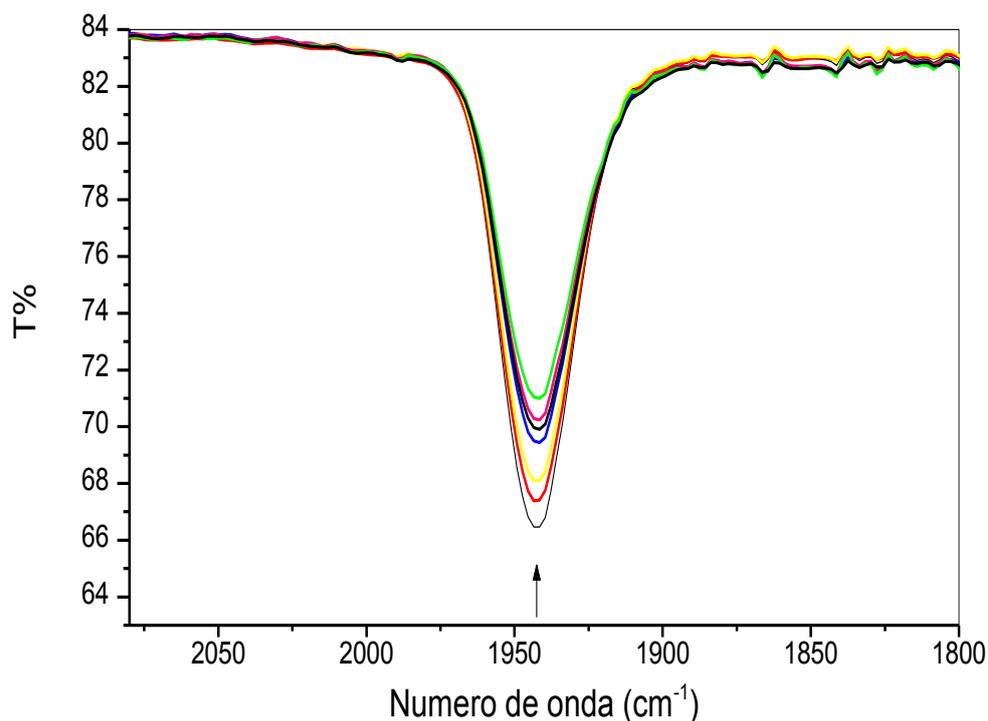
5.2. Ensaio fotoquímico

A avaliação do comportamento fotoquímico de nitrosilo-complexos limita-se muitas vezes a identificação dos produtos e ao cálculo do rendimento quântico da reação fotoquímica. Estudos feitos com complexos similares ao *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ ^{50,79} indicam que o processo é decorrente da transferência de energia do centro metálico para o ligante nitrosil, deste modo ocorrendo a oxidação do Ru^{2+} a Ru^{3+} e a redução do NO^+ a NO^0 . Uma vez que a ligação $\text{Ru}^{3+}\text{-NO}^0$ não é suficientemente forte, ocorreria a labilização da molécula de NO^0 e posterior substituição por uma molécula do solvente.

O complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ apresentou fotoliberação de NO quando irradiado no estado sólido com luz verde ($\lambda_{\text{irradiação}}=575$ nm), bem como quando irradiado com luz de maior energia ($\lambda_{\text{irradiação}}=350$ e 460 nm). A Figura 35 ilustra a região onde foi observada maior variação no espectro vibracional na região do infravermelho quando o nitrosilo complexo é exposto à luz ($\lambda_{\text{irradiação}}=575$ nm), disperso em pastilha de KBr. Verifica-

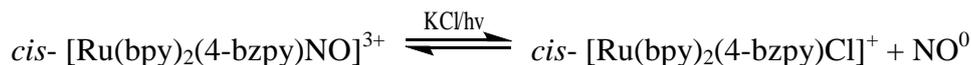
se claramente que a banda referente à $\nu(\text{NO}^+)$ diminui, indicando que a radiação eletromagnética, neste comprimento de onda, tem energia suficiente para reduzir NO^+ a NO^0 , com a posterior liberação deste.

Figura 35- Espectro vibracional na região do infravermelho do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ em pastilha de KBr, submetido à irradiação com luz $\lambda_{\text{irradiação}}=575$ nm durante 5h.



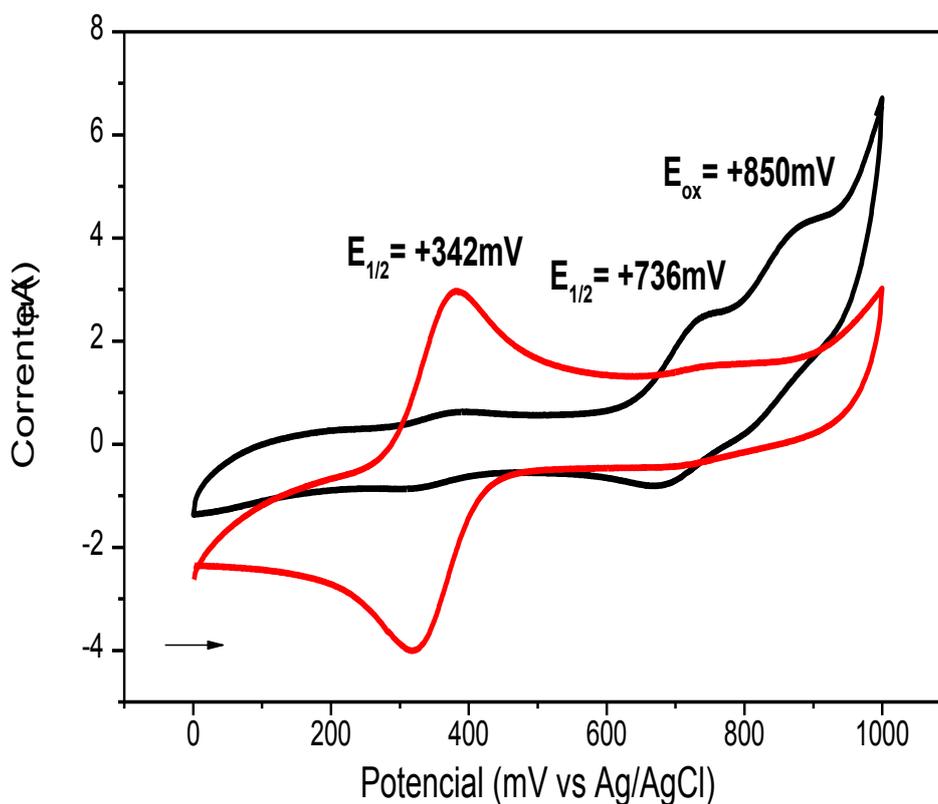
Fonte: elaborado pelo autor.

Para melhor identificação dos produtos da fotorreação, foram realizadas medidas eletroquímicas. A Figura 36 (linha vermelha) ilustra o voltamograma cíclico de uma solução de KCl 1,0 mol L⁻¹, pH = 2,0 contendo o nitrosilo complexo antes da irradiação, onde se observa apenas um processo com valor de $E_{1/2} = +342$ mV vs Ag/AgCl, que é atribuído ao par redox Ru-NO⁺/Ru-NO⁰. A Figura 36 (linha preta), mostra o voltamograma cíclico da solução anterior após irradiação com luz $\lambda_{\text{irradiação}}=575$ nm. Observa-se a diminuição da corrente do processo com $E_{1/2} = +342$ mV vs Ag/AgCl e concomitante aparecimento de um novo processo com $E_{1/2} = +736$ mV, referente ao par redox Ru^{II/III} do complexo *cis*- [Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]⁺ formado, de acordo com a equação abaixo:



A liberação de óxido nítrico é confirmada pelo aparecimento de um processo anódico irreversível no potencial de 850 mV vs Ag/AgCl, o qual pode ser atribuído à oxidação do NO⁰ livre⁸⁰.

Figura 36- Voltamograma cíclico para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ em KCl 1,0 mol L⁻¹, pH = 2,0. Antes de irradiar (—), após irradiação em 575 nm (—).



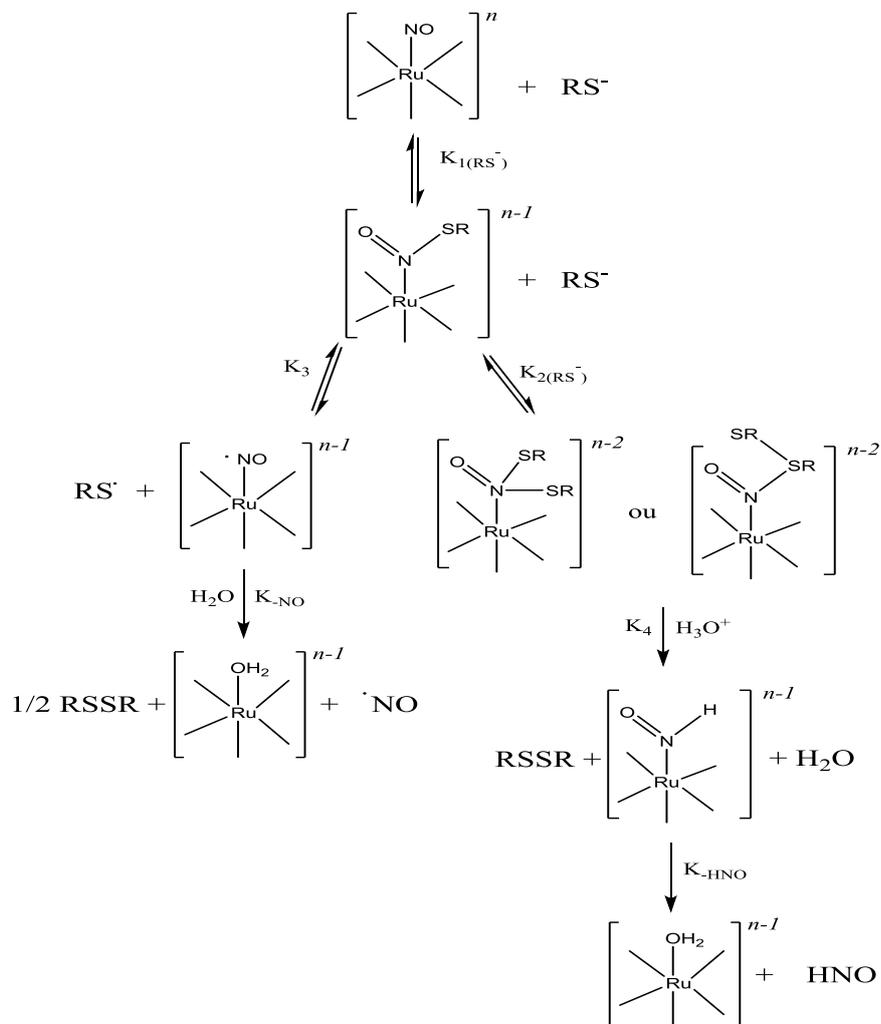
Fonte: elaborado pelo autor.

5.3. Ensaio de reatividade do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ com cisteína

O estudo de biotiois com nitrosilo compostos é de grande relevância para compreender o mecanismo de ação destes compostos *in vivo*. Deste modo, reação do íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO]³⁺ com cisteína foi medida através da técnica de stopped-flow. Os experimentos foram realizados em pH = 2,0, a 37°C. A condição de pseudo-primeira ordem foi mantida usando-se sempre um excesso de cisteína de 10 vezes sobre a concentração do complexo. Roncaroli, Silva e Pereira^{81,82,83} estudaram a reação de vários nitrosilo

complexos do tipo $[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{L}(\text{NO})]^{n+}$ e $\text{trans}-[\text{Ru}(\text{NH}_3)_4\text{L}(\text{NO})]^{3+}$ com cisteína e concluíram que a reação pode ocorrer pelas vias apresentadas na Figura 37.

Figura 37- Percursos propostos para a formação de NO ou HNO pela adição de RS^- aos nitrosilo complexos de rutênio.

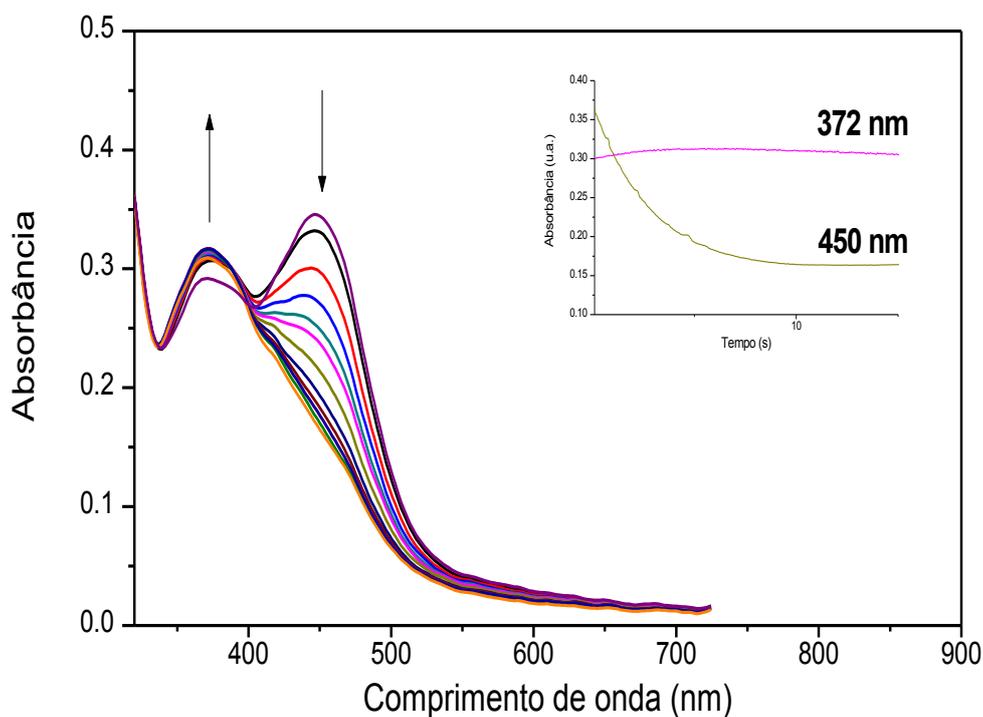


Fonte: retirado da referência 83.

A primeira etapa, referente ao ataque nucleofílico do enxofre da cisteína ao nitrogênio do NO^+ do complexo $\text{cis}-[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}](\text{PF}_6)_3$ que é identificado com o surgimento de uma banda em 450 nm. Por se tratar de uma etapa rápida não foi possível determinar a cinética deste intermediário através dessa técnica. Em sistemas similares, onde $\text{L} = \text{SO}_3^{2-}$ e ImN , este intermediário também não foi detectado. A Figura 38 mostra a variação espectral referente a reação da cisteína com o complexo, onde se observa o decaimento da banda em 450 nm e o surgimento de uma banda em 372 nm, caracterizando a

transição do primeiro para o segundo intermediário I_2 , $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{N}(\text{O})(\text{RS})_2]^-$ com um valor de $K_{\text{obs}} = 0,0437 \text{ s}^{-1}$.

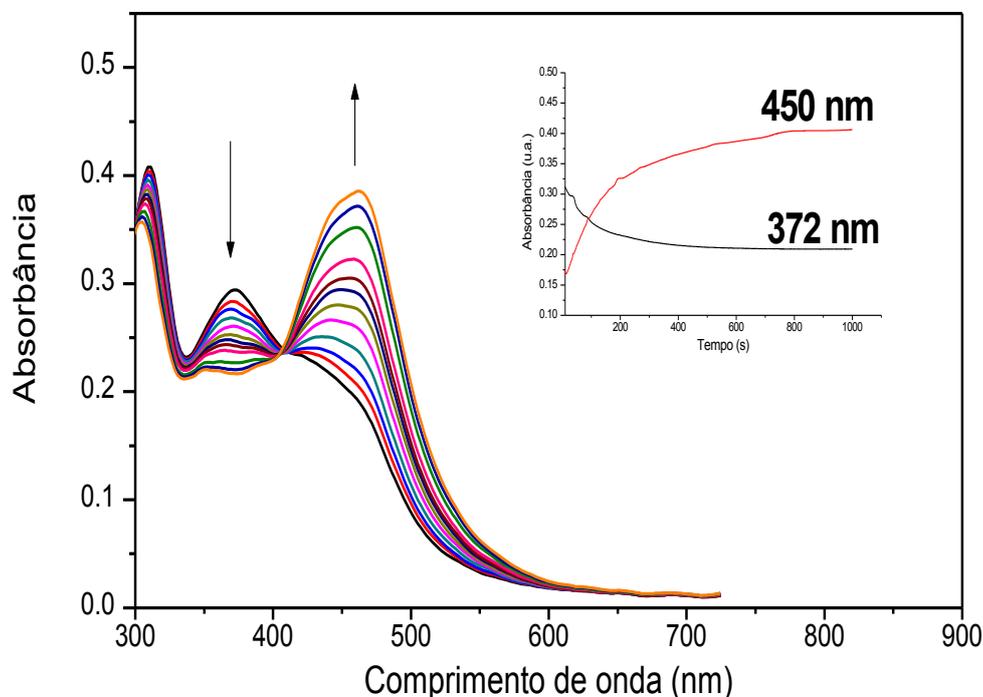
Figura 38- Variações espectrais na região do UV-visível da reação do íon complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}]^{3+}$ com cisteína em $\text{pH} = 2,0$. $T = 37^\circ\text{C}$.



Fonte: elaborado pelo autor.

A terceira e última etapa é a conversão do segundo intermediário no produto (Figura 39), que é caracterizado como o aquo complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$. A mudança espectral é acompanhada pela diminuição da banda em 372 nm e formação de outra em 450 nm, sendo esta atribuída a uma transferência de carga do metal para o ligante do aquo complexo gerado, com $K_{\text{obs}} = 0,00402 \text{ s}^{-1}$. A atribuição do produto final foi feita baseando-se em resultados semelhantes já publicados⁸².

Figura 39- Variações espectrais na região do UV-visível da reação do íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO]³⁺ com cisteína em pH = 2,0. T = 37°C



Fonte: elaborado pelo autor.

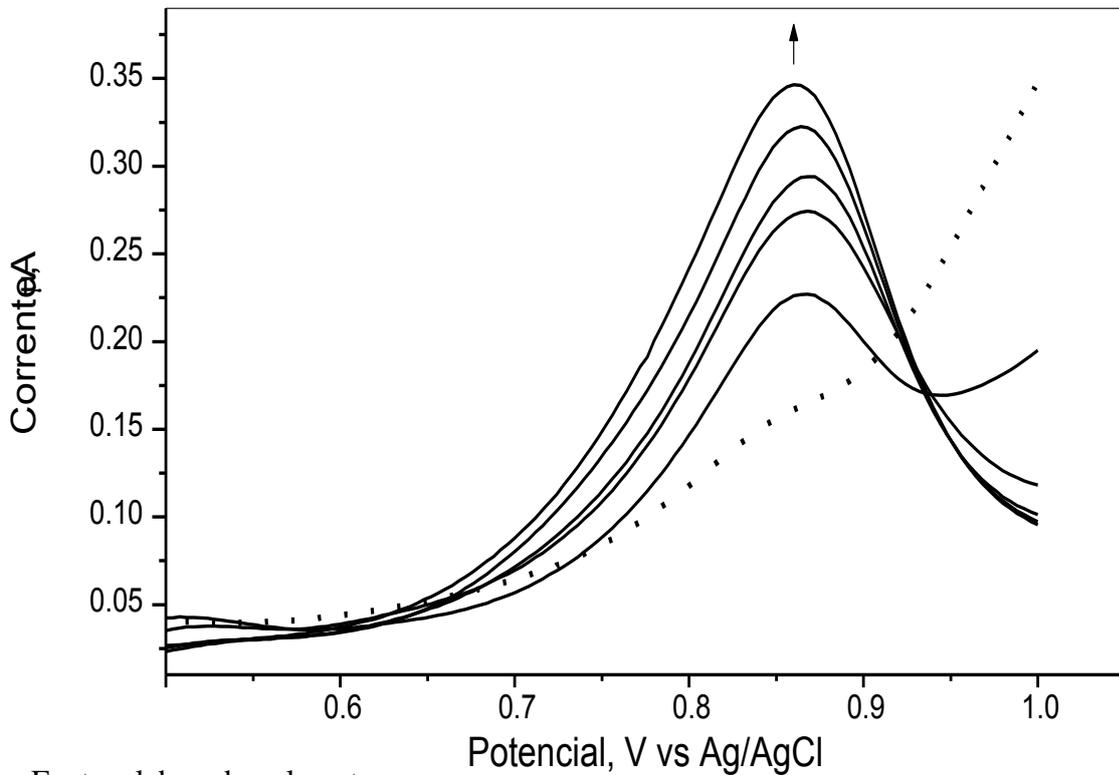
A liberação de NO proposta no experimento cinético foi confirmada através de medidas com eletrodo seletivo para óxido nítrico. Um estudo recente⁸⁴ relata um novo sensor eletroquímico para a detecção de óxido nítrico através da modificação de um eletrodo de ouro com o complexo *trans*-[Fe(cyclam)(NCS)₂]⁺. A corrente de pico anódica para o NO no eletrodo modificado de ouro é muito mais elevada do que a apresentada pelo eletrodo não modificado. O eletrodo modificado apresenta uma corrente de pico anódica irreversível em torno de 0,85 V. Este processo eletroquímico está relacionado a reação de transferência de elétron da oxidação do NO de acordo com a Equação 5:



Deste modo, o eletrodo modificado foi usado para observar as mudanças ocorridas após a adição de cisteína à solução contendo o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃. Como observado na Figura 40, há um aumento na corrente de pico em 0,850 V, indicando a liberação de NO do complexo como sugerido no estudo cinético.

A análise do produto da reação entre o complexo e a cisteína sugere a formação de um intermediário contendo dois grupos RS^- ($cis-[Ru(bpy)_2(L)N(O)(SR)_2]^n$) como reportado na literatura⁸², que NO e não HNO seja liberado como proposto.

Figura 40- Voltamograma de onda quadrada para o eletrodo Au/ $trans-[Fe(cyclam)(NCS)_2]^+$ em solução 0.2 mol L^{-1} KCl pH=2, contendo $cis-[Ru(bpy)_2(4-bzpy)NO]^{3+}$ ($8.5 \times 10^{-4} \text{ M}$) e cisteína ($8.5 \times 10^{-3} \text{ M}$).

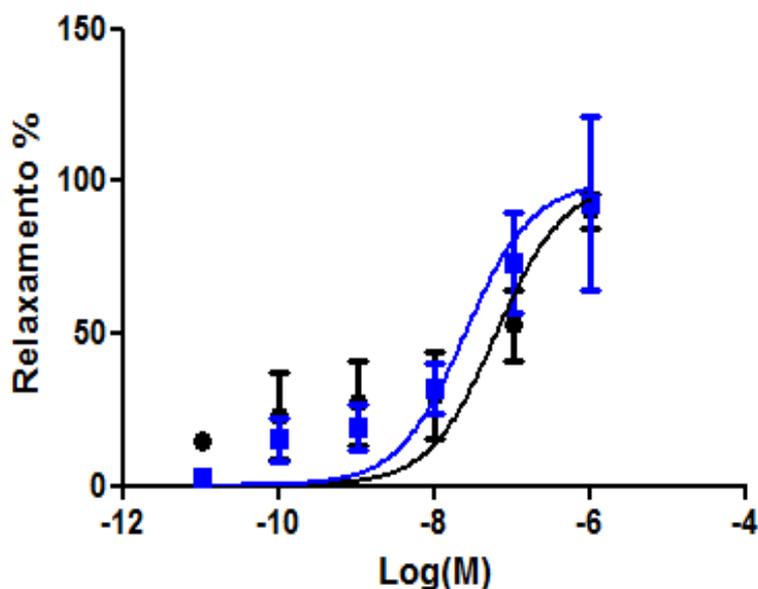


Fonte: elaborado pelo autor.

5.4. Ensaio de vasodilatação em anéis de aorta

Em experimentos iniciais, realizou-se curvas de concentração-resposta (1 nM a 1 μ M) induzidas por *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ em anéis de aorta de ratos, pré-contraídos por 1 μ M de fenilefrina. O composto *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ promoveu um relaxamento máximo de 100% e um valor de EC₅₀ = 76 nM. Por outro lado, o controle utilizado, SNP, apresentou 50% da resposta requerida com uma concentração de 72 nM. As curvas de relaxação são mostradas na Figura 41.

Figura 41- Efeito vaso relaxante de *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ (■) (1nM - 1 μ M) em anéis de aorta pré-contraídas com fenilefrina (1 μ M). Os valores são expressos utilizando o SNP (□) como controle.



Fonte: elaborado pelo autor.

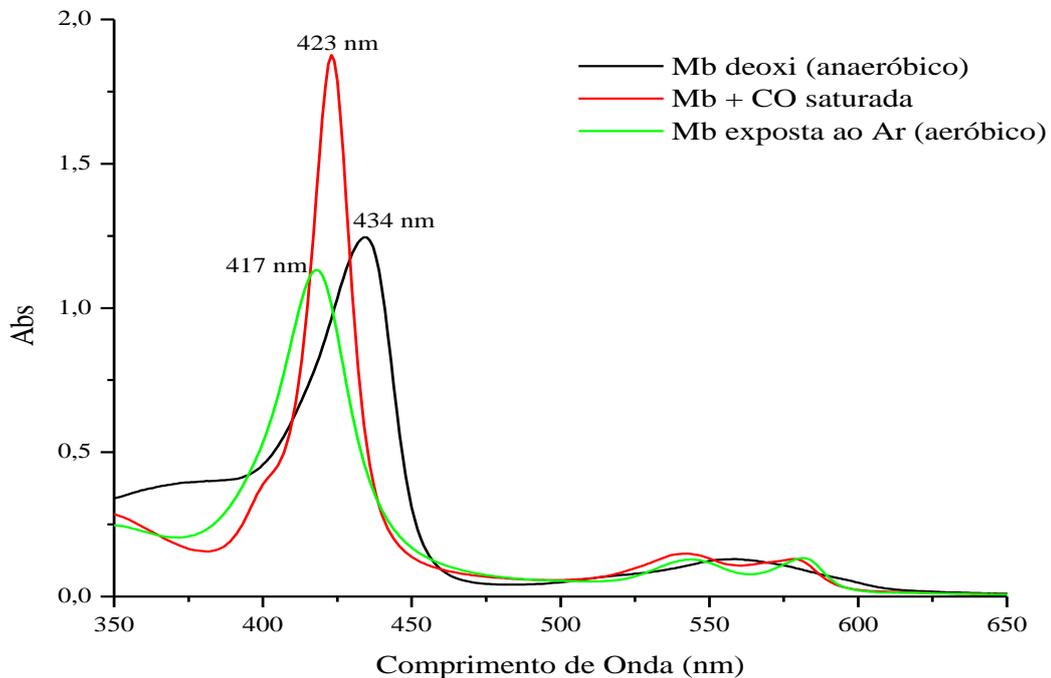
Os resultados evidenciam que o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ apresenta atividade vasodilatadora semelhante ao SNP nessas condições de trabalho. Embora o nitrosilo complexo em estudo não apresente uma liberação de NO mais controlada que o SNP, este tem a vantagem de não liberar moléculas íons cianeto responsáveis pelos efeitos indesejáveis causados pelo SNP.

6. ENSAIOS DE LIBERAÇÃO DE CO PARA O COMPLEXO *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂

A liberação de CO pelo o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ foi avaliada por espectrofotometria na região do UV-Visível, medindo a conversão da deoxihemoglobina (Mb) em carboxihemoglobina (MbCO) de acordo com os procedimentos descritos na literatura⁵⁷. Esta é uma das técnicas mais utilizadas para avaliar o potencial de um complexo como liberador de CO. Esta avaliação é possível devido às mudanças no espectro de absorção da proteína, que depende da alteração na simetria do ferro pertencente ao grupo heme, do seu estado de oxidação e do tipo de ligante que se encontra coordenado ao centro metálico desta proteína⁸⁵.

Nesse caso, inicialmente foram registrados espectros da mioglobina (Mb) a fim de se obter espectros de referência (Figura 42) quando esta encontrava-se totalmente reduzida (Fe^{II}), além de se obter o perfil espectral desta proteína na forma desoxigenada e também na forma totalmente ligada ao CO, bem como totalmente ligada ao O₂. No espectro da desoxihemoglobina (em preto) observa-se apenas uma banda Q em $\lambda_{\text{máximo}} \sim 550 \text{ nm}$. Para a oxihemoglobina (em verde) observa-se duas bandas Q (α e β) em $\lambda_{\text{máximo}} \sim 540$ e 575 nm . A coordenação do CO ao grupo heme da hemoglobina é evidenciada no espectro eletrônico desta nova espécie (linha vermelha) pelo deslocamento para o vermelho das bandas α e β , observadas agora em $\lambda_{\text{máximo}} \sim 532$ e 560 nm , respectivamente. Além disso, a Figura 42 mostra o deslocamento da banda de Soret (de $\lambda_{\text{máximo}} \sim 434 \text{ nm}$ para $\lambda_{\text{máximo}} \sim 423 \text{ nm}$) quando a desoxihemoglobina em solução é submetida ao borbulhamento de CO gasoso.

Figura 42- Espectros de absorção na região UV-vis para mioglobina 12 μM (Mb) nas formas: desoxigenada, saturada com CO e na forma reduzida saturada com O_2 .

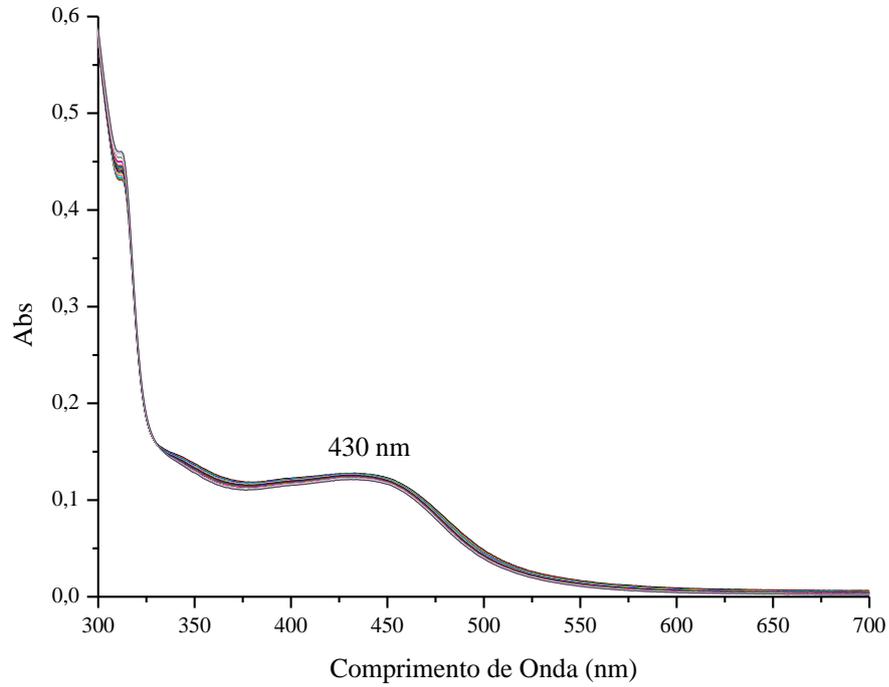


Fonte: elaborado pelo autor.

Posteriormente, realizou-se o acompanhamento espectroscópico de uma solução de complexo e de complexo/proteína, separadamente, nas mesmas condições, a 37°C por um período de 24 horas com a finalidade de verificar a estabilidade do complexo (Figura 43) e da proteína com a presença do complexo (Figura 44). É importante que durante estas medidas não haja oxigênio no meio, devido a afinidade da proteína por oxigênio ser significativa, uma vez que a quantidade de CO que é liberada pelo complexo pode ser relativamente pequena, pode ocorrer competição entre o CO e O_2 , dificultando a análise dos resultados. Por este motivo, todos os ensaios de liberação foram realizados dentro de uma câmara anaeróbica.

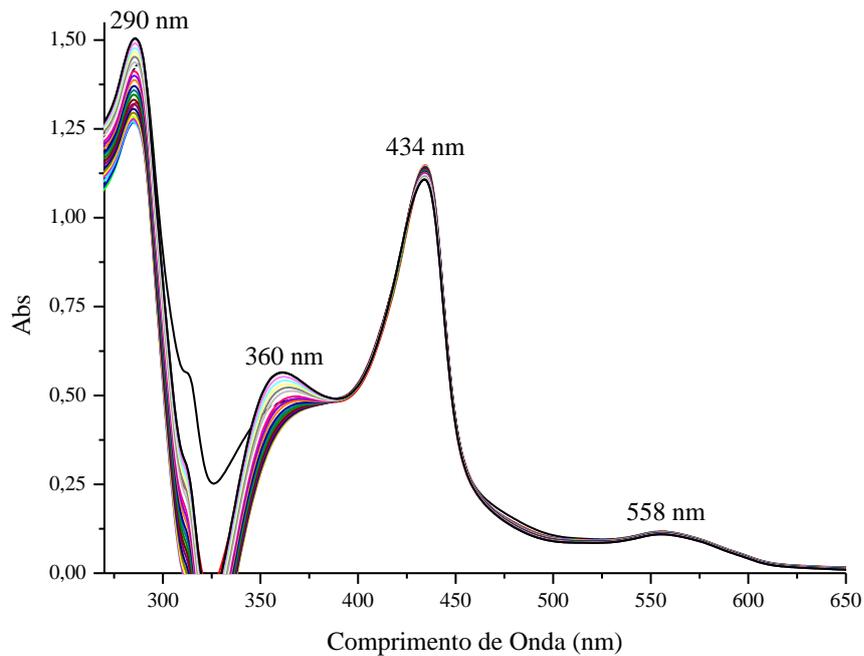
Nesses testes de liberação térmica a 37°C , após 24 horas de monitoramento não foi observado nenhuma mudança espectral que evidenciasse liberação de CO induzida termicamente.

Figura 43- Acompanhamento por espectroscopia de absorção na região UV-vis de uma solução contendo 24 μM do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ a 37°C por 24 horas.



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 44- Acompanhamento por espectroscopia de absorção na região UV-vis de uma solução contendo Mb 12 μM e 24 μM do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ a 37°C por 24 horas.

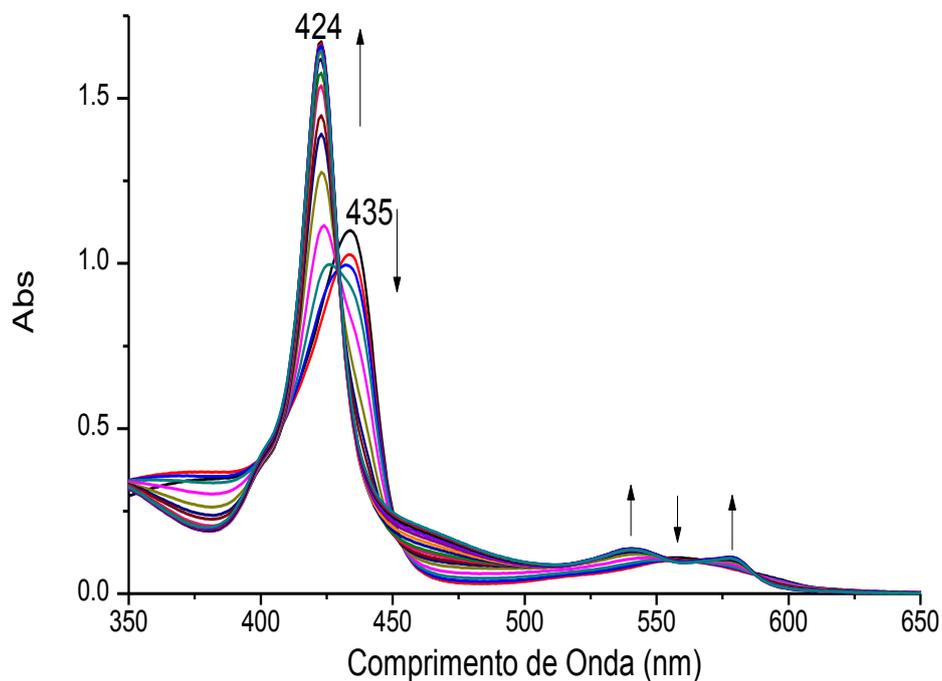


Fonte: elaborado pelo autor.

Os ensaios de liberação de CO para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ foram realizados utilizando-se uma concentração final de 12 μM de mioglobina e 24 μM do complexo em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ pH 7,4 utilizando-se luz em 302 e 350 nm a uma temperatura de 37°C. Foi possível observar mudança espectral significativa nos dois comprimentos de onda, sendo possível calcular a porcentagem de proteína ligada ao CO. Para isso, utilizou-se uma planilha do Excel preparada para determinar os valores de porcentagem de carboximioglobina (MbCO), através da interação dos espectros da proteína totalmente reduzida e totalmente reduzida ligada ao CO fez-se o ajuste com o experimental, sendo possível a construção de curvas cinéticas de porcentagem de carboximioglobina.

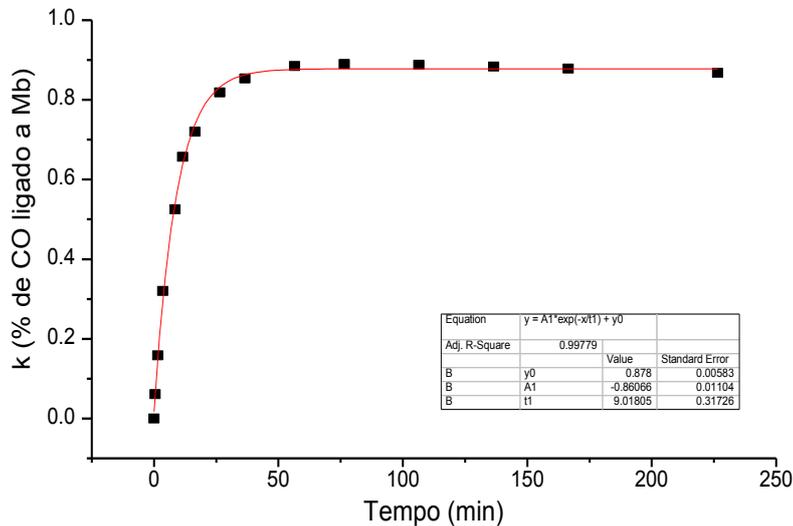
O ensaio de liberação realizado irradiando a solução do complexo com luz $\lambda_{\text{irradiação}}=302$ nm (Figuras 45 e 46) mostra que este comprimento de onda é bastante satisfatório, convertendo em 50 minutos aproximadamente 80% da Mb em MbCO.

Figura 45- Acompanhamento por espectroscopia de absorção na região UV-Vis de uma solução contendo Mb 12 μM e 24 μM do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ em PBS 0,1 mol L⁻¹ pH 7,4 irradiado em 302 nm por 226 minutos a 37°C .



Fonte: elaborado pelo autor.

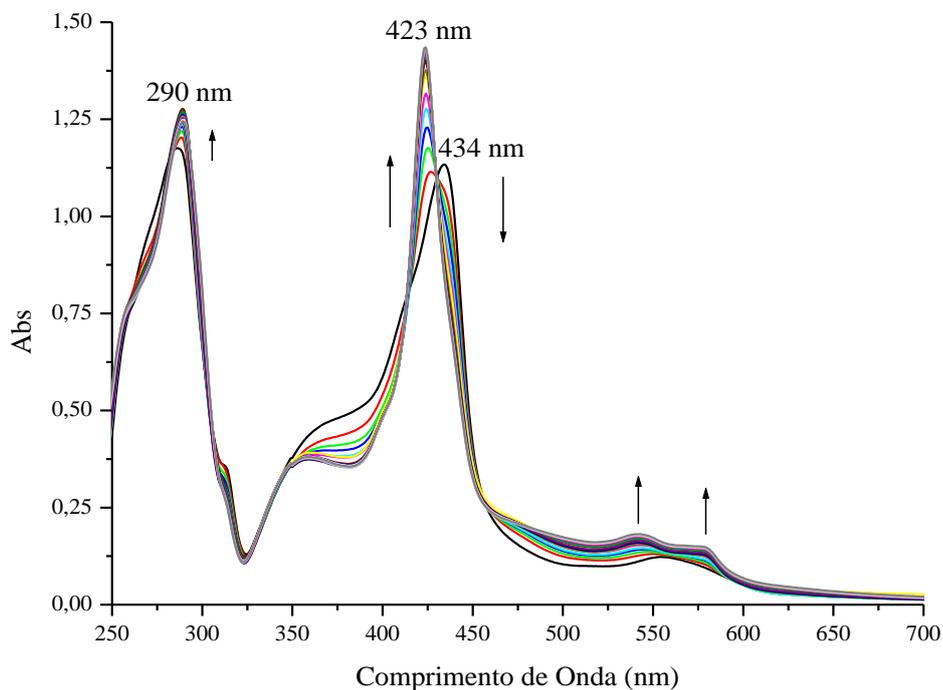
Figura 46- Curva para fotoliberação de CO do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ em PBS 0,1 mol L⁻¹ pH 7,4 irradiado em 302 nm por 226 minutos a 37°C. $k = 0,1109 (\pm 0,0039)$, $R^2 = 0,9981$.



Fonte: elaborado pelo autor.

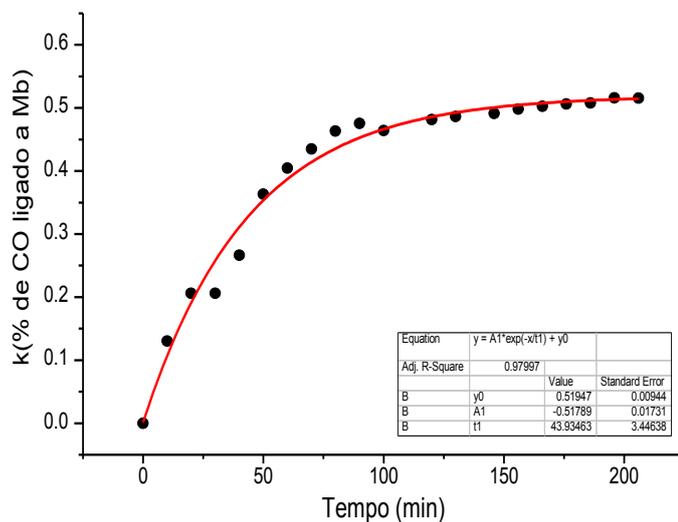
O ensaio de liberação realizado irradiando a solução do complexo com luz $\lambda_{\text{irradiação}}$ 350 nm (Figuras 47 e 48) mostraram uma liberação mais sutil, estabilizando em torno de 100 minutos com uma porcentagem de aproximadamente 50% da proteína ligada ao CO.

Figura 47- Acompanhamento por espectroscopia de absorção na região UV-Vis de uma solução contendo Mb 12 μM e 24 μM do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ em PBS 0,1 mol L⁻¹ pH 7,4 irradiado em 350 nm por 206 minutos a 37°C .



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 48- Curva para fotoliberação de CO do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ em PBS 0,1 mol L⁻¹ pH 7,4 irradiado em 350 nm por 206 minutos a 37°C. $k = 0,0228 (\pm 0,0018)$, $R^2 = 0,9821$.



Fonte: elaborado pelo autor.

Através do ensaio com a mioglobina utilizando o método espectrofotométrico, foi possível inferir que o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ libera CO de forma controlada em condições fisiológicas. Com este estudo também foi possível calcular a porcentagem de MbCO formada a partir das irradiações em 302 e 350 nm, obtendo-se uma liberação mais sutil para o maior comprimento de onda. Apesar de se tratar de um estudo preliminar, os resultados corroboram com os obtidos em outros trabalhos para complexos liberadores de CO, ao se comparar o mesmo comprimento de onda^{86,87}.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio dos resultados mostrados, pode-se afirmar que os complexo precursores *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)Cl]PF₆ e *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO₂]PF₆ foram sintetizados e caracterizados. A espectroscopia na região UV-vis indica a presença das bandas associadas às transições internas do ligante, bem como as bandas de transferência de carga. Os espectros na região do IV também indicam fortemente a presença dos ligantes e as estruturas foram ainda determinadas através da técnica de difração de raios X.

Os complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ e *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ foram caracterizados por: espectroscopia eletrônica, de absorção na região do infravermelho, eletroquímica, bem como a espectroscopia de ressonância magnética nuclear, que sugerem fortemente a coordenação dos ligantes NO e CO ao centro metálico dos complexos.

Através do estudo do equilíbrio ácido-base, verificou-se que o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ reage com o íon OH⁻ formando o respectivo nitrito complexo, com pKa de conversão de 2,58 e que esta reação é reversível mediante ajuste do pH.

Estudos preliminares sobre o comportamento fotoquímico do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ indicam que o nitrosilo complexo libera óxido nítrico mediante irradiação no comprimento de onda de 575 nm. Tal estudo, torna este complexo interessante pela liberação de óxido nítrico próximo da janela terapêutica.

Estudos preliminares para a reação do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)NO](PF₆)₃ com cisteína sugerem que há a liberação de óxido nítrico através da reação com redutores biológicos. Este resultado pôde ser reforçado com o uso de um eletrodo seletivo para óxido nítrico. O experimento de vasodilatação em tecido de aorta apresentou uma promissora atividade vasodilatadora, mostrando-se semelhante ao nitroprussiato de sódio, nas mesmas condições de trabalho.

O ensaio de liberação de CO para o *cis*-[Ru(bpy)₂(4-bzpy)CO](PF₆)₂ indica que o mesmo sofre fotorreação, liberando CO de forma controlada em pH fisiológico. Por apresentar uma reatividade interessante este complexo pode vir a se tratar de um novo e interessante sistema de estudo, tornando-o promissor para futuras aplicações biológicas.

REFERÊNCIAS

1. PANDEY, K. K. Transition metal nitrosyls in pollution control in organic synthesis and in pollution control. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 51. p. 69-98, 1983.
2. GREEN, L.; LUZURIAGA, R. K.; WAGNER, D. Nitrate biosynthesis in man. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v. 78, p.7764–7768, 1981.
3. ZIELASSEK, J. & HARTUNG, H. P. Molecular mechanisms of microglial activation. **Advances in Neuroimmunology**. v. 6, p.191–122, 1996.
4. SÜLZ, L.; ASTORGA, G.; BELLETE, B.; ITURRIAGA, R.; MACKAY-SIM, A.; BACIGALUPO, J. Nitric oxide regulates neurogenesis in adult olfactory epithelium *in vitro*. **Nitric Oxide**. v.20, p. 238-252, 2009.
5. GOMES, A. J.; ESPREAFICO, E. M.; TFOUNI, E. Trans-[Ru(NO)Cl(cyclam)](PF₆)₂ and [Ru(NO)(Hedta)] incorporated in PLGA nanoparticles for the delivery of nitric oxide to B16-F10 Cells: Cytotoxicity and phototoxicity. **Molecular Pharmaceutics**. v. 10, p. 3544-3554, 2013.
6. DATTILO, J. B.; MAKHOUL, R. G. The Role of Nitric Oxide in Vascular Biology and Pathobiology. **Annals of Vascular Surgery**. v.11, p. 307, 1997.
7. SUDHESH, P.; TAMILARASAN, K.; ARUMUGAM, P.; BERCHMANS, S. Nitric oxide releasing photoresponsive nanohybrids as excellent therapeutic agent for cervical cancer cell lines. **Applied Materials & Interfaces**. v. 5, p. 8263–8266, 2013.
8. IGNARRO, L. J. B. **Nitric Oxide: Biology and Pathology**. Editor San Diego, California, USA, 2000.
9. CULOTA, E. & KOSHLAND, J. ‘NO news is good news’. **Science**. v. 258, p. 1862, 1992.
10. IGNARRO, L. J. Nitric oxide: A unique endogenous signaling molecule in vascular biology (Nobel Lecture). **Angewandte Chemie International Edition**. v. 38, p.1882–1892, 1999.
11. FONTECAVE, M.; PIERRE, J. L. The basic chemistry of nitric oxide and its possible biological reactions. **Bulletin de la Societe Chimique de France**.v. 131, p. 620, 1994.

12. GOLDSTEIN, S.; CZAPSKI, G. The role of the reactions of (NO)-n-center-dot with superoxide and oxygen in biological, systems - a kinetic approach. **Free Radical Biology and Medicine**. v. 19, p. 505, 1995.
13. HUIE, R.E.; PADMAJA, S. The reaction of NO with superoxide. **Free Radical Research Communications**. v. 18, p. 195, 1993.
14. FUKUTO, J. M.; CHO, J. Y.; SWITZER, C. H. The chemical properties of nitric oxide and related nitrogen oxides. **Nitric Oxide**. Chapter 2, p. 23-40, 2000.
15. MAYER, B.; HEMMENS, B. Biosynthesis and action of nitric oxide in mammalian cells. **Trends in biochemical sciences**. v.22, p. 477-481, 1997.
16. PALMER, R.M.J.M.; ASHTON, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. **Nature**, v.333, p. 664, 1988.
17. SNYDER, S.H.B. Biological roles of nitric oxide. **Scientific American**. v.266, p.68, 1992.
18. FRICKER, S.P. Ruthenium, nitric oxide and disease a novel inorganic chemistry approach to drug design. **Platinum Metals Review**. v.39, p. 150, 1995.
19. RICHTER-ADDO, G.B., LEGZDINS, P. **Metal Nitrosyls**, New York: Oxford University Press.1992.
20. BOAVENTURA, D.; LUNARDI, C. N.; RODRIGUES, G. J.; NETO, M. A.; BENDHARCK, L. M. A novel mechanism of vascular relaxation induced by sodium nitroprusside in the isolated rat aorta. **Nitric Oxide** . v.14, p. 287, 2008.
21. LIN, W.; XUE, H.; LIU, S.; HE, Y.; FU, J.; ZHOU, Z. Genotoxicity of nitric oxide produced from sodium nitroprusside. **Mutation Research** . v.413, p.121, 1998.
22. YAKAZU, Y.; IWASAWA, K.; NARITA, H.; KINDSCHER, J.D.; BENSON, K.T.; GOTO, H. Hemodynamic and sympathetic effects of fenoldopam and sodium nitroprusside. **Acta Anaesthesiologica Scandinavica**. v. 45, p. 1176–1180, 2001
23. HOLANDA, A. K. M. **Síntese, caracterização e estudo da liberação fotoquímica de óxido nítrico por nitrosilo complexos de Ru e Fe e pelo composto [cyclam(NO)₄]**.

2006. 144f. Tese (Doutorado em Química)- Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.
24. SILVA, F. O. N. **Síntese, caracterização e reatividade de novos nitrosilo complexos de rutênio, tendo como ligante auxiliar a 2,2'-bipiridina**. 2004. 121f. Dissertação (Mestrado em Química)- Departamento de Química Orgânica e Inorgânica. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.
25. SAUA, G.; PACOR, S.; BERGAMO, A.; COCCHIETO, M.; MESTRONI, G.; ALESSIA, E. Effects of ruthenium complexes on experimental tumors: irrelevance of cytotoxicity for metastasis inhibition. **Chemico-Biological Interactions** . v. 95, p. 109, 1995.
26. OLIVEIRA, F. S.; FERREIRA, K. Q.; BOAVENTURA, D.; BENDHARCK, L. M.; TEDESCO, A. C.; MACHADO, S. P.; TFONI, E.; SILVA, R. S. The macrocyclic effect and vasodilation response based on the photoinduced nitric oxide release from trans -[RuCl(tetraazamacrocyclic)NO]²⁺ . **Journal of Inorganic Biochemistry** . v.101, p. 313, 2007.
27. CASTRO, P. F. S.; PEREIRA, A. C.; RODRIGUES, G. J.; BATISTA, A. C.; SILVA, R. S. S.; BENDHACK, L. M.; ROCHA, M. L. A new nitrosyl ruthenium complex nitric oxide donor presents higher efficacy than sodium nitroprusside on relaxation of airway smooth muscle. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 43, p. 370-377, 2011.
28. PEREIRA, A. C.; LUNARDI, C. N.; PAULO, M.; SILVA, R. S.; BENDHACK, L. M. Nitric oxide generated by the compound RuBPY promote vasculas smooth cell membrane hyperpolarization. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 48, p. 610-610, 2013.
29. MOTTERLINE, R.; OTTERBEIN, L. E. The therapeutic potencial of carbon monoxide. **Nature Reviews Drug Discovery**. v. 9, p. 728-743, 2010.
30. WANG, R. **Carbon monoxide and cardiovascular functions**, CRC, Boca Raton, 2002.
31. SHRIVER, D. F.; ATKINS, P. W & LANGFORD, C. H. **Química Inorgânica**. 3. ed. Bookman, 2006. 388p.
32. WU, L.; WANG, R. "carbono monoxide: endogenous production, physiological functions and pharmacological applications". **Pharmacological Reviews**. v.57, p.585-630, 2005.
33. FILHO, R. C. Monóxido de carbono mais do que somente um gás letal. **Química Nova na Escola**. v. 9, p. 3, 1999.
34. MARK, G. Carbon Monoxide Poisoning. **Journal of Emergency Nursing**.v. 34, p. 538, 2008.

35. RAUB, J. A.; MATHIEU-NOLF, M.; HAMPSON, N. B.; THOM, S. R. Carbon monoxide poisoning -a public health perspective. **Toxicology**.v. 145, p. 1, 2000.
36. VEVELSTAD, M.; MORILD, I. Lethal methemoglobinemia and automobile exhaust inhalation. **Forensic Science International**. v. 187, p. 1-5, 2009.
37. PINA, R. Z.; FURLAN, M. M. D. P. Monóxido de Carbono: Uma Nova Molécula de Sinalização Celular. **Revista Saúde e Pesquisa**. v. 3, p. 85, 2010.
38. MOTTERLINI, R.; SAWLE, P.; HAMMAD, J.; MANN, B. E.; JOHNSON, T. R.; GREEN, C. J.; FORESTI, R. Vasorelaxing effects and inhibition of nitric oxide in macrophages by new iron-containing carbon monoxide-releasing molecules (CO-RMs). **Pharmacological Research**. v. 68, p. 108-117, 2013.
39. HENNINGSSON, R.; ALM, P., EKSTROM, P. Heme oxygenase and carbon monoxide: regulatory roles in islet hormone release: a biochemical, immunohistochemical, and confocal microscopic study. **Diabetes**. v. 48, p. 66-76, 1999.
40. RYTER, S. W.; ALAM, J.; CHOI, A. M. K. Heme Oxygenase-1/Carbon Monoxide: From Basic Science to Therapeutic Applications. **Physiological Reviews**. v. 86, p. 583, 2006.
41. NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds Part B: Theory and Applications in Inorganic Chemistry**. Hoboken-New Jersey, WILEY, 2009. 132p.
42. OLIVEIRA, C. M. **Simetria de Moléculas e Cristais: fundamentos da espectroscopia vibracional**, Porto Alegre, Bookman, 2009. 272p.
43. FARIAS, R. F. **Química de Coordenação, Fundamentos e Atualidades**. 1 ed. Editora Átomo, 2005. 160p.
44. SESHADRI, N.; DWEIK, R. A.; LASKOWSKI, D.; POTHIER, C.; RODRIGUEZ, L.; YOUNG, J. B.; MIGRINO, R. Q. Deregulations of endogenous carbon monoxide and nitric oxide production in patients with advanced ischemic or nonischemic cardiomyopathy. **American Journal of Cardiology**. v. 92, p. 820-823, 2003.
45. TURCANU, V.; DHOUIB, M.; GENDRALT, J. L.; POINDRON, P. Carbon monoxide induces murine thymocyte apoptosis by a free radical-mediated mechanism. **Cell Biologist and Toxicology**. v. 14, p. 47-54, 1998.
46. BINCOLETTO, C.; TERSARIOL, I. L. S.; OLIVEIRA, C. R.; DREHER, S.; FAUSTO, D. M.; SOUFEN, M. A.; NASCIMENTO, F. D.; CAIRES, A. C. F. Chiral

- cyclopalladated complexes derived from *n,n*-dimethyl-1-phenethylamine with bridging bis(diphenylphosphine)ferrocene ligand as inhibitors of the cathepsin b activity and as antitumoral agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 13, p. 3047-3055, 2005.
47. ROSENBERG, B.; VAN, C.; TROSKO, J. E.; MANSOUR, V. H. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. **Nature**. v. 222, p. 385-386, 1969.
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**. v. 39, p. 2294, 2000.
49. KRIEGER, M.; SUMITANI, M.; MARCONDES, F.G. **Hypertension**. v. 37, p. 1020, 2001.
50. LIMA, G. R. S.; BONAVENTURA, D.; TEDESCO, A. C.; LOPPEZ, R. F. V.; 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**. v. 358, p. 2643, 2005.
51. NOBRE, L.S.; SEIXAS, J. D.; ROMAO, C. C.; SARAIVA, L. M. Antimicrobial Action of Carbon Monoxide-Releasing Compounds. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**. v. 51, p. 4303, 2007.
52. MOTTERLINI, R. Carbon monoxide-releasing molecules (CO-RMs): vasodilatory, anti-ischaemic and anti-inflammatory activities. **Biochemical Society Transactions**. v.35, p. 1142-1146, 2007.
53. CHLOPICKI, S.; OLSZANECKI, R.; MARCINKIEWICZ, E.; LOMNICKA, M.; MOTTERLINI, R. Carbon monoxide released by CORM-3 inhibits human platelets by a mechanism independent of soluble guanylate cyclase, **Cardiovascular Research**. v. 71, p. 393, 2006.
54. RYAN, M. J.; JERNIGAN, N. L.; DRUMMOND, H. A.; McLEMORE, G. R. M.; RIMOLDI, J. M.; POREDDY, S. R.; GADEPALLI, R. S. V.; STEC, D. E. Renal vascular responses to CORM-A1 in the mouse. **Pharmacological Research**. v. 54, p. 24, 2006.
55. CHIN, B. K.; OTTERBEIN, L. Carbon monoxide is a poison...to microbes! CO is a bactericidal molecule. **Current Opinion in Pharmacology**. v. 9, p. 490-500, 2009.

56. CHUNG, S.W.; LIU, X.; MACIAS, A.A.; BARON, R.M.; PERRELLA, M.A. Heme oxygenase-1-derived carbon monoxide enhances the host defense response to microbial sepsis in mice. **Journal of Clinical Investigation**. v. 118, p. 239, 2008.
57. RIMMER, R. D.; RICHTER, H.; FORD, P. C. A Photochemical precursor for carbon monoxide release in aerated aqueous media. **Inorganic Chemistry**. v. 49, p. 1180, 2010.
58. DURHAM, B.; WILSON, S.R.; HODGSON, D.J.; MEYER, T.J. Cis-trans photoisomerization in Ru(bpy)₂(OH)₂²⁺. Crystal structure of trans-[Ru(bpy)₂(OH)(OH)](ClO₄)₂. **Journal of the American Chemical Society**. v. 102, p. 600-607, 1980.
59. GOHER, M. A. S.; MAK, T. C. W. Three coordinate copper(I) complexes. Synthesis, spectral and structural study of copper(I) complexes of 4-benzoylpyridine and X-ray crystal structure of the dimer [CuCl(4-benzoylpyridine)]₂. **Polyhedron**, v.17, p. 3485-3494, 1998.
60. SETT, P.; DATTA, S.; MALLICK, P. K. Vibrational dynamics and structural investigation of 4-benzoylpyridine. **Journal of Raman Spectroscopy**, v.42, p. 859-869, 2010.
61. PAL, S.; MISRA, T. K.; SINHA, C.; SLAWIN, A. M. Z.; WOOLLINS, D. J. Ruthenium (II) complexes of α-diimines: synthesis, spectral characterisation, electrochemical properties and single-crystal X-ray structure of bis(2,2'-bipyridine) {1-benzyl-2-(p-tolylazo)imidazole}-ruthenium (II) perchlorate. **Polyhedron**, v.19, p. 1925-1933, 2000.
62. BAKER, A.; JAUD, J.; LAUNAY, J. P.; BONVOISIN, J. Structure and spectroscopic studies of cis-bis(bipyridine) ruthenium (II) complexes of phenylcyanamide ligands. **Inorganica Chimica Acta**. v. 358, p. 3513-3518, 2005.
63. 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**. v. 19, p. 860, 1980.
64. SULLIVAN, B. P.; SALMON, D. J.; MEYER, T.J. Mixed Phosphine 2,2'-Bipyridine Complexes of Ruthenium. **Inorganic Chemistry**. v. 17, p. 3334-3341, 1978.
65. BUSBY, M.; MATOUSEK, P.; TOWRIE, M.; CLARK, I. P.; MOTEVALLI, M.; HARTL, F.; VLCEK, J. Rhenium-to-benzoylpyridine and rhenium-to-bipyridine MLCT excited states of *fac*-[Re(Cl)(4-benzoylpyridine)₂(CO)₃] and *fac*-[Re(Cl)(4-benzoylpyridine)₂(CO)₃(bpy)]⁺: A time-resolved spectroscopic and spectroelectrochemical study. **Inorganic Chemistry**. v. 43, p. 4523-4530, 2004.
66. HOUSECROFT, Catherine E. **Inorganic Chemistry**. 2 ed. Pearson, 2005.

67. WALSH, J. L.; DURHAN, B. Trans Isomers of Ruthenium(II) Complexes Containing Two Bipyridine Ligands. **Inorganic Chemistry**. v. 21, p. 329-332, 1982.
68. NAKAMOTO, K., **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds**, New York: John Wiley & Sons. 1978.
69. FREEDMAN, D. A.; KRUNGER, S.; CRISTINA, R.; WYNER, C. Synthesis, characterization and reactivity of $[\text{Ru}(\text{bpy})(\text{CH}_3\text{CN})_3(\text{NO}_2)]\text{PF}_6$, a synthon for $[\text{Ru}(\text{bpy})(\text{L}_3)(\text{NO}_2)]$ complexes. **Inorganic Chemistry**. v. 45, p. 9559-9568, 2006.
70. SILVA, J. J. N.; GUEDES, P. M. M.; ZOTTIS, A.; BALLIANO, T. L.; SILVA, F. O. N.; LOPES, L. G. F.; ELLENA, J.; OLIVA, G.; ANDRICOPULO, A. D.; FRANCO, D. W.; SILVA, J. S. Novel ruthenium complexes as potencial drugs for chagas' disease: enzyme inhibition and *in vitro/in vivo* trypanocidal activity. **British Journal of Pharmacology**. v.160, p. 260-269, 2010.
71. OLIVEIRA, A. M. **Síntese, caracterização e estudo de reatividade dos complexos cis-[Ru(bpy)₂(TU)(H₂O)](PF₆)₂ e cis-[Ru(bpy)₂(TU)(NO)](PF₆)₃ (onde: bpy= 2,2'-Bipiridina e TU= Tiouréia)**. 2009. 88f. Dissertação (Mestrado em Química). Departamento de Química Orgânica e Inorgânica. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009.
72. SAUAIA, M.G.; SILVA, A.L.R.D. The reactivity of nitrosyl ruthenium complexes containing polypyridyl ligands. **Transition Metal Chemistry**. v. 28, p. 254-259, 2003.
73. CALLAHAN, R.W.; MEYER, T.J. Reversible electron transfer in ruthenium nitrosyl complexes. **Inorganic Chemistry**. v. 16, p. 574, 1977.
74. PEREIRA, W. G. **Síntese, caracterização e modificação de nanopartículas de prata pelo complexo cis-[Ru(bpy)₂(1,4-DT)NO](PF₆)₃**. 2013. Dissertação (Mestrado em Química). Departamento de Química Orgânica e Inorgânica. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.
75. TFOUNI, E.; KRIEGER, M.; MCGARVEY, B. R.; FRANCO, D. W. Structure, chemical and photochemical reactivity and biological activity of some ruthenium amine nitrosyl complexes. **Coordination Chemistry Reviews**. v. 236, p. 57-69, 2003.
76. BARBOSA, M. I. F. **Complexos Carbonílicos de Rutênio."De um gás tóxico a uma droga com potencial agente citotóxico"**. 2007. 129f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2007.
77. GODWIN, J. B.; MEYER, T. J. Nitrosyl-nitrite interconversion in ruthenium complexes. **Inorganic Chemistry**. v. 10, p. 2150, 1971.
78. CÂNDIDO, M. C. L. **Estudo da reatividade dos íons complexos cis-[Ru(bpy)₂L(NO)]ⁿ⁺ onde L= sulfito, imidazol, 1-metilimidazol e tiouréia**. 2011.

- 154f. Dissertação (Mestrado em Química)- Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.
79. ROSE, M. J.; MASCHARAK, P. K. Photoactive ruthenium nitrosyls: Effects of light and potential application as NO donors. **Coordination Chemistry Reviews**. v. 252, p. 2093. 2008.
80. LOPES, L. G. F. **Controle da reatividade do NO no trans-nitrosiltriethylfosfitotetraminrutênio(II)**. 1997. 95f. Tese (Doutorado em Química)- Programa de Pós-Graduação em Química-IQSC- USP. São Carlos, 1997.
81. RONCAROLI, F.; OLABE, J. A. The Reactions of Nitrosyl Complexes with Cysteine **Inorganic Chemistry**.v. 44, p. 4719-4727, 2005.
82. SILVA, F.O.N.; CANDIDO, M.C.L.; HOLANDA, A.K.M.; DIOGENES, I.C.N.; SOUZA, E.H.S.; LOPES, L.G.F. Mechanism and biological implications of the NO release of the cis-[Ru(bpy)₂L(NO)]ⁿ⁺ complexes: a key role of physiological thiols. **Journal Inorganic Biochemistry**. v. 105, p. 624-629, 2011.
83. SOUZA, M. L.; ROVEDA Jr.; PEREIRA, J. C. M.; FRANCO, D. W. New perspectives on the reactions of metals nitrosyls with thiolates as nucleophiles. **Coordination Chemistry Reviews**. 2015.
84. SANTOS, V.N.; MENDONÇA, G.L.F.; FREIRE, V.N.; HOLANDA, A.K.M.; SOUSA, J.R.; LOPES, L.G.F.; ELLENA, J.; CORREIA, A.N.; LIMA-NETO, P. Electrochemical and Monte Carlo studies of self-assembled trans-[Fe(cyclam)(NCS)₂]⁽⁺⁾ complex ion on gold surface as electrochemical sensor for nitric oxide. **Electrochimica Acta**. v. 91, p.1-10, 2013.
85. ROMBERG, R. W.; KASSNER, R. J. Nitric oxide and carbon monoxide equilibria of horse myoglobin and (N-methylimidazole)protoheme. Evidence for steric interaction with the distal residues. **Biochemistry**. v. 18, p. 5387, 1979.
86. CARVALHO, J. M. S. **Síntese e caracterização de complexos carbonílicos, para possível aplicação como liberadores de CO**. 2012. 89f. Dissertação (Mestrado em Química)- Departamento de Química Orgânica e Inorgânica. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.
87. GRADES, E. **CO release properties and biological activity of manganese tricarbonyl complexes**. 2012. 162f. (Dissertação).Fakultät für Chemie und Biochemie. Ruhr-Universität Bochum, Bochum, 2012.