



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

FLORÊNCIO SOUSA GOUVEIA JÚNIOR

**NOVOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO CONTENDO DERIVADOS IMIDAZÓLICOS:
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL TERAPÊUTICO**

FORTALEZA

2017

FLORENÇIO SOUSA GOUVEIA JÚNIOR

NOVOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO CONTENDO DERIVADOS IMIDAZÓLICOS:
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL TERAPÊUTICO

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

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes

Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa

FORTALEZA

2017

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)

- G739n Gouveia Júnior, Florêncio Sousa.
Novos complexos de rutênio contendo derivados imidazólicos : síntese, caracterização e avaliação do potencial terapêutico / Florêncio Sousa Gouveia Júnior. – 2017.
179 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2017.
Orientação: Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes.
Coorientação: Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa.
1. Rutênio. 2. Óxido Nítrico. 3. Radicais Livres. I. Título.

CDD 540

FLORENCIO SOUSA GOUVEIA JÚNIOR

NOVOS COMPLEXOS DE RUTÊNIO CONTENDO DERIVADOS IMIDAZÓLICOS:
SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL TERAPÊUTICO

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

Aprovada em: 17/02/2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes (Orientador)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Adonay Rodrigues Loiola

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Tércio de Freitas Paulo

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais, Florêncio e Fátima.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo conforto e refúgio em todas as horas.

Aos meus pais por todo carinho, amor e dedicação que ajudaram a fazer de mim a pessoa que sou hoje.

A minha irmã Rosana pela paciência nos meus momentos mais impacientes.

Ao Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes e ao Prof. Dr. Eduardo Henrique de Sousa pela orientação consistente e que vem contribuindo grandemente para minha formação profissional.

A Catherine pelo companheirismo e amizade que 3000 km de distância não conseguiram diminuir.

Aos companheiros de laboratório Josiane, Edinilton, Carlos Daniel, Amanda, Dieric, Marcos, Wellinson, Thyciano, André Florêncio, André Luiz, Auridéia, Wallyson, Samuel, Ricardo, Denise, Vivânia, Lícia, Gilmara, Ana Claudia, Marta, Damodara, Juliana, Jefferson, Pedro, Sérgio, Elis, Ramon, Thiago, Fernando e Natanna.

Aos professores do Laboratório de Química Bioinorgânica da UFC.

A professora Dávila Zampieri pelas análises de espectrometria de massas.

Ao João Alisson, a professora Helena Serra-azul e a equipe do LAFAVET pelos ensaios de vasodilatação.

Ao CENAPAD – SP pelos recursos computacionais utilizados.

A Capes, CNPq e FUNCAP pelo apoio financeiro.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação De Aperfeiçoamento De Pessoal De Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

If you wish to understand the fragrance of the rose, or the tenacity of the oak; if you are not satisfied until you know the secret paths by which the sunshine and the air achieve these wonders; if you wish to see the pattern which underlies one large field of human experience and human measurement, then take up chemistry. (C. A. Coulson, 1973)

RESUMO

Complexos de rutênio (II) tem sido alvo de intensa pesquisa nas últimas décadas por apresentarem grande potencial farmacológico para tratamento de diversas patologias, dentre elas o câncer. Adicionalmente, compostos de coordenação contendo derivados imidazólicos e ligantes do tipo NO_x também se mostraram como sistemas promissores por sua versatilidade e amplo espectro de aplicações terapêuticas (anticancerígena, bactericida, anti-hipertensiva, por exemplo). Diante disso, esse trabalho tem por objetivo sintetizar novos complexos de fórmula geral $\text{cis-}[\text{Ru}^{\text{II}}(\text{bpy})_2\text{L}_1\text{L}_2]^{\text{n}+}$, onde bpy =2,2'-bipiridina, L_1 =2-metilimidazol (2-MIM) ou etilenotiourea (ETU), L_2 = Cl^- , NO_2^- , NO^+ . A caracterização foi realizada através de técnicas espectroscópicas (espectroscopia vibracional na região do infravermelho, espectrometria de massas e espectroscopia eletrônica), ressonância magnética nuclear de ^1H , voltametria cíclica e análise elementar, sustentando as estruturas propostas. Os nitrosilo complexos sintetizados foram então estudados quanto a sua capacidade de liberação de óxido nítrico (NO^0) sob diferentes condições. O acompanhamento espectroscópico durante aplicação de potencial elétrico e sob irradiação de luz azul ($\lambda_{\text{max}}=460\text{ nm}$) indicou a formação de aquo-complexo, sugerindo a liberação de NO^0 . cPTIO e Metmioglobina (Fe^{3+}) também foram utilizados como sondas para detecção de óxido nítrico e evidenciaram a presença de NO por irradiação de luz, mas sugere a formação de nitroxil (HNO) através da redução com tióis (GSH e L-cisteína). Titulação espectrofotométrica mostrou que os compostos $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ e $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ apresentam pH de conversão $\text{NO}^+/\text{NO}_2^-$ iguais a 5,67 e 6,28, respectivamente. Testou-se também a reatividade dos nitrosilo complexos frente aos radicais superóxido e hidroxila. Os resultados obtidos sugerem que ambos os compostos apresentaram atividade antioxidante frente às espécies radicalares. Ensaio de citotoxicidade *in vitro* mostraram que os nitrosilo complexos tem baixa ação antineoplásica, mas os compostos $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})_2]^{2+}$ e $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{Cl}]^+$ apresentaram resultados promissores. Contudo, as espécies $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ e $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$, bem como seus respectivos precursores, foram bastante efetivas em testes de relaxamento vascular, demonstrando excelente atividade hipotensora. Em conjunto, esses resultados evidenciam a síntese de novos candidatos a metalofármacos com potencial aplicação como drogas anticancerígenas e anti-hipertensivas.

Palavras-chave: Rutênio. Óxido Nítrico. Radicais Livres.

ABSTRACT

Ruthenium (II) complexes have been under intense research in the last decades due to their high pharmacological potential in the treatment of different diseases, especially cancer. Moreover, coordination compounds containing imidazole derivatives and NO_x-like ligands also have been considered as promising systems, based on their versatility and wide range of therapeutic applications (anticancer, bactericidal, antihypertensive, for example). Considering that, the main goal of this work is synthesize new complexes with general formula *cis*-[Ru^{II}(bpy)₂L₁L₂]ⁿ⁺, where bpy=2,2'-bipyridine, L₁=2-methylimidazole (2-MIM) or ethylenethiourea (ETU), L₂=Cl⁻, NO₂⁻, NO⁺. The characterization was held using spectroscopic techniques (vibrational spectroscopy in the region of infrared, mass spectroscopy and electronic spectroscopy), ¹H nuclear magnetic resonance, cyclic voltammetry and elemental analysis, agreeing with the proposed structures. The nitric oxide (NO⁰) releasing capability of the synthesized nitrosyl complexes was evaluated under different conditions. The spectroscopic monitoring during the application of electric potential and under blue light irradiation (λ_{max}=460 nm) has indicated aquo-complex formation, suggesting NO⁰ releasing. cPTIO and Metmyoglobin (Fe³⁺) were also used as probes for nitric oxide detection and they evidenced the presence of NO during light irradiation, but suggest the formation of nitroxyl (HNO) through reduction with thiols (GSH and L-cysteine). Spectrophotometric titration has showed that compounds *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺ and *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺ presented NO⁺/NO₂⁻ conversion pH value equal to 5,67 and 6,28, respectively. In addition, reactivity of nitrosyl complexes facing superoxide and hydroxyl radicals was studied. The results suggested that both compounds presented antioxidant activity against free radicals. *In vitro* cytotoxicity assays showed that nitrosyl complexes have low antineoplastic effect, but the compounds *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂]²⁺ and *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺ showed promising results. However, the species *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺ and *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺, and their respective precursors as well, were very effective during vascular relaxament assays, demonstrating excellent hypotensive action. Taken together, these results evidence the synthesis of new candidates for metallopharmaceuticals with potential application as anticancer and antihypertensive drugs.

Keywords: Ruthenium. Nitric Oxide. Free radicals.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Índices de incidência e mortalidade de câncer por 100.000 habitantes a nível mundial em 2014.....	24
Figura 2 – Metalodrogas de platina e rutênio.....	26
Figura 3 – Exemplos de compostos imidazólicos com ação farmacológica conhecida.....	28
Figura 4 – Reação de síntese do óxido nítrico a partir do aminoácido L-arginina, catalisada pela enzima NOS.....	30
Figura 5 – Participação do óxido nítrico nas vias celulares de sinalização responsáveis pelo relaxamento vascular.....	31
Figura 6 – Estruturas propostas para os complexos sintetizados nesse trabalho (<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)Cl] ⁺ , <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM) ₂] ²⁺ , <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)Cl] ⁺ , <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO ₂)] ⁺ , <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO)] ³⁺ e <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)(NO)] ³⁺) e seus respectivos códigos.....	34
Figura 7 – Reator fotoquímico utilizado no estudo de fotólise com luz visível.....	39
Figura 8 – Espectros eletrônicos do cátion complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)Cl] ⁺ 2,9 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em água (→) e 2,2 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em acetonitrila (←).....	52
Figura 9 – Espectros eletrônicos teóricos da espécie <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)Cl] ⁺ simulados em água (A) e acetonitrila (B).....	53
Figura 10 – Contribuições dos orbitais moleculares da espécie <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)Cl] ⁺ em função de seus fragmentos: Ru (→), bpy (←), Cl ⁻ (→), 2-MIM (←).....	54
Figura 11 – Espectros eletrônicos do íon complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)Cl] ⁺ a 2,20 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em água (→) e 2,0 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em acetonitrila (←).....	55
Figura 12 – Espectros eletrônicos teóricos da espécie <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)Cl] ⁺ simulados em água (A) e acetonitrila (B).....	56

Figura 13 – Contribuições dos orbitais moleculares da espécie <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)Cl] ⁺ em função de seus fragmentos: Ru (—), bpy (—), Cl ⁻ (—), ETU (—).....	57
Figura 14 – Espectros vibracionais na região do infravermelho para os complexos <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)Cl](PF ₆) (—) e <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)Cl](PF ₆) (—) em pastilha de KBr.....	57
Figura 15 – Voltamogramas cíclicos para os íons complexos <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)Cl] ⁺ (—) e <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)Cl] ⁺ (—) em NaTFA 0,1 mol L ⁻¹ pH=3,0. V=100 mV s ⁻¹	59
Figura 16 – Espectros de RMN ¹ H dos compostos <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)Cl] ⁺ (A) e <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)Cl] ⁺ (B) em acetona <i>d</i> ₆	60
Figura 17 – Espectros eletrônicos do íon complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM) ₂] ²⁺ a 1,76 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em água (—) e 1,40 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em acetonitrila (—).....	63
Figura 18 – Espectros eletrônicos teóricos da espécie <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM) ₂] ²⁺ simulados em água (A) e acetonitrila (B).....	64
Figura 19 – Contribuições dos orbitais moleculares da espécie <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM) ₂] ²⁺ em função de seus fragmentos: Ru (—), bpy (—), 2-MIM (—).....	65
Figura 20 – Espectro de infravermelho do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM) ₂](PF ₆) ₂ em pastilha de KBr.....	66
Figura 21 – Voltamograma cíclico para o íon complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM) ₂] ²⁺ em NaTFA 0,1 mol L ⁻¹ pH=3,0. V=100 mV s ⁻¹	67
Figura 22 – Espectro de RMN ¹ H do composto <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM) ₂] ²⁺ em acetona <i>d</i> ₆	68
Figura 23 – Espectros eletrônicos do íon complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO ₂)] ⁺ a 2,9 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em água (—) e 2,3 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em acetonitrila (—).....	68
Figura 24 – Espectros eletrônicos teóricos da espécie <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO ₂)] ⁺ simulados em água (A) e acetonitrila (B).....	69

Figura 25 – Contribuições dos orbitais moleculares da espécie $cis-[Ru(bpy)_2(2-MIM)(NO_2)]^{2+}$ em função de seus fragmentos: Ru (—), bpy (—), 2-MIM (—), NO_2^- (—).....	70
Figura 26 – Espectro de infravermelho do complexo $cis-[Ru(bpy)_2(2-MIM)(NO_2)](PF_6)$ em pastilha de KBr.....	71
Figura 27 – Voltamograma cíclico (3 ciclos) para o íon complexo $cis-[Ru(bpy)_2(2-MIM)(NO_2)]^+$ em NaTFA 0,1 mol L ⁻¹ pH=3,0 V=100 mV s ⁻¹	73
Figura 28 – Espectro de RMN ¹ H do composto $cis-[Ru(bpy)_2(2-MIM)(NO_2)]^+$ em acetona <i>d</i> ₆	73
Figura 29 – Espectros eletrônicos do cátion complexo $cis-[Ru(bpy)_2(2-MIM)(NO)]^{3+}$ a 2,9 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ (—) em água e 2,0 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em acetonitrila (—).....	74
Figura 30 – Espectros eletrônicos teóricos da espécie $cis-[Ru(bpy)_2(2-MIM)(NO)]^{3+}$ simulados em água (A) e acetonitrila (B).....	75
Figura 31 – Contribuições dos orbitais moleculares da espécie $cis-[Ru(bpy)_2(2-MIM)(NO)]^{3+}$ em função de seus fragmentos: Ru (—), bpy (—), 2-MIM (—), NO^+ (—).....	76
Figura 32 – Espectros eletrônicos do ânion complexo $cis-[Ru(bpy)_2(ETU)(NO)]^{3+}$ a 1,4 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em água (—) e 1,8 x 10 ⁻⁵ mol L ⁻¹ em acetonitrila (—).....	77
Figura 33 – Espectros eletrônicos teóricos da espécie $cis-[Ru(bpy)_2(ETU)(NO)]^{3+}$ simulados em água (A) e acetonitrila (B).....	78
Figura 34 – Contribuições dos orbitais moleculares da espécie $cis-[Ru(bpy)_2(ETU)(NO)]^{3+}$ em função de seus fragmentos: Ru (—), bpy (—), ETU (—), NO^+ (—).....	79
Figura 35 – Espectros vibracionais de infravermelho dos complexos $cis-[Ru(bpy)_2(2-MIM)(NO)](PF_6)_3$ (—) e $cis-[Ru(bpy)_2(ETU)(NO)](PF_6)_3$ (—) em pastilha de KBr.....	79
Figura 36 – Geometrias de coordenação do ligante NO ao átomo de rutênio.....	80

Figura 37 – Voltamogramas cíclicos para os complexos $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ (—) e $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ (—) em NaTFA 0,1 Mol L ⁻¹ pH=3,0. V=100 mV s ⁻¹	81
Figura 38 – Correlação entre valores de E _{1/2} vs v(N≡O) para complexos de fórmula geral $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})\text{NO}]^{n+}$	82
Figura 39 – Espectros de RMN ¹ H dos compostos $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ (A) e $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ (B) em DMSO e acetona d ₆ , respectivamente.....	83
Figura 40 – Espectros de absorção eletrônica para o complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ durante aplicação de potencial a -200 mV (vs Ag/AgCl), em solução de HTFA 0,1 mol L ⁻¹ , pH=2,0; [Ru]=80,0 μmol L ⁻¹ . Inset: gráfico de monitoramento de eletrólise, tempo versus absorbância em 485 nm.....	86
Figura 41 – Espectros de absorção eletrônica para o complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ durante aplicação de potencial a -200 mV (vs Ag/AgCl), em solução de HTFA 0,1 mol L ⁻¹ , pH=2,0; [Ru]=80,0 μmol L ⁻¹ . Inset: gráfico de monitoramento de eletrólise, tempo versus absorbância em 487 nm.....	87
Figura 42 – Voltamogramas referentes a eletrólise da espécie $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ sob diferentes tempos de polarização a -200 mV (vs Ag/AgCl) em HTFA 0,1 mol L ⁻¹ , pH=3,0.....	88
Figura 43 – Voltamogramas referentes a eletrólise da espécie $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ sob diferentes tempos de polarização a -200 mV (vs Ag/AgCl) em HTFA 0,1 mol L ⁻¹ , pH=3,0.....	89
Figura 44 – Geometrias otimizadas dos complexos $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$ (A) e $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})]^{2+}$ (B) simulados em água.....	89
Figura 45 – Gráfico de absorbância versus pH para o complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$	91
Figura 46 – Gráfico de absorbância versus pH para o complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$	91

Figura 47 – Espectros de absorção eletrônica para a fotólise do composto <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO)] ³⁺ com luz azul (HTFA 0,1 mol L ⁻¹ , pH=3,0).....	93
Figura 48 – Espectros de absorção eletrônica para a fotólise do composto <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)(NO)] ³⁺ com luz azul (HTFA 0,1 mol L ⁻¹ , pH=3,0).....	94
Figura 49 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO)] ³⁺ com ânion superóxido.....	96
Figura 50 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)(NO)] ³⁺ com ânion superóxido.....	96
Figura 51 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)Cl] ⁺ com ânion superóxido.....	98
Figura 52 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM) ₂] ²⁺ com ânion superóxido.....	98
Figura 53 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO ₂)] ⁺ com ânion superóxido.....	99
Figura 54 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)Cl] ⁺ com ânion superóxido.....	99
Figura 55 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO)] ³⁺ com radical hidroxila.....	101
Figura 56 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)(NO)] ³⁺ com radical hidroxila.....	101
Figura 57 – Reações de cPTIO com NO e HNO e seus respectivos produtos.....	102
Figura 58 – Acompanhamento da fotólise com luz azul do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO)] ³⁺ na presença de cPTIO durante 60 minutos. <i>Inset</i> : variação da absorbância pelo tempo em 360 (←) e 560 nm (→). [Ru]= 50 μmol L ⁻¹ ; [cPTIO]= 160 μmol L ⁻¹	104
Figura 59 – Acompanhamento da fotólise com luz azul do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)(NO)] ³⁺ na presença de cPTIO durante 80 minutos. <i>Inset</i> : variação da absorbância pelo tempo em 360 (→) e 560 nm (←). [Ru]= 80 μmol L ⁻¹ ; [cPTIO]= 160 μmol L ⁻¹	105

Figura 60 – Acompanhamento da reação do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO)] ³⁺ com GSH na presença de cPTIO durante 30 minutos. <i>Inset</i> : variação da absorvância pelo tempo 560 nm. [Ru]= 100 μmol L ⁻¹ ; [GSH]= 280 μmol L ⁻¹ ; [cPTIO]= 160 μmol L ⁻¹	106
Figura 61 – Acompanhamento da reação do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO)] ³⁺ com GSH na presença de Met-Mb durante 30 minutos. [Ru]= 120 μmol L ⁻¹ ; [GSH]= 2,2 mmol L ⁻¹ ; [met-Mb] = 6,5 μmol L ⁻¹	107
Figura 62 – Acompanhamento da reação do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)(NO)] ³⁺ com GSH na presença de cPTIO durante 30 minutos. <i>Inset</i> : variação da absorvância pelo tempo 560 nm. [Ru]=20 μmol L ⁻¹ ; [GSH]= 160 μmol L ⁻¹ ; [cPTIO]= 160 μmol L ⁻¹	107
Figura 63 – Acompanhamento da reação do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)(NO)] ³⁺ com GSH na presença de Met-Mb durante 30 minutos. [Ru]= 60 μmol L ⁻¹ ; [GSH]=1,3 mmol L ⁻¹ ; [met-Mb]=6,5 μmol L ⁻¹	108
Figura 64 – Acompanhamento da reação do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO)] ³⁺ com L-cisteína na presença de cPTIO durante 30 minutos. <i>Inset</i> : variação da absorvância pelo tempo 560 nm. [Ru]= 100 μmol L ⁻¹ ; [L-cisteína]=280 μmol L ⁻¹ ; [cPTIO]= 160 μmol L ⁻¹	109
Figura 65 – Acompanhamento da reação do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO)] ³⁺ com L-cisteína na presença de Met-Mb durante 30 minutos. [Ru]= 120 μmol L ⁻¹ ; [L-cisteína]= 2,2 mmol L ⁻¹ ; [met-Mb]= 6,5 μmol L ⁻¹	109
Figura 66 – Acompanhamento da reação do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)(NO)] ³⁺ com L-cisteína na presença de cPTIO durante 30 minutos. <i>Inset</i> : variação da absorvância pelo tempo 560 nm. [Ru]= 100 μmol L ⁻¹ ; [L-cisteína]= 280 μmol L ⁻¹ ; [cPTIO]= 160 μmol L ⁻¹	110
Figura 67 – Acompanhamento da reação do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)(NO)] ³⁺ com L-cisteína na presença de Met-Mb durante 30 minutos. [Ru]= 60 μmol L ⁻¹ ;	

[L-cisteína] = 1,3 mmol L⁻¹; [met-Mb]= 6,5 μmol L⁻¹ 111

Figura 68 – Posições e conformações de menor energia cálculas por *docking* molecular para os complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺, *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺, *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂]²⁺, *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)]⁺, *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺ e *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺ 113

Figura 69 – Resultados dos ensaios de viabilidade celular dado em porcentagem de inibição do crescimento para as linhagens HCT-116 (—), SF-295 (—) e HL-60 (—)..... 116

Figura 70 – Curvas de concentração por porcentagem de contração para os compostos *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺, *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)]⁺ e *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺ em aortas (n=6) de rato pré contraídas com fenilefrina (0,1 μmol L⁻¹)..... 118

Figura 71 – Curvas de concentração por porcentagem de contração para os compostos *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺ e *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺ em aortas (n=6) de rato pré contraídas com fenilefrina (0,1 μmol L⁻¹)..... 119

Figura 72 – Curvas de concentração por porcentagem de contração para os compostos *cis*-[Ru(bpy)₂Cl₂] e os ligantes orgânicos 2MIM e ETU em aortas de rato (n=6) pré contraídas com fenilefrina (0,1 μmol L⁻¹)..... 120

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparação dos tempos e rendimentos das sínteses realizadas pelas duas rotas propostas.....	51
Tabela 2 – Modos vibracionais selecionados dos complexos <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)Cl](PF ₆) e <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)Cl](PF ₆) obtidos em pastilha de KBr.....	58
Tabela 3 – Atribuições dos sinais do espectro de RMN ¹ H para os complexos <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)Cl] ⁺ e <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)Cl] ⁺ (B) em acetona <i>d</i> ₆	61
Tabela 4 – Modos vibracionais selecionados do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM) ₂](PF ₆) ₂ obtidos em pastilha de KBr.....	66
Tabela 5 – Modos vibracionais selecionados do complexo <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO ₂)](PF ₆) obtidos em pastilha de KBr.....	71
Tabela 6 – Modos vibracionais selecionados dos complexos <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO)](PF ₆) ₃ e <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)(NO)](PF ₆) ₃ obtidos em pastilha de KBr.....	80
Tabela 7 – Atribuições dos espectros de RMN ¹ H dos complexos <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO)] ³⁺ e <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)(NO)] ³⁺	84
Tabela 8 – Valores de constante de equilíbrio (K _{NO}) para reação de interconversão NO ⁺ /NO ₂ ⁻ , pH de interconversão NO ⁺ /NO ₂ ⁻ (pK _{NO}), frequência de estiramento da ligação N≡O ⁺ , e E _{1/2} vs Ag/AgCl para o processo NO ⁺ /NO ⁰ coordenado, para sistemas <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (L)NO] ⁿ⁺	92
Tabela 9 – Valores de IC ₅₀ e de constante de velocidade aparente para reação com superóxido.....	100
Tabela 10 – Valores de energia (kcal mol ⁻¹) para as conformações mais estáveis dos complexos diante dos alvos selecionados.....	112

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-MIM	2-metilimidazol
4-bzpy	4-benzoilpiridina
bpy	2,2'-bipiridina
COSY	<i>Correlation spectroscopy</i>
DFT	<i>Density Functional Theory</i> (Teoria do Funcional de Densidade)
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucléico
$E_{1/2}$	Potencial de meia onda
EC ₅₀	Concentração da droga requerida para atingir 50% do efeito
ESR	<i>Electron spin resonance</i> (Ressonância de spin eletrônico)
ETU	Etilenotiureia (2-imidazolidinotona)
HOMO	<i>Highest occupied molecular orbital</i> (Orbital molecular ocupado de maior energia)
HRESI-MS	<i>High resolution electrospray ionization mass spectrometry</i>
HTFA	Ácido trifluoroacético
IC ₅₀	Concentração da droga requerida para inibição de 50% do crescimento
IL	Transição intraligante
ImN	Imidazol
INCA	Instituto Nacional do Câncer
i.p.	intraperitoneal
IsN	Isonicotinamida
IV	Infravermelho
J	Joule
LED	<i>Light-emitting diode</i> (diodo emissor de luz)

LLCT	<i>Ligand-ligand charge-transfer</i> (Transferência de carga ligante-ligante)
LUMO	<i>Lowest unoccupied molecular orbital</i> (Orbital molecular desocupado de menor energia)
MLCT	<i>Metal-ligand charge-transfer</i> (Transferência de carga metal-ligante)
MTT	Brometo de 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium
N	Newton
NOLHA	N ^o -hidroxi-L-arginina
NOS	<i>Nitric oxide synthase</i> (óxido nítrico sintase)
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCM	Polarizable continuum model (Modelo do Contínuo Polarizável)
PDE	<i>Phosphodiesterase</i> (fosfodiesterase)
pH	Potencial hidrogeniônico
PHE	<i>Phenylephrine</i> (fenilefrina)
PKG	<i>Protein kinase G</i> (Proteína quinase G)
pK _{NO}	pH de interconversão NO ⁺ /NO ₂ ⁻
RMN	Ressonância magnética nuclear
sGC	<i>Soluble guanylate cyclase</i> (Guanilato ciclase solúvel)
SWV	<i>Square Wave Voltammetry</i> (Voltametria de Onda Quadrada)
TD-DFT	<i>Time-dependent density functional theory</i> (Teoria do funcional de densidade dependente do tempo)
TU	Tiouréia
UV	Ultravioleta
W	Watt

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	23
1.1	Câncer: conceitos e características.....	23
1.2	Metalofármacos no tratamento de neoplasias.....	25
1.3	Ligantes N-heterocíclicos: derivados piridínicos e imidazólicos.....	27
1.4	Óxido nítrico.....	29
2	JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	33
3	METODOLOGIA EXPERIMENTAL.....	35
3.1	Atmosfera inerte.....	35
3.2	Água e solventes orgânicos.....	35
3.3	Reagentes	35
3.4	Óxido nítrico (NO).....	36
3.5	Equipamentos e Instrumentação.....	36
3.5.1	<i>Espectrometria de massas.....</i>	<i>36</i>
3.5.2	<i>Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho.....</i>	<i>37</i>
3.5.3	<i>Espectroscopia Eletrônica de Absorção na Região do Ultravioleta e Visível.....</i>	<i>37</i>
3.5.4	<i>Medidas eletroquímicas.....</i>	<i>37</i>
3.5.5	<i>Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear</i>	<i>37</i>
3.5.6	<i>Procedimentos sintéticos em reator micro-ondas.....</i>	<i>38</i>
3.5.7	<i>Condutividade molar.....</i>	<i>38</i>
3.6	Ensaio de reatividade.....	38
3.6.1	<i>Determinação da constante de equilíbrio.....</i>	<i>38</i>
3.6.2	<i>Acompanhamento espectroscópico sob eletrólise a potencial controlado.....</i>	<i>39</i>
3.6.3	<i>Acompanhamento espectroscópico sob irradiação com luz azul.....</i>	<i>39</i>
3.6.4	<i>Ensaio para detecção de NO/HNO.....</i>	<i>40</i>
3.6.5	<i>Reatividade com radical superóxido.....</i>	<i>40</i>
3.6.6	<i>Reatividade com radical hidroxila.....</i>	<i>41</i>
3.7	Modelagem Molecular.....	41
3.7.1	<i>Cálculos quanto-mecânicos.....</i>	<i>42</i>
3.7.2	<i>Docking molecular.....</i>	<i>42</i>
3.8	Ensaio farmacológico.....	43
3.8.1	<i>Citotoxicidade in vitro.....</i>	<i>43</i>

3.8.2	Avaliação da reatividade vascular.....	44
3.9	Procedimentos sintéticos.....	45
3.9.1	Procedimentos por rotas convencionais.....	45
3.9.1.1	<i>cis</i> -[Ru(<i>bpy</i>) ₂ Cl ₂].....	45
3.9.1.2	<i>cis</i> -[Ru(<i>bpy</i>) ₂ (2-MIM)Cl](PF ₆).....	45
3.9.1.3	<i>cis</i> -[Ru(<i>bpy</i>) ₂ (2-MIM) ₂](PF ₆) ₂	46
3.9.1.4	<i>cis</i> -[Ru(<i>bpy</i>) ₂ (2-MIM)(NO ₂)](PF ₆).....	46
3.9.1.5	<i>cis</i> -[Ru(<i>bpy</i>) ₂ (ETU)Cl](PF ₆).....	47
3.9.1.6	<i>cis</i> -[Ru(<i>bpy</i>) ₂ (2-MIM)(NO)](PF ₆) ₃	47
3.9.1.7	<i>cis</i> -[Ru(<i>bpy</i>) ₂ (ETU)(NO)](PF ₆) ₃	47
3.9.2	Procedimentos em reator micro-ondas.....	48
3.9.2.1	<i>cis</i> -[Ru(<i>bpy</i>) ₂ Cl ₂].....	48
3.9.2.2	<i>cis</i> -[Ru(<i>bpy</i>) ₂ (2-MIM)Cl](PF ₆).....	48
3.9.2.3	<i>cis</i> -[Ru(<i>bpy</i>) ₂ (2-MIM) ₂](PF ₆) ₂	49
3.9.2.4	<i>cis</i> -[Ru(<i>bpy</i>) ₂ (2-MIM)(NO ₂)](PF ₆).....	49
3.9.2.5	<i>cis</i> -[Ru(<i>bpy</i>) ₂ (ETU)Cl](PF ₆).....	49
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
4.1	Avaliação das rotas sintéticas.....	51
4.2	Caracterização dos complexos <i>cis</i>-[Ru(<i>bpy</i>)₂(L)Cl](PF₆), onde L=2-MIM e ETU.....	52
4.3	Caracterização do complexo <i>cis</i>-[Ru(<i>bpy</i>)₂(2-MIM)₂](PF₆)₂.....	62
4.4	Caracterização do complexo <i>cis</i>-[Ru(<i>bpy</i>)₂(2-MIM)(NO₂)](PF₆).....	68
4.5	Caracterização dos complexos <i>cis</i>-[Ru(<i>bpy</i>)₂(2-MIM)(NO)](PF₆)₃ e <i>cis</i>-[Ru(<i>bpy</i>)₂(ETU)(NO)](PF₆)₃.....	74
4.6	Acompanhamento espectroscópico sob eletrólise a potencial controlado.....	85
4.7	Determinação da constante de equilíbrio de interconversão NO⁺/NO₂⁻.....	90
4.8	Estudo fotoquímico preliminar.....	93
4.9	Reatividade com radicais de interesse biológico.....	95
4.10	Detecção de NO/HNO.....	102
4.10.1	<i>Detecção de NO/HNO durante fotólise.....</i>	103
4.10.2	<i>Detecção de NO/HNO na presença de tióis.....</i>	105
4.11	Docking molecular.....	111
4.12	Avaliação da citotoxicidade.....	115

4.13	Avaliação da atividade vascular.....	117
5	CONCLUSÕES.....	121
	REFERÊNCIAS.....	123
	APÊNDICE A – ATRIBUIÇÕES E VALORES DE COEFICIENTE DE ABSORTIVIDADE MOLAR PARA OS COMPLEXOS SINTETIZADOS, EM ACETONITRILA.....	133
	APÊNDICE B – ESPECTRO BIDIMENSIONAL COSY PARA O COMPLEXO <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)Cl](PF ₆) EM ACETONA <i>d</i> ₆	134
	APÊNDICE C – ESPECTRO BIDIMENSIONAL COSY PARA O COMPLEXO <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)Cl](PF ₆) EM ACETONA <i>d</i> ₆	135
	APÊNDICE D – ESPECTRO DE RMN ¹ H DO LIGANTE 2-METILIMIDAZOL EM ACETONA <i>d</i> ₆	136
	APÊNDICE E – ESPECTRO DE RMN ¹ H DO LIGANTE ETILENOTIOUREIA EM ACETONA <i>d</i> ₆	137
	APÊNDICE F – ESPECTROS DE HRESI-MS PARA OS COMPOSTOS OBTIDOS.....	138
	APÊNDICE G – ESPECTRO BIDIMENSIONAL COSY PARA O COMPLEXO <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM) ₂](PF ₆) EM ACETONA <i>d</i> ₆	141
	APÊNDICE H – VOLTAMOGRAMA CÍCLICO (32 CICLOS) PARA O ÍON COMPLEXO <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO ₂)] ⁺ EM NaTFA 0,1 MOL L ⁻¹ pH=3,0. V=100 mV s ⁻¹	142
	APÊNDICE I – ESPECTRO BIDIMENSIONAL COSY PARA O COMPLEXO <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO ₂)](PF ₆) EM ACETONA <i>d</i> ₆	143
	APÊNDICE J – ATRIBUIÇÕES DOS ESPECTROS DE RMN H ¹ DO COMPLEXO <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO ₂)] ⁺	144
	APÊNDICE K – ESPECTRO BIDIMENSIONAL COSY PARA O COMPLEXO <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO)](PF ₆) ₃ EM DMSO <i>d</i> ₆	145
	APÊNDICE L – ESPECTRO BIDIMENSIONAL COSY PARA O COMPLEXO <i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)(NO)](PF ₆) ₃ EM ACETONA <i>d</i> ₆	146
	APÊNDICE M – RESULTADOS DOS CÁLCULOS DE DOCKING MOLECULAR PARA OS COMPLEXOS FOR0011A, FOR0011AA, FOR0011B, FOR0711A, FOR0811A E FOR0811B.....	147

APÊNDICE N – CONTORNOS DE ORBITAIS MOLECULARES SELECIONADOS DO COMPLEXO <i>cis</i>-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺.....	169
APÊNDICE O – CONTORNOS DE ORBITAIS MOLECULARES SELECIONADOS DO COMPLEXO <i>cis</i>-[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂]²⁺.....	171
APÊNDICE P – CONTORNOS DE ORBITAIS MOLECULARES SELECIONADOS DO COMPLEXO <i>cis</i>-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺.....	173
APÊNDICE Q – CONTORNOS DE ORBITAIS MOLECULARES SELECIONADOS DO COMPLEXO <i>cis</i>-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)]⁺.....	175
APÊNDICE R – CONTORNOS DE ORBITAIS MOLECULARES SELECIONADOS DO COMPLEXO <i>cis</i>-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺.....	177
APÊNDICE S – CONTORNOS DE ORBITAIS MOLECULARES SELECIONADOS DO COMPLEXO <i>cis</i>-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺.....	179

1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer: conceitos e características

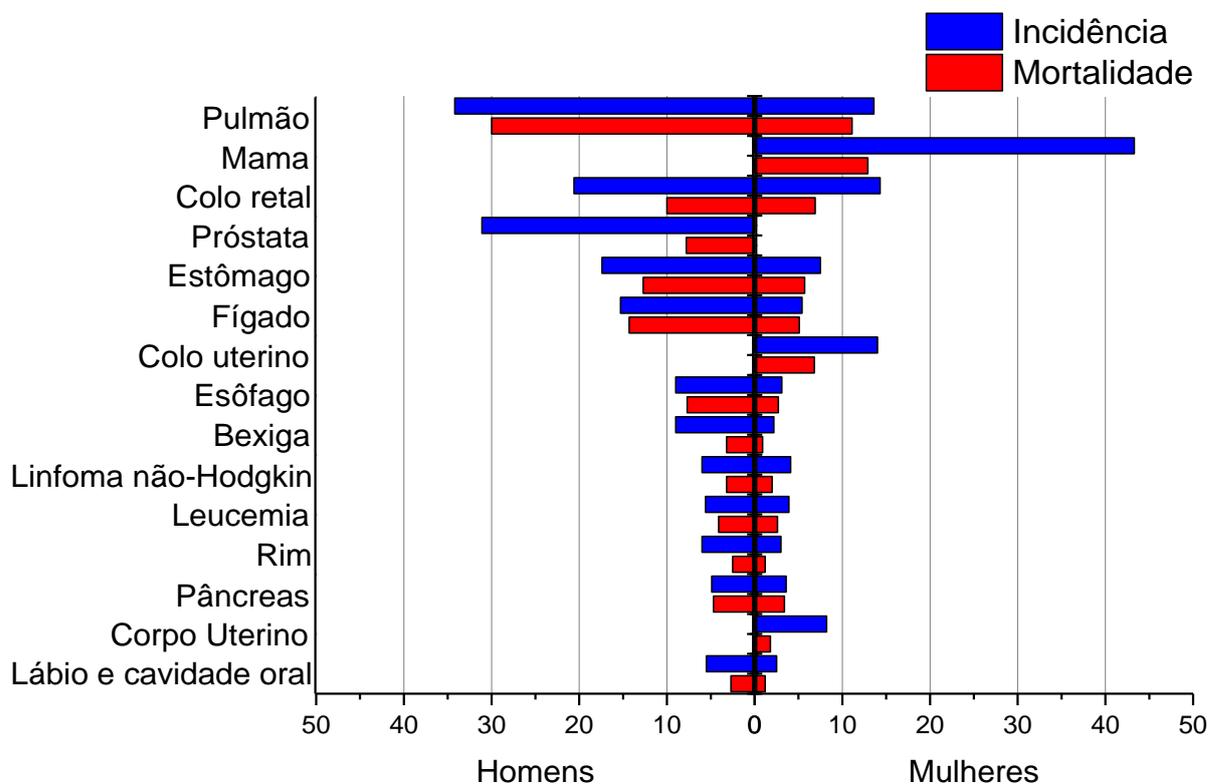
Câncer, neoplasia ou tumor maligno são termos utilizados para designar um grupo de doenças que tem como característica comum a multiplicação rápida e desordenada das células de um tecido.¹ Dentre as muitas definições já utilizadas para descrever o neoplasma como patologia, umas das mais aceitas o conceitua como “uma massa anormal de tecido cujo o crescimento é excedente e descoordenado em relação aos tecidos normais e que persiste de maneira excessiva mesmo após cessar o estímulo que provocou sua modificação.”² Esse ganho de tamanho e massa tecidual não só é capaz de provocar danos à sua vizinhança imediata através da compressão de nervos e vasos sanguíneos e de processos inflamatórios intensos, como também pode espalhar-se por outros órgãos e iniciar novos focos tumorais, caracterizando o fenômeno conhecido como metástase.^{1,2} Independente disso, o câncer, se não diagnosticado e tratado em tempo hábil, gera perda progressiva das funções normais do organismo levando-o a óbito em questão de meses.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, o câncer é a principal causa de morbidade e mortalidade nos últimos 3 anos, com o surgimento de 14 milhões de novos casos e 8 milhões de óbitos por ano.³ Os 5 tipos de câncer com maior prevalência (Figura 1), independente do sexo, a nível mundial são pulmão (13%), mama (11,9%), colo retal (9,7%), próstata (7,9%) e estômago (6,8%). Contudo, as estimativas de mortalidade revelam que as malignidades de pulmão (19,4%), fígado (9,4%), estômago (8,8%), colo retal (8,5%) e mama (6,5%) lideram os números de óbitos, indicando que a incidência e a agressividade da doença não estão necessariamente associadas.^{3,4} Além disso, 60% dos casos de tumores em todo o mundo estão concentrados na Ásia, África e América Latina, sendo essas mesmas regiões responsáveis por 70% das mortes associadas ao câncer. A distribuição dos casos pelo mundo apresenta uma expressiva regionalização para determinadas variações da doença, indicando que medidas de prevenção e tratamento específicas devem ser empregadas de forma individualizada e respeitando as especificidades em questão.³

No Brasil, dados do Ministério da Saúde (MS) mostram que no período entre fevereiro de 2015 e fevereiro de 2016 foram registradas 813.678 internações decorrentes de

diagnósticos de doenças elencadas no capítulo II (neoplasias) da Classificação Internacional de Doenças (CID-10) e 68.108 (8,37%) desses pacientes hospitalizados foram a óbito.⁵ Adicionalmente, estimativas do Instituto Nacional do Câncer (INCA) e do MS indicam que 596.000 novos casos de pacientes com tumores foram diagnosticados em 2016, sendo as maiores incidências de câncer de próstata, mama, estômago, trato respiratório, cólon e reto.⁶

Figura 1 – Índices de incidência e mortalidade de câncer por 100.000 habitantes a nível mundial em 2014.



Fonte: adaptado de referência [3].

Apesar de a origem celular do câncer já ser conhecida há mais de 150 anos, em função do trabalho de microscopia de Rudolf Virchow,⁷ a origem molecular dessa doença ainda é intensamente discutida e pesquisada. Sabe-se hoje que o surgimento de neoplasias está relacionado primordialmente à defeitos na expressão de genes que regulam positivamente e negativamente a proliferação, migração e diferenciação celular. Esses segmentos do código genético são conhecidos como proto-oncogenes, ou genes supressores de tumor, e após sofrerem modificações (deleções, translocação, alterações epigenéticas, por exemplo) passam a ser chamados de oncogenes.^{1, 8} Diversos fatores podem gerar mutações no DNA. Atualmente

conhece-se um grande número de substâncias químicas, denominadas carcinógenos,⁹ capazes de alterar o material genético, tais como radicais livres, derivados de nucleotídeos e intercaladores de ácidos nucleicos.^{9, 10} Fatores físicos também podem danificar genes, levando a formação de tumores. Radiação eletromagnética de alta energia (ultravioleta, radiação gama, raios X) são capazes de romper ligações químicas na cadeia de DNA, causando mutações.^{1, 9} Além disso, agentes biológicos como vírus e bactérias já foram relacionados ao aparecimento de neoplasias, devido a possibilidade desses microrganismos em integrar o próprio material genético ao do hospedeiro. O papilomavirus humano (HPV) e o vírus da hepatite B tem a capacidade de atravessar a membrana nuclear, associar sua molécula de ácido nucléico ao da célula infectada e levar ao surgimento de câncer cervical uterino e hepatocarcinoma, respectivamente.^{1, 2}

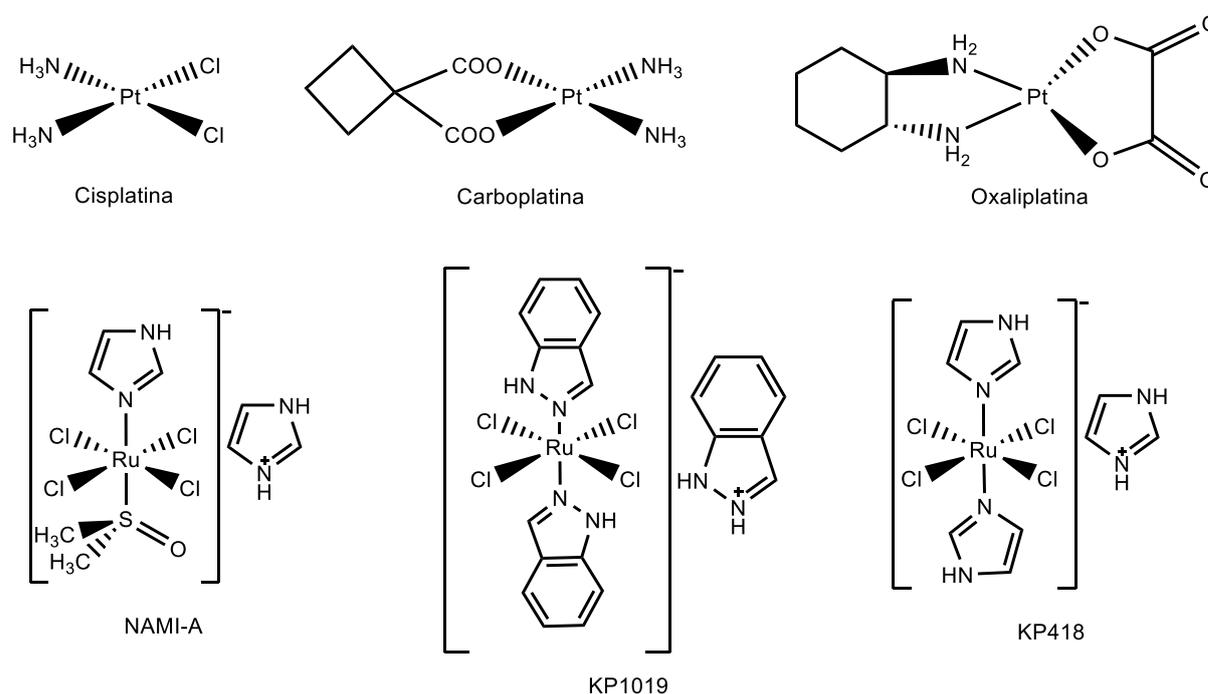
Atualmente, são utilizadas diversas estratégias para o tratamento de neoplasmas. Radioterapia, quimioterapia e intervenções cirúrgicas são as principais modalidades terapêuticas em uso e juntas são responsáveis por mais de 50% dos casos tratados com sucesso.¹¹ Nos últimos anos, novas terapias tem sido introduzidas no rol de métodos de combate ao câncer, tais como o uso de anticorpos monoclonais, agentes anti-angiogênicos e viroterapia.^{11, 12} Contudo, mesmo com o constante melhoramento do arsenal terapêutico disponível, faz-se ainda necessária intensa pesquisa no desenvolvimento de novas drogas capazes de tratar eficientemente os tipos mais agressivos de tumores, além de minimizar os efeitos adversos para o paciente. Nesse sentido, os fármacos baseados em complexos de coordenação têm se mostrado como uma alternativa promissora.

1.2 Metalofármacos no tratamento de neoplasias

Medicamentos baseados em complexos de coordenação tem sido extensivamente pesquisados nos últimos anos como estratégia para o tratamento tanto de patologias infecciosas como de doenças não-transmissíveis.¹³⁻¹⁷ No caso da terapia contra o câncer, as metalodrogas trouxeram uma significativa contribuição para o arsenal terapêutico com o desenvolvimento dos complexos de platina (Figura 2), dentre os quais a cisplatina, a carboplatina, a oxaliplatina e a satraplatina.¹⁸ Tais substâncias apresentaram grande sucesso no tratamento de tumores de testículo, ovário, pescoço e cabeça,¹⁹ o que levou os pesquisadores a focarem seus esforços na síntese de compostos análogos com o mesmo centro metálico. Contudo, as múltiplas reações

adversas desencadeadas pelos derivados platínicos, tais como neurotoxicidade, dano renal e desenvolvimento de resistência,¹⁸⁻²¹ redirecionaram as pesquisas para a busca de novas drogas baseadas em outros metais, como ouro, titânio, vanádio, ósmio, cobre, entre outros.²²⁻²⁴ Além destes, metalofármacos contendo rutênio tem se mostrado bastante promissores nessa e em outras aplicações.

Figura 2 – Metalodrogas de platina e rutênio.



Fonte: elaborado pelo autor

Complexos metálicos de rutênio com finalidade terapêutica vêm sendo alvo de intensa pesquisa nas últimas três décadas em razão de suas propriedades compatíveis com o uso medicinal.²⁵ Dentre elas, pode-se citar: presença de até seis sítios de coordenação (geometria octaédrica), estabilidade em diferentes estados de oxidação (II, III) sob condições fisiológicas, baixa toxicidade, possibilidade de aplicação em terapia fotodinâmica, além de sua similaridade com o elemento ferro no que diz respeito ao seu metabolismo em sistemas biológicos.^{25, 26}

Os primeiros compostos de coordenação contendo rutênio a apresentarem atividade antitumoral *in vitro* foram os complexos *fac*-Ru(NH₃)₃Cl₃ e outros derivados contendo o ligante amino, análogos à cisplatina.²² Contudo, devido a problemas de solubilidade e outras incompatibilidades farmacêuticas, esse tipo de sistema teve de ser abandonado. Pouco tempo

depois, complexos derivados do sistema *trans*-RuCl₂(DMSO)₄ apresentaram os primeiros resultados equiparáveis aos compostos de platina: surgiam as espécies [H₂im]{*trans*-[RuCl₄(DMSO)(Him)]} (NAMI-A), [H₂im]{*trans*-[RuCl₄(Him)₂] } (KP418) e [H₂ind]{*trans*-[RuCl₄(Hind)₂] } (KP1019).^{18, 25, 27} Tais complexos (Figura 2) apresentaram propriedades bastante diversificadas, que destoavam daquelas apresentadas pela cisplatina e seus similares. O composto NAMI-A, por exemplo, mostrou-se de grande eficácia contra metástases, apesar de ser pouco ativo contra tumores sólidos.²⁸ Além disso, os mecanismos envolvidos na ação farmacológica dessas espécies parecem não envolver ligação com DNA, diferindo da rota de ação proposta para as metalodrogas em uso naquele momento. Tem sido reportado que a atividade antimetastática e antiangiogênica do NAMI-A se dá, em parte, pela sua atuação como capturador de óxido nítrico (NO), enquanto KP1019 é capaz de interagir com proteínas do epigenoma, interferindo na replicação do material genético.^{28, 29}

As características de um complexo de coordenação não são exclusivamente dependentes do centro metálico, mas são moduladas pelos ligantes coordenados a ele. No caso dos metalofármacos, esse fato tem grande relevância, visto que, através da mudança dos ligantes na esfera de coordenação, pode-se fazer o ajuste fino das propriedades desejáveis para uma espécie com ação farmacológica específica. Além disso, pode-se fazer uso da ação catalítica ou das propriedades redox do átomo central para promover reações que ativem o ligante (pró-fármaco) ou ainda que o libilize, liberando-o em um local de interesse no organismo e promovendo uma ação específica.^{19, 25} Algumas dessas espécies são descritas em maior detalhe nas seções a seguir.

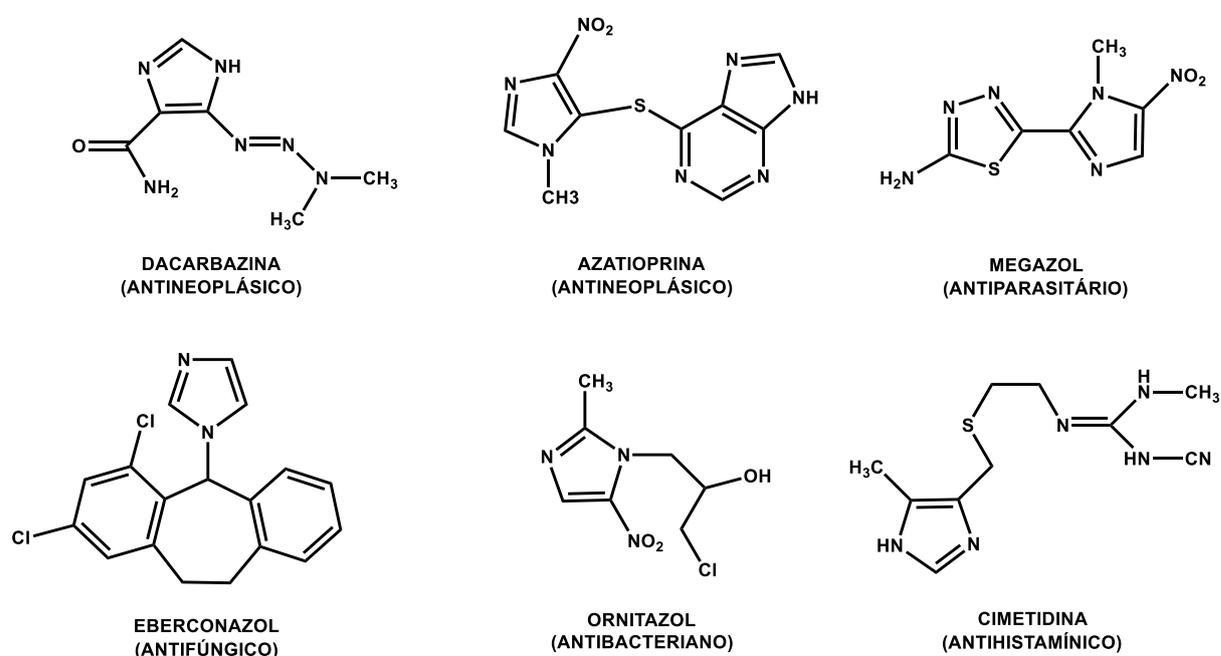
1.3 Ligantes N-heterocíclicos: derivados piridínicos e imidazólicos

Ligantes N-heterocíclicos estão entre os compostos orgânicos mais versáteis utilizados em química de coordenação. Visto que podem ser aromáticos ou alifáticos, constituídos por anéis conjugados ou não e ainda possuir diferentes tipos de substituintes em posições variadas, esse tipo de ligante vem sendo extensivamente estudados em combinação com diversos centros metálicos.³⁰ Adicionalmente, são adequados à retrodoação de densidade eletrônica, pois possuem orbitais π antiligantes vazios além de, em geral, possuírem pares de elétrons disponíveis para a formação de ligações fortes, estabilizando metais em baixo estado redox.³¹

Complexos de rutênio (II) contendo ligantes N-heterocíclicos do tipo (poli)piridínicos apresentam aplicações diversas. Catálise,^{32,33} fotoquímica,³⁴ medicina^{35,36} são alguns exemplos de áreas nas quais esse tipo de composto tem sido intensivamente estudado. Tem se observado que essa classe de ligantes não só estabiliza eficientemente o centro metálico, como também modula as propriedades redox dos complexos inorgânicos e permite que esses mimetizem a ação de algumas biomoléculas.^{26,37}

Compostos imidazólicos constituem outro conjunto de ligantes N-heterocíclicos que apresenta grande importância. Apesar de serem espécies, em geral, estruturalmente simples, já foram identificadas diversas aplicações para derivados do imidazol, tais como: catálise, desenvolvimento de explosivos, resistência a corrosão, bem como aplicações medicinais.³⁸ Nesse último caso, percebe-se a grande versatilidade desses compostos, visto que derivados imidazólicos são utilizados na prática clínica como drogas anticancerígenas, antifúngicas, antiparasitárias, anti-histamínicas, antineuropáticas, bactericidas, anti-inflamatória, antiviral e anti-hipertensiva.³⁹ Exemplos desses compostos estão ilustrados na Figura 3.

Figura 3 – Exemplos de compostos imidazólicos com ação farmacológica conhecida.



Fonte: adaptado de referência [40].

No caso específico da sua ação antitumoral, o grupo imidazol atua geralmente interferindo na síntese do DNA por meio de interações fracas, tais como ligação de hidrogênio e empilhamento pi (π - π *stacking*), inviabilizando o crescimento e a divisão celular. Além disso, esses compostos também podem se ligar eficientemente a proteínas que já são reconhecidamente alvos moleculares de interesse no tratamento de tumores. Inibição da atividade de proteínas da família das topoisomerasas, interrupção da polimerização de microtúbulos, inibição de enzimas da família citocromo c P450 e RAF quinase, supressão da ação do TGF- β e farnesiltransferases são exemplos de mecanismos estabelecidos para a atividade antitumoral de compostos imidazólicos.³⁹

1.4 Óxido nítrico

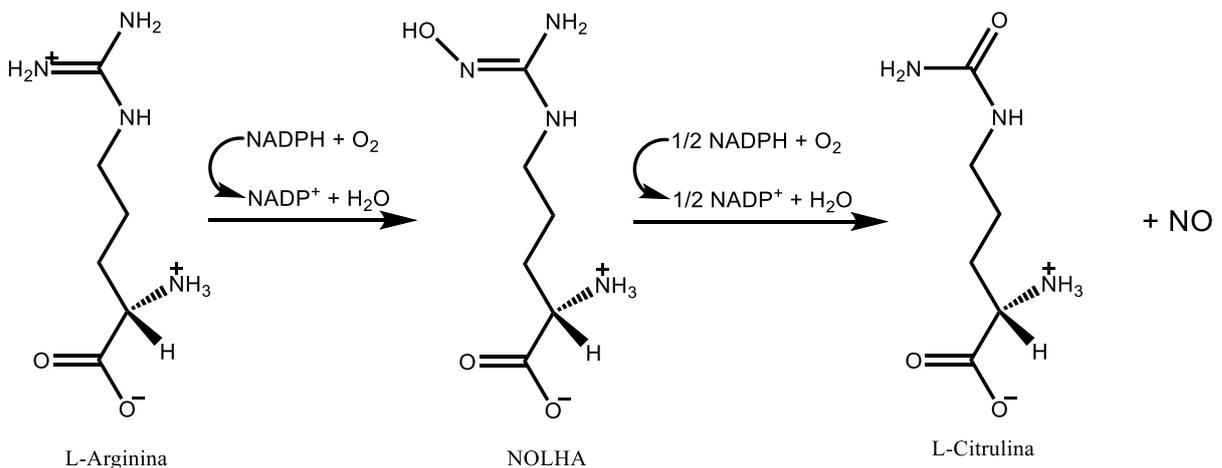
O óxido nítrico é a menor molécula inorgânica contendo nitrogênio e paramagnética conhecida. Na natureza, apresenta-se como um gás incolor (P.E. = -151,7 °C) e termodinamicamente instável ($\Delta G^\circ = 86,57 \text{ kJ mol}^{-1}$), sendo decomposto a nitrogênio e oxigênio gasoso quando em elevadas temperaturas. Nas condições normais de temperatura e pressão (25 °C e 1,0 atm), apresenta baixa solubilidade em meio aquoso (aproximadamente 2,0 mmol L⁻¹). Devido ao caráter lipofílico de sua molécula, o NO mostra maior solubilidade em solventes apolares, sendo de 6 a 8 vezes maior em relação à água.⁴⁰ Observando sua estrutura de Lewis, verifica-se prontamente a existência de um elétron desemparelhado em sua camada de valência, o que faz a molécula de óxido nítrico ser considerada formalmente como um radical. Apesar disso, não é detectado pela técnica de ESR à temperatura ambiente, uma vez que sofre dimerização.⁴¹

Até meados da década de 1970, o NO era conhecido somente como uma espécie inorgânica instável, a qual havia sido identificada como um perigoso poluente atmosférico, sendo um dos responsáveis pelo *smog* fotoquímico.⁴⁰ Contudo, esse panorama mudou quando os trabalhos de Ignarro, Furchgott e Murad levaram a identificação do Fator Relaxante derivado do Endotélio (EDRF) como sendo o óxido nítrico. A descoberta que inicialmente foi alvo de diversas críticas e dúvidas, rendeu, alguns anos depois, o Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia aos 3 pesquisadores e revolucionou o entendimento dos mecanismos de sinalização endógena envolvendo pequenas moléculas inorgânicas.⁴²

Desde então, além de ser reconhecido como um dos fatores mais importantes na regulação da pressão sanguínea, uma série de outras funções fisiológicas foram identificadas para o óxido nítrico. Dentre essas, pode-se destacar a participação em processos inflamatórios (com ação bactericida e pró-apoptótica), inibição de agregação plaquetária, transmissão do impulso nervoso, proteção do sistema cardiovascular, controle da proliferação e diferenciação de células tronco, entre outras atribuições.^{40, 43}

No natureza, NO é produzido pela reação entre nitrogênio e oxigênio molecular na presença de descargas elétricas. Endogenamente, nas condições fisiológicas, essa espécie é gerada através da reação de oxidação do aminoácido L-arginina em meio aeróbio (Figura 4), sendo catalisada por uma classe de enzimas denominada Óxido Nítrico Sintase (NOS). Existem 3 isoformas conhecidas de NOS: endotelial (eNOS), que regula a pressão sanguínea; induzida (iNOS), presente nos macrófagos e neutrófilos e contribui para o *oxidative burst*; neuronal (nNOS), que produz NO na fenda sináptica.^{40, 43, 44} Essas isoenzimas diferem não somente no propósito para o qual o óxido nítrico é produzido, mas também na sua localização no organismo e nas condições em que são expressas e ativadas.⁴⁵

Figura 4 – Reação de síntese do óxido nítrico a partir do aminoácido L-arginina, catalisada pela enzima NOS.

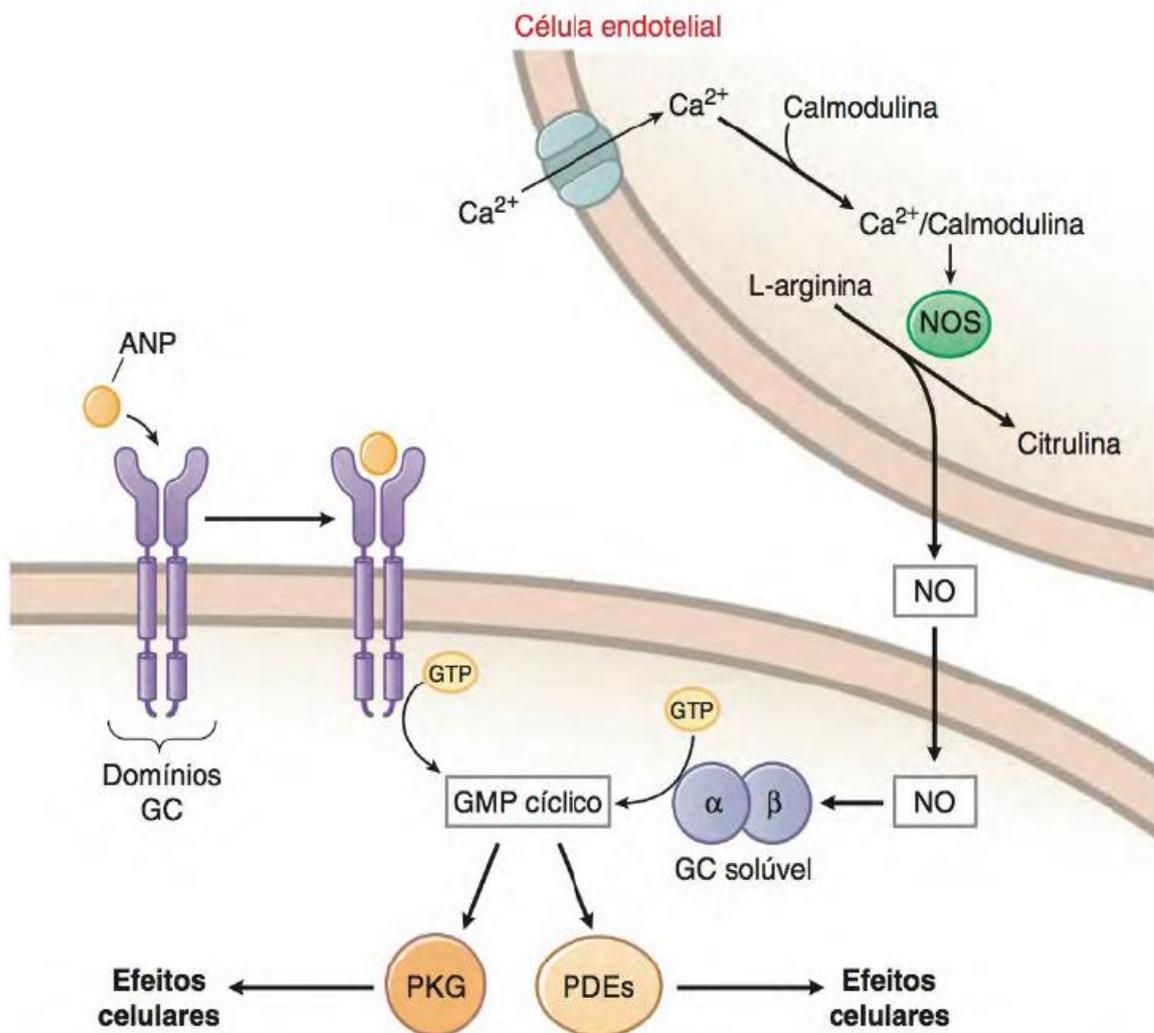


Fonte: adaptado de referência [41].

Dentre os diversos alvos biológicos do óxido nítrico, a isoforma solúvel da enzima guanilato ciclase (sGC) é um dos mais importantes, visto que, até o momento, é o receptor identificado mais sensível a essa espécie.^{43,46} Além disso, essa proteína é parte essencial do

principal mecanismo fisiológico de regulação da pressão arterial (Figura 5), através do controle do tônus da musculatura dos vasos sanguíneos. A resposta autônoma tem início com o estímulo parassimpático através de uma descarga de acetilcolina no endotélio. A despolarização provoca o influxo de íons cálcio (Ca^{2+}) para o interior da célula endotelial, ativando a eNOS. Uma vez em atividade, a enzima produz NO em baixas quantidades, mas suficientes para difundir-se até a tecido muscular liso do vaso e ativar a sGC. Essa, por sua vez, catalisa a conversão de guanosina trifosfato (GTP) em guanosina monofosfato cíclica (cGMP). O cGMP atua como segunda mensageiro ativando a proteinocinase (PKG) que aciona mecanismos os quais reduzem a concentração citoplasmática de cálcio, provocando o relaxamento da musculatura.⁴⁷

Figura 5 – Participação do óxido nítrico nas vias celulares de sinalização responsáveis pelo relaxamento vascular.



Fonte: adaptado de referência [48]

O óxido nítrico também está intimamente envolvido com a atividade tumoral e carcinogênese. Estudos relatam que a molécula de NO pode estar relacionada com os eventos de iniciação, promoção, progressão, metástase e angiogênese,^{48, 49} o que faz essa espécie ser considerada formalmente como uma substância carcinogênica. Contudo, outros estudos sugerem que o óxido nítrico tem relevante participação como mediador anti-inflamatório, além de estimular o processo apoptótico em tecidos malignos,^{48, 50} tendo, portanto, ação antitumoral. Diante disso, fica evidente que o óxido nítrico exerce um papel bimodal no que diz respeito ao surgimento e ao combate de células tumorais. As consequências da presença do NO em um tecido serão fortemente influenciadas pela duração da exposição, o microambiente celular, o estágio do ciclo celular, a prevalência de agentes redutores e oxidantes, bem como pela concentração de óxido nítrico.⁵¹ Acredita-se que concentrações abaixo de 100 nmol L⁻¹ estimulam a angiogênese e promovem metástase enquanto quantidades maiores que 400 nmol L⁻¹ são citotóxicas e estimulam a apoptose.^{49, 51}

Considerando a vasta importância fisiológica e patológica do óxido nítrico, é crescente o interesse por drogas capazes de liberar NO controladamente no meio biológico. Atualmente, dispõe-se de compostos orgânicos e inorgânicos com essa finalidade para tratamento de hipertensão arterial emergencial, mas os mesmos apresentam inconveniências que limitam seu uso.⁴⁷ Desenvolver fármacos que aproveitem o potencial farmacológico dessa espécie constitui uma das linhas de pesquisa mais importantes da atualidade.

2 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

A busca por novas moléculas com propriedades medicinais frente a patologias de alta prevalência tem direcionado os pesquisadores para os complexos de coordenação como alternativas terapêuticas promissoras. Combinando a ação farmacológica de íons metálicos com a de espécies como o óxido nítrico e modulando suas atividades através da mudança dos ligantes auxiliares, torna-se possível o *design* planejado de novos compostos com elevada eficiência para o tratamento de diversas doenças.

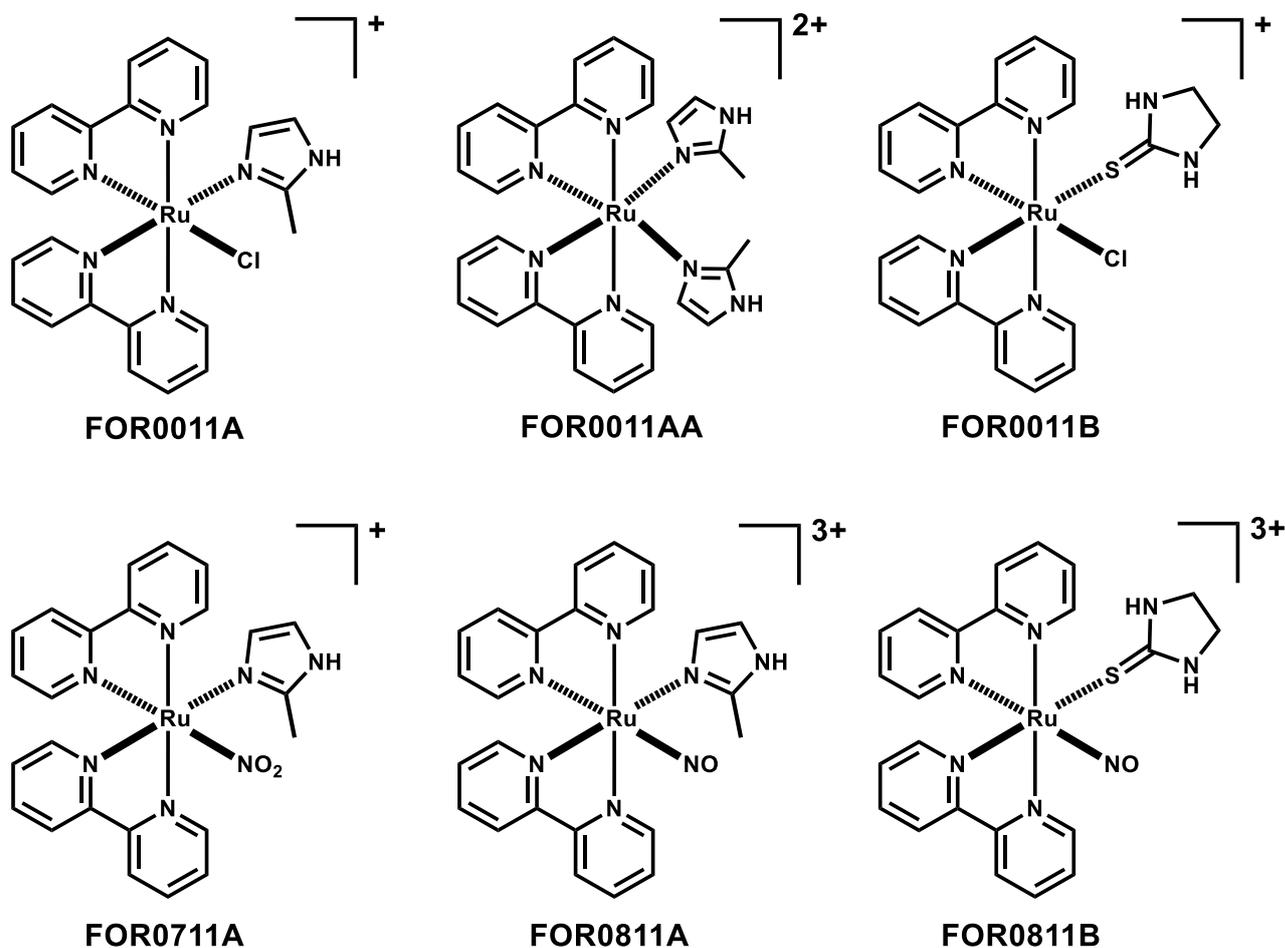
Esse trabalho é parte de uma linha de pesquisa em desenvolvimento no grupo de Bioinorgânica da UFC, que busca sintetizar compostos de coordenação baseados em rutênio, contendo o ligante nitrosil, capazes de interagir com a isoforma solúvel da enzima guanilato ciclase e que tenham potenciais aplicações em sistemas biológicos atuando como vasodilatadores, imunomoduladores, antineoplásicos, antioxidantes, entre outros. Nesse intuito, optou-se por desenvolver novos compostos derivados do sistema *cis*-bisbipiridina de rutênio (II), o qual apresenta considerável estabilidade redox,⁵² propriedades fotofísicas desejáveis⁵³ e já tem sido utilizado com sucesso na síntese de potenciais candidatos a metalofármacos.^{54, 55} A fim de aprimorar as propriedades farmacológicas desse sistema, deseja-se coordenar ligantes imidazólicos ao centro metálico, uma vez que esse tipo de composto compõe o grupo farmacofórico de diversas drogas conhecidas e de grande sucesso na prática terapêutica.

Os objetivos específicos desse trabalho são:

- Sintetizar complexos do tipo *cis*-[Ru(bpy)₂(L)NO]ⁿ⁺, onde: bpy= 2,2'-bipiridina; L=2-metilimidazol (2-MIM) ou etilenotioureia (ETU);
- Realizar a caracterização estrutural dos complexos através das técnicas de espectroscopia eletrônica na região do ultravioleta e visível, espectroscopia vibracional na região do infravermelho, voltametria cíclica, ressonância magnética nuclear de ¹H, espectroscopia de massas e análise elementar;
- Estudar a reatividade dos complexos frente à redução química, eletroquímica e fotoquímica;
- Determinar a capacidade dos nitrosilo complexos em atuar como liberadores de NO/HNO sob diferentes condições;
- Avaliar a atividade antioxidante dos complexos frente a radicais de interesse biológico;

- Determinar o potencial farmacológico dos complexos como agentes antitumorais e vasodilatadores;

Figura 6 – Estruturas propostas para os complexos sintetizados nesse trabalho (*cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺, *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂]²⁺, *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺, *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)]⁺, *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺ e *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺) e seus respectivos códigos.



Fonte: elaborado pelo autor

3 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

3.1 Atmosfera inerte

Nos experimentos em que foi necessária atmosfera livre de oxigênio, utilizou-se argônio de procedência White Martins. Este foi tratado para remover traços de oxigênio e água presentes no gás comercial em um sistema constituído de colunas contendo sílica gel, cloreto de cálcio e catalisador BTS-R-11.9 (Fluka Chemika).

3.2 Água e solventes orgânicos

Utilizou-se água ultrapura (resistividade aproximada de 18 M Ω cm a 25 °C) tratada usando o equipamento Direct-Q 3 UV Water Purification System (Millipore)

Metanol, etanol, N,N-dimetilformamida e éter etílico de procedência Synth foram utilizados sem tratamento prévio. Metanol, etanol e acetonitrila grau HPLC de procedência TEDIA também foram usados como fornecidos.

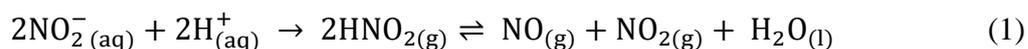
3.3 Reagentes

RuCl₃.x H₂O (99%), fornecido por Precious Metals Online. 2,2'-bipiridina (99%), 2-metilimidazol (98%), 2-imidazolidinona (98%), NaNO₂ (99%), ácido nitriloacético (99%), suspensão de catalase extraída de *Aspergillus niger*, citocromo c extraído de coração equino, mioglobina de músculo esquelético equino, L-glutationa reduzida ($\geq 98\%$), L-cisteína (97%), FeCl₃.6H₂O (98%), D-2-deoxirribose (97%), NaH₂PO₄ (99%), Na₂HPO₄ (99%), NH₄PF₆ (99%), solução de HPF₆ (55%), Hipoxantina (99%), fornecidos por Sigma-Aldrich. KBr grau espectroscópico, H₂O₂ (30%), LiCl (98%) fornecidos por VETEC. H₂SO₄ (98%), NaOH (97%), NaNO₂ (98%), ácido cítrico monoidratado (98%) fornecido por Synth. Ácido Tiobarbitúrico (98%) fornecido por Alfa Aesar. cPTIO (2-(4-carboxifenil)-4,4,5,5-tetrametilimidazolina-1-oxil-3-óxido sal de potássio) fornecido por Santa Cruz Biotechnology. Solução de HTFA PA

fornecido por TEDIA. Ácido tricloroacético grau analítico, suspensão de xantina oxidase extraída de leite bovino fornecidos por SERVA. Todos os reagentes foram usados sem procedimento adicionais de purificação.

3.4 Óxido nítrico (NO)

Óxido nítrico foi gerado pela reação entre nitrito de sódio e ácido sulfúrico 1,0 mol L⁻¹, descrita segundo o equilíbrio (equação 1) abaixo.⁵⁶ Fez-se o gás passar por solução saturada de NaOH e por água deionizada a fim de remover eventuais traços de ácido.



3.5 Equipamentos e Instrumentação

3.5.1 Espectrometria de massas

Os dados foram obtidos através de espectrômetro de massa de alta resolução equipado com uma fonte de ionização por eletrospray por infusão direta operando no modo positivo ESI(+) – EM, sob as seguintes condições: tensão de pulverização 3,0 kV; potencial capilar, 30 V; potencial da lente do tubo, 100 V; temperatura Capilar, 280 °C, e uma taxa de fluxo de 10 µL min⁻¹. Os dados foram registados em modo EM completo em ESI (+) utilizando uma faixa de m/z 100 a 1700. Os espectros de massa foram o resultado de mais de 10 microscans e processados através do software Xcalibur. Foram retiradas alíquotas de 1 µL da amostra e diluídas em 1 mL de acetonitrila. As análises foram realizadas no Laboratório ThoMSON de Espectrometria de Massas, localizado na Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

3.5.2 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

Os espectros dos compostos foram obtidos a partir de amostras dispersas em pastilhas de KBr (Brometo de potássio) e utilizando-se um Espectrofotômetro de Infravermelho com transformada de Fourier – FTIR, marca ABB – Bommen, modelo FTLA2000-102, apresentando uma janela espectral de 400 a 4000 cm^{-1} . Os valores das frequências foram obtidos através da leitura direta nos espectros vibracionais, fazendo-se as devidas correções das linhas de base.

3.5.3 Espectroscopia Eletrônica de Absorção na Região do Ultravioleta e Visível

Os espectros eletrônicos, nas regiões do visível e do ultravioleta, foram obtidos em um espectrofotômetro Hewlett-Packard, modelo 8453 Diode-Array. As amostras foram analisadas em solução utilizando célula de quartzo retangular de caminho óptico de 1,0 cm. As medidas das absorbâncias foram efetuadas pela leitura direta dos espectros, usando-se como branco o respectivo solvente.

3.5.4 Medidas eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram realizadas em sistema eletroquímico modelo EC Epsilon (BASi), à temperatura ambiente, usando-se uma célula de três eletrodos: carbono vítreo, Ag/AgCl e platina como eletrodos de trabalho, referência e auxiliar, respectivamente. Os experimentos foram realizados com solução de trifluoracetato de sódio (NaTFA) 0,1 mol L^{-1} , pH=3,0 como eletrólito de suporte, sendo esse previamente deaerado por 20 minutos antes das medidas.

3.5.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (^1H) foram obtidos no espectrômetro AVANCE DPX 500 Bruker 500 MHz. As medidas foram realizadas em solução de acetona ou DMSO deuterados, conforme a necessidade.

3.5.6 Procedimentos sintéticos em reator micro-ondas

As sínteses dos complexos cujas reações necessitam de aquecimento foram otimizadas em reator micro-ondas CEM Discover Labmate 300 W, utilizando sistema aberto (*open-vessel*) no modo de potência fixa (*fixed power*), predefinindo a potência e ajustando o tempo de irradiação conforme a necessidade.

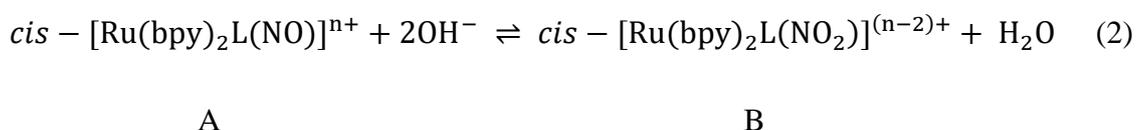
3.5.7 Condutividade molar

Medidas de condutividade molar foram realizadas em condutivímetro da marca QUIMIS modelo Q795M2. Soluções dos complexos na concentração de 1 mmol L⁻¹ foram preparadas em acetonitrila e tiveram sua condutividade medida diretamente.

3.6 Ensaios de reatividade

3.6.1 Determinação da constante de equilíbrio

A determinação da constante de equilíbrio para a reação (equação 2)



Foi efetuada espectrofotometricamente, através de metodologia descrita na literatura.⁵⁷ O complexo foi dissolvido em solução de HTFA 0,1 mol L⁻¹ e titulado com solução saturada de NaOH. Acompanhou-se a mudança espectral conforme houve variação do pH da solução. A constante de equilíbrio foi determinada pela equação 3:

$$2\text{pOH} = -\text{pK}_{\text{eq}} + \log(A - A_b)/(A_a - A) \quad (3)$$

Onde: A_a =absorbância da espécie A; A_b = absorbância da espécie B; A =absorbância da mistura.

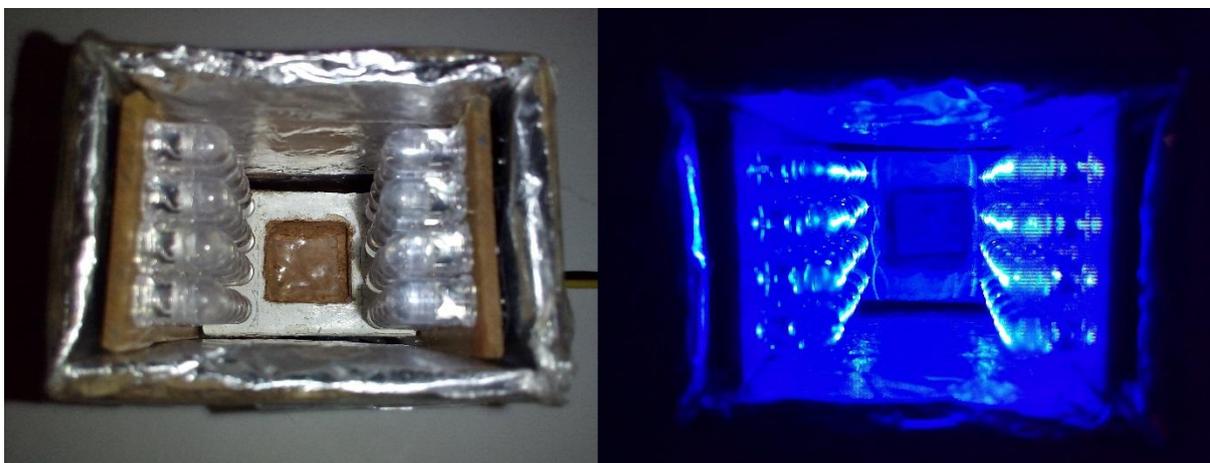
3.6.2 Acompanhamento espectroscópico sob eletrólise a potencial controlado

Soluções dos complexos na concentração de $80 \mu\text{mol L}^{-1}$ foram preparadas utilizando solução de HTFA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH}=3,0$. Em uma célula de quartzo de caminho óptico de $0,1 \text{ cm}$ foram acomodados um eletrodo de trabalho de platina em mini-grade, um eletrodo auxiliar de platina e um eletrodo de referência Ag/AgCl. Aplicou-se potencial a -200 mV durante 150 minutos e acompanharam-se as mudanças espectroscópicas.

3.6.3 Acompanhamento espectroscópico sob irradiação com luz azul

Soluções dos complexos na concentração de $80 \mu\text{mol L}^{-1}$ foram preparadas utilizando solução de HTFA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH}=3,0$. Essas foram acondicionadas em célula de quartzo de caminho óptico de $1,0 \text{ cm}$, a qual foi irradiada em reator fotoquímico produzido em nosso laboratório (Me. José Marcos da Silveira Carvalho) contendo dois arranjos de 24 lâmpadas de LED azul ($\lambda_{\text{max}}=460 \text{ nm}$), totalizando $2,19 \text{ W}$ de potência (Figura 7). As soluções foram irradiadas em intervalos progressivos totalizando 100 minutos de exposição à luz.

Figura 7 – Reator fotoquímico utilizado no estudo de fotólise com luz visível.



Fonte: elaborado pelo autor

3.6.4 Ensaios para detecção de NO/HNO

A capacidade dos nitrosilo complexos em atuar como liberadores de NO/HNO foi avaliada utilizando cPTIO e mioglobina oxidada (Mb-Fe^{III} ou met-Mb). As medidas foram obtidas em tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹, pH 7,4, em um espectrofotômetro Varian, modelo Cary 5000 UV/Vis-NIR. Utilizou-se cubeta de plástico de caminho ótico igual 1,0 cm e janela espectroscópica de 300 a 800 nm. Os experimentos foram realizados a 25 °C.

Como forma de promover a liberação de NO/HNO foram utilizados irradiação com luz azul (através do reator fotoquímico descrito anteriormente), L-glutathiona reduzida e L-cisteína em diferentes concentrações.

3.6.5 Reatividade com radical superóxido

A atividade antioxidante dos complexos foi avaliada frente ao radical superóxido utilizando metodologia descrita na literatura.⁵⁸ O ânion superóxido foi gerado enzimaticamente pela reação entre hipoxantina e a proteína xantina oxidase. Solução de fosfato de sódio (pH=7,4; $\mu=0,1$ mol L⁻¹) foi utilizada como tampão. Manteve-se a temperatura constante a 25 °C e a produção de ácido úrico ($\lambda_{\max}=290$ nm, $\epsilon = 9183$ L mol⁻¹ cm⁻¹) foi monitorada como controle positivo da reação.⁵⁹ A detecção do radical foi realizada utilizando-se citocromo c ($\lambda_{\max}=550$ nm, $\epsilon = 21.000$ L mol⁻¹ cm⁻¹) como sonda.⁶⁰

O cálculo de constante de velocidade aparente para a reação entre os complexos e o superóxido foi realizado através da equação 4, exposta a seguir.⁵⁸

$$\left(\frac{\%Cap}{1-\%Cap} \right) \times k_1 \times C_{\text{cit-c}} = k_2 \times C_{\text{RuNO}} \quad (4)$$

Onde: %Cap: porcentagem de captação do radical ($(\text{Abs}_{\text{controle}} - \text{Abs}_{\text{reação}})/\text{Abs}_{\text{controle}}$); C_{cit-c}: concentração de citocromo c; C_{RuNO}: concentração de complexo; k₁: constante aparente de

velocidade da reação entre citocromo c e superóxido; k_2 : constante aparente de velocidade da reação entre o composto testado e superóxido.

3.6.6 Reatividade com radical hidroxila

Analisou-se a atividade antioxidante dos nitrosilo complexos frente ao radical hidroxila através de metodologia descrita na literatura.^{61, 62} A espécie radicalar foi gerada através da reação de Fenton, na qual o complexo de Ferro (III) e ácido nitriloacético catalisam a quebra homolítica do peróxido de hidrogênio.⁶³

A detecção e quantificação foram realizadas utilizando-se D-2-deoxirribose, a qual, após reagir com o radical a 37 °C (tempo de incubação de 60 minutos), forma malondialdeído como produto principal. Esse, na presença do cromógeno (misturas de ácidos tiobarbitúrico e tricloroacético), após aquecimento a 95 °C (tempo de incubação de 5 minutos), forma um complexo colorido, sendo detectado espectrofotometricamente ($\lambda_{\text{max}} = 532 \text{ nm}$, $\epsilon = 155.000 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Solução de fosfato de sódio (pH=7,4; $\mu=0,1 \text{ mol L}^{-1}$) foi usada como tampão.

O cálculo da constante de velocidade para a reação entre os complexos e o radical hidroxila foi realizado através da equação 5, descrita abaixo.⁶⁴

$$\left(\frac{\% \text{Cap}}{1 - \% \text{Cap}} \right) \times k_a \times C_{\text{D-2-D}} = k_b \times C_{\text{RuNO}} \quad (5)$$

Onde: %Cap: porcentagem de captação do radical ($(\text{Abs}_{\text{controle}} - \text{Abs}_{\text{reação}})/\text{Abs}_{\text{controle}}$); $C_{\text{D-2-D}}$: concentração de D-2-deoxirribose; C_{RuNO} : concentração de complexo; k_a : constante aparente de velocidade da reação entre D-2-deoxirribose e radical hidroxila; k_b : constante aparente de velocidade da reação entre o composto testado e radical hidroxila

3.7 Modelagem Molecular

3.7.1 Cálculos quanto-mecânicos

Cálculos computacionais foram realizados no Centro Nacional de Processamento de Alto Desempenho em São Paulo (CENAPAD SP) localizado na Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Utilizou-se os softwares GaussView 5.0⁶⁵ para geração dos inputs e o Gaussian09⁶⁶ para execução dos cálculos em máquinas disponíveis em um ambiente IBM Power 750 Express Server. A otimização das geometrias dos complexos foi realizada utilizando Teoria do Funcional de Densidade (DFT), por meio do funcional híbrido B3LYP (restrito).⁶⁷⁻⁶⁹ Usou-se como conjunto de bases LANL2DZ^{70, 71} para descrição do átomo de rutênio e 6-31G(d)⁷² para os demais átomos. A qualidade das otimizações foi atestada pela ausência de frequências negativas nas simulações dos espectros vibracionais.

Simulações envolvendo a presença de solvente foram efetuadas com o uso do modelo de solvatação polarizada contínua (PCM),⁷³ nas quais foram utilizadas água ou acetonitrila como solventes. Os espectros eletrônicos teóricos foram simulados através de Teoria do Funcional de Densidade Dependente do Tempo (TD-DFT),⁷⁴ também utilizando o funcional B3LYP e o conjunto misto de bases citado anteriormente.

Determinação dos valores de contribuições percentuais de orbitais bem como análise das transições eletrônicas foram efetuadas utilizando os softwares Chemissian 4.23⁷⁵ e GaussSum 3.0.⁷⁶

3.7.2 Docking molecular

Cálculos de *docking* molecular foram realizados frente a diferentes alvos de interesse biológico, os quais são: albumina humana, timidilato sintetase, ribonucleotídeo redutase, histona deacetilase, catepsina B, topoisomerase II, tioredoxina redutase, BRAF quinase, proteína do cerne do nucleossomo, DNA girase, DNA dupla hélice e DNA G-quadruplex. As estruturas dessas biomoléculas foram obtidas do *Protein Data Bank* (PDB),⁷⁷ sendo designadas pelos identificadores 1BM0, 2G8D, 4R1R, 3C0Z, 1CSB, 1QZR, 1H6V, 3Q4C, 3MNN, 1AJ6, 4JD8 e 2L7V, respectivamente. Para os complexos, utilizaram-se as estruturas com geometria otimizada em água, conforme descrito na seção anterior.

Antes da realização do *docking*, todas as estruturas foram devidamente preparadas usando o *software* Autodock Tools 1.5.6,⁷⁸ de acordo com procedimento já descrito.⁷⁹

Hidrogênios polares foram adicionados, heteroátomos e moléculas de água foram removidas, calcularam-se cargas de Kollman para os átomos de C, H, N, O, S e atribuiu-se manualmente as cargas para os demais elementos.

Os cálculos de *docking* foram realizados utilizando o software Autodock 4.2⁷⁸, seguindo protocolo de *blind docking* previamente validado.^{80, 81} Desenhou-se a *grid box* de forma a cobrir a superfície de toda biomolécula e definiu-se o espaçamento em 0,55 Angstroms. Os cálculos foram conduzidos com o uso de Algoritmo Genético Lamarckiano (LGA). Para os parâmetros de busca definiram-se o número de corridas em 100, população igual a 250 indivíduos e em 20000000 o número de avaliações de energia. Para os parâmetros de *docking* foram definidos a translação em 2,0 Å, quaternião e torsão em 50°. Para todos os demais parâmetros foram utilizados os valores padrão.

Para avaliação dos resultados, considerou-se a localização e geometria de mais baixo valor de energia livre total. As imagens desses resultados foram geradas por meio do software Pymol 1.8.⁸²

3.8 Ensaio farmacológicos

3.8.1 Citotoxicidade in vitro

A determinação do potencial citotóxico foi realizada no Departamento de Farmacologia da Faculdade de Medicina da UFC, através do método do MTT. As linhagens tumorais utilizadas HCT-116 (cólon - humano), SF-295 (glioblastoma - humano) e HL60 (Leucêmica) foram cedidas pelo Instituto Nacional do Câncer (EUA), tendo sido cultivadas em meio RPMI 1640, suplementados com 10 % de soro fetal bovino e 1 % de antibióticos, mantidas em estufa a 37 °C e atmosfera contendo 5% de CO₂. As amostras foram solubilizadas em água milli-Q e testadas numa concentração final única de 5 µg.mL⁻¹.

Para realização deste ensaio inicialmente as células foram plaqueadas na concentração 1 x 10⁴ para a linhagens SF 295, HL – 60, 6 X 10⁵ e 7 x 10⁴ cél.mL⁻¹ para a linhagem HCT-116 em placas de 96 poços, e então incubadas com as substâncias por 72 horas em estufa a 5% de CO₂ a 37°C. Ao término deste, as mesmas foram centrifugadas e o

sobrenadante removido. Em seguida, foram adicionados 150 μL da solução de MTT (sal de tetrazolium), e as placas foram incubadas por 3h. Após a incubação as placas foram novamente centrifugadas para retirada da solução de MTT. A absorbância foi lida após dissolução do precipitado de formazan com 150 μL de DMSO puro em espectrofotômetro de placa (Beckman Coulter Inc., modelo DTX-880) a 595 nm.

Os experimentos foram analisados segundo a média \pm desvio padrão da média (DPM) da porcentagem de inibição do crescimento celular usando o programa GraphPad Prism5.

3.8.2 Avaliação da reatividade vascular

A atividade vascular dos complexos foi avaliada pela medida da contratilidade da artéria aórtica isolada de camundongo. Para o isolamento do órgão, os animais foram anestesiados por tribromoetanol (250 mg.Kg^{-1} , i.p.), e, em seguida, procedeu-se toracotomia para a exposição e remoção da aorta torácica e sua posterior. A aorta foi segmentada em anéis vasculares (5 mm) que foram colocados em cliques metálicos triangulares conectados por um fio de algodão não elástico a um gancho. Estes foram montados horizontalmente em banhos de 5 mL de capacidade em solução nutritora de Krebs-Henseleit (37 °C; pH 7,4; aerada com 95% O_2 e 5% CO_2).

A tensão isométrica dos experimentos foi mensurada por um transdutor de tensão (MLT0201, ADInstruments, Espanha), cujo sinal é amplificado (ML224, ADInstruments, Austrália) e transmitido a um conversor analógico-digital Power Lab® (ML8661P, 4130, ADInstruments, Austrália), que por sua vez é enviado para o computador para registro temporal da tensão pelo software LabChart® 7.2 (ADInstruments, Austrália).

Procedeu-se um período de estabilização de 60 min, com renovação a cada 15 min da solução de Krebs-Henseleit e ajuste periódico da tensão basal aplicada aos fragmentos de aorta a 10 mN (1gf). Decorrido esse tempo, o anel vascular foi pré-contraído com Fenilefrina (PHE) (0,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e, após os testes de viabilidade tecidual, foram realizadas curvas de concentração-efeito no platô da contração induzida para os compostos (10^{-8} a 3.10^{-5} mol L^{-1}) em diferentes preparações de aorta de ratos (n = 6, cada).

3.9 Procedimentos sintéticos

3.9.1 Procedimentos por rotas convencionais

3.9.1.1 *cis*-[Ru(*bpy*)₂Cl₂]

O complexo foi sintetizado através de adaptação de procedimento descrito na literatura.⁸³ 3,12 g (11,9 mmol) de RuCl₃.x H₂O, 3,75 g (24 mmol) do ligante 2,2'-bipiridina e 3,36 g (79 mmol) de LiCl foram dissolvidos em 25 mL de DMF. A solução foi transferida para balão de fundo redondo, o qual foi submetido a aquecimento em banho de glicerina e mantido sob refluxo e agitação durante 8 horas. Após esse período, a solução foi resfriada à temperatura ambiente e adicionou-se 200 mL de acetona gelada. Após 12 horas em *freezer* a 0 °C, o precipitado foi filtrado em funil de placa porosa e lavado exaustivamente com água gelada. O sólido foi estocado sob vácuo. Rendimento: 65%.

3.9.1.2 *cis*-[Ru(*bpy*)₂(2-MIM)Cl](PF₆)

200 mg (0,413 mmol) do complexo *cis*-[Ru(*bpy*)₂Cl₂] e 37,3 mg (0,454 mmol) do ligante 2-metilimidazol foram dissolvidos em 30 mL de etanol anidro em balão de fundo redondo. O sistema foi submetido a aquecimento em banho de glicerina e mantido sob refluxo e agitação durante 8 horas. A solução teve seu volume reduzido pela metade em rotaevaporador e foi adicionada de solução saturada de NH₄PF₆. O precipitado foi coletado por filtração em funil de placa porosa, lavado com éter etílico e estocado sob pressão reduzida. Rendimento: 52%. ¹H NMR (500 MHz, Acetone-d₆) δ 11.39 (s, 1H), 10.21 (s, 1H), 8.83 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 8.68 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.55 (t, J = 8.3 Hz, 2H), 8.47 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.12 (t, J = 8.1 Hz, 3H), 7.93 – 7.80 (m, 4H), 7.78 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 7.67 (t, J = 6.7 Hz, 1H), 7.24 (dt, J = 13.6, 6.6 Hz, 2H), 6.96 (s, 1H). HRESI-MS (+): [M – PF₆]⁺ teórico 531,0632 (C₂₄H₂₂ClN₆Ru⁺); experimental 531,0631. Análise Elementar: Teórico (C₂₄H₂₂ClF₆N₆PRu): C, 42,64; H, 3,28; N, 12,43%. Experimental: C, 41,68; H, 3,23; N, 11,81%.

3.9.1.3 *cis*-[Ru(*bpy*)₂(2-MIM)₂](PF₆)₂

200 mg (0,413 mmol) do complexo *cis*-[Ru(*bpy*)₂Cl₂] e 149,2 mg (1,82 mmol) do ligante 2-metilimidazol foram dissolvidos em 30 mL de solução hidroetanólica a 50% em balão de fundo redondo. O sistema foi submetido a aquecimento em banho de glicerina e mantido sob refluxo e agitação durante 8 horas. A solução teve seu volume reduzido pela metade em rotaevaporador e foi adicionada de solução saturada de NH₄PF₆. O precipitado foi coletado por filtração em funil de placa porosa, lavado com éter etílico e estocado sob pressão reduzida. Rendimento: 60%. ¹H NMR (500 MHz, Acetone-d₆) δ 11.60 (s, 1H), 9.45 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 8.63 (t, J = 8.3 Hz, 1H), 8.56 (t, J = 8.4 Hz, 1H), 8.29 – 8.14 (m, 2H), 8.00 (td, J = 7.9, 1.5 Hz, 1H), 7.84 (td, J = 5.8, 2.8 Hz, 1H), 7.37 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 2.02 (s, 3H). HRESI-MS (+): [M – 2-MIM + H₃CCN – PF₆]⁺ teórico 682,0851 (C₂₆H₂₅F₆N₇PRu⁺); experimental 682,0856. Análise Elementar: Teórico (C₂₈H₂₈F₁₂N₈P₂Ru): C, 38,76; H, 3,25; N, 12,92%. Experimental: C, 38,10; H, 3,22; N, 12,34%.

3.9.1.4 *cis*-[Ru(*bpy*)₂(2-MIM)(NO₂)](PF₆)

200 mg (0,413 mmol) do complexo *cis*-[Ru(*bpy*)₂Cl₂] e 37,3 mg (0,454 mmol) do ligante 2-metilimidazol foram dissolvidos em 30 mL de solução hidroetanólica a 50%. O foi submetido a aquecimento em banho de glicerina e mantido sob refluxo e agitação durante 3 horas. Em seguida, foram adicionados 31,3 mg (0,454 mmol) de NaNO₂ e submeteu-se a solução novamente ao refluxo durante 4 horas. Após esse período, a solução teve seu volume reduzido pela metade em rotaevaporador e adicionou-se 2,0 mL de solução saturada de NH₄PF₆. O precipitado foi coletado por filtração em funil de placa porosa, lavado com éter etílico e estocado sob pressão reduzida. Rendimento: 49%. ¹H NMR (500 MHz, Acetone-d₆) δ 11.66 (s, 1H), 10.40 (s, 1H), 8.85 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 8.64 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.60 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.53 (dd, J = 12.4, 8.1 Hz, 2H), 8.24 – 8.16 (m, 2H), 8.08 – 7.95 (m, 4H), 7.95 – 7.87 (m, 2H), 7.76 (t, J = 6.7 Hz, 1H), 7.40 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 7.30 (dd, J = 7.7, 5.6 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 1.11 (t, J = 7.0 Hz, 3H). HRESI-MS (+): [M – PF₆]⁺ teórico 542,0873 (C₂₄H₂₂N₇O₂Ru⁺); experimental 542,0872. Análise Elementar: Teórico (C₂₄H₂₃F₁₂N₇O₂P₂Ru): C, 34,63; H, 2,78; N, 11,78%. Experimental: C, 34,35; H, 2,76; N, 11,67%.

3.9.1.5 *cis*-[Ru(*bpy*)₂(*ETU*)Cl](PF₆)

200 mg (0,413 mmol) do complexo *cis*-[Ru(*bpy*)₂Cl₂] e 46,4 mg (0,454 mmol) do ligante etilenotiourea foram dissolvidos em 30 mL de solução hidroetanólica a 50%. O sistema foi submetido a aquecimento em banho de glicerina e mantido sob refluxo e agitação durante 4 horas. A solução teve seu volume reduzido pela metade e adicionou-se 2,0 mL de solução saturada de NH₄PF₆. O precipitado foi coletado por filtração em funil, lavado com éter etílico e estocado sob pressão reduzida. Rendimento: 58%. ¹H NMR (500 MHz, Acetone-d₆) δ 10.00 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 9.84 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.65 (dd, J = 8.2, 2.8 Hz, 2H), 8.54 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.50 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.16 (q, J = 6.6 Hz, 2H), 7.90 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 7.86 – 7.82 (m, 2H), 7.79 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 5.6 Hz, 1H), 7.29 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 7.21 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 3.71 (p, J = 4.4 Hz, 4H). HRESI-MS (+): [M – PF₆]⁺ teórico 551,0353 (C₂₃H₂₁N₆RuS⁺); experimental 551,0370. Análise Elementar: Teórico (C₂₃H₂₂ClF₆N₆PRuS): C, 39,69; H, 3,19; N, 12,07%. Experimental: C, 38,06; H, 3,20; N, 12,15%.

3.9.1.6 *cis*-[Ru(*bpy*)₂(2-MIM)(NO)](PF₆)₃

150 mg (0,218 mmol) do complexo *cis*-[Ru(*bpy*)₂(2-MIM)(NO₂)](PF₆) foram dissolvidos em metanol anidro deaerado. Adicionaram-se 200 μL de solução de HPF₆ (55%) e manteve-se o sistema sob atmosfera de argônio por 1,0 h. Após esse tempo, o sólido formado foi filtrado, lavado com éter etílico e estocado sob pressão reduzida. Rendimento: 61%. ¹H NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ 13.39 (s, 1H), 9.56 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 9.14 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.99 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 8.92 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 8.85 – 8.77 (m, 1H), 8.67 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 8.53 (q, J = 7.3 Hz, 4H), 8.17 (dt, J = 13.7, 6.7 Hz, 2H), 7.92 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 6.3 Hz, 3H), 7.34 (s, 1H), 2,51 (s, 3H). HRESI-MS (+): [M – 3PF₆]²⁺ teórico 263,0459 (C₂₄H₂₂N₇ORu²⁺); experimental 263,0459. Análise Elementar: Teórico (C₂₄H₂₂F₁₈N₇OP₃Ru): C, 30,01; H, 2,31; N, 10,21%. Experimental: C, 30,06; H, 2,38; N, 10,35%.

3.9.1.7 *cis*-[Ru(*bpy*)₂(*ETU*)(NO)](PF₆)₃

150 mg (0,218 mmol) do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-SImna)(NO₂)](PF₆) foram dissolvidos em metanol anidro deaerado. Borbulhou-se NO_(g) na solução durante 3 horas. Adicionaram-se 200 µL de solução de HPF₆ (55%) para precipitar o composto. Após esse tempo, o sólido formado foi recolhido por filtração em funil de placa porosa, lavado com éter etílico e estocado sob pressão reduzida. Rendimento: 63%. ¹H NMR (500 MHz, Acetone-d₆) δ 9.76 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 9.53 (d, J = 5.7 Hz, 1H), 9.12 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 9.08 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 8.97 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 8.90 – 8.84 (m, 1H), 8.75 (t, J = 8.0 Hz, 1H), 8.57 – 8.51 (m, 2H), 8.40 – 8.32 (m, 2H), 8.27 (dd, J = 7.7, 5.8 Hz, 1H), 7.81 – 7.75 (m, 2H), 7.73 (t, J = 6.8 Hz, 1H). ESI MS: [M – 3PF₆]²⁺ teórico 272,5280 (C₂₃H₂₁N₇ORuS²⁺); experimental 272,5280. Análise Elementar: Teórico (C₂₈H₃₁F₁₈N₈O₂P₃RuS): C, 31,15; H, 2,89; N, 10,38%. Experimental: C, 31,91; H, 2,75; N, 10,57%.

3.9.2 Procedimentos em reator micro-ondas

3.9.2.1 *cis*-[Ru(bpy)₂Cl₂]

O complexo foi sintetizado através de adaptação de procedimento descrito na literatura.⁸³ Empregaram-se 3,12 g (11,9 mmol) de RuCl₃.x H₂O, 3,75 g (24 mmol) do ligante 2,2'-bipiridina e 3,36 g (79 mmol) de LiCl que foram dissolvidos em 25 mL de DMF. A solução foi transferida para balão de fundo redondo, o qual foi acondicionado no reator micro-ondas e conectado a um condensador convencional. O sistema foi submetido a 3 ciclos de irradiação, à potência de 200 W com duração de 30 minutos cada. Simultaneamente, manteve-se a solução sob agitação magnética constante. Ao fim dos ciclos, a solução foi resfriada com jato de ar comprimido e adicionou-se 200 mL de acetona gelada. Após 12 horas em *freezer* a 0 °C, o precipitado foi filtrado em funil de placa porosa e lavado exaustivamente com água gelada. O sólido foi estocado sob vácuo. Rendimento: 75%.

3.9.2.2 *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl](PF₆)

200 mg (0,413 mmol) do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂Cl₂] e 37,3 mg (0,454 mmol) do ligante 2-metilimidazol foram dissolvidos em 30 mL de etanol anidro em balão de fundo redondo. O sistema foi acondicionado no reator micro-ondas e submetido a um ciclo de

irradiação a 250 W durante 30 minutos, sob agitação magnética. A solução foi resfriada por jato de ar comprimido, teve seu volume reduzido pela metade em rotaevaporador e foi adicionada de solução saturada de NH_4PF_6 . O precipitado foi coletado por filtração em funil de placa porosa, lavado com éter etílico e estocado sob pressão reduzida. Rendimento: 55%.

3.9.2.3 *cis*-[Ru(*bpy*)₂(2-*MIM*)₂](PF₆)₂

200 mg (0,413 mmol) do complexo *cis*-[Ru(*bpy*)₂Cl₂] e 149,2 mg (1,82 mmol) do ligante 2-metilimidazol foram dissolvidos em 30 mL de solução hidroetanólica a 50% em balão de fundo redondo. O sistema foi acondicionado no reator micro-ondas e submetido a um ciclo de irradiação a 250 W durante 30 minutos, sob agitação magnética. A solução foi resfriada por jato de ar comprimido, teve seu volume reduzido pela metade em rotaevaporador e foi adicionada de solução saturada de NH_4PF_6 . O precipitado foi coletado por filtração em funil de placa porosa, lavado com éter etílico e estocado sob pressão reduzida. Rendimento: 67%.

3.9.2.4 *cis*-[Ru(*bpy*)₂(2-*MIM*)(NO₂)](PF₆)

200 mg (0,413 mmol) do complexo *cis*-[Ru(*bpy*)₂Cl₂] e 37,3 mg (0,454 mmol) do ligante 2-metilimidazol foram dissolvidos em 30 mL de solução hidroetanólica a 50%. O sistema foi acondicionado no reator micro-ondas e submetido a um ciclo de irradiação a 200 W durante 30 minutos, sob agitação magnética. Em seguida, foram adicionados 31,3 mg (0,454 mmol) de NaNO_2 e submeteu-se a solução a outro de ciclo de 30 minutos a 250 W. A solução foi resfriada, teve seu volume reduzido pela metade em rotaevaporador e adicionou-se 2,0 mL de solução saturada de NH_4PF_6 . O precipitado foi coletado por filtração em funil de placa porosa, lavado com éter etílico e estocado sob pressão reduzida. Rendimento: 52%.

3.9.2.5 *cis*-[Ru(*bpy*)₂(*ETU*)Cl](PF₆)

200 mg (0,413 mmol) do complexo *cis*-[Ru(*bpy*)₂Cl₂] e 46,4 mg (0,454 mmol) do ligante etilenotioureia foram dissolvidos em 30 mL de solução hidroetanólica a 50%. O sistema

foi acondicionado no reator micro-ondas e submetido a um ciclo de irradiação a 200 W por 30 minutos, sob agitação magnética. A solução foi resfriada, teve seu volume reduzido pela metade e adicionou-se 2,0 mL de solução saturada de NH_4PF_6 . O precipitado foi coletado por filtração em funil, lavado com éter etílico e estocado sob pressão reduzida. Rendimento: 67%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação das rotas sintéticas

Os cinco complexos reportados nesse trabalho cujas sínteses requerem aquecimento tiveram seus procedimentos sintéticos adaptados para a realização em micro-ondas de forma a otimizá-las em termos de tempo e rendimento. Uma vez que utilização de rotas sintéticas auxiliadas por micro-ondas vem se tornando cada vez mais presente tanto na química orgânica⁸⁴⁻⁸⁶ quanto na química inorgânica,⁸⁷⁻⁸⁹ é oportuno e de grande interesse fazer uso desse poderoso recurso instrumental. Além disso, experimentos desenvolvidos em condição *open-vessel*, como os realizados nesse trabalho, são preferíveis àqueles em *closed-vessel*, visto que são mais seguros pelo fato de não envolverem aumento da pressão e temperaturas demasiadamente elevadas⁹⁰.

A Tabela 1 compara os tempos de síntese e os valores de rendimento percentual encontrados para os procedimentos realizados tanto por rotas convencionais quanto por síntese assistida por micro-ondas. Nota-se que, em todos os casos, obteve-se rendimentos superiores e com ganho de tempo de até 85% quando o micro-ondas foi utilizado. Isso evidencia não somente a alta eficiência da transferência de energia promovida pela irradiação, mas também a superioridade da nova metodologia proposta frente às demais.

Tabela 1 – Comparação dos tempos e rendimentos das sínteses realizadas pelas duas rotas propostas.

Complexo	Convencional		Micro-ondas	
	Tempo	Rendimento	Tempo	Rendimento
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ Cl ₂]	8 h	65%	1,5 h	75%
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)Cl](PF ₆)	8 h	52%	0,5 h	55%
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM) ₂](PF ₆) ₂	8 h	60%	0,5 h	67%
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO ₂)](PF ₆)	7 h	49%	1 h	52%
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)Cl](PF ₆)	4 h	58%	0,5 h	67%

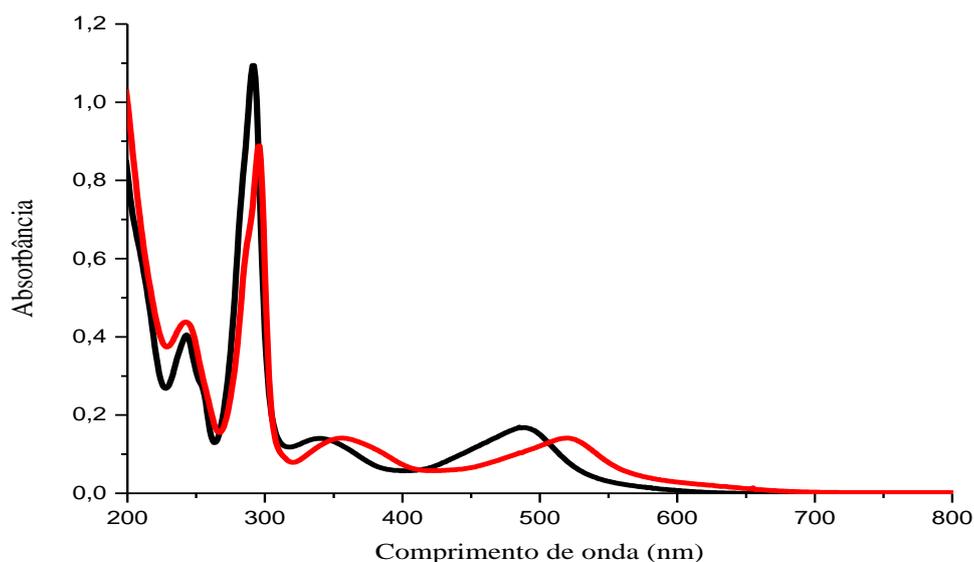
Fonte: elaborado pelo autor.

4.2 Caracterização dos complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(L)Cl](PF₆), onde L=2-MIM e ETU

Os espectros eletrônicos na região do UV – Vis para os íons complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺ e *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺ foram obtidos em água e acetonitrila. Adicionalmente, utilizou-se o cálculo computacional de TD-DFT para simular as transições eletrônicas das espécies nesses dois meios com o intuito de auxiliar na interpretação dos dados.

Os espectros eletrônicos na região do UV – visível para o íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺ obtidos em meio aquoso e acetonitrila são apresentados nas Figura 8.

Figura 8 – Espectros eletrônicos do cátion complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺ 2,9 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ em água (—) e 2,2 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ em acetonitrila (—).

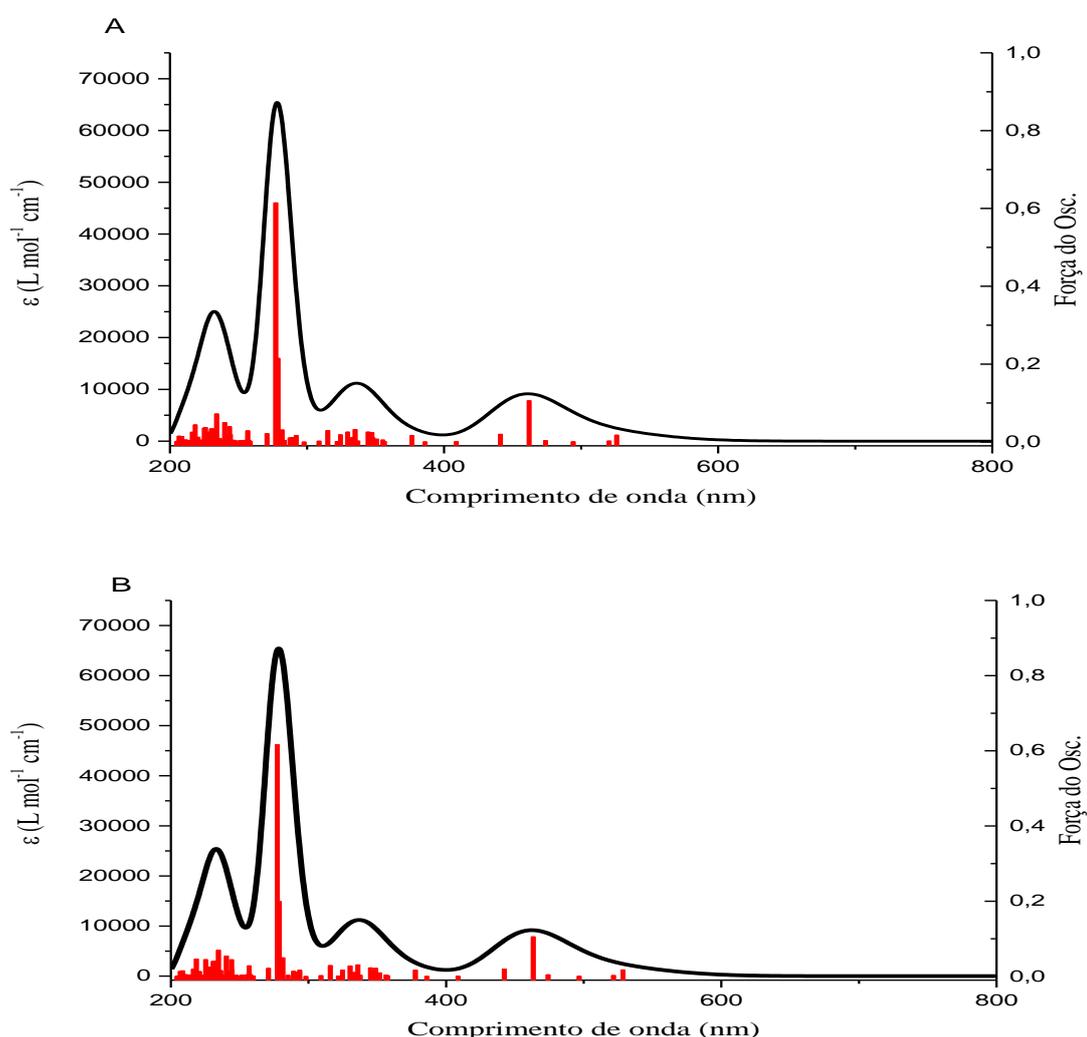


Fonte: elaborado pelo autor

De forma análoga, os espectros obtidos por simulação computacional estão representados na Figura 9, verificando-se notável concordância entre os perfis experimental e teórico. Observa-se para o espectro em acetonitrila, na região do ultravioleta, a presença de um par de bandas muito intensas em 242 e 295 nm. Os dados de TD-DFT indicam que a transição em 242 nm tem contribuições majoritárias dos orbitais moleculares HOMO-6→LUMO+3 (30%), HOMO-5→LUMO+3 (20%), HOMO-4→LUMO+3 (22%). Conforme pode ser visto na Figura 10, os orbitais HOMO-6, HOMO-5 e HOMO-4 tem diferentes contribuições dos ligantes e do metal, mas, considerando que a transição HOMO-6→LUMO+3 tem contribuição

majoritária e que esses dois orbitais estão associados predominantemente às bipyridinas, pode-se afirmar que essa banda trata-se de uma transição intraligante. Já a banda em 295 nm tem contribuições principais das transições HOMO-5→LUMO (20%), HOMO-4→LUMO+1 (45%) e HOMO-6→LUMO (8%), sendo classificada como transferência de carga ligante-ligante (LLCT).

Figura 9 – Espectros eletrônicos teóricos da espécie *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺ simulados em água (A) e acetonitrila (B).

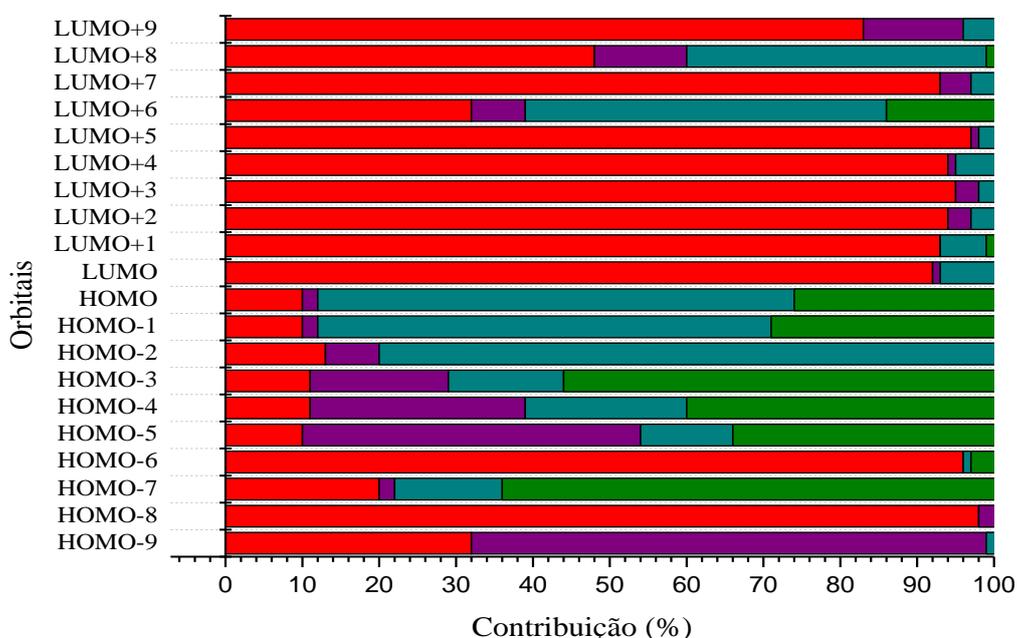


Fonte: elaborado pelo autor

Na região do UV próximo e visível, para o mesmo complexo em acetonitrila, observam-se bandas em 357 e 521 nm. A primeira é, conforme indicado pelo cálculo teórico, composta pelas transições HOMO-3→LUMO (23%), HOMO-1→LUMO+3 (32%), HOMO-1→LUMO+4 (37%). Uma vez que o orbital HOMO-1 tem composição predominante do átomo

de rutênio, isso permite classificá-la majoritariamente como uma transição de transferência de carga metal ligante (MLCT). A banda em 521 nm, por sua vez, tem a seguinte contribuição majoritária: HOMO-2→LUMO (63%), HOMO-1→LUMO+1 (26%), HOMO-1→LUMO (4%), HOMO→LUMO (5%). Sabendo-se que o orbital HOMO-2 também tem componente majoritário do metal, e que LUMO e LUMO+1 tem caráter essencialmente do ligante bipyridina, essa banda também é denominada como MLCT.

Figura 10 – Contribuições dos orbitais moleculares da espécie $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})\text{Cl}]^+$ em função de seus fragmentos: Ru (—), bpy (—), Cl^- (—), 2-MIM (—).

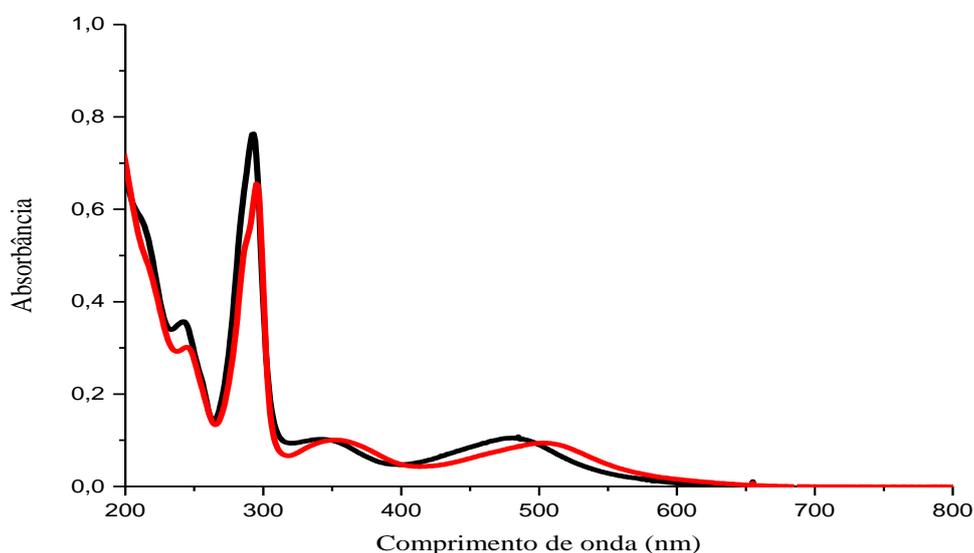


Fonte: elaborado pelo autor

Os espectros eletrônicos para a espécie $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{Cl}]^+$ obtidos em água e acetonitrila, experimentais e teóricos, estão apresentados nas Figuras 11 e 12, respectivamente. Observa-se para o espectro obtido em acetonitrila, na região do ultravioleta, a presença de duas bandas intensas em 245 e 295 nm. Para a primeira, a simulação computacional indicou que ela é composta pelas transições HOMO-7→LUMO+2 (20%), HOMO-7→LUMO+3 (12%), HOMO-4→LUMO+3 (30%) e HOMO-6→LUMO+3 (5%). Conforme pode ser observado na Figura 13, os orbitais HOMO-4 e HOMO-6 tem contribuições mais significativas do ligante 2-

imidazolidineta, enquanto o orbital HOMO-7 é majoritariamente composto pelo ligante bipyridina. Tal banda tem, portanto, caráter misto, tanto de transição IL como de LLCT. A banda em 295 nm, por sua vez tem composição percentual, segundo cálculos de TD-DFT: HOMO-7→LUMO+1 (42%), HOMO-5→LUMO+1 (29%), HOMO-6→LUMO (8%) e HOMO-6→LUMO+1 (3%). Com isso pode-se afirmar que a banda tem caráter majoritário de transição do tipo intraligante.

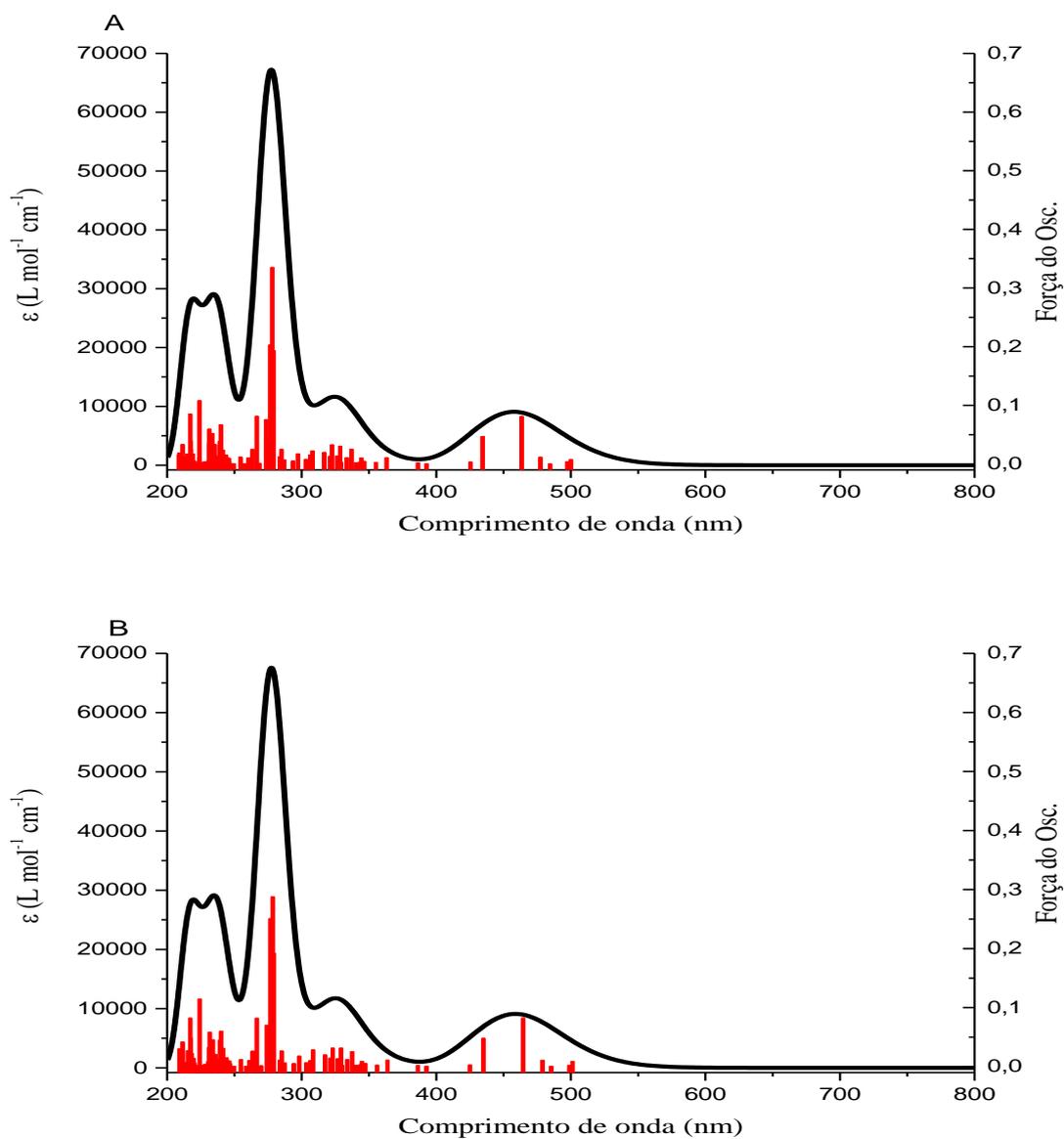
Figura 11 – Espectros eletrônicos do íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺ a 2,20 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ em água (—) e 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ em acetonitrila (—).



Fonte: elaborado pelo autor

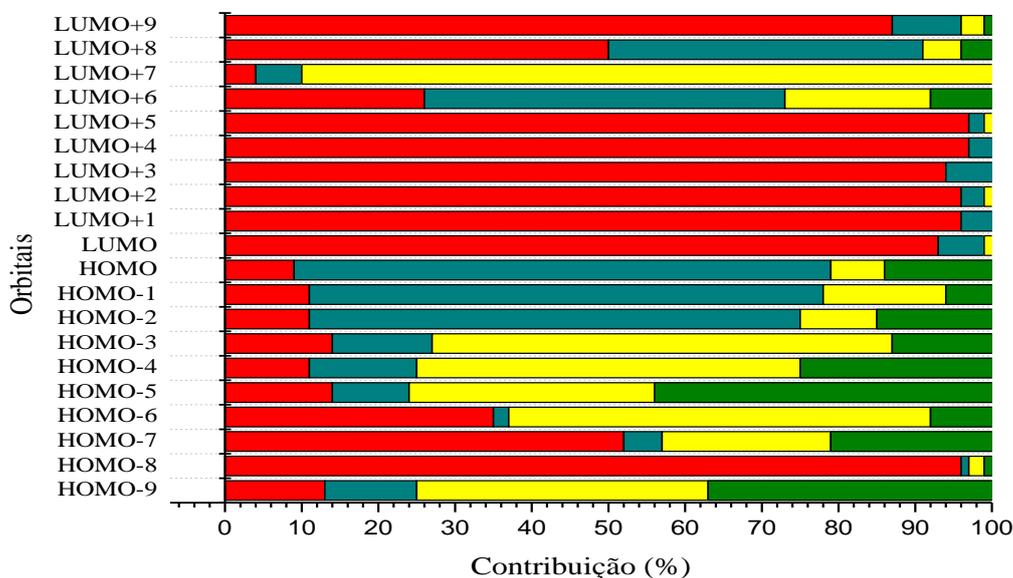
Na região do ultravioleta próximo e visível o espectro eletrônico da espécie *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺ em acetonitrila apresentou bandas em 353 e 505 nm. A primeira apresentou a composição HOMO-2→LUMO+3 (28%), HOMO-2→LUMO+4 (15%), HOMO→LUMO+5 (13%) e HOMO-2→LUMO+5 (8%), o que a caracteriza como MLCT, visto que os orbitais HOMO-2 e HOMO tem contribuição majoritária do átomo de rutênio. De forma análoga a banda em 505 nm apresentou a composição HOMO-2→LUMO (49%), HOMO-1→LUMO (12%), HOMO→LUMO (20%), HOMO→LUMO+1 (13%), caracterizando-a também como MLCT. Valores de absorvância molar para as bandas estão apresentados no apêndice A.

Figura 12 – Espectros eletrônicos teóricos da espécie *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺ simulados em água (A) e acetonitrila (B).



Fonte: elaborado pelo autor.

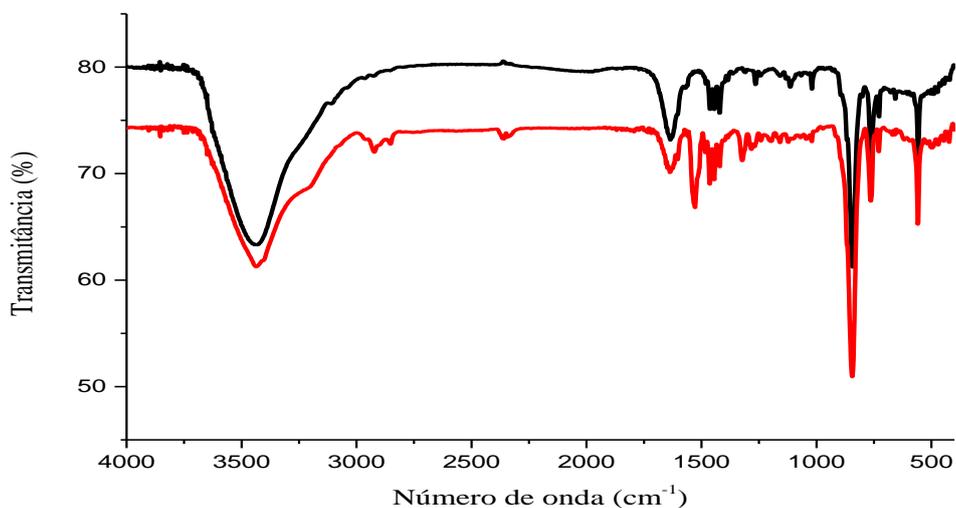
Figura 13 – Contribuições dos orbitais moleculares da espécie $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{Cl}]^+$ em função de seus fragmentos: Ru (—), bpy (—), Cl^- (—), ETU (—).



Fonte: elaborado pelo autor.

Os espectros vibracionais na região do infravermelho para os complexos $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})\text{Cl}](\text{PF}_6)$ e $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{Cl}](\text{PF}_6)$ são apresentados na Figura 14.

Figura 14 – Espectros vibracionais na região do infravermelho para os complexos $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})\text{Cl}](\text{PF}_6)$ (—) e $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{Cl}](\text{PF}_6)$ (—) em pastilha de KBr.



Fonte: elaborado pelo autor.

Para o primeiro composto, verificou-se a presença de vários sinais relativos ao ligante bipyridina cujos valores foram observados em 3108, 1463, 1443 e 756 cm^{-1} . Esses foram atribuídos às vibrações de estiramento C-H, C=C, C=N e de deformação C-H, respectivamente. Foi possível identificar bandas similares para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl](PF₆), sendo os valores encontrados em 3074, 1462, 1441, 763 cm^{-1} . Também foi observada a presença de estiramento da ligação N-H dos ligantes 2-MIM e ETU, visto que ambos apresentam grupo amino, com valores em 3439 e 3406 cm^{-1} , respectivamente.^{91, 92} O estiramento referente a ligação P-F do contraíon hexafluorofosfato foi identificado em 840 e 844 cm^{-1} para os complexos em estudo. As demais vibrações estão listadas na Tabela 2.

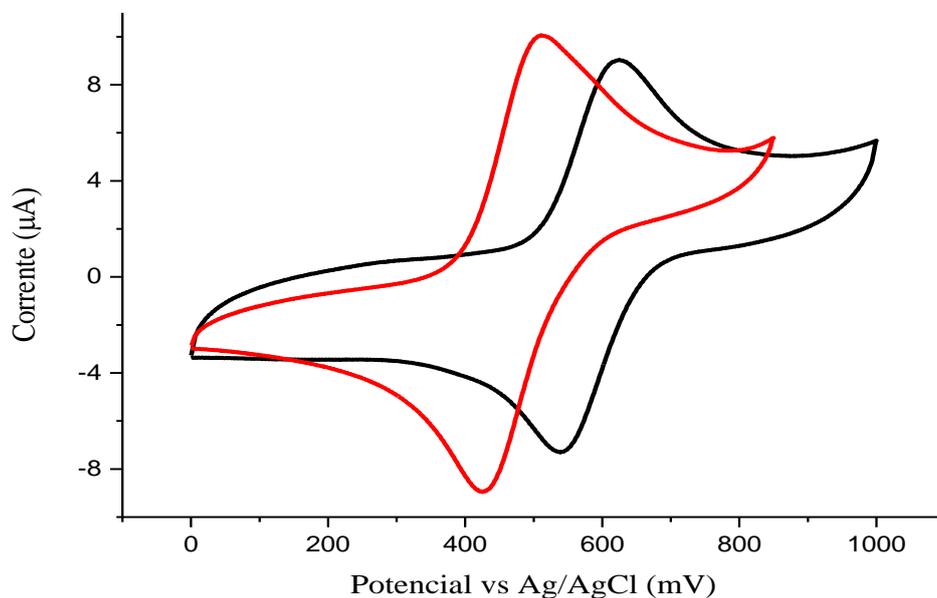
Tabela 2 - Modos vibracionais selecionados dos complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl](PF₆) e *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl](PF₆) obtidos em pastilha de KBr.

Número de onda (cm^{-1})		Modos Vibracionais
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)Cl](PF ₆)	<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)Cl](PF ₆)	
3439	3406	$\nu(\text{N-H})$
3108	3074	$\nu(\text{C-H})$
1635	1636	$\delta(\text{N-H})$
1463	1462	$\nu(\text{C=C})$
1443	1441	$\nu(\text{C=N})$
756	763	$\delta(\text{C-H})$
840	844	$\nu(\text{P-F})$
554	559	$\delta(\text{P-F})$

Legenda: ν = estiramento, δ = deformação. Fonte: elaborado pelo autor.

Os voltamogramas cíclicos das espécies *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺ e *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺ são apresentados na Figura 15. Para o primeiro complexo observa-se a presença de um único processo com $E_{1/2}=582$ mV vs Ag/AgCl, o qual foi atribuído ao par redox Ru^{III}/Ru^{II}. Uma vez que o complexo precursor *cis*-[Ru(bpy)₂Cl₂] apresenta processo com $E_{1/2}=390$ mV vs Ag/AgCl, quando nas mesmas condições experimentais, pode-se inferir que a coordenação do ligante 2-metilimidazol estabilizou o centro metálico na sua forma reduzida. Isso se deve ao caráter π -acceptor do 2-MIM, o qual leva à diminuição da densidade eletrônica sobre o metal, dificultando o processo de oxidação.

Figura 15 – Voltamogramas cíclicos para os íons complexos $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})\text{Cl}]^+$ (—) e $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{Cl}]^+$ (—) em NaTFA 0,1 mol L⁻¹ pH=3,0. V=100 mV s⁻¹.

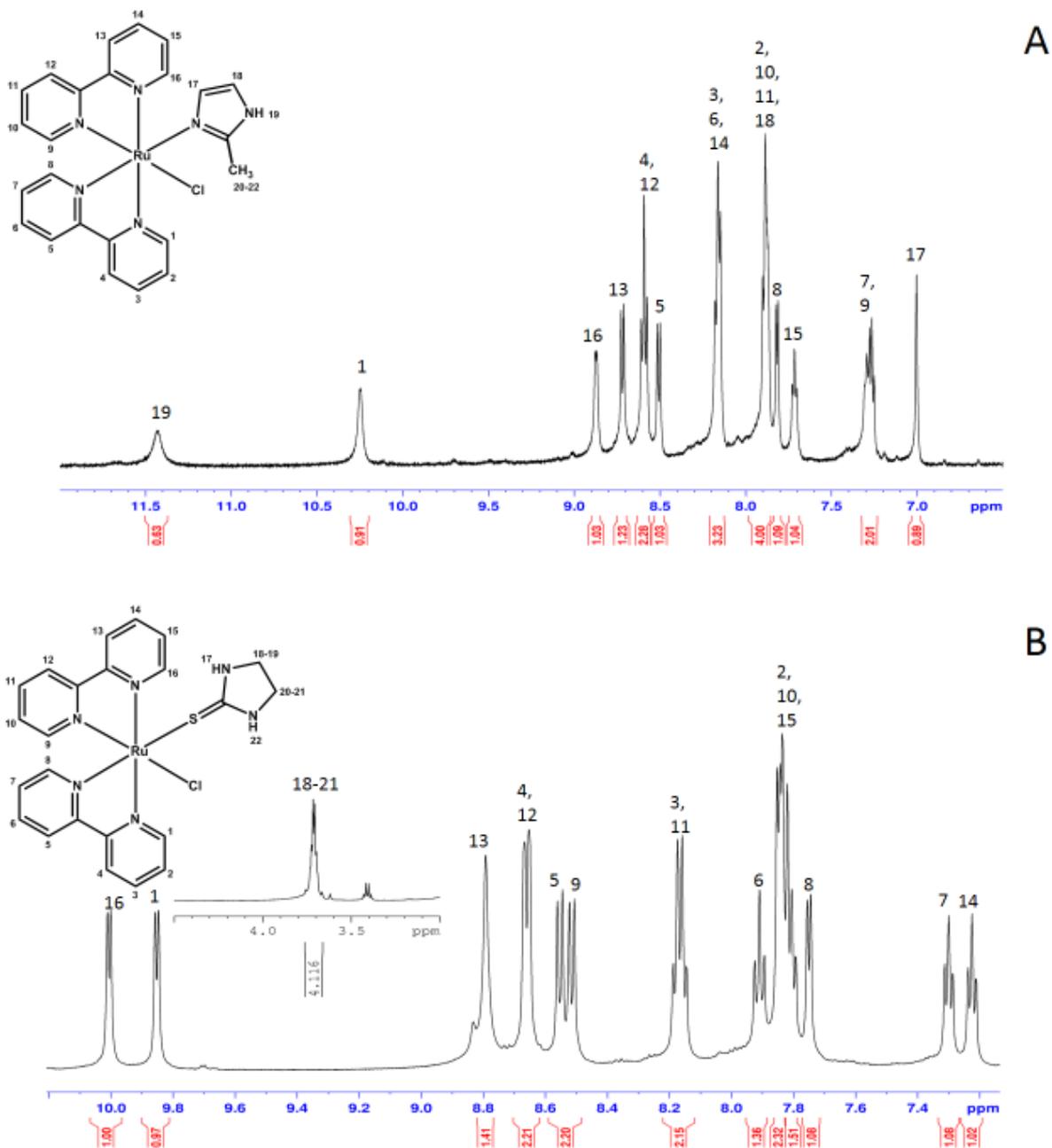


Fonte: elaborado pelo autor

A medida de voltametria cíclica para o composto $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{Cl}]^+$ exibiu a existência de somente um processo na faixa de potencial estudada com $E_{1/2}=470$ mV vs Ag/AgCl, atribuído ao par redox $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$. Considerando-se novamente o potencial do complexo precursor, verifica-se um aumento no valor do potencial de meia onda, o que indica que a coordenação do ligante ao centro metálico também promoveu a estabilização da sua forma reduzida ainda que em menor grau se comparado ao composto anterior. De fato, uma vez que o ligante etilenotioureia não é aromático, seu caráter π -aceptor pode ser inferior ao de compostos piridínicos e imidazólicos, por exemplo, os quais apresentam extensa conjugação e elevada capacidade π -retiradora. Contudo, já foi relatado que compostos os quais possuem ligantes coordenados via átomo de enxofre não somente apresentam extensa capacidade σ -doadora, como também π -aceptora.^{93,94} Logo, quando o ligante interage com o centro metálico via grupo tiona (C=S), é possível que não ocorram mudanças muito expressivas no valor de potencial redox da espécie, visto que as variações de energia dos orbitais d do metal serão menos pronunciadas. Portanto, o valor de potencial encontrado sugere que o ligante etilenotioureia coordenou ao rutênio via átomo de enxofre.

Os espectros de RMN ^1H unidimensional e bidimensional (COSY) foram obtidos para os complexos $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})\text{Cl}]^+$ e $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{Cl}]^+$ em acetona deuterada (Figura 16 e Apêndices B e C). As atribuições estão listadas na Tabela 3.

Figura 16 – Espectros de RMN ^1H dos compostos $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})\text{Cl}]^+$ (A) e $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{Cl}]^+$ (B) em acetona d_6 .



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 3 – Atribuições dos sinais do espectro de RMN ^1H para os complexos $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})\text{Cl}]^+$ e $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{Cl}]^+$ (B) em acetona d_6 .

Sinal	Deslocamento químico (ppm)	
	$\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})\text{Cl}]^+$	$\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{Cl}]^+$
1	10,22	9,85
2	7,86	7,83
3	8,13	8,16
4	8,57	8,66
5	8,48	8,56
6	8,13	7,91
7	7,24	7,30
8	7,78	7,75
9	7,24	8,51
10	7,86	7,83
11	7,86	8,16
12	8,57	8,66
13	8,68	8,79
14	8,13	7,22
15	7,69	7,88
16	8,84	10,01
17	6,97	-
18	7,86	3,72
19	11,40	3,72
20	-	3,72
21	-	3,72
22	-	-

Fonte: elaborado pelo autor.

Foram observados sinais referentes a todos hidrogênios das bipyridinas, para ambos os complexos, os quais foram totalmente desdobrados, não havendo equivalência entre eles. Tal fato é coerente com a manutenção da conformação *cis* para os complexos, bem como sugere a coordenação dos ligantes. Uma vez que ocorre substituição de um dos cloretos ligados ao átomo de rutênio por um outro ligante, há mudança da simetria da espécie, no caso de grupo pontual

C₂ para C₁, com conseqüente novo desdobramento dos sinais dos hidrogênios.^{95,96} Nota-se, em ambos os complexos, sinais referentes ao hidrogênio 1 da bipyridina com deslocamento de 10 ppm aproximadamente, os quais, em decorrência da proximidade e da eletronegatividade do ligante cloro, apresentam-se mais deslocado que os demais. No caso do composto *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺, verifica-se um segundo sinal (H-16) com o mesmo tipo de comportamento, devido ao efeito análogo provocado pelo átomo de enxofre do ligante etilenotiourea.

Para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺, verificou-se que os sinais 17 e 18, referentes aos hidrogênios aromáticos do anel imidazólico não são equivalentes, ao contrário do que acontece com o ligante livre (Apêndice D), sendo um sinal deslocado para campo alto e outro manteve seu deslocamento químico. Isso ocorre, devido à quebra de simetria do ligante quando esse coordena via átomo de nitrogênio, sendo consistente com a estrutura proposta. Os sinais de H-20 a H-22 foram sobrepostos pelo sinal do solvente, não sendo visualizados.

O espectro do composto *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺, por sua vez, apresentou sutil deslocamento dos sinais dos hidrogênios alifáticos (17 e 18) para campo baixo em relação ao ligante livre (Apêndice E). Isso corrobora a proposta de coordenação via átomo de enxofre, já que dessa forma não há quebra na simetria do ligante, bem como não ocorre mudança significativa no ambiente químico dos hidrogênios alifáticos.

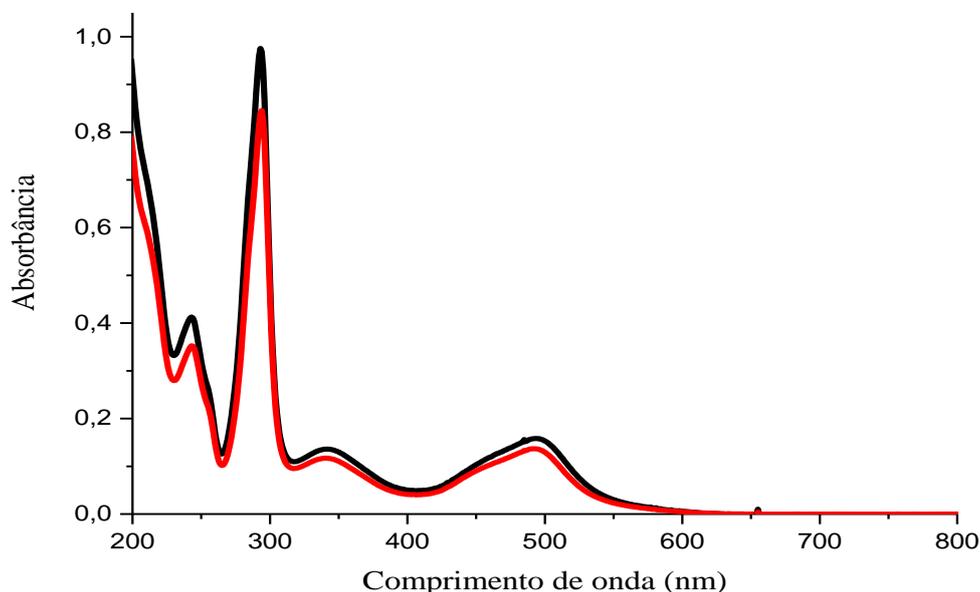
Experimentos de espectrometria de massas em alta resolução (Apêndice F) para os íons complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺ e *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺ permitiram identificar fragmentos referentes a esses cations com valores de *m/z* iguais a 531,0631 Da (teórico=531,0632 Da) e 551,0370 Da (teórico=551,0353 Da), respectivamente, corroborando com as estruturas propostas.

Medidas de condutividade em acetonitrila para os compostos *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl](PF₆) e *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl](PF₆) apresentaram valores de 154 e 157 μS/cm, os quais são coerentes com a proporção de eletrólitos (1:1) e estão na faixa usual.⁹⁷

4.3 Caracterização do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂](PF₆)₂

Os espectros eletrônicos da espécie *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂]²⁺ em água e acetonitrila estão apresentados na Figura 17. Os espectros teóricos obtidos por cálculo de TD-DFT para o complexo nos mesmos solventes estão representados na Figura 18.

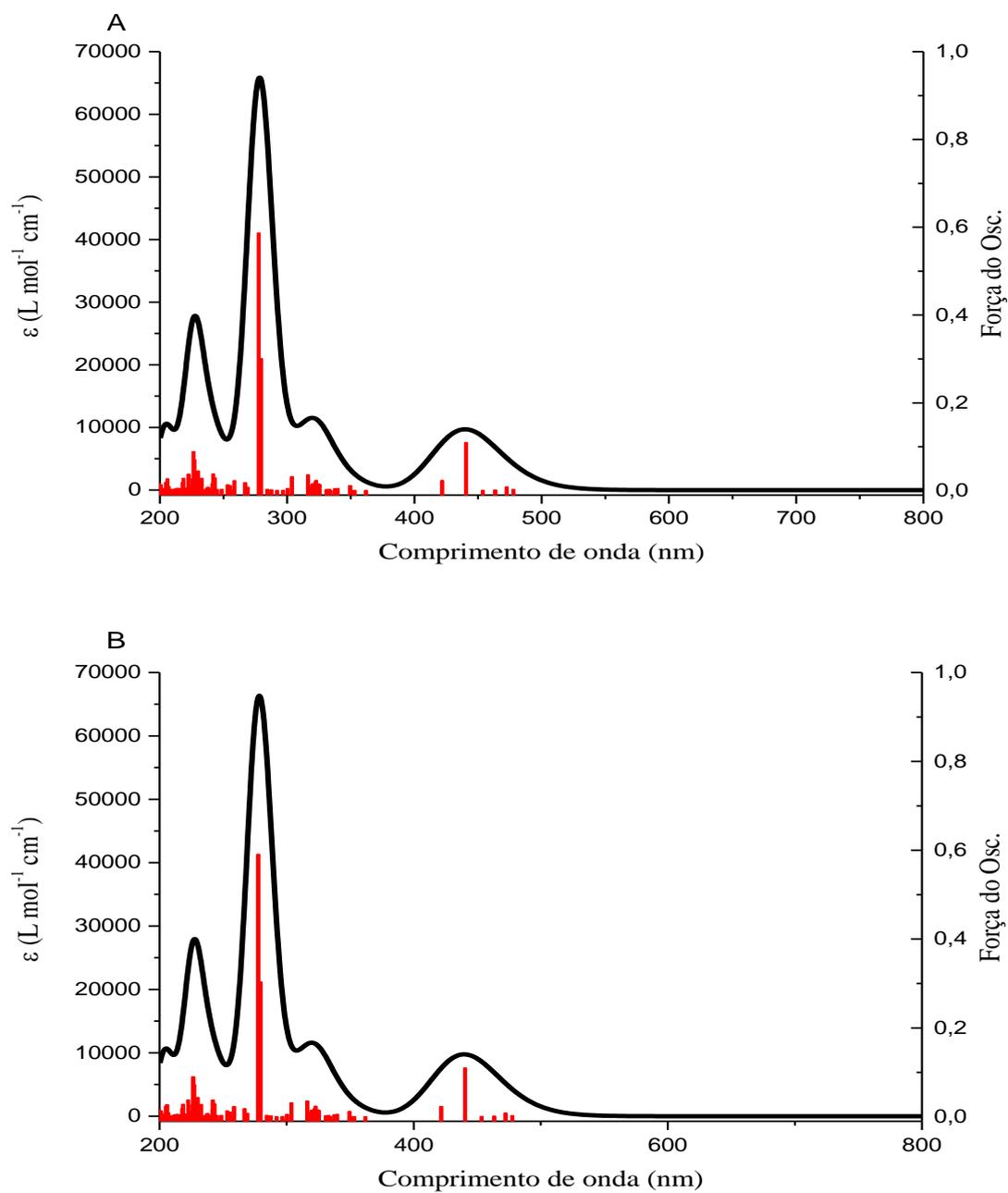
Figura 17 – Espectros eletrônicos do íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂]²⁺ a $1,76 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em água (—) e $1,40 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em acetonitrila (—).



Fonte: elaborado pelo autor.

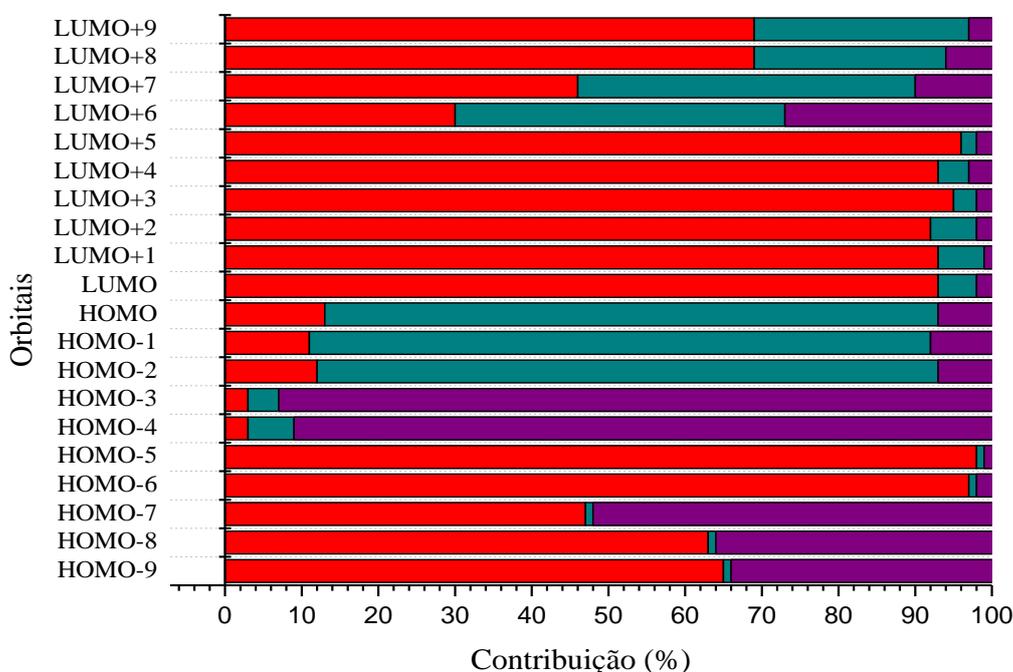
O espectro obtido em acetonitrila apresenta duas bandas na região do ultravioleta em 243 e 293 nm. A primeira, de composição HOMO-8→LUMO+1 (60%), HOMO-7→LUMO+1 (2%), HOMO-6→LUMO+3 (4%), HOMO-6→LUMO+5 (4%) e HOMO-5→LUMO+5 (4%), pode ser considerada uma banda do tipo intraligante, visto que, conforme pode ser observado na Figura 19, os orbitais HOMO-8 e LUMO+1 apresentam caráter majoritário do ligante bipyridina. A segunda, com contribuições dos orbitais HOMO-6→LUMO (27%), HOMO-5→LUMO+1 (48%), HOMO-6→LUMO+1 (6%) e HOMO-1→LUMO+5 (2%), também é classificada como intraligante, uma vez que os orbitais HOMO-6, HOMO-5 e LUMO são majoritariamente constituídos pelos elétrons do ligante bipyridina. Na região do ultravioleta próximo e visível, foram identificadas duas bandas em 341 e 493 nm, as quais, em complexos análogos,⁹⁸ foram atribuídas a transferências de carga metal ligante. Os dados de cálculos teóricos se mostraram coerentes com essa informação, visto que a banda em 341 nm tem composição HOMO-4→LUMO (13%), HOMO-1→LUMO+3 (17%), HOMO-1→LUMO+4 (17%) e HOMO→LUMO+4 (10%) e a banda em 493 nm é composta pelos orbitais HOMO-2→LUMO (36%), HOMO-1→LUMO (12%), HOMO-1→LUMO+1 (33%) e HOMO→LUMO (7%).

Figura 18 - Espectros eletrônicos teóricos da espécie $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})_2]^{2+}$ simulados em água (A) e acetonitrila (B).



Fonte: elaborado pelo autor.

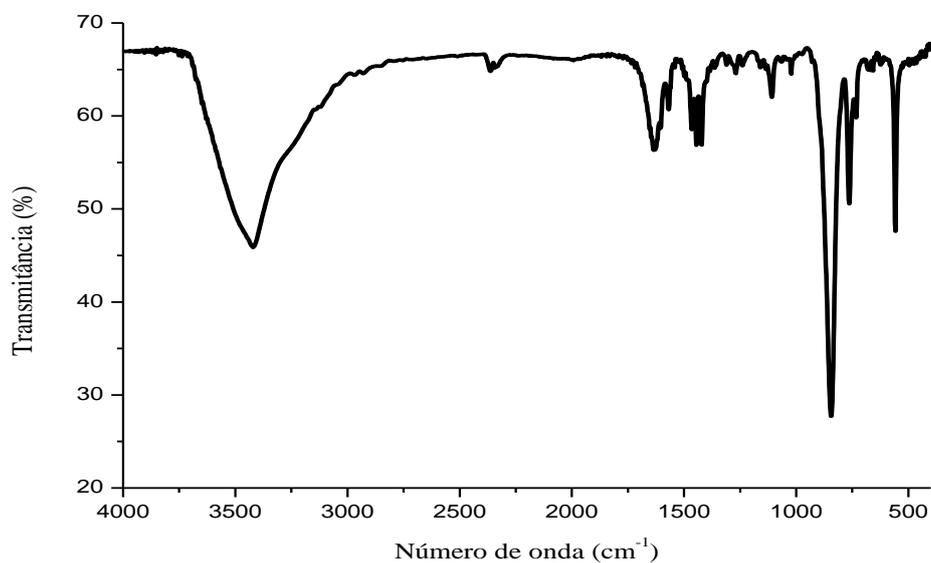
Figura 19 - Contribuições dos orbitais moleculares da espécie *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂]²⁺ em função de seus fragmentos: Ru (—), bpy (—), 2-MIM (—).



Fonte: elaborado pelo autor.

O espectro vibracional na região do infravermelho está apresentado na Figura 20 e os principais modos vibracionais estão descritos na Tabela 4. Os sinais em 3414 e 3124 cm^{-1} foram atribuídos aos estiramentos das ligações N-H e C-H, respectivamente, sendo essa observação coerente com a presença do ligante 2-metilimidazol coordenado ao centro metálico. Bandas em 1465 e 1444 cm^{-1} , por sua vez, sugerem a existência de frequências de estiramento das ligações C=C e C=N, evidenciando a manutenção dos ligantes bipyridina na esfera de coordenação. Finalmente, a presença do contra-íon hexafluorofosfato (PF_6^-) foi confirmada pela presença da frequência de estiramento e deformação da ligação P-F em 844 e 557 cm^{-1} .

Figura 20 – Espectro de infravermelho do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂](PF₆)₂ em pastilha de KBr.



Fonte: elaborado pelo autor.

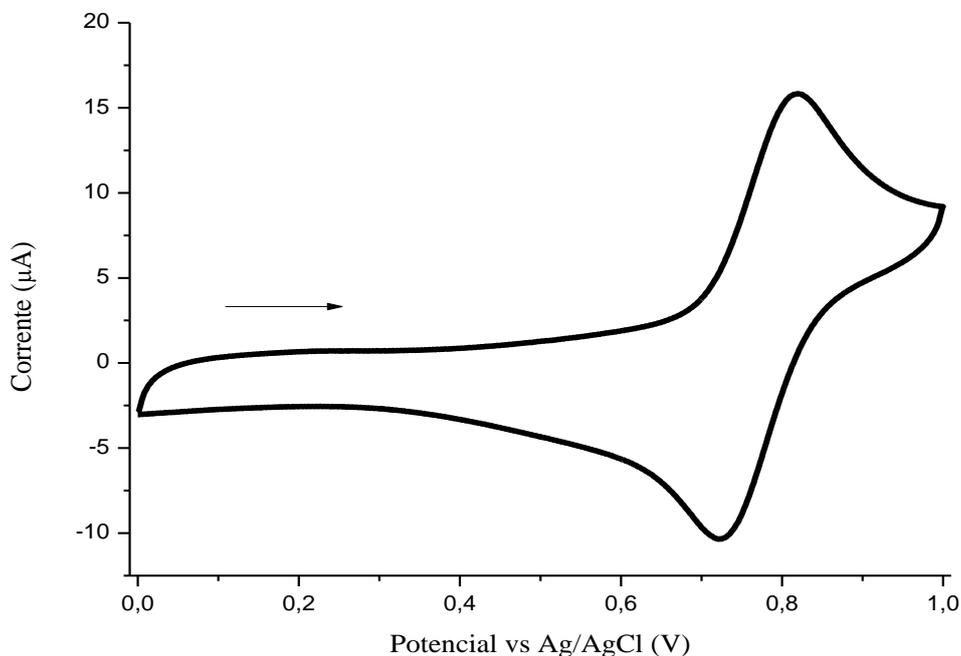
Tabela 4 - Modos vibracionais selecionados do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂](PF₆)₂ obtidos em pastilha de KBr.

Número de onda (cm ⁻¹)	Modos Vibracionais
3414	ν(N-H)
3124	ν(C-H)
1635	δ(N-H)
1465	ν(C=C)
1444	ν(C=N)
763	δ(C-H)
844	ν(P-F)
557	δ(P-F)

Fonte: elaborado pelo autor

O voltamograma cíclico para o cátion *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂]²⁺ está apresentado na Figura 21.

Figura 21 - Voltamograma cíclico para o íon complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})_2]^{2+}$ em NaTFA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH=3,0. $V=100 \text{ mV s}^{-1}$.



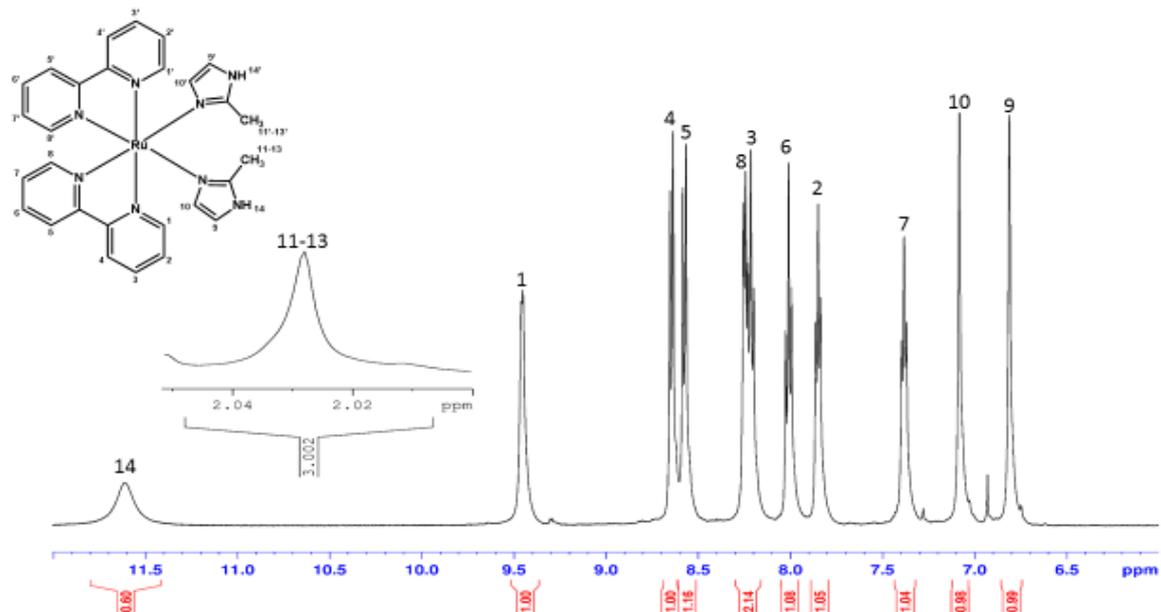
Fonte: elaborado pelo autor.

Observa-se a presença de um processo eletroquímico com valor de potencial de meia-onda igual a 770 mV vs Ag/AgCl, atribuído ao par redox $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$. Quando comparado ao complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})\text{Cl}]^+$, o qual apresentou valor de $E_{1/2}$ igual a 582 mV nas mesmas condições experimentais, nota-se que a substituição do segundo cloreto pelo ligante 2-metilimidazol promove uma estabilização ainda maior do centro metálico, resultando em valores mais elevados de potencial de meia-onda. A mesma tendência já havia sido observada complexos similares e relatada por outros autores.⁹⁸

O espectro de ressonância magnética nuclear de hidrogênio da espécie $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})_2]^{2+}$ está apresentado na Figura 22. Pode-se observar que na região de hidrogênios aromáticos foram identificados 10 sinais referentes aos 20 átomos de hidrogênio ligados a carbonos sp^2 . Isso sugere que cada sinal corresponde a um par de hidrogênios magneticamente equivalentes e que, portanto, a simetria do complexo foi mantida tal como no precursor $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2\text{Cl}_2]$. Os picos referentes ao ligante 2-metilimidazol foram identificados em 11,61; 7,08; 6,81; e 2,03 ppm com o auxílio do espectro COSY (Apêndice G).

Medidas de condutividade para o composto $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})_2](\text{PF}_6)_2$ apresentaram valor de $194 \mu\text{S/cm}$ e são coerentes com a proporção de espécies carregadas.

Figura 22 - Espectro de RMN ^1H do composto $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})_2]^{2+}$ em acetona d_6 .

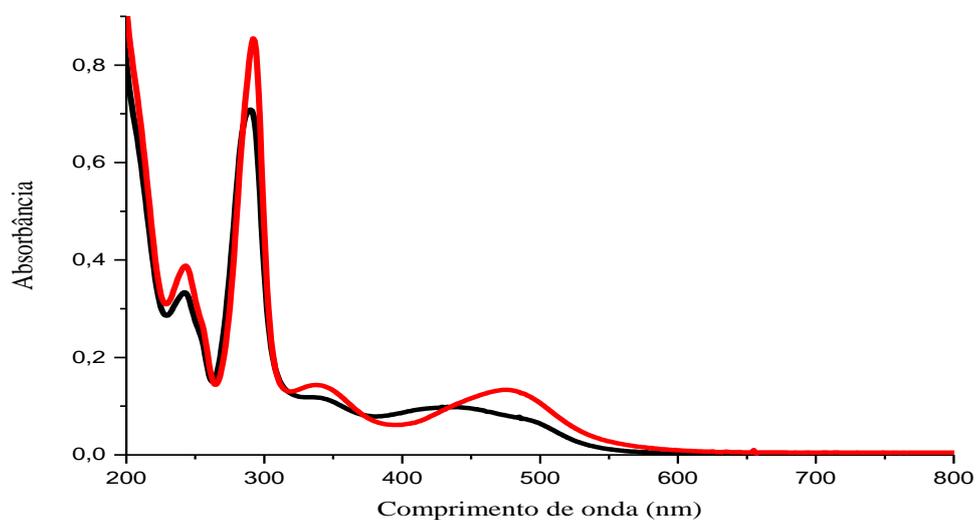


Fonte: elaborado pelo autor.

4.4 Caracterização do complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO}_2)](\text{PF}_6)$

Os espectros eletrônicos na região do UV – visível para o complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO}_2)]^+$ obtidos em água e acetonitrila estão apresentados na Figura 23.

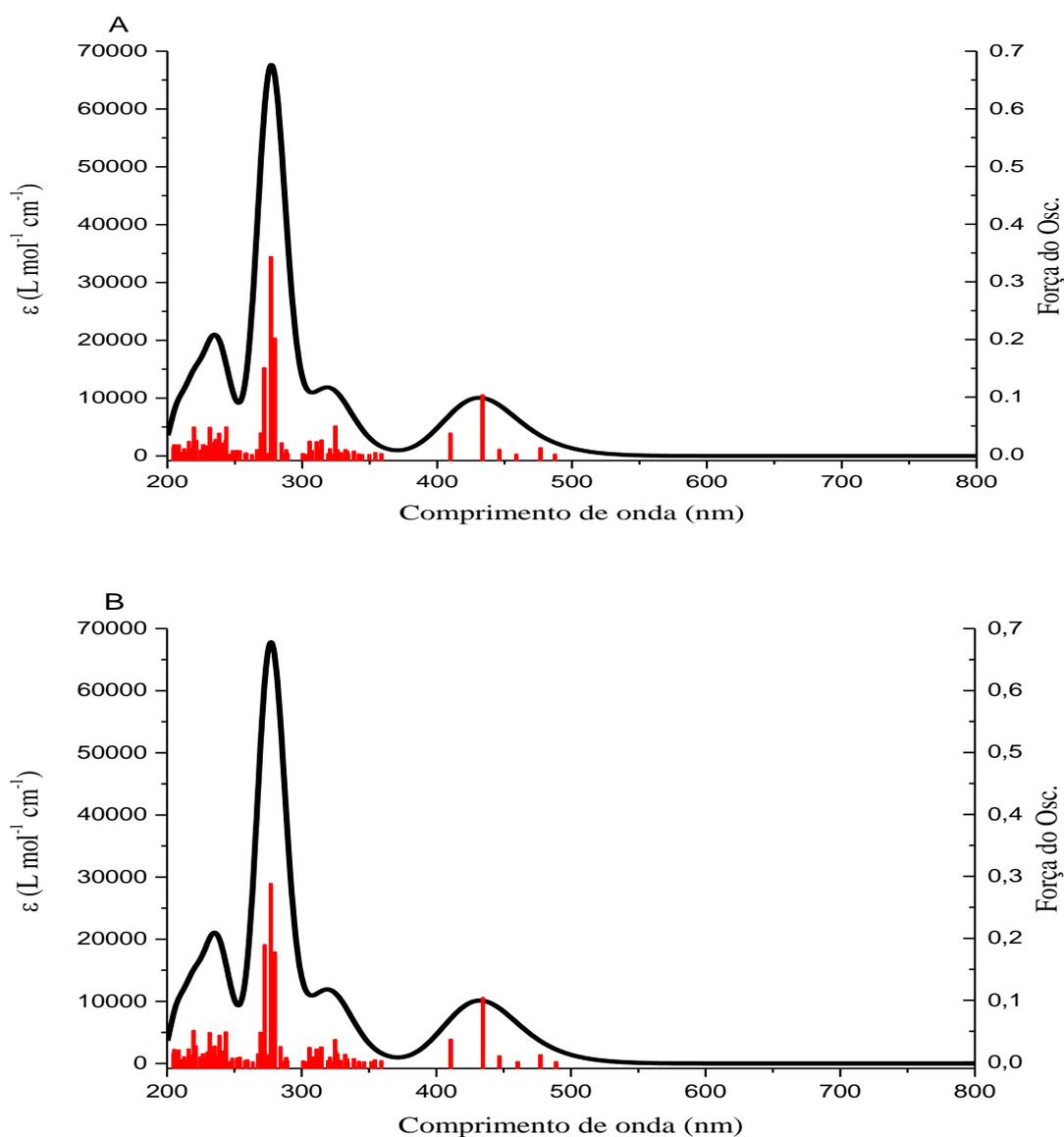
Figura 23 – Espectros eletrônicos do íon complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO}_2)]^+$ a $2,9 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} em água (—) e $2,3 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} em acetonitrila (—).



Fonte: elaborado pelo autor.

Os espectros teóricos em água e acetonitrila, por sua vez, são apresentados na Figura 24, abaixo.

Figura 24 – Espectros eletrônicos teóricos da espécie $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO}_2)]^+$ simulados em água (A) e acetonitrila (B).

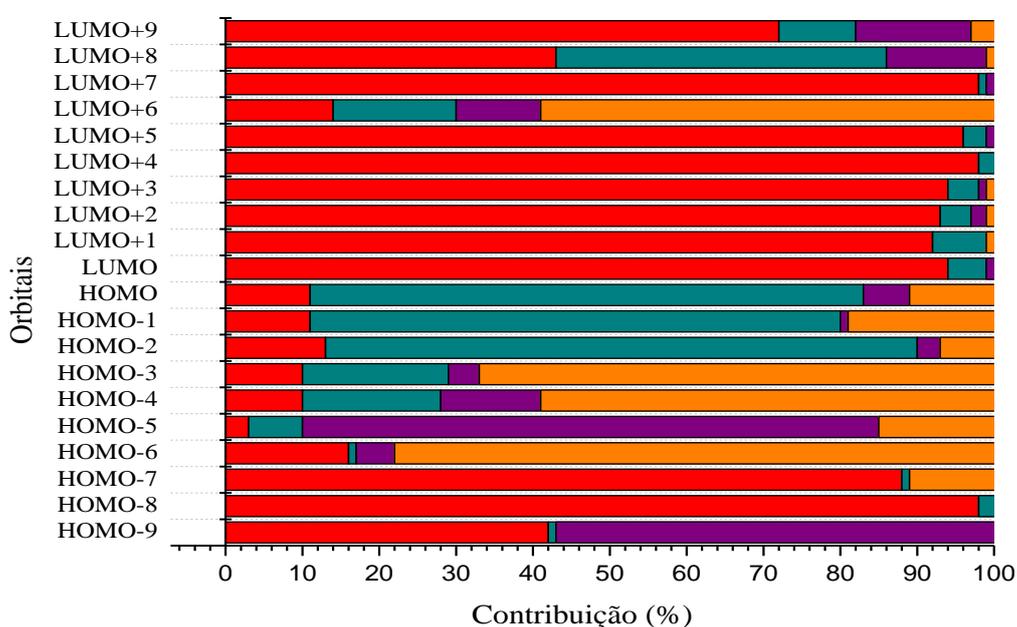


Fonte: elaborado pelo autor.

Verifica-se na região do ultravioleta a presença de 2 bandas intensas em 242 e 292 nm. A primeira apresenta como contribuições majoritárias as transições HOMO-6→LUMO+3 (10%), HOMO-5→L+6 (10%), HOMO-4→LUMO+6 (31%) e HOMO-2→LUMO+8 (11%). Visto que, conforme pode ser observado na Figura 25, os orbitais HOMO-4 e LUMO+6 apresentam composição principal do ligante nitrito, essa banda pode ser considerada como

intragante. Por sua vez, a banda em 292 nm de composição HOMO-7→LUMO (22%), HOMO-6→LUMO+1 (14%), HOMO-8→LUMO (5%) e HOMO-8→LUMO+1 (5%) é também classificada como intragante, uma vez que os orbitais HOMO-8, HOMO-7, LUMO e LUMO+1 tem maior contribuição das bipyridinas.

Figura 25 - Contribuições dos orbitais moleculares da espécie $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO}_2)]^{2+}$ em função de seus fragmentos: Ru (—), bpy (—), 2-MIM (—), NO_2^- (—).

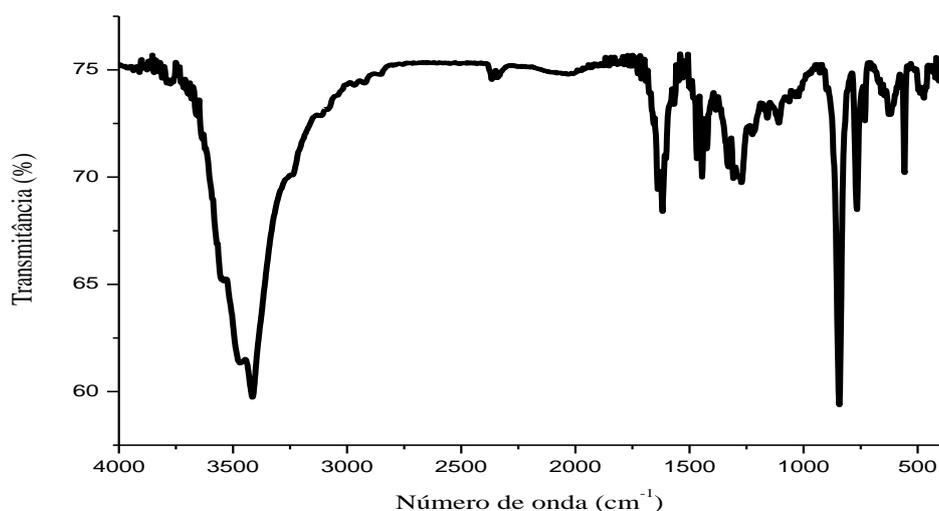


Fonte: elaborado pelo autor.

Para o espectro obtido em acetonitrila, na região do ultravioleta próximo e visível foram identificadas bandas em 338 e 477 nm. A primeira, de acordo com as simulações computacionais realizadas, tem contribuições HOMO-2→LUMO+3 (19%), HOMO-1→LUMO+5 (42%), HOMO-2→LUMO+5 (4%), HOMO-2→LUMO+6 (3%), o que indica que essa banda pode ser classificada como MLCT, dado o caráter majoritário dos orbitais HOMO de fronteira localizados no átomo de rutênio e dos orbitais LUMO de fronteira localizados nas bipyridinas. De forma análoga, a banda em 477 nm apresenta contribuições HOMO-2→LUMO (60%), HOMO-1→LUMO+1 (20%), HOMO-2→LUMO+1 (7%) e HOMO-1→LUMO (6%) e também pode ser classificada como transferência de carga metal ligante pelo mesmo motivo citado anteriormente.

O espectro vibracional na região do infravermelho para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)](PF₆) é apresentado na Figura 26, sendo os principais modos vibracionais descritos na Tabela 5.

Figura 26 – Espectro de infravermelho do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)](PF₆) em pastilha de KBr.



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 5 – Modos vibracionais selecionados do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)](PF₆) obtidos em pastilha de KBr.

Número de onda (cm ⁻¹)	Modos Vibracionais
3416	$\nu(\text{N-H})$
3113	$\nu(\text{C-H})$
1639	$\delta(\text{N-H})$
1468	$\nu(\text{C=C})$
1445	$\nu(\text{C=N})$
1329	$\nu_{\text{assim}}(\text{NO}_2^-)$
1308	$\nu_{\text{sim}}(\text{NO}_2^-)$
768	$\delta(\text{C-H})$
840	$\nu(\text{P-F})$
554	$\delta(\text{P-F})$

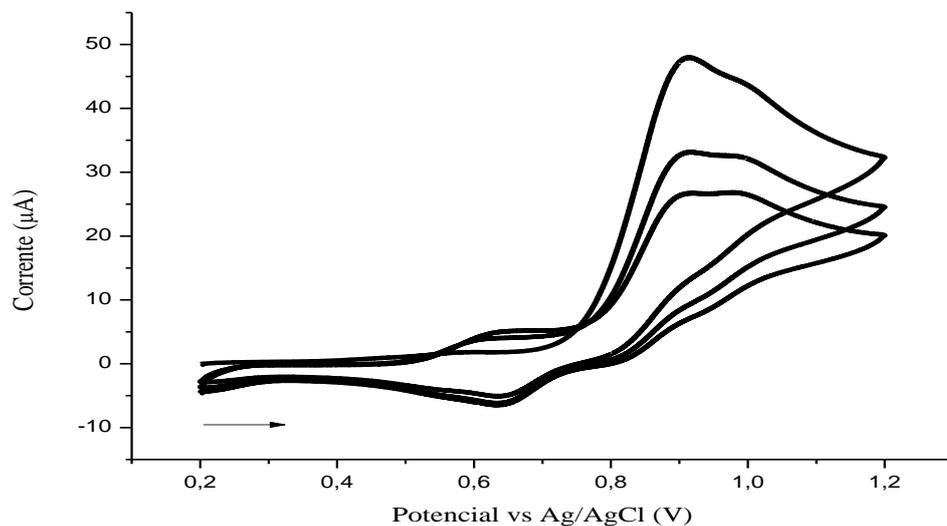
Fonte: elaborado pelo autor.

Observa-se no espectro a presença de sinais característicos do ligante bipyridina, tais como as frequências de estiramento C-H, C=C, C=N presentes em 3113, 1468, 1445 cm^{-1} , respectivamente.⁹⁹ Frequências associadas aos estiramentos da ligação P-F do contraíon hexafluorofosfato foram identificadas em 840 e 554 cm^{-1} .

Além disso, observou-se o surgimento de sinais em 1329 e 1308 cm^{-1} , os quais podem ser atribuídos aos estiramentos assimétrico e simétrico do ligante nitro coordenado ao metal. Esse grupo pode ligar-se ao centro metálico tanto pelo átomo de nitrogênio, como pelo átomo de oxigênio, sendo capaz, inclusive, de funcionar como ligante ponte em sistemas binucleares ou ainda como quelante.⁹¹ A diferenciação entre as formas de coordenação desse ânion, é feita através dos valores de estiramento da ligação N-O: se a diferença entre as frequências for menor que 100 cm^{-1} , a ligação se dá pelo átomo de nitrogênio; se for maior que 300 cm^{-1} , o ligante está coordenado via átomo de oxigênio.⁹¹ Pelo espectro vibracional obtido, conclui-se que o grupo nitro está ligado via átomo de nitrogênio.

A Figura 27 apresenta o voltamograma cíclico para o íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)]⁺. Verifica-se na primeira varredura a presença de dois processos eletroquímicos com valores de E_{1/2} iguais a 860 e 970 mV, atribuídos aos pares redox Ru^{III}/Ru^{II} e NO₃⁻/NO₂⁻, respectivamente. O aumento do valor do potencial para o processo de oxidação do centro metálico é condizente com a coordenação do ânion nitrito, visto que esse ligante apresenta forte caráter π-acceptor, o que resulta em estabilização dos orbitais centrados no átomo de rutênio.³¹ O surgimento de um segundo potencial referente ao processo redox do ligante nitro coordenado também evidencia a coordenação, visto que encontrou-se valor superior ao do ânion livre.¹⁰⁰ Adicionalmente, verificou-se a formação de um terceiro potencial em E_{1/2}=650 mV. Esse processo pode ser atribuído ao par redox Ru^{III}/Ru^{II} da espécie *cis*-[Ru^{III}(bpy)₂(2-MIM)(NO₃)]²⁺ formada na superfície do eletrodo durante a aplicação do potencial anódico.¹⁰¹ Esse processo pode ser detectado devido à baixa reversibilidade do processo Ru^{III}-NO₃⁻/ Ru^{III}-NO₂⁻, o que permite que a espécie *cis*-[Ru^{III}(bpy)₂(2-MIM)(NO₃)]²⁺, seja reduzida a *cis*-[Ru^{II}(bpy)₂(2-MIM)(NO₃)]⁺ na superfície do eletrodo. A realização de diversos ciclos demonstrou a tendência de formação dessa espécie através do aumento contínuo da corrente de pico referente ao processo Ru^{III}-NO₃⁻/ Ru^{II}-NO₃⁻, em detrimento da diminuição das correntes associadas aos processos Ru^{III}-NO₂⁻/ Ru^{II}-NO₂⁻ e Ru^{III}-NO₃⁻/ Ru^{III}-NO₂⁻ (Apêndice H). Esses achados corroboram com a estrutura sugerida para o complexo em estudo.

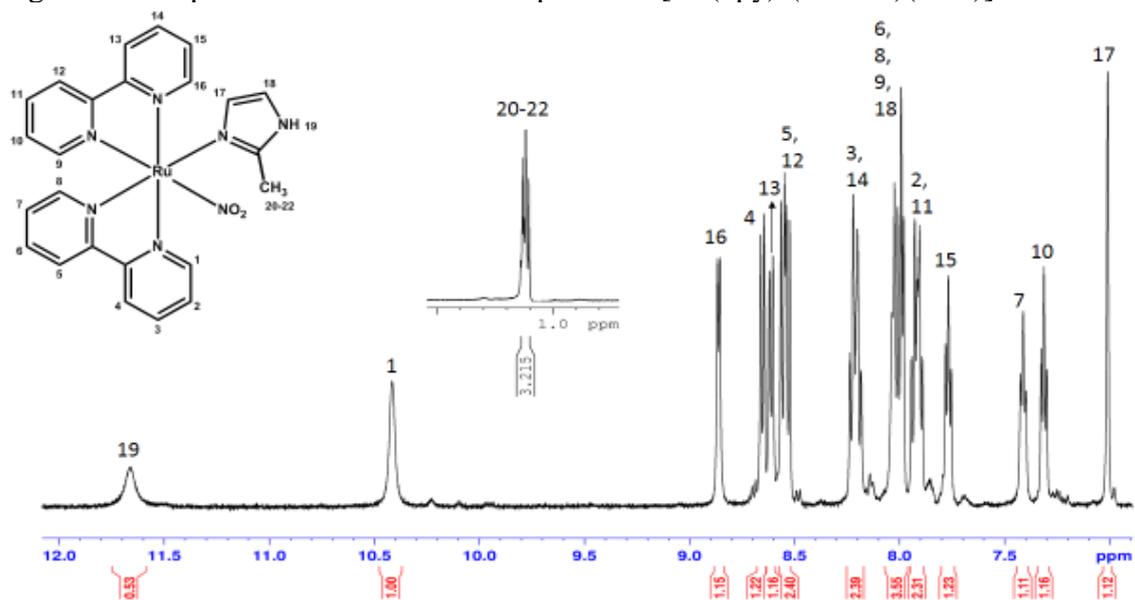
Figura 27 – Voltamograma cíclico (3 ciclos) para o íon complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO}_2)]^+$ em NaTFA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH=3,0. $V=100 \text{ mV s}^{-1}$.



Fonte: elaborado pelo autor.

Os espectros de RMN ^1H unidimensional (Figura 28) e bidimensional (Apêndice I) do complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO}_2)]^+$ foram obtidos em acetona deuterada. As atribuições estão listadas no Apêndice J.

Figura 28 – Espectro de RMN ^1H do composto $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO}_2)]^+$ em acetona d_6 .



Fonte: elaborado pelo autor

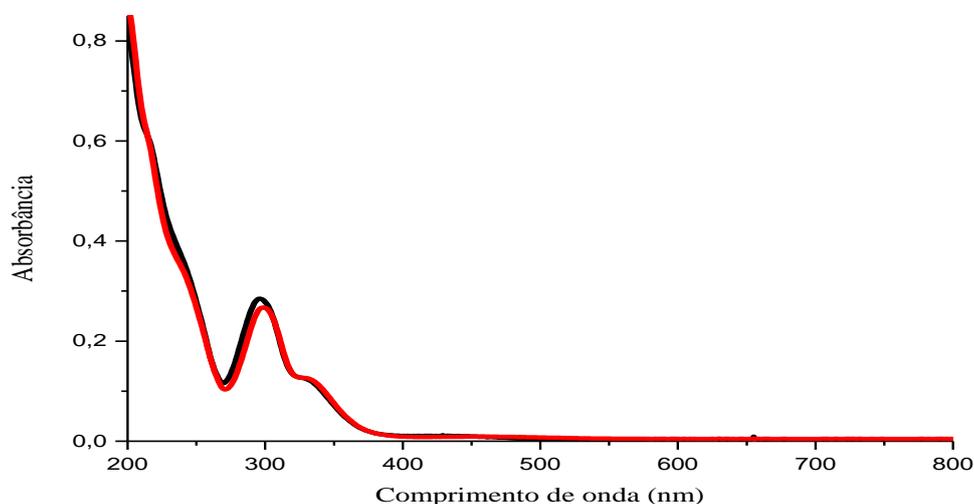
Observou-se que após a coordenação do ligante nitro o sinal referente a H-1 foi ainda mais desblindado devido à proximidade espacial do átomo de oxigênio. Os hidrogênios 20 a 22 foram correlacionados ao sinal em 1,12 ppm, o que denota proteção quando comparado ao ligante livre. O efeito anisotrópico gerado pela ligação dupla presente no ânion nitrito pode estar relacionada ao aumento da blindagem sobre o grupo metila.^{92, 99} Além disso, é evidente a manutenção dos sinais relativos as duas bipyridinas e ao ligante 2-metilimidazol, tendo um dos sinais sofrido deslocamento para campo mais baixo em relação ao ligante livre.

A medida do espectro de massas para o composto *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)]⁺ em acetonitrila revelou um único fragmento majoritário com *m/z* igual a 542,0872 Da (teórico=542,0873 Da) referente a esse cation monovalente (Apêndice F). Por sua vez, medidas de condutividade para o composto *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)](PF₆) forneceram o valor de 157 μS/cm apresentando coerência com a proporção de eletrólito 1:1.

4.5 Caracterização dos complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)](PF₆)₃ e *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)](PF₆)₃

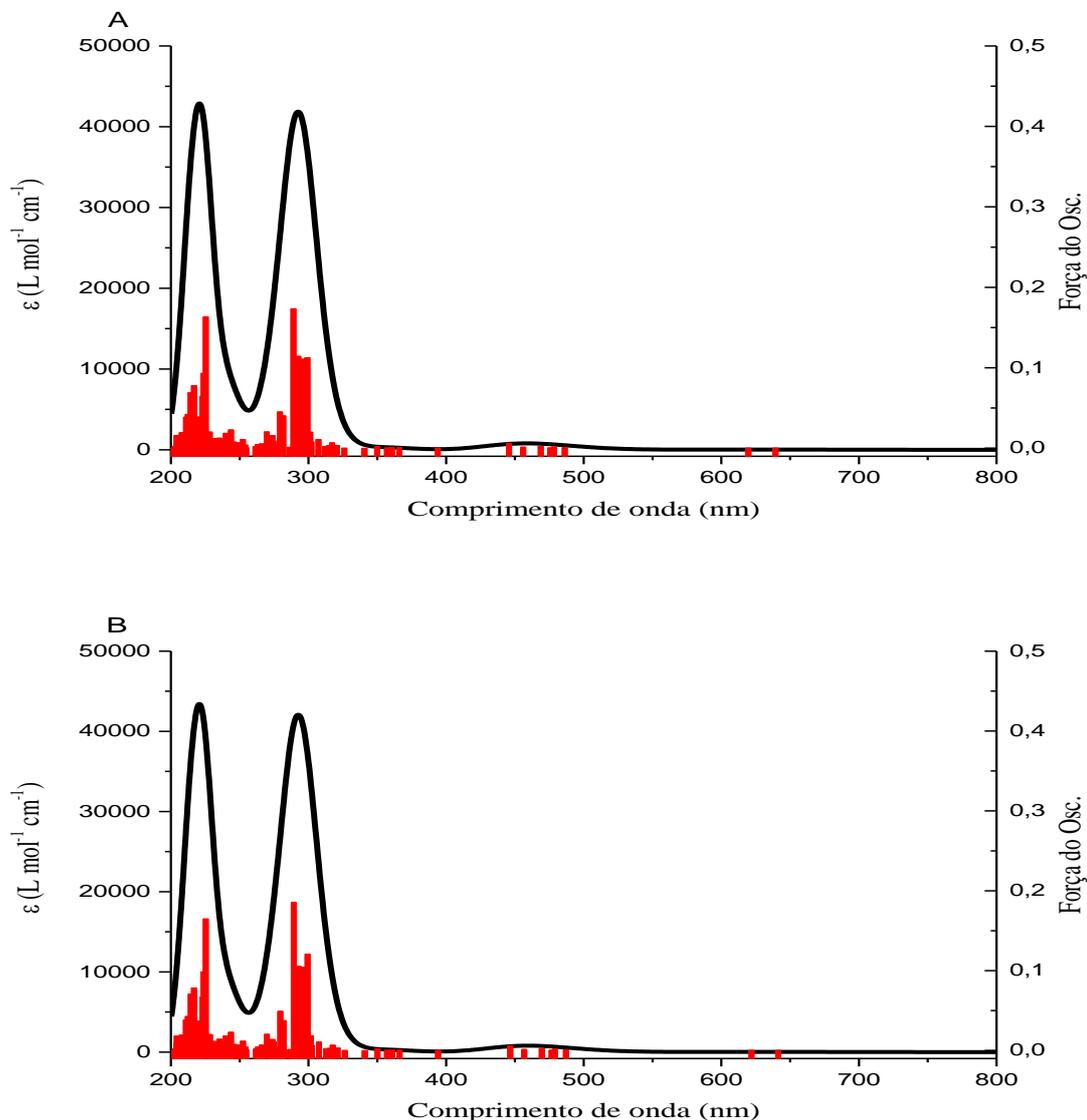
Os espectros eletrônicos na região do UV – visível para os íon complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺ obtidos em meio aquoso e acetonitrila são apresentados na Figura 29 e os respectivos espectros teóricos estão dispostos na Figura 30.

Figura 29 – Espectros eletrônicos do cátion complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺ a 2,9 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ (—) em água e 2,0 x 10⁻⁵ mol L⁻¹ em acetonitrila (—).



Fonte: elaborado pelo autor

Figura 30 – Espectros eletrônicos teóricos da espécie $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ simulados em água (A) e acetonitrila (B).



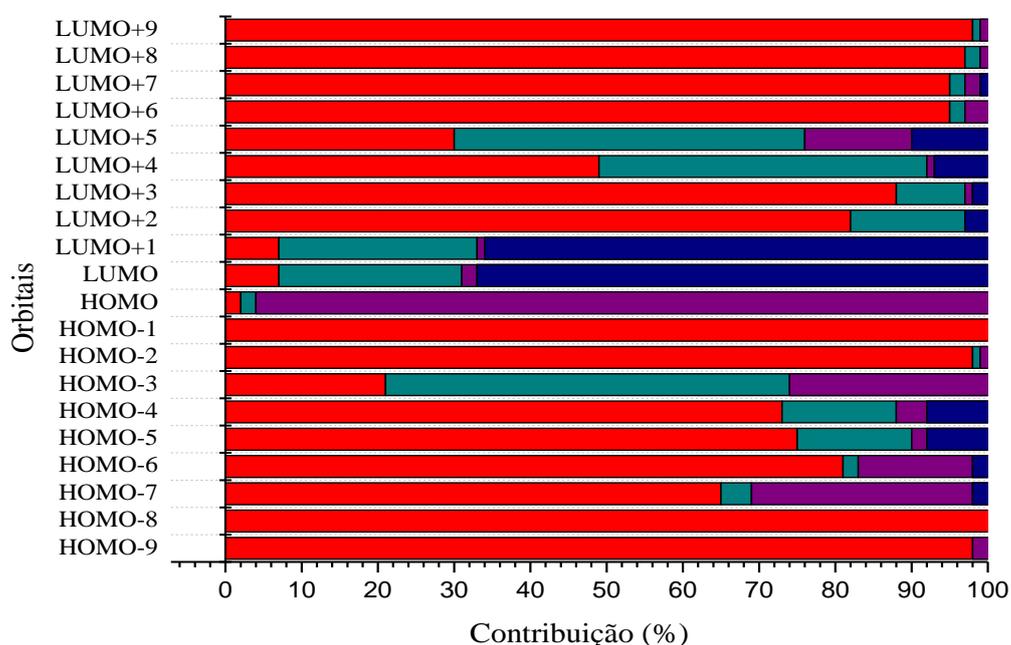
Fonte: elaborado pelo autor.

Para o espectro em acetonitrila, observa-se na região do ultravioleta, a presença de uma banda intensa em 299 nm, a qual apresenta composição HOMO-9→LUMO+1 (41%), HOMO-2→LUMO+3 (32%), HOMO-8→LUMO+1 (3%) e HOMO-3→LUMO+4 (3%). Conforme fica evidente nos dados da Figura 31, os orbitais HOMO-9, HOMO-2 e LUMO+3 tem contribuição majoritária do ligante bipyridina enquanto o orbital LUMO+1 é principalmente composto pelo grupo nitrosil. Portanto, a banda em 299 nm tem caráter misto, envolvendo transições do tipo intraligante e transferência de carga metal ligante.

Ainda na região do UV, há uma banda em 331 nm de composição HOMO-8→LUMO (47%), HOMO-6→LUMO+1 (16%), HOMO-9→LUMO (3%) e HOMO-

7→LUMO+1 (6%). Considerando que o orbital HOMO-8 tem caráter predominante do ligante bipyridina e LUMO+1 tem caráter do grupo nitrosil, a transição é classificada como transferência de carga ligante-ligante. Convém ressaltar que a transição existente por volta de 245 nm nos complexos precursores aparenta ter sido deslocada para região de maior energia em ambos os compostos, como efeito da extensa capacidade π -aceptora do ligante nitrosil.

Figura 31 – Contribuições dos orbitais moleculares da espécie cis -[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺ em função de seus fragmentos: Ru (—), bpy (—), 2-MIM (—), NO⁺ (—).

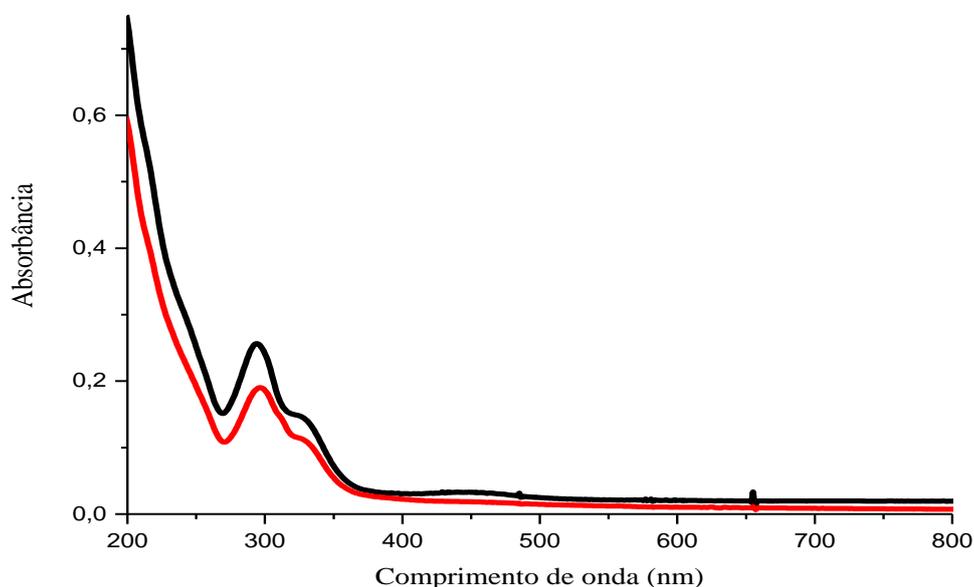


Fonte: elaborado pelo autor.

Na região do visível, os espectros eletrônicos apresentam um perfil consideravelmente mais pobre em bandas que seus respectivos precursores, visto que o ligante nitrosil, por apresentar orbitais π -antiligantes disponíveis e ser fortemente π -aceptor, estabiliza os orbitais do complexo cuja maior contribuição é proveniente dos orbitais atômicos do rutênio, elevando a energia das transições eletrônicas do tipo transferência de carga.¹⁰²

Os espectros eletrônicos da espécie cis -[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺ em água e acetonitrila estão representados na Figura 32

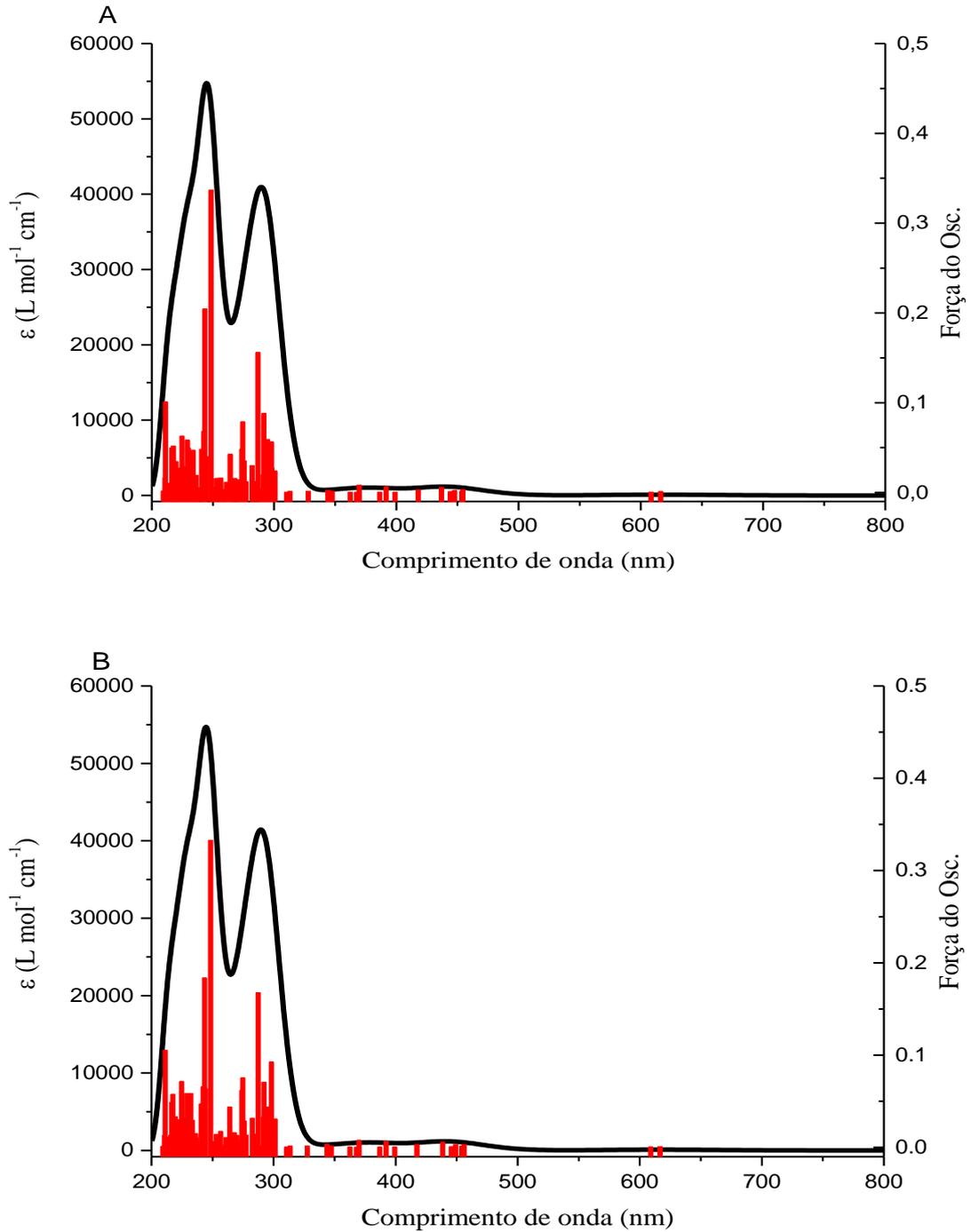
Figura 32 – Espectros eletrônicos do ânion complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺ a $1,4 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em água (—) e $1,8 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ em acetonitrila (—).



Fonte: elaborado pelo autor.

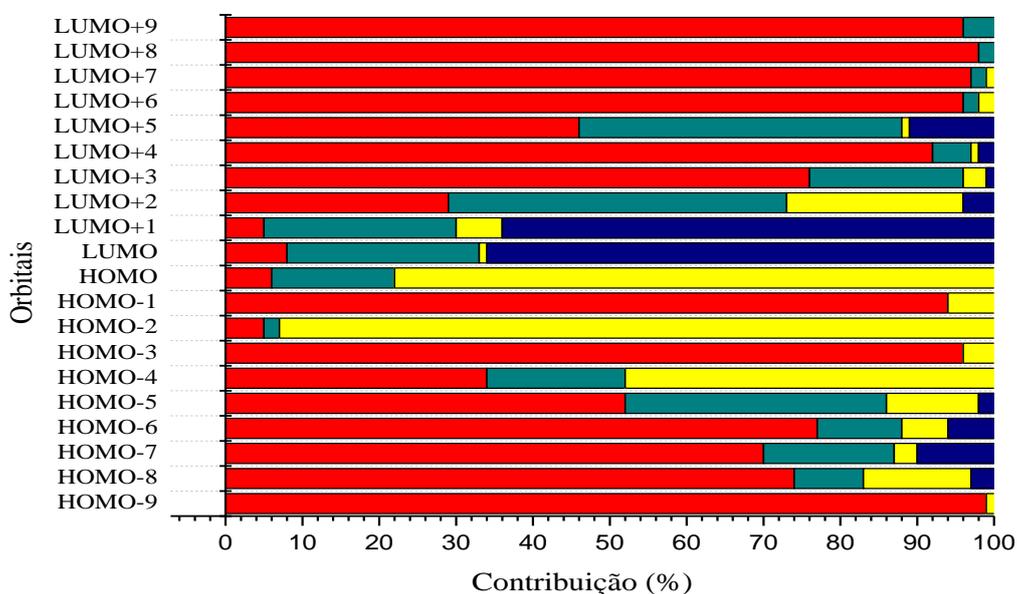
Os respectivos espectros teóricos estão dispostos na Figura 33. É possível observar a presença de duas bandas na região do ultravioleta em 297 e 331 nm. A primeira, segundo dados de TD-DFT, apresenta composição HOMO-9→LUMO+1 (70%), HOMO-2→LUMO+4 (11%), HOMO-8→LUMO+1 (4%) e HOMO-2→LUMO+3 (2%). Conforme pode ser visto na Figura 34, sendo o orbital HOMO-9 predominantemente de caráter do ligante bipyridina e o orbital LUMO+1 de caráter do grupo nitrosil, a transição pode ser considerada como transferência de carga ligante ligante. De forma semelhante, a banda em 331 nm tem contribuições dos orbitais HOMO-8→LUMO (32%), HOMO-8→LUMO+1 (11%), HOMO-7→LUMO (14%), HOMO-6→LUMO+1 (17%). Sabendo-se que o orbital HOMO-8 tem caráter predominante da bipyridina e que o orbital LUMO tem caráter majoritário da nitrosila, a banda também é classificada como transferência de carga ligante ligante.

Figura 33 - Espectros eletrônicos teóricos da espécie *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺ simulados em água (A) e acetonitrila (B).



Fonte: elaborado pelo autor.

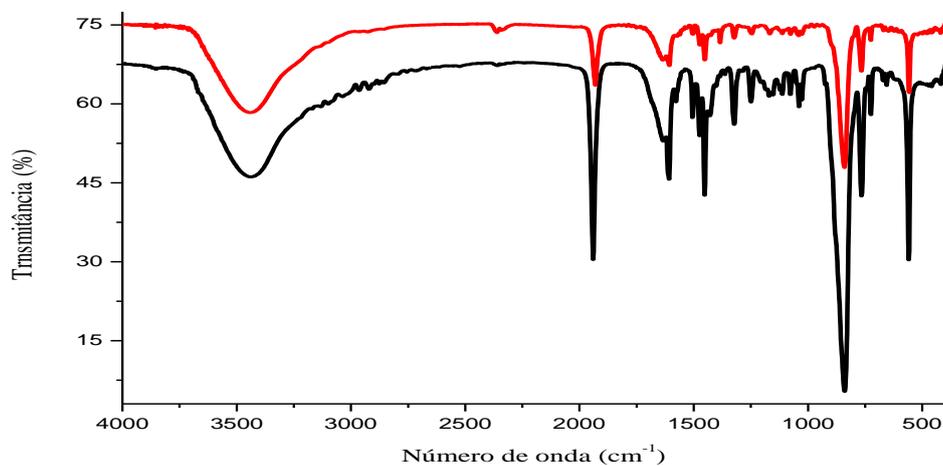
Figura 34 – Contribuições dos orbitais moleculares da espécie $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ em função de seus fragmentos: Ru (—), bpy (—), ETU (—), NO^+ (—).



Fonte: elaborado pelo autor.

Os espectros vibracionais na região do infravermelho para os complexos $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})](\text{PF}_6)_3$ e $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})](\text{PF}_6)_3$ são mostrados na Figura 35 e suas atribuições estão apresentadas na Tabela 6.

Figura 35 – Espectros vibracionais de infravermelho dos complexos $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})](\text{PF}_6)_3$ (—) e $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})](\text{PF}_6)_3$ (—) em pastilha de KBr.



Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 6 – Modos vibracionais selecionados dos complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)](PF₆)₃ e *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)](PF₆)₃ obtidos em pastilha de KBr.

Número de onda (cm ⁻¹)		Modos Vibracionais
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO)](PF ₆) ₃	<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)(NO)](PF ₆) ₃	
3439	3440	v(N-H)
3130	3100	v(C-H)
1940	1930	v(N≡O)
1634	1635	δ(N-H)
1472	1473	v(C=C)
1452	1451	v(C=N)
765	766	δ(C-H)
840	839	v(P-F)
558	558	δ(P-F)

Fonte: elaborado pelo autor.

Os compostos *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)](PF₆)₃ e *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)](PF₆)₃ apresentaram vibrações de estiramento da ligação N≡O em 1940 e 1930 cm⁻¹, respectivamente. Sabe-se que o ligante nitrosil pode estar coordenado ao centro metálico de duas formas: angular e linear (Figura 36). A distinção entre as geometrias pode ser evidenciada através do valor de estiramento da ligação N≡O e permite sugerir se o ligante encontra-se na forma NO⁺ (linear) ou NO⁰/NO⁻ (angular). Bandas com frequências elevadas, cujo valor está entre 1850 e 1950 cm⁻¹, indicam a presença do ligante na geometria predominantemente linear. Valores na faixa de 1600 a 1750 cm⁻¹, por sua vez, sugerem forma angular.⁹¹

Figura 36 – Geometrias de coordenação do ligante NO ao átomo de rutênio.

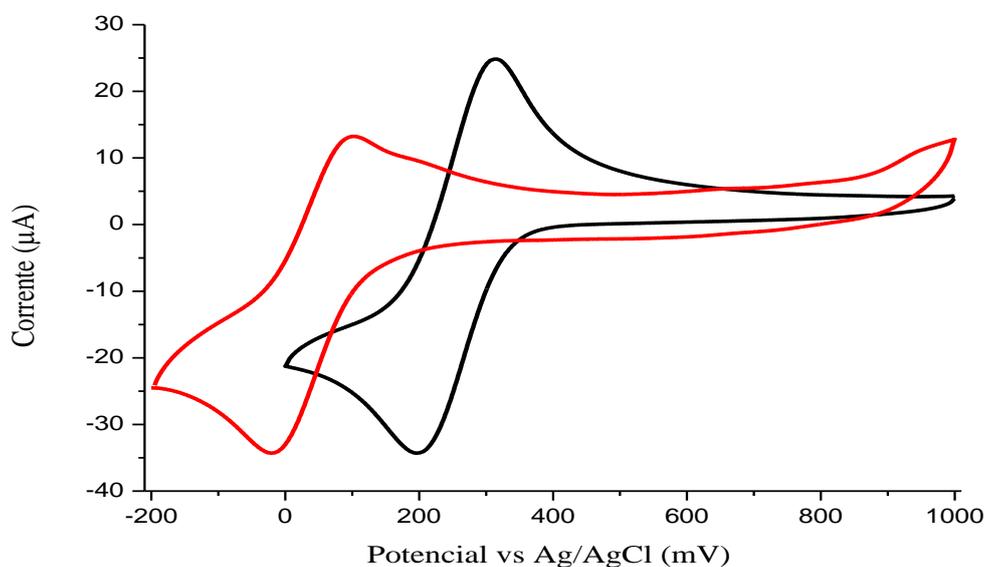


Fonte: elaborado pelo autor

Baseado nisso, pode-se afirmar que ambos os compostos apresetam o grupo nitrosil (NO^+) na geometria linear, sendo do tipo $\{\text{Ru-NO}\}^6$. Adicionalmente, o maior valor de estiramento da ligação $\text{N}\equiv\text{O}$ para o complexo contendo 2-metilimidazol pode ser justificado pelo seu maior caráter π -aceptor, quando comparado ao ligante etilenotiureia. Uma vez que há maior retirada de densidade eletrônica do metal pelo ligante, menor a capacidade de retrodoação do rutênio para o grupo nitrosil e assim, maior o caráter de NO^+ . Se o inverso ocorre (o ligante é um π -aceptor fraco), tem-se como resultado maior retrodoação para o grupo nitrosil, favorecendo o caráter de NO^0 .

A Figura 37 apresenta os voltamogramas cíclicos dos complexos $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ e $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$. Observa-se processos com valores de $E_{1/2}$ iguais a 254 mV e 75 mV vs Ag/AgCl, respectivamente, sendo ambos atribuídos ao par redox NO^+/NO^0 . O potencial referente ao par redox $\text{Ru}^{\text{III}}/\text{Ru}^{\text{II}}$ não é observado na faixa de varredura em meio aquoso, visto que a estabilização do centro metálico promovida pela coordenação do ligante nitrosil desloca esse potencial geralmente para valores acima de 2,0 V.¹⁰³ Além disso, tal como explicado anteriormente para os espectros de infravermelho, a diferença do caráter π -aceptor do ligante auxiliar influencia nas características eletrônicas do grupo nitrosil. Isso reflete diretamente no valor do seu potencial redox, que será tanto maior quanto menor for a retrodoação proveniente do metal.

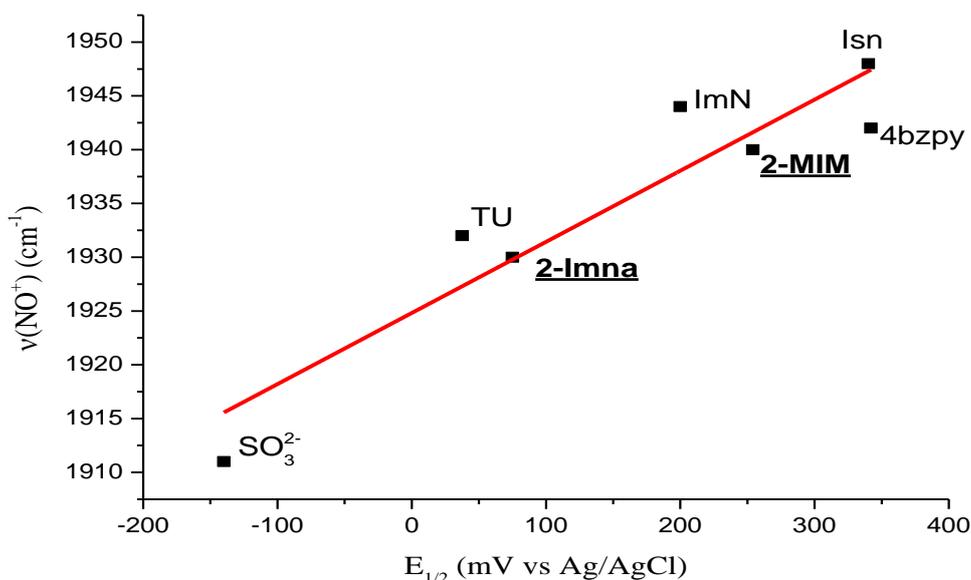
Figura 37 – Voltamogramas cíclicos para os complexos $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ (—) e $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ (—) em NaTFA 0,1 Mol L⁻¹ pH=3,0. V=100 mV s⁻¹.



Conhecendo-se os valores de potencial de meia-onda para o par redox NO^+/NO^0 e os valores de frequência de estiramento da ligação $\text{N}\equiv\text{O}$, pode-se correlacionar esses dois parâmetros a fim de se comparar as propriedades dos complexos sintetizados frente a compostos similares descritos por outros autores.^{104, 105} Tal correlação é possível, visto que, conforme comentado anteriormente, tanto as características espectroscópicas como eletroquímicas dos nitrosilo complexos são determinadas pelo caráter eletrofílico do fragmento Ru-NO , o qual é consideravelmente influenciado pelos ligantes auxiliares presentes na esfera de coordenação.

O gráfico da Figura 38 apresenta a relação entre valores de $E_{1/2}$ e de $\nu(\text{N}\equiv\text{O})$ para uma série de complexos de fórmula geral $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})\text{NO}]^{n+}$. Observa-se que os dois parâmetros em questão estão diretamente relacionados e verifica-se valores tanto maiores quanto menor for a extensão da interação $(\text{NO}^+)\pi^* \leftarrow d\pi(\text{Ru})$. De forma coerente a essa observação, verifica-se que os complexos contendo ligantes auxiliares fortemente π -aceptores estão na região superior direita do gráfico. Os dois compostos sintetizados nesse trabalho apresentam coerência com os demais.

Figura 38 – Correlação entre valores de $E_{1/2}$ vs $\nu(\text{N}\equiv\text{O})$ para complexos de fórmula geral $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})\text{NO}]^{n+}$.

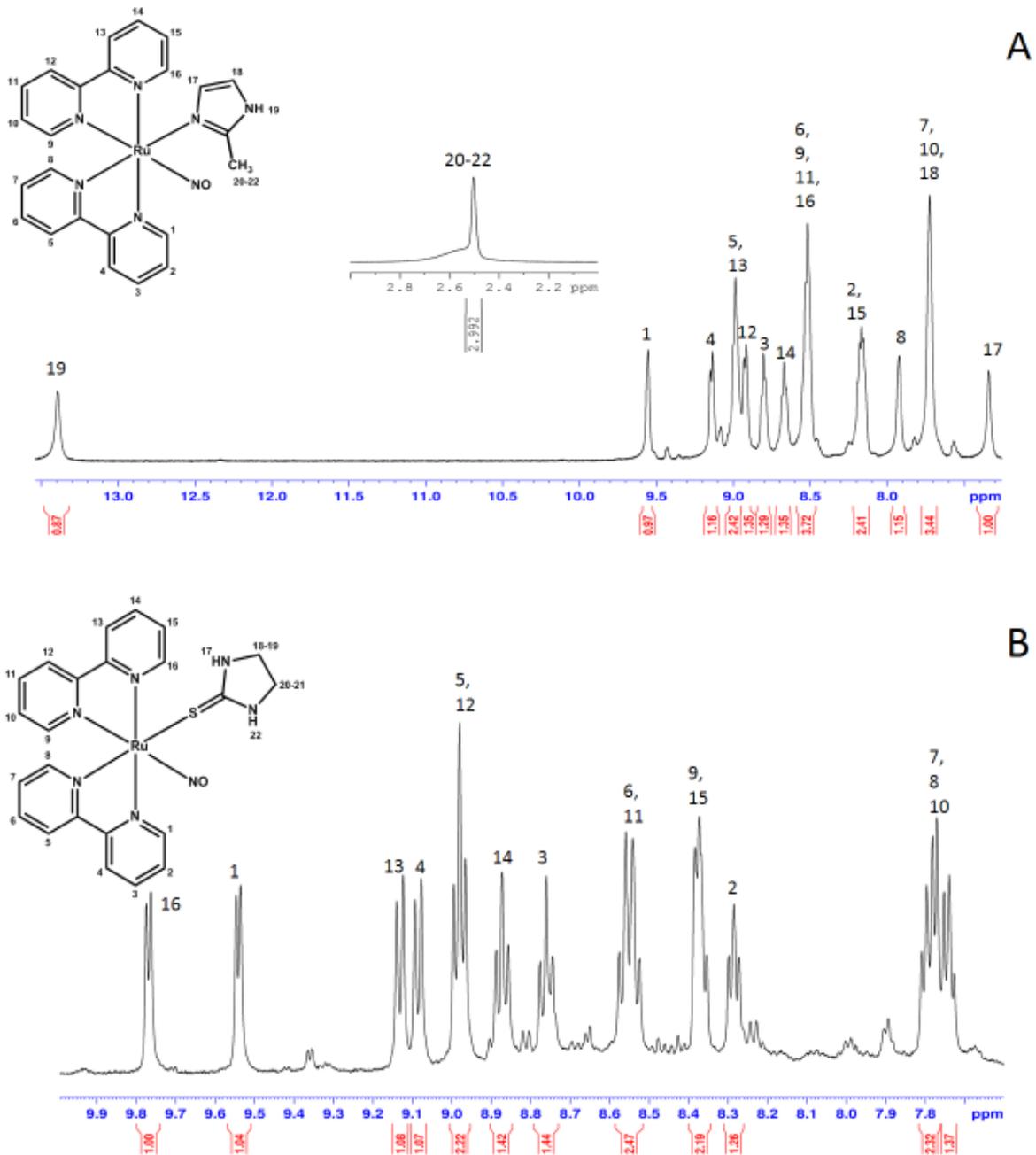


Fonte: elaborado pelo autor

Os espectros de RMN ^1H unidimensional e bidimensional (COSY) dos complexos $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ e $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ foram obtidos em DMSO e

acetona deuterados, respectivamente. Os espectros são apresentados na Figura 39 e Apêndices K e L, sendo as atribuições listadas na Tabela 7. Para ambos os compostos se verificou a manutenção de todos os sinais referentes ao ligante bipyridina, bem como o perfil dos picos sugere que o complexo manteve a simetria *cis*, conforme desejado.

Figura 39 – Espectros de RMN ^1H dos compostos *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ (A) e *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ (B) em DMSO e acetona d_6 , respectivamente.



Fonte: elaborado pelo autor.

Para o complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ observou-se deslocamento dos sinais referentes às bipyridinas. Pode-se constatar também a presença de três sinais na região de campo baixo referentes ao ligante 2-MIM coordenado, correspondentes a H-17 e H-18 (7,34 e 7,72 ppm) e a H-19 (13,39 ppm). Os hidrogênios 20 a 22 foram observados em 2,50 ppm, apresentando-se mais desprotegidos quando comparados ao nitro-composto precursor.

Tabela 7 – Atribuições dos espectros de RMN ^1H dos complexos $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ e $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$.

Sinal	Deslocamento químico (ppm)	
	$cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$	$cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$
1	9,55	9,52
2	8,15	8,27
3	8,80	8,75
4	9,14	9,06
5	8,99	8,96
6	8,51	8,54
7	7,72	7,76
8	7,92	7,76
9	8,51	8,36
10	7,72	7,76
11	8,51	8,54
12	8,92	8,96
13	8,99	9,12
14	8,67	8,85
15	8,15	8,36
16	8,51	9,76
17	7,34	-
18	7,72	-
19	13,39	-
20	2,50	-
21	2,50	-
22	2,50	-

Fonte: elaborado pelo autor.

O espectro do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺, por sua vez, apresentou deslocamento dos sinais dos hidrogênios das bipyridinas, quando comparado ao cloro-composto precursor, mas evidenciando um perfil espectral similar. Os hidrogênios alifáticos 17 a 22 não puderam ser visualizados, estando encobertos pelo sinal do solvente. Essas mudanças sugerem a alteração dos ligantes da esfera de coordenação e condizem com a coordenação do grupo nitrosil ao centro metálico.

Espectros de massas obtidos para ambos os nitrosilo-complexos em acetonitrila evidenciaram fragmentos cujos valores de *m/z* correspondem aos cátions divalentes das estruturas propostas (Apêndice F), corroborando com os demais dados espectroscópicos.

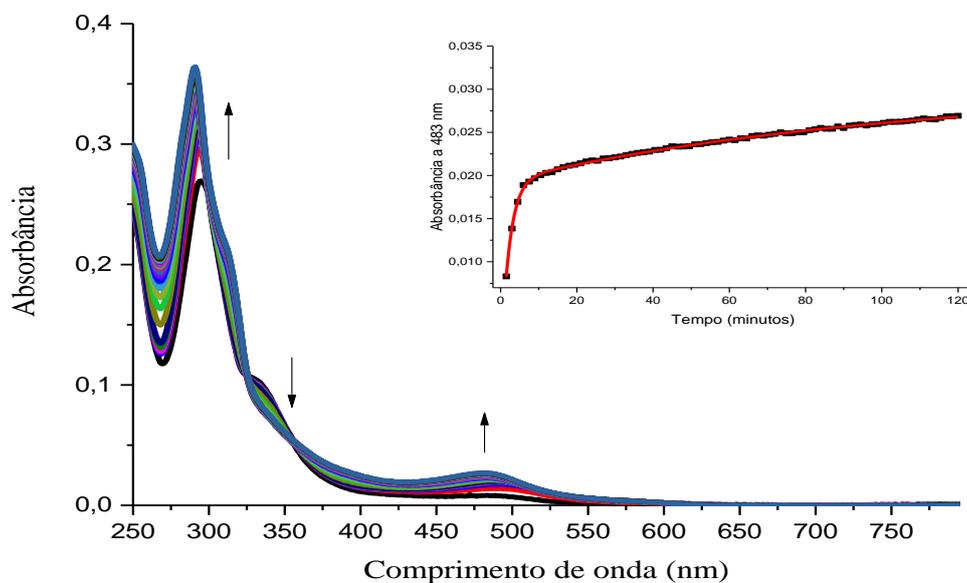
Medidas de condutividade dos compostos *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)](PF₆)₃ e *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)](PF₆)₃ em acetonitrila forneceram os valores de 305 e 332 μS/cm estando de acordo com a proporção de eletrólito (1:3).

4.6 Acompanhamento espectroscópico sob eletrólise a potencial controlado

A combinação de técnicas espectroscópicas e eletroquímicas permite estudar a reatividade de compostos de coordenação frente a aplicação de potencial elétrico. Sabe-se que nitrosilo complexos de rutênio (II) são capazes de liberar NO⁰ ao serem reduzidos, em virtude do razoável efeito trans-labilizante da bipyridina. Diante disso, estudou-se o comportamento dos complexos sintetizados quando submetidos a eletrólise. Utilizou-se condições similares às já usadas na caracterização eletroquímica e aplicou-se potencial de -200 mV durante 150 min.

A Figura 40 apresenta as mudanças espectrais observadas durante aplicação de potencial em solução do íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺.

Figura 40 – Espectros de absorção eletrônica para o complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ durante aplicação de potencial a -200 mV (vs Ag/AgCl), em solução de HTFA $0,1\text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH}=2,0$; $[\text{Ru}]=80,0\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. Inset: gráfico de monitoramento de eletrólise, tempo versus absorvância em 485 nm .

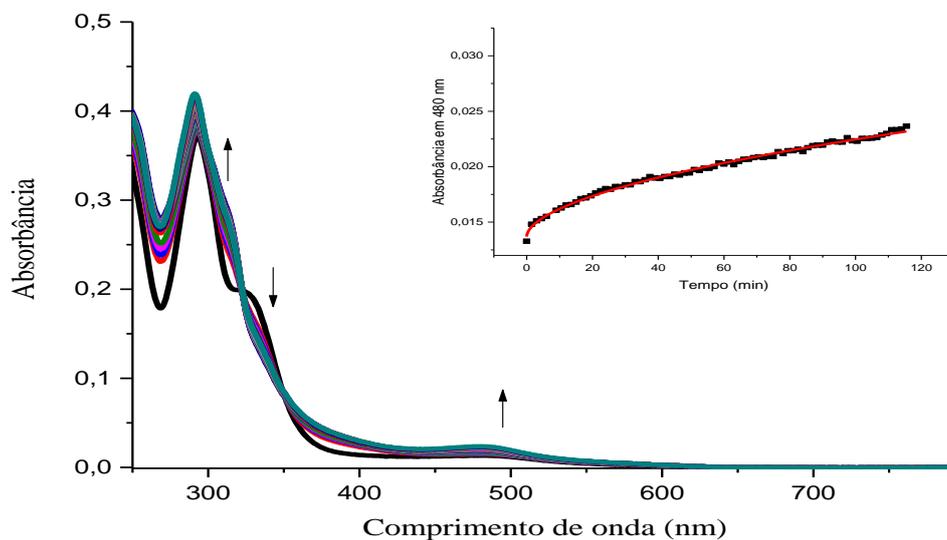


Fonte: elaborado pelo autor.

Observa-se o surgimento de uma banda com máximo em 485 nm , atribuída como MLCT do tipo $\pi^*(\text{bpy}) \leftarrow d\pi(\text{Ru})$, além do aumento e deslocamento da banda em 299 nm para 290 nm , atribuída como transição do ligante bipyridina do tipo $\pi^* \leftarrow \pi$ ^{83, 106}. Essas mudanças sugerem a labilização do grupo nitrosil, visto que a saída do NO , com conseqüente coordenação da água no sítio livre, é acompanhada de diminuição do *gap* de energia entre os orbitais, culminando na redução da energia envolvida nas transições eletrônicas do complexo.

A Figura 41 apresenta os espectros de absorção eletrônica para o complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ durante a aplicação de potencial redox em -200 mV . Observa-se também a ocorrência de mudanças espectrais com o surgimento de uma banda em 487 nm , atribuída como transição MLCT do tipo $\pi^*(\text{bpy}) \leftarrow d\pi(\text{Ru})$ e aumento de intensidade da banda em 292 nm , atribuída como transição intraligante do tipo $\pi^* \leftarrow \pi$ ^{83, 106}. Analogamente ao complexo anterior, essas alterações no perfil espectral do composto também são coerentes com a labilização do grupo nitrosil e sua conseqüente substituição por uma molécula de água.

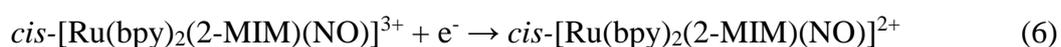
Figura 41 – Espectros de absorção eletrônica para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺ durante aplicação de potencial a -200 mV (vs Ag/AgCl), em solução de HTFA 0,1 mol L⁻¹, pH=2,0; [Ru]=80,0 μmol L⁻¹. Inset: gráfico de monitoramento de eletrólise, tempo versus absorvância em 487 nm.



Fonte: elaborado pelo autor.

No intuito de investigar os possíveis produtos da reação de eletrólise dos nitrosilo complexos realizou-se experimento de voltametria de onda quadrada (SWV) em condições análogas ao ensaio espectroeletróquímico. As varreduras foram realizadas sempre no sentido anódico, em cela eletroquímica convencional, usando eletrodos de carbono vítreo, platina e Ag/AgCl como trabalho, auxiliar e referência respectivamente.

A Figura 42 apresenta o resultado do experimento de SWV para o íon complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺. Observa-se que conforme aumenta-se o tempo de polarização do eletrodo, a intensidade de corrente do processo de potencial em 223 mV, atribuído ao par redox NO⁺/NO⁰ da espécie *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺, diminui. Concomitantemente, surge um novo processo cujo potencial é de 681 mV, atribuído ao par redox Ru^{III}/Ru^{II} da espécie *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(H₂O)]²⁺. Baseado nesses valores, pode-se afirmar que, durante a eletrólise, a espécie *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺ é reduzida, favorecendo a labilização do óxido nítrico com formação do aquo complexo correspondente. Conforme as equações abaixo, trata-se de um processo eletroquímico-químico.



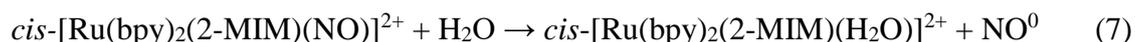
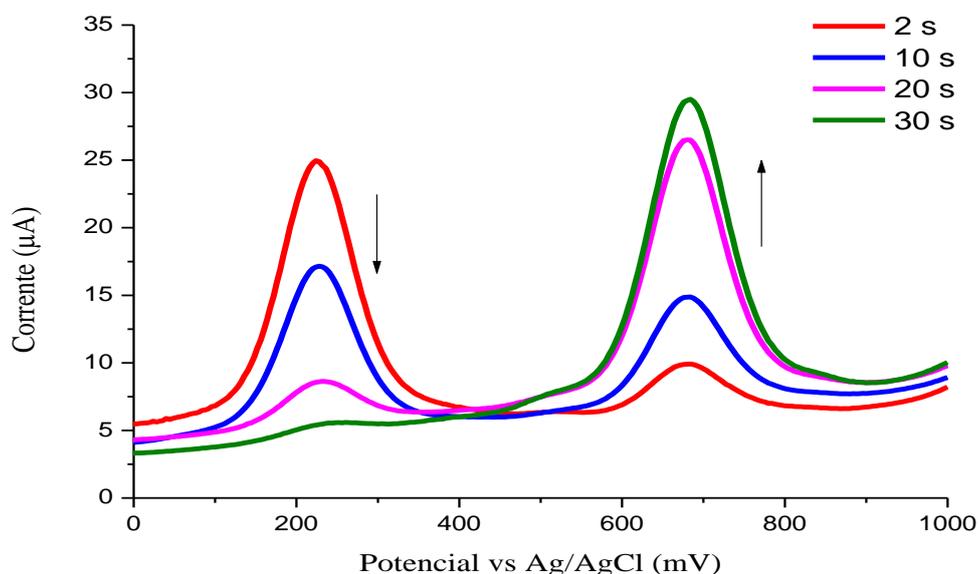


Figura 42 – Voltamogramas referentes a eletrólise da espécie $cis-[Ru(bpy)_2(2-MIM)(NO)]^{3+}$ sob diferentes tempos de polarização a -200 mV (vs Ag/AgCl) em HTFA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $pH=3,0$.



Fonte: elaborado pelo autor.

A Figura 43 apresenta os resultados do mesmo experimento para o complexo $cis-[Ru(bpy)_2(ETU)(NO)]^{3+}$. Analogamente ao composto anteriormente descrito, tempos maiores de polarização são acompanhados de diminuição da corrente relativa ao par redox NO^+/NO^0 (75 mV vs Ag/AgCl). Simultaneamente, verifica-se o surgimento de dois novos processos com potencial de meia-onda iguais a 514 e 651 mV , os quais podem ser atribuídos aos produtos formados após a labilização do ligante nitrosil. O menor potencial é relativo ao par redox Ru^{III}/Ru^{II} do aquo complexo, enquanto o outro seria decorrente do processo Ru^{III}/Ru^{II} do composto $cis-[Ru(bpy)_2(ETU)]^{2+}$, onde o ligante etilenotioureia estaria coordenado como bidentado, de forma análoga a outros complexos contendo ligantes similares já descritos.¹⁰⁷ As equações abaixo descrevem o comportamento proposto.

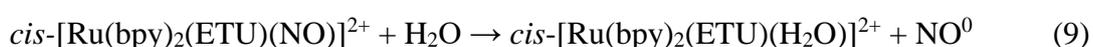
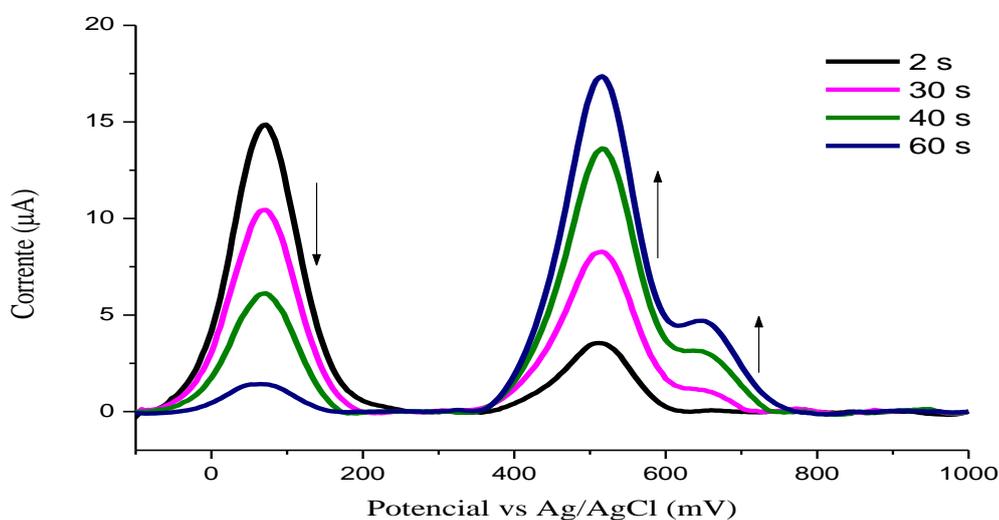


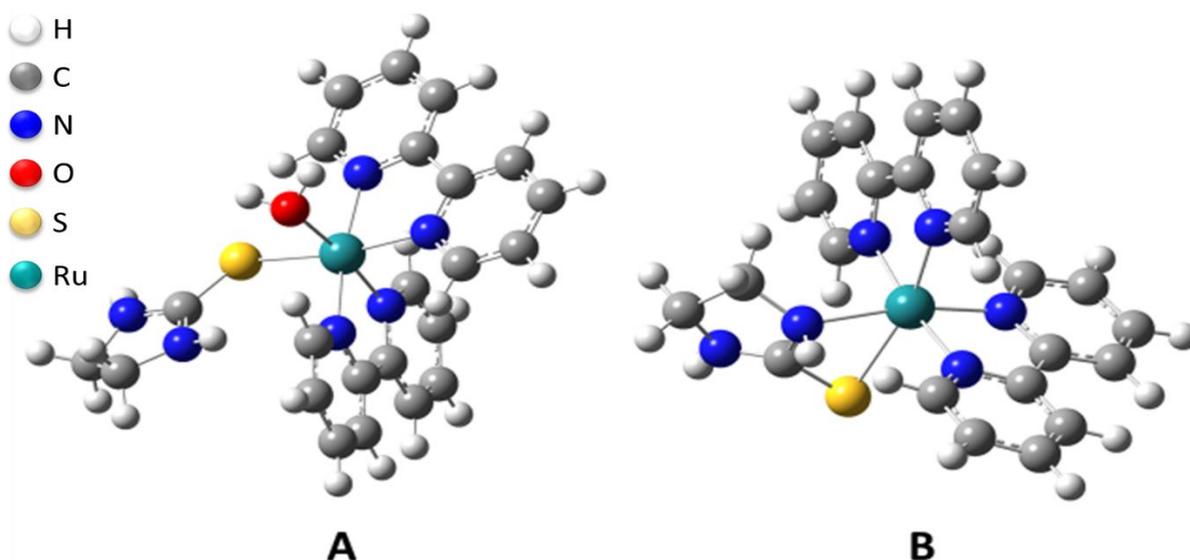
Figura 43 – Voltamogramas referentes a eletrólise da espécie $cis-[Ru(bpy)_2(ETU)(NO)]^{3+}$ sob diferentes tempos de polarização a -200 mV (vs Ag/AgCl) em HTFA $0,1$ mol L $^{-1}$, pH=3,0.



Fonte: elaborado pelo autor.

A fim de averiguar a viabilidade da formação dos produtos propostos nas equações 9 e 10, cálculos computacionais de DFT foram realizados utilizando os mesmos parâmetros descritos na seção experimental. As espécies tiveram suas geometrias otimizadas utilizando simulação em água e as energias dos orbitais de fronteira foram determinadas, sendo as suas estruturas representadas na Figura 44.

Figura 44 – Geometrias otimizadas dos complexos $cis-[Ru(bpy)_2(ETU)(H_2O)]^{2+}$ (A) e $cis-[Ru(bpy)_2(ETU)]^{2+}$ (B) simulados em água.



Fonte: elaborado pelo autor.

Os valores de energia encontrados para os orbitais HOMO dos complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(H₂O)]²⁺ e *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)]²⁺ foram de -5,64 e -6,09 eV, respectivamente, indicando que a espécie *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)]²⁺ teria potencial de oxidação mais elevado que o cátion *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(H₂O)]²⁺. Tais achados, portanto, concordam com a proposta descrita nas equações 9 e 10.

4.7 Determinação da constante de equilíbrio de interconversão NO⁺/NO₂⁻

O estudo de interconversão nitrosil/nitro para os complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺ e *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺ foi realizado através do método espectrofotométrico, acompanhando-se a variação da absorvâncias nos comprimentos de onda de 425 e 440 nm, respectivamente. Os valores de constante de equilíbrio foram determinados através da metodologia descrita por Sauaia e colaboradores.¹⁰³

Para o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺, verificou-se que a curva de pH (Figura 45) apresentou duas zonas de intensa variação da absorvância, o que foi atribuído à ocorrência de duas reações ácido-base. Uma vez que o ligante 2-metilimidazol coordenado apresenta um par de elétrons disponível para protonação no átomo de nitrogênio 1, pôde-se observar a desprotonação desse durante a titulação, sendo encontrado valor de pK igual a 2,99. Para a interconversão nitrosil/nitro, calculou-se o valor de pK_{NO} como sendo 5,67 e o valor da constante de equilíbrio resultou em 4,57 x 10¹⁶. Esses achados são coerentes com os valores encontrados para o complexo análogo *cis*-[Ru(bpy)₂(ImN)(NO)]³⁺, já descrito na literatura.¹⁰⁴ As equações que descrevem esses equilíbrios estão expostas abaixo.

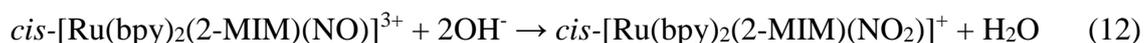
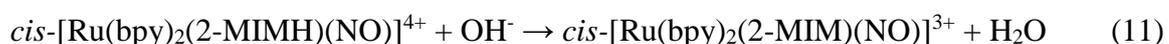
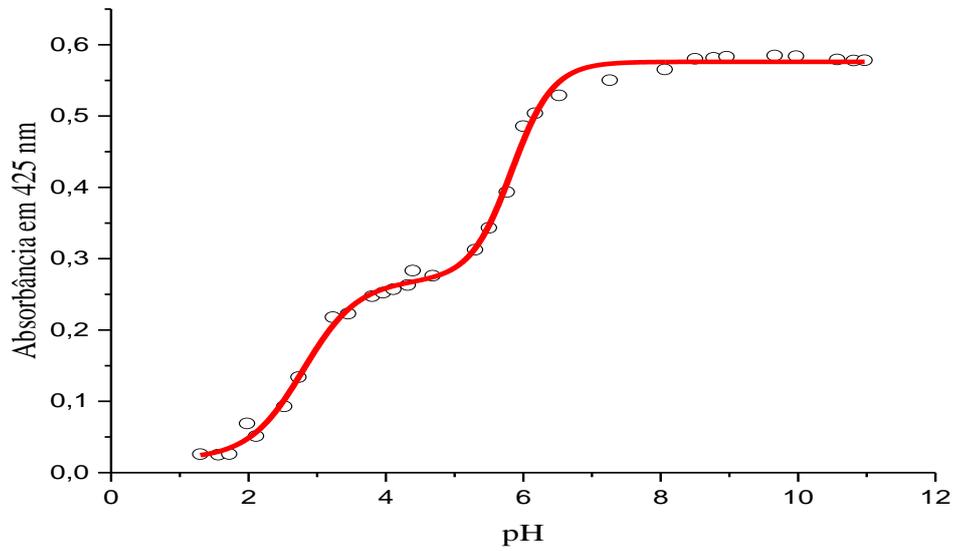


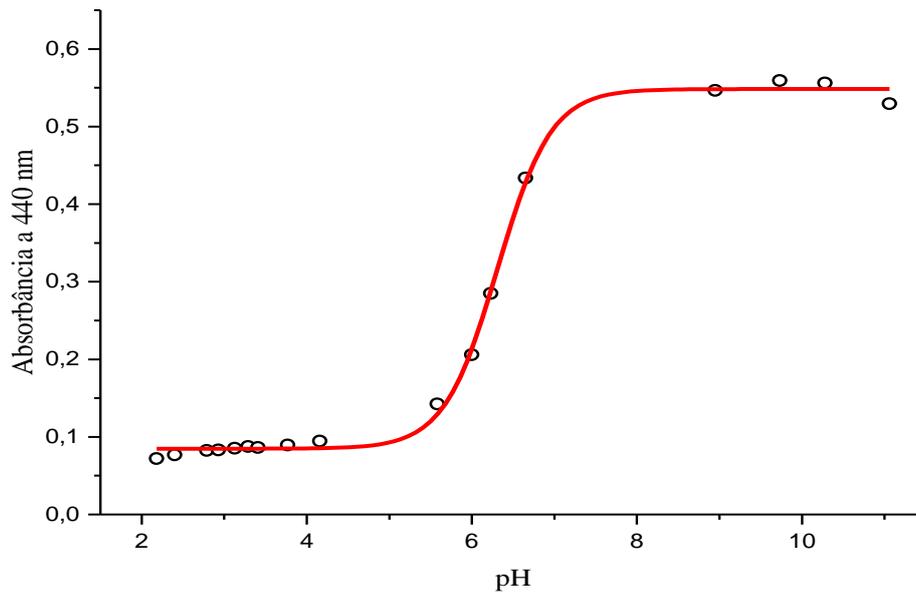
Figura 45 - Gráfico de absorvância versus pH para o complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$



Fonte: elaborado pelo autor.

O complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$, por sua vez, apresentou uma única reação ácido-base ao ser titulado (Figura 46), a qual foi atribuída à interconversão $\text{NO}^+/\text{NO}_2^-$, sendo encontrado valor de pK_{NO} igual a 6,28.

Figura 46 - Gráfico de absorvância versus pH para o complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$



Fonte: elaborado pelo autor

O valor da constante de equilíbrio para a reação foi de $2,75 \times 10^{15}$. A explicação para a variação nos valores de constante de equilíbrio encontrados está na diferença da capacidade π -aceptora dos ligantes auxiliares. A reação entre o ligante nitrosil e o ânion hidroxila em meio aquoso será tanto maior quanto maior for o caráter eletrofílico do grupo NO^+ . Logo, ligantes que não favoreçam a retrodoação de carga do metal para o nitrosil (π -aceptores fortes), diminuem sua densidade eletrônica, tornando-o mais propício ao ataque nucleofílico pelo íon OH^- . Isso resulta em valores de pK_{NO} mais baixos¹⁰⁴ para a interconversão $\text{NO}^+/\text{NO}_2^-$.

Uma vez que o valor de constante de equilíbrio para a interconversão nitrosil/nitro é diretamente relacionada a reatividade do ligante NO^+ , pode-se correlacioná-lo com as características espectroscópicas e eletroquímicas dos nitrosilo complexos. A Tabela 8 apresenta os valores de constante calculados para uma série de complexos de fórmula geral *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})\text{NO}]^{n+}$ juntamente com os valores experimentais de potencial de meia-onda para o processo redox $\text{Ru}^{\text{II}}-\text{NO}^+/\text{Ru}^{\text{II}}-\text{NO}^0$ e de frequência de estiramento da ligação $\text{N}=\text{O}^+$.

Tabela 8 – Valores de constante de equilíbrio (K_{NO}) para reação de interconversão $\text{NO}^+/\text{NO}_2^-$, pH de interconversão $\text{NO}^+/\text{NO}_2^-$ (pK_{NO}), frequência de estiramento da ligação $\text{N}=\text{O}^+$, e $E_{1/2}$ vs Ag/AgCl para o processo NO^+/NO^0 coordenado, para sistemas *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{L})\text{NO}]^{n+}$.

Complexo ^{104, 105}	$\nu(\text{NO}^+)$ (cm^{-1})	$E_{1/2}$ vs Ag/AgCl	K_{NO}	pK_{NO}
<i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{isn})\text{NO}]^{3+}$	1948	340 mV	$1,80 \times 10^{25}$	1,37
<i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(4\text{-bzpy})\text{NO}]^{3+}$	1942	342 mV	$6,94 \times 10^{22}$	2,58
<i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ImN})\text{NO}]^{3+}$	1944	200 mV	$1,42 \times 10^{16}$	5,92
<i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{TU})\text{NO}]^{3+}$	1931	37,5 mV	$1,26 \times 10^{15}$	6,45
<i>cis</i> - $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{SO}_3)\text{NO}]^+$	1911	-140 mV	$1,74 \times 10^7$	10,38
<i>cis</i>-$[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIN})\text{NO}]^{3+}$	1940	254 mV	$4,57 \times 10^{16}$	5,67
<i>cis</i>-$[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{NO}]^{3+}$	1930	75 mV	$2,75 \times 10^{15}$	6,28

Fonte: elaborado pelo autor.

Legenda: isn – isonicotinamida; 4-bzpy – 4-benzoilpiridina; ImN – imidazol; TU – tioureia.

Verifica-se que há uma correlação direta entre os parâmetros experimentais e os valores de constante de equilíbrio encontrados. Sabendo-se que as três características analisadas são substancialmente influenciadas pela natureza dos ligantes auxiliares e suas capacidades σ -doadora e π -aceptora, é coerente que exista concordância entre elas. Logo, pode-se afirmar que

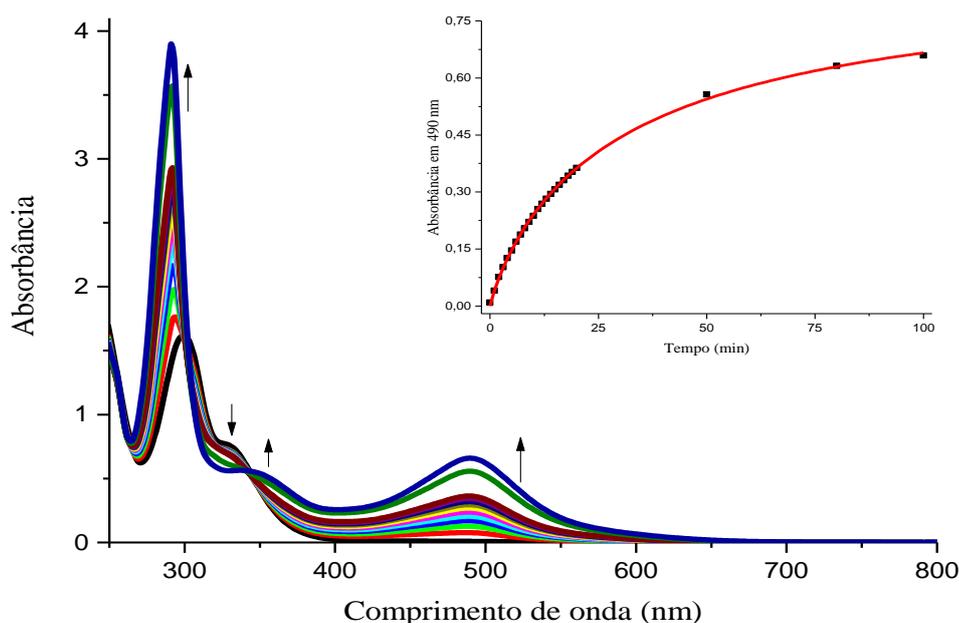
altos valores de $E_{1/2}$ e $\nu(\text{N}\equiv\text{O}^+)$ sugerem não só que o grupo nitrosil pode ser facilmente reduzido, como também está mais susceptível a ataques nucleofílicos.

4.8 Estudo fotoquímico preliminar

Nitrosilo complexos de rutênio apresentam a capacidade de liberar NO^0 quando submetidos a radiação eletromagnética de comprimento de onda adequado. Evidências experimentais sugerem que quando o composto é irradiado, ocorre transferência de elétrons do metal para o grupo nitrosil, reduzindo-o e resultando na liberação de óxido nítrico com posterior substituição por molécula do solvente.¹⁰⁴ No intuito de estudar esse tipo de reatividade, os nitrosilo complexos sintetizados foram submetidos a irradiação com luz azul e acompanharam-se mudanças em seus perfis espectroscópicos ao longo de 100 minutos.

A Figura 47 apresenta a mudança do perfil espectral decorrente da irradiação para o composto $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$.

Figura 47 – Espectros de absorção eletrônica para a fotólise do composto $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ com luz azul (HTFA $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, $\text{pH}=3,0$).

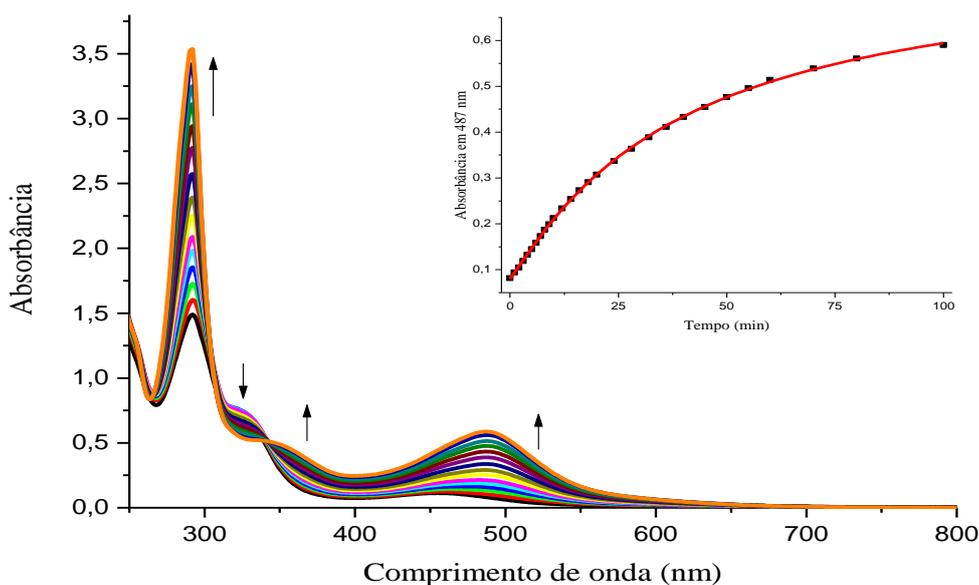


Fonte: elaborado pelo autor.

Observam-se diversas alterações que incluem o surgimento de bandas em 346 e 490 nm, as quais foram atribuídas a transições MLCT do tipo $\pi^*(bpy) \leftarrow d\pi(Ru)$, a diminuição da banda em 330 nm e o deslocamento com aumento de intensidade da banda em 299 nm, atribuída a transição intraligante do tipo $\pi^* \leftarrow \pi(bpy)$. O perfil espectral ao fim da irradiação apresenta grande similaridade com o do composto $cis-[Ru(bpy)_2(2-MIM)Cl]^+$, sugerindo que o produto da fotólise não mais contém o ligante nitrosil coordenado ao metal.

O complexo $cis-[Ru(bpy)_2(ETU)(NO)]^{3+}$, por sua vez, também apresentou notáveis alterações no perfil espectroscópico ao ser irradiado com luz azul (Figura 48). Ao longo da irradiação, surgem duas bandas de absorção em 487 e 343 nm, as quais foram atribuídas a transições MLCT do tipo $\pi^*(bpy) \leftarrow d\pi(Ru)$, além de haver a diminuição da banda em 327 nm e a intensificação com deslocamento da banda em 292 nm, atribuída a transição do ligante bipyridina do tipo $\pi^* \leftarrow \pi$. De forma similar ao composto anterior, ao fim do experimento, pôde-se observar que o produto da fotólise é espectrofotometricamente muito similar ao complexo $cis-[Ru(bpy)_2(ETU)Cl]^+$. Esse achado corrobora com a hipótese de que a irradiação foi capaz de promover a redução e saída do ligante nitrosil como NO^0 e a subsequente coordenação de uma molécula de solvente.

Figura 48 – Espectros de absorção eletrônica para a fotólise do composto $cis-[Ru(bpy)_2(ETU)(NO)]^{3+}$ com luz azul (HTFA 0,1 mol L⁻¹, pH=3,0).



Fonte: elaborado pelo autor.

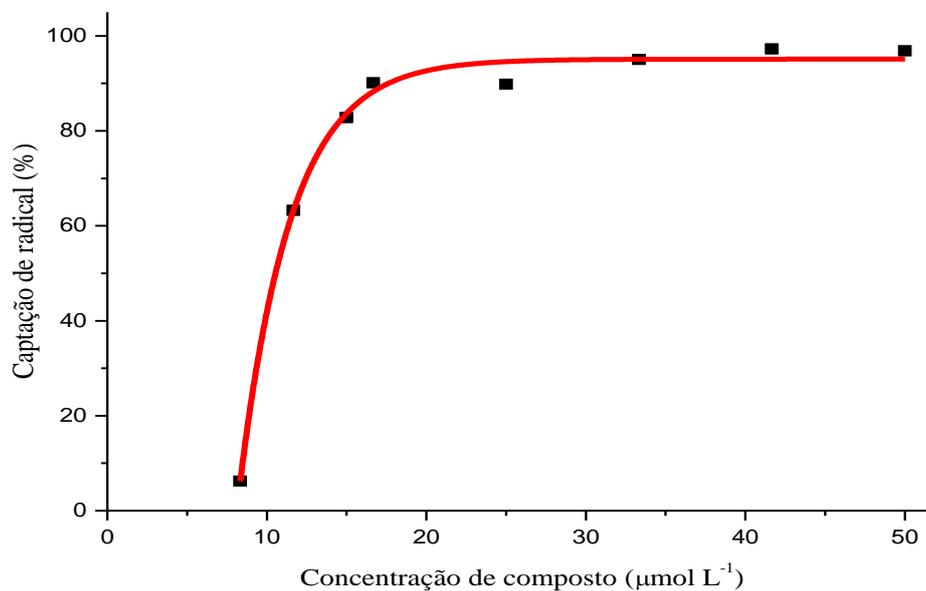
Observa-se que para os espectros de ambos os complexos foi possível identificar a presença de um ponto isobéptico o qual sugere que a reação é um processo simples de pseudo-primeira ordem. Conforme já reportado em outros estudos,^{103, 104, 108} nitrosilo complexos de rutênio (II) contendo ligantes polipirídicos, ao serem irradiados com luz de comprimento de onda adequado, sofrem quebra da ligação $\text{Ru}^{\text{II}}\text{-NO}^+$, com liberação de óxido nítrico. Verifica-se que após a fotólise desse tipo de composto há manutenção do estado redox do centro metálico, indicando que a redução do ligante nitrosil é propiciada sem que ocorra formação de Ru (III), tal como constatado pelos resultados obtidos nesse trabalho. Investigações mecanísticas posteriores são necessárias para esclarecer a rota envolvida nesse processo.

4.9 Reatividade com radicais de interesse biológico

O ânion superóxido e o radical hidroxila são radicais livres envolvidos em processos fisiológicos e patológicos, dentre os quais o estresse oxidativo (desequilíbrio entre espécies pró e antioxidantes) apresenta maior relevância. Essa condição está diretamente relacionada às complicações mais graves em casos de infarto/isquemia, por exemplo, visto que as espécies reativas de oxigênio (ROS) geradas provocam danos teciduais antes e após a reperfusão.¹⁰⁹ Uma vez que foi identificado que nitrosilo complexos podem apresentar potencial farmacológico como antioxidantes,^{58, 64} é de grande interesse o estudo da reatividade desse tipo de composto com espécies radicalares.

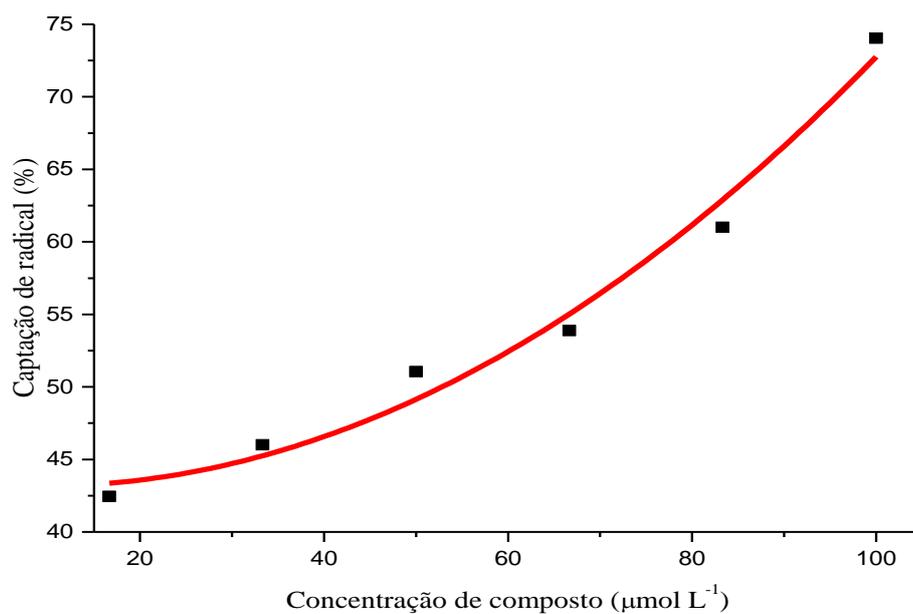
Os resultados dos ensaios de reatividade dos compostos *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ e *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ com radical superóxido são apresentados nas Figuras 49 e 50.

Figura 49 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ com ânion superóxido.



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 50 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ com ânion superóxido.



Fonte: elaborado pelo autor.

Observa-se uma relação direta entre a concentração de nitrosilo complexo e atividade antioxidante, evidenciando a capacidade dos compostos testados em capturar o radical. A partir desses resultados determinou-se a concentração necessária para se ter 50% de inibição e, através da equação 4, calculou-se a constante de velocidade da reação. Os valores de IC₅₀ encontrados foram 10,8 e 48,2 μmol L⁻¹, enquanto as constantes foram da ordem de 1,6 x 10⁶ e 3,6 x 10⁵ L mol⁻¹ s⁻¹, respectivamente. Apesar das constantes aparentes dos complexos serem inferiores ao valor de constante para a reação entre NO e superóxido (≈ 10⁹ L mol⁻¹ s⁻¹),¹¹⁰ verificou-se que há coerência com resultados já relatados em trabalhos de outros grupos.⁵⁸

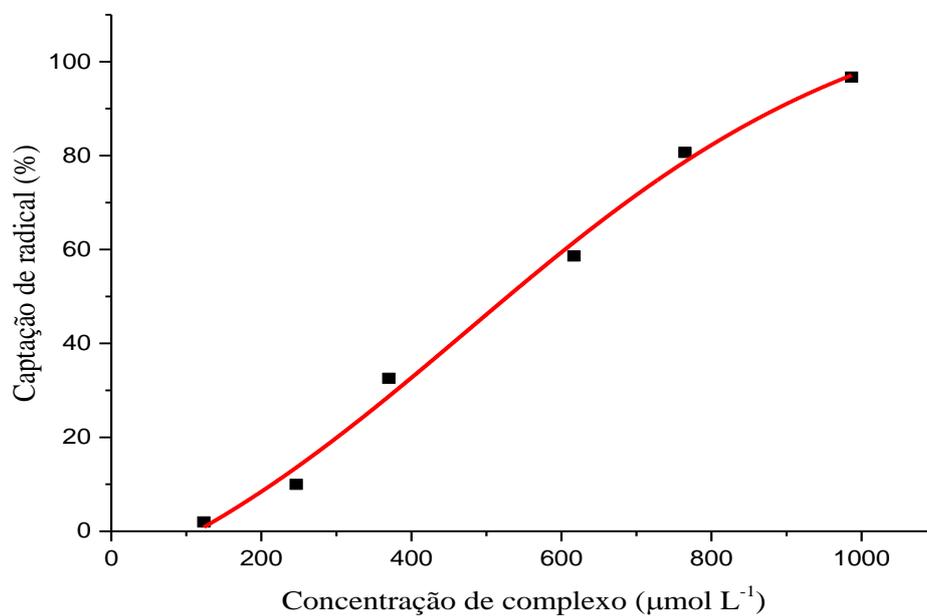
Considerando os dados encontrados nesse estudo e os resultados já descritos para sistema similares,⁵⁸ propõe-se que a reação entre os nitrosilo complexos e o radical O₂⁻ segue as equações descritas abaixo.



A diferença de atividade entre os complexos testados pode estar relacionada ao caráter eletrofílico do grupo nitrosil. Uma vez que o superóxido é uma espécie aniônica, é esperado que ela reaja mais avidamente com eletrófilos fortes. Sabendo-se que a densidade eletrônica sobre o ligante NO⁺ é influenciada diretamente pelo caráter π-doador do ligante auxiliar, nitrosilo complexos com ligantes que apresentem propriedades π-aceptoras estarão mais sujeitos à ataques nucleofílicos. Levando em consideração o fato de que o composto 2-metilimidazol é mais π-acceptor que a etilenotiourea, é coerente que o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺ seja mais reativo frente ao radical superóxido.

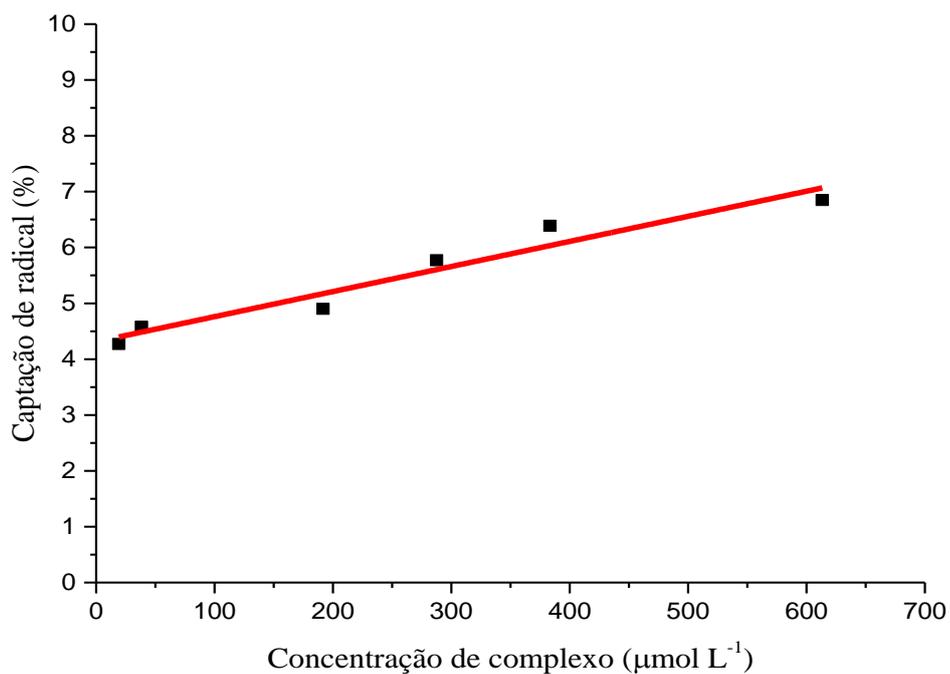
Com o objetivo de avaliar se a presença do grupo nitrosil é determinante para a reatividade frente ao ânion superóxido realizou-se o mesmo ensaio com os demais complexos sintetizados nesse trabalho. Verificou-se que em todos os casos os compostos apresentaram menores valores de IC₅₀ do que seus análogos nitrosilados. As curvas referentes a esses resultados estão apresentadas nas Figuras 51 a 54.

Figura 51 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})\text{Cl}]^+$ com ânion superóxido.



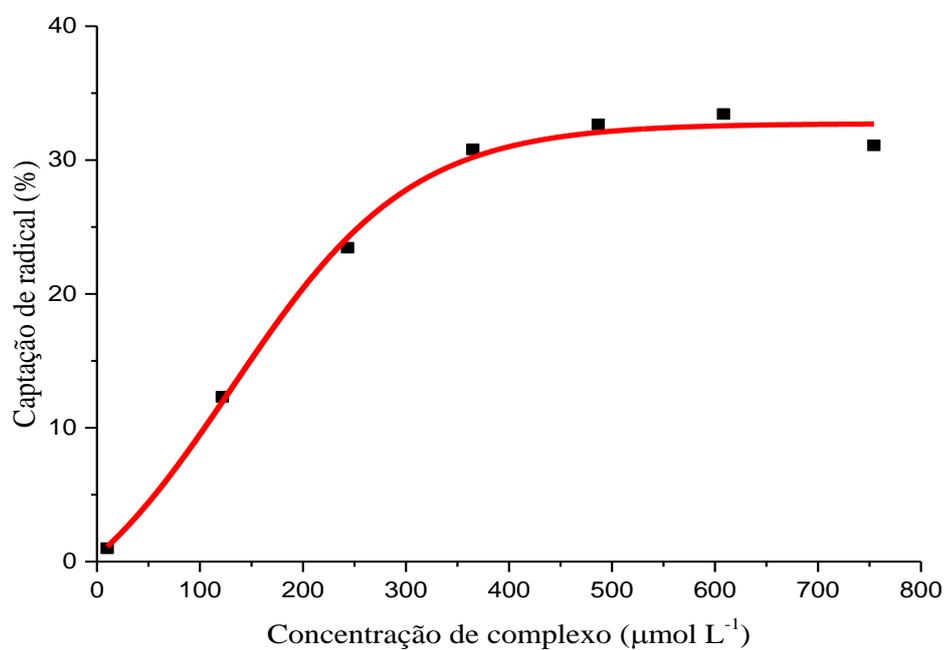
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 52 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})_2]^{2+}$ com ânion superóxido.



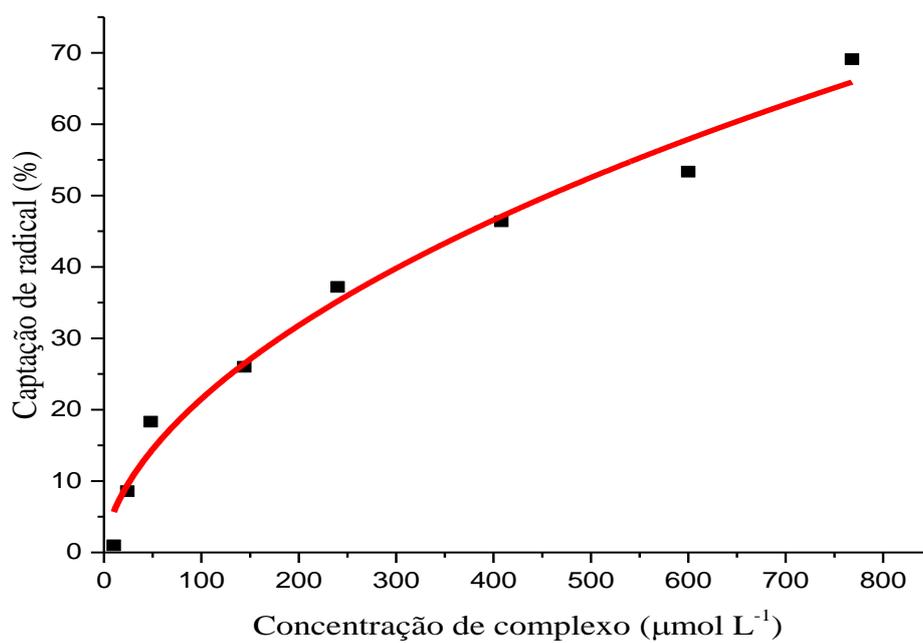
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 53 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO}_2)]^+$ com ânion superóxido.



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 54 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{Cl}]^+$ com ânion superóxido.



Fonte: elaborado pelo autor.

A Tabela 9 resume os resultados dos ensaios de reatividade com radical superóxido para os complexos estudados.

Tabela 9 – Valores de IC₅₀ e de constante de velocidade aparente para reação com superóxido.

Complexos	IC ₅₀ (μmol L ⁻¹)	k (L mol ⁻¹ s ⁻¹)
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)Cl] ⁺	536,46	4,2 x 10 ⁴
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM) ₂] ²⁺	> 1000	Não determinado
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO ₂)] ⁺	> 1000	Não determinado
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)Cl] ⁺	459,42	4,9 x 10 ⁴
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO)] ³⁺	10,8	1,6 x 10 ⁶
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)(NO)] ³⁺	48,2	3,6 x 10 ⁵

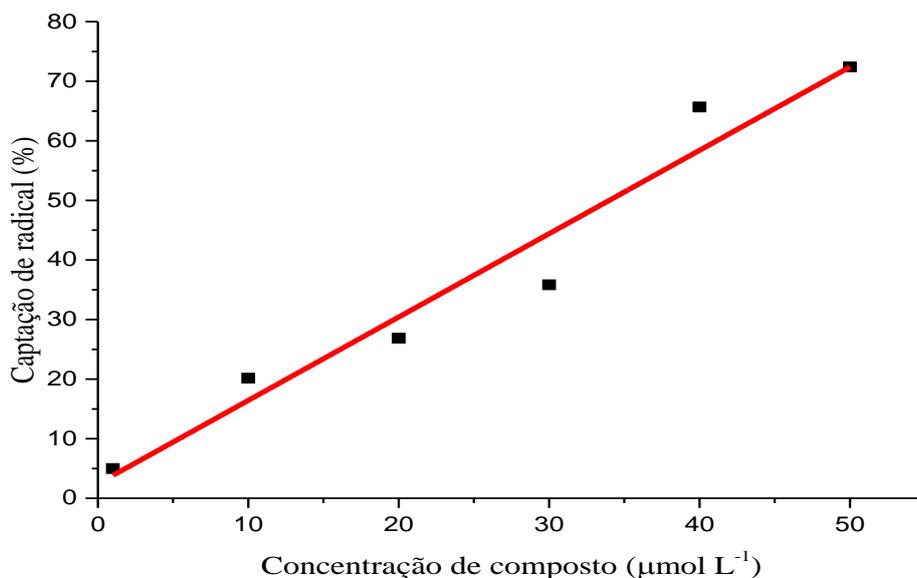
Fonte: elaborado pelo autor.

As Figuras 55 e 56 apresentam os resultados obtidos para o ensaio de reatividade dos complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺ e *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺ com radical hidroxila. Observa-se que concentrações crescentes dos compostos foram acompanhadas de aumento proporcional da capacidade de captura do radical hidroxilo o que sugere que ambos os complexos demonstram ter atividade antioxidante. De posse dos resultados, determinaram-se os valores de IC₅₀, bem como das constantes de velocidade para a reação entre os compostos e a espécie radicalar. Foram encontrados os valores de 34,1 e 33,2 μmol L⁻¹ para as concentrações inibitórias de 50% da atividade, ao passo que as constantes de velocidade foram iguais a 4,1 x 10¹¹ e 4,2 x 10¹¹ L mol⁻¹ s⁻¹, para os complexos *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺ e *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺, respectivamente.

Entretanto, dados experimentais^{64, 111} reportam que reações com radical hidroxila em água são limitadas por difusão. Tais reações apresentam constante de velocidade, geralmente, da ordem de 10¹⁰ L mol⁻¹ s⁻¹, o que indica que nenhuma reação bimolecular envolvendo esse radical em meio aquoso pode ter velocidade maior que esse valor. Diante de tal incoerência frente aos resultados encontrados, tem-se como justificativa a possibilidade de ocorrência de reações sucessivas entre os compostos testados e a espécie radicalar.⁶⁴ É possível que os complexos sintetizados apresentem mais de um sítio de reação com o radical OH•, visto que os ligantes apresentam similaridade estrutural com substâncias antioxidantes conhecidas.¹¹⁰

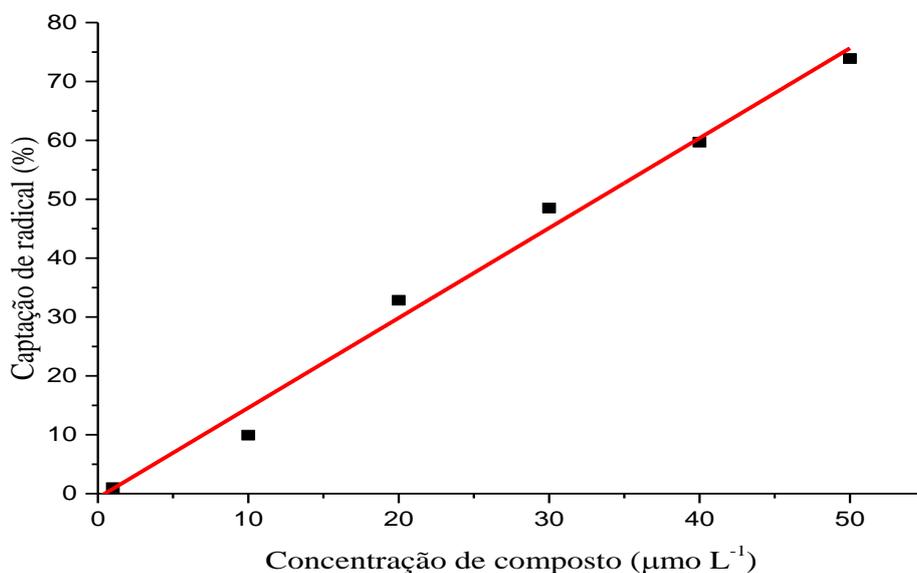
Além disso, estudos anteriores relatam que complexos de rutênio podem ser oxidados até estados redox maiores (Ru^{III} e Ru^{IV}) quando na presença de radical hidroxila.¹¹²

Figura 55 – Resultado do ensaio de reatividade do complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ com radical hidroxila.



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 56 - Resultado do ensaio de reatividade do complexo $\text{cis-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ com radical hidroxila.



Fonte: elaborado pelo autor.

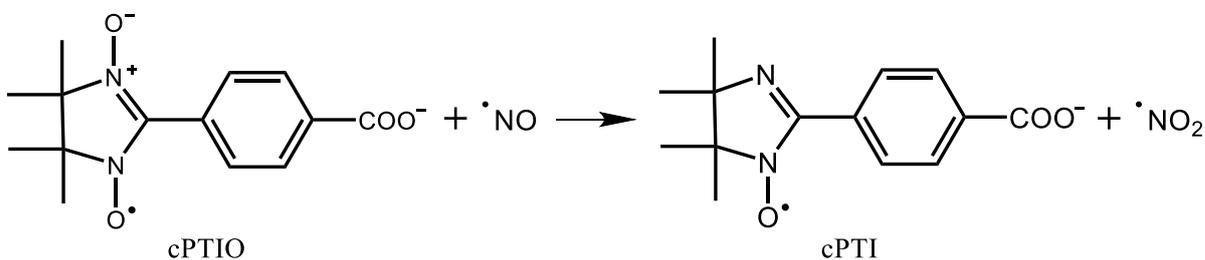
4.10 Detecção de NO/HNO

A detecção de NO e/ou HNO foi realizada utilizando cPTIO e Mb-Fe³⁺, os quais são reconhecidamente sondas capazes de captar essas espécies e apresentarem respostas espectroscópicas distintas.^{113, 114}

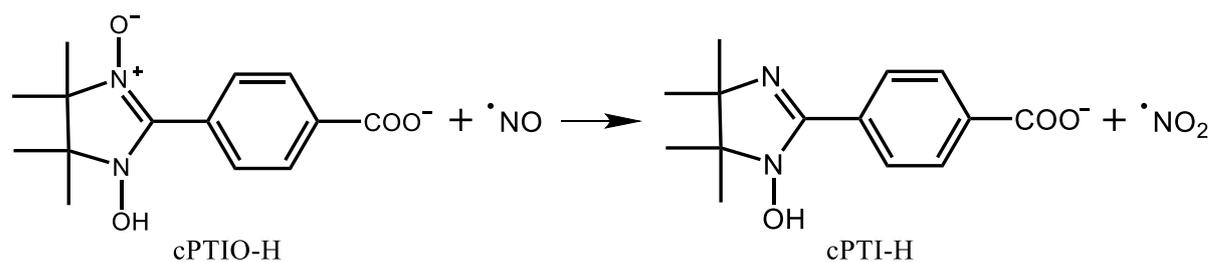
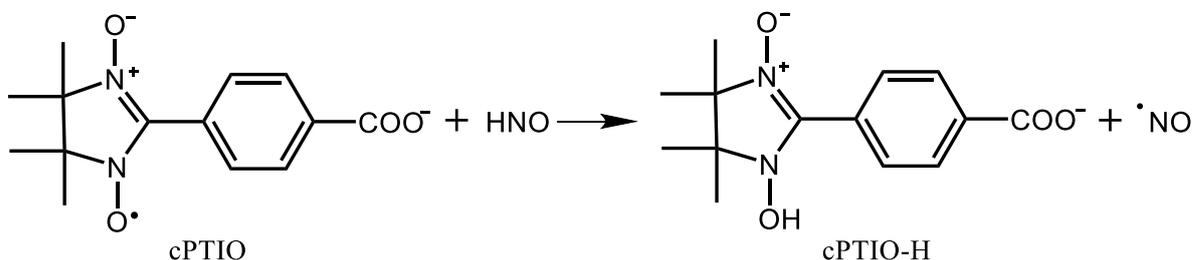
O sal 2-(4-Carboxifenil)-4,4,5,5-tetrametilimidazol-1-óxido-3-óxido de potássio ou carboxi-PTIO tem sido utilizado com muito sucesso em diferentes protocolos que necessitam de um capturador de óxido nítrico seletivo e robusto.¹¹⁵⁻¹¹⁸ Contudo, seu uso apresenta limitações, tais como a reatividade com outros radicais e com outros óxidos de nitrogênio diferentes do NO.^{119, 120} Nesse sentido, o cPTIO mostrou-se capaz também de reagir com nitroxil (HNO) apresentando perfil espectroscópico distinto, permitindo assim diferenciá-lo da reação com NO. Essas diferenças estão apresentadas na Figura 57.

Figura 57 – Reações de cPTIO com NO e HNO e seus respectivos produtos.

REAÇÃO COM ÓXIDO NÍTRICO:



REAÇÃO COM NITROXIL:



Fonte: elaborado pelo autor.

Observa-se que na reação com óxido nítrico o composto cPTIO, o qual apresenta uma banda de absorção característica em 560 nm, é convertido em cPTI, que não apresenta absorção em 560 nm, mas sim em 440 nm. Em contraste, o cPTIO reage com HNO em duas etapas gerando cPTI-H o qual não apresenta banda de absorção no visível.

Mioglobina (Fe^{3+}) também tem sido utilizada na detecção de óxido nítrico e nitroxil, assim como outras heme proteínas.¹²¹ Tal como o cPTIO, metMb apresenta perfis distintos quando reage com NO e HNO, apesar de sua diferenciação depender de critérios mais sutis. Em ambos os casos, ocorre alterações relativas à banda Soret e às bandas Q do espectro da hemeproteína. Contudo, a reação de Mb (Fe^{3+}) com NO envolve mais de uma etapa e ocorre de acordo com as equações abaixo:¹²²



Por sua vez, a reação Mb (Fe^{3+}) com HNO segue uma única etapa, a qual ocorre cerca de 1000 vezes mais rápido que a reação com NO:¹¹⁴



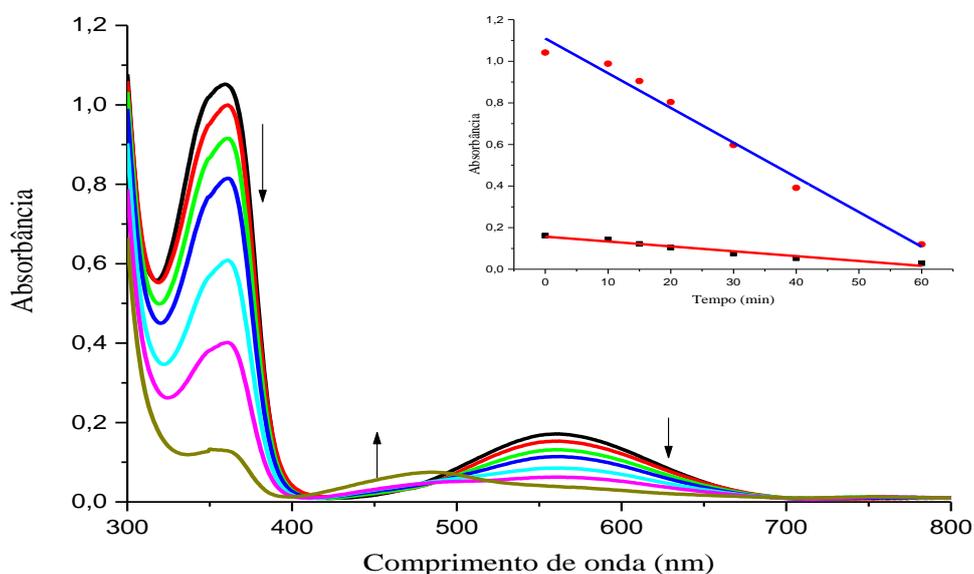
Dessa forma, o perfil cinético pode fornecer informações que permitam distinguir a espécie envolvida na redução do grupo heme da proteína.

4.10.1 Detecção de NO/HNO durante fotólise

Os nitrosilo complexos de rutênio sintetizados foram submetidos a fotólise com luz azul ($\lambda_{\text{max}}=460 \text{ nm}$) utilizando o reator fotoquímico descrito na seção experimental. Essa faixa de comprimento de onda foi selecionada considerando o fato de que os nitrosilocomplexos sintetizados apresentam absorção nessa região do espectro, a qual, de acordo com os cálculos

de DFT, corresponde a transições envolvendo o grupo nitrosil. A Figura 58 apresenta o resultado do ensaio de fotólise do composto $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ na presença de cPTIO acompanhado espectrofotometricamente.

Figura 58 – Acompanhamento da fotólise com luz azul do complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ na presença de cPTIO durante 60 minutos. *Inset*: variação da absorbância pelo tempo em 360 (—) e 560 nm (—). $[\text{Ru}] = 50 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{cPTIO}] = 160 \mu\text{mol L}^{-1}$

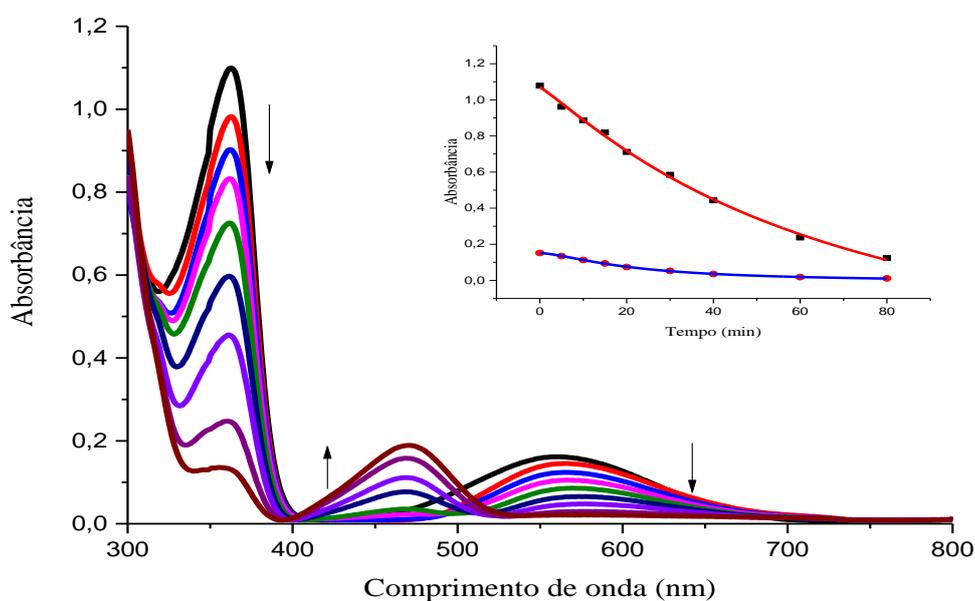


Fonte: elaborado pelo autor.

Pode-se observar que tempos progressivos de irradiação promovem mudanças contínuas no perfil espectroscópico com redução das bandas em 360 e 560 nm e surgimento de uma banda em 475 nm. Contudo, esse perfil destoa daqueles esperados para os produtos de reação do cPTIO com NO ou HNO. Goldstein e colaboradores^{113, 120} estudaram a reação de nitróxidos de nitronila tais como o PTIO e derivados com diferentes óxidos de nitrogênio e verificaram que o cPTIO reage com dióxido de nitrogênio (NO_2) gerando cPTIO^+ , o qual apresenta perfil espectroscópico muito similar ao encontrado no experimento de fotólise com $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$. De fato, NO_2 é gerado estequiometricamente durante a reação entre óxido nítrico e cPTIO, conforme descrito na Figura 57. Se NO for gerado lentamente durante a fotólise é possível que as quantidades formadas de NO_2 oxidem a sonda radicalar, levando ao acúmulo de cPTIO^+ .

O experimento de fotólise na presença de cPTIO também foi realizado com o composto *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺ e seu resultado encontra-se na Figura 59. Pôde-se observar perfil análogo ao encontrado no experimento anterior, no qual houve diminuição das bandas em 360 e 560 nm, mas acompanhado do surgimento de uma banda mais intensa em 475 nm. Esse resultado, portanto, é coerente com a liberação de NO durante a fotólise do composto e rápida formação do produto radicalar cPTI.

Figura 59 – Acompanhamento da fotólise com luz azul do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺ na presença de cPTIO durante 80 minutos. *Inset*: variação da absorbância pelo tempo em 360 (→) e 560 nm (←). [Ru]= 80 μmol L⁻¹; [cPTIO]= 160 μmol L⁻¹



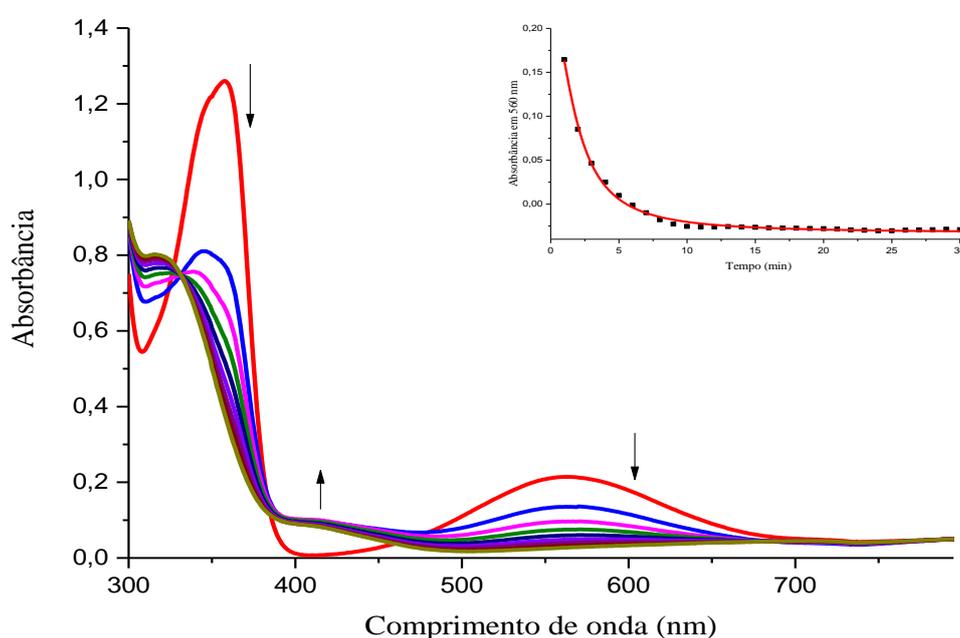
Fonte: elaborado pelo autor.

4.10.2 Detecção de NO/HNO na presença de tióis

Sabe-se que nitrosilocomplexos de rutênio são capazes de liberar NO quando na presença de redutores biológicos, tais como L-glutationa (GSH) e L-cisteína.¹²³ Recentemente foi demonstrado que essa classe de compostos de coordenação também é capaz de liberar HNO na presença de tióis, expandindo ainda mais o espectro de aplicações biológicas dessas espécies.¹²⁴ Diante disso, avaliou-se a capacidade liberadora de NO/HNO dos nitrosilocomplexos sintetizados na presença de tióis utilizando cPTIO e met-Mb como sondas.

Testou-se o comportamento do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺ diante da redução com GSH usando cPTIO como sonda. O resultado do experimento está exposto na Figura 60.

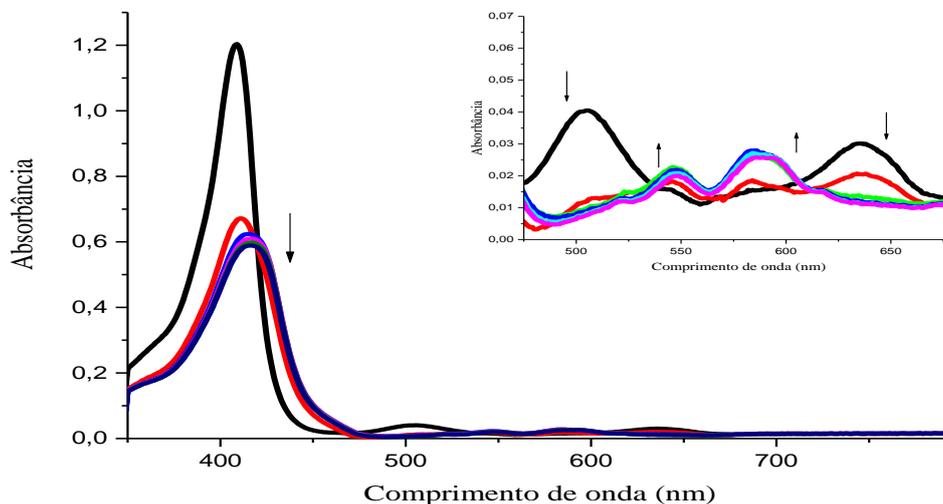
Figura 60 – Acompanhamento da reação do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺ com GSH na presença de cPTIO durante 30 minutos. *Inset*: variação da absorbância pelo tempo 560 nm. [Ru]= 100 μmol L⁻¹; [GSH]= 280 μmol L⁻¹; [cPTIO]= 160 μmol L⁻¹



Fonte: elaborado pelo autor.

Observa-se que a reação ocorre rapidamente com tempo de meia-vida de aproximadamente 130 s e verifica-se a diminuição das bandas em 560 e 360 nm com surgimento de um ombro em 420 nm. Fica evidente pelo perfil espectral que, de fato, ocorreu a liberação de NO ou HNO, mas não se pode afirmar com exatidão qual deles foi formado majoritariamente. Na tentativa de esclarecer essa dúvida realizou-se experimento análogo utilizando met-Mb como sonda e seu resultado encontra-se na Figura 61. Pode-se observar rápida mudança no perfil espectral ($t_{1/2}$ = 120 s) com diminuição e deslocamento da banda Soret para 418 nm e alteração das bandas Q. Em conjunto, esses achados sugerem que a reação do nitrosilo complexo com L-glutathione libera HNO. Contudo, evidências adicionais são ainda necessárias para confirmar tal proposta.

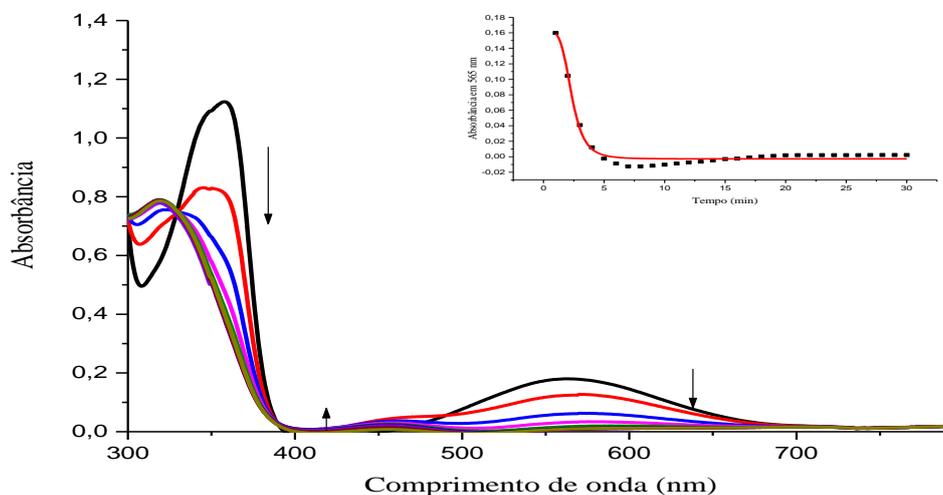
Figura 61 – Acompanhamento da reação do complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ com GSH na presença de met-Mb durante 30 minutos. $[\text{Ru}] = 120 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{GSH}] = 1,2 \text{ mmol L}^{-1}$; $[\text{met-Mb}] = 6,5 \mu\text{mol L}^{-1}$.



Fonte: elaborado pelo autor.

O complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ também teve sua capacidade de liberação de NO/HNO diante da redução com tióis testada usando as duas sondas. Os resultados dos ensaios com cPTIO e met-Mb estão apresentados nas Figuras 62 e 63.

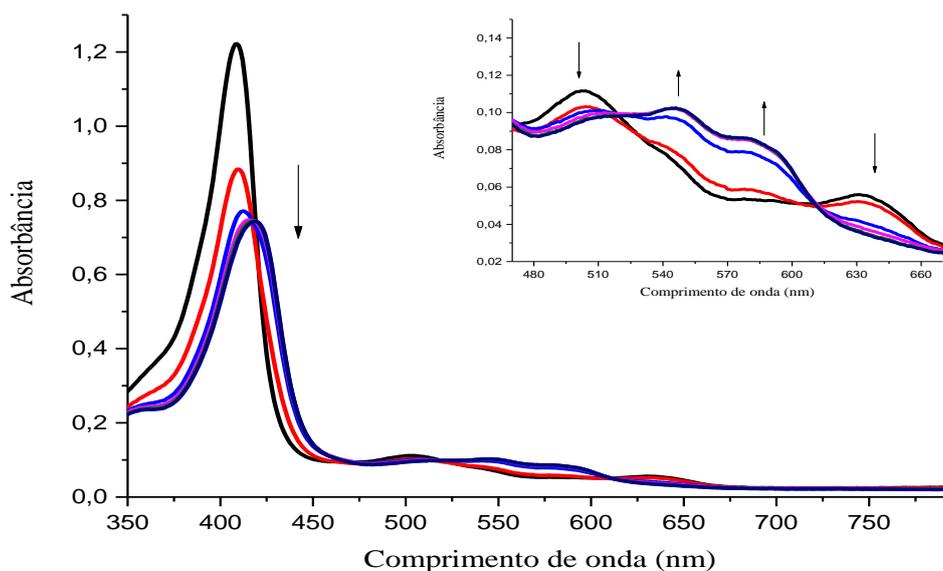
Figura 62 – Acompanhamento da reação do complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ com GSH na presença de cPTIO durante 30 minutos. *Inset*: variação da absorbância pelo tempo 560 nm. $[\text{Ru}] = 20 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{GSH}] = 160 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{cPTIO}] = 160 \mu\text{mol L}^{-1}$



Fonte: elaborado pelo autor.

Observa-se que os dados obtidos são muito semelhantes aos fornecidos pelos ensaios anteriores. No caso da reação com cPTIO verificam-se mudanças espectrais rápidas ($t_{1/2} = 150$ s) que sugerem reação com NO/HNO, mas sem permitir distinguir com segurança qual o óxido de nitrogênio envolvido. O ensaio com met-Mb, por sua vez, também apresenta mudanças espectrais em tempo curto e cujo perfil sugere a reação com HNO. Uma vez mais, experimentos com técnicas complementares podem permitir a elucidação correta das espécies envolvidas nesse sistema.

Figura 63 – Acompanhamento da reação do complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ com GSH na presença de met-Mb durante 30 minutos. $[\text{Ru}] = 60 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{GSH}] = 1,3 \text{ mmol L}^{-1}$; $[\text{met-Mb}] = 6,5 \mu\text{mol L}^{-1}$

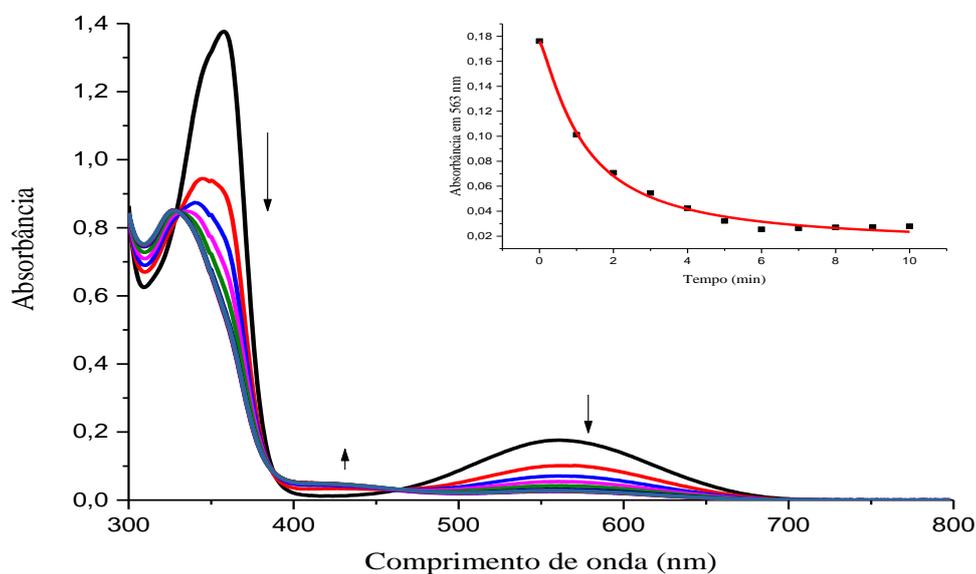


Fonte: elaborado pelo autor.

De forma a avaliar se outros tióis presentes no meio biológico também podem atuar como redutores e promover a liberação de NO/HNO, realizaram-se ensaios análogos aos anteriores substituindo-se L-glutationa por L-cisteína, o qual é um aminoácido encontrado na maioria das proteínas humanas.

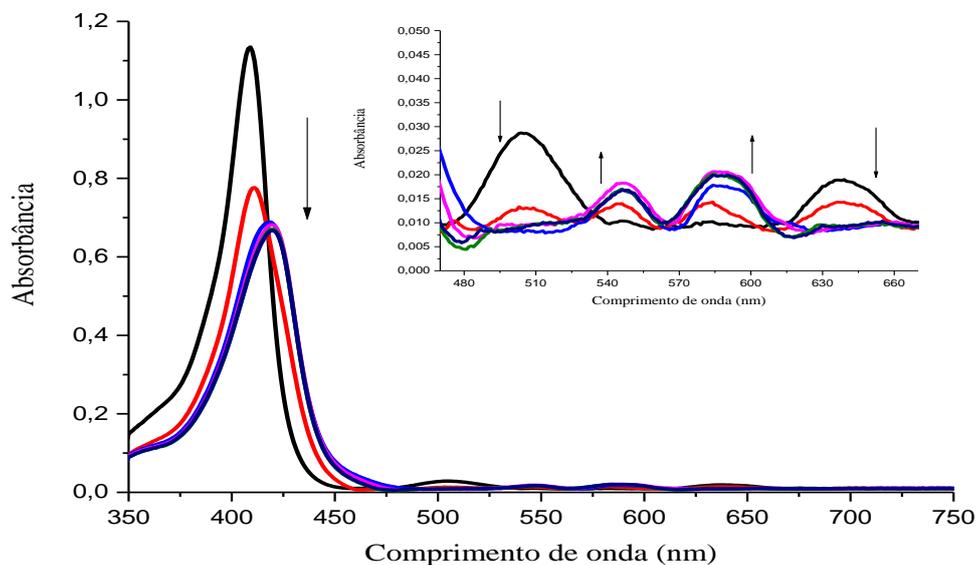
Os resultados desses experimentos para o complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ estão apresentados nas Figuras 64 e 65.

Figura 64 – Acompanhamento da reação do complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ com L-cisteína na presença de cPTIO durante 30 minutos. *Inset*: variação da absorbância pelo tempo 560 nm. $[\text{Ru}] = 100 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{L-cisteína}] = 280 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{cPTIO}] = 160 \mu\text{mol L}^{-1}$



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 65 – Acompanhamento da reação do complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})(\text{NO})]^{3+}$ com L-cisteína na presença de met-Mb durante 30 minutos. $[\text{Ru}] = 120 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{L-cisteína}] = 1,2 \text{ mmol L}^{-1}$; $[\text{met-Mb}] = 6,5 \mu\text{mol L}^{-1}$

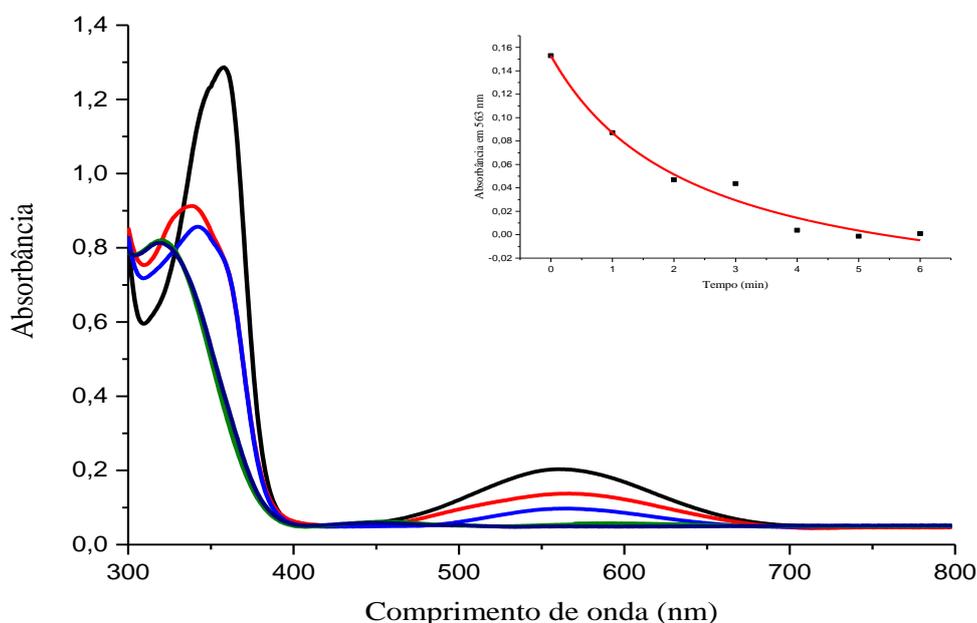


Fonte: elaborado pelo autor.

Verifica-se, para o ensaio com o cPTIO, perfil muito similar ao já observado no ensaio utilizando GSH como redutor. A rápida ($t_{1/2}= 80$ s) diminuição das bandas em 360 e 560 nm, com surgimento de um diminuto ombro em 440 nm sugerem uma provável liberação majoritária de HNO durante a redução. Por sua vez, o experimento realizado na presença de metmioglobina apresentou mudanças espectrais que indicam a redução da hemeproteína em um curto período de tempo ($t_{1/2}= 60$ s). Verificou-se, assim como no experimento com L-glutathione, deslocamento batocrômico da banda Soret acompanhado de alterações das bandas Q, com surgimento de transições em 548 e 580 nm e concomitante diminuição das bandas em 506 e 634 nm.

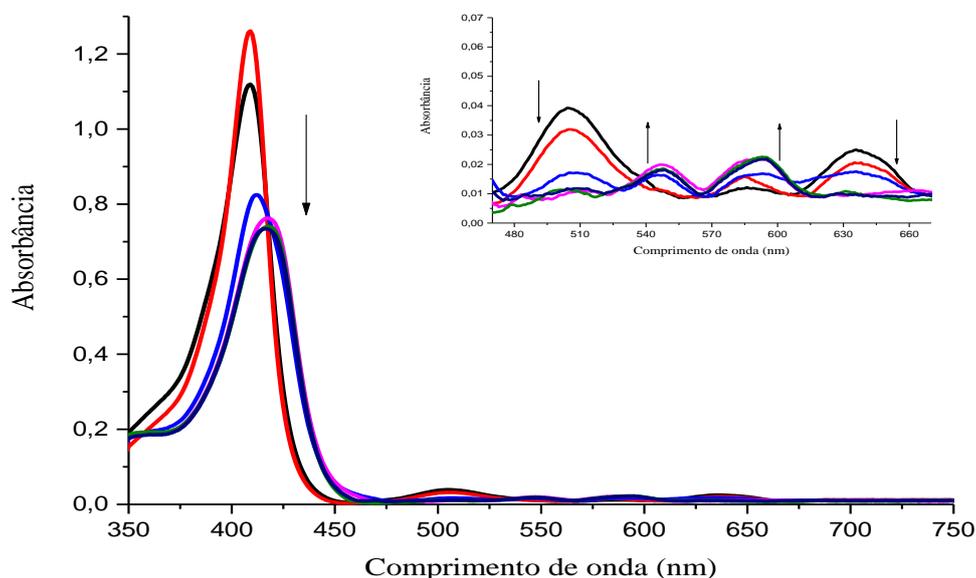
L-cisteína também foi utilizada como redutor frente ao complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺ e os resultados dos ensaios estão apresentados nas Figuras 66 e 67 abaixo.

Figura 66 – Acompanhamento da reação do complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺ com L-cisteína na presença de cPTIO durante 30 minutos. *Inset*: variação da absorbância pelo tempo 560 nm. [Ru]= 100 μmol L⁻¹; [L-cisteína]= 280 μmol L⁻¹; [cPTIO]= 160 μmol L⁻¹



Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 67 – Acompanhamento da reação do complexo $cis\text{-}[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ com L-cisteína na presença de met-Mb durante 30 minutos. $[\text{Ru}] = 60 \mu\text{mol L}^{-1}$; $[\text{L-cisteína}] = 1,3 \text{ mmol L}^{-1}$; $[\text{met-Mb}] = 6,5 \mu\text{mol L}^{-1}$



Fonte: elaborado pelo autor.

Novamente, assim como verificado para a reação com GSH, os experimentos fornecem evidências que sugerem a liberação de HNO. Ensaio adicionais são, contudo, necessários para a quantificação dos produtos e confirmação dessa proposta.

4.11 Docking molecular

Cálculos de *docking* molecular envolvem a determinação do posicionamento, conformação e energia de ligação relacionados à interação entre uma espécie química pequena (ligante) e uma macromolécula (receptor).¹²⁵ Esse tipo de simulação computacional tem sido extensivamente utilizado não somente para determinação de alvos terapêuticos de fármacos cujo mecanismo de ação não é plenamente conhecido, mas também para otimizar e orientar o desenvolvimento racional de novas moléculas biologicamente ativas.¹²⁶⁻¹²⁸ Em química de coordenação, o *docking* molecular tem se mostrado como uma ferramenta valiosa para guiar a síntese de novos compostos com ação farmacológica específica sobre alvos proteicos ou ainda

que apresentem forte interação com ácidos nucleicos e seu epigenoma associado.¹²⁹⁻¹³³ Essas características são fundamentais para o desenvolvimento de drogas antineoplásicas.

Nesse trabalho foram selecionados doze alvos biológicos proteicos, não-proteicos e mistos que apresentam importância farmacocinética ou farmacodinâmica como prováveis alvos para o tratamento de neoplasias. Foram determinadas as posições e conformações mais estáveis, bem como as energias envolvidas na estabilização dessas estruturas. Os valores de energia estão elencados na Tabela 10, abaixo.

Tabela 10 – Valores de energia (kcal mol^{-1}) para as conformações mais estáveis dos complexos diante dos alvos selecionados.

	FOR0011A	FOR0011AA	FOR0011B	FOR0711A	FOR0811A	FOR0811B
rHA	-6,67	-7,08	-7,24	-6,66	-8,04	-8,23
TS	-6,94	-7,44	-6,97	-7,30	-8,41	-8,46
RNR	-7,16	-8,50	-7,34	-6,86	-8,76	-8,91
HDAC7	-6,38	-6,86	-6,82	-6,59	-8,53	-8,64
CatB	-6,74	-8,32	-7,33	-7,18	-8,62	-9,06
Top II	-6,36	-6,30	-6,24	-6,82	-6,63	-6,55
TrxR	-8,06	-9,13	-9,15	-8,88	-9,63	-9,86
BRAFk	-5,05	-4,66	-5,34	-5,29	-5,18	-5,62
NCP	-9,08	-12,41	-9,00	-9,12	-15,17	-15,37
DNAgy	-5,72	-6,68	-6,64	-6,24	-7,09	-7,06
DNAd	-7,41	-7,51	-6,92	-7,33	-8,02	-7,39
DNAg4	-5,82	-6,56	-6,10	-5,89	-6,91	-7,20

Fonte: elaborado pelo autor.

Legenda: rHA – Albumina humana recombinante; TS – Timidilato sintetase; RNR – Ribonucleotídeo redutase; HDAC7 – Histona deacetilase; CaB – Catepsina B; Top II – Topoisomerase II; TrxR – Tiorredoxina redutase; BRAFk – BRAF quinase; NCP – Proteína do cerne do nucleossoma; DNAgy – DNA girase; DNAd – DNA dupla hélice; DNAg4 – DNA G-quadruplex; FOR0011A – *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺; FOR0011AA – *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂]²⁺; FOR0011B – *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺; FOR0711A – *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)]⁺; FOR0811A – *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺; FOR0811B – *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺.

Observa-se pelos valores apresentados na Tabela 10, como tendência geral, que os complexos que apresentam maior carga positiva apresentaram melhores valores de estabilização. Diante disso, é seguro afirmar que forças intermoleculares do tipo dipolo-íon e íon-íon (interação eletrostática) devem contribuir majoritariamente para a estabilidade desses complexos junto aos receptores testados. Verifica-se também que os melhores resultados foram obtidos frente à proteína do cerne do nucleossoma, o qual é a unidade fundamental de organização do material genético. As posições e conformações mais estáveis dos complexos diante desse alvo estão apresentadas na Figura 68.

Figura 68 – Posições e conformações de menor energia cálculas por *docking* molecular para os complexos cis -[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺, cis -[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺, cis -[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂]²⁺, cis -[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)]⁺, cis -[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺ e cis -[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺.

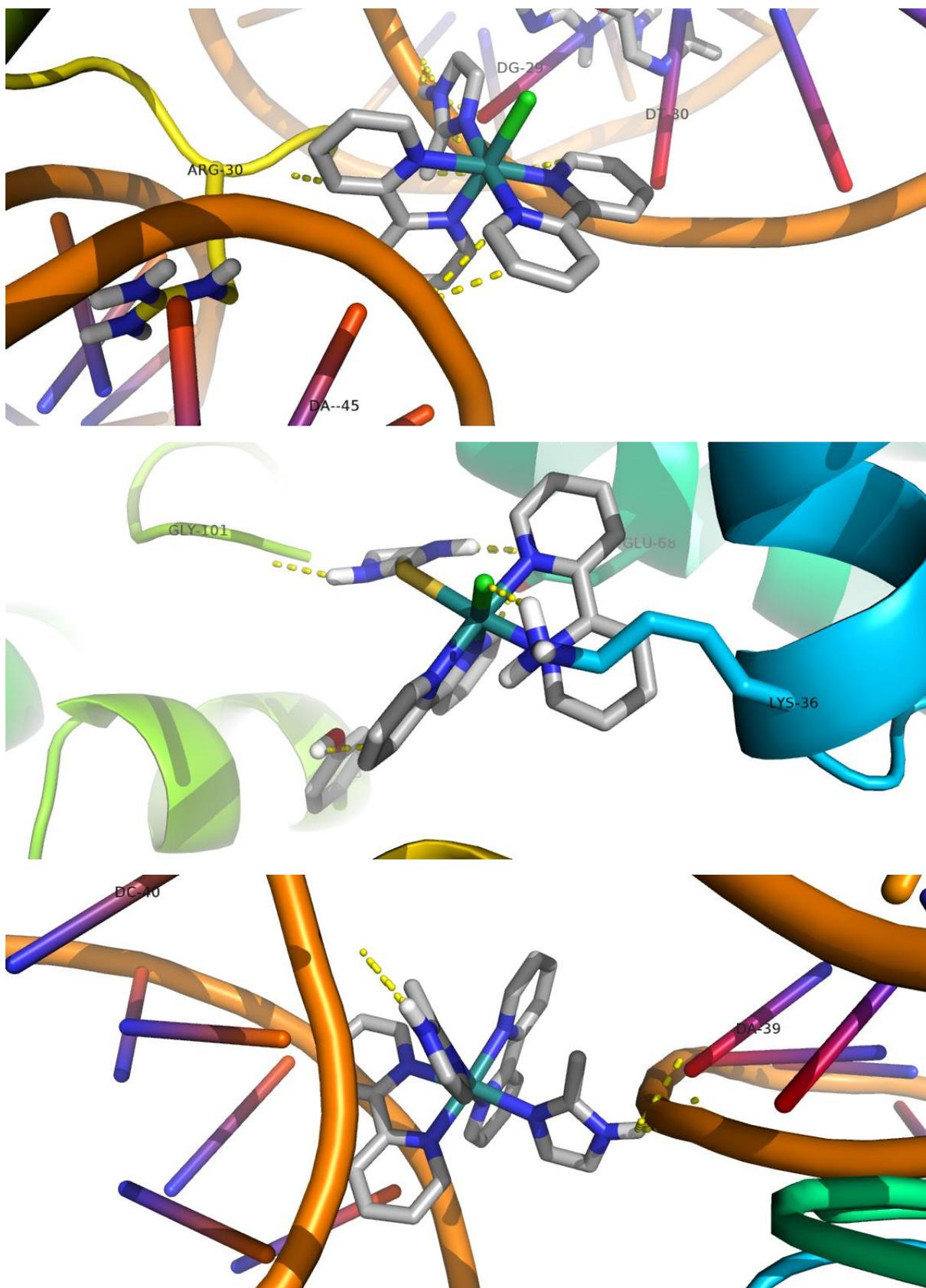
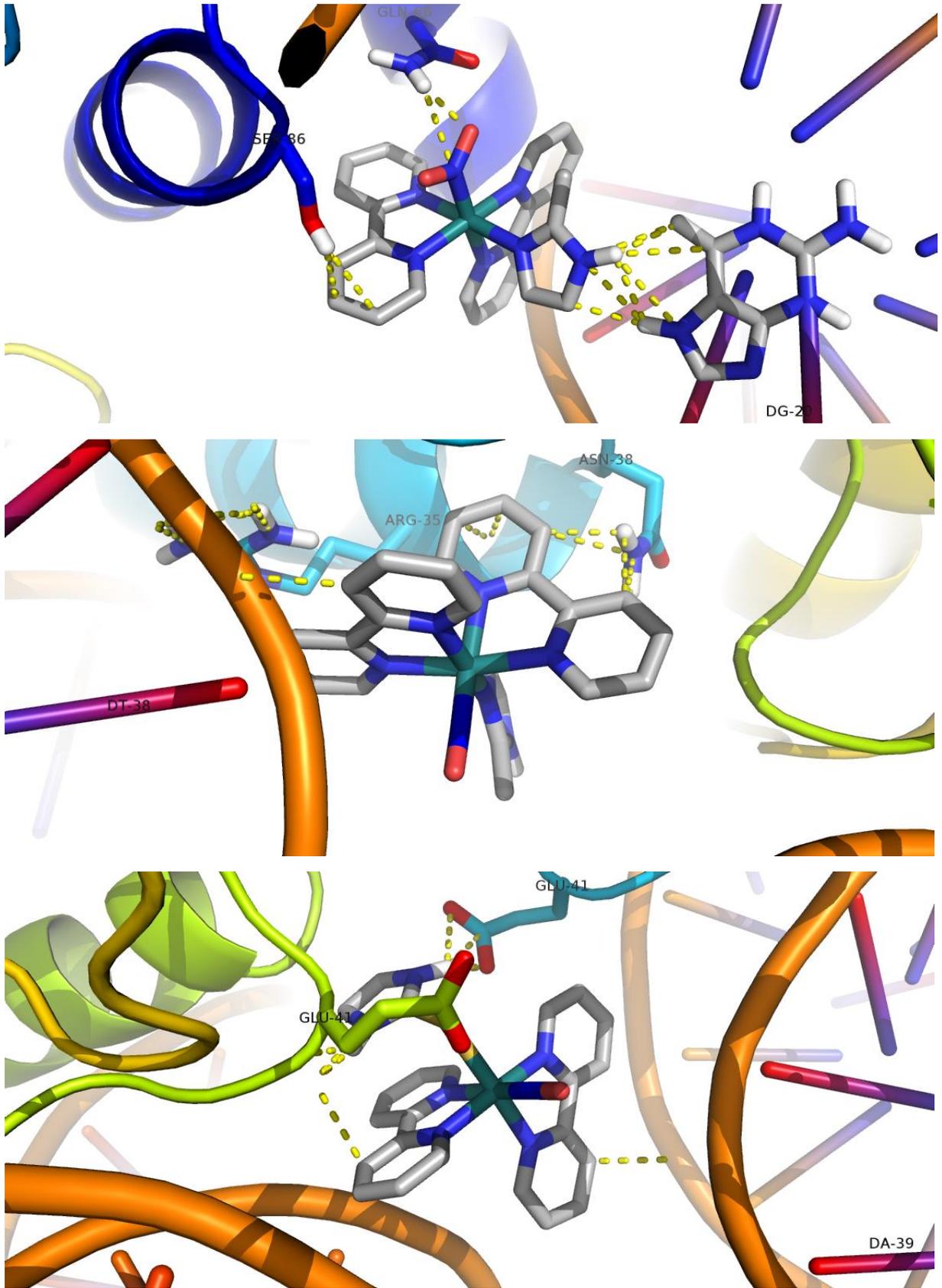


Figura 68 – (Continuação)



Fonte: elaborado pelo autor.

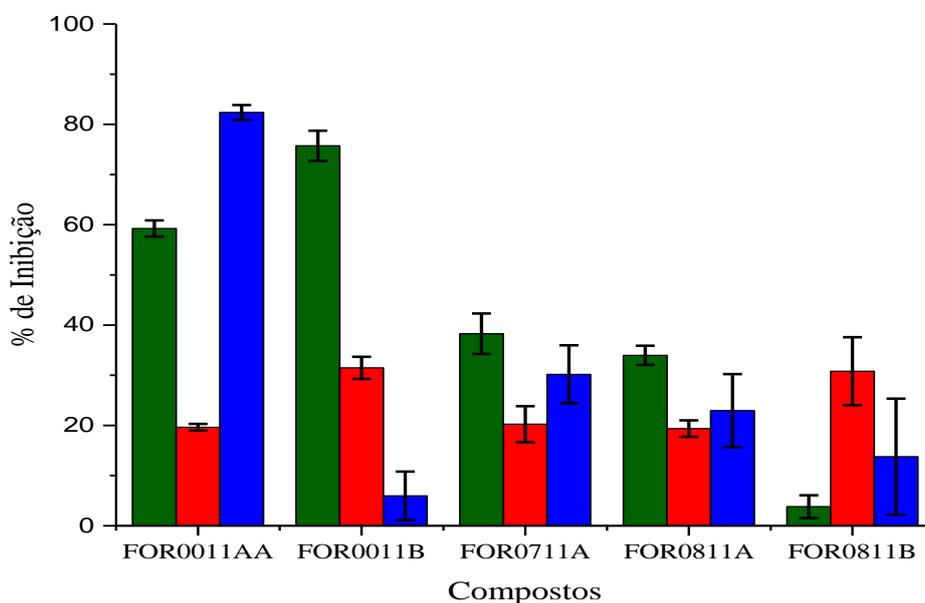
As demais posições com respectivas conformações podem ser visualizadas no Apêndice M. Tentou-se também estabelecer correlação entre os modos de interação observados e a localização espacial dos orbitais de fronteira dos complexos em estudo (Apêndices N a S). Entretanto, nenhuma relação aparente entre essas propriedades pode ser estabelecida.

Observou-se que a maioria dos complexos interagiu majoritariamente com as cadeias de DNA que envolvem a proteína. Visto que os grupos fosfatos dessas cadeias são carregados negativamente é coerente que os complexos mais carregados positivamente apresentem interação mais forte. Adicionalmente, verifica-se que os ligantes promoveram estabilização adicional ao interagirem com os resíduos de aminoácido da proteína, apesar de que não houve preferência por grupos específicos. Convém ainda ressaltar que o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂]²⁺ apresenta-se parcialmente inserido entre duas cadeias de DNA, podendo portanto vir a interferir no processo de condensação/relaxamento das fitas ou ainda no processo de replicação e/ou transcrição da informação genética. Essas propriedades são interessantes em um provável fármaco antineoplásico.

4.12 Avaliação da citotoxicidade

A viabilidade celular dos compostos foi avaliada através do método do MTT seguindo metodologia descrita na seção experimental. Todos os compostos foram testados em concentração única de 5 µg mL⁻¹ frente a 3 linhagens de células cancerígenas. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 69.

Figura 69 – Resultados dos ensaios de viabilidade celular expressos em porcentagem de inibição do crescimento para as linhagens HCT-116 (—), SF-295 (—) e HL-60 (—).



Fonte: elaborado pelo autor.

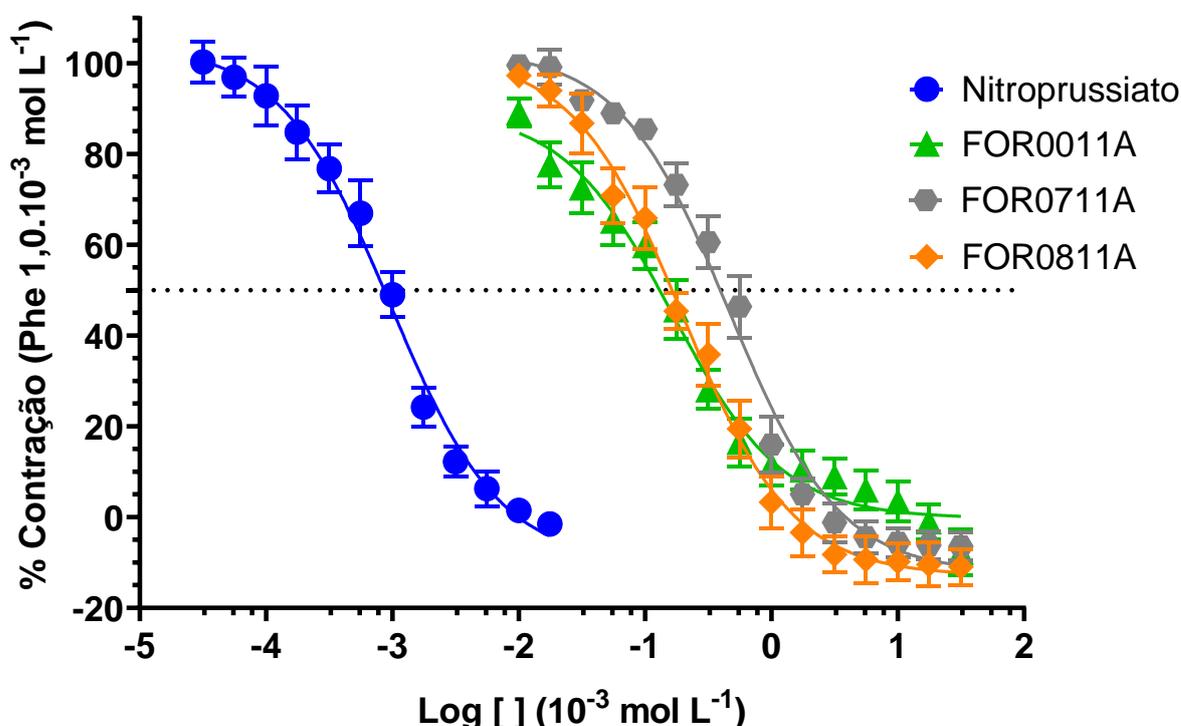
Observa-se que dos cinco compostos testados, somente dois obtiveram inibição de crescimento celular maior que 75%, ou seja, que apresentaram atividade citotóxica significativa. O composto *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂]²⁺ apresentou taxa de inibição de 82,37% frente a linhagem leucêmica promielocítica humana (HL-60), mas não se mostrou suficientemente ativo contra as outras duas linhagens testadas, indicando especificidade na sua ação citotóxica. De forma análoga, o complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺ mostrou-se ativo contra o crescimento da linhagem de carcinoma de cólon humano (HCT-116) com porcentagem de inibição de 75,74%, mas também se revelou incapaz de inibir eficientemente o desenvolvimento de outras linhagens. Tais resultados sugerem, portanto, que dois dos complexos sintetizados apresentam potencial antineoplásico específico, podendo avançar para testes que permitam elucidar os mecanismos envolvidos em sua ação.

4.13 Avaliação da atividade vascular

A capacidade de nitrosilo complexos de coordenação atuarem como vasodilatadores já é conhecida há quase um século através do uso do nitroprussiato de sódio como anti-hipertensivo.¹³⁴ Essa espécie tem sido extensivamente utilizada na prática clínica devido sua capacidade de dilatar artérias e veias, reduzir a pós-carga e a pressão de preenchimento ventricular.^{47, 134} O nitroprussiato atua liberando óxido nítrico, o qual pode ser gerado através de redução fotoquímica ou química, por meio de tióis biológicos,¹³⁵ e esse ativa a fração solúvel da guanilato ciclase solúvel desencadeando a cascata de sinalização que resulta em relaxamento vascular. Contudo, o uso desse medicamento traz riscos, tanto pela liberação rápida de NO como pelo risco de intoxicação por cianeto associado.¹³⁶ Logo, desenvolver moléculas que possam substituir o nitroprussiato, mantendo sua eficiência e diminuindo os riscos para o paciente, é uma necessidade emergente.

A atividade vascular dos nitrosilocomplexos sintetizados foi avaliada pela medida do grau de relaxamento promovido pelos compostos em anéis de aorta de rato pré-contraídas com fenilefrina (PHE). Os ensaios foram realizados em parceria com o Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, seguindo protocolos bem estabelecidos. Os resultados desses experimentos para o composto *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺ em comparação com os seus respectivos precursores são apresentados na Figura 70 abaixo.

Figura 70 – Curvas de concentração por porcentagem de contração para os compostos *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺, *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)]⁺ e *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺ em aortas (n=6) de rato pré contraídas com fenilefrina (0,1 μmol L⁻¹).



Fonte: elaborado pelo autor.

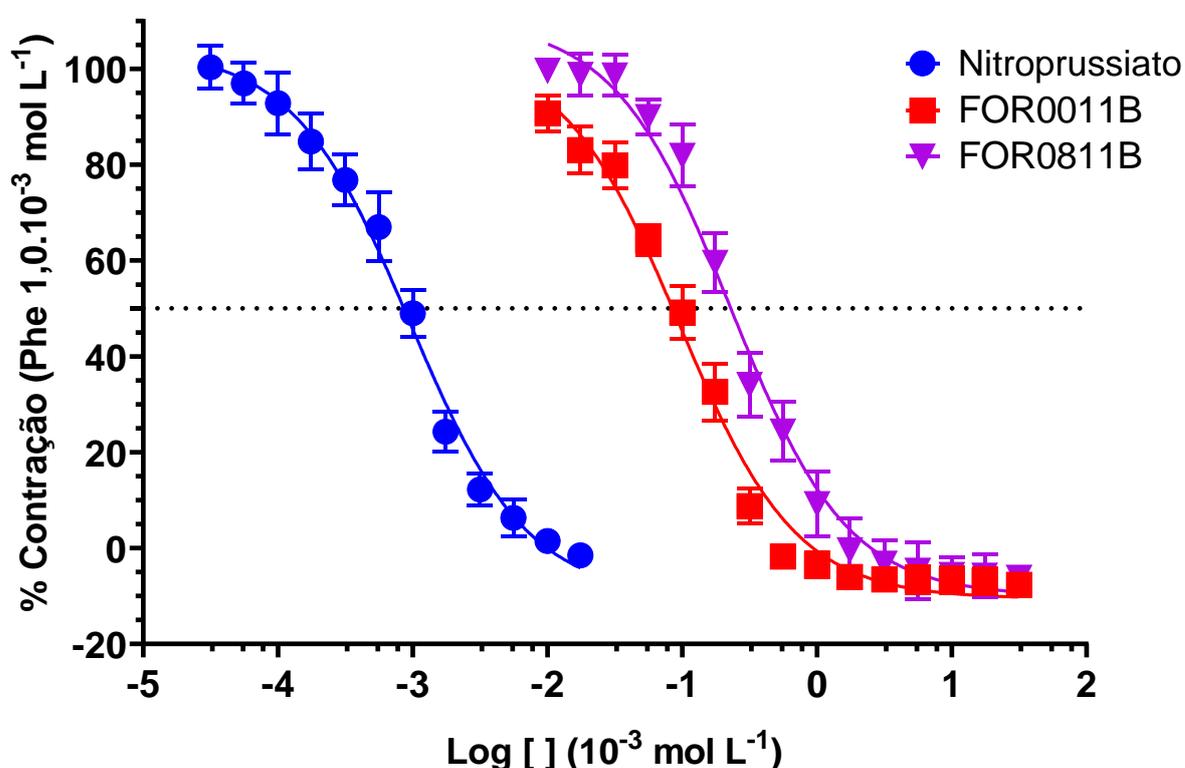
Legenda: FOR0011A= *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺; FOR0711A= *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)]⁺; FOR0811A= *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺.

Verifica-se pelas curvas de relaxamento que tanto o nitrosilocomplexo como seus precursores apresentam atividade vasodilatadora em anéis de aorta de rato pré contraídos com fenilefrina, ainda que inferior a droga padrão (nitroprussiato de sódio). Contudo, percebe-se que o precursor *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺ exibiu valor de EC₅₀ ligeiramente inferior (0,165 μmol L⁻¹) que o seu respectivo derivado com o grupo nitrosil (0,198 μmol L⁻¹). O nitro complexo *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)]⁺, por sua vez, foi cerca de 3 vezes menos efetivo, com valor de EC₅₀ igual a 0,464 μmol L⁻¹. Apesar de ser esperado que nitrosilocomplexos apresentem valores de EC₅₀ mais baixos que compostos não liberadores de óxido nítrico, complexos bipyridínicos de rutênio (II) sem o grupo NO já demonstraram ter excelente capacidade vasodilatadora.⁵⁴ Convém ressaltar também que, mesmo essas espécies sendo capazes de causar relaxamento vascular médio de forma mais efetiva, somente os compostos

com ligantes NO_x são capazes de provocar relaxamento máximo do músculo liso, conforme pode ser observado no gráfico da Figura 70.

Os ensaios de atividade vascular também foram realizados com o composto *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ e seu precursor nas mesmas condições. Os resultados estão expostos na Figura 71.

Figura 71 – Curvas de concentração por porcentagem de contração para os compostos *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$ e *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{Cl}]^+$ em aortas (n=6) de rato pré contraídas com fenilefrina ($0,1 \mu\text{mol L}^{-1}$).



Fonte: elaborado pelo autor.

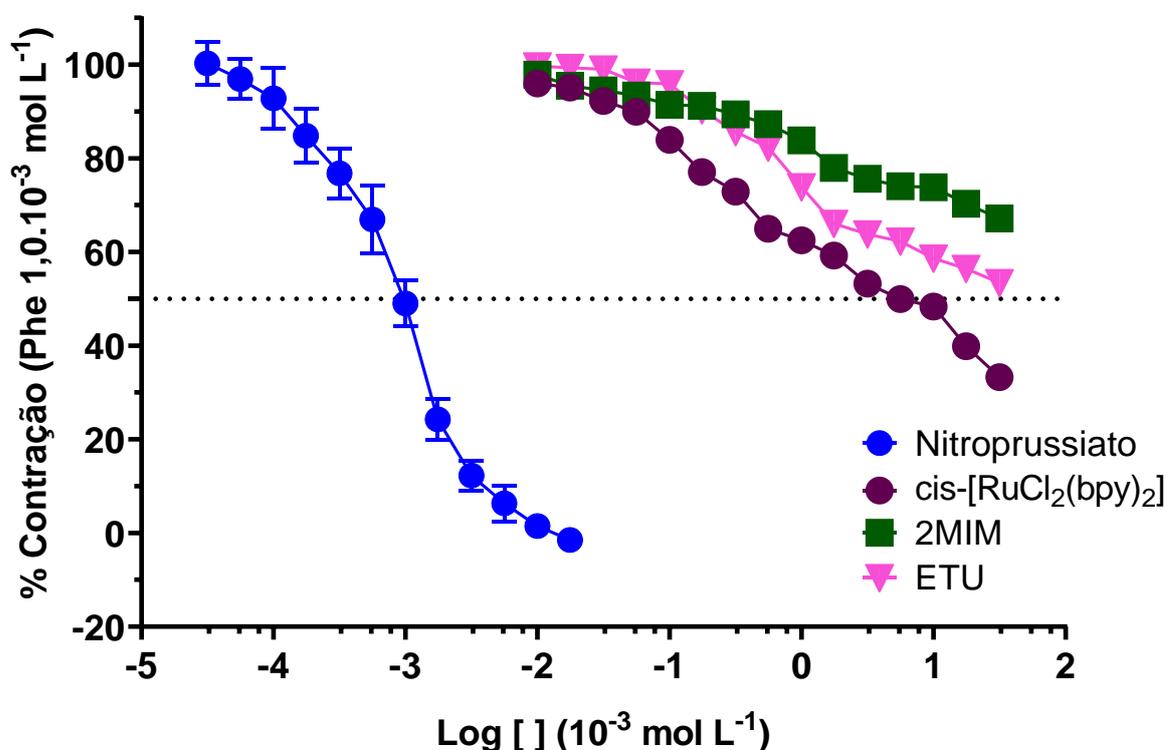
Legenda: FOR0011B= *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{Cl}]^+$; FOR0811B=*cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})(\text{NO})]^{3+}$.

Ambos os compostos apresentaram ação hipotensora, sendo o efeito mais pronunciado para o complexo *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{Cl}]^+$, o qual apresentou EC_{50} da ordem de $0,09 \mu\text{mol L}^{-1}$. O respectivo nitrosilocomplexo, por sua vez, foi menos efetivo com EC_{50} de aproximadamente $0,22 \mu\text{mol L}^{-1}$. Investigações adicionais são necessárias para esclarecer o

mecanismo farmacológico envolvido, bem como o porquê da elevada eficiência de vasodilatação mesmo na ausência de óxido nítrico.

Para fins de validação, ensaios similares foram realizados com o precursor *cis*-[Ru(bpy)₂Cl₂] e os ligantes 2-metilimidazol e etilenotiureia e seus resultados são mostrados na Figura 72. Observou-se que nem o complexo e nem os ligantes isolados tem ação hipotensora pronunciada, apresentando valores de EC₅₀ maiores que 5 μmol L⁻¹, muito mais elevados que aqueles encontrados para os compostos sintetizados. Assim, tem-se que as novas estruturas obtidas nesse trabalho exibem atividade vasorelaxante não observada para os respectivos precursores. Tais espécies serão estudadas em maiores detalhes e servirão como base para a obtenção de novos compostos com atividade biológica aprimorada.

Figura 72 – Curvas de concentração por porcentagem de contração para os compostos *cis*-[Ru(bpy)₂Cl₂] e os ligantes orgânicos 2MIM e ETU em aortas de rato (n=6) pré contraídas com fenilefrina (0,1 μmol L⁻¹).



Fonte: elaborado pelo autor.

Legenda: 2MIM=2-metilimidazol; ETU=etilenotiureia.

5 CONCLUSÕES

Considerando-se as evidências experimentais expostas, foram sintetizados e caracterizados seis novos complexos de rutênio (II) contendo 2,2'-bipiridina e os derivados imidazólicos 2-metilimidazol e etilenotioureia como ligantes auxiliares. Técnicas espectroscópicas e eletroquímicas, bem como simulações computacionais, forneceram evidências que corroboram com as estruturas propostas para os compostos, além de demonstrar viabilidade e reprodutibilidade das rotas sintéticas executadas.

Dentre os seis complexos sintetizados, dois deles apresentaram o grupo nitrosil como ligante, o que os torna prováveis candidatos a liberadores de óxido nítrico. Avaliou-se o pH de interconversão NO^+/NO_2 , mas nenhum dos complexos se mostrou manter-se majoritariamente na forma nitrosilada em pH fisiológico. Contudo, verificou-se que os complexos são suficientemente estáveis para que se tenha a reversibilidade completa da reação. Estudou-se também a capacidade de liberação eletroquímica de NO^0 , com aplicação de potencial elétrico, como também a liberação fotoquímica, quando irradiados com luz azul. Para ambos os estudos, encontraram-se evidências pertinentes que sugerem a labilização do ligante nitrosil. Avaliou-se também a possibilidade de liberação viabilizada por redutores biológicos e verificou-se que na presença de tióis há evidências de formação de HNO, o produto da redução monoelétrica do óxido nítrico. Estudos adicionais podem vir a confirmar essa hipótese.

O potencial antioxidante dos nitrosilo complexos também foi averiguado diante de dois radicais livres de importância patológica. Os resultados dos experimentos sugerem que os dois nitrosilocomplexos apresentam atividade *scavenger* frente aos radicais superóxido e hidroxila. Ensaios com os complexos precursores indicam que a presença do grupo nitrosila é essencial para a atividade antioxidante.

Simulações de *docking* molecular sugeriram que os compostos sintetizados podem interagir com alvos biológicos importantes na patogênese e manutenção do câncer, evidenciando o potencial farmacológico dos complexos estudados. Testes *in vitro* poderão ser feitos para comprovar as predições computacionais.

Ensaios farmacológicos preliminares também foram realizados. Dois dos compostos apresentaram ação citotóxica específica quando testados frente a linhagens de células cancerígenas: os complexos *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(2\text{-MIM})_2]^{2+}$ e *cis*- $[\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{ETU})\text{Cl}]^+$ foram

efetivos em inibir o crescimento de culturas de leucemia promielocítica e carcinoma de cólon humano, respectivamente. Na avaliação de atividade vascular, os dois nitrosilocomplexos e seus respectivos precursores apresentaram excelente ação hipotensora, sendo o composto *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺ aquele que apresentou maior eficiência. Estudos adicionais são necessários para determinar o mecanismo de ação envolvido.

Em conjunto, esses resultados evidenciam a obtenção de seis novos complexos bipyridínicos de rutênio, dos quais cinco apresentaram potencial farmacológico e são candidatos promissores a novas metalodrogas que irão compor o arsenal terapêutico futuramente.

REFERÊNCIAS

- 1 COLEMAN, W.B.; TSONGALIS, G.J. **The Molecular Basis of Human Cancer**. Totowa: Humana Press, 2002.
- 2 KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N.; ASTER, J.C. **Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease**. 8. ed. São Paulo: Elsevier Health Sciences, 2009.
- 3 IARC. **World Cancer Report 2014**. France: WHO Press, 2014.
- 4 IARC. **World Cancer Incidence in 2012**. France: WHO Press, 2012.
- 5 DATASUS. **MORBIDADE HOSPITALAR DO SUS - POR LOCAL DE INTERNAÇÃO - BRASIL**. Brasil, 2016. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/niuf.def>. Acesso em: 06 maio 2016.
- 6 INCA. **Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil** Rio de Janeiro: INCA, 2015.
- 7 DEVITA JR, V.T.; ROSENBERG, S.A. Two hundred years of cancer research. **N Engl J Med**, v. 366, n. 23, p. 2207-2214, jun. 2012.
- 8 CROCE, C.M. Oncogenes and cancer. **N Engl J Med**, v. 358, n. 5, p. 502-511, jan. 2008.
- 9 WOGAN, G.N.; HECHT, S.S.; FELTON, J.S.; CONNEY, A.H.; LOEB, L.A. Environmental and chemical carcinogenesis. **Semin Cancer Biol**, v. 14, n. 6, p. 473-486, dez. 2004.
- 10 GORRINI, C.; HARRIS, I.S.; MAK, T.W. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. **Nat Rev Drug Discov**, v. 12, n. 12, p. 931-947, dez. 2013.
- 11 URRUTICOECHEA, A.; ALEMANY, R.; BALART, J.; VILLANUEVA, A.; VINALS, F.; CAPELLA, G. Recent Advances in Cancer Therapy: An Overview. **Current Pharmaceutical Design**, v. 16, n. 1, p. 3-10, jan. 2010.
- 12 SCOTT, A.M.; ALLISON, J.P.; WOLCHOK, J.D. Monoclonal antibodies in cancer therapy. **Cancer Immunity**, v. 12, p. 14, maio. 2012.
- 13 BARBOSA, M.I.; CORREA, R.S.; DE OLIVEIRA, K.M.; RODRIGUES, C.; ELLENA, J.; NASCIMENTO, O.R.; ROCHA, V.P.; NONATO, F.R.; MACEDO, T.S.; BARBOSA-FILHO, J.M.; SOARES, M.B.; BATISTA, A.A. Antiparasitic activities of novel ruthenium/lapachol complexes. **J Inorg Biochem**, v. 136, p. 33-39, jul. 2014.
- 14 BASTOS, T.M.; BARBOSA, M.I.; DA SILVA, M.M.; DA, C.J.J.W.; MEIRA, C.S.; GUIMARAES, E.T.; ELLENA, J.; MOREIRA, D.R.; BATISTA, A.A.; SOARES, M.B. Nitro/nitrosyl-ruthenium complexes are potent and selective anti-Trypanosoma cruzi agents causing autophagy and necrotic parasite death. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 58, n. 10, p. 6044-6055, out. 2014.
- 15 DOS SANTOS, E.R.; MONDELLI, M.A.; POZZI, L.V.; CORRÊA, R.S.; SALISTRE-DE-ARAÚJO, H.S.; PAVAN, F.R.; LEITE, C.Q.F.; ELLENA, J.; MALTA, V.R.S.; MACHADO, S.P.; BATISTA, A.A. New

- ruthenium(II)/phosphines/diimines complexes: Promising antitumor (human breast cancer) and Mycobacterium tuberculosis fighting agents. **Polyhedron**, v. 51, p. 292-297, jan. 2013.
- 16 LIMA, A.P.; PEREIRA, F.C.; ALMEIDA, M.A.; MELLO, F.M.; PIRES, W.C.; PINTO, T.M.; DELELLA, F.K.; FELISBINO, S.L.; MORENO, V.; BATISTA, A.A.; DE PAULA SILVEIRA-LACERDA, E. Cytotoxicity and apoptotic mechanism of ruthenium(II) amino acid complexes in sarcoma-180 tumor cells. **PLoS One**, v. 9, n. 10, p. 1-11, out. 2014.
- 17 PEREIRA, F.C.; LIMA, B.A.; LIMA, A.P.; PIRES, W.C.; MONTEIRO, T.; MAGALHAES, L.F.; COSTA, W.; GRAMINHA, A.E.; BATISTA, A.A.; ELLENA, J.; SIVEIRA-LACERDA EDE, P. Cis-[RuCl(BzCN)(N-N)(P-P)]PF₆ complexes: Synthesis and in vitro antitumor activity: (BzCN=benzonitrile; N-N=2,2'-bipyridine; 1,10-phenanthroline; P-P=1,4-bis(diphenylphosphino) butane, 1,2-bis(diphenylphosphino)ethane, or 1,1'-(diphenylphosphino)ferrocene). **J Inorg Biochem**, v. 149, p. 91-101, ago. 2015.
- 18 GELASCO, A.; LIPPARD, S.J. **Anticancer Activity of Cisplatin and Related Complexes**. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 1999.
- 19 BARTHI, S.K.; SINGH, S.K. Recent developments in the field of anticancer metallopharmaceuticals. **International Journal of PharmTech Research**, v. 1, n. 4, p. 1406-1420, out. 2009.
- 20 HARTMANN, J.T.; LIPP, H.-P. Toxicity of platinum compounds. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 4, n. 6, p. 889-901, mar. 2003.
- 21 MARKMAN, M. Toxicities of the platinum antineoplastic agents. **Expert Opinion on Drug Safety**, v. 2, n. 6, p. 597-607, mar. 2003.
- 22 KEPPLER, B.K.; HENN, M.; JUHL, U.M.; BERGER, M.R.; NIEBL, R.; WAGNER, F.E. **New Ruthenium Complexes for the Treatment of Cancer**. Berlin: Springer 1989.
- 23 KOSTOVA, I. Ruthenium Complexes as Anticancer Agents. **Current Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 9, p. 1085-1107, set. 2006.
- 24 KOSTOVA, I. Titanium and vanadium complexes as anticancer agents. **Anticancer Agents Med Chem**, v. 9, n. 8, p. 827-842, out. 2009.
- 25 CLARKE, M.J. Ruthenium metallopharmaceuticals. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 232, n. 1, p. 69-93, jan. 2002.
- 26 CRAVER, E.; MCCRATE, A.; NIELSEN, M.; SWAVEY, S. Tris-ruthenium(II)/copper(II) multimetallic porphyrin: Synthesis, characterization, DNA binding and supercoiled DNA photocleavage studies. **Inorganica Chimica Acta**, v. 363, n. 2, p. 453-456, out. 2010.
- 27 ALESSIO, E.; CLARKE, M.J. **Ruthenium and other non-platinum metal complexes in cancer chemotherapy**. Berlin: Springer-Verlag, 1989.
- 28 PIZARRO, A.M.; SADLER, P.J. Unusual DNA binding modes for metal anticancer complexes. **Biochimie**, v. 91, n. 10, p. 1198-1211, out. 2009.

- 29 SINGH, V.; AZAD, G.K.; MANDAL, P.; REDDY, M.A.; TOMAR, R.S. Anti-cancer drug KP1019 modulates epigenetics and induces DNA damage response in *Saccharomyces cerevisiae*. **FEBS Lett**, v. 588, n. 6, p. 1044-1052, mar. 2014.
- 30 LAWRENCE, G.A. Mixed Donor Ligands. **Encyclopedia of Inorganic Chemistry**, v. 1, p. 1-22, mar. 2006.
- 31 HOUSECROFT, C.E.; SHARPE, A.G. **Inorganic Chemistry**. 4 ed. Upper Saddle River: Pearson Prentice Hall, 2012.
- 32 ZAFAR, M.N.; ATIF, A.H.; NAZAR, M.F.; SUMRRA, S.H.; GUL, E.S.; PARACHA, R. Pyridine and related ligands in transition metal homogeneous catalysis. **Russian Journal of Coordination Chemistry**, v. 42, n. 1, p. 1-18, jan. 2016.
- 33 HOPKINSON, M.N.; RICHTER, C.; SCHEDLER, M.; GLORIUS, F. An overview of N-heterocyclic carbenes. **Nature**, v. 510, n. 7506, p. 485-496, jun. 2014.
- 34 ORTIZ, J.H.; VEGA, N.; COMEDI, D.; TIRADO, M.; ROMERO, I.; FONTRODONA, X.; PARELLA, T.; VIEYRA, F.E.; BORSARELLI, C.D.; KATZ, N.E. Improving the photosensitizing properties of ruthenium polypyridyl complexes using 4-methyl-2,2'-bipyridine-4'-carbonitrile as an auxiliary ligand. **Inorg Chem**, v. 52, n. 9, p. 4950-4962, maio. 2013.
- 35 CAO, W.; ZHENG, W.; CHEN, T. Ruthenium polypyridyl complex inhibits growth and metastasis of breast cancer cells by suppressing FAK signaling with enhancement of TRAIL-induced apoptosis. **Sci Rep**, v. 5, p. 1-11, mar. 2015.
- 36 ZENG, L.; CHEN, Y.; LIU, J.; HUANG, H.; GUAN, R.; JI, L.; CHAO, H. Ruthenium(II) Complexes with 2-Phenylimidazo[4,5-f][1,10]phenanthroline Derivatives that Strongly Combat Cisplatin-Resistant Tumor Cells. **Sci Rep**, v. 6, p. 1-13, jan. 2016.
- 37 SOLTAU, S.R.; NIKLAS, J.; DAHLBERG, P.D.; POLUEKTOV, O.G.; TIEDE, D.M.; MULFORT, K.L.; UTSCHIG, L.M. Aqueous light driven hydrogen production by a Ru-ferredoxin-Co biohybrid. **Chem Commun (Camb)**, v. 51, n. 53, p. 10628-10631, jul. 2015.
- 38 ANDERSON, E.B.; LONG, T.E. Imidazole- and imidazolium-containing polymers for biology and material science applications. **Polymer**, v. 51, n. 12, p. 2447-2454, maio. 2010.
- 39 ZHANG, L.; PENG, X.M.; DAMU, G.L.; GENG, R.X.; ZHOU, C.H. Comprehensive review in current developments of imidazole-based medicinal chemistry. **Med Res Rev**, v. 34, n. 2, p. 340-437, mar. 2014.
- 40 BUTLER, A.R.; NICHOLSON, R. **Life, Death and Nitric Oxide**. Cambridge: RSC, 2003.
- 41 HUGHES, M.N. Chemistry of Nitric Oxide and Related Species. **Methods in Enzymology**, v. 436, p. 3-19, jan. 2008.
- 42 TOLEDO JR, J.C.; AUGUSTO, O. Connecting the chemical and biological properties of nitric oxide. **Chem Res Toxicol**, v. 25, n. 5, p. 975-989, maio. 2012.

- 43 IGNARRO, L.J. **Nitric Oxide: Biology and Pathobiology**. San Diego: Elsevier Science, 2009.
- 44 PRYOR, W.A.; HOUK, K.N.; FOOTE, C.S.; FUKUTO, J.M.; IGNARRO, L.J.; SQUADRITO, G.L.; DAVIES, K.J. Free radical biology and medicine: it's a gas, man! **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 291, n. 3, p. 491-511, sep. 2006.
- 45 LEI, J.; VODOVOTZ, Y.; TZENG, E.; BILLIAR, T.R. Nitric oxide, a protective molecule in the cardiovascular system. **Nitric Oxide**, v. 35, p. 175-185, nov. 2013.
- 46 MARTIN, E.; BERKA, V.; TSAI, A.; MURAD, F. Soluble Guanylyl Cyclase: The Nitric Oxide Receptor. **Methods in Enzymology**, v. 396, p. 478-492, jan. 2005.
- 47 BRUNTON, L.; CHABNER, B.; KNOLLMAN, B. **Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics** 12. ed. New York: McGraw-Hill Education, 2011.
- 48 LALA, P.K.; CHAKRABORTY, C. Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression. **The Lancet Oncology**, v. 2, n. 3, p. 149-156, mar. 2001.
- 49 HOFSETH, L. Nitric oxide in cancer and chemoprevention. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 34, n. 8, p. 955-968, out. 2003.
- 50 LO FARO, M.L.; FOX, B.; WHATMORE, J.L.; WINYARD, P.G.; WHITEMAN, M. Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation. **Nitric Oxide**, v. 41, p. 38-47, set. 2014.
- 51 CHENG, H.; WANG, L.; MOLLICA, M.; RE, A.T.; WU, S.; ZUO, L. Nitric oxide in cancer metastasis. **Cancer Lett**, v. 353, n. 1, p. 1-7, out. 2014.
- 52 QIN, Y.; PENG, Q. Ruthenium Sensitizers and Their Applications in Dye-Sensitized Solar Cells. **International Journal of Photoenergy**, v. 2012, p. 1-21, out. 2012.
- 53 SILVA, M.S.P.; DIÓGENES, I.C.N.; LOPES, L.G.F.; MOREIRA, Í.S.; DE CARVALHO, I.M.M. Synthesis and physical properties of ruthenium bipyridine complexes with TCNQ and TCNE ligands. **Polyhedron**, v. 28, n. 4, p. 661-664, mar. 2009.
- 54 SA, D.S.; FERNANDES, A.F.; SILVA, C.D.; COSTA, P.P.; FONTELES, M.C.; NASCIMENTO, N.R.; LOPES, L.G.; SOUSA, E.H. Non-nitric oxide based metallovasodilators: synthesis, reactivity and biological studies. **Dalton Trans**, v. 44, n. 30, p. 13633-13640, jul. 2015.
- 55 SANTANA, A.P.; TAVARES, B.M.; LUCETTI, L.T.; GOUVEIA, F.S., Jr.; RIBEIRO, R.A.; SOARES, P.M.; SOUSA, E.H.; LOPES, L.G.; MEDEIROS, J.V.; SOUZA, M.H. The nitric oxide donor cis-[Ru(bpy)₂(SO₃)NO](PF₆) increases gastric mucosa protection in mice--involvement of the soluble guanylate cyclase/K(ATP) pathway. **Nitric Oxide**, v. 45, p. 35-42, fev. 2015.
- 56 CAULTON, K.G. Synthetic methods in transition metal nitrosyl chemistry. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 14, n. 4, p. 317-355, jan. 1975.
- 57 LOPES, L.G.F.; WIERASZKO, A.; EL-SHERIF, Y.; CLARKE, M.J. The trans-labilization of nitric oxide in RuII complexes by C-bound imidazoles. **Inorganica Chimica Acta**, v. 312, n. 1, p. 15-22, ago. 2001.

- 58 METZKER, G.; CARDOSO, D.R.; FRANCO, D.W. Reaction of ruthenium nitrosyl complexes with superoxide. **Polyhedron**, v. 50, n. 1, p. 328-332, nov. 2013.
- 59 ESPEY, M.G.; THOMAS, D.D.; MIRANDA, K.M.; WINK, D.A. Focusing of nitric oxide mediated nitrosation and oxidative nitrosylation as a consequence of reaction with superoxide. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 99, n. 17, p. 11127-11132, ago. 2002.
- 60 MCCORD, J.M.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte cytochrome c (hemocyanin). **J Biol Chem**, v. 244, n. 22, p. 6049-6055, nov. 1969.
- 61 ARUOMA, O.I.; HALLIWELL, B.; GAJEWSKI, E.; DIZDAROGLU, M. Damage to the bases in DNA induced by hydrogen peroxide and ferric ion chelates. **J Biol Chem**, v. 264, n. 34, p. 20509-20512, dez. 1989.
- 62 PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminum Effects on Lipid Peroxidation and on the Activities of Enzymes of Oxidative Metabolism in Sorghum. **R. Bras. Fisiol. Veg**, v. 11, n. 3, p. 137-143, ago. 1999.
- 63 INOUE, S.; KAWANISHI, S. Hydroxyl radical production and human DNA damage induced by ferric nitrilotriacetate and hydrogen peroxide. **Cancer Res**, v. 47, n. 24, p. 6522-6527, dez. 1987.
- 64 METZKER, G.; DE AGUIAR, I.; SOUZA, M.L.; CARDOSO, D.R.; FRANCO, D.W. Reaction of ruthenium(II) complexes with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) and hydroxyl radicals. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 92, n. 8, p. 788-793, abr. 2014.
- 65 GaussView, Version 5. Shawnee Mission, 2009. 1 CD.
- 66 Gaussian 09. Wallingford, 2009. 1 CD.
- 67 LEE, C.; YANG, W.; PARR, R.G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. **Physical Review B**, v. 37, n. 2, p. 785-789, jan. 1988.
- 68 BECKE, A.D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 7, p. 5648-5652, jan. 1993.
- 69 STEPHENS, P.J.; DEVLIN, F.J.; CHABALOWSKI, C.F.; FRISCH, M.J. Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 98, n. 45, p. 11623-11627, nov. 1994.
- 70 HAY, P.J.; WADT, W.R. Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for K to Au including the outermost core orbitals. **The Journal of Chemical Physics**, v. 82, n. 1, p. 299-310, jan. 1985.
- 71 WADT, W.R.; HAY, P.J. Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for main group elements Na to Bi. **The Journal of Chemical Physics**, v. 82, n. 1, p. 284-298, jan. 1985.
- 72 FRENKING, G.; KOCH, W. A Mulliken-Plesset study of the electron affinities of the diatomic hydrides XH (X=Li, B, Be, C, N, O). **The Journal of Chemical Physics**, v. 84, n. 6, p. 3224-3229, jan. 1986.

- 73 MENNUCCI, B.; CANCE`S, E.; TOMASI, J. Evaluation of Solvent Effects in Isotropic and Anisotropic Dielectrics and in Ionic Solutions with a Unified Integral Equation Method: Theoretical Bases, Computational Implementation, and Numerical Applications. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 101, n. 49, p. 10506-10517, dez. 1997.
- 74 MARQUES, M.A.L.; MAITRA, N.T.; NOGUEIRA, F.M.S.; GROSS, E.K.U.; RUBIO, A. **Fundamentals of Time-Dependent Density Functional Theory**. Berlin: Springer Verlag, 2012.
- 75 Chemissian Version 4.43. 2016. Disponível em: www.chemissian.com. Acesso em: 10 janeiro 2017.
- 76 O'BOYLE, N.M.; TENDERHOLT, A.L.; LANGNER, K.M. cclib: a library for package-independent computational chemistry algorithms. **J Comput Chem**, v. 29, n. 5, p. 839-845, Apr 15. 2008.
- 77 BERMAN, H.M.; WESTBROOK, J.; FENG, Z.; GILLILAND, G.; BHAT, T.N.; WEISSIG, H.; SHINDYALOV, I.N.; BOURNE, P.E. The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Res**, v. 28, n. 1, p. 235-242, jan. 2000.
- 78 MORRIS, G.M.; HUEY, R.; LINDSTROM, W.; SANNER, M.F.; BELEW, R.K.; GOODSELL, D.S.; OLSON, A.J. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **J Comput Chem**, v. 30, n. 16, p. 2785-2791, dez. 2009.
- 79 ADENIYI, A.A.; AJIBADE, P.A. Comparing the suitability of autodock, gold and glide for the docking and predicting the possible targets of Ru(II)-based complexes as anticancer agents. **Molecules**, v. 18, n. 4, p. 3760-3778, mar. 2013.
- 80 HETENYI, C.; VAN DER SPOEL, D. Efficient docking of peptides to proteins without prior knowledge of the binding site. **Protein Sci**, v. 11, n. 7, p. 1729-1737, jul. 2002.
- 81 HETENYI, C.; VAN DER SPOEL, D. Blind docking of drug-sized compounds to proteins with up to a thousand residues. **FEBS Lett**, v. 580, n. 5, p. 1447-1450, feb. 2006.
- 82 The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.8. 2015. 1 CD.
- 83 SULLIVAN, B.P.; SALMON, D.J.; MEYER, T.J. Mixed phosphine 2,2'-bipyridine complexes of ruthenium. **Inorganic Chemistry**, v. 17, n. 12, p. 3334-3341, dez. 1978.
- 84 GARELLA, D.; BORRETTO, E.; DI STILO, A.; MARTINA, K.; CRAVOTTO, G.; CINTAS, P. Microwave-assisted synthesis of N-heterocycles in medicinal chemistry. **MedChemComm**, v. 4, n. 10, p. 1323, ago. 2013.
- 85 MAJUMDER, A.; GUPTA, R.; JAIN, A. Microwave-assisted synthesis of nitrogen-containing heterocycles. **Green Chemistry Letters and Reviews**, v. 6, n. 2, p. 151-182, fev. 2013.
- 86 GAWANDE, M.B.; SHELKE, S.N.; ZBORIL, R.; VARMA, R.S. Microwave-assisted chemistry: synthetic applications for rapid assembly of nanomaterials and organics. **Acc Chem Res**, v. 47, n. 4, p. 1338-1348, abr. 2014.

- 87 LONKAR, S.P.; RAQUEZ, J.-M.; DUBOIS, P. One-Pot Microwave-Assisted Synthesis of Graphene/Layered Double Hydroxide (LDH) Nanohybrids. **Nano-Micro Letters**, v. 7, n. 4, p. 332-340, out. 2015.
- 88 WANG, Y.; SUN, W.; LI, H. Microwave-assisted synthesis of graphene nanocomposites: recent developments on lithium-ion batteries. **Reports in Electrochemistry**, p. 1, jul. 2015.
- 89 CAO, J.; ZHANG, X.; ZHANG, Y.; ZHOU, J.; CHEN, Y.; LIU, X. Free MoS₂ Nanoflowers Grown on Graphene by Microwave-Assisted Synthesis as Highly Efficient Non-Noble-Metal Electrocatalysts for the Hydrogen Evolution Reaction. **PLoS One**, v. 11, n. 8, p. 1-8, ago. 2016.
- 90 HAYES, B.L. **Microwave Synthesis: Chemistry at the Speed of Light**. Matthews: CEM Pub., 2002.
- 91 NAKAMOTO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds, Applications in Coordination, Organometallic, and Bioinorganic Chemistry**. Hoboken: Wiley, 2009.
- 92 PAVIA, D.; LAMPMAN, G.; KRIZ, G.; VYVYAN, J. **Introduction to Spectroscopy**. Belmont: Cengage Learning, 2008.
- 93 SABO-ETIENNE, S.; GRELLIER, M. **Ruthenium: Inorganic & Coordination Chemistry**. 1. ed. New York: John Wiley & Sons, Ltd., 2006.
- 94 RACK, J.J.; GRAY, H.B. Spectroscopy and Electrochemistry of mer-[RuCl₃(dmsO)(tmen)]. Dimethylsulfoxide Is Sulfur-Bonded to Ru(II), Ru(III), and Ru(IV). **Inorganic Chemistry**, v. 38, n. 1, p. 2-3, dez. 1999.
- 95 BRISSARD, M.; CONVERT, O.; GRUSELLE, M.; GUYARD-DUHAYON, C.; THOUVENOT, R. Enantiospecific synthesis of delta and lambda [Ru(bpy)(2)ppy](+) and [Ru(bpy)(2)quo](+) (bpy = 2,2'-bipyridine, ppy = phenylpyridine-H(+), quo = 8-hydroxyquinolate): (1)H and (13)C NMR studies and X-ray structure determination of rac-[Ru(bpy)(2)quo]PF₆. **Inorg Chem**, v. 42, n. 4, p. 1378-1385, fev. 2003.
- 96 LLANGURI, R.; MORRIS, J.J.; STANLEY, W.C.; BELL-LONCELLA, E.T.; TURNER, M.; BOYKO, W.J.; BESSEL, C.A. Electrochemical and spectroscopic investigations of oxime complexes of bis(bipyridyl)ruthenium(II). **Inorganica Chimica Acta**, v. 315, n. 1, p. 53-65, jan. 2001.
- 97 GEARY, W.J. The use of conductivity measurements in organic solvents for the characterisation of coordination compounds. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 7, n. 1, p. 81-122, out. 1971.
- 98 CARDOSO, C.R.; LIMA, M.V.; CHELESKI, J.; PETERSON, E.J.; VENANCIO, T.; FARRELL, N.P.; CARLOS, R.M. Luminescent ruthenium complexes for theranostic applications. **J Med Chem**, v. 57, n. 11, p. 4906-4915, jun. 2014.
- 99 WEBSTER, R.S.F. **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. 7. ed. New York: Wiley India Pvt. Limited, 2006.
- 100 GUIDELLI, R.; PERGOLA, F.; RASPI, G. Voltammetric behavior of nitrite ion on platinum in neutral and weakly acidic media. **Anal Chem**, v. 44, n. 4, p. 745-755, abr. 1972.

- 101 CALVERT, J.M.; MEYER, T.J. Poly(pyridyl)ruthenium(II) complexes of poly(4-vinylpyridine). Synthesis, characterization and thin-film electrochemistry of a series of bis(bipyridine) metallopolymers. **Inorganic Chemistry**, v. 21, n. 11, p. 3978-3989, nov. 1982.
- 102 RONCAROLI, F.; RUGGIERO, M.E.; FRANCO, D.W.; ESTIÚ, G.L.; OLABE, J.A. Kinetic, Mechanistic, and DFT Study of the Electrophilic Reactions of Nitrosyl Complexes with Hydroxide. **Inorganic Chemistry**, v. 41, n. 22, p. 5760-5769, out. 2002.
- 103 SAUAIA, M.G.; SILVA, R.S. The reactivity of nitrosyl ruthenium complexes containing polypyridyl ligands. **Transition Metal Chemistry**, v. 28, n. 3, p. 254-259, abr. 2003.
- 104 CÂNDIDO, M.C.L.; OLIVEIRA, A.M.; SILVA, F.O.N.; HOLANDA, A.K.M.; PEREIRA, W.G.; SOUSA, E.H.S.; CARNEIRO, Z.A.; SILVA, R.S.; LOPES, L.G.F. Photochemical and Electrochemical Study of the Release of Nitric Oxide from [Ru(bpy)2L(NO)](PF6)_n Complexes (L = Imidazole, 1-Methylimidazole, Sulfite and Thiourea), Toward the Development of Therapeutic Photodynamic Agents. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, p. 1824-1830, set. 2015.
- 105 SILVA, F.O.N.; ARAÚJO, S.X.B.; HOLANDA, A.K.M.; MEYER, E.; SALES, F.A.M.; DIÓGENES, I.C.N.; CARVALHO, I.M.M.; MOREIRA, Í.S.; LOPES, L.G.F. Synthesis, Characterization, and NO Release Study of the cis- and trans-[Ru(Bpy)2(SO3)(NO)]⁺ Complexes. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2006, n. 10, p. 2020-2026, maio. 2006.
- 106 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, n. 4, p. 860-865, abr. 1980.
- 107 APPELT, P.; FAGUNDES, F.D.; FACCHIN, G.; GABRIELA KRAMER, M.; BACK, D.F.; CUNHA, M.A.A.; SANDRINO, B.; WOHNATH, K.; DE ARAUJO, M.P. Ruthenium (II) complexes containing 2-mercaptothiazolines as ligands and evaluation of their antimicrobial activity. **Inorganica Chimica Acta**, v. 436, p. 152-158, set. 2015.
- 108 LIMA, R.G.; SAUAIA, M.G.; BONAVENTURA, D.; TEDESCO, A.C.; VIANNA LOPEZ, R.F.; BENDHACK, L.M.; 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, n. 9, p. 2643-2650, jun. 2005.
- 109 CAMPELO, M.W.; ORIA, R.B.; LOPES, L.G.; BRITO, G.A.; SANTOS, A.A.; VASCONCELOS, R.C.; SILVA, F.O.; NOBREGA, B.N.; BENTO-SILVA, M.T.; VASCONCELOS, P.R. Preconditioning with a novel metallopharmaceutical NO donor in anesthetized rats subjected to brain ischemia/reperfusion. **Neurochem Res**, v. 37, n. 4, p. 749-758, abr. 2012.
- 110 HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 4. ed. Oxford: Oxford University Press, 2007.

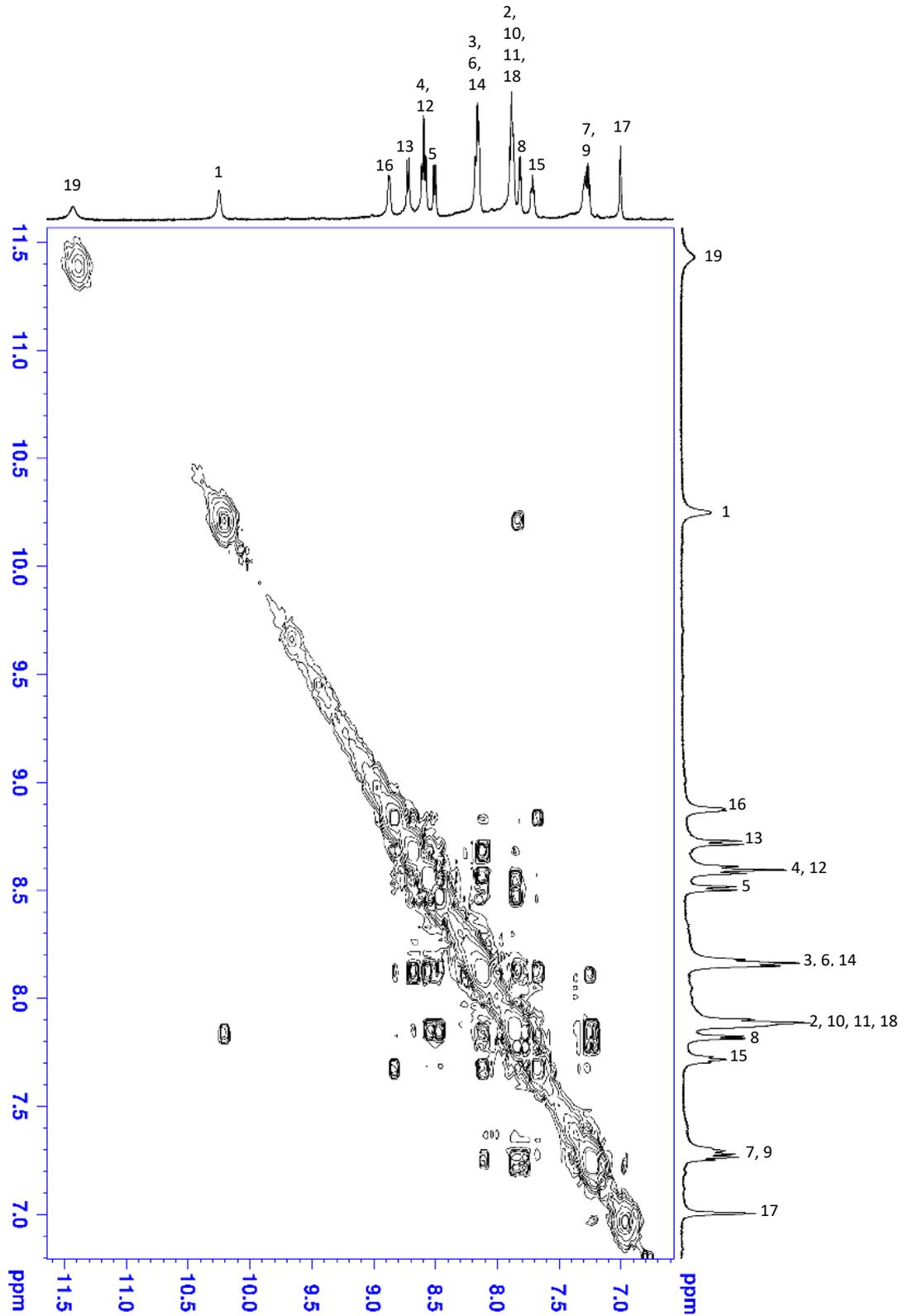
- 111 PABIS, A.; SZALA-BILNIK, J.; SWIATLA-WOJCIK, D. Molecular dynamics study of the hydration of the hydroxyl radical at body temperature. **Phys Chem Chem Phys**, v. 13, n. 20, p. 9458-9468, maio. 2011.
- 112 BAXENDALE, J.H.; RODGERS, M.A.J.; WARD, M.D. Radiolysis of aqueous solutions of ruthenium(III) hexa-ammine chloropenta-ammine. **Journal of the Chemical Society A: Inorganic, Physical, Theoretical**, p. 1246-1250, jan. 1970.
- 113 SAMUNI, U.; SAMUNI, Y.; GOLDSTEIN, S. On the distinction between nitroxyl and nitric oxide using nitronyl nitroxides. **J Am Chem Soc**, v. 132, n. 24, p. 8428-8432, jun. 2010.
- 114 ZAPATA, A.L.; KUMAR, M.R.; PERVITSKY, D.; FARMER, P.J. A singular value decomposition approach for kinetic analysis of reactions of HNO with myoglobin. **J Inorg Biochem**, v. 118, p. 171-178, jan. 2013.
- 115 POMERANTZ, D.K.; PITELKA, V. Nitric oxide is a mediator of the inhibitory effect of activated macrophages on production of androgen by the Leydig cell of the mouse. **Endocrinology**, v. 139, n. 3, p. 922-931, mar. 1998.
- 116 PAGNUSSAT, G.C.; SIMONTACCHI, M.; PUNTARULO, S.; LAMATTINA, L. Nitric oxide is required for root organogenesis. **Plant Physiol**, v. 129, n. 3, p. 954-956, jul. 2002.
- 117 XIONG, J.; LU, H.; LU, K.; DUAN, Y.; AN, L.; ZHU, C. Cadmium decreases crown root number by decreasing endogenous nitric oxide, which is indispensable for crown root primordia initiation in rice seedlings. **Planta**, v. 230, n. 4, p. 599-610, set. 2009.
- 118 SHI, J.Y.; LIU, N.; GU, R.X.; ZHU, L.Q.; ZHANG, C.; WANG, Q.G.; LEI, Z.H.; LIU, Y.Y.; REN, J.Y. Signals induced by exogenous nitric oxide and their role in controlling brown rot disease caused by *Monilinia fructicola* in postharvest peach fruit. **Journal of General Plant Pathology**, v. 81, n. 1, p. 68-76, out. 2014.
- 119 D'ALESSANDRO, S.; POSOCCO, B.; COSTA, A.; ZAHARIOU, G.; SCHIAVO, F.L.; CARBONERA, D.; ZOTTINI, M. Limits in the use of cPTIO as nitric oxide scavenger and EPR probe in plant cells and seedlings. **Front Plant Sci**, v. 4, p. 340, ago. 2013.
- 120 GOLDSTEIN, S.; RUSSO, A.; SAMUNI, A. Reactions of PTIO and carboxy-PTIO with *NO, *NO₂, and O₂-. **J Biol Chem**, v. 278, n. 51, p. 50949-50955, dez. 2003.
- 121 BAZYLINSKI, D.A.; HOLLOCHER, T.C. Metmyoglobin and methemoglobin as efficient traps for nitrosyl hydride (nitroxyl) in neutral aqueous solution. **Journal of the American Chemical Society**, v. 107, n. 26, p. 7982-7986, dez. 1985.
- 122 HOSHINO, M.; MAEDA, M.; KONISHI, R.; SEKI, H.; FORD, P.C. Studies on the Reaction Mechanism for Reductive Nitrosylation of Ferrihemoproteins in Buffer Solutions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 118, n. 24, p. 5702-5707, jun. 1996.
- 123 SILVA, F.O.; CANDIDO, M.C.; HOLANDA, A.K.; DIOGENES, I.C.; SOUSA, E.H.; LOPES, L.G. Mechanism and biological implications of the NO release of cis-[Ru(bpy)₂L(NO)](n+) complexes: a key role of physiological thiols. **J Inorg Biochem**, v. 105, n. 5, p. 624-629, maio. 2011.

- 124 SILVA SOUSA, E.H.; RIDNOUR, L.A.; GOUVEIA JR, F.S.; SILVA DA SILVA, C.D.; WINK, D.A.; DE FRANCA LOPES, L.G.; SADLER, P.J. Thiol-Activated HNO Release from a Ruthenium Antiangiogenesis Complex and HIF-1 α Inhibition for Cancer Therapy. **ACS Chem Biol**, v. 11, n. 7, p. 2057-2065, jul. 2016.
- 125 KITCHEN, D.B.; DECORNEZ, H.; FURR, J.R.; BAJORATH, J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. **Nat Rev Drug Discov**, v. 3, n. 11, p. 935-949, nov. 2004.
- 126 YURIEV, E.; RAMSLAND, P.A. Latest developments in molecular docking: 2010-2011 in review. **J Mol Recognit**, v. 26, n. 5, p. 215-239, maio. 2013.
- 127 MA, D.-L.; CHAN, D.S.-H.; LEUNG, C.-H. Molecular docking for virtual screening of natural product databases. **Chem. Sci.**, v. 2, n. 9, p. 1656-1665, jun. 2011.
- 128 CHEN, Y.; SHOICHET, B.K. Molecular docking and ligand specificity in fragment-based inhibitor discovery. **Nat Chem Biol**, v. 5, n. 5, p. 358-364, maio. 2009.
- 129 USHAIAH, B.; LEELA, D.S.; RAVI, M.; ANUPAMA, B.; PERUGU, S.; KUMARI, C.G. Synthesis, characterization, antibacterial, DNA binding and cleavage studies of mixed ligand Cu(II), Co(II) complexes. **J Fluoresc**, v. 24, n. 6, p. 1687-1699, nov. 2014.
- 130 KORCZYNSKA, M.; LE, D.D.; YOUNGER, N.; GREGORI-PUIGJANE, E.; TUMBER, A.; KROJER, T.; VELUPILLAI, S.; GILEADI, C.; NOWAK, R.P.; IWASA, E.; POLLOCK, S.B.; ORTIZ TORRES, I.; OPPERMAN, U.; SHOICHET, B.K.; FUJIMORI, D.G. Docking and Linking of Fragments To Discover Jumonji Histone Demethylase Inhibitors. **J Med Chem**, v. 59, n. 4, p. 1580-1598, fev. 2016.
- 131 SHARMA, V.; SHARMA, P.C.; KUMAR, V. In Silico Molecular Docking Analysis of Natural Pyridoacridines as Anticancer Agents. **Advances in Chemistry**, v. 2016, p. 1-9, nov. 2016.
- 132 GUPTA, R.K.; SHARMA, G.; PANDEY, R.; KUMAR, A.; KOCH, B.; LI, P.Z.; XU, Q.; PANDEY, D.S. DNA/protein binding, molecular docking, and in vitro anticancer activity of some thioether-dipyrinato complexes. **Inorg Chem**, v. 52, n. 24, p. 13984-13996, dez. 2013.
- 133 NAYAB, P.S.; PULAGANTI, M.; CHITTA, S.K.; ABID, M.; UDDIN, R. Evaluation of DNA Binding, Radicals Scavenging and Antimicrobial Studies of Newly Synthesized N-Substituted Naphthalimides: Spectroscopic and Molecular Docking Investigations. **J Fluoresc**, v. 25, n. 6, p. 1905-1920, nov. 2015.
- 134 HOTTINGER, D.G.; BEEBE, D.S.; KOZHIMANNIL, T.; PRIELIPP, R.C.; BELANI, K.G. Sodium nitroprusside in 2014: A clinical concepts review. **J Anaesthesiol Clin Pharmacol**, v. 30, n. 4, p. 462-471, out. 2014.
- 135 GROSSI, L.; D'ANGELO, S. Sodium nitroprusside: mechanism of NO release mediated by sulfhydryl-containing molecules. **J Med Chem**, v. 48, n. 7, p. 2622-2626, abr. 2005.
- 136 SANI, M.; SEBAI, H.; REFINETTI, R.; MONDAL, M.; GHANEM-BOUGHANMI, N.; BOUGHATTAS, N.A.; BEN-ATTIA, M. Dosing-time dependent effects of sodium nitroprusside on cerebral, renal, and hepatic catalase activity in mice. **J Drug Deliv**, v. 2015, p. 790480, fev. 2015.

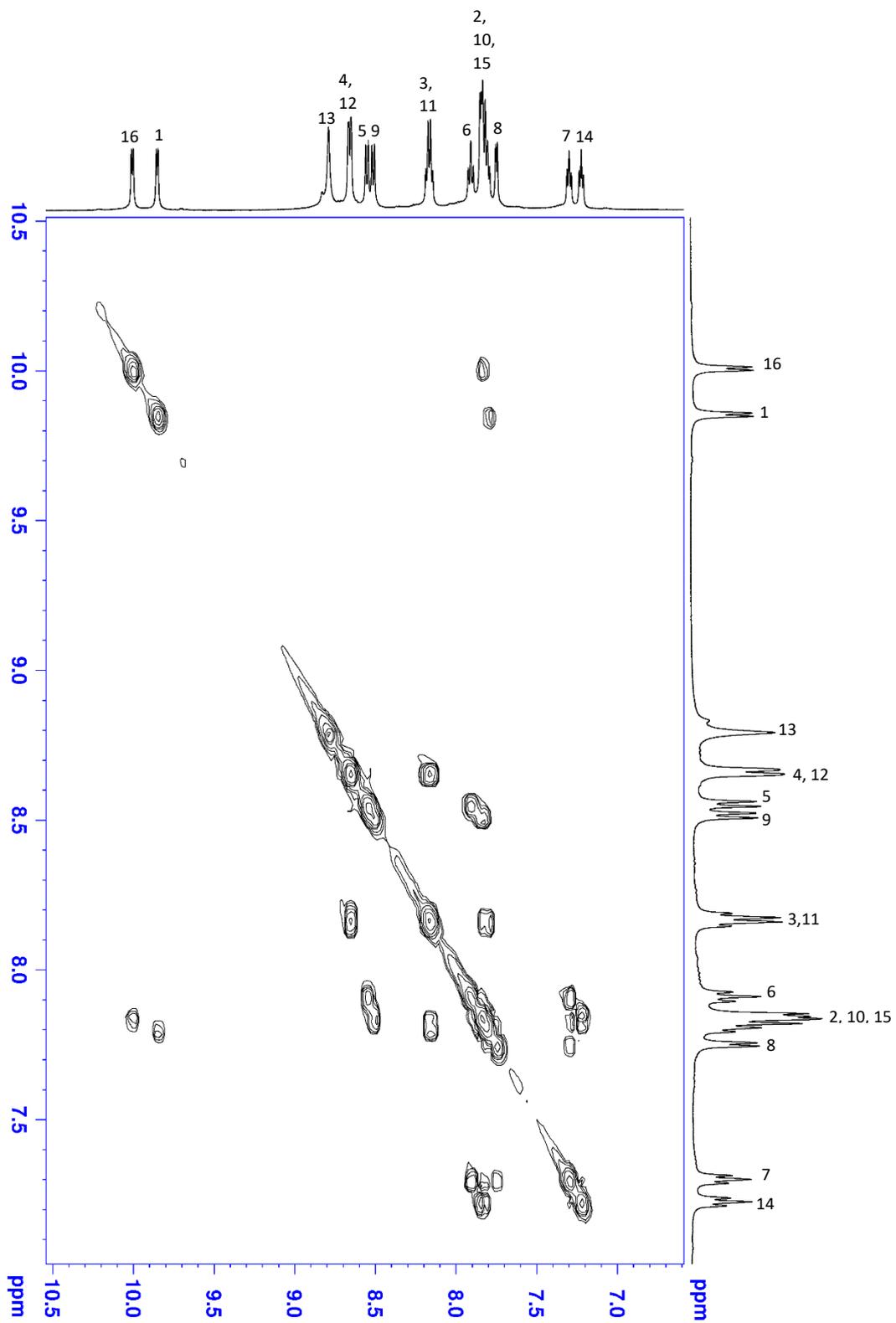
APÊNDICE A – ATRIBUIÇÕES E VALORES DE COEFICIENTE DE ABSORTIVIDADE MOLAR PARA OS COMPLEXOS SINTETIZADOS, EM ACETONITRILA

Complexo	λ (nm)	ϵ (mol ⁻¹ L cm ⁻¹)	Atribuição
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)Cl] ⁺	242	2,36 x 10 ⁴	IL ($\pi \rightarrow \pi^*(bpy)$)
	295	4,65 x 10 ⁴	LLCT ($\pi Cl^- \rightarrow \pi^*(bpy)$)
	357	7,48 x 10 ³	MLCT ($d\pi Ru \rightarrow \pi^*(bpy)$)
	521	7,38 x 10 ³	MLCT ($d\pi Ru \rightarrow \pi^*(bpy)$)
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)Cl] ⁺	245	2,51 x 10 ⁴	IL ($\pi \rightarrow \pi^*(bpy)$)
	295	5,46 x 10 ⁴	IL ($\pi \rightarrow \pi^*(bpy)$)
	353	8,19 x 10 ³	MLCT ($d\pi Ru \rightarrow \pi^*(bpy)$)
	505	7,57 x 10 ³	MLCT ($d\pi Ru \rightarrow \pi^*(bpy)$)
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM) ₂] ²⁺	243	2,34 x 10 ⁴	IL ($\pi \rightarrow \pi^*(bpy)$)
	293	6,05 x 10 ⁴	IL ($\pi \rightarrow \pi^*(bpy)$)
	341	7,92 x 10 ³	MLCT ($d\pi Ru \rightarrow \pi^*(bpy)$)
	493	9,23 x 10 ³	MLCT ($d\pi Ru \rightarrow \pi^*(bpy)$)
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO ₂)] ⁺	242	1,96 x 10 ⁴	IL ($\pi \rightarrow \pi^*(bpy)$)
	292	4,32 x 10 ⁴	IL ($\pi \rightarrow \pi^*(bpy)$)
	338	7,06 x 10 ³	MLCT ($d\pi Ru \rightarrow \pi^*(bpy)$)
	477	6,19 x 10 ³	MLCT ($d\pi Ru \rightarrow \pi^*(bpy)$)
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (2-MIM)(NO)] ³⁺	299	2,07 x 10 ⁴	IL ($\pi \rightarrow \pi^*(bpy)$)
	331	9,66 x 10 ³	LLCT ($\pi(bpy) \rightarrow \pi^*(NO^+)$)
<i>cis</i> -[Ru(bpy) ₂ (ETU)(NO)] ³⁺	297	1,92 x 10 ⁴	IL ($\pi \rightarrow \pi^*(bpy)$)
	331	9,98 x 10 ³	LLCT ($\pi(bpy) \rightarrow \pi^*(NO^+)$)

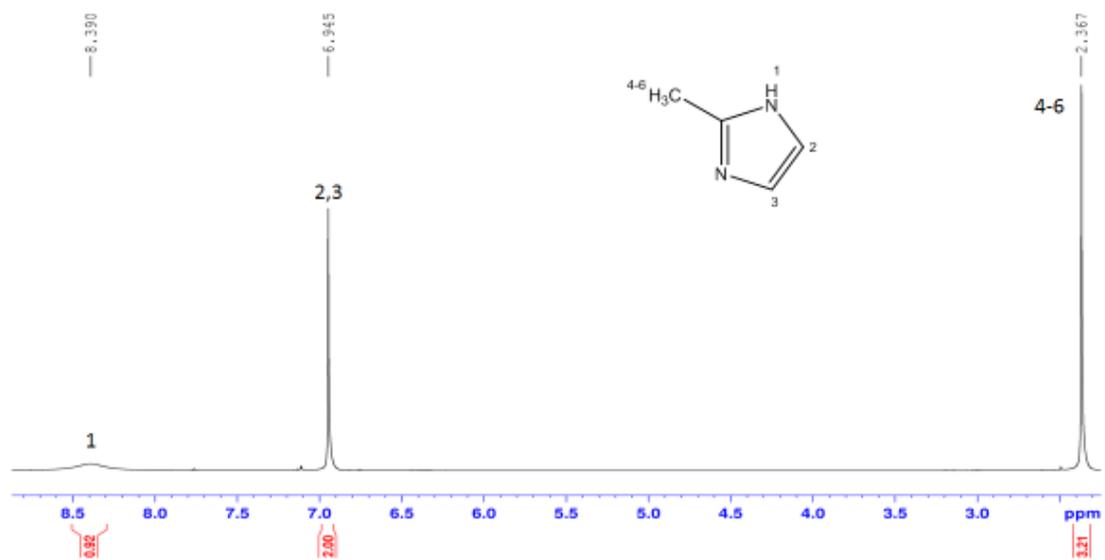
APÊNDICE B – ESPECTRO BIDIMENSIONAL COSY PARA O COMPLEXO *cis*-
[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl](PF₆) EM ACETONA *d*₆



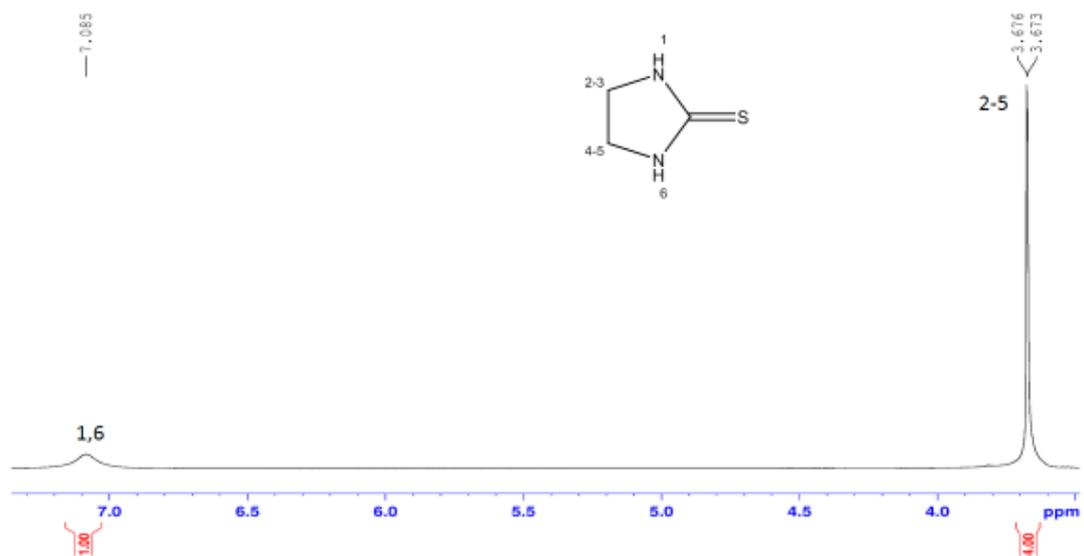
APÊNDICE C – ESPECTRO BIDIMENSIONAL COSY PARA O COMPLEXO *cis*-
[Ru(bpy)₂(ETU)Cl](PF₆) EM ACETONA *d*₆



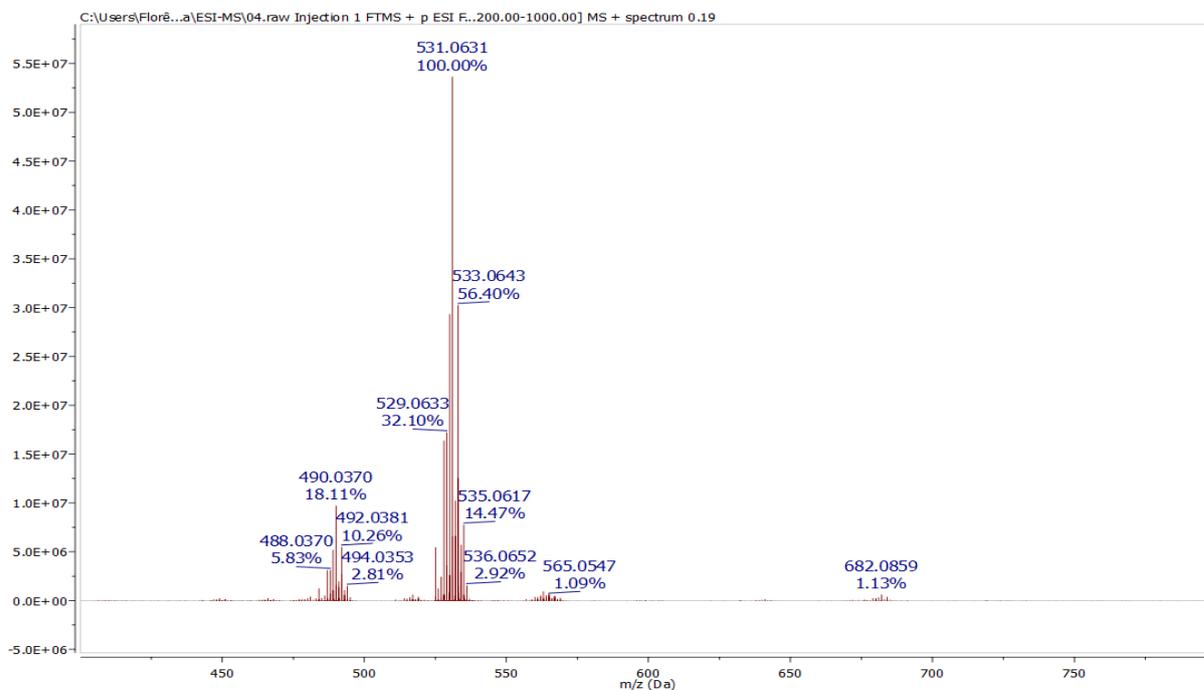
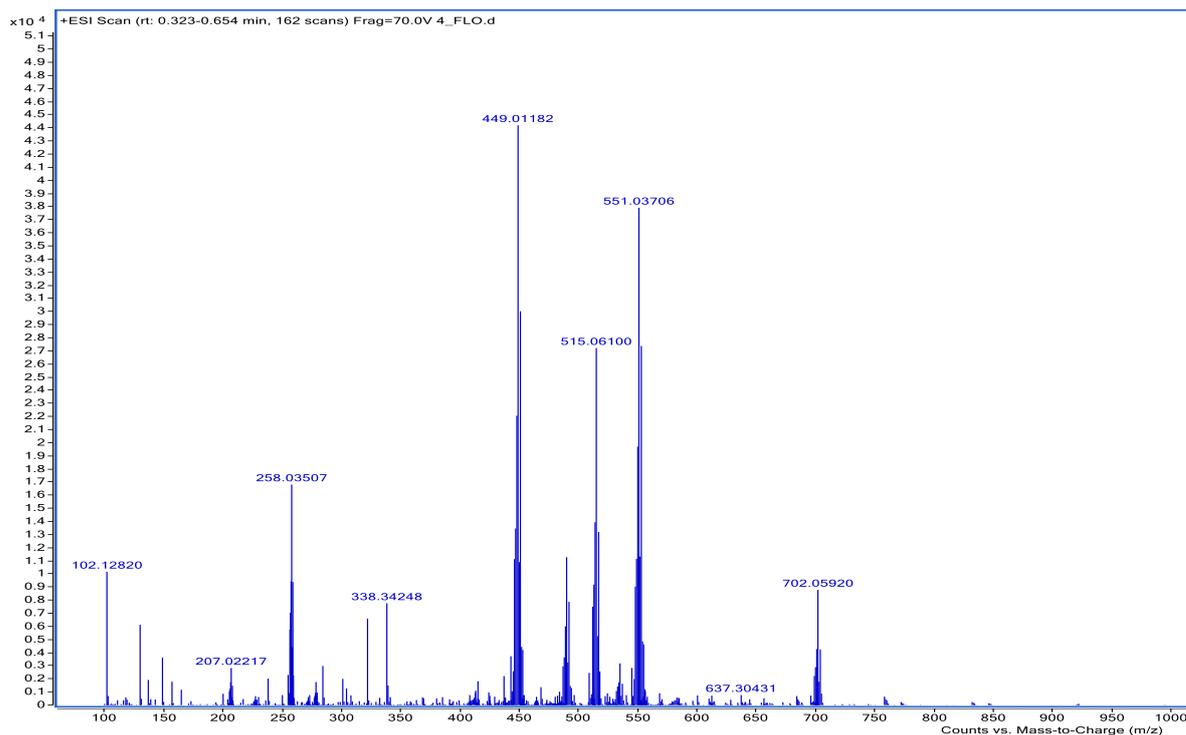
APÊNDICE D – ESPECTRO DE RMN ^1H DO LIGANTE 2-METILIMIDAZOL EM ACETONA d_6

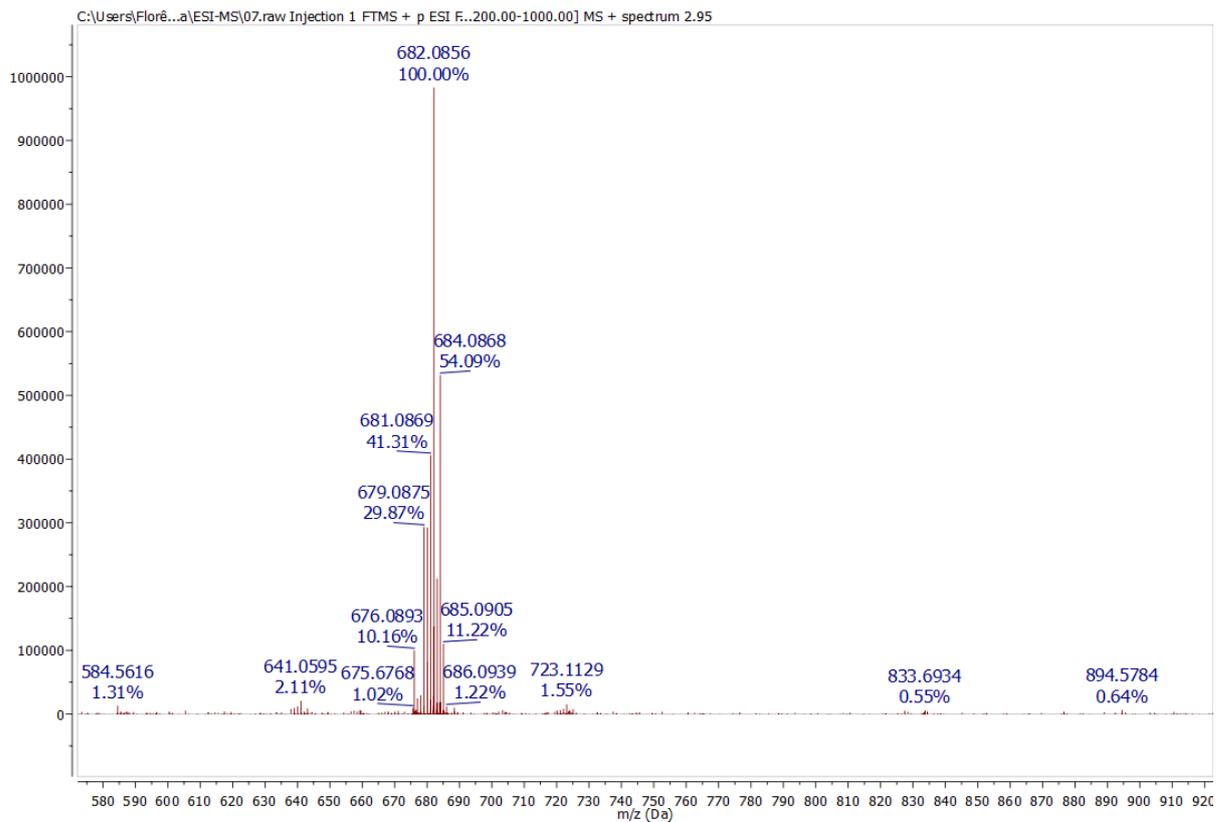
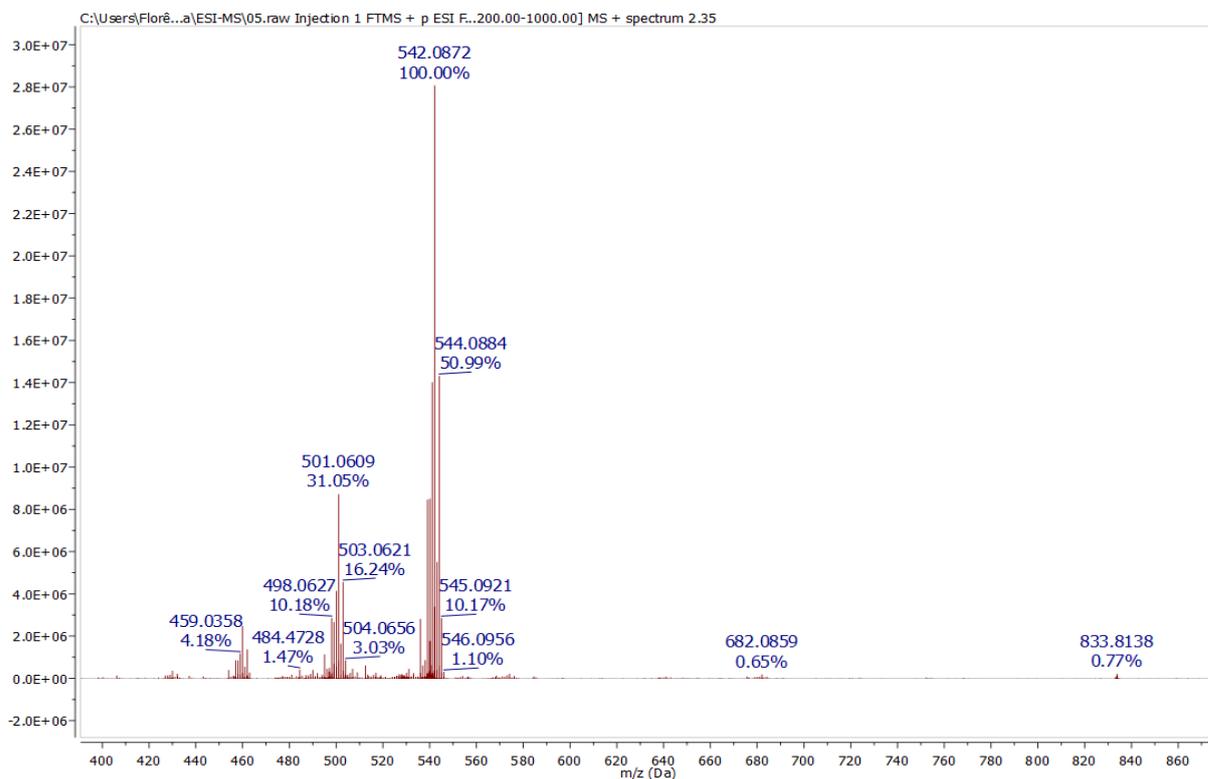


APÊNDICE E – ESPECTRO DE RMN ^1H DO LIGANTE ETILENOTIOUREIA EM ACETONA d_6

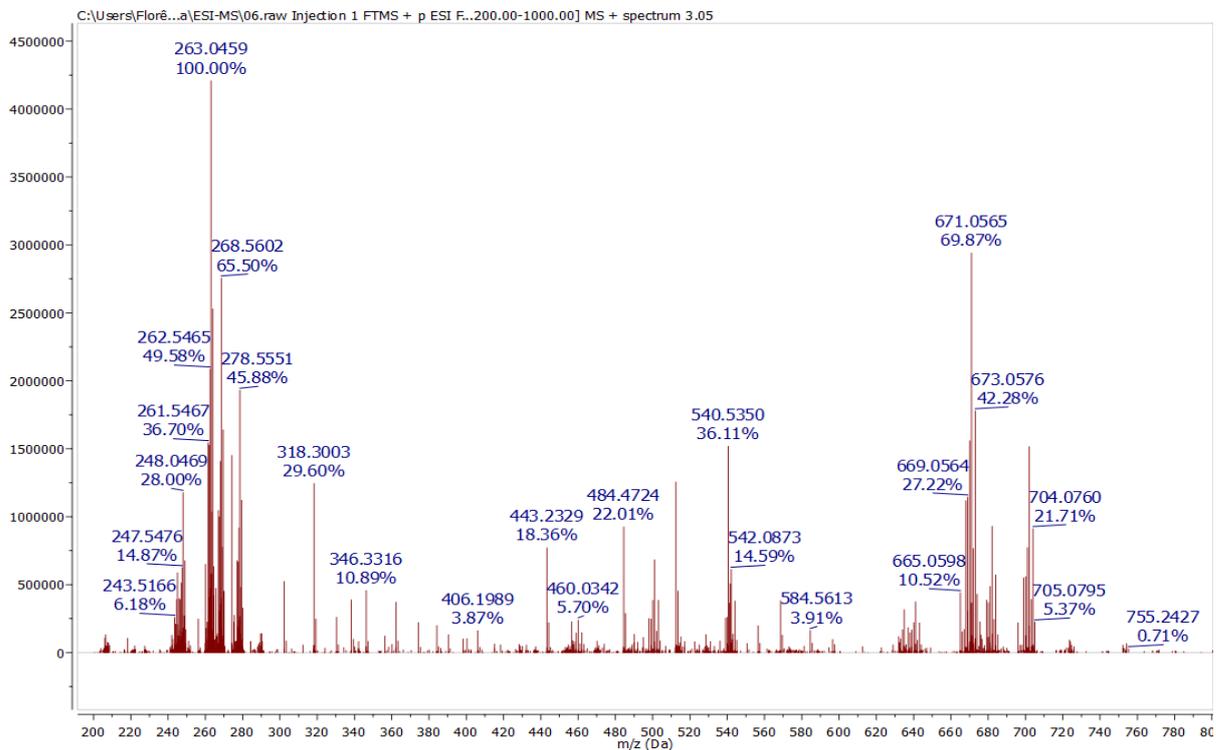


APÊNDICE F – ESPECTROS DE HRESI-MS PARA OS COMPOSTOS OBTIDOS

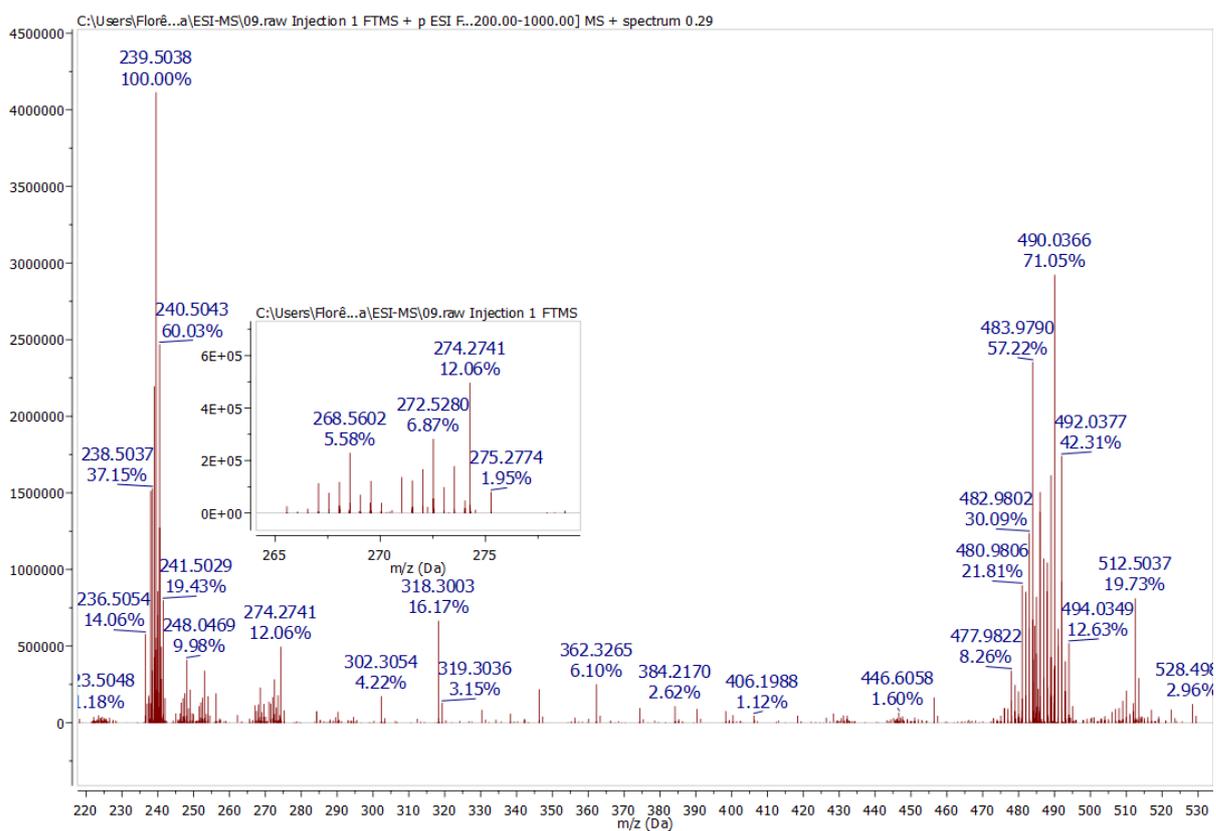
cis-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺*cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺

cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂]²⁺**cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)]⁺**

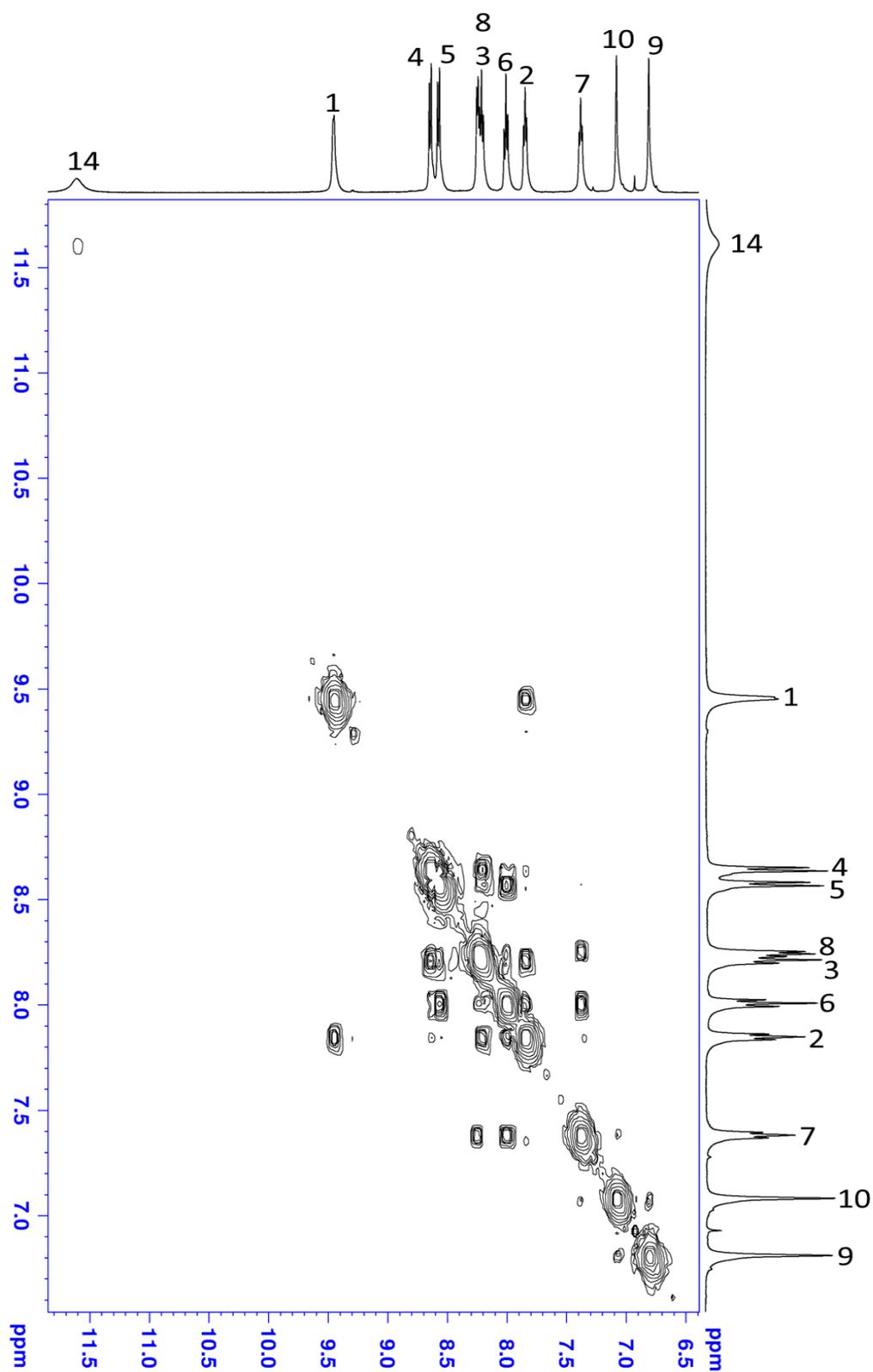
cis-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺



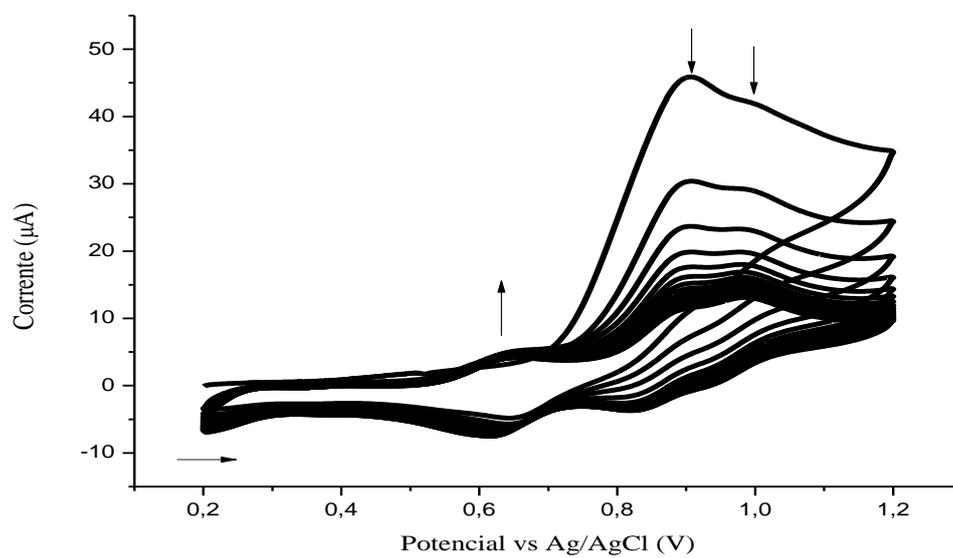
cis-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺



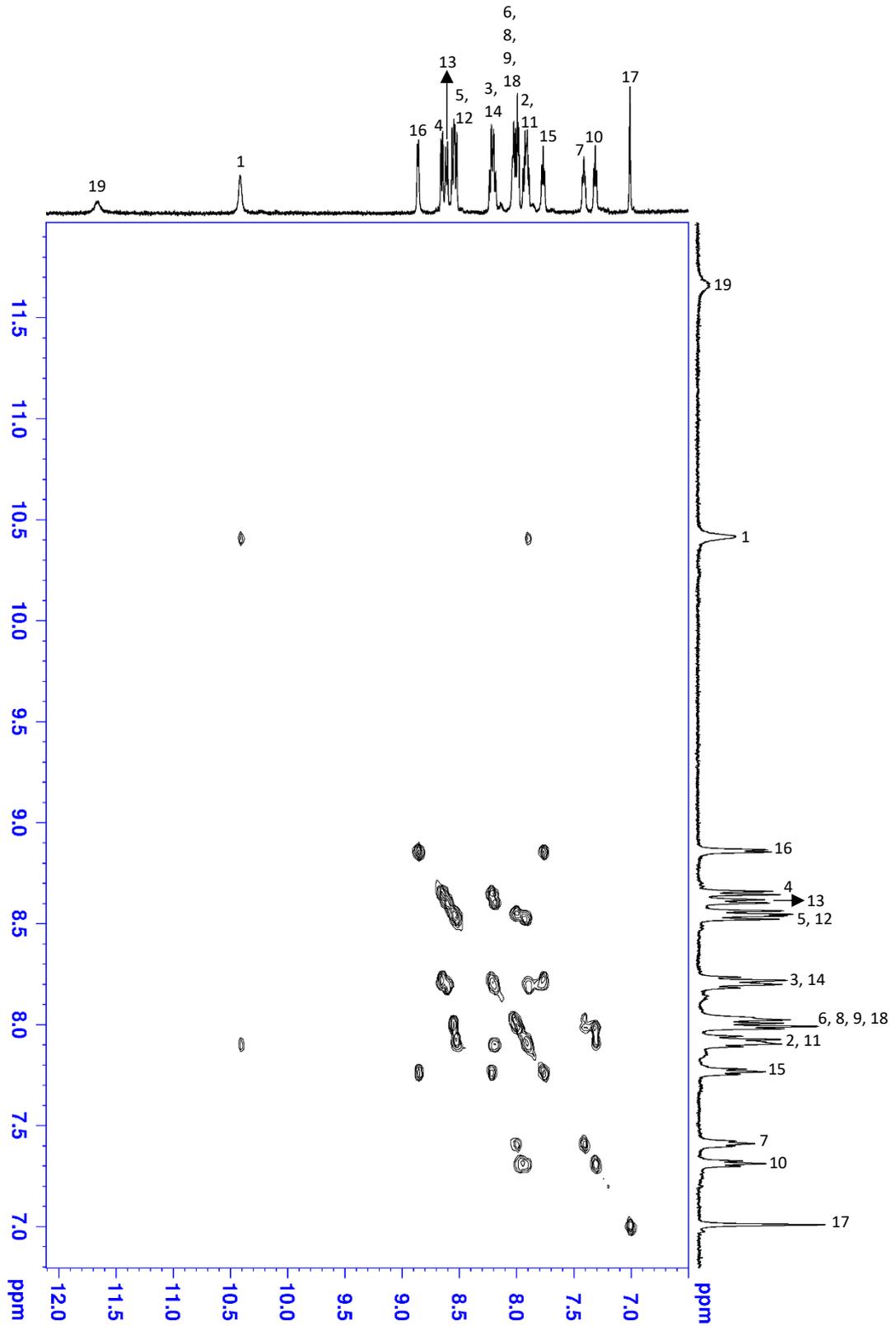
APÊNDICE G – ESPECTRO BIDIMENSIONAL COSY PARA O COMPLEXO *cis*-
[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂](PF₆) EM ACETONA *d*₆



APÊNDICE H – VOLTAMOGRAMA CÍCLICO (32 CICLOS) PARA O ÍON COMPLEXO *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)]⁺ EM NaTFA 0,1 MOL L⁻¹ pH=3,0. V=100 mV s⁻¹



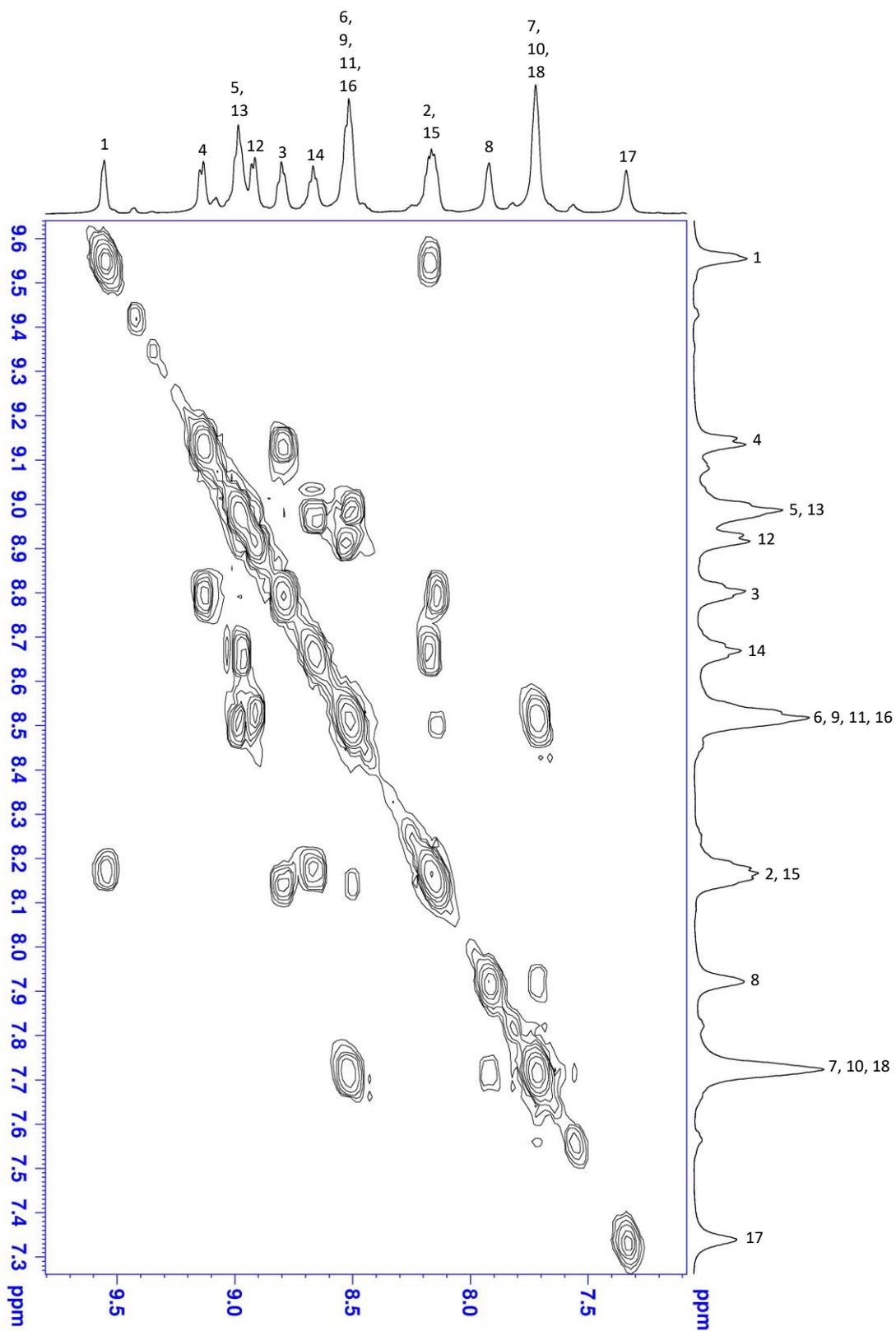
APÊNDICE I – ESPECTRO BIDIMENSIONAL COSY PARA O COMPLEXO *cis*-
[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)](PF₆) EM ACETONA *d*₆



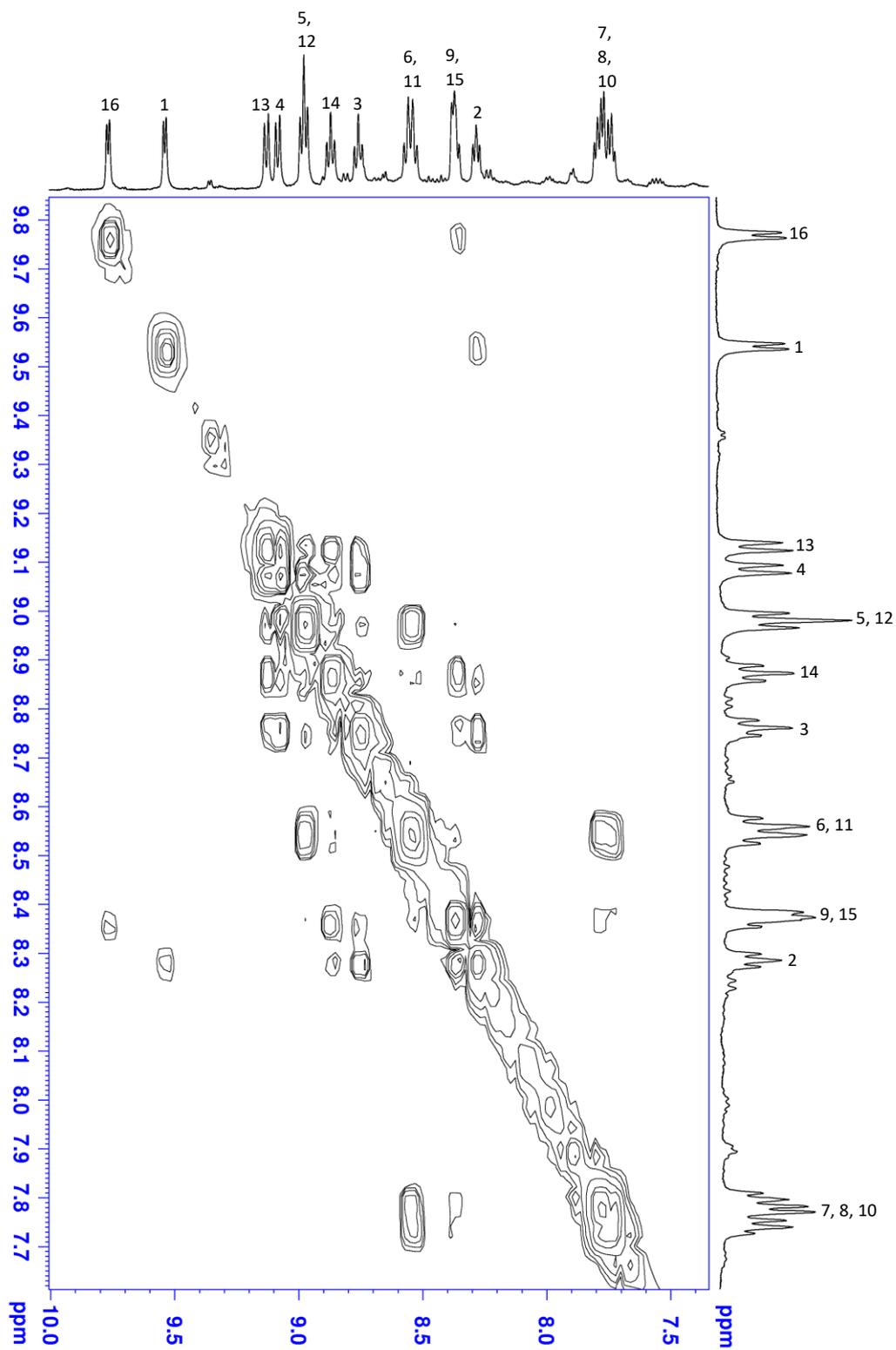
**APÊNDICE J – ATRIBUIÇÕES DOS ESPECTROS DE RMN ¹H DO COMPLEXO *cis*-
[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)⁺**

Sinal	Deslocamento químico (ppm)
1	10,41
2	7,92
3	7,42
4	8,65
5	8,54
6	8,01
7	7,41
8	8,01
9	8,01
10	7,32
11	7,92
12	8,54
13	8,61
14	7,42
15	7,77
16	8,86
17	7,01
18	8,01
19	11,66
20	1,12
21	1,12
22	1,12

APÊNDICE K – ESPECTRO BIDIMENSIONAL COSY PARA O COMPLEXO *cis*-
[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)](PF₆)₃ EM DMSO *d*₆

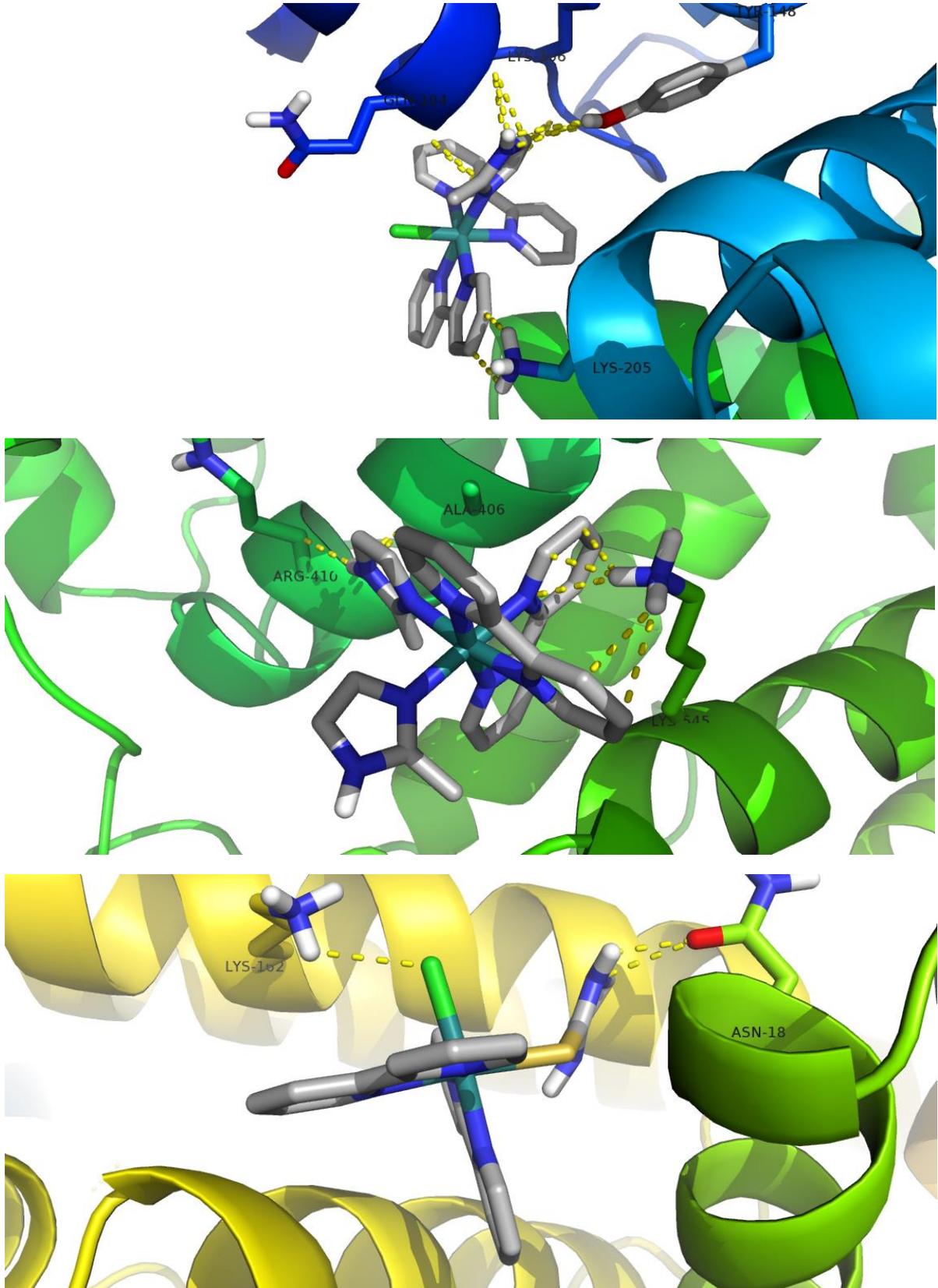


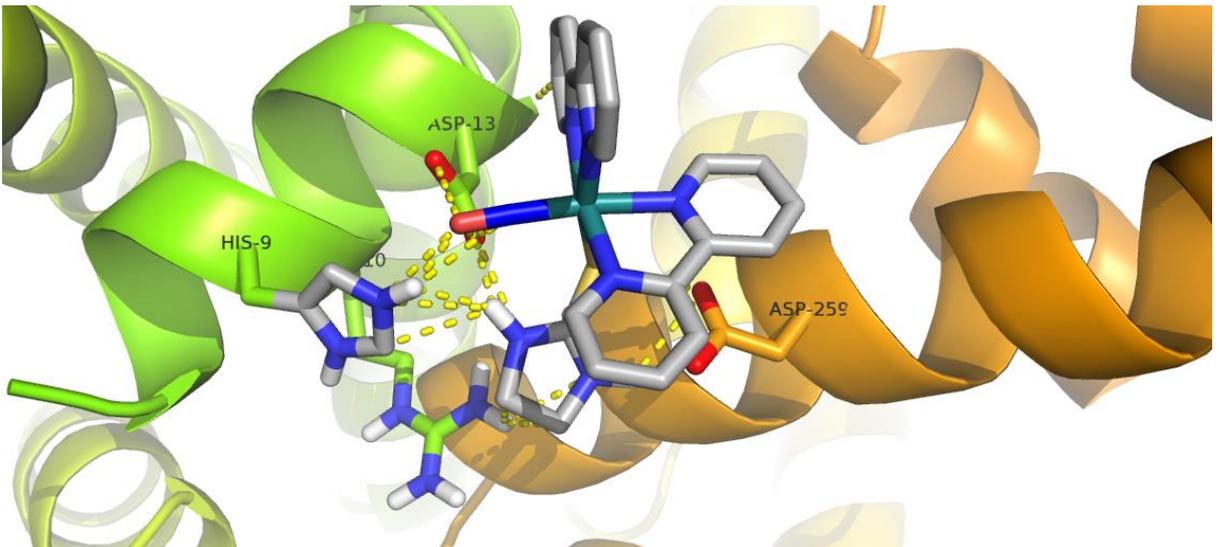
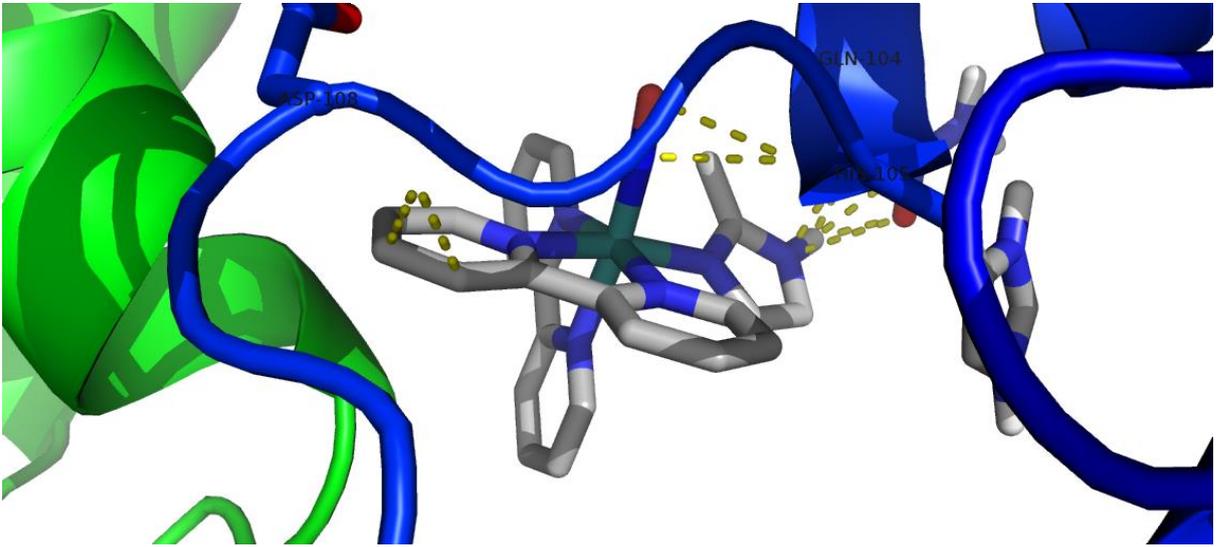
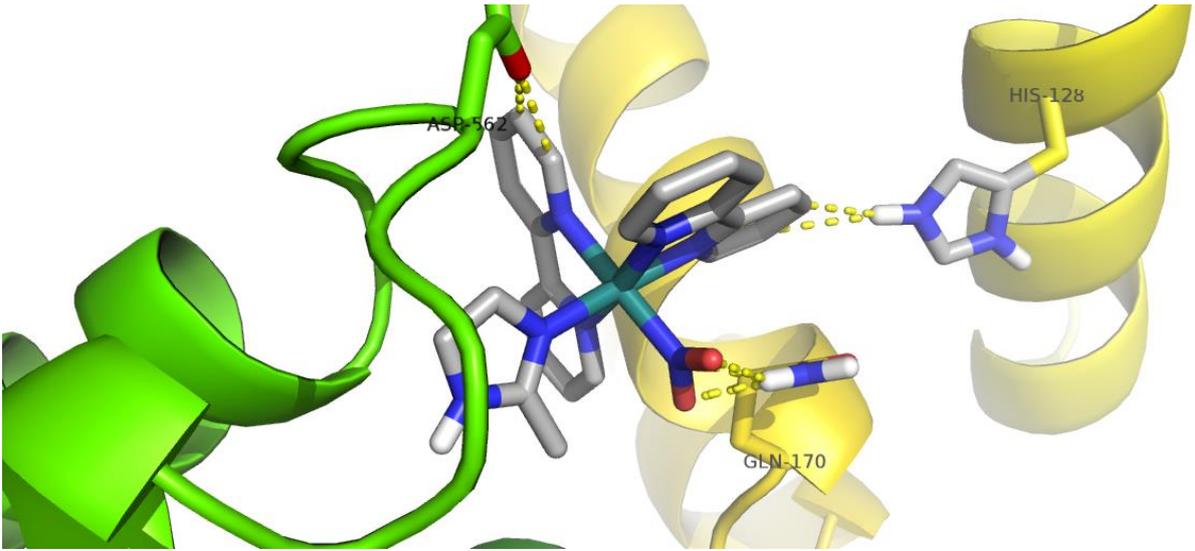
APÊNDICE L – ESPECTRO BIDIMENSIONAL COSY PARA O COMPLEXO *cis*-
[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)](PF₆)₃ EM ACETONA *d*₆



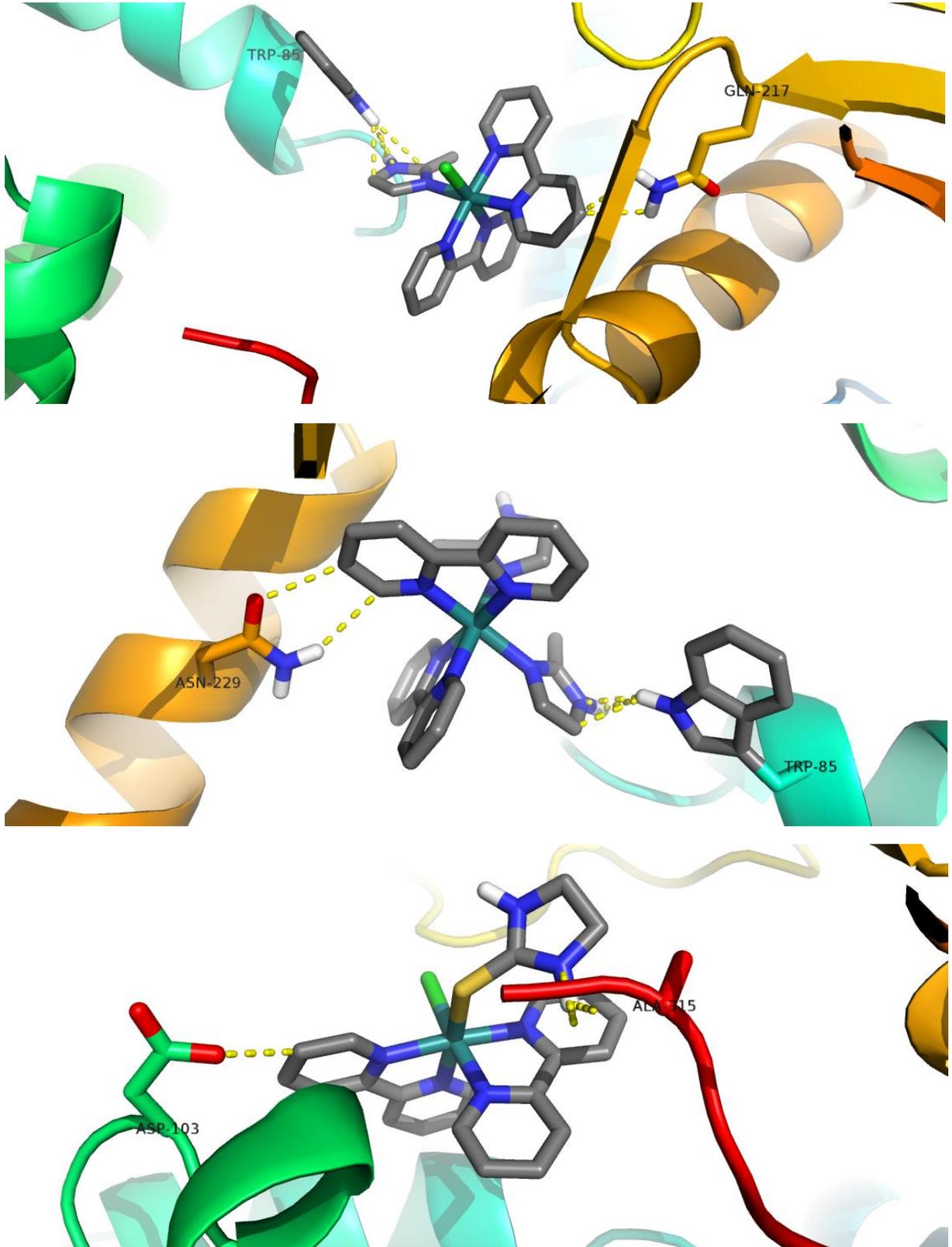
**APÊNDICE M – RESULTADOS DOS CÁLCULOS DE DOCKING MOLECULAR
PARA OS COMPLEXOS FOR0011A, FOR0011AA, FOR0011B, FOR0711A,
FOR0811A E FOR0811B**

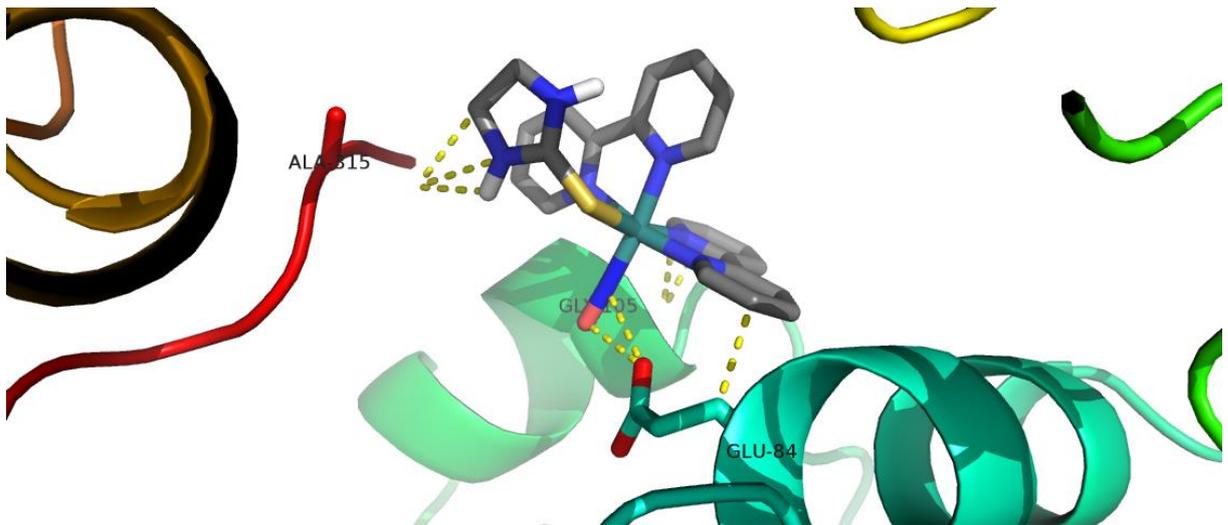
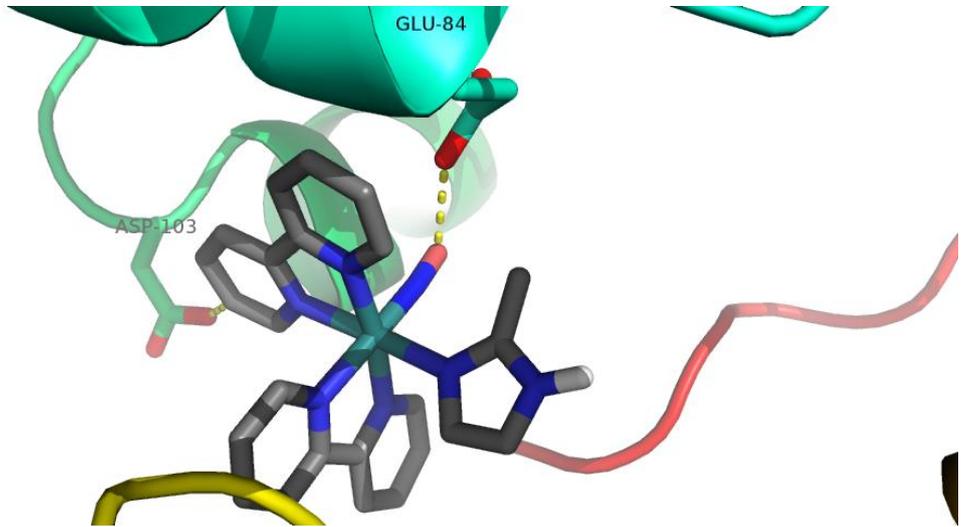
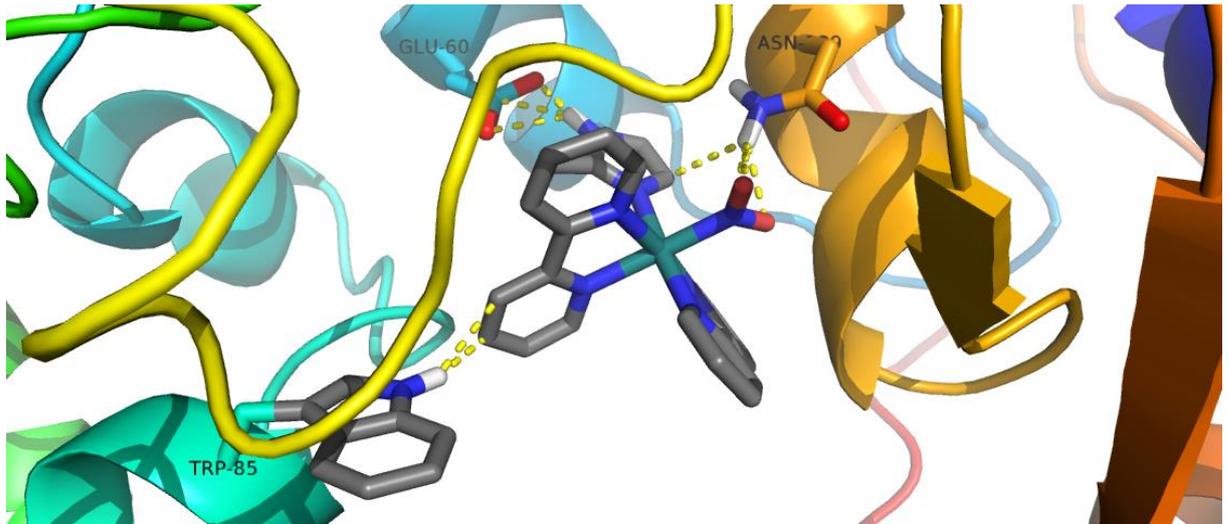
Albumina Recombinante Humana (rHA)



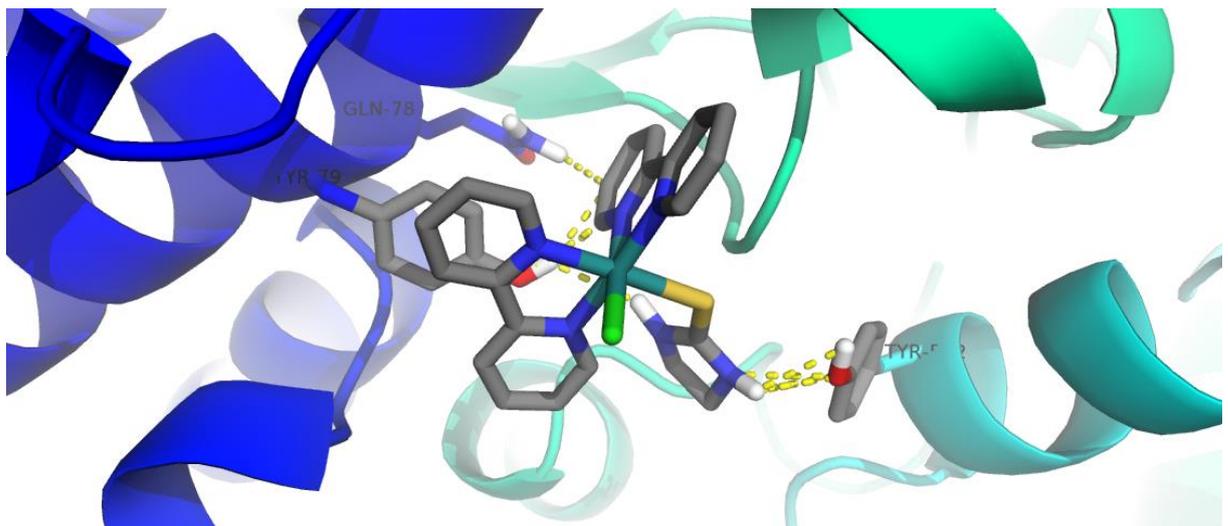
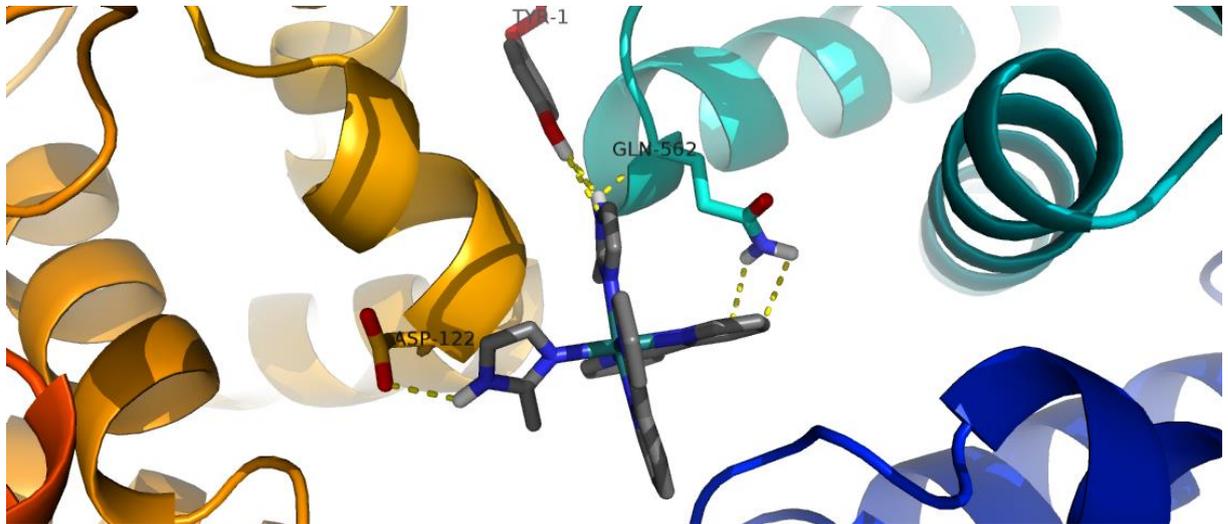
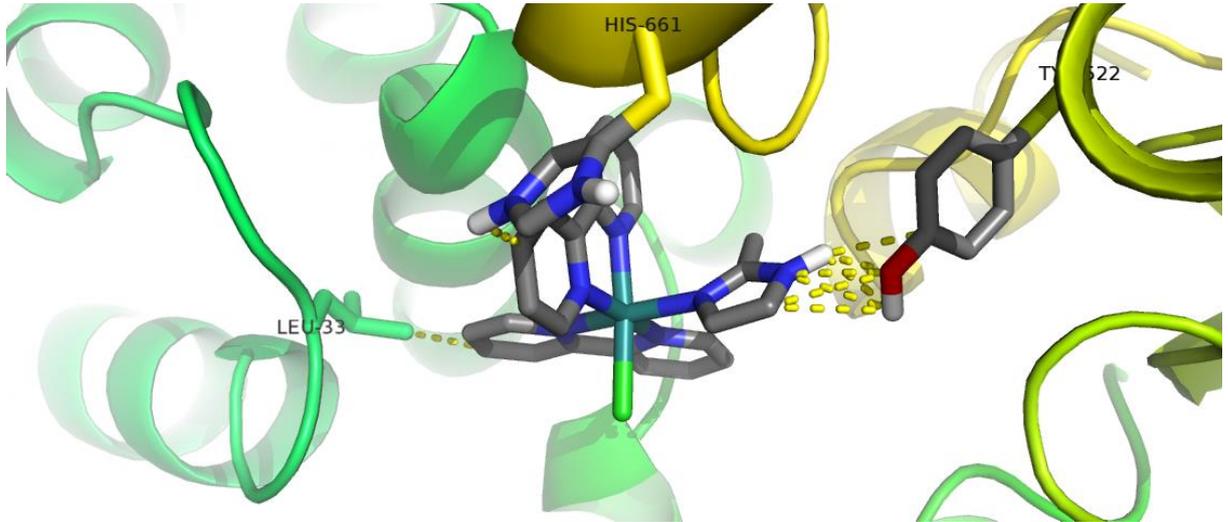


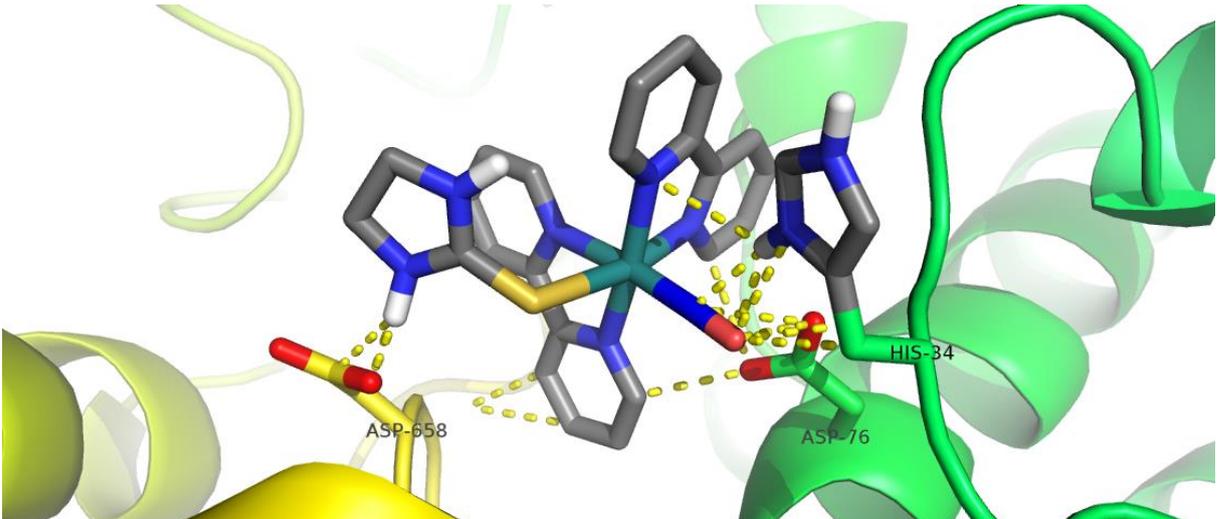
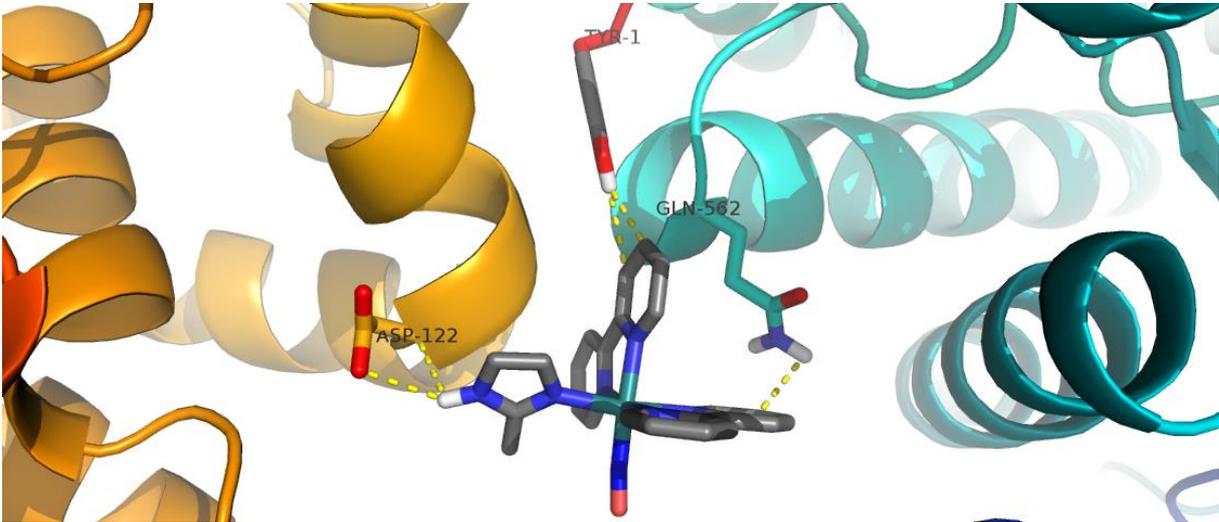
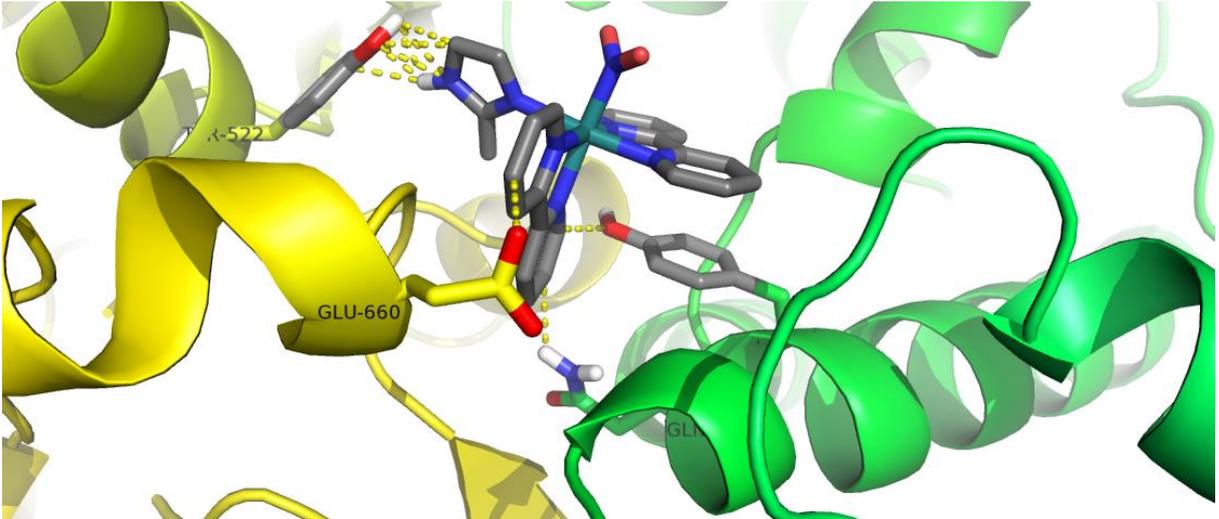
Timidilato Sintetase (TS)



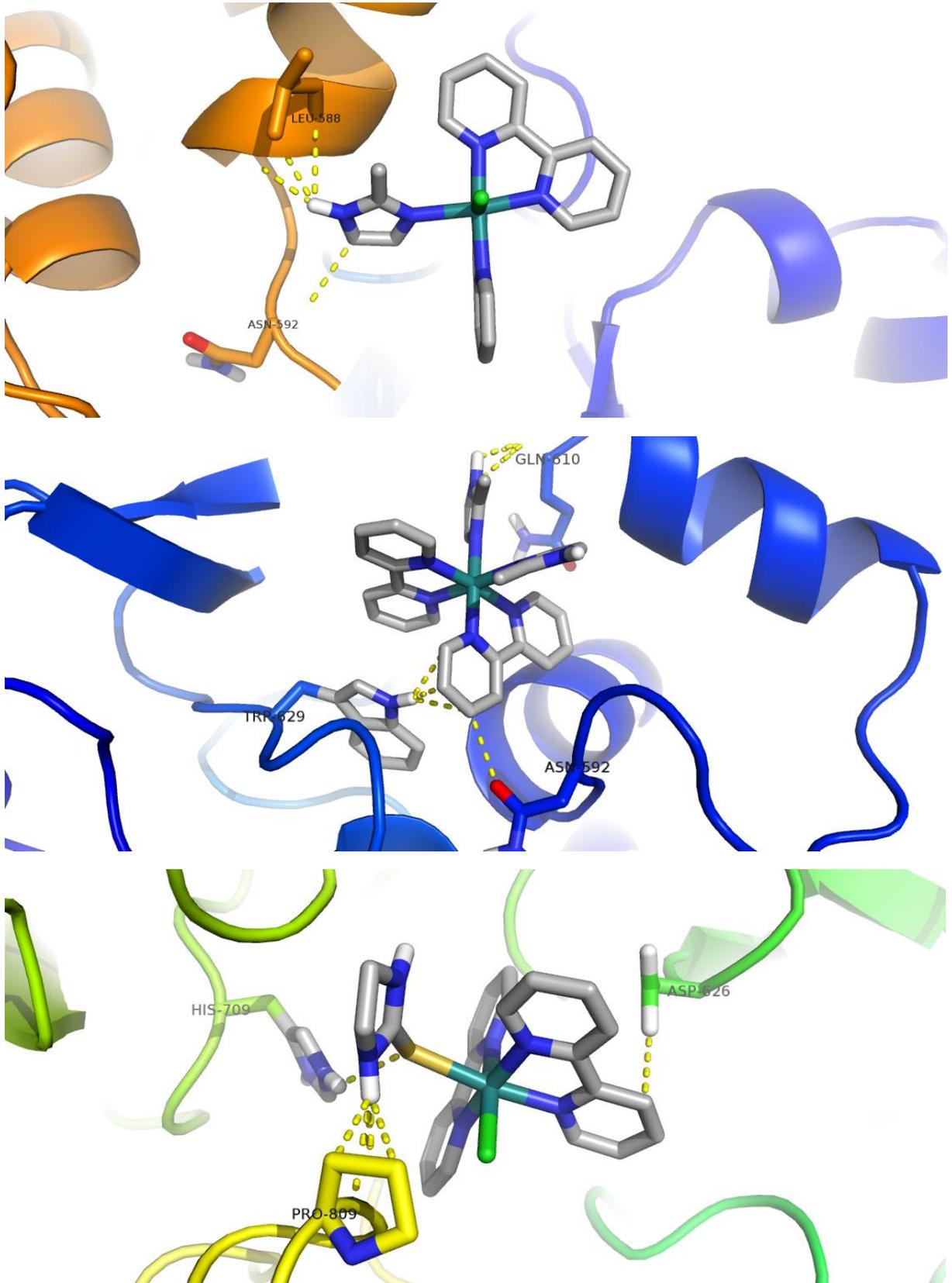


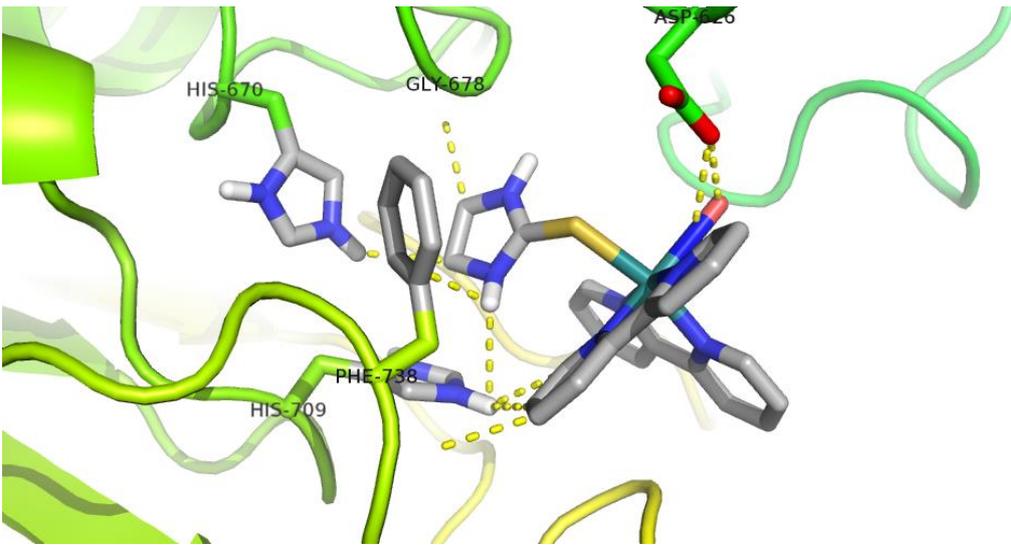
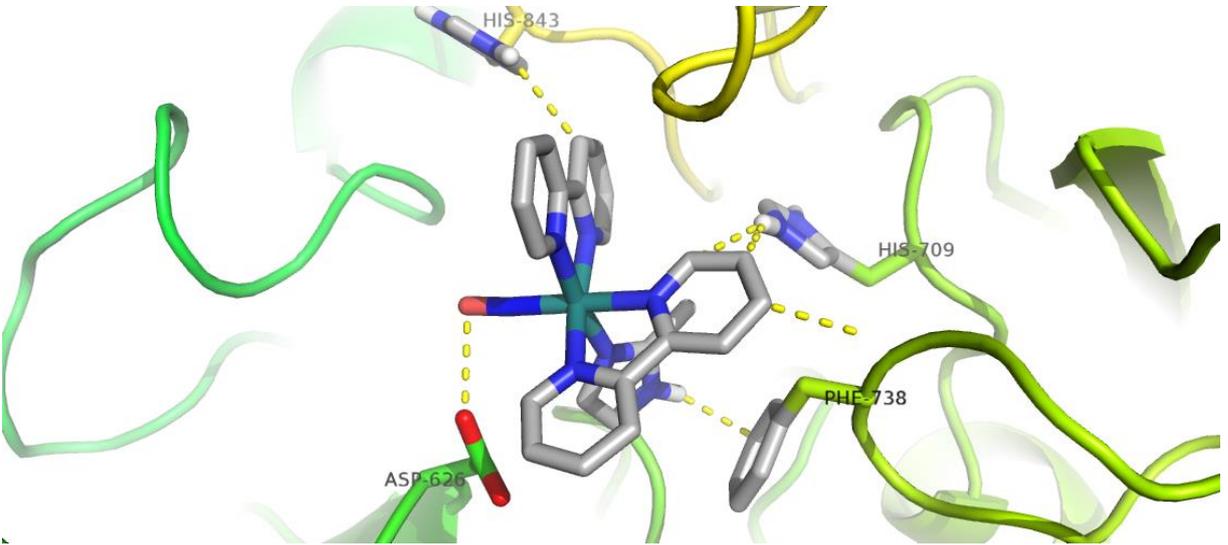
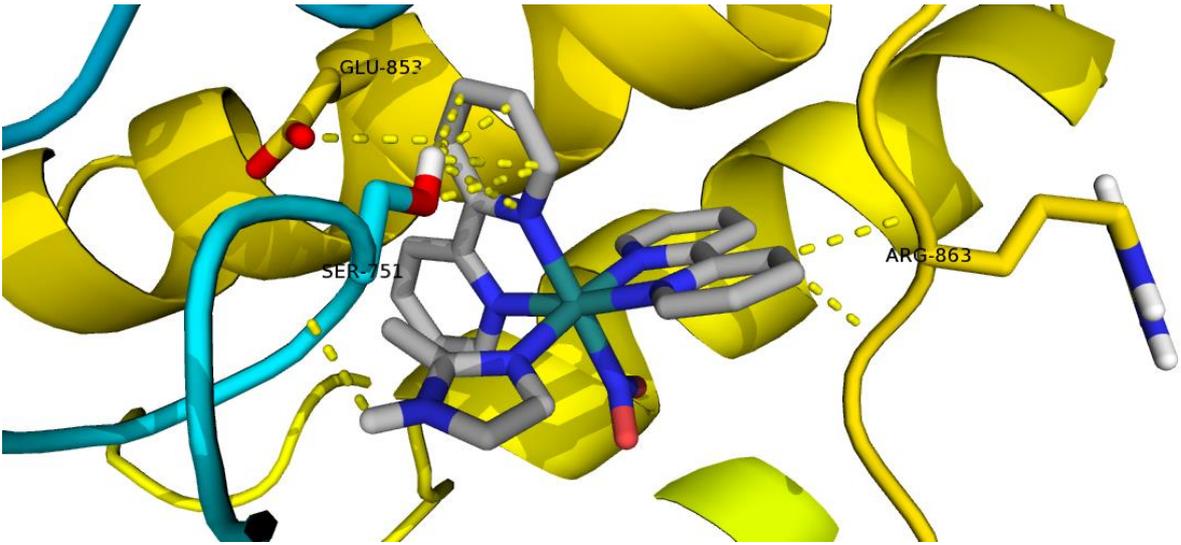
Ribonucleotídeo Redutase (RNR)



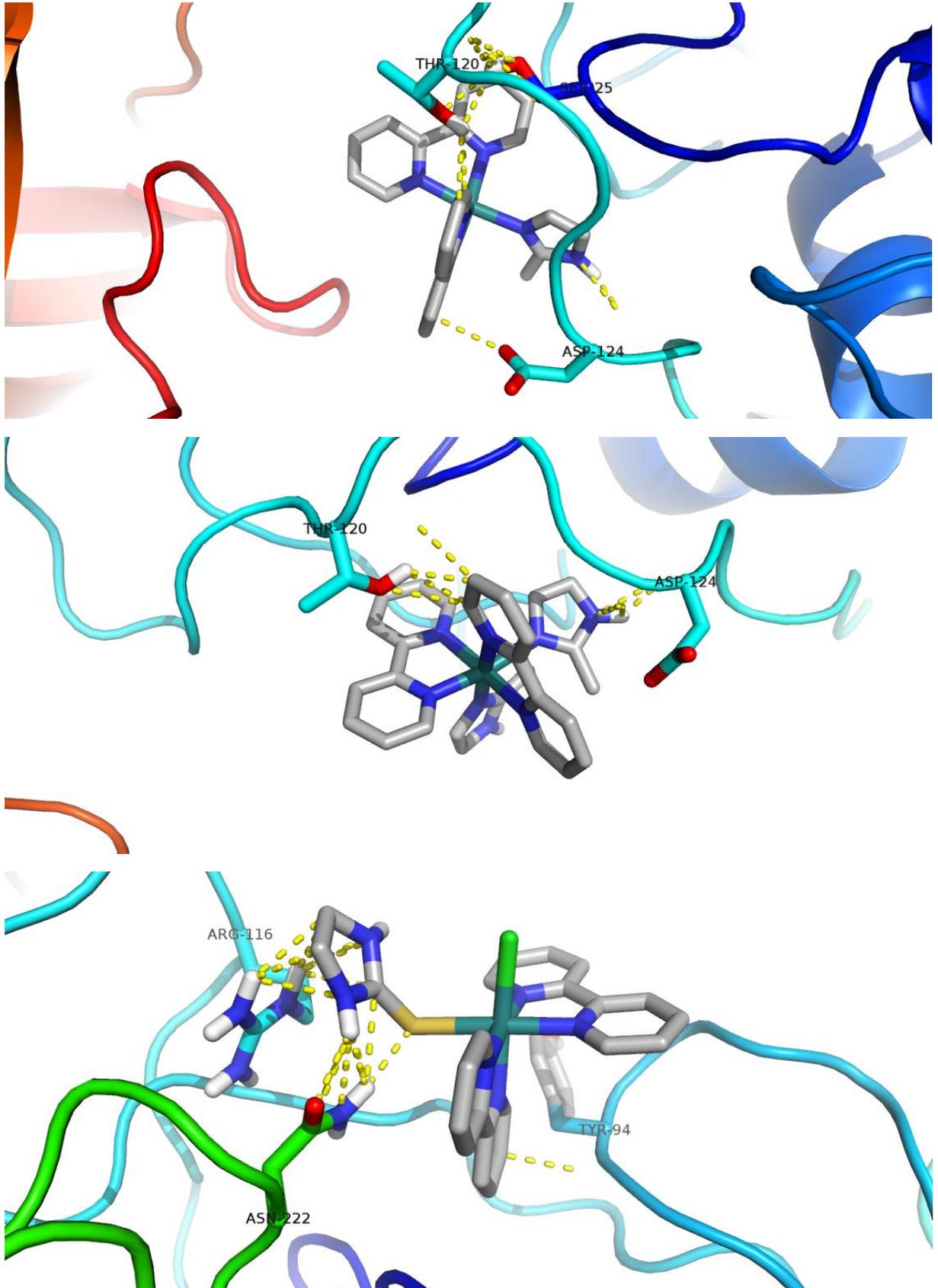


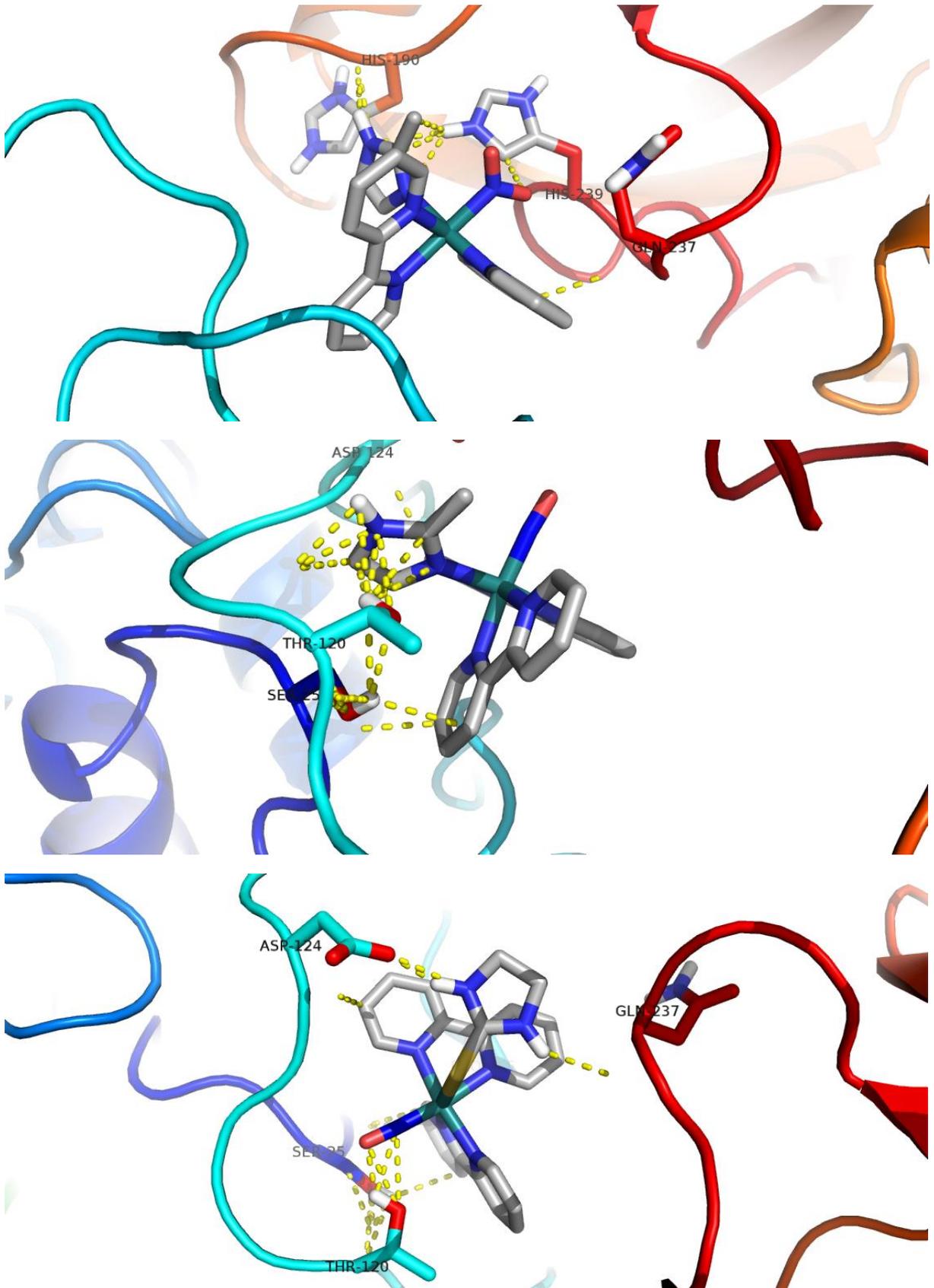
Histone Deacetylase (HDAC7)



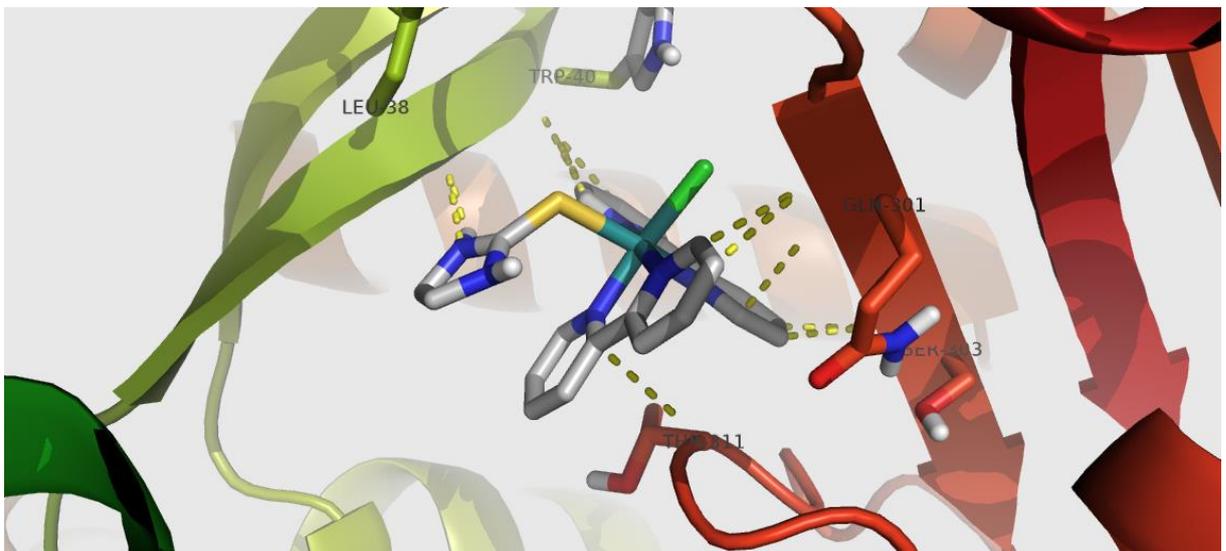
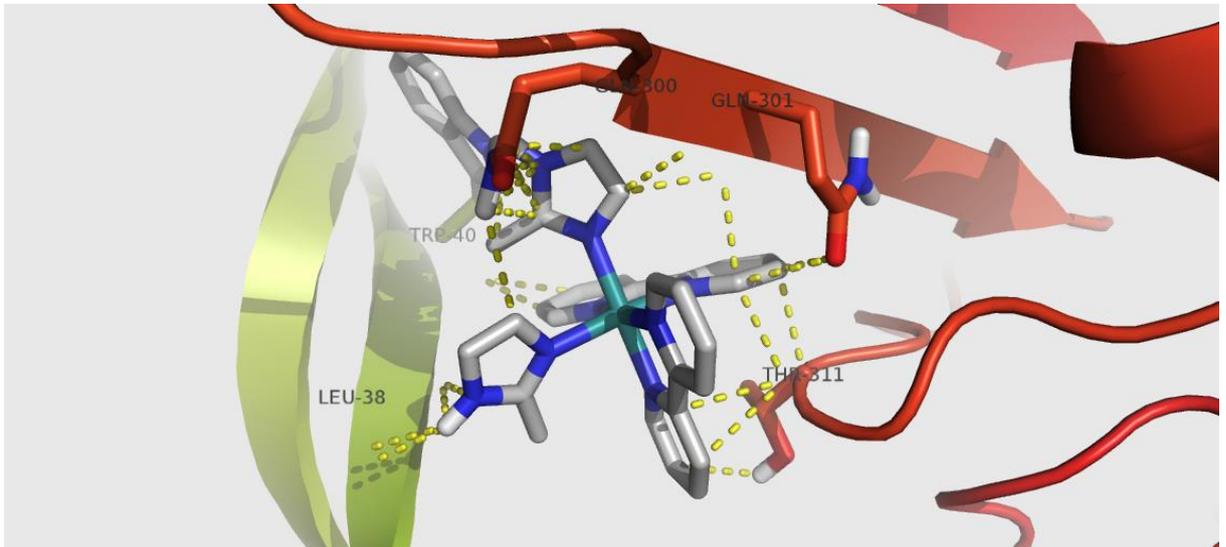
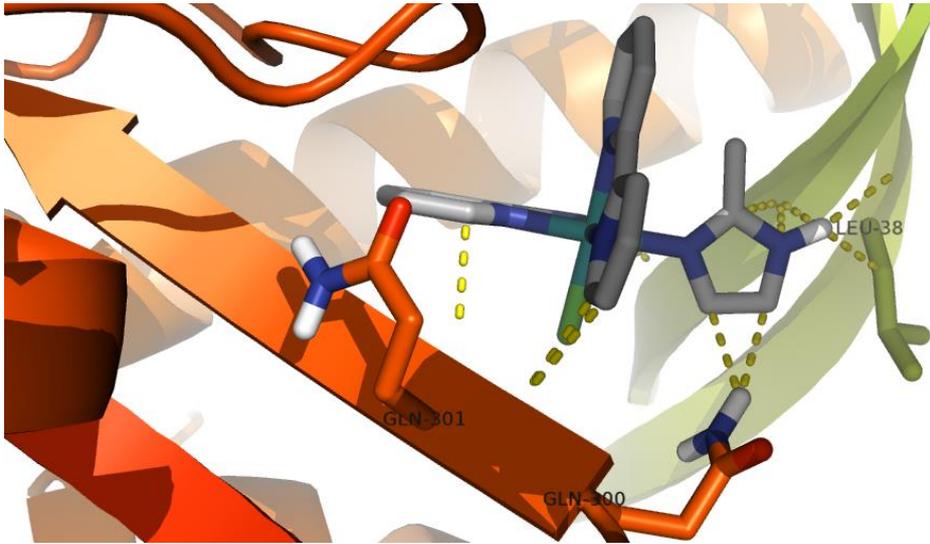


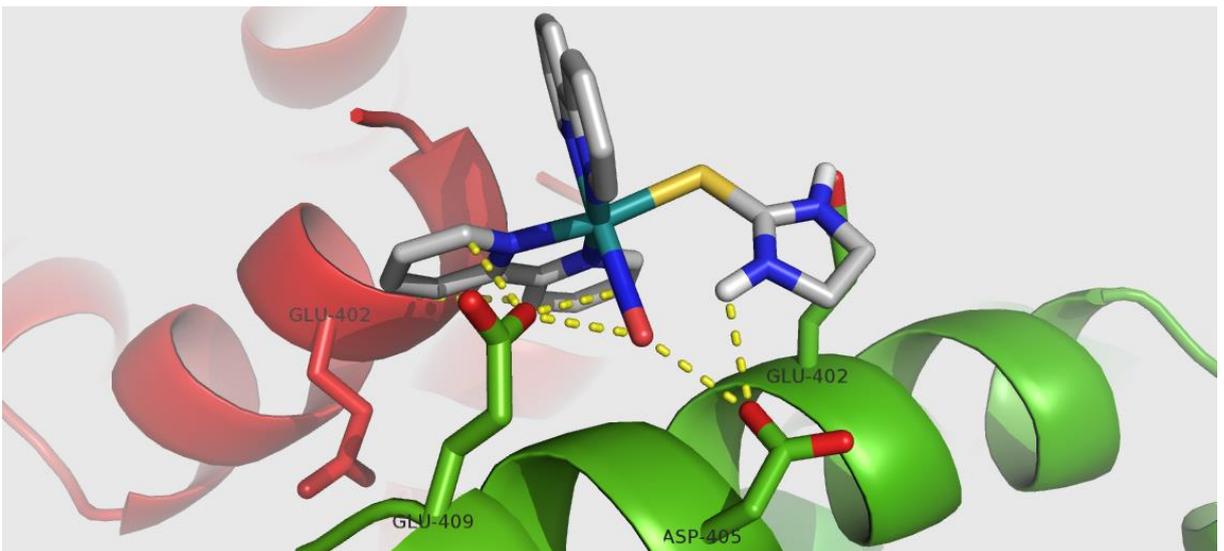
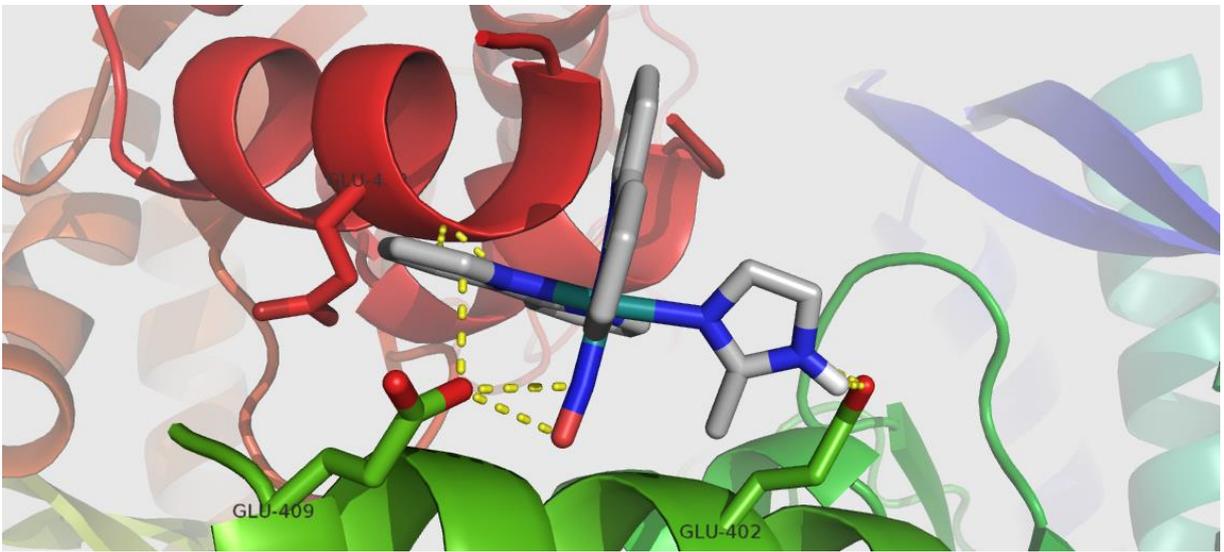
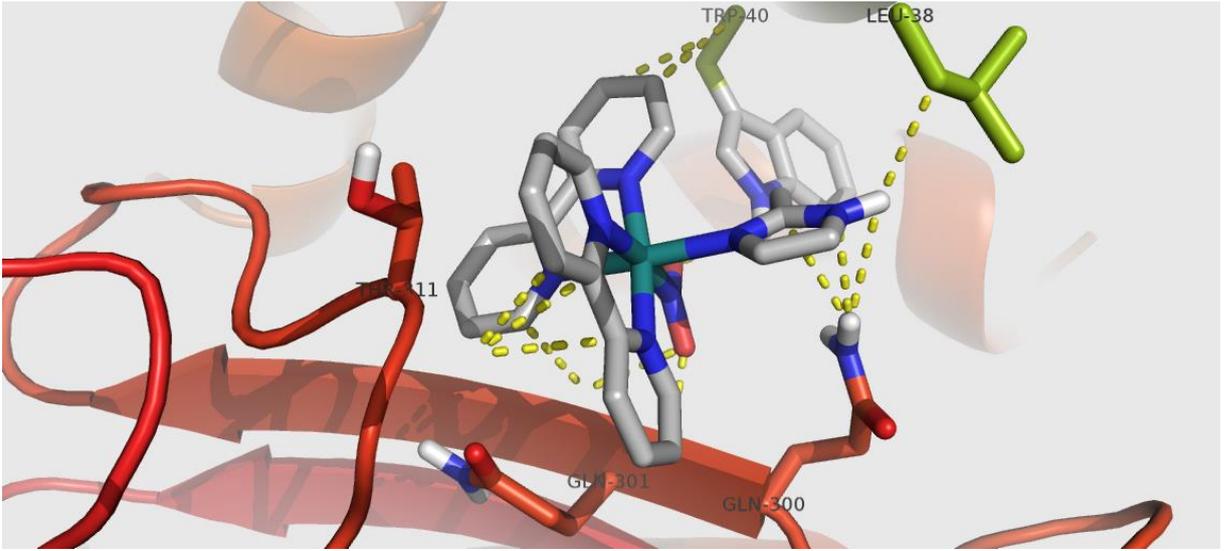
Catepsina B (CatB)



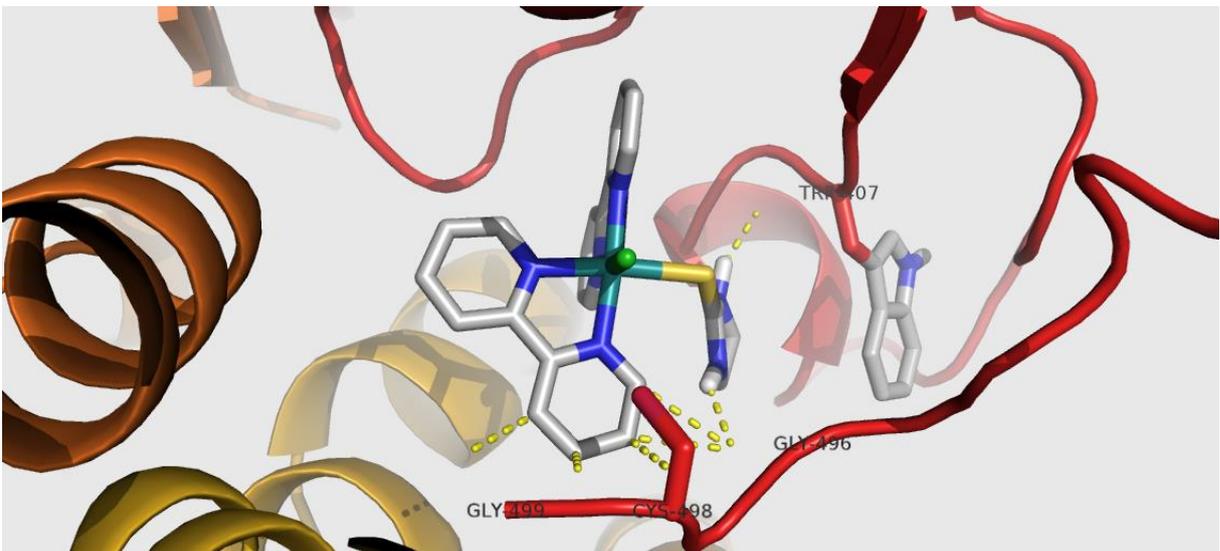
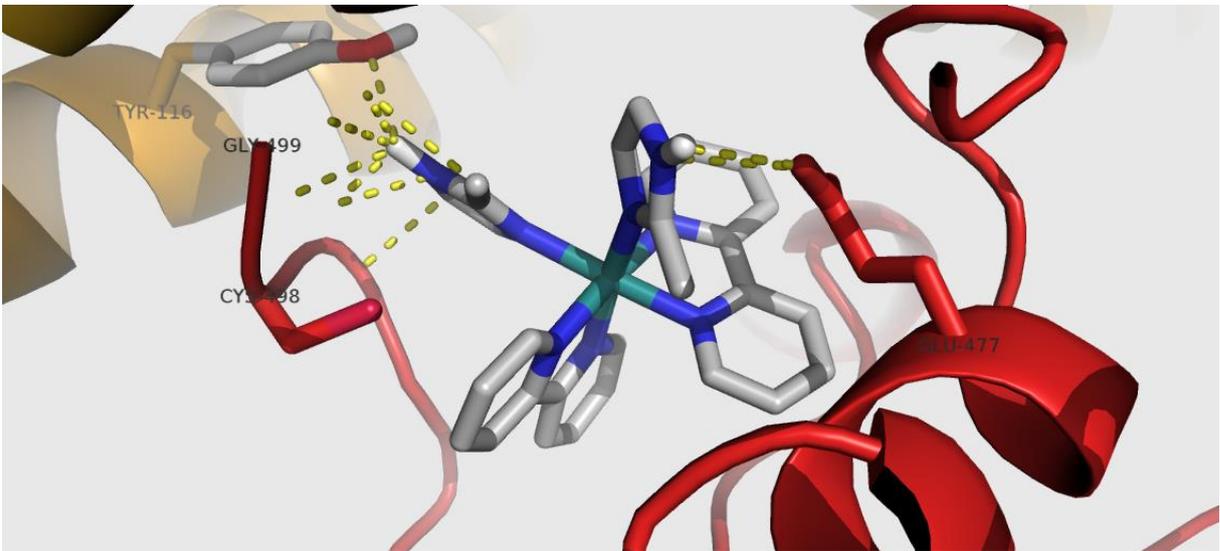
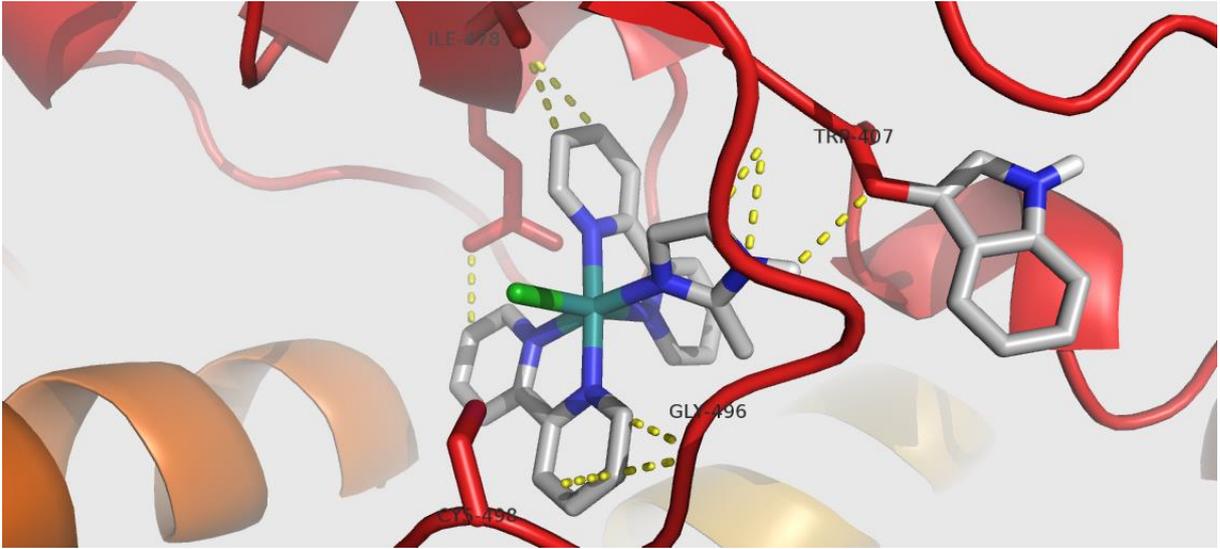


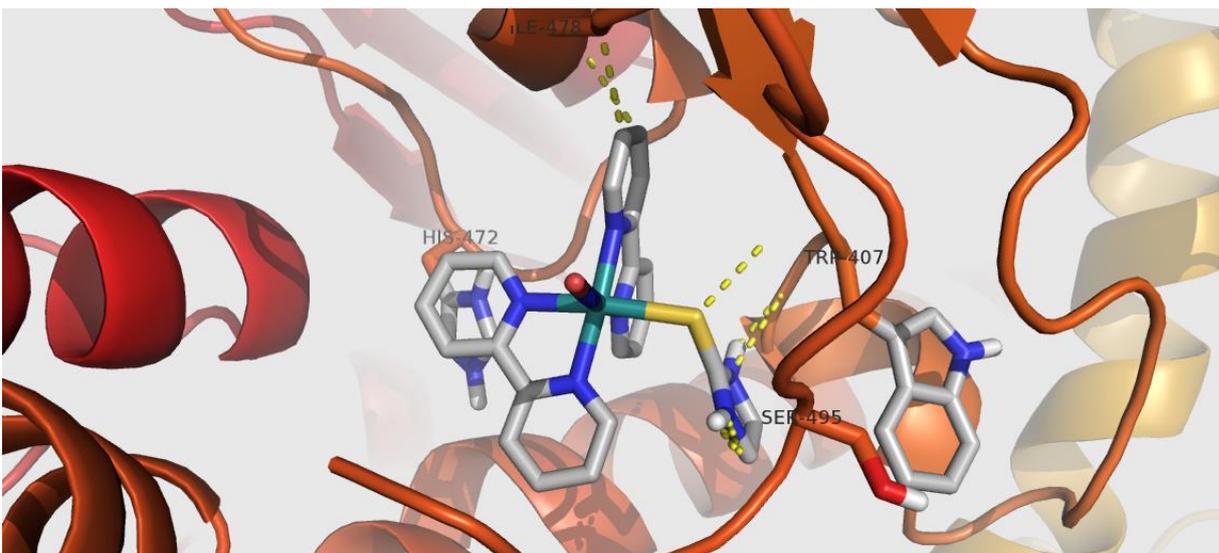
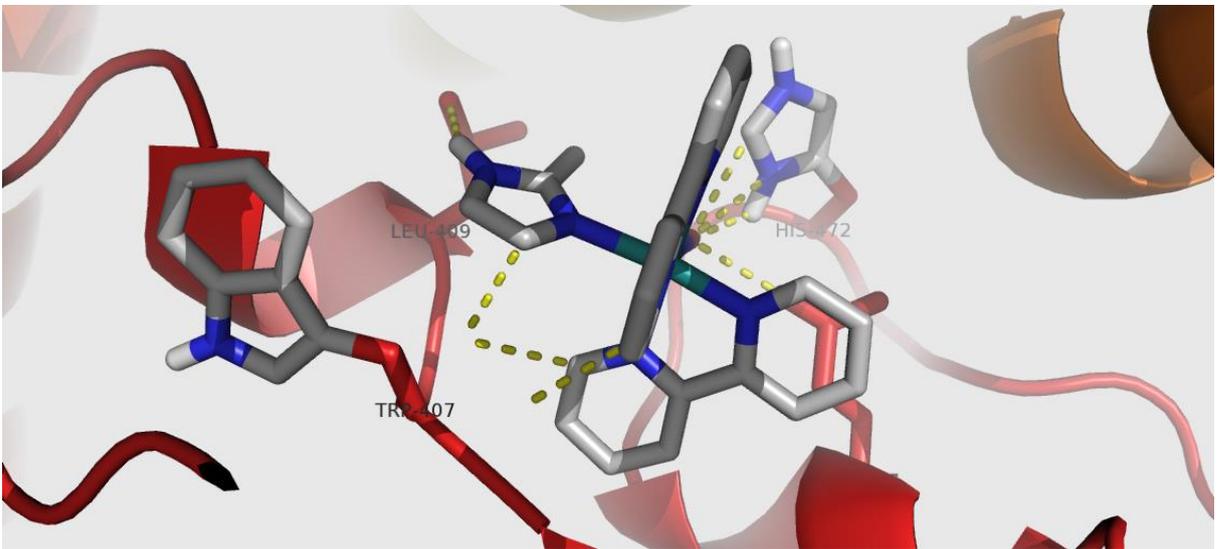
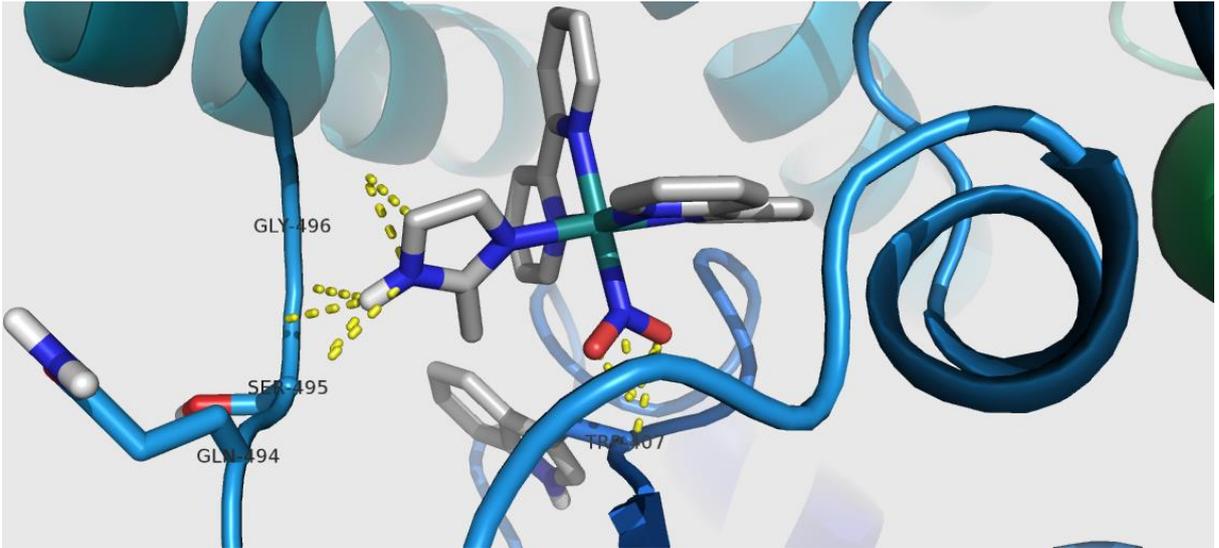
Topoisomerase II (Top II)



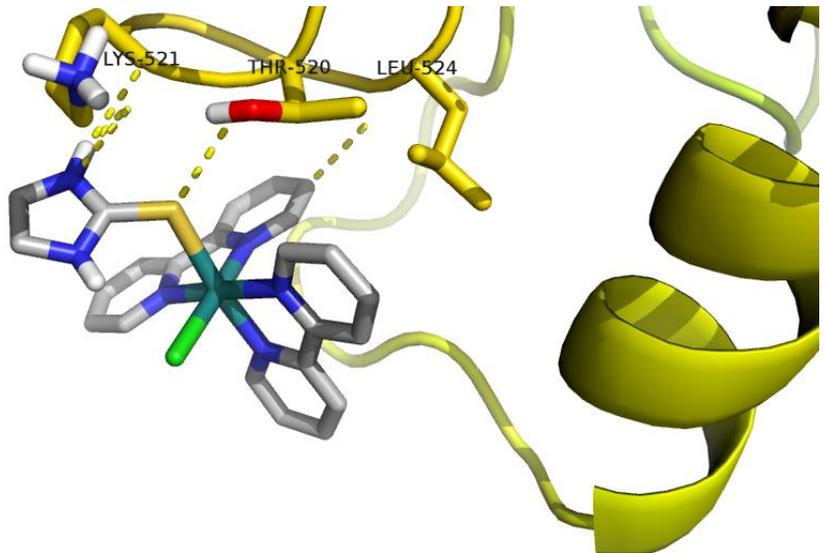
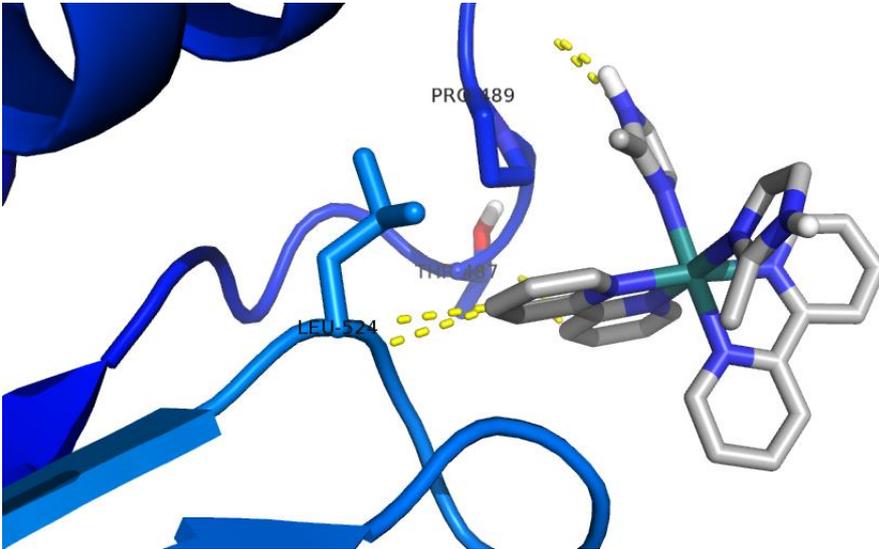
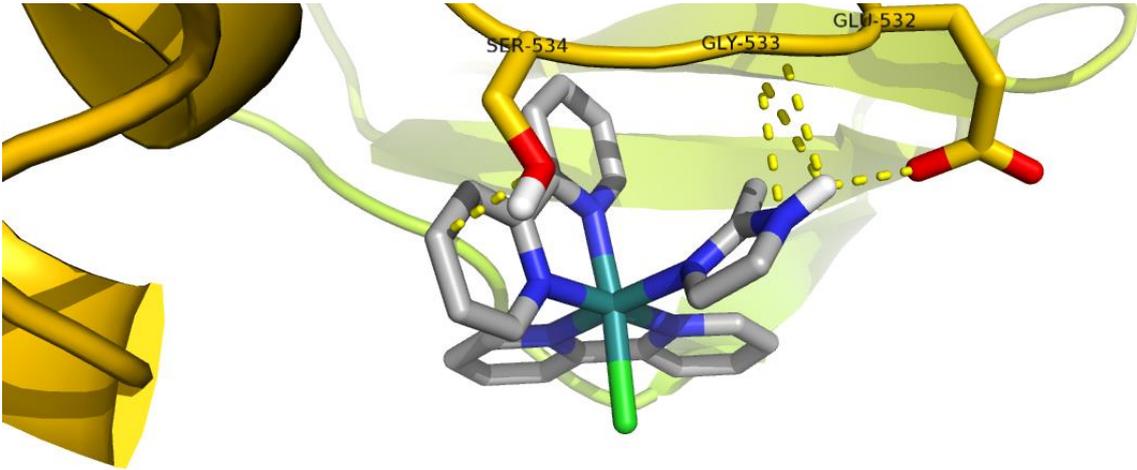


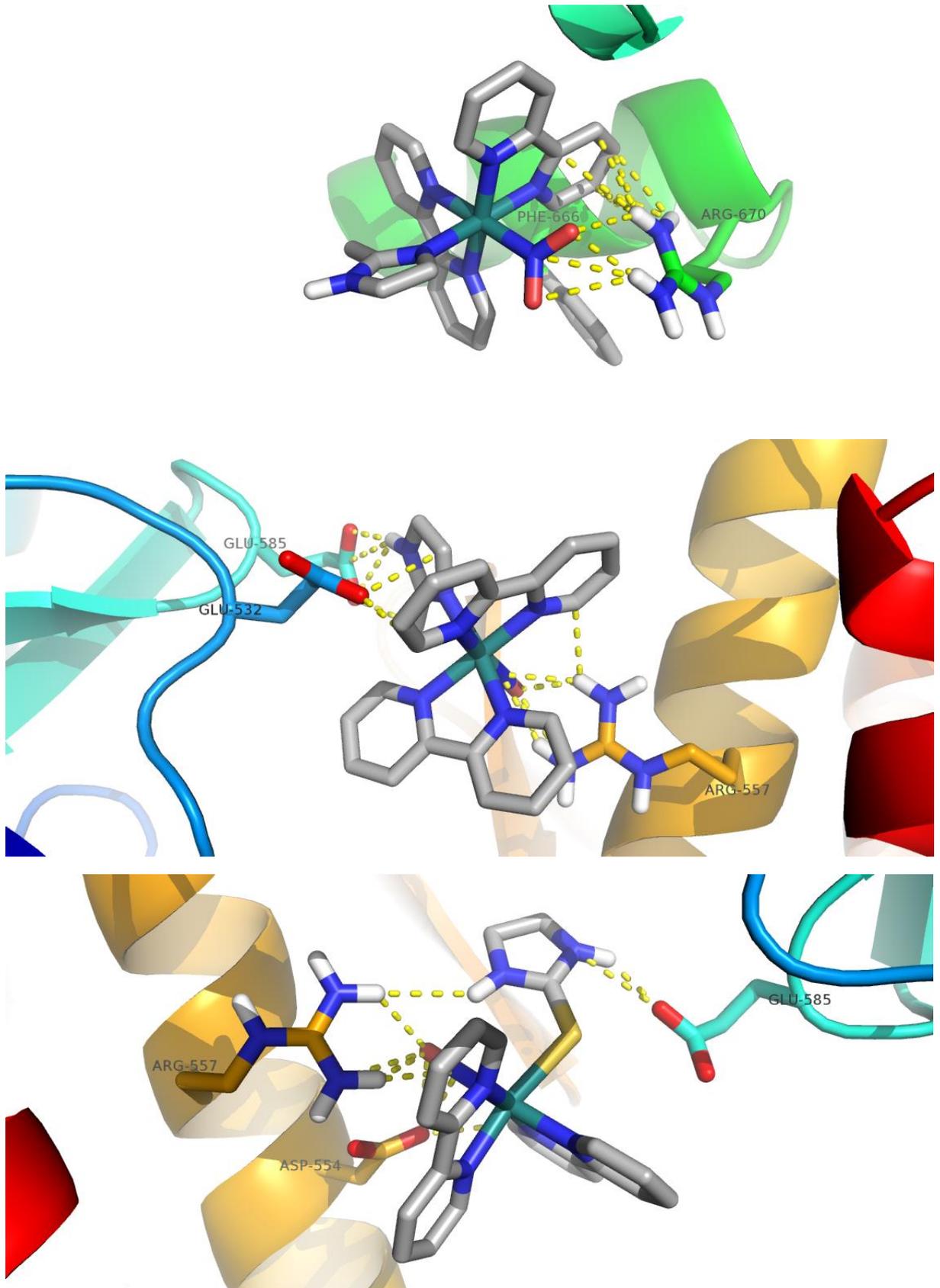
Tireoredoxina Redutase (TrxR)



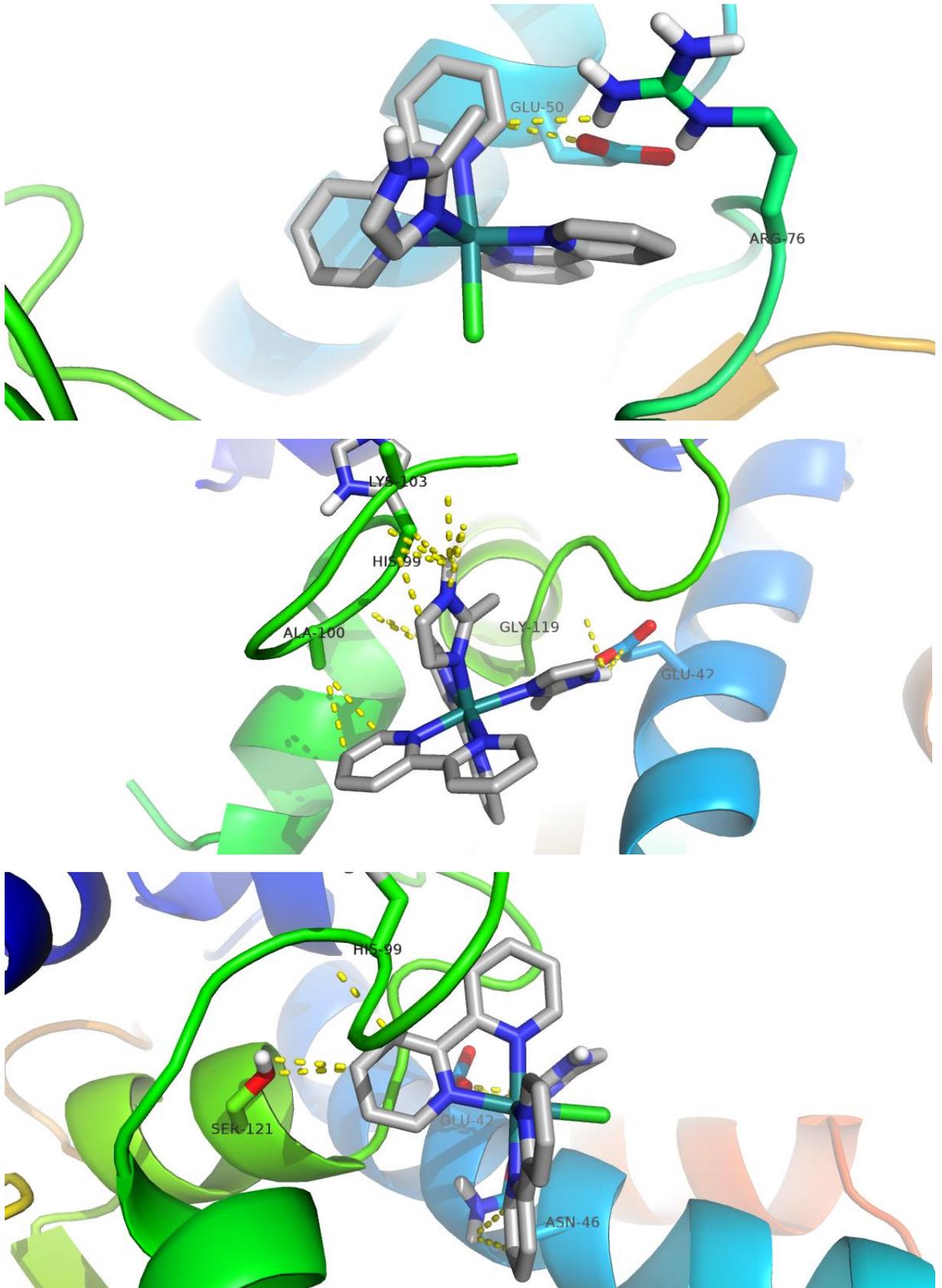


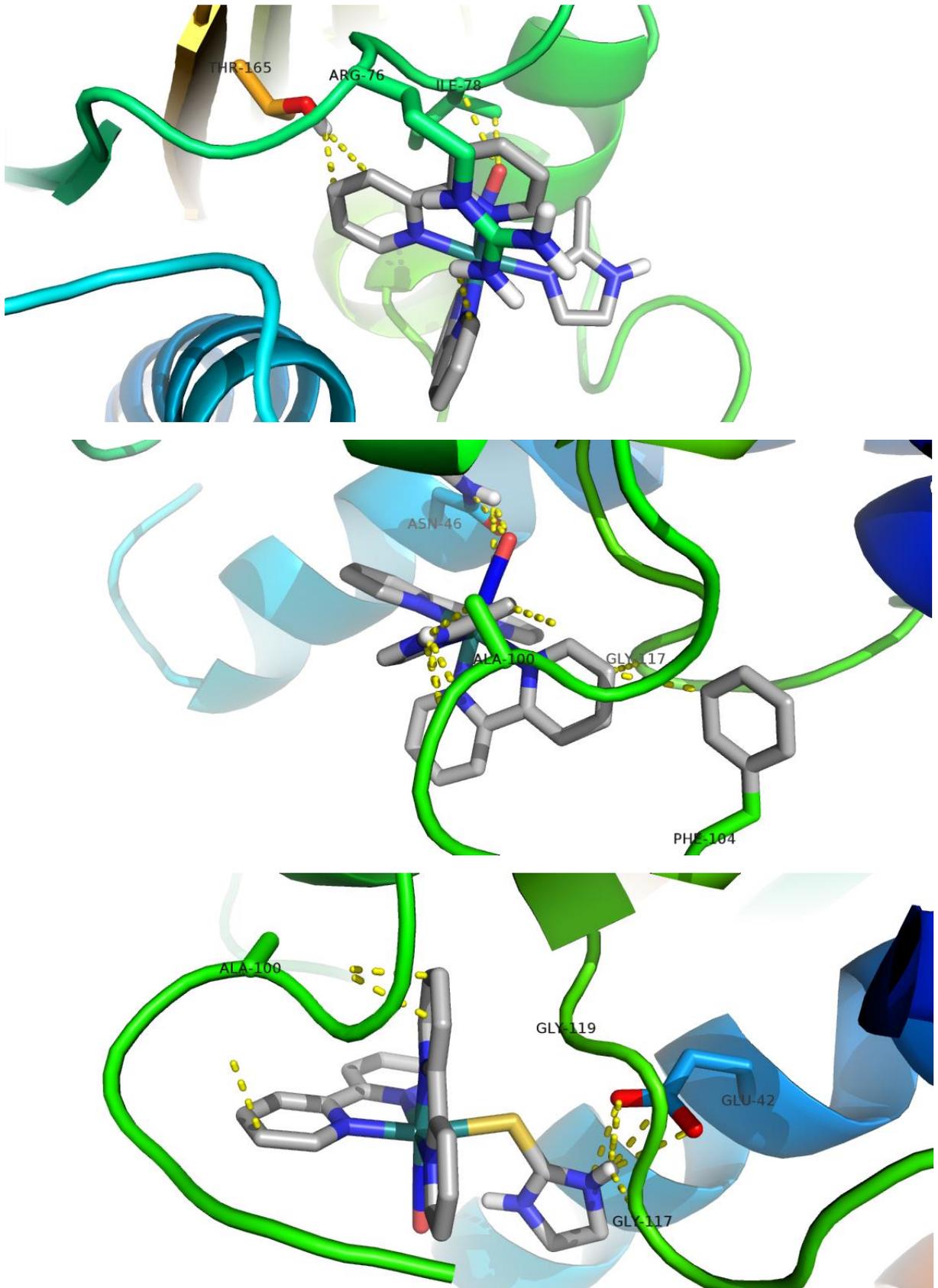
BRAF Kinase (BRAK)



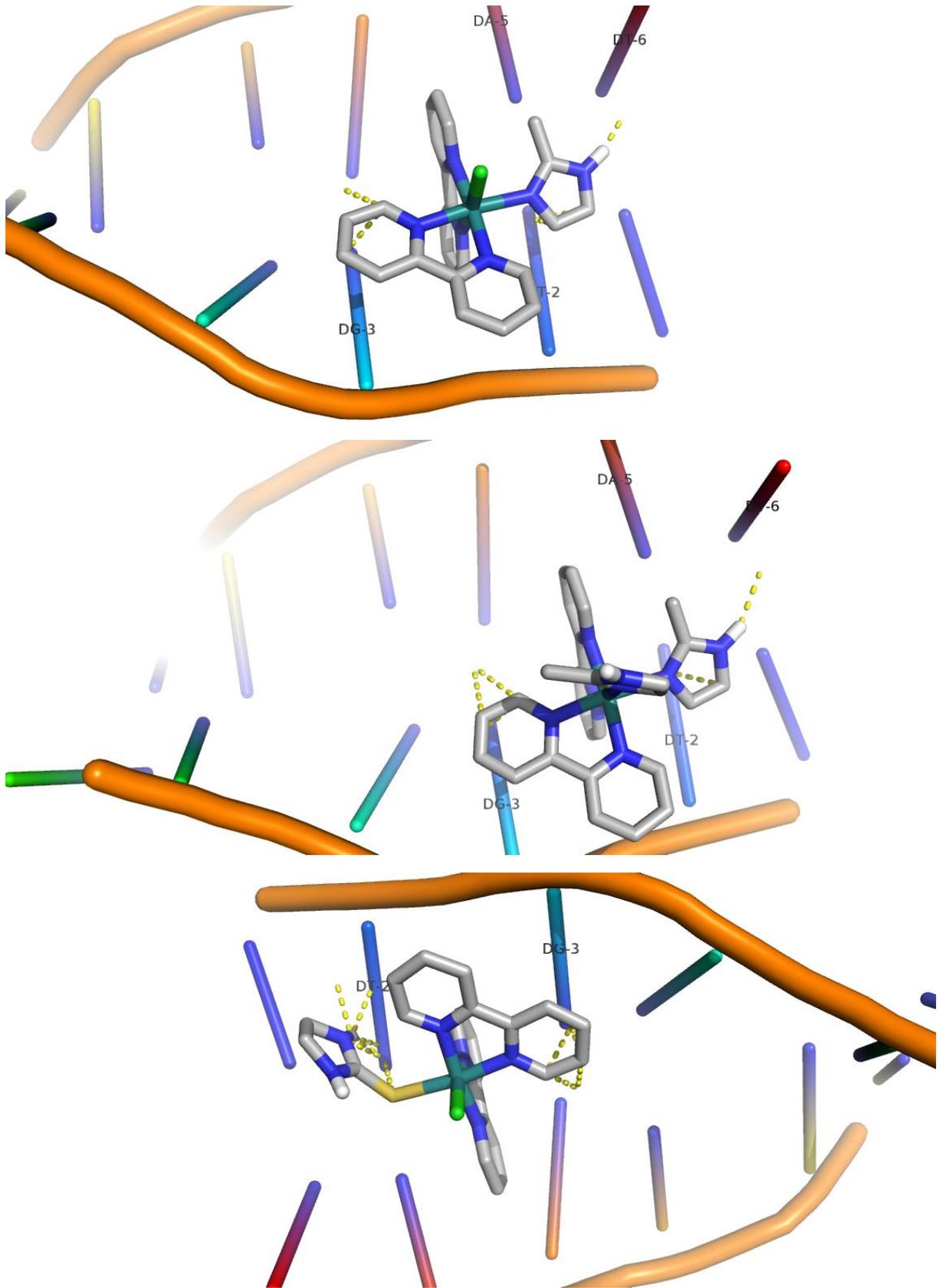


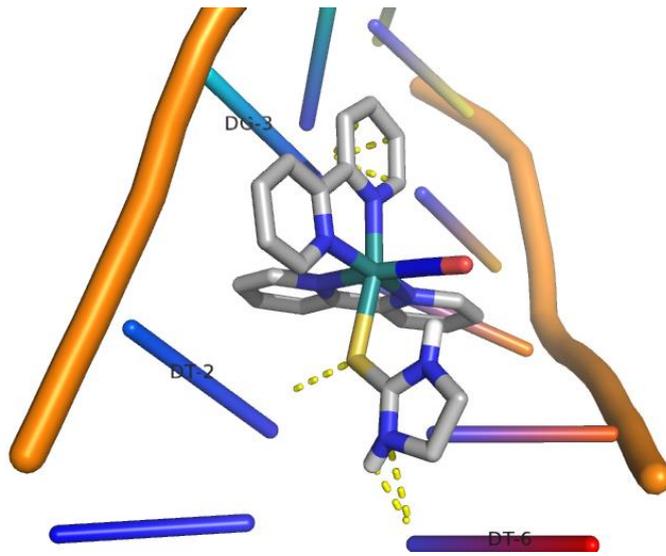
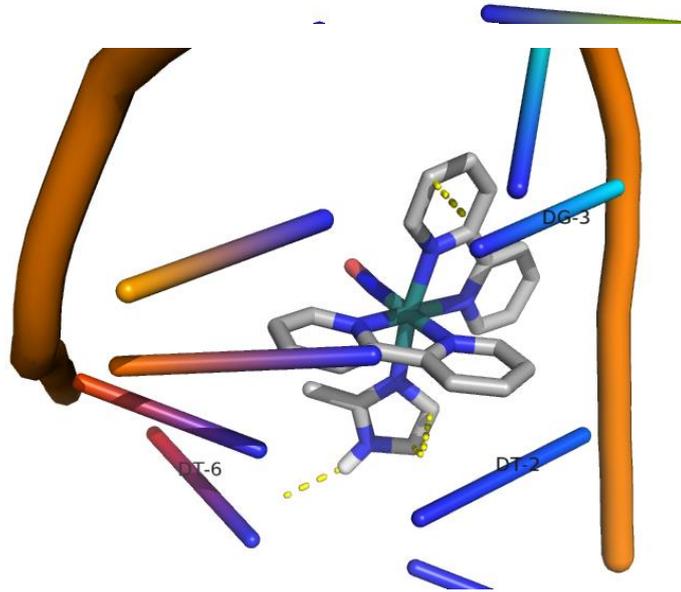
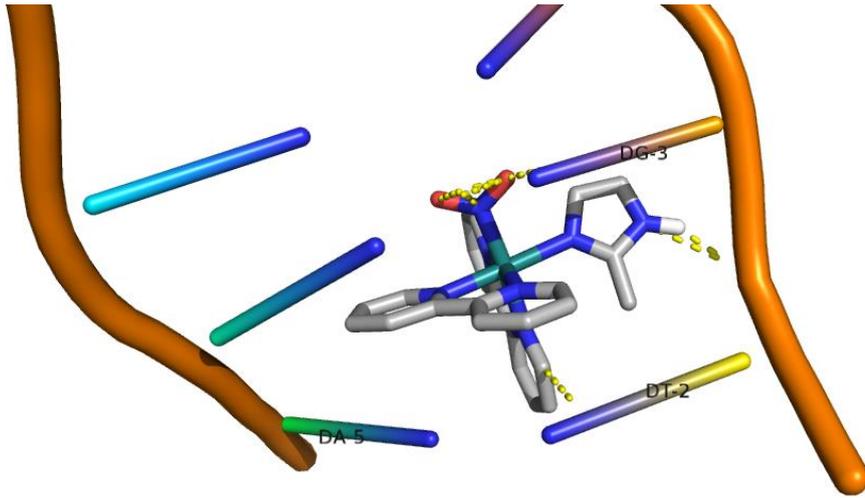
DNA Girase (DNAGy)



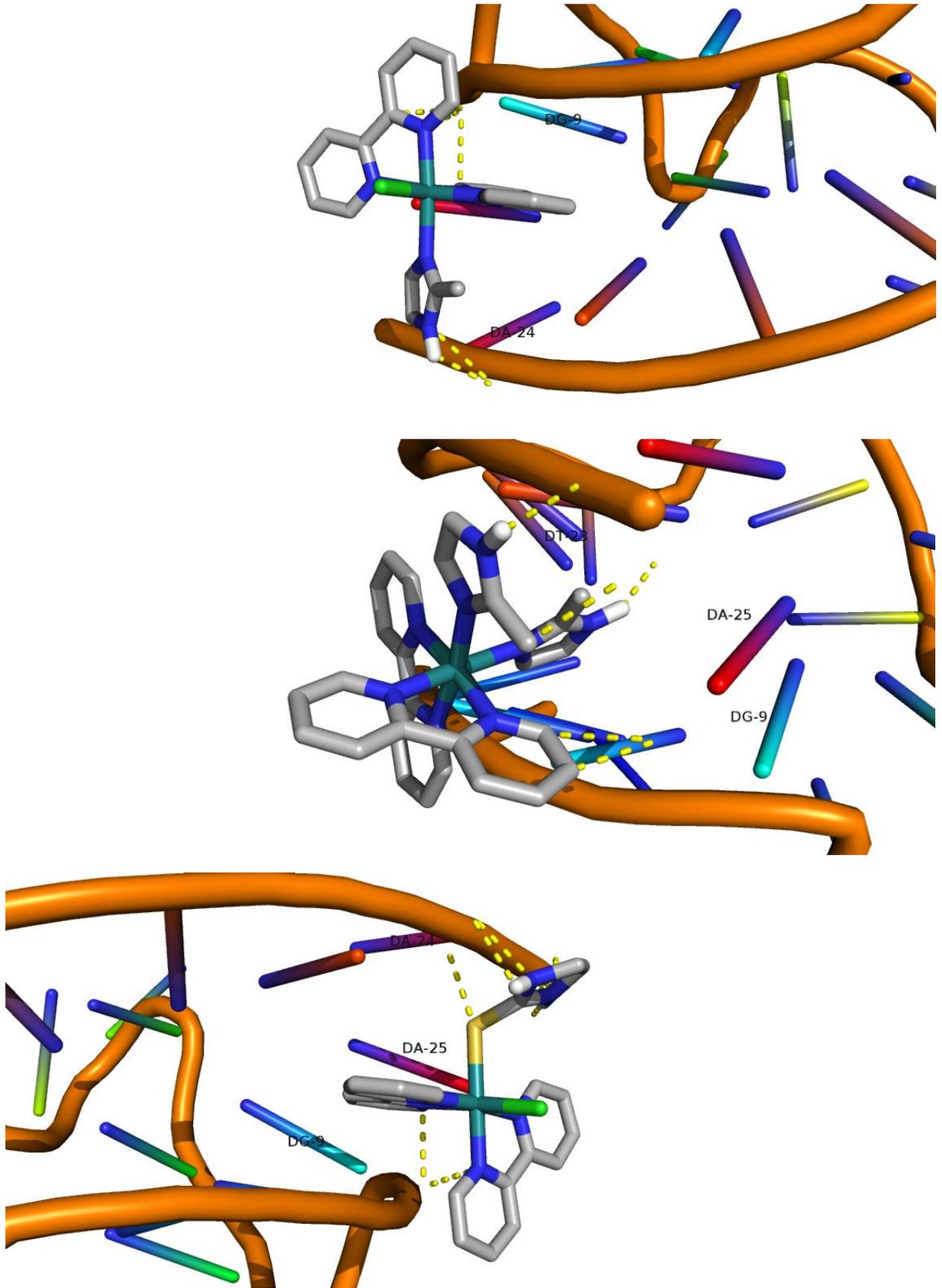


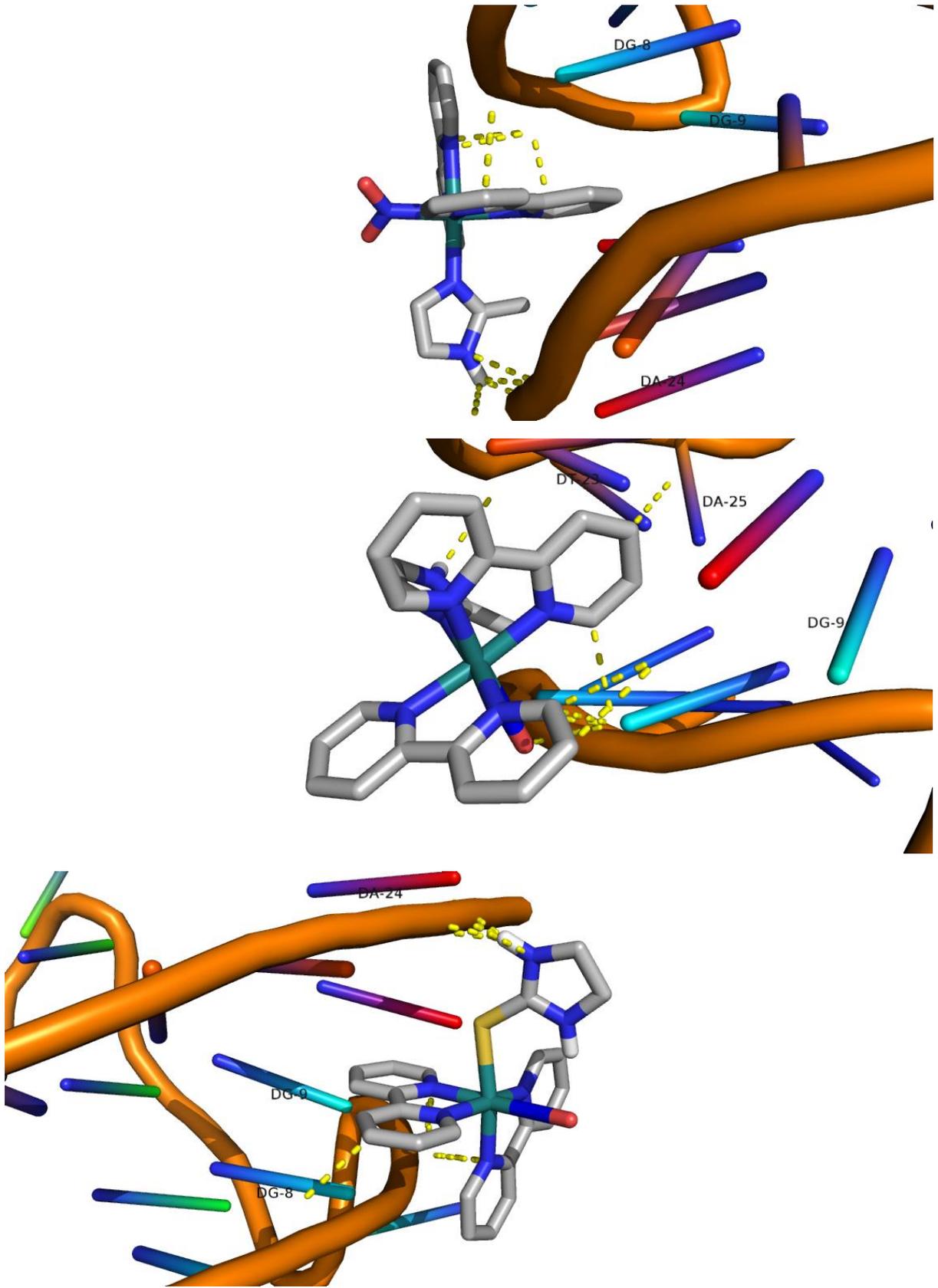
DNA Duplex (DNAd)



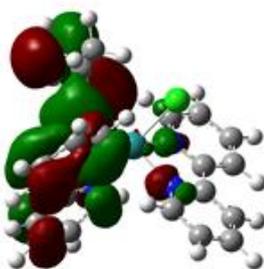


DNA G-quadruplex (DNAg4)

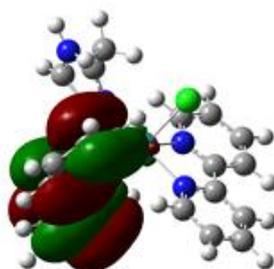




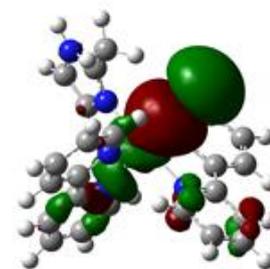
APÊNDICE N – CONTORNOS DE ORBITAIS MOLECULARES SELECIONADOS
DO COMPLEXO *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)Cl]⁺



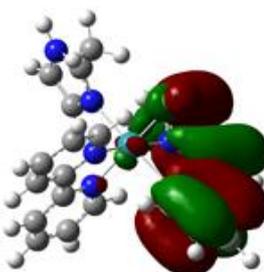
HOMO-9



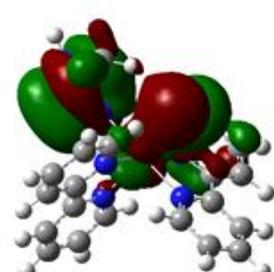
HOMO-8



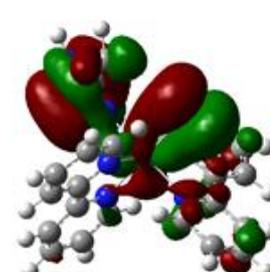
HOMO-7



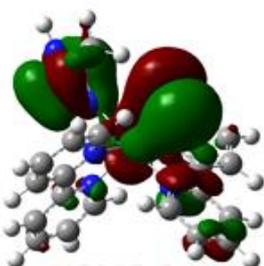
HOMO-6



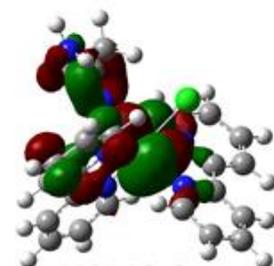
HOMO-5



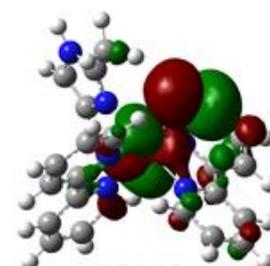
HOMO-4



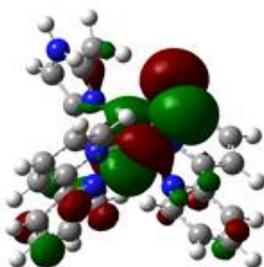
HOMO-3



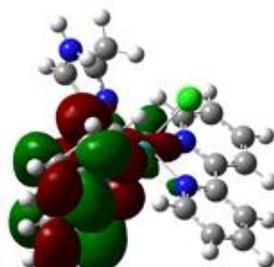
HOMO-2



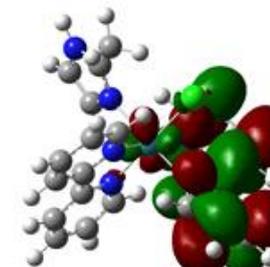
HOMO-1



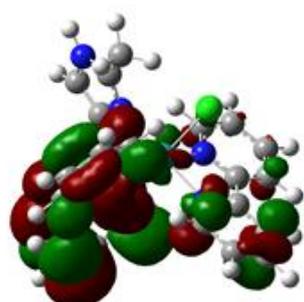
HOMO



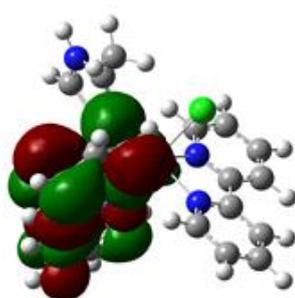
LUMO



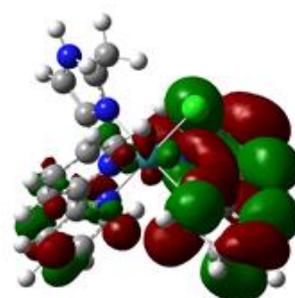
LUMO+1



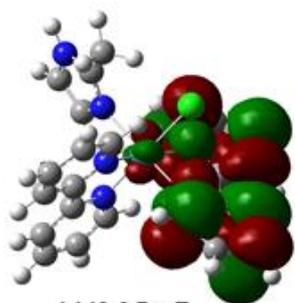
LUMO+2



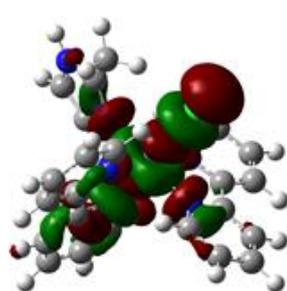
LUMO+3



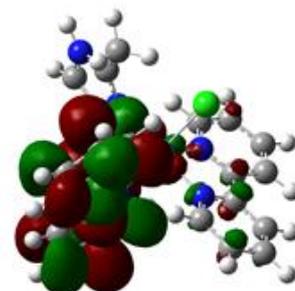
LUMO+4



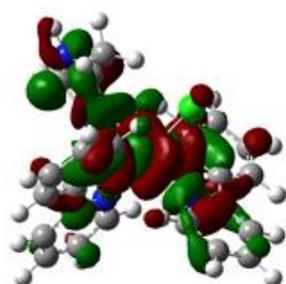
LUMO+5



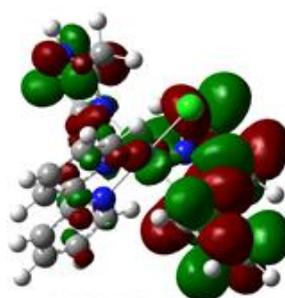
LUMO+6



LUMO+7

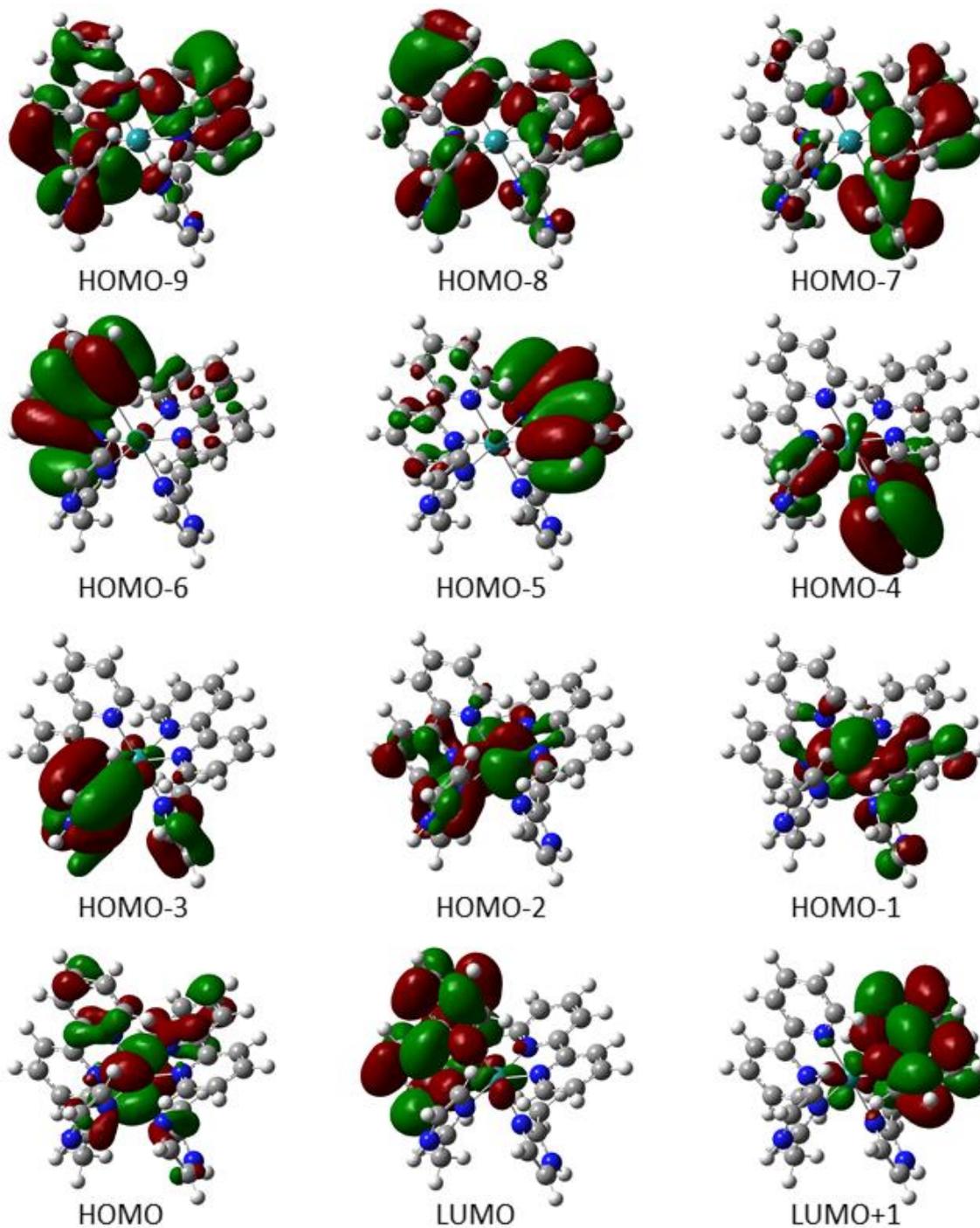


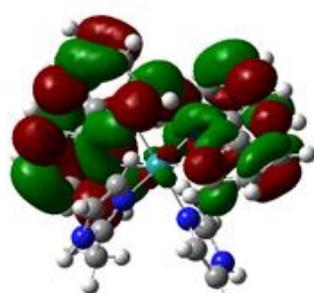
LUMO+8



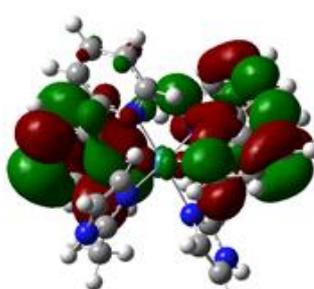
LUMO+9

APÊNDICE O – CONTORNOS DE ORBITAIS MOLECULARES SELECIONADOS
DO COMPLEXO *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)₂]²⁺

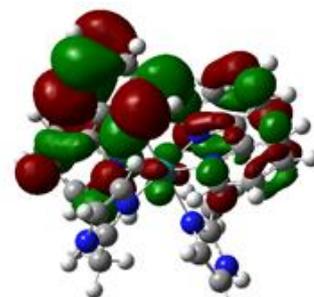




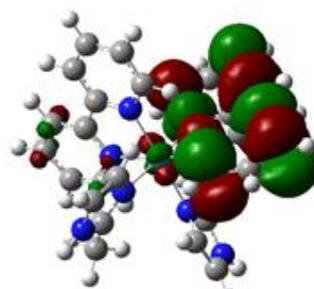
LUMO+2



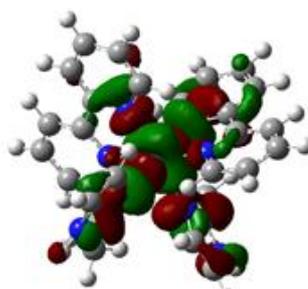
LUMO+3



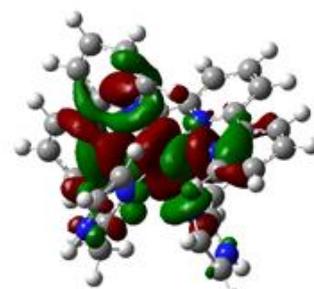
LUMO+4



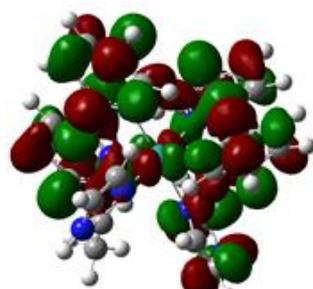
LUMO+5



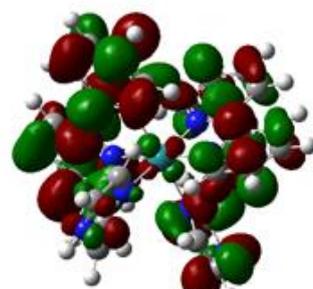
LUMO+6



LUMO+7



LUMO+8



LUMO+9

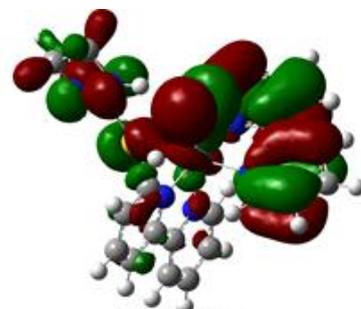
APÊNDICE P – CONTORNOS DE ORBITAIS MOLECULARES SELECIONADOS
DO COMPLEXO *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)Cl]⁺



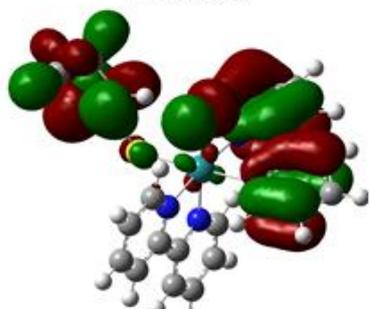
HOMO-9



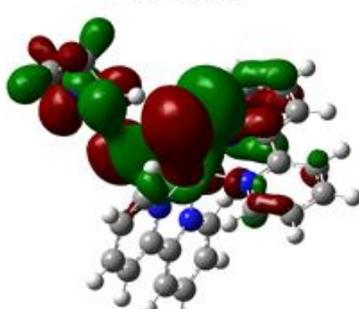
HOMO-8



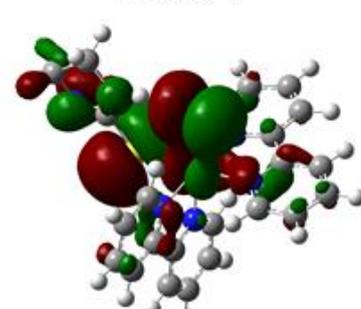
HOMO-7



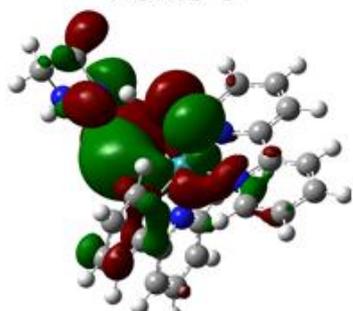
HOMO-6



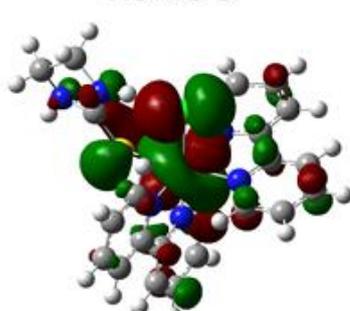
HOMO-5



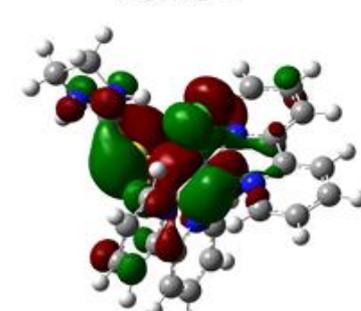
HOMO-4



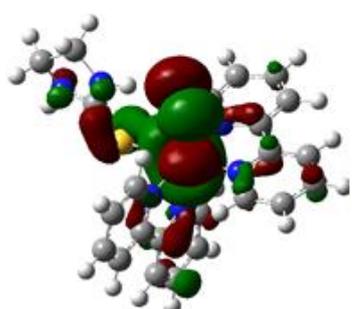
HOMO-3



HOMO-2



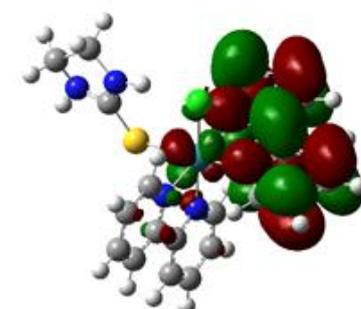
HOMO-1



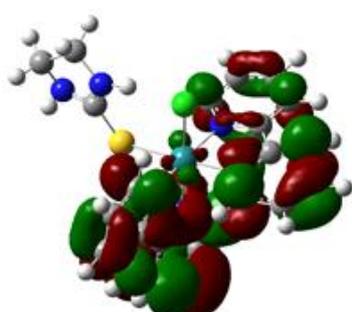
HOMO



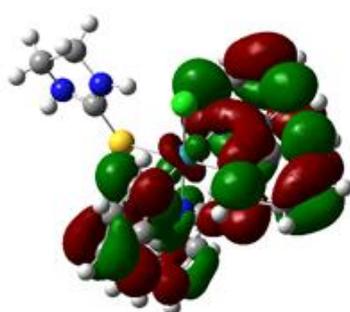
LUMO



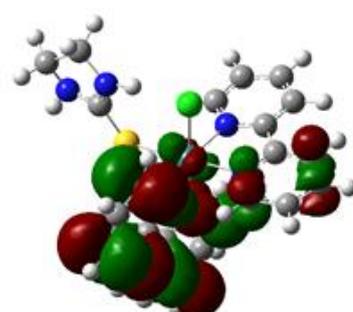
LUMO+1



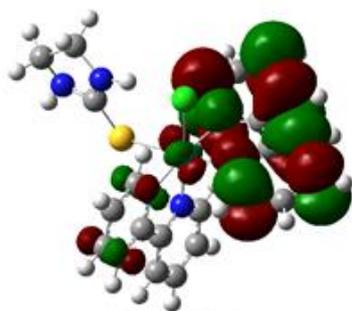
LUMO+2



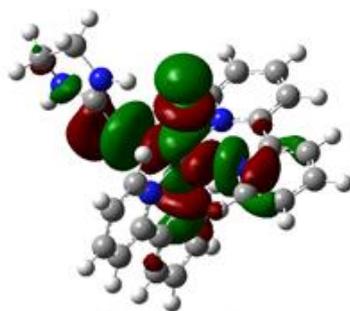
LUMO+3



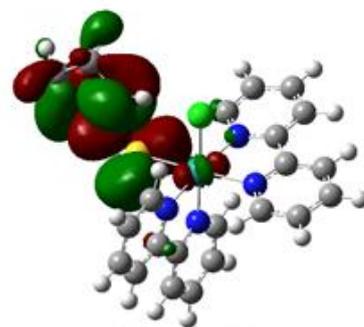
LUMO+4



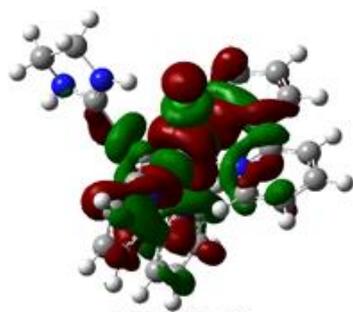
LUMO+5



LUMO+6



LUMO+7

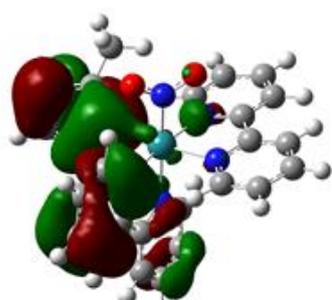


LUMO+8

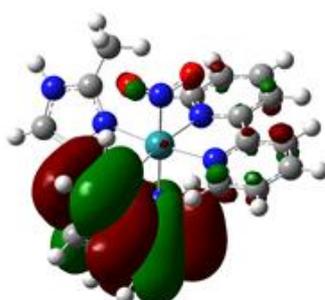


LUMO+9

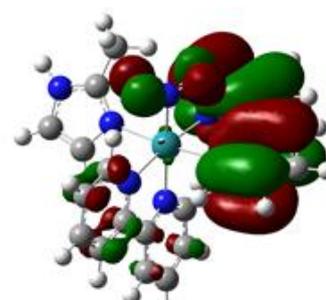
APÊNDICE Q – CONTORNOS DE ORBITAIS MOLECULARES SELECIONADOS
DO COMPLEXO *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO₂)]⁺



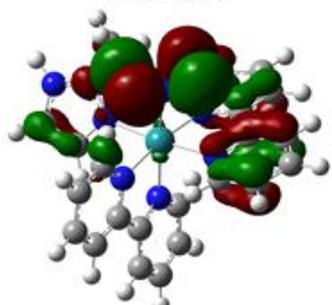
HOMO-9



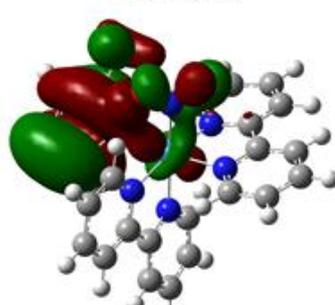
HOMO-8



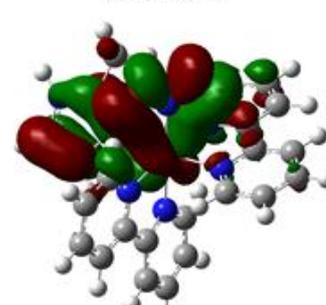
HOMO-7



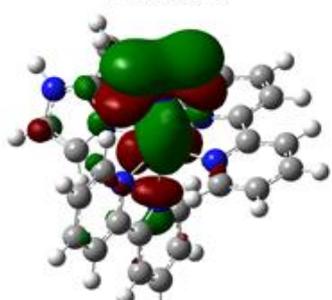
HOMO-6



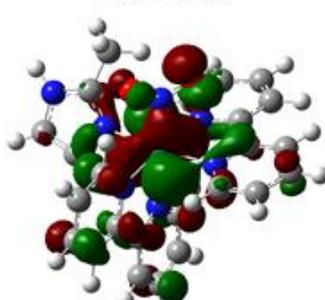
HOMO-5



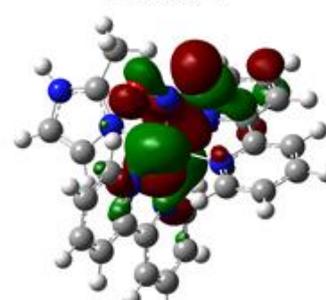
HOMO-4



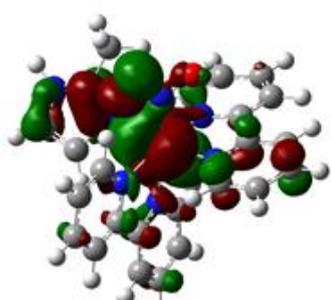
HOMO-3



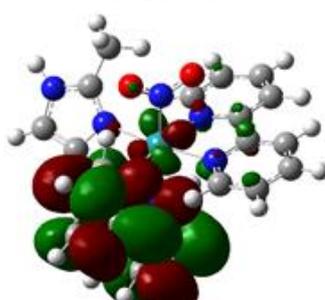
HOMO-2



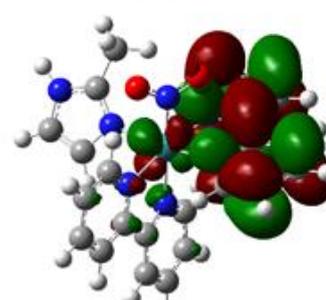
HOMO-1



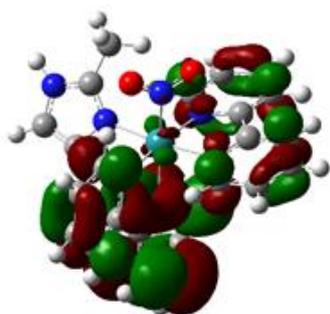
HOMO



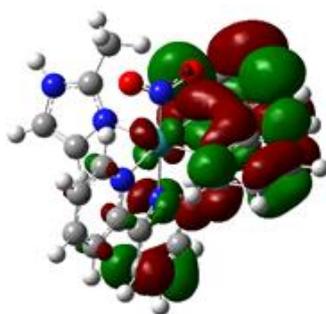
LUMO



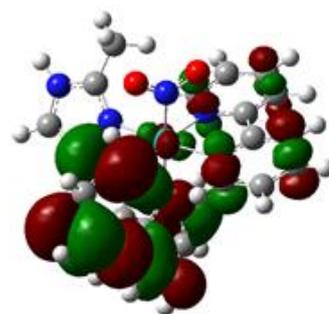
LUMO+1



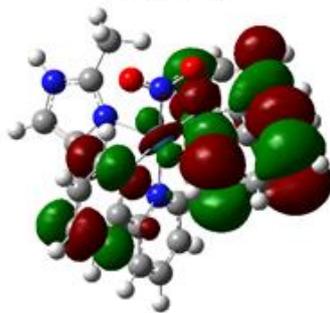
LUMO+2



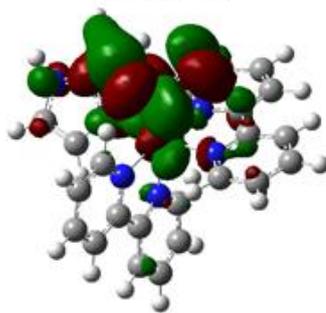
LUMO+3



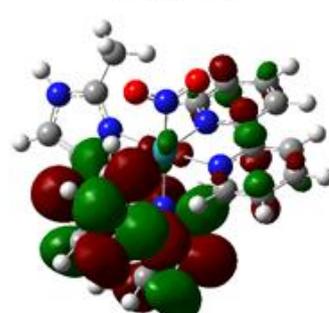
LUMO+4



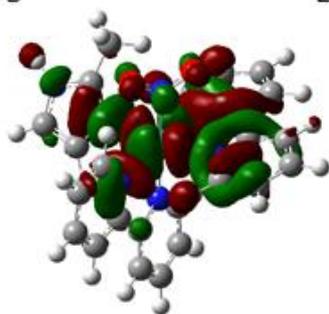
LUMO+5



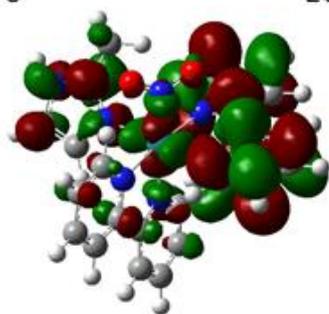
LUMO+6



LUMO+7

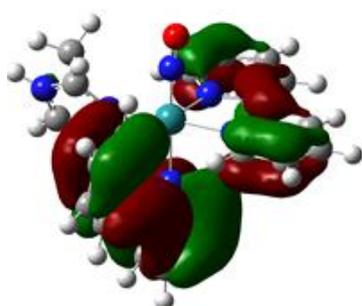


LUMO+8

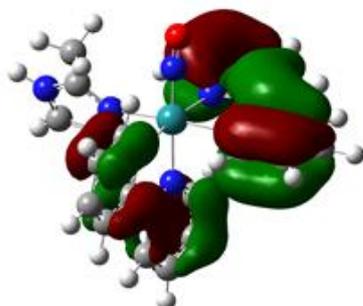


LUMO+9

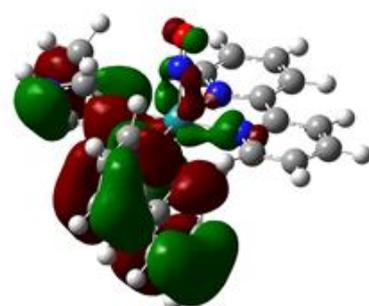
APÊNDICE R – CONTORNOS DE ORBITAIS MOLECULARES SELECIONADOS
DO COMPLEXO *cis*-[Ru(bpy)₂(2-MIM)(NO)]³⁺



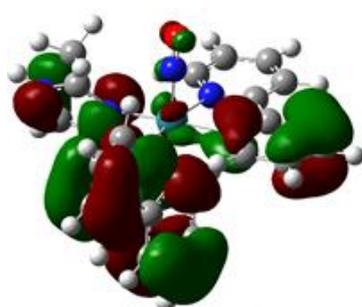
HOMO-9



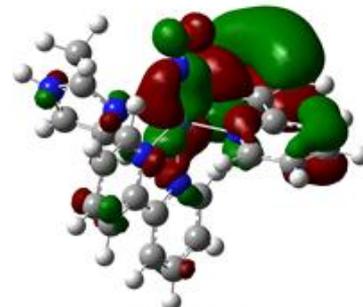
HOMO-8



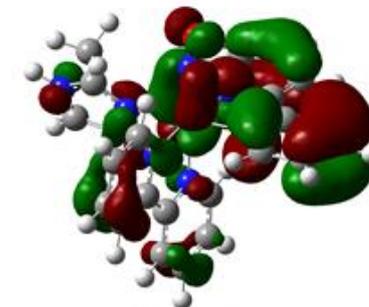
HOMO-7



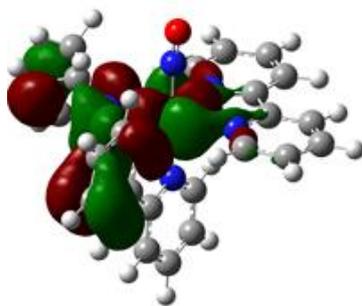
HOMO-6



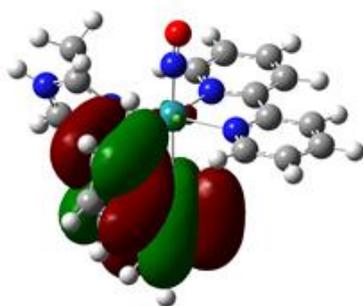
HOMO-5



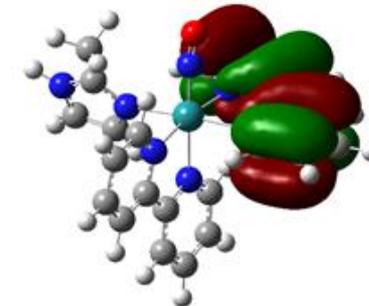
HOMO-4



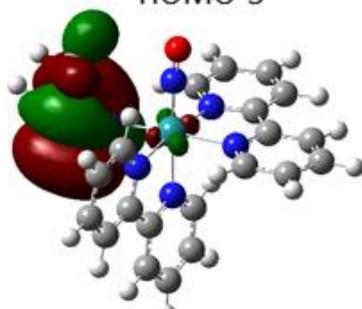
HOMO-3



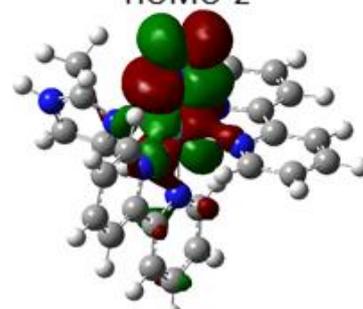
HOMO-2



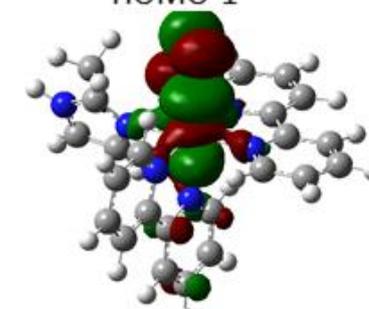
HOMO-1



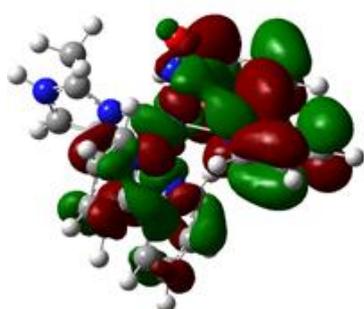
HOMO



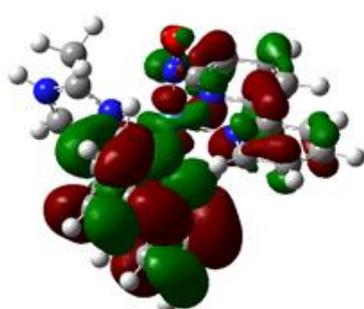
LUMO



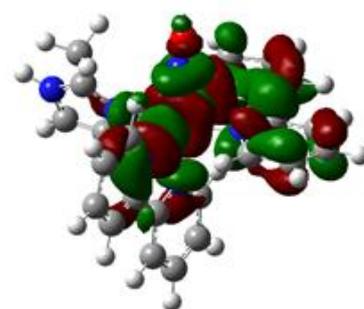
LUMO+1



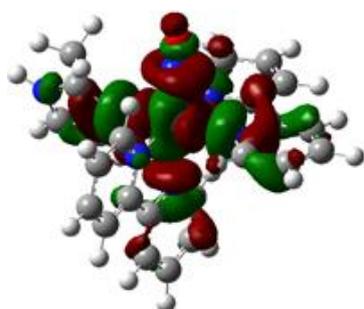
LUMO+2



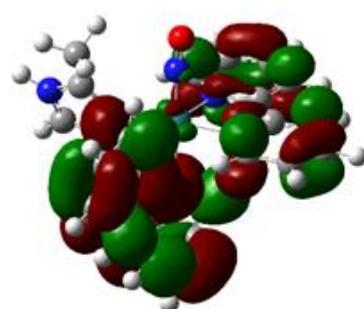
LUMO+3



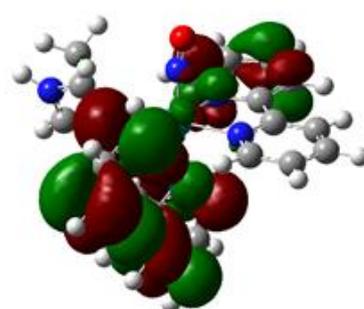
LUMO+4



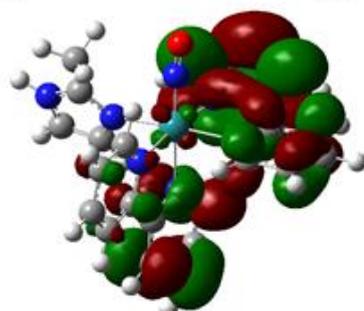
LUMO+5



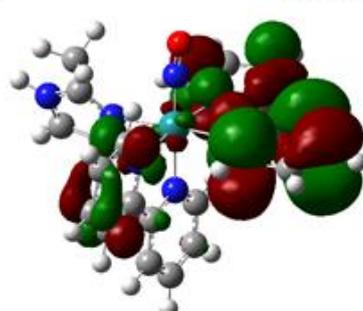
LUMO+6



LUMO+7

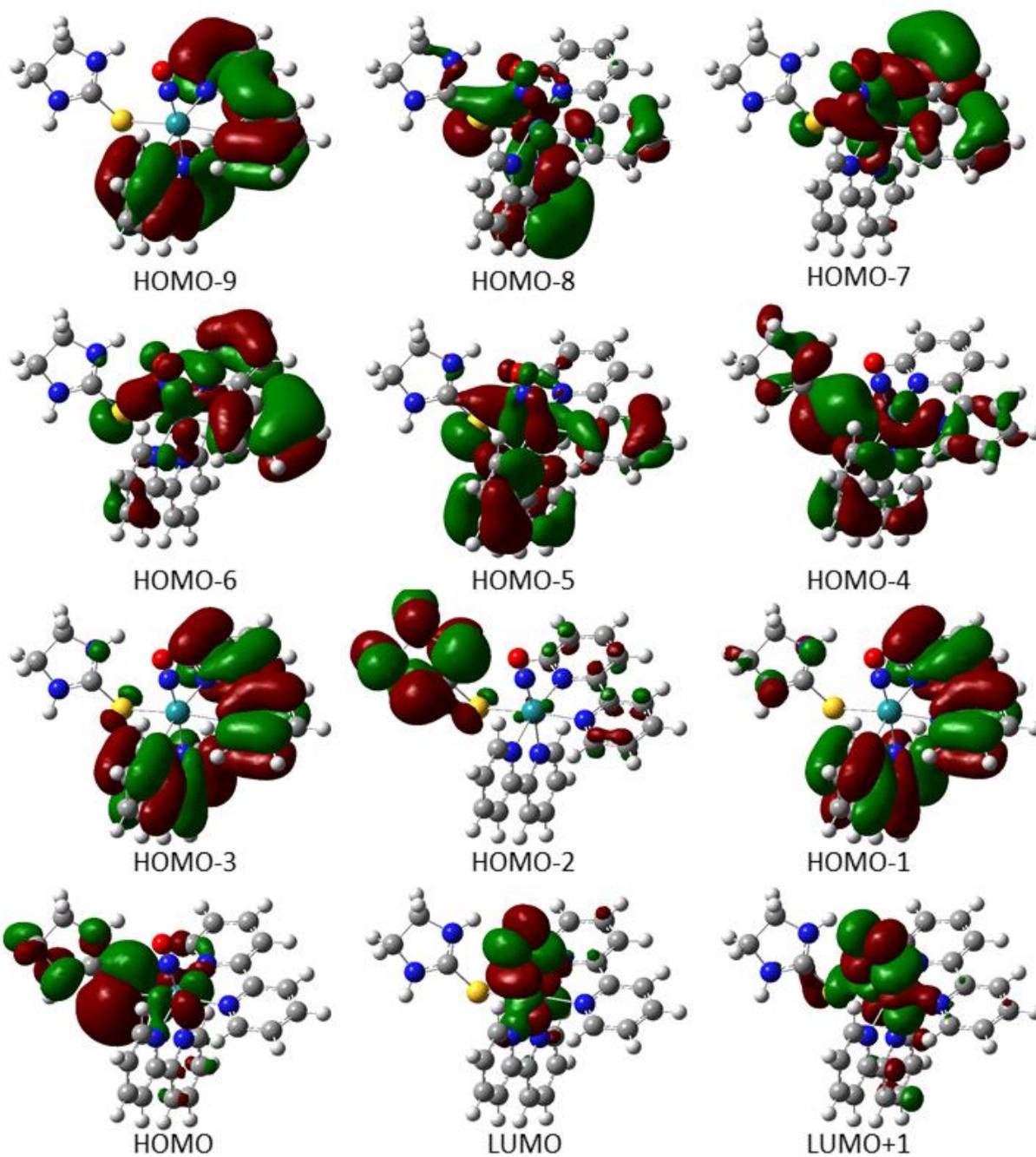


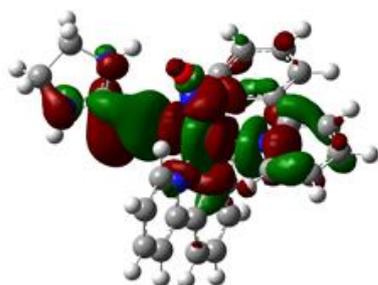
LUMO+8



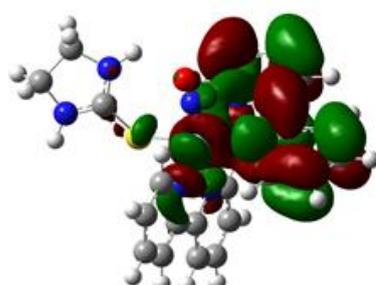
LUMO+9

APÊNDICE S – CONTORNOS DE ORBITAIS MOLECULARES SELECIONADOS
DO COMPLEXO *cis*-[Ru(bpy)₂(ETU)(NO)]³⁺

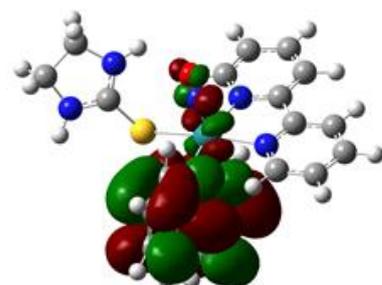




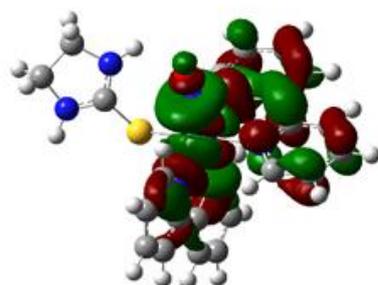
LUMO+2



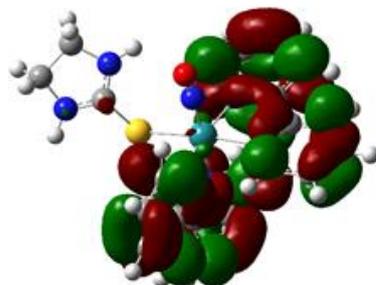
LUMO+3



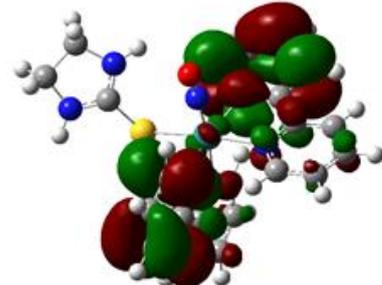
LUMO+4



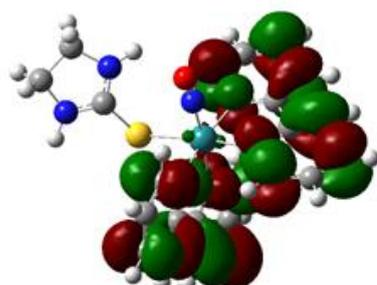
LUMO+5



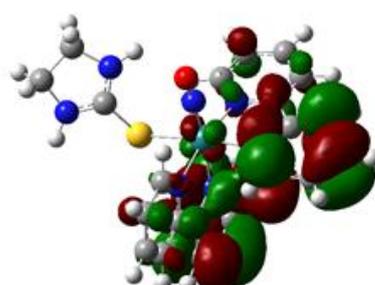
LUMO+6



LUMO+7



LUMO+8



LUMO+9